

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETÁRIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DIETAS E MEDIDAS PROFILÁTICAS SOBRE O
DESENVOLVIMENTO LARVAL DO SIRI CANDEIA *Achelous spinimanus* (LATREILLE,
1819) EM LABORATÓRIO

Felipe von Atzingen Pereira de Araújo

Orientadora: Prof^ª Dra. Katharina Eichbaun Esteves

Co-orientadora: Prof^ª Dra. Cíntia Badaró-Pedroso

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto
de Pesca – APTA-SAA, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Aquicultura e Pesca.**

**São Paulo
Dezembro - 2018**

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETÁRIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DIETAS E MEDIDAS PROFILÁTICAS SOBRE O
DESENVOLVIMENTO LARVAL DO SIRI CANDEIA *Achelous spinimanus* (LATREILLE,
1819) EM LABORATÓRIO

Felipe von Atzingen Pereira de Araújo

Orientadora: Prof^ª Dra. Katharina Eichbaun Esteves

Co-orientadora: Prof^ª Dra. Cíntia Badaró-Pedroso

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA-SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo
Dezembro - 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação. Instituto de Pesca, São Paulo

A663a

Araújo, Felipe von Atzingen Pereira de
Avaliação de diferentes dietas e medidas profiláticas sobre o desenvolvimento larval do siri candeia *Achelous spinimanus* (Latreille, 1819) em laboratório.
v. 53f. ; il. ; gráf. , tab.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Orientadora: Katharina Eichbaum Esteves

1. Antibióticos. 2. *Nannochloropsis oculata*. 3. *Brachionus plicatilis*. 4. Brachyura.
5. Estágios larvais. 6. Portunideo. I. Esteves, Katharina Eichbaum

CDD 639.2

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DIETAS E MEDIDAS
PROFILÁTICAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DO
SIRI CANDEIA *Achelous spinimanus* (LATREILLE, 1819)
EM LABORATÓRIO**

FELIPE VON ATZINGEN PEREIRA DE ARAÚJO

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção
do título de MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de
Concentração em Pesca, pela Comissão Examinadora:

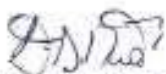
APROVADA EM 29/10/2018 POR:



Prof.ª Dra. Katharina Eichbaun Esteves
Orientador e Presidente da Comissão Examinadora



Prof. Dr. Eduardo Sanches



Prof. Dr. Luis Felipe de Almeida Duarte

AGRADECIMENTOS

Ao programa CAPES pela bolsa concedida e ao Instituto de Pesca/APTA/SAA, pela disponibilização dos laboratórios e infraestrutura.

A minha co-orientadora Prof^a. Dra. Cíntia Badaró-Pedroso, pelo suporte no tempo que lhe coube, pelas suas correções, incentivos e por sempre acreditar na minha capacidade e minha orientadora Prof^a. Dra. Katharina Esteves, por toda ajuda e por confiar no nosso trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao Prof. Evandro Severino Rodrigues, por todo apoio, auxílio com a elaboração do projeto, redação da dissertação e com as coletas.

A Prof^a Dra Maria José Tavares Ranzani de Paiva pelo empréstimo de equipamentos de filtragem.

A Prof^a Dra Flávia Marisa Prado Saldanha-Corrêa por disponibilização das microalgas.

Ao Prof. Dr. Leonardo Tachibana, pela disponibilização dos antibióticos utilizados.

Agradecemos ao Centro de Pesquisa em recursos hídricos por disponibilizar a centrífuga e o espaço para cultivo dos organismos alimento.

Minha mãe, por sempre acreditar no meu potencial e estimular a curiosidade e o desejo de aprender mais e ao meu pai que, apesar de todas as dificuldades, me fortaleceu e é um exemplo na minha vida.

A minha namorada Grayce, por todo amor, incentivo, ajuda, apoio, compreensão e parceria durante todo o período de mestrado.

A minha irmã Maíra e ao Marcelo, por toda ajuda durante as coletas e pela hospedagem no Kick off.

Ao Hermann, pois, apesar da idade avançada, sempre me ajudou durante todo o mestrado.

Agradeço á todos que ajudaram diretamente ou indiretamente a realização desse trabalho.

Sumário

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVO GERAL	7
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
REFERÊNCIAS	8
ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	13
<i>ABSTRACT</i>	1
<i>RESUMO</i>	2
<i>INTRODUÇÃO</i>	3
<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	7
Coleta dos organismos	7
Parâmetros de qualidade da água	7
Processamento e transporte dos organismos	8
Manutenção laboratorial	8
Desenho experimental	9
Preparo das soluções de antibióticos	9
Cultivo da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i>	9
Cultivo dos rotíferos <i>Brachionus plicatilis</i>	9
Eclosão dos náuplios de artêmia	9
Experimento de sobrevivência e desenvolvimento	10
Análise estatística	11
<i>RESULTADOS</i>	12
Período de desenvolvimento embrionário até eclosão	12
Fases do desenvolvimento observadas	13
Sobrevivência das larvas nos tratamentos com alimentação	17
Sobrevivência das larvas nos tratamentos com antibiótico –T1 e T2	18
<i>DISCUSSÃO</i>	19
Manutenção das fêmeas ovígeras e momento da desova	19
Desenvolvimento	20
Temperatura e o desenvolvimento	21
Tratamentos com diferentes dietas	22
Tratamentos com antibióticos	23
Sobrevivência dos organismos	25
<i>CONCLUSÃO</i>	25
<i>REFERÊNCIAS</i>	25
CONSIDERAÇÕES FINAIS	31

RESUMO

Informações sobre o desenvolvimento larval do siri *Achelous spinimanus* são escassas e não há registro do seu desenvolvimento até a fase de juvenil em laboratório. O presente estudo visou estabelecer as condições ideais de alimentação e profilaxia para o desenvolvimento da espécie em laboratório. Fêmeas ovígeras foram coletadas em Ilhabela, São Paulo e transportadas para o Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, Brasil. Larvas de zoea I foram mantidas em condições controladas de salinidade de 35, temperatura de 29° C, fotoperíodo de 12 h de luz com diferentes dietas e tratamentos com antibióticos. Para cada tratamento foram preparadas dez réplicas. Os controles consistiram de água do mar irradiada com lâmpada ultravioleta mantidos com (C1) e sem alimentação (C2) constituída de náuplios de artêmia. Os tratamentos com antibióticos das larvas alimentadas somente com artêmia consistiram de estreptomicina (T1 = 1,0 mg.L-1) e vancomicina (T2 = 1,0 mg.L-1). Os experimentos de alimentação receberam dietas combinadas que consistiram da microalga *Nannochloropsis oculata* e de náuplios de artêmia recém eclodidos (A1), do rotífero *Brachionus plicatilis* e náuplios de artêmia recém eclodidos (A2), e a combinação dos três (A3). No controle C2 sem alimentação houve 100% de mortalidade das larvas na fase de zoea I após 4 dias. No controle C1 com artêmia, foi observado desenvolvimento até a fase de megalopa com 30% de sobrevivência no 26° dia. Nas dietas A1 (microalga+artêmia) e A3 (microalga+rotífero+artêmia) foi observado desenvolvimento até a fase de megalopa com 20 e 50 % de sobrevivência no 25° e 21° dias, respectivamente. Na dieta A2 (rotífero+artêmia) foi observado desenvolvimento até a fase de zoea IV com 50% de sobrevivência no 15° dia. No tratamento com estreptomicina (T1) foi observado desenvolvimento até a fase de juvenil VI com 20% de sobrevivência no 58° dia. Neste tratamento (T1) foram observadas seis fases de zoea, uma de megalopa e seis estágios de juvenil. No tratamento com vancomicina (T2) foi observado desenvolvimento até a fase de zoea IV com 40% de sobrevivência no 13° dia. O tratamento T1 apresentou o melhor desenvolvimento dos organismos. A

alimentação apenas com náuplios de artêmia mostrou-se adequada para o desenvolvimento até o estágio de juvenil e o tratamento das larvas com uso contínuo do antibiótico estreptomicina foi o único que apresentou o desenvolvimento até a fase de juvenil VI, evitando possível contaminação bacteriana.

Termos para indexação: Antibióticos; *Nannochloropsis oculata*; *Brachionus plicatilis*; Brachyura; estágios larvais; portunídeo.

ABSTRACT

Information on the larval development of *Achelous spinimanus* crab is scarce and there is no record of its development until the juvenile stage in the laboratory. The present study aimed to establish the ideal feeding conditions and prophylaxis for the development of the species in the laboratory. Ovigerous females were collected in Ilhabela, São Paulo and transported to the Institute of Fisheries of the Department of Agriculture of the State of São Paulo, Brazil. Zoea I larvae were kept under controlled conditions of salinity of 35, temperature of 29° C, photoperiod of 12 h of light with different diets and treatments with antibiotics. Ten replicates were prepared for each treatment. The controls consisted of seawater irradiated with ultraviolet light maintained with (C1) and without feeding (C2) constituted of artemia nauplii. The antibiotic treatments of larvae fed only with artemia consisted of streptomycin (T1 = 1.0 mg.L⁻¹) and vancomycin (T2 = 1.0 mg.L⁻¹). Feeding experiments were fed diets consisting of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and newly hatched artemia (A1), rotifer *Brachionus plicatilis* and newly hatched artemia (A2), and the combination of the three (A3). In control C2 without feeding there was 100% mortality of larvae in the zoea I phase after 4 days. In control C1 with artemia, development until the megalopa phase with 30% survival on the 26th day was observed. In the diets A1 (microalga + artemia) and A3 (microalga + rotifer + artemia), development was observed up to the megalopa phase with 20 and 50% survival in the 25th and 21st days, respectively. In the diet A2 (rotifer + artemia), development was observed until the zoea IV phase with 50% survival

on the 15th day. Treatment with streptomycin (T1) showed development until the juvenile VI stage with a 20% survival on the 58th day. In this treatment (T1) six stages of zoea, one of megalopa and six stages of juvenile were observed. In treatment with vancomycin (T2), development was observed until the zoea IV phase with 40% survival on the 13th day. T1 treatment showed the best development of organisms. Feeding only with *Artemia* nauplii was adequate for juvenile stage development and treatment of larvae with continuous use of the antibiotic streptomycin was the only one to present development until juvenile VI stage, avoiding possible bacterial contamination.

Index terms: Antibiotics; *Nannochloropsis oculata*; *Brachionus plicatilis*; Brachyura; larval stages; portunideo.

INTRODUÇÃO GERAL

Achelous spinimanus (Latreille, 1819), conhecido no Brasil pelos nomes populares de “siri candeia” ou “siri canela”, possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo no Atlântico Ocidental, de Nova Jersey nos Estados Unidos até as Guianas, e no Brasil do estado de Pernambuco ao Rio Grande do Sul, em águas salobras de canais e baías, em fundos de areia, cascalho, conchas e lama (Melo, 1996) e a partir de águas rasas até 550 m de profundidade (Williams, 1984).

No Brasil, a captura de siris da família dos portunídeos ocorre praticamente ao longo de toda a costa e apresenta importância social e econômica, embora grande parte dessa captura ainda seja praticada de forma artesanal ou como fauna acompanhante, principalmente, na pesca do camarão-sete-barbas (Severino-Rodrigues et al., 2001, 2002; Graça-Lopes et al., 2002; Coelho e Santos, 2004, Scalco et al., 2014). *A. spinimanus* por ocorrer em águas mais profundas também é capturado frequentemente pelas frotas de arrasto de portas de pequeno e médio porte, dirigidas ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), camarões rosa (*Farfantepenaeus paulensis*, *F. brasiliensis*) e lagostim (*Metanephrops rubellus*), (Severino-Rodrigues et al., 2007), bem como pela frota de parelha (De Carli et al., 2014).

Atualmente, tem-se mostrado um grande interesse no cultivo do siri-mole, utilizando espécies como as do gênero *Achelous* (Amancio, 2013), sendo uma forma alternativa de se obter um alto valor comercial e maior rendimento através de uma produção sincronizada com o período de crescimento e mudas desses organismos. Apresenta também tamanho corporal grande quando comparado a outros portunídeos, carne com sabor adequado ao consumo (Branco et al., 2002) e uma elevada resistência ao estresse resultante da arte de coleta utilizada, exposição ao ar, manuseio e a perda de apêndices (Moreira et al., 2011).

Mendonça et al. (2010), relataram que o aumento do esforço pesqueiro em áreas de elevada conservação, como no estuário de Cananéia-Iguape e Ilha Comprida, ou a diversificação das capturas, geralmente dirigidas a machos

adultos com maior participação de fêmeas e jovens, representa um risco efetivo as populações destes portunídeos.

Diante deste cenário houve um compromisso internacional do Brasil junto a Convenção sobre Diversidade Biológica, trabalhando com diversos instrumentos de gestão ambiental, dentre eles os “Planos de Gestão” para as espécies de interesse econômico. No anexo II estão incluídos três braquiúros – Caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*), Guaiamúm (*Cardisoma guanhumi*) e o Siri-azul (*Callinectes sapidus*). O Plano Nacional de Gestão das três espécies também estabelece que sejam estimulados programas específicos de suporte para as ações, que inclui o Programa de Pesquisa. Esse programa abordará assuntos de importância para o contínuo desenvolvimento do planejamento proposto, como análises de densidade, abundância e zonação; estatística pesqueira; estrutura populacional; capacidade de suporte; tamanho de primeira maturação e o repovoamento (Pinheiro e Rodrigues, 2011). Esse Plano de Gestão foi implementado parcialmente e inclui apenas a espécie de siri *C. sapidus*, classificada como dados insuficientes (DD) pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - Centro de Pesquisa e Conservação da Biodiversidade Marinha do Sudeste e Sul, pela ausência de informações sobre a biologia pesqueira, dados sobre a captura e as condições ambientais das áreas onde essa espécie habita. A espécie de siri *A. spinimanus* foi classificada como menos preocupante (LC) pelo Plano Nacional de Gestão por apresentar ampla distribuição, alta taxa de fecundidade, crescimento rápido e reprodução ao longo do ano. Apesar dessas características, a espécie ocupa nichos ecológicos restritos, e é explorada comercialmente como fauna incidental ou direcionada (Santos et al., 1994; Santos e Negreiros-Fransozo, 1999; Branco et al., 2002a; De-Carli et al., 2016). De-Carli et al. (2016) observaram em um estudo realizado no litoral do estado de São Paulo, a presença de fêmeas ovígeras em todas as estações do ano, utilizando para a reprodução áreas onde embarcações realizam a pesca com arrasto de parelha.

O conhecimento do ciclo reprodutivo e do desenvolvimento larval de espécies submetidas à ação antrópica da pesca em seu ambiente natural são importantes para que se possa estimar o impacto da atividade sobre essas

populações e conseqüentemente o estabelecimento de programas de manejo (Pinheiro e Fransozo, 1998), além de estimar a disponibilidade de reposição dos estoques através das fêmeas desovantes e larvas viáveis (Arshad et al., 2015).

Estudos realizados com *A. spinimanus* por Santos e Negreiros-Fransozo (1999), na região de Ubatuba (SP) identificaram que a espécie apresenta reprodução contínua e desova total, mas com ninhadas sucessivas, que sugerem uma desova múltipla durante o período de reprodução e que provavelmente lhe proporciona maior capacidade de resiliência.

As descrições e metodologias respectivas ao desenvolvimento larval com a espécie *A. spinimanus* são escassas, com descrições apenas da fase de zoea I (Lebour, 1950; Mantelatto et al., 2018), da fase de megalopa (Negreiros-Fransozo et al., 2007) e da fase de juvenil (Junior e Fransozo., 2016). A limitação destes estudos deve-se provavelmente, a dificuldades na manutenção das larvas pelo desconhecimento da nutrição correta nas fases iniciais. Nessas fases do desenvolvimento as larvas são organismos que possuem pouca mobilidade, sendo dispersos pelas correntes oceânicas, constituindo parte do zooplâncton.

Alguns autores obtiveram sucesso em larviculturas de decápodos ao fornecer dietas mistas compostas por microalgas, rotíferos e náuplios recém eclodidos de *Artemia sp* (Cahuich et al., 2002; Canino, 2002; Silva, 2002; Souza et al., 2006).

Baylon, (2009) estudou o desenvolvimento larval do siri *Scylla tranquebarica* utilizando como alimentação náuplios recém eclodidos de artêmia ou rotíferos, sendo estes alimentos ofertados em combinação ou separadamente e também em diferentes densidades. Foi observado uma maior sobrevivência, desenvolvimento mais rápido e uma maior incidência de larvas se metamorfoseando para megalopa nos tratamentos que receberam a dieta combinada de rotíferos e náuplios de artêmias. A suplementação da alimentação viva utilizando microalgas também é muito estudada. Microalgas são essenciais na criação comercial de várias espécies de moluscos, crustáceos e peixes, pois são importantes fontes de proteínas, lipídeos, ácidos graxos e ácido ascórbico. Quando acrescentadas diretamente nos tanques de

cultivos de larvas, desempenham papel importante na estabilização da qualidade da água e controle microbiano (Lavens e Sorgeloos, 1996).

A microalga *Nannochloropsis oculata* foi escolhida para o presente trabalho, pois possui alto conteúdo de ácido graxo essencial eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA), sendo uma excelente dieta para enriquecimento nutricional de alimentos vivos, como rotíferos. Rotíferos, como *Brachionus plicatilis*, possuem um tamanho adequado para captura de diferentes organismos em fases larvais, sendo seu cultivo simples. Possuem reprodução rápida, e podem ser facilmente enriquecidos com microalgas, conferindo-lhes um maior valor nutricional (Lavens e Sorgeloos, 1996). Hoq et al. (2014) enriqueceram rotíferos com a microalga *Nannochloropsis* e náuplios de artêmia com a microalga *Chaetoceros* para a alimentação das fases larvais do siri *Scylla serrata*, observando o desenvolvimento até o estágio de juvenil. A alimentação mostrou-se adequada, mas houve mortalidade decorrente de contaminação bacteriana. Gunarto e Parenrengi (2016) trabalharam com a suplementação de náuplios de artêmia por microalgas *Nannochloropsis* sp, oferecendo-as em diferentes fases do desenvolvimento larval do siri *Scylla Olivacea*, e concluíram que as larvas do tratamento alimentado a partir da fase de zoea III apresentaram um maior índice de desenvolvimento larval e maior ocorrência de megalopa.

Para o cultivo das fases larvais do siri *Scylla serrata* a dieta fornecida também constitui de rotíferos enriquecidos, antes de serem ofertados, com a microalga *Nannochloropsis* e de náuplios de artêmia enriquecidos com *Chaetoceros*. A alimentação mostrou-se adequada, sendo constatada mortalidade decorrente de contaminação bacteriana (Hoq et al., 2014).

Os requisitos mais importantes no cultivo durante as fases larvais são a disponibilidade de água e de alimentos de qualidade. A principal dificuldade se deve a mortalidade decorrente de contaminação por microorganismos e por fungos, e o desafio é o desenvolvimento de tratamentos profiláticos para a prevenção de interações microbianas (Hoq et al., 2014).

Kasry (1986) constatou que larvas zoea de *Scylla serrata* alimentadas com rotíferos e artêmia que receberam banhos profiláticos dos antibióticos penicilina-G e polimixina-B apresentavam uma elevada taxa de sobrevivência.

Gardner e Northam (1997) testaram diversos tratamentos profiláticos em seu experimento com larvas do caranguejo *Pseudocarcinus gigas*. Realizaram banhos com oxitetraciclina, trifluralina, carbendazim, oxicloreto de cobre, verde de malaquita e formalina. Observaram melhora na sobrevivência no tratamento com oxitetraciclina, trifluralina, carbendazim e oxicloreto de cobre, porém, alguns tratamentos apresentaram modificações no tamanho e forma das megalopa.

Azam e Narayan (2013) avaliaram qual a melhor concentração e duração no uso seguro da oxitetraciclina no processo de cultivo de larvas de *Scylla serrata*, concluindo que as larvas que receberam o tratamento com esse antibiótico tiveram uma maior sobrevivência quando comparada ao controle. Também observaram que o uso desse antibiótico até o estágio de zoea II apresentou melhor taxa de crescimento, evitando possíveis contaminações decorrentes da alimentação fornecida de rotíferos nessa fase do desenvolvimento. O uso estendido do antibiótico até o estágio de zoea IV resultou na menor porcentagem de larvas realizando metamorfose para megalopa, devido possivelmente ao surgimento de bactérias resistentes ao antibiótico, resultando a uma desaceleração do crescimento larval.

Tratamentos com banhos profiláticos dentre eles o iodo (Silva, 2002) e os antibióticos penicilina e estreptomicina (Ali, 1974; Stuck e Truesdale, 1988), nitrofurazona (Silva, 2002) e clorafenicol (Souza et al., 2006) já foram testados em ovos e larvas de organismos cultivados para o controle de bactérias, fungos e protozoários (Ally, 1974; Liao et al., 2000; Silva, 2002; Souza et al., 2006).

Hoq et al. (2014) observaram mortalidade na fase crítica de metamorfose para megalopa em seu cultivo com *Scylla serrata*, administrando o antibiótico furacin em banhos contínuos, obtendo bons resultados.

Wan et al. (2011) observaram mortalidade no cultivo de juvenis e adultos de *Portunus trituberculatus* e estudaram o efeito do antibiótico cloridrato de vancomicina em *Vibrio metschnikovii* isolado dos siris e observaram sensibilidade moderada da bactéria LGS-1 a este antibiótico.

Agostini et al. (2016) avaliaram o efeito do uso dos antibióticos penicilina G, sulfato de estreptomicina e sulfato de neomicina em bactérias livres e de biofilme e sua meia vida em ambiente marinho artificial. Utilizaram como

bioindicador do efeito tóxico dos antibióticos o copépode *Acartia tonsa*. Concluíram que a combinação dos antibióticos aplicados na água do sistema não resultou em efeitos letais para o organismo não alvo, no caso o copépode. O efeito de inibição bacteriana ocorre nas primeiras 6 horas de exposição e reduz a densidade bacteriana em até 93%. No entanto, apresenta meia-vida curta, exigindo renovação da dose após 12 horas. A combinação dos antibióticos e seus efeitos na comunidade bacteriana não interferiram na qualidade da água do cultivo durante o período de estudo.

OBJETIVO GERAL

Avaliar quais são as condições alimentares e de profilaxia adequadas para o desenvolvimento das fases iniciais do siri candeia *Achelous spinimanus* em laboratório.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o efeito de dieta simples (artêmia) e combinada (artêmia+microalga; artêmia+rotífero; artêmia+microalga+rotífero) sobre a sobrevivência e desenvolvimento das larvas de *A. spinimanus* até a fase de juvenil;
2. Avaliar o efeito dos antibióticos sulfato de estreptomicina e cloridrato de vancomicina no desenvolvimento e sobrevivência das larvas de *A. spinimanus* alimentadas com artêmia até a fase de juvenil.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, V. O.; MACEDO, A. J.; MUXAGATA, E. 2016. Evaluation of antibiotics as a methodological procedure to inhibit free-living and biofilm bacteria in marine zooplankton culture. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88, 733-746.

AGOSTINI, V. O.; MACEDO, A. J.; MUXAGATA, E. 2016 Evaluation of antibiotics as a methodological procedure to inhibit free-living and biofilm bacteria in marine zooplankton culture. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 88: 733-746.

ALLY, J.R.R. 1974 A description of the laboratoryreared first and second zoeae of *Portunus xantusii* (Stimpson) (Brachyura, Decapoda). *California Fish and Game*, 60(2): 74–78.

AMANCIO, N. 2013 Espécies de siri utilizadas na produção de siri mole. *Revista Ceciliana*, v. 5, n.1,p.13-15. Angel/publication/235256039_Cultivo_de_larvas_de_la_jaiba_azul_Callinectes_sapidus_en_condiciones_de_laboratorio_en_la_Isla_del_Carmen_Campeche_Mexico_Mexico/links/0deec52a8ee312ec10000000.pdf

ARSHAD, A.B ; EFRIZAL, E; KAMARUDIN, M.S;.SAAD, C.R. 2006 study on fecundity, embryology and larval development of blue swimming crab *Portunus pelagicus* (linnaeus, 1758) under laboratory conditions. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 1(1): 35-44.

AZAM, K.; NARAYAN, P. 2013. Safe usage of antibiotic (Oxytetracycline) in larval rearing of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskål, 1775) in Fiji. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5(2), 209-213.

AZAM, K.; NARAYAN, P. 2013 Safe usage of antibiotic (Oxytetracycline) in larval rearing of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskål, 1775) in Fiji. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5(2), 209-213.

BAYLON, J. C. 2009. Appropriate food type, feeding schedule and Artemia density for the zoea larvae of the mud crab, *Scylla tranquebarica* (Crustacea: Decapoda: Portunidae). *Aquaculture*, 288(3-4), 190-195.

BRANCO, J. O.; LUNARDON-BRANCO, M.J; SOUTO, F.X. 2002 Estrutura populacional de *Portunus spinimanus* Latreille (Crustacea,

Portunidae) na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(3): 731-738.

CAHUICH, F. J. B.; DEL ANGEL, L. E. A.; ALONSO, R. V.; RODRÍGUEZ, P. C. 2002 Cultivo de larvas de la Jaiba Azul *Callinectes sapidus* en condiciones de laboratorio en la Isla del Carmen, Campeche, México. CIVA, p.122-128. https://www.researchgate.net/profile/Luis_Enrique_Amadordel_

CANINO RODRIGO REYES 2002 Estudios básicos sobre larvicultura de la jaiba azul *Callinectes sapidus* (Rathbun). CIVA, p. 282-291

COELHO, P. A.; SANTOS, M. C. F. 2004 Siris do estuário do rio Una, São José da Coroa Grande, Pernambuco - Brasil (Crustacea, Decapoda, Portunidae). *Boletim técnico científico CEPENE* 12(1):187-194.

DE-CARLI, B. P.; SEVERINO-RODRIGUES, E.; ROTUNDO, M. M.; MUSIELLO-FERNANDES, J.; ANCONA, M. C. 2016 Fecundidade e morfometria de *Achelous spinimanus* (Latreille, 1819) (Brachyura, Portunidae) capturado no litoral do estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(4), 487-495.

GARDNER, C.; NORTHAM, M. 1997 Use of prophylactic treatments for larval rearing of giant crabs *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture*, 158(3-4), 203-214.

GARDNER, C.; NORTHAM, M. 1997. Use of prophylactic treatments for larval rearing of giant crabs *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture*, 158(3-4), 203-214.

GRAÇA-LOPES, R.; TOMÁS, A.R.G.; TUTUI, S.L.S.; SEVERINO-RODRIGUES, E.; PUZZI, A. 2002 Fauna acompanhante da pesca camaroeira no litoral do Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 28(2):173-188.

GUNARTO, G.; PARENRENGI, A. 2016 Crablet of Mud Crab *Scylla Olivacea* Production from the Different Stages of Larvae fed Artemia Nauplii Enriched Using *Nannochloropsis* sp. *International Journal of Agriculture System*, 4(2), 132-146.

HOQ, M.E., SEIN, A.; KHAN, M.S.K.; DEBNATH, P.P.; Q.A.Z.M. KUDRAT-E-KABIR 2014. Captive breeding of mud crab *Scylla serrata*

(Forsskål, 1975) in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Zoology*. 42(2): 295-299.

JÚNIOR, E. A. B.; FRANSOZO, M. L. N. 2016. Morphology of juvenile phase of *Achelous spinimanus* (Latreille, 1819)(Crustacea, Decapoda, Portunidae) reared in laboratory. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96(3), 615-631.

KASRY, A. 1991. Pengaruh antibiotik dan makanan terhadap kelulushidupan dan perkembangan larva kepiting bakau (*Scylla serrata* Forsskål). *Jurnal Penelitian Institut Pertanian Bogor*, 12(2), 568-570.

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. 1996 Manual on the production and use of life food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No 361. Rome: FAO, cap. 1, p. 1-6.

LEBOUR, M. V. 1950 Notes on some larval decapods (Crustacea) from Bermuda. *Journal of Zoology*, 120(2), 369-379.

LIAO, I. C.; GUO, J. J.; SU, M. S. 2000 The use of chemicals in aquaculture in Taiwan, Province of China. In *Use of Chemicals in Aquaculture in Asia: Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia 20-22 May 1996, Tigbauan, Iloilo, Philippines.*). SEAFDEC Aquaculture Department. (pp. 193-205)

MANTELATTO, F. L.; PANTALEÃO, J. A.; CUESTA, J. A.; FRANSOZO, A. D. I. L. S. O. N.; FELDER, D. L. 2018 The first zoeal stage morphology of *Achelous spinimanus* (Latreille), *A. gibbesii* (Stimpson), and *Portunus sayi* (Gibbes)(Decapoda, Brachyura) provides support for molecular phylogeny. *Zootaxa*, 4378(1), 71-84.

MELO, G. A. S. 1996. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Plêiade. 603p

MENDONÇA, J.T.; VERANI, J.R.; NORDI, N. 2010 Avaliação e gestão da pesca do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda: Portunidae) no estuário de Cananéia, Iguape e Ilha Comprida, SP, Brasil. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, 70(1): 37-45.

MOREIRA, F. N.; VIANNA, M.; LAVRADO, H. P.; SILVA-JUNIOR, D. R.; KEUNECKE, K. A. 2011 Survival and physical damage in swimming crabs

(Brachyura, Portunidae) discarded from trawling fisheries in an estuarine ecosystem in southeastern Brazil. *Crustaceana*, 84(11), 1295-1306.

PINHEIRO, M. A. A.; FRANZOZO, A. 1998 Sexual maturity of the speckled swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Lamarck, 1818) (Decapoda, Brachyura, Portunidae), in the Ubatuba littoral, São Paulo state, Brazil. *Crustaceana* 71 (6):434-452.

PINHEIRO, M. A. A.; RODRIGUES, A. M. T. 2011 Crustáceos sobre-explotados e o plano nacional de gestão dos caranguejos uçá (*Ucides cordatus*), guaiamú (*Cardisoma guanhumi*) e do siri-azul (*Callinectes sapidus*): uma estratégia para evitar que passem ao “status” de ameaçados de extinção. *Rev. CEPSUL*, v. 2, n. 1, p. 50-57.

SANTOS, S.; NEGREIROS-FRANZOZO, M. L. 1999 Reproductive cycle of the Swimming crab *Portunus spinimanus* Latreille (Crustacea, Decapoda, Brachyura) from Ubatuba, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(4), 1183-1193.

SCALCO, A. C.S.; SEVERINO-RODRIGUES, E.; SOUZA, M.R. de; FAGUNDES, F. TUTUI, L. dos S.; TOMÁS, A. R. G. 2014 Captura de siris pela comunidade da vila dos pescadores (Cubatão) no estuário de Santos-São Vicente (SP). *Boletim Instituto de Pesca*, São Paulo, 40(3): 389-395.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; PITA, J.B.; GRAÇA-LOPES, R. 2001 Pesca artesanal de siris (Crustácea, Decapoda, Portunidae) na região estuarina de Santos e São Vicente (SP), Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 27(1):7-10.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; GUERRA, D.S.F.; GRAÇA-LOPES, R. 2002 Carcinofauna acompanhante da pesca dirigida ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) desembarcada na praia do Perequê, Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 28(1):33-48.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; HEBLING, N.J.; GRAÇA-LOPES, R. 2007 Biodiversidade no produto da pesca de arrasto de fundo dirigida ao lagostim, *Metanephrops rubellus* (Moreira, 1903), desembarcado no litoral do estado de São Paulo, Brasil. *Boletim Instituto de Pesca*, 33(2): 171-182.

SILVA, U.A.T. 2002 Cultivos experimentais de caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do

Paraná (UFPR) - Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba - Pr (Brasil), 89pp.

SOUZA KPM.; COSTA RM.; ABRUNHOSA FA.; PEREIRA LCC. 2006 Efeito de diferentes dietas sobre a muda dos estágios iniciais de *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) (Decapoda: Ocypodidae). Bol Mus Para Emílio Goeldi 1(3):97–102.

STUCK, K. C.; TRUESDALE, F. M. 1988 Larval development of the speckled swimming crab, *Arenaeus cribrarius* (Decapoda: Brachyura: Portunidae) reared in the laboratory. *Bulletin of Marine Science*, 42(1), 101-132.

THORTON-DE VICTOR, S. U. S. A. N. 2007. The megalopa stage of *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 and *Portunus gibbesii* (Stimpson, 1859)(Decapoda, Brachyura, Portunidae) from the southeastern Atlantic coast of the United States. *Zootaxa*, 1638, 21-37.

WAN, X.; SHEN, H.; WANG, L.; CHENG, Y. 2011 Isolation and characterization of *Vibrio metschnikovii* causing infection in farmed *Portunus trituberculatus* in China. *Aquaculture international*, 19(2), 351-359.

WILLIAMS, A.B. 1984. Shrimps, lobsters and crabs of the Atlantic Coast of the eastern United States, Maine to Florida. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. 545p.

ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Avaliação de diferentes dietas e medidas profiláticas sobre o desenvolvimento larval do siri candeia *Achelous spinimanus* (latreille, 1819) em laboratório

Artigo redigido nas normas do periódico científico

Boletim do Instituto de Pesca

QUALIS B1

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DIETAS E MEDIDAS PROFILÁTICAS SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DO SIRI CANDEIA *Achelous spinimanus* (LATREILLE, 1819) EM LABORATÓRIO

Felipe von Atzingen Pereira de Araújo^{1,3}, Evandro Severino Rodrigues², Maria Letizia

Pettesse³, Katharina E. Esteves³, Cíntia Badaró-Pedroso³

¹ Bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Pesca, Instituto de Pesca, São Paulo (SP) – Brasil

² Capta Pescado Marinho, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto de Pesca. Avenida Bartolomeu de Gusmão, 192 - Santos (SP) – Brasil CEP 11030-906;

³ Instituto de Pesca. Avenida Francisco Matarazzo, 455 - São Paulo (SP) – Brasil CEP 05001-970;

Correspondência: Felipe A. Pereira-Araújo email: felipevon62@gmail.com

ABSTRACT

Information on the larval development of *Achelous spinimanus* crab is scarce and there is no record of its development until the juvenile stage in the laboratory. The present study aimed to establish the ideal feeding conditions and prophylaxis for the development of the species in the laboratory. Ovigerous females were collected in Ilhabela, São Paulo and transported to the Institute of Fisheries of the Department of Agriculture of the State of São Paulo, Brazil. Zoea I larvae were kept under controlled conditions of salinity of 35, temperature of 29° C, photoperiod of 12 h of light with different diets and treatments with antibiotics. Ten replicates were prepared for each treatment. The controls consisted of seawater irradiated with ultraviolet light maintained with (C1) and without feeding (C2) constituted of artemia nauplii. The antibiotic treatments of larvae fed only with artemia consisted of streptomycin (T1 = 1.0 mg.L⁻¹) and vancomycin (T2 = 1.0 mg.L⁻¹). Feeding experiments were fed diets consisting of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and newly hatched artemia (A1), rotifer *Brachionus plicatilis* and newly hatched artemia (A2), and the combination of the three (A3). In control C2 without feeding there was 100% mortality of larvae in the zoea I phase after 4 days. In control C1 with artemia, development until the megalopa phase with 30% survival on the 26th day was observed. In the diets A1 (microalga + artemia) and A3 (microalga + rotifer + artemia), development was observed up to the megalopa phase with 20 and 50% survival in the 25th and 21st days, respectively. In

the diet A2 (rotifer + artemia), development was observed until the zoea IV phase with 50% survival on the 15th day. Treatment with streptomycin (T1) showed development until the juvenile VI stage with a 20% survival on the 58th day. In this treatment (T1) six stages of zoea, one of megalopa and six stages of juvenile were observed. In treatment with vancomycin (T2), development was observed until the zoea IV phase with 40% survival on the 13th day. T1 treatment showed the best development of organisms. Feeding only with *Artemia nauplii* was adequate for juvenile stage development and treatment of larvae with continuous use of the antibiotic streptomycin was the only one to present development until juvenile VI stage, avoiding possible bacterial contamination.

Key words: Antibiotics; *Nannochloropsis oculata*; *Brachionus plicatilis*; Brachyura; larval stages; portunideo.

AValiação de diferentes dietas e medidas profiláticas sobre o desenvolvimento larval do siri CANDEIA *Achelous spinimanus* (LATREILLE, 1819) EM LABORATÓRIO

RESUMO

Informações sobre o desenvolvimento larval do siri *Achelous spinimanus* são escassas e não há registro do seu desenvolvimento até a fase de juvenil em laboratório. O presente estudo visou estabelecer as condições ideais de alimentação e profilaxia para o desenvolvimento da espécie em laboratório. Fêmeas ovígeras foram coletadas em Ilhabela, São Paulo e transportadas para o Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, Brasil. Larvas de zoea I foram mantidas em condições controladas de salinidade de 35, temperatura de 29° C, fotoperíodo de 12 h de luz com diferentes dietas e tratamentos com antibióticos. Para cada tratamento foram preparadas dez réplicas. Os controles consistiram de água do mar irradiada com lâmpada ultravioleta mantidos com (C1) e sem alimentação (C2) constituída de náuplios de artêmia. Os tratamentos com antibióticos das larvas alimentadas somente com artêmia consistiram de estreptomicina (T1 = 1,0 mg.L⁻¹) e vancomicina (T2 = 1,0 mg.L⁻¹). Os experimentos de alimentação receberam dietas combinadas que consistiram da microalga *Nannochloropsis oculata* e de náuplios de artêmia recém eclodidos (A1), do rotífero *Brachionus plicatilis* e náuplios de artêmia recém eclodidos (A2), e a combinação

dos três (A3). No controle C2 sem alimentação houve 100% de mortalidade das larvas na fase de zoea I após 4 dias. No controle C1 com artêmia, foi observado desenvolvimento até a fase de megalopa com 30% de sobrevivência no 26º dia. Nas dietas A1 (microalga+artêmia) e A3 (microalga+rotífero+artêmia) foi observado desenvolvimento até a fase de megalopa com 20 e 50 % de sobrevivência no 25º e 21º dias, respectivamente. Na dieta A2 (rotífero+ artêmia) foi observado desenvolvimento até a fase de zoea IV com 50% de sobrevivência no 15º dia. No tratamento com estreptomicina (T1) foi observado desenvolvimento até a fase de juvenil VI com 20% de sobrevivência no 58º dia. Neste tratamento (T1) foram observadas seis fases de zoea, uma de megalopa e seis estágios de juvenil. No tratamento com vancomicina (T2) foi observado desenvolvimento até a fase de zoea IV com 40% de sobrevivência no 13º dia. O tratamento T1 apresentou o melhor desenvolvimento dos organismos. A alimentação apenas com náuplios de artêmia mostrou-se adequada para o desenvolvimento até o estágio de juvenil e o tratamento das larvas com uso contínuo do antibiótico estreptomicina foi o único a apresentou o desenvolvimento até a fase de juvenil VI, evitando possíveis contaminações bacterianas.

Palavras-chave: Antibióticos; *Nannochloropsis oculata*; *Brachionus plicatilis*; Brachyura; estágios larvais; portunídeo.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a captura de siris da família dos portunídeos ocorre praticamente ao longo de toda a costa e apresenta importância social e econômica, embora grande parte dessa captura ainda seja praticada de forma artesanal ou como fauna acompanhante, principalmente, na pesca do camarão-sete-barbas (Severino-Rodrigues et al., 2001, 2002; Graça-Lopes et al., 2002; Coelho e Santos, 2004, Scalco et al., 2014). *A. spinimanus* por ocorrer em águas mais profundas também é capturado frequentemente pelas frotas de arrasto de portas de pequeno e médio porte, dirigidas ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), camarões rosa (*Farfantepenaeus paulensise*, *F. brasiliensis*) e lagostim (*Metanephrops rubellus*), (Severino-Rodrigues et al., 2007), bem como pela frota de parelha (De Carli et al., 2014).

O conhecimento do ciclo reprodutivo e do desenvolvimento larval de espécies submetidas à ação antrópica da pesca em seu ambiente natural são importantes para que se possa estimar o impacto da atividade sobre essas populações e consequentemente o estabelecimento de programas de manejo (Pinheiro e Fransozo, 1998), além de estimar a disponibilidade de reposição dos estoques através das fêmeas desovantes e larvas viáveis (Arshad et al., 2015).

Achelous spinimanus (Latreille, 1819), conhecido no Brasil pelos nomes populares de “siri candeia” ou “siri canela”, possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo no Atlântico Ocidental, de Nova Jersey nos Estados Unidos até as Guianas, e no Brasil do estado de Pernambuco ao Rio Grande do Sul, em águas salobras de canais e baías, em fundos de areia, cascalho, conchas e lama (Melo, 1996) e a partir de águas rasas até 550 m de profundidade (Williams, 1984). Estudos realizados com *A. spinimanus* por Santos e Negreiros-Fransozo (1999), na região de Ubatuba (SP) identificaram que a espécie apresenta reprodução contínua e desova total, mas com ninhadas sucessivas, que sugerem uma desova múltipla durante o período de reprodução e que provavelmente lhe proporciona maior capacidade de resiliência.

As descrições e metodologias respectivas ao desenvolvimento larval com a espécie *A. spinimanus* são escassas, com descrições apenas da fase de zoea I (Lebour., 1950; Mantelatto et al., 2018), da fase de megalopa (Negreiros-Fransozo et al., 2007) e da fase de juvenil (Júnior e Fransozo., 2016). A limitação destes estudos deve-se provavelmente, as dificuldades na manutenção das larvas pelo desconhecimento da nutrição correta nas fases iniciais. Nessas fases do desenvolvimento as larvas são organismos que possuem pouca mobilidade, sendo dispersos pelas correntes oceânicas, constituindo parte do zooplâncton.

Alguns autores obtiveram sucesso em larviculturas de decápodos ao fornecer dietas mistas compostas por microalgas, rotíferos e náuplios recém eclodidos de *Artemia sp* (Cahuich et al., 2002; Canino, 2002; Silva, 2002; Souza et al., 2006).

Baylon, (2009) estudou o desenvolvimento larval do siri *Scylla tranquebarica* utilizando como alimentação náuplios recém eclodidos de artêmia ou rotíferos, sendo estes alimentos ofertados em combinação ou separadamente e também em diferentes densidades. Foi observado uma maior sobrevivência, desenvolvimento mais rápido e uma maior incidência de larvas se metamorfoseando para megalopa nos tratamentos que receberam a dieta combinada de rotíferos e náuplios de artêmias. A suplementação

da alimentação viva utilizando microalgas também é muito estudada. Microalgas são essenciais na criação comercial de várias espécies de moluscos, crustáceos e peixes, pois são importantes fontes de proteínas, lipídeos, ácidos graxos e ácido ascórbico. Quando acrescentadas diretamente nos tanques de cultivos de larvas, desempenham papel importante na estabilização da qualidade da água e controle microbiano (Lavens e Sorgeloos, 1996).

A microalga *Nannochloropsis oculata* foi escolhida para o presente trabalho, pois possui alto conteúdo de ácido graxo essencial eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA), sendo uma excelente dieta para enriquecimento nutricional de alimentos vivos, como rotíferos. Rotíferos, como *Brachionus plicatilis*, possuem um tamanho adequado para captura de diferentes organismos em fases larvais, sendo seu cultivo simples. Possuem reprodução rápida, e podem ser facilmente enriquecidos com microalgas, conferindo-lhes um maior valor nutricional (Lavens e Sorgeloos, 1996). Hoq et al. (2014) enriqueceram rotíferos com a microalga *Nannochloropsis* e náuplios de artêmia com a microalga *Chaetoceros* para a alimentação das fases larvais do siri *Scylla serrata*, observando o desenvolvimento até o estágio de juvenil. A alimentação mostrou-se adequada, mas houve mortalidade decorrente de contaminação bacteriana. Gunarto e Parenrengi (2016) trabalharam com a suplementação de náuplios de artêmia por microalgas *Nannochloropsis* sp, oferecendo-as em diferentes fases do desenvolvimento larval do siri *Scylla olivacea*, e concluíram que as larvas do tratamento alimentado a partir da fase de zoea III apresentaram um maior índice de desenvolvimento larval e maior ocorrência de megalopa.

Para o cultivo das fases larvais do siri *Scylla serrata* a dieta fornecida foi constituída de rotíferos enriquecidos, antes de serem ofertados, com a microalga *Nannochloropsis* e de náuplios de artêmia enriquecidos com *Chaetoceros*. A alimentação mostrou-se adequada, sendo constatada mortalidade decorrente de contaminação bacteriana (Hoq et al., 2014).

Os requisitos mais importantes no cultivo durante as fases larvais são a disponibilidade de água e de alimentos de qualidade. A principal dificuldade se deve a mortalidade decorrente de contaminação por microorganismos e por fungos, e o desafio é o desenvolvimento de tratamentos profiláticos para a prevenção de interações microbianas (Hoq et al., 2014).

Kasry (1986) constatou que larvas zoea de *Scylla serrata* alimentadas com rotíferos e artêmia que receberam banhos profiláticos dos antibióticos penicilina-G e polimixina-B apresentavam uma elevada taxa de sobrevivência.

Gardner e Northam (1997) testaram diversos tratamentos profiláticos em seu experimento com larvas do caranguejo *Pseudocarcinus gigas*. Realizaram banhos com oxitetraciclina, trifluralina, carbendazim, oxiclreto de cobre, verde de malaquita e formalina. Obtiveram aumento na sobrevivência no tratamento com oxitetraciclina, trifluralina, carbendazim e oxiclreto de cobre, porem, alguns tratamentos apresentaram modificações no tamanho e forma das megalopa.

Azam e Narayan (2013) avaliaram qual a melhor concentração e duração no uso seguro da oxitetraciclina no processo de cultivo de larvas de *Scylla serrata*, concluindo que as larvas que receberam o tratamento com esse antibiótico tiveram uma maior sobrevivência quando comparada ao controle. Também observaram que o uso desse antibiótico até o estagio de zoea II apresentou melhor taxa de crescimento, evitando possíveis contaminações decorrentes da alimentação constituída por rotíferos nessa fase do desenvolvimento. O uso estendido do antibiótico até o estagio de zoea IV resultou na menor porcentagem de larvas realizando metamorfose para megalopa, devido possivelmente ao surgimento de bactérias resistentes ao antibiótico, resultando a uma desaceleração do crescimento larval.

Tratamentos com banhos profiláticos dentre eles o iodo (Silva, 2002) e os antibióticos penicilina e estreptomicina (Ali, 1974; Stuck e Truesdale, 1988), nitrofurazona (Silva, 2002) e clorafenicol (Souza et al., 2006) já foram testados em ovos e larvas de organismos cultivados para o controle de bactérias, fungos e protozoários (Ally, 1974; Liao et al., 2000; Silva, 2002; Souza et al., 2006).

Hoq et al. (2014) obtiveram mortalidade na fase critica de metamorfose para megalopa em seu cultivo com *Scylla serrata*, administrando o antibiótico Furacin em banhos contínuos, obtendo bons resultados.

Wan et al. (2011) observaram mortalidade no cultivo de juvenis e adultos de *Portunus trituberculatus* e estudaram o efeito do antibiótico cloridrato de vancomicina em *Vibrio metschnikovii* isolado dos siris e observaram sensibilidade moderada da bactéria LGS-1 a este antibiótico.

Agostini et al. (2016) avaliaram o efeito do uso dos antibióticos penicilina G, sulfato de estreptomicina e sulfato de neomicina em bactérias livres e de biofilme e sua

meia vida em ambiente marinho artificial. Utilizaram como bioindicador do efeito tóxico dos antibióticos o copépode *Acartia tonsa*. Concluíram que a combinação dos antibióticos aplicados na água do sistema não resultou em efeitos letais para o organismo não alvo, no caso o copépode. O efeito de inibição bacteriana ocorre nas primeiras 6 horas de exposição e reduz a densidade bacteriana em até 93%. No entanto, apresenta meia-vida curta, exigindo renovação da dose após 12 horas. A combinação dos antibióticos e seus efeitos na comunidade bacteriana não interferiram na qualidade da água do cultivo durante o período de estudo.

Informações sobre o desenvolvimento larval de *A. spinimanus* são escassas, deste modo, optou-se por seguir metodologias já empregadas no cultivo larval de outras espécies de portunídeos. Diante disto, os objetivos deste trabalho foram avaliar através da eclosão e utilização de larvas viáveis, quais alimentos são adequados à sobrevivência e desenvolvimento das larvas até a fase de juvenil, bem como estabelecer medidas profiláticas para auxiliar na sobrevivência dos organismos, contribuindo para o conhecimento básico da biologia da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta dos organismos

Foram realizadas três coletas direcionadas à captura de fêmeas ovígeras, no verão de 2017 e 2018, em Ilhabela, São Paulo, Brasil, nas coordenadas geográficas 23°47'07.9"S, 45°21'33.6"W. Um total de cinco fêmeas foram coletadas. As três fêmeas coletadas inicialmente foram utilizadas para experimentos piloto, servindo de base para a metodologia utilizada neste trabalho. Das outras duas, uma foi utilizada para a realização do experimento utilizando as larvas zoea I, que eclodiram no dia 03 de maio de 2018 e a segunda foi utilizada para observação do período embrionário. Para as coletas foram utilizadas armadilhas "sirizeira" do tipo puçá, iscadas com carcaças de peixes, colocadas a profundidade de aproximadamente 3 metros, onde permaneceram submersas por período mínimo de 15 minutos. As coletas foram realizadas no horário noturno, após as 23 horas, mais favorável a ocorrência de fêmeas ovígeras.

Parâmetros de qualidade da água

A temperatura da água foi registrada com termômetro de mercúrio no momento das coletas. Amostras de água foram coletadas e transportadas em

reservatórios de polipropileno com volume de 20 l, mantido em temperatura ambiente até o momento de análise em laboratório. A salinidade foi medida utilizando-se refratômetro da marca "Atago". O potencial hidrogeniônico (pH), a amônia tóxica (NH₃) e o nitrito (NO₂-) foram analisados utilizando-se testes colorimétricos da marca "Labcon". A cada coleta realizada foram observadas e registradas as fases lunares. Os parâmetros das características da água coletada foram reproduzidos durante a manutenção das fêmeas ovígeras e das larvas.

Processamento e transporte dos organismos

As fêmeas coletadas foram transportadas em caixas térmicas com 15 L de água do mar do local de coleta e mantidas com aeração constante até o laboratório multiusuário do Instituto de Pesca de São Paulo.

Manutenção laboratorial

As fêmeas ovígeras coletadas foram mantidas inicialmente em aquários de vidro com volume de 15L, aeração constante e renovação total diária de água. Os aquários foram posteriormente substituídos por tanques redondos com volume total de 50L de água do mar, com aeração e movimentação constante e um filtro interno com vazão de 150L/hora, com sistema de filtragem mecânica e mídia biológica composta de cascalho de concha triturada já maturada anteriormente durante 20 dias, devido à melhor eficiência em manter a qualidade da água durante o período de incubação. A salinidade da água foi mantida em 35. A temperatura da sala foi mantida a 25°C, com fotoperíodo controlado de 12 horas-luz, por iluminação artificial. Não foi fornecida nenhuma alimentação para as fêmeas ovígeras durante a incubação dos ovos. Diariamente, após a sifonagem do fundo do tanque, o sedimento separado era triado em busca de ovos que se desprendem da fêmea visando à documentação da fase embrionária.

Após a desova, as larvas foram atraídas com foco de luz, coletadas com mangueira de silicone e sifonagem suave e separadas em cristalizadores de vidros. Aos poucos, foi adicionada água do mar mantida com aeração constante, e esterilizada por radiação ultravioleta de 15 watts marca "Minjiang", salinidade 35. Uma amostra das larvas de cada desova foi fixada em formol 10 % para identificar a fase larval inicial.

Desenho experimental

Preparo das soluções de antibióticos

Os antibióticos sulfato de estreptomicina e cloridrato de vancomicina foram dissolvidos diretamente em água do mar filtrada e esterilizada por luz ultra violeta, mantida sobre forte aeração, através de bombas submersas com vazão de 150 litros/hora, na proporção de 0,1 mg. L⁻¹ modificado de Stuck e Truesdale (1988) e, Srinivasan e Ramasamy (2009). Diariamente as soluções foram preparadas para as trocas totais das unidades experimentais de cada tratamento correspondente.

Cultivo da microalga *Nannochloropsis oculata*

O cultivo da microalga *Nannochloropsis oculata* seguiu a metodologia de Azevedo et al. (2012). Para utilização das microalgas na alimentação dos rotíferos e larvas zoea de *A. spinimanus*, a cultura foi separada em tubos “Falcon” com 50 mL de volume, e centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos, utilizando centrifuga de tubos. O sobrenadante foi descartado, e as microalgas precipitadas foram ressuspendidas em água do mar autoclavada, salinidade 35.

Cultivo dos rotíferos *Brachionus plicatilis*

O cultivo dos rotíferos *B. plicatilis* foi realizado seguindo metodologia descrita no “Manual para produção e uso de alimento vivo para aquicultura” (Lavens e Sorgeloos, 1996). O cultivo foi mantido em 8 recipientes de vidro, com capacidade de 300 mL cada, utilizando-se água do mar com salinidade 30 previamente autoclavada a 120°C por 20 minutos. Cada recipiente era mantido com aeração e temperatura de 26°C. Os rotíferos foram alimentados diariamente com solução algal de *N. oculata*, de modo a tornar a água do cultivo esverdeada. As trocas totais da água dos cultivos foram realizadas a cada duas semanas, utilizando-se malhas de 90 e 120µm para separação dos rotíferos da água e demais sedimentos.

Eclosão dos náuplios de artêmia

A eclosão dos náuplios de artêmia seguiu os procedimentos descritos em Lavens e Sorgeloos (1996). A eclosão ocorreu após cerca de 48 horas, sendo os náuplios

recém eclodidos peneirados e lavados com água do mar irradiada por luz Ultra violeta, para serem utilizados como alimentação nos tratamentos correspondentes.

Experimento de sobrevivência e desenvolvimento

Foi utilizado um total de 70 larvas para os experimentos. As larvas em fase de zoea I, diferenciadas da pré zoea (Fig. 1) pela presença do espinho dorsal proeminente, foram distribuídas individualmente em recipiente de acrílico transparente, com volume de 30 mL cada, com 10 réplicas para cada tratamento realizado. A distribuição de um indivíduo por recipiente foi realizada para evitar possível canibalismo entre as larvas e facilitar o manuseio. Essa metodologia permite também que seja possível observar o desenvolvimento larval através da observação de exuvias. No experimento foi utilizada água do mar de Ilhabela do mesmo local de coleta irradiada por lâmpada ultravioleta (UV), mantida sob aeração até o momento da substituição diária. Os tratamentos com os antibióticos e com alimentação estão descritos na Tabela 1. As unidades experimentais foram mantidas em câmara germinadora climatizada em 29° C, com fotoperíodo controlado 12 h de luz. Diariamente os organismos foram observados e constatando-se mortes ou exuvias, estas eram conservadas em formol 10% e glicerina para documentação do estágio de desenvolvimento.

A renovação da água total de cada unidade experimental foi realizada diariamente com a adição dos antibióticos nos tratamentos referentes.

A alimentação nos tratamentos com antibióticos se deu por meio de náuplios recém eclodidos de *Artemia sp*, com exceção do controle C2, que não recebeu nenhuma alimentação. Nos tratamentos com alimentação foram fornecidos, além de náuplios recém eclodidos, uma suspensão da microalga *Nannochloropsis oculata* e rotíferos *Brachionus plicatilis*, respectivamente em cada tratamento realizado. Para megalopa e juvenil foram oferecidos, além de náuplios de artêmia recém eclodidos, fragmentos de peixes. Cada condição experimental foi mantida durante todos os dias do experimento. A alimentação foi fornecida *ad libitum*, de maneira a facilitar a captura pelas zoea. O experimento teve duração de 61 dias.

Tabela 1. Tratamentos com antibióticos e dietas fornecidas às larvas de *A. spinimanus* no experimento de sobrevivência e desenvolvimento larval.

Tratamentos	Características do tratamento	Réplicas
C1 - Controle	Náuplios de artêmia	10
C2 - Controle	Sem alimento	10
T1	Sulfato de Estreptomicina - 0,1 mg.L ⁻¹	10
T2	Cloridrato de Vancomicina - 0,1 mg.L ⁻¹	10
A1	Náuplios de artêmia + <i>Nannochloropsis oculata</i>	10
A2	Náuplios de artêmia + <i>Brachionus plicatilis</i>	10
A3	Náuplios de artêmia + <i>Brachionus plicatilis</i> + <i>N. oculata</i>	10

Análise estatística

Para a análise estatística da probabilidade de sobrevivência entre os tratamentos foi utilizada a curva de sobrevivência de Kaplan-Meier (KM) (1), e para testar e comparar uma ou demais curvas, o teste qui-quadrado (2), (Kleinbaum e Klein, 2005), utilizando a seguintes formulas:

$$S^{\wedge}(t(j)) = S^{\wedge}(t(j-1)) \times P^{\wedge} r (T > t(j) | T \geq t(j)) \quad (1)$$

$$\text{Log-rank statistic} = (O2 - E2)^2 / \text{Var}(O2 - E2) \quad (2)$$

A fórmula geral para a probabilidade de sobrevivência KM determina um tempo de insucesso $t(j)$, e analisa a probabilidade de sobrevivência do organismo após o tempo de insucesso, $t(j-1)$ (morte pelo tratamento), multiplicando pela probabilidade condicional de sobreviver ao tempo estipulado $t(j)$, dada a sobrevivência no tempo do experimento $t(j)$.

A fórmula de variância envolve o número no risco definido em cada grupo ($n_i j$) e o número de insucesso em cada grupo ($m_i j$) no momento j . A somatória é sobre todos os organismos distintos em um determinado tempo.

Foi utilizado o programa estatístico “Statistica StatSoft ®” para elaboração dos testes KM e Qui-quadrado e elaboração das curvas. Para elaboração dos gráficos de duração do desenvolvimento foi utilizado o programa Microsoft Office Excel.

RESULTADOS

A ocorrência de fêmeas ovígeras nas coletas realizadas durante à noite, próximas aos períodos lunares intitulados como “lua cheia” foi freqüente e, também foi comum a presença de fêmeas ovígeras carregando ovos com coloração escura, próximos da eclosão. As desovas e eclosão das larvas ocorreram próximas dos dias de maior visibilidade da lua (Tab 2).

Período de desenvolvimento embrionário até eclosão

O período embrionário observado variou entre 4 e 10 dias. Das fêmeas coletadas, quatro já apresentavam coloração da massa esponjosa laranja escuro no momento da coleta, levando 4 dias para a desova. Foi observado em uma das fêmeas o período de desenvolvimento embrionário de aproximadamente 10 dias (Tab. 2), com temperatura de 25°C, a partir da observação da coloração da massa esponjosa de ovos que a fêmea carrega. No início da observação, apresentavam coloração amarelo vivo, alterando de cor para laranja escuro e por fim, acinzentada. Ao apresentar coloração laranja escura, já é possível a observação de algumas estruturas, como o globo ocular.

Tabela 2. Coloração dos ovos das fêmeas de *A. spinimanus* coletadas em Ilhabela, São Paulo; parâmetros ambientais da água no momento da coleta; data de desova/eclosão e fase lunar observada no momento da coleta.

Nº de fêmea	Data coleta	Coloração dos ovos	Temp. °C	Salinidade	Data eclosão/desova larvas*	Fase Lunar
1	29/12/2017	Laranja escuro	26	35	02/01/2017	Minguante convexa
2	29/12/2017	Laranja escuro	26	35	02/01/2017	Minguante convexa
3	27/01/2018	Laranja escuro	27	36	31/01/2018	Minguante convexa
4	29/04/2018**	Laranja escuro	26,5	35	03/05/2018	Minguante convexa
5	29/04/2018	Amarelo vivo	26,5	35	09/05/2018	Minguante convexa

* coloração acinzentada da massa esponjosa no momento da desova/eclosão;

** (desova utilizada no experimento)

Fases do desenvolvimento observadas

A presença de larvas em estágio de pré zoea foi observada em algumas desovas com alta mortalidade de organismos, devido provavelmente ao menor volume de água no aquário onde as fêmeas ovígeras foram mantidas, resultando no acúmulo de compostos nitrogenados, mesmo com a troca total de água diariamente. Nesses casos, não foram utilizadas as larvas em fase de zoea I. Após constatar esse fato, passou-se a utilizar um reservatório com capacidade de 50 litros, com água do mar coletada em Ilhabela, mantida com aeração, filtragem mecânica e biológica, onde as fêmeas foram mantidas até a eclosão das larvas zoea.

Na fase de zoea I, cerca de 24 horas após a eclosão, foi possível observar as larvas predando náuplios de artêmia recém eclodidos (Fig. 1), demonstrando seu comportamento predatório.

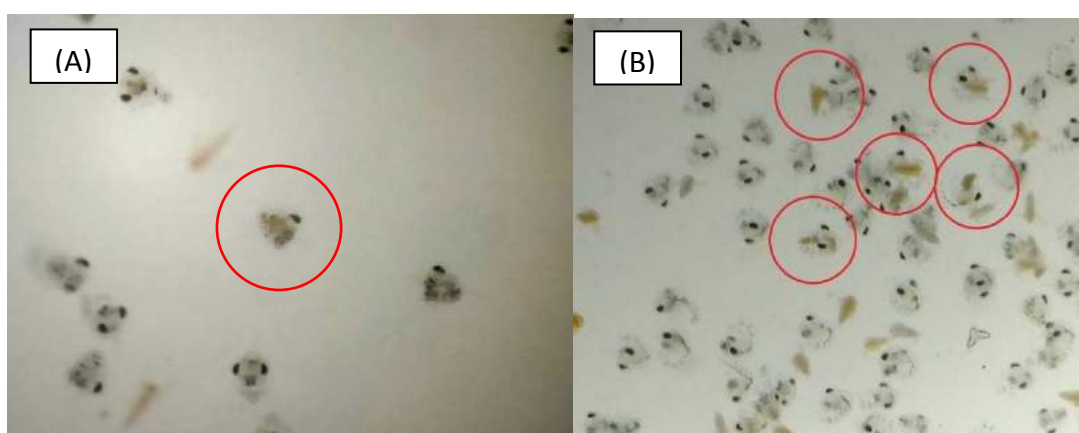


Figura 1. Zoea I com coloração alaranjada no estomago (A) e zoea I predando náuplios recém eclodidos de artêmia, evidenciados pelos círculos em vermelho (B).

Foram observadas 6 fases de zoea, 1 de megalopa e 6 para juvenil, conforme figuras 2 e 3. Pela metodologia empregada, ficamos limitados a fixação e conservação apenas dos organismos que vieram à obito durante os experimentos. No caso dos juvenis, foi realizada a conservação das exúvias (Fig. 3), que em alguns casos, já se apresentava danificada pelo próprio juvenil, que se alimenta da mesma após algumas horas da realização da muda.

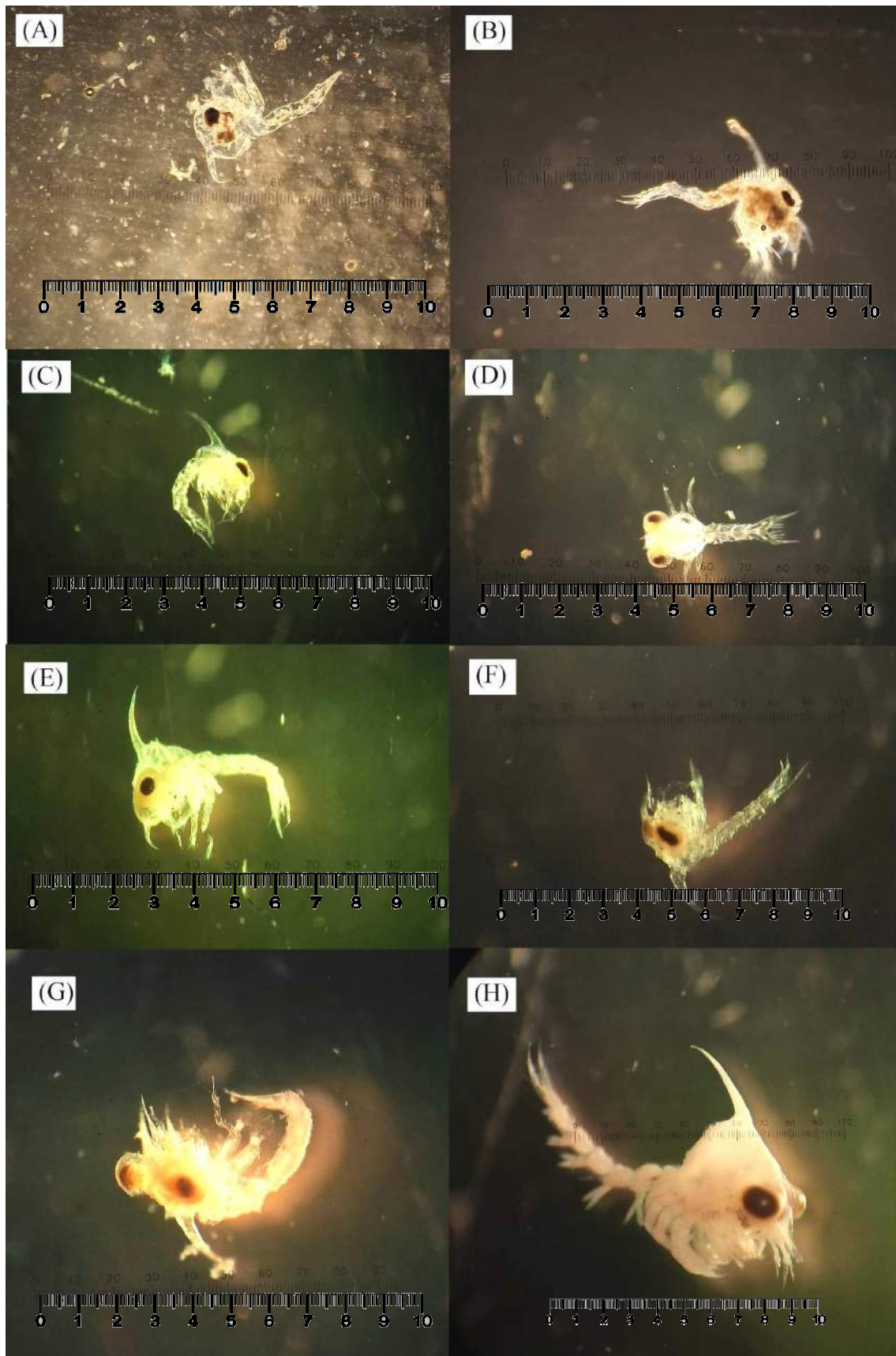


Figura 2. Fotos dos estagios larvais de *A. spinimanus* observados em laboratório - Pre zoea (A), zoea I (B), zoea II (C), zoea II (D), zoea III (E), zoea IV (F), zoea V (G) e Zoea VI (H). A escala possui 3mm de comprimento.



Figura 3. Fotos dos estágios de desenvolvimento de *A. spinimanus* observados em laboratório - megalopa (A) e juvenil I (B) com escala de 3mm de comprimento. Juvenil II (C) e juvenil III (D) com escala de 5 mm de comprimento. Juvenil IV (E) e Juvenil V (F) com escala de 9 mm de comprimento.

Durante a fase de megalopa, foi observado o comportamento de agarramento (Fig. 4A), onde adicionamos pedaços de lã acrílica para estimular a muda para o estágio subsequente. Em nosso experimento, foram observados juvenis se “enterrando” em areia fina (Fig. 4B).

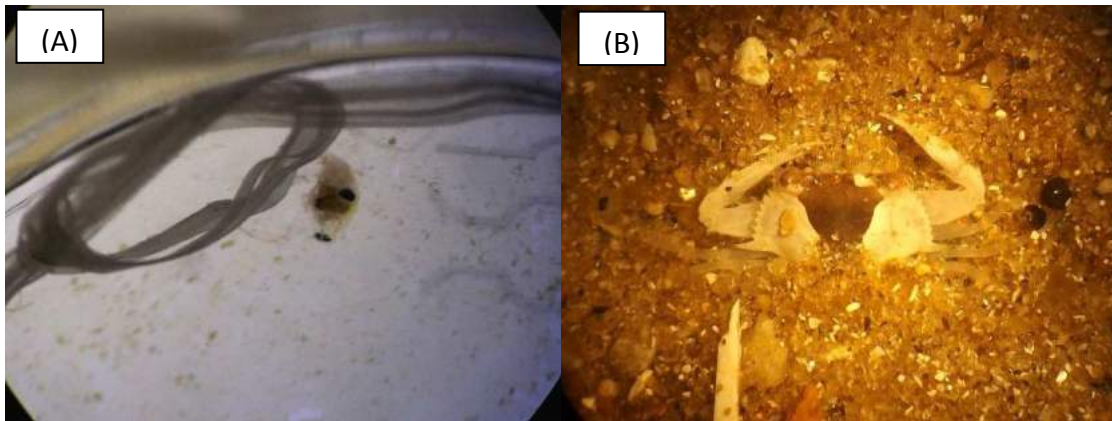


Figura 4. Megalopa fixada em um pedaco de lã acrilica (A) e juvenil semi enterrado no substrato (B).

No presente estudo, não foram verificados casos de supressão de fases no desenvolvimento.

O período de desenvolvimento de zoea I para megalopa teve duração entre 21 e 26 dias ocorrendo nos tratamentos T1 (estreptomicina), C1 (água do mar irradiada por UV mais alimentação), A1 (Náuplios de artêmia + *Nannochloropsis oculata*) e A3 (Náuplios de artêmia + *Brachionus plicatilis* + *Nannochloropsis oculata*) (Fig. 5 e 6).

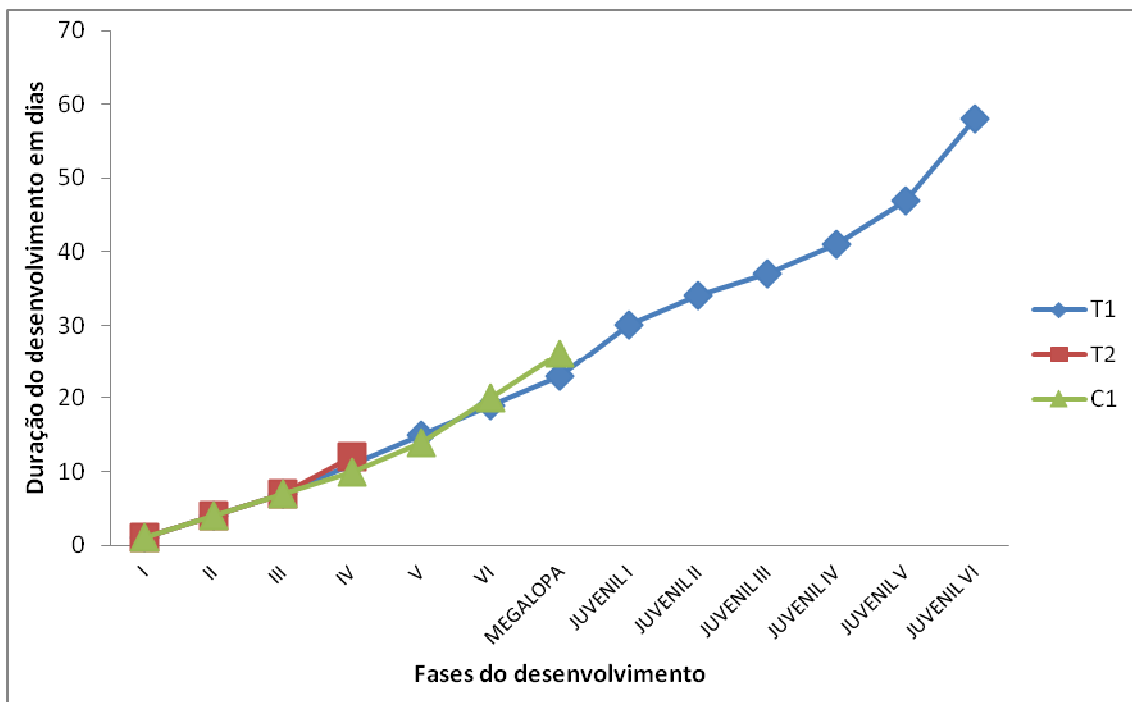


Figura 5. Duração em dias das fases do desenvolvimento observadas em *Achelous spinimanus* nos tratamentos T1 - Estreptomicina, T2 - Vancomicina e C1- controle com artemia .

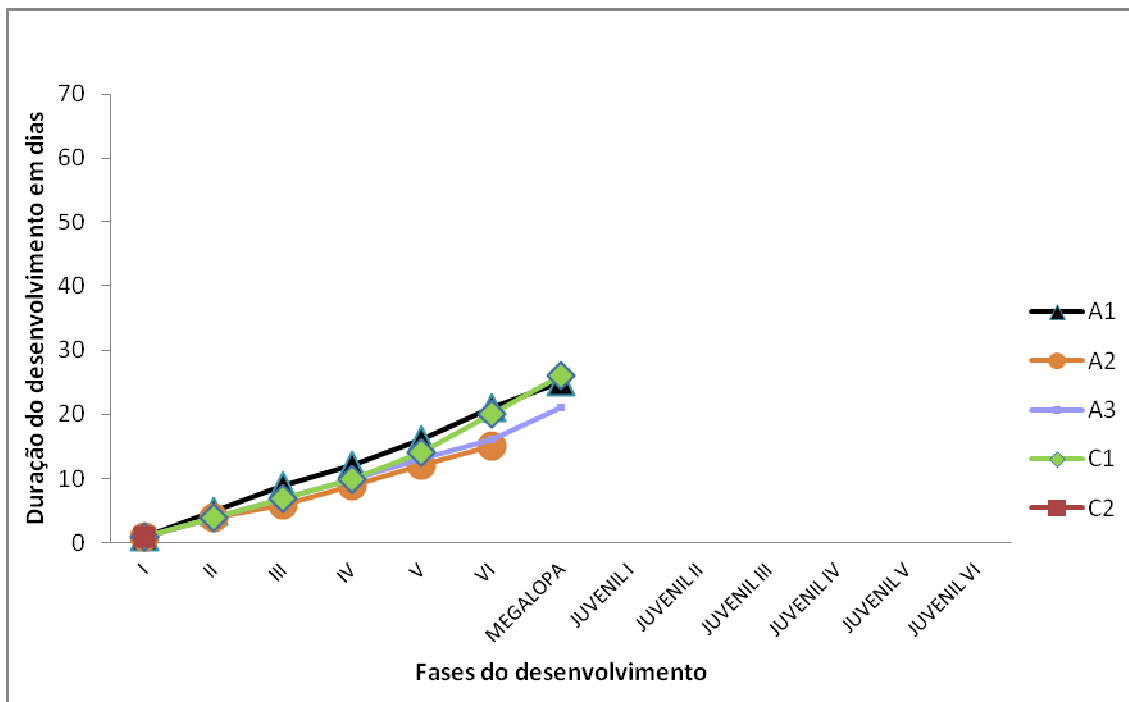


Figura 6. Duração em dias das fases do desenvolvimento observadas nos tratamentos com alimentação A1 (artêmia + microalga), A2 (artêmia + rotífero), A3 (artêmia + microalga + rotífero), C1 - controle com alimentação e C2 - controle sem alimentação.

O período de desenvolvimento da eclosão até juvenil I observado foi de 30 dias ocorrendo apenas no tratamento T1 (estreptomicina), (Fig. 5).

Sobrevivência das larvas nos tratamentos com alimentação

As zoea do grupo controle C2 (controle que não recebeu alimentação) sobreviveram até 4 dias. Os grupos controle C1 (com alimentação constituída por artêmia) e A1 (artêmia + *N. oculata*) sobreviveram durante 35 dias, com sobrevivência de 10% das larvas zoea, com a morte dos últimos organismos no 36º dia nesses tratamentos. No tratamento A2 (artêmia + *B. plicatilis*) as larvas sobreviveram durante 34 dias. As larvas do tratamento A3 (artêmia + *B. plicatilis* + *N. oculata*) sobreviveram durante 34 dias. Os valores observados pela análise estatística para a comparação entre estes cinco tratamentos apresentaram o seguinte valor:

$\text{Chi}^2 = 17.8818$ e $p = .00130$, apresentando diferença estatística significativa entre os tratamentos (Fig. 7).

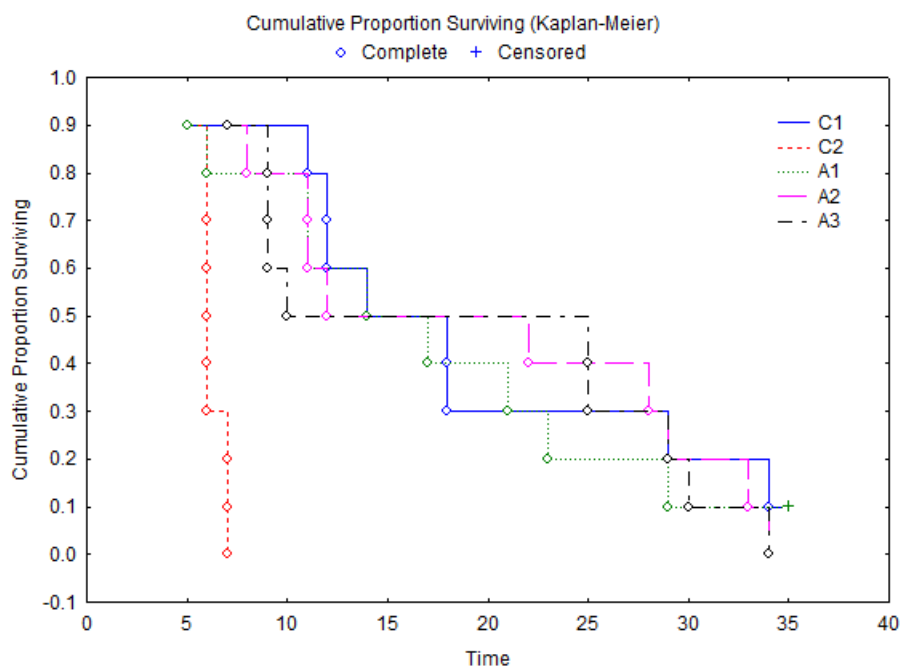


Figura 7. Probabilidade de sobrevivência em dias para os tratamentos com alimentação A1 (artêmia + *Nannochloropsis oculata*), A2 (artêmia + *Brachionus plicatilis*), A3 (artêmia + *Brachionus plicatilis* + *Nannochloropsis oculata*), C1(náuplios de artêmia) e C2 (sem alimento). O símbolo “O” representa mortes, o símbolo “+” representa as larvas sobreviventes.

Sobrevivência das larvas nos tratamentos com antibiótico –T1 e T2

Observamos o desenvolvimento até a fase de juvenil VI no tratamento T2 – Estreptomicina, com sobrevivência de 20% dos organismos (Fig.8), levando 58 dias da eclosão até juvenil VI. No tratamento T2 (Vancomicina), o tempo de sobrevivência foi de 21 dias, inferior ao controle C1 (controle com alimentação), que foi de 35 dias. No controle sem alimentação (C2), as larvas sobreviveram durante 4 dias. A análise estatística comparando os tratamentos T1, T2 , C1 e C2 apresentaram o seguinte valor : $\text{Chi}^2 = 14.6866$ e $p = .00211$, apresentando diferença estatística significativa entre os tratamentos.

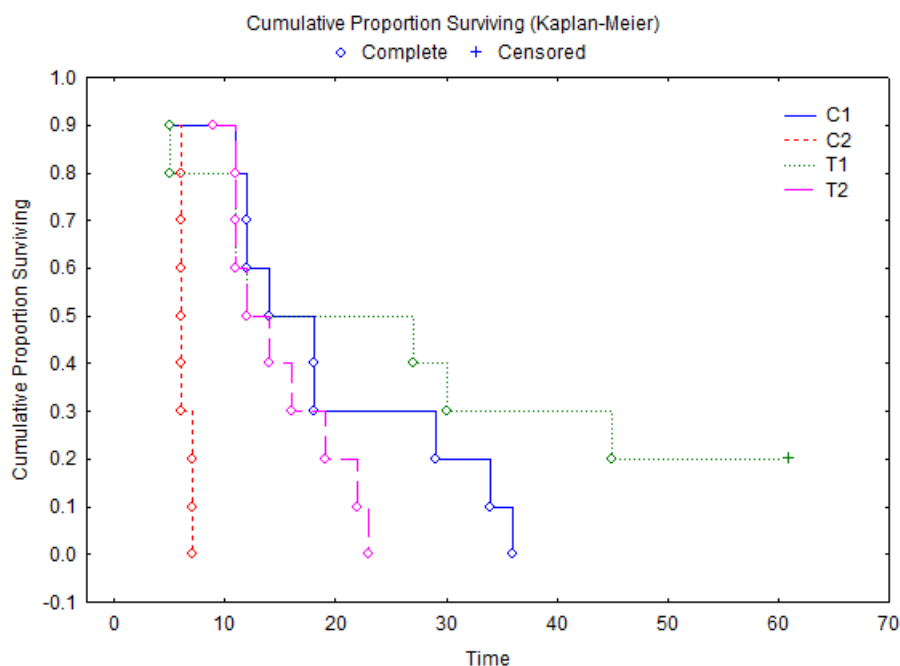


Figura 8. Probabilidade de sobrevivência em dias para os tratamentos controle C1(água do mar UV + náuplios de artêmia), C2 (água do mar UV sem alimentação), T1- Estreptomomicina e T2- Vancomicina. O símbolo “O” representa mortes, o símbolo “+” representa as larvas sobreviventes.

DISCUSSÃO

Manutenção das fêmeas ovígeras e momento da desova

As condições adotadas para a manutenção das fêmeas ovígeras em laboratório até a desova das larvas zoea mostraram-se adequadas e eficientes após a modificação do tamanho do reservatório onde as fêmeas eram mantidas e a inclusão de sistema de filtragem mecânica e biológica da água. Estas melhorias, além do não fornecimento de alimento, manutenção da temperatura em 25° C e salinidade em 35 resultaram na desova e sobrevivência das larvas zoea utilizadas neste experimento.

A sobrevivência das cinco fêmeas ovígeras contendo massa esponjosa com coloração diferenciada possibilitou estimar o tempo de duração do desenvolvimento embrionário de *A. spinimanus* de acordo com as mudanças de cor da massa ovígera que passa de amarelo vivo para laranja escuro até o marrom acinzentado, quando surge o aparecimento dos olhos dos embriões. Estas mudanças de cor estão relacionadas ao conteúdo de vitelo que vai sendo absorvido e possibilita o desenvolvimento do embrião. Outros autores trabalhando com decapodos portunídeos obtiveram duração do desenvolvimento embrionário entre 8 e 9 dias para *Callinectes sapidus* à temperaturas variando entre 25 a 28°C e salinidade entre 27 e 35 (Cahuich et al., 2002),

enquanto Schemy (1980) descreveu o desenvolvimento embrionário de *Callinectes danae* e observou 8 fases embrionárias que demoraram 16 dias até a eclosão, em temperatura abaixo de 25° C e salinidade de 35.

Os ciclos reprodutivos de brachiuros são muitas vezes sincronizados com fases lunares. Silva (2002) estudou o ciclo reprodutivo de *Ucides cordatus*, observando que as fêmeas ovígeras realizavam a desova em dias próximos da lua nova ou cheia, o que seria uma estratégia para aumentar a dispersão das larvas para áreas de maior salinidade, fora do estuário. Skov et al. (2005) observaram populações africanas de caranguejos do manguezal e também observou forte influência das fases lunares com os períodos de desova.

Desenvolvimento

Durante a realização dos experimentos iniciais, foi observada a eclosão de larvas na fase de pré zoea, seguida de grande mortalidade. Esses eventos ocorreram com as fêmeas 1 e 2 (Tab. 2) mantidas, sem alimentação, em aquários com menor volume e renovação de água total após 24 horas, sem sistema de filtragem. Silva (2002) observou a presença de pré zoea de *U. cordatus* em condições ambientais desfavoráveis, sendo raras em ambiente natural. Canino (2002) observou em laboratório que as pré zoea de *C. sapidus* mantidas em salinidade inferior a 22 morriam antes de passar para o primeiro estágio de zoea. Desta forma, no presente estudo a manutenção e controle dos parâmetros da água onde as fêmeas ovígeras foram mantidas foram rigorosos, evitando alimentação nesse período e mantendo temperatura constante.

Bookhout e Costlow (1974), observaram para a espécie *Achelous spinicarpus*, 7 fases de zoea. Para *Arenaeus cribrarius*, Stuck e Truesdale (1988) observaram 8 fases de zoea. Lim e Hirayama, (1991), para *Portunus trituberculatus*; Josileen e Menon (2004) e Arshad, et al. (2006) para *P. pelagicus*, identificaram 4 fases de zoea, e um de magalopa. Para *Callinectes danae* foi observado apenas a fase de zoea I por Schemy, (1980) e Sankarankutty et al. (1999). Em *Callinectes sapidus*, Cahuich et al. (2002) e Canino, (2002) observaram 6 fases de zoea. No presente estudo, foi observado 6 fases de zoea para *A. spinimanus*.

Bookhout e Costlow (1974) observaram em *A. spinicarpus*, de 49 a 63 dias entre a eclosão e a metamorfose para juvenil I, com as larvas se desenvolvendo mais rápido em temperatura de 25° C e maior sobrevivência em salinidade de 35 e 40.

Cahuich et al. (2002) em seu experimento com *C. sapidus* constatou que a duração do desenvolvimento de zoea I para juvenil I levou de 27 á 35 dias, Valores estes, mais próximos dos observados no presente trabalho. Lim e Hirayama (1991) estudando o *P. trituberculatus* observaram uma duração de 14 a 22 dias entre zoea I e o primeiro juvenil. Para *P. pelagicus*, Arshad et al. (2006) e Josileen e Menon (2004) observou duração de 3-4 dias, cada um dos dois primeiros estágios de zoea e 2 a 3 os seguintes dois estágios e megalopa 3-4 dias, completando o ciclo em 15-18 dias. Considerando que *Portunus* é o gênero originalmente descrito para *Achelous*, o desenvolvimento larval desse grupo parece ser semelhante.

Takeshima et al. (2017), observaram que as megalopa são mais ativas, sendo estimuladas pela movimentação e agitação da água, se agarrando em substratos como algas, antes de realizar a muda para juvenil

Na fase de juvenil, os organismos possuem tendência maior a agarrar-se á diferentes substratos, ou mesmo, se enterrar ao fundo de areia. Essa seria uma estratégia de sobrevivencia chamada de “pegar carona”, onde individuos jovens se agarram e se desenvolvem em substratos flutuantes no oceano.

Comportamento semelhante foi observado no presente estudo em que as megalopas se agarravam em substratos como lâ de acrilico e, quando estimuladas, com a movimentação produzida pela pipeta durante a troca diária de água, nadavam ativamente. Na fase de juvenil,também foi observado a tendência de se agarrar a substratos e se enterrar no fundo de areia, principalmente durante as trocas diarias de água. No momento da alimentação, os juvenis mostravam-se bem ativos, predando rapidamente náuplios fornecidos.

Temperatura e o desenvolvimento

Canino (2002) conclui em seu trabalho que o nível ótimo de temperatura para *C. sapidus* variou entre 26,2 a 28,4 °C. Cahuich et al. (2002) observou que em maiores temperaturas a sobrevivência foi maior e o tempo de muda entre estágios foi menor. No presente trabalho, a salinidade foi mantida a 35 durante todo o experimento, sendo a mesma salinidade encontrada nos pontos de coleta das fêmeas ovígeras (Tab. 2), próximo dos valores observados por outros autores. Ikhwanuddin et al. (2016), para *P. pelagicus* observou que a salinidade de 30 foi a que apresentou maior sobrevivência de larvas e Bryars e Havenhand (2006) utilizou 36 a 38.

A temperatura foi mantida em 29 °C durante todo o experimento, sendo próxima da temperatura observada nos locais de coleta que variou entre 26°- 27°C no período noturno (Tab. 2), dentro dos valores observados como ótimo pelos outros autores. Segundo Bryars e Havenhand (2006) a temperatura é considerada um fator crítico para o desenvolvimento de larvas de invertebrados marinhos. Observações feitas em *P. Pelagicus* identificaram que no desenvolvimento larval da espécie, temperaturas em torno entre 22,5 e 22,8, apresentaram sobrevivência larval maior que temperaturas mais baixas considerando porem que as larvas no ambiente natural (região costeira) estão expostas a temperaturas sazonalmente variáveis, em vez de constantes.

Tratamentos com diferentes dietas

As zoea que não receberam alimentação no tratamento C2, sobreviveram durante 4 dias, demonstrando que possuem uma reserva vitelínica limitada, e a alimentação nas fases iniciais de zoea I são importantes para o desenvolvimento para estágios subsequentes (Fig 7 e 8).

Giménez, 2002 estudou o desenvolvimento larval do caranguejo estuarino *Neohelice granulata*, observando o ponto de não retorno (PNR) em diferentes fases do desenvolvimento e sob diferentes salinidades. Em seu experimento, constataram que nenhuma larva atingiu a fase de zoea II quando privadas de alimento logo após a eclosão, sendo a sobrevivência maior e a duração do desenvolvimento mais curto a medida que o período de alimentação se estendeu. Após 2 dias ou mais da privação de alimentação, houve um aumento da mortalidade. O PNR100 (ponto de não retorno que causou 100% de mortalidade) para *N. granulata* variou entre 4 a 7 dias, dependendo das condições da ninhada antes da eclosão .

Foi observada diferença significativa entre os tratamentos A1, A2, A3, C1 e C2 realizados fornecendo diferentes dietas (Fig. 7), porem, nenhum destes tratamentos apresentou organismos atingindo a fase de juvenil. Gunarto e Parenrengi (2016), estudaram a melhoria na qualidade da alimentação no cultivo larval de *Scylla olivacea*, trabalhando com a combinação de dietas: rotíferos e náuplio de *Artêmia* enriquecido com microalga *Nannochloropsis oculata*. Nos tratamentos realizados, ofertaram esses alimentos vivos em determinadas fases do desenvolvimento larval, observando que o fornecimento de náuplios de artêmias enriquecidas com microalgas a partir de zoea III

apresentaram os melhores índices de desenvolvimento larval e maior ocorrência de megalopas. Baylon (2009) conclui em seu estudo com o siri *Scylla tranquebarica*, que as larvas do tratamento que receberam a alimentação composta por náuplios e rotíferos, entre as fases larvais de zoea I a zoea III, apresentaram desenvolvimento mais rápido e maior ocorrência de metamorfose para megalopa. A partir de zoea IV, a alimentação fornecida poderia ser apenas de náuplios de artêmia. No caso dos tratamentos que foram alimentados exclusivamente com rotíferos, todas as larvas morreram no estágio zoea V, enquanto aquelas alimentadas apenas com náuplios de artêmia sobreviveram até o estágio de megalopa. Em nosso experimento, o controle C1 recebeu apenas náuplios de artêmia recém eclodidos, e este tratamento apresentou o desenvolvimento até megalopa. Os demais tratamentos receberam, além de náuplios de artêmia, microalga e rotíferos, e não apresentaram desenvolvimento além da fase de megalopa, corroborando com o observado por esse autor.

Os únicos tratamentos que apresentaram larvas realizando metamorfose para megalopa foram A1, A3 e C1. A utilização dos alimentos vivos e da microalga foi uma possível fonte de contaminações, impedindo o desenvolvimento na crítica fase entre megalopa e juvenil. Estudos realizados por Ikhwanuddin et al. (2016), em larvas de *P. pelagicus* utilizando diatomáceas, náuplios de artêmia e rotíferos, com vistas a estimar a taxa de sobrevivência e tempo de muda do estágio larval zoea I até a fase juvenil, demonstraram que a escolha do tipo de alimento não afeta apenas a taxa de sobrevivência, mas também o crescimento das larvas e concluiu que a dieta combinada de rotíferos e náuplios de artêmia por si só é suficiente para manter as larvas até a fase megalopa, uma vez que a adição de diatomáceas, não aumentou a taxa de sobrevivência.

Tratamentos com antibióticos

As larvas do tratamento T2, que receberam água tratada com o antibiótico Sulfato de Estreptomicina nas unidades experimentais, foram as únicas que apresentaram organismos realizando muda para o estágio de juvenil. Um total de 20% se desenvolveu até a fase de juvenil VI. A análise estatística comprova que existe diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos T1, T2, C1 e C2 (Fig. 8). Ali (1974) e Stuck e Truesdale (1988), além de realizarem a filtração mecânica da água com papel filtro, aplicaram uma combinação de penicilina e estreptomicina a fim de

evitar possíveis infecções bacterianas no cultivo, obtendo bons resultados com essa combinação. Silva (2002) observou em seu trabalho com o cultivo larval em larga escala do *U. cordatus*, mortalidade decorrente por contaminações por vibrio luminescente, adicionando nitrofurazona encapsulada em rotífero como parte da dieta e observando uma diminuição na mortalidade.

As larvas do tratamento T2, com água tratada pelo antibiótico Cloridrato de Vancomicina, se desenvolveram apenas até a fase de zoea IV, sendo, possivelmente, afetadas negativamente pelo antibiótico ou por bactérias resistentes ao mesmo. Srinivasan e Ramasamy (2009) observaram no cultivo do camarão *Penaeus monodon* bactérias, como *Vibrio spp*, sendo normalmente encontradas em ovos, larvas saudáveis ou debilitadas e nosterques de cultivo de pós larvas, sendo raras nos tanques dos adultos. Essa bactéria em específico apresenta resistência a diversos antibióticos, dentre eles, à Vancomicina.

Mortalidades entre a fase de megalopa e juvenil são comuns. Zhang (2014) estudou o surto de mortalidade em megalopas no cultivo do siri *Portunus trituberculatus*, ocasionado pela bactéria *Vibrio harveyi*. Realizando experimentos com desafio em larvas e juvenis, constatou-se que cepas dessa bactéria foram letais para megalopas saudáveis e juvenis. As doenças causadas por microorganismos em *P. trituberculatus* foram bem estudadas, e as bactérias *Vibrio alginolyticus* e *V. metschnikovii* também foram identificadas como responsáveis por essas enfermidades (Wan et al., 2011). No entanto Nogami e Maeda (1992), aventaram a possibilidade de tratamento biológico com a adição de cepas da estirpe bacteriana PM-4, no controle do *Vibrio anguillarum*. Observaram que produção de larvas do siri pela adição dessa estirpe bacteriana à água da cultura foi grandemente aumentada de forma a que o número de *Vibrio spp* diminuíssem ou até se tornaram indetectáveis na água do mar

Kanazawa et al. (1983), em ensaios para o cultivo de larvas de *Portunus trituberculatus*, obtiveram sucesso utilizando dieta artificial no crescimento das larvas de zoea I ao estágio juvenil. No entanto, as taxas de sobrevivência com estas dietas foram menores que as das larvas que receberam rações vivas (rotífero + náuplios de Artêmia). Tais conclusões reforçam a idéia de que estudos com dietas artificiais devem ser incrementados visando aumentar a viabilidade do desenvolvimento larval de crustáceos. A dieta criada por Kanazawa et al. (1983), era constituída por micropartículas de ulato, proteína de nylon micro encapsulada (MED), goma gelatina-

arábica-MED, cholester, microtratilhada com ol-lectina (MCD) e dieta microbiana de carragenina (MBD).

Sobrevivência dos organismos

Bookhout e Costlow (1974) obtiveram em seu experimento com *A. spinicarpus*, total de 2% de juvenis, apenas utilizando água do mar filtrada. Lim e Hirayama (1991) em seu experimento com o cultivo de *P. trituberculatus* observaram sobrevivência entre 0,9 a 48,3% até a fase de juvenil. Cahuich et al. (2002), obteve com *C. sapidus*, uma sobrevivência de 10% até juvenil. Canino, (2002) obteve um total de 7,7 á 8,4 % de organismos atingindo a fase de juvenil

As fontes de contaminações para as larvas podem ter diversas origens, desde a água do cultivo, o próprio organismo ou mesmo a alimentação fornecida em cultivos experimentais. O maior desafio para o cultivo larval de siris é o desenvolvimento de tratamentos profiláticos para a prevenção de interações microbianas (Hoq et al., 2014).

CONCLUSÃO

A manutenção das fêmeas ovígeras no laboratório através da metodologia desenvolvida foi eficiente, pois além de permitir o desenvolvimento do presente estudo, não foi constatado a presença de pré zoea ou mortalidades após a desova.

A alimentação fornecida apenas com náuplios de artêmia mostrou-se adequada para o desenvolvimento até a fase de juvenil. As larvas zoea I possuem reserva vitelínica limitada, e a observação de zoea I predando náuplios recém eclodidos demonstra a necessidade de alimentação nas fases iniciais.

O uso do antibiótico Estreptomicina teve um efeito positivo no desenvolvimento dos organismos evitando possíveis contaminações durante o experimento, sendo as larvas deste tratamento, as únicas que apresentaram desenvolvimento até a fase de juvenil VI.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, V. O; MACEDO, A. J; MUXAGATA, E. 2016 Evaluation of antibiotics as a methodological procedure to inhibit free-living and biofilm bacteria in marine zooplankton culture. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 88: 733-746.
- ALLY, J.R.R. 1974 A description of the laboratoryreared first and second zoeae of *Portunus xantusii* (Stimpson) (Brachyura, Decapoda). California Fish and Game, 60(2): 74-78.

- AMANCIO, N. 2013 Espécies de siri utilizadas na produção de siri mole. Revista Ceciliana, v. 5, n.1,p.13-15.
- ARSHAD, A.B ; EFRIZAL, E; KAMARUDIN , M.S.; SAAD, C.R. 2006 study on fecundity, embryology and larval development of blue swimming crab *Portunus pelagicus* (linnaeus, 1758) under laboratory conditions. Research Journal of Fisheries and Hydrobiology, 1(1): 35-44.
- ARSHAD, E. A.; KAMARUDIN, M.S.; SAAD, C.R; AMIN, S.M.N. 2015 Some Aspects of Reproductive Biology of Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758)) Under Laboratory Conditions. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10 (2): 77-91,
- AZAM, K.; NARAYAN, P. 2013 Safe usage of antibiotic (Oxytetracycline) in larval rearing of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskål, 1775) in Fiji. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 5(2), 209-213.
- BAYLON, J. C. 2009 Appropriate food type, feeding schedule and Artemia density for the zoea larvae of the mud crab, *Scylla tranquebarica* (Crustacea: Decapoda: Portunidae). *Aquaculture*, 288(3-4), 190-195.
- JÚNIOR, E. A. B.; FRANSOZO, M. L. N. 2016 Morphology of juvenile phase of *Achelous spinimanus* (Latreille, 1819)(Crustacea, Decapoda, Portunidae) reared in laboratory. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96(3), 615-631.
- BOOKHOUT, C. G.; COSTLOW JR, J. D. 1974 Larval development of *Portunus spinicarpus* reared in the laboratory. *Bulletin of Marine Science*, 24(1), 20-51.
- BRANCO, J. O.; LUNARDON-BRANCO, M.J.; SOUTO, F.X. 2002 Estrutura populacional de *Portunus spinimanus* Latreille (Crustacea, Portunidae) na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19(3): 731-738.
- BRYARS, SR; HAVENHAND, JN. 2006 Effects of constant and varying temperatures on the development of blue swimmer crab (*Portunus pelagicus*) larvae:Laboratory observations and field predictions for temperate coastal waters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 329:218-229.
- CAHUICH, F. J. B.; DEL ANGEL, L. E. A.; ALONSO, R. V.; RODRÍGUEZ, P. C. 2002 Cultivo de larvas de la Jaiba Azul *Callinectes sapidus* en condiciones de laboratorio en la Isla del Carmen, Campeche, México.CIVA, p.122-128. https://www.researchgate.net/profile/Luis_Enrique_Amadordel_Angel/publication/235256039_Cultivo_de_larvas_de_la_jaiba_azul_Callinectes_sapidus_en_condiciones_de_laboratorio_en_la_Isla_del_Carmen_Campeche_Mexico_Mexico/links/0deec52a8ee312ec10000000.pdf
- CANINO RODRIGO REYES 2002 Estudios básicos sobre larvicultura de la jaiba azul *Callinectes sapidus* (Rathbun). CIVA, p. 282-291

- COELHO, P. A.; SANTOS, M. C. F. 2004 Siris do estuário do rio Una, São José da Coroa Grande, Pernambuco - Brasil (Crustacea, Decapoda, Portunidae). Boletim técnico científico CEPENE 12(1):187-194.
- COSTLOW JR, J. D. 1965 Variability in larval stages of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *The Biological Bulletin*, 128(1), 58-66.
- DE-CARLI, B. P.; SEVERINO-RODRIGUES, E.; ROTUNDO, M. M.; MUSIELLO-FERNANDES, J.; ANCONA, M. C. 2016 Fecundidade e morfometria de *Achelous spinimanus* (Latreille, 1819) (Brachyura, Portunidae) capturado no litoral do estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 40(4), 487-495.
- GARDNER, C.; NORTHAM, M. 1997 Use of prophylactic treatments for larval rearing of giant crabs *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture*, 158(3-4), 203-214.
- GIMÉNEZ, Luis. 2002 Effects of prehatching salinity and initial larval biomass on survival and duration of development in the zoea 1 of the estuarine crab, *Chasmagnathus granulata*, under nutritional stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 270, n. 1, p. 93-110.
- GRAÇA-LOPES, R.; TOMÁS, A.R.G.; TUTUI, S.L.S.; SEVERINO-RODRIGUES, E.; PUZZI, A. 2002 Fauna acompanhante da pesca camaroeira no litoral do Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, 28(2):173-188.
- GUNARTO, G.; PARENRENGI, A. 2016 Crablet of Mud Crab *Scylla Olivacea* Production from the Different Stages of Larvae fed Artemia Nauplii Enriched Using *Nannochloropsis* sp. *International Journal of Agriculture System*, 4(2), 132-146.
- HOQ, M.E.; SEIN, A.; KHAN, M.S.K.; DEBNATH, P.P.; Q.A.Z.M. KUDRAT-E-KABIR 2014 Captive breeding of mud crab *Scylla serrata* (Forsskål, 1975) in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Zoology*. 42(2): 295-299.
- IKHWANUDDIN, Mhd.; AZRA, MN.; SUNG, YY.; ABOL-MUNAFI, AB.; SHABDIN, ML 2012 Live foods for juveniles' production of the blue swimming crab *Portunus pelagicus*(Linnaeus, 1766). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 7(4):266-278
- JOSILEEN, J.; MENON, N. G. 2004 LARVAL Stages of the blue swimmer crab, *portunus pelagicus*(linnaeus, 1758) (decapoda, brachyura). *Crustaceana* 77 (7): 785-803.
- KANAZAWA, A.; TESHIMA, ASI.; KOBAYASHI, T.; IWASHITA, T.; KAWASAKI M. 1983 Rearing of larval crab *Portunus trituberculatus* with the artificial Microparticulate diets. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.*, 32: 121-127.
- KASRY, A. 1991 Pengaruh antibiotik dan makanan terhadap kelulushidupan dan perkembangan larva kepiting bakau (*Scylla serrata* Forsskål). *Jurnal Penelitian Institut Pertanian Bogor*, 12(2), 568-570.

- KLEINBAUM, D. G.; KLEIN, M. 2005 Kaplan-Meier Survival Curves and the Log-Rank Test. In: Survival Analysis A Self-Learning Text. Springer. p. 45-82.
- LAVENS, P.; SORGELOOS, P. 1996 Manual on the production and use of life food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No 361. Rome: FAO, cap. 1, p. 1-6.
- LEBOUR, M. V. 1950 Notes on some larval decapods (Crustacea) from Bermuda. *Journal of Zoology*, 120(2), 369-379.
- LI, S.; ZENG, C.; TANG, H.; WANG, G.; LIN, Q. 1999 Investigations into the reproductive and larval culture biology of the mud crab, *Scylla paramamosain*: a research overview. Australian centre for international agricultural, In aciar proceedings (pp. 121-124).
- LIAO, I. C.; GUO, J. J.; SU, M. S. 2000 The use of chemicals in aquaculture in Taiwan, Province of China. In Use of Chemicals in Aquaculture in Asia: Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia 20-22 May 1996, Tigbauan, Iloilo, Philippines.). SEAFDEC Aquaculture Department. (pp. 193-205)
- LIM, B. K.; HIRAYAMA, K. 1991 Growth and elemental composition (C, N, P) during larval developmental stages of mass-cultured swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 131-137.
- MANTELATTO, F. L.; PANTALEÃO, J. A.; CUESTA, J. A.; FRANSOZO, A. D. I. L. S. O. N.; FELDER, D. L. 2018 The first zoeal stage morphology of *Achelous spinimanus* (Latreille), *A. gibbesii* (Stimpson), and *Portunus sayi* (Gibbes)(Decapoda, Brachyura) provides support for molecular phylogeny. *Zootaxa*, 4378(1), 71-84.
- MELO, G. A. S. 1996 Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. São Paulo, Plêiade. 603p
- MENDONÇA, J.T.; VERANI, J.R.; NORDI, N. 2010 Avaliação e gestão da pesca do siri-azul *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda: Portunidae) no estuário de Cananéia, Iguape e Ilha Comprida, SP, Brasil. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, 70(1): 37-45.
- IKHWANUDDIN, MHD, HAYIMAD, T.; GHAZALI, A, SYAZREEN-SOPHIA, AH, SITI, AA. 2016 Resistance test at early larval stage of blue swimming crab, *Portunus pelagicus*. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 38 (1), 83-90.
- MOREIRA, F. N.; VIANNA, M.; LAVRADO, H. P.; SILVA-JUNIOR, D. R.; KEUNECKE, K. A. 2011 Survival and physical damage in swimming crabs (Brachyura, Portunidae) discarded from trawling fisheries in an estuarine ecosystem in southeastern Brazil. *Crustaceana*, 84(11), 1295-1306.
- NOGAMI, K.; MAEDA, M. 1992 Bacteria as Biocontrol Agents for Rearing Larvae of the Crab *Portunus trituberculatus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49(11): 2373-2376

- PEREIRA-BARROS, J. B.; TRAVASSOS, J. B. 1972 Informações sobre a pesca e biologia do siri tinga (*Callinectes danae*) e guajaú (*Callinectes bocourti*) na lagoa Mundaú - Maceió - Alagoas. Parte II. Recife, SUDENE/DRN RP. 13p. (Série Estudo Pesca).
- PINHEIRO, M. A. A.; FRANZOZO, A. 1998 Sexual maturity of the speckled swimming crab *Arenaeus cribrarius* (Lamarck, 1818) (Decapoda, Brachyura, Portunidae), in the Ubatuba littoral, São Paulo state, Brazil. *Crustaceana* 71 (6):434-452.
- PINHEIRO, M. A. A.; RODRIGUES, A. M. T. 2011 Crustáceos sobre-explotados e o plano nacional de gestão dos caranguejos uçá (*Ucides cordatus*), guaiamú (*Cardisoma guanhumi*) e do siri-azul (*Callinectes sapidus*): uma estratégia para evitar que passem ao "status" de ameaçados de extinção. *Rev. CEPSUL*, v. 2, n. 1, p. 50-57.
- SANKARANKUTTY, C.; HONG, S.Y.; KIM, K.B. 1999 Description of laboratory reared first zoea of *Callinectes danae* Smith (Crustacea, Decapoda, Portunidae). *Rev. Bras. Zool.* 16(Supl. 2):45-49.
- SANTOS, S.; NEGREIROS-FRANZOZO, M.L., FRANZOZO, A. 1994 The distribution of the swimming crab *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 (Crustacea, Brachyura, Portunidae) in Fortaleza Bay, Ubatuba, SP, Brazil. *Atlântica*, 16: 125-141.
- SANTOS, S.; NEGREIROS-FRANZOZO, M. L. 1999 Reproductive cycle of the Swimming crab *Portunus spinimanus* Latreille (Crustacea, Decapoda, Brachyura) from Ubatuba, São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(4), 1183-1193.
- SCALCO, A. C.S.; SEVERINO-RODRIGUES, E.; SOUZA, M.R. de; FAGUNDES, F. TUTUI, L. dos S.; TOMÁS, A. R. G. 2014 Captura de siris pela comunidade da vila dos pescadores (Cubatão) no estuário de Santos-São Vicente (SP). *Boletim Instituto de Pesca, São Paulo*, 40(3): 389-395.
- SCHEMY, R. de A. 1980 Aspectos da biologia de *Callinectes danae* Smith, 1869 da região de Santos, São Paulo. Dissertação de Mestrado, não publicada, Universidade de São Paulo, 84p.
- SEVERINO-RODRIGUES, E.; PITA, J.B.; GRAÇA-LOPES, R. 2001 Pesca artesanal de siris (Crustácea, Decapoda, Portunidae) na região estuarina de Santos e São Vicente (SP), Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 27(1):7-10.
- SEVERINO-RODRIGUES, E.; GUERRA, D.S.F.; GRAÇA-LOPES, R. 2002 Carcinofauna acompanhante da pesca dirigida ao camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) desembarcada na praia do Perequê, Estado de São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 28(1):33-48.
- SEVERINO-RODRIGUES, E.; HEBLING, N.J.; GRAÇA-LOPES, R. 2007 Biodiversidade no produto da pesca de arrasto de fundo dirigida ao lagostim, *Metanephrops rubellus*(Moreira, 1903), desembarcado no litoral do estado de São Paulo, Brasil. *Boletim Instituto de Pesca*, 33(2): 171-182.

- SILVA, U.A.T. 2002 Cultivos experimentais de caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná (UFPr) - Setor de Ciências Agrárias, Departamento de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Curitiba - Pr (Brasil), 89pp.
- SKOV, M. W.; HARTNOLL, R. G.; RUWA, R. K.; SHUNULA, J. P.; VANNINI, M.; CANNICCI, S. 2005 Marching to a different drummer: Crabs synchronize reproduction to a 14-month lunar-tidal cycle. *Ecology*, 86(5), 1164-1171.
- SOUZA KPM.; COSTA RM.; ABRUNHOSA FA.; PEREIRA LCC. 2006 Efeito de diferentes dietas sobre a muda dos estágios iniciais de *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) (Decapoda: Ocypodidae). *Bol Mus Para Emílio Goeldi* 1(3):97-102
- SRINIVASAN, P.; RAMASAMY, P. 2009 Occurrence, distribution and antibiotic resistance patterns of *Vibrio* species associated with viral diseased shrimp of South Indian aquaculture environment. *International Journal of Agriculture Sciences*, 1(2), 1.
- STUCK, K. C.; TRUESDALE, F. M. 1988 Larval development of the speckled swimming crab, *Arenaeus cribrarius* (Decapoda: Brachyura: Portunidae) reared in the laboratory. *Bulletin of Marine Science*, 42(1), 101-132.
- TAKESHIMA, S.; DAN, S.; KANEKO, T.; ASHIDATE, M.; HAMASAKI, K. 2017 Settlement behavior of the megalopa and the early juveniles of *Portunus trituberculatus* (Miers, 1876)(Brachyura: Portunidae) under laboratory conditions. *The Journal of Crustacean Biology*, 37(6), 667-673.
- THORTON-DE VICTOR, S. U. S. A. N. 2007 The megalopa stage of *Portunus spinimanus* Latreille, 1819 and *Portunus gibbesii* (Stimpson, 1859)(Decapoda, Brachyura, Portunidae) from the southeastern Atlantic coast of the United States. *Zootaxa*, 1638, 21-37.
- WAN, X.; SHEN, H.; WANG, L.; CHENG, Y. 2011 Isolation and characterization of *Vibrio metschnikovii* causing infection in farmed *Portunus trituberculatus* in China. *Aquaculture international*, 19(2), 351-359.
- WILLIAMS, A.B. 1984 Shrimps, lobsters and crabs of the Atlantic Coast of the eastern United States, Maine to Florida. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. 545p.
- ZHANG, X. J.; BAI, X. S.; YAN, B. L.; BI, K. R.; QIN, L. 2014 *Vibrio harveyi* as a causative agent of mass mortalities of megalopa in the seed production of swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Aquaculture international*, 22(2), 661-672.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia utilizada para a coleta demonstrou-se satisfatória, sendo frequente a ocorrência de fêmeas ovígeras no período noturno, nas fases de lua cheia. Fazem-se necessários mais estudos para que seja possível a elaboração de um protocolo de coleta para essa espécie em particular.

A metodologia utilizada neste estudo para a manutenção das larvas mostrou-se adequada para o desenvolvimento de todos os estágios iniciais de *A. spinimanus* em laboratório e em pequena escala. Fazem-se necessárias mais pesquisas para viabilização do cultivo em larga escala, bem como a adoção de medidas profiláticas alternativas ao uso de antibióticos.