

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**ARTÊMIA – OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE ECLOSÃO POR
MÉTODO QUÍMICO**

JÉSSICA PEREIRA DA SILVA

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2019**

ARTÊMIA – OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE ECLOSÃO POR MÉTODO QUÍMICO

JÉSSICA PEREIRA DA SILVA

Orientador: PROF. Dr. CLAUCIA APARECIDA HONORATO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para conclusão do curso de Engenharia de Aquicultura.

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2019

Ficha catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586a Silva, Jéssica Pereira Da

ARTÊMIA - OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE ECLOSÃO POR MÉTODO QUÍMICO [recurso eletrônico] / Jéssica Pereira Da Silva. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: CLÁUCIA APARECIDA HONORATO DA SILVA .

TCC (Graduação em Engenharia de Aquicultura)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Bicarbonato de sódio. 2. Descapsulação. 3. Hidratação. 4. Toxicidade. I. Silva, Cláucia Aparecida Honorato Da. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

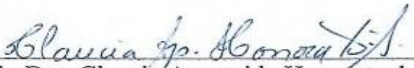
**ARTEMIA - OTIMIZAÇÃO DA TAXA DE ECLOSÃO POR MÉTODO
QUIMICO**

Por

JÉSSICA PEREIRA DA SILVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos exigidos para
obtenção do título de ENGENHEIRO DE AQUICULTURA

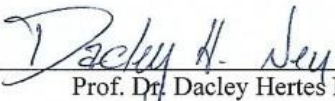
Aprovado em: 24 de outubro de 2019.



Profa. Dra. Cláudia Aparecida Honerato da Silva
Orientador – UFGD/FCA



MSc. Marcos Paiva Scardua
Membro da Banca - IFCE/ Campus Aracati



Prof. Dr. Dacley Hertez Neu
Membro da Banca – UFGD/FCA

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus por ter me dado saúde, sabedoria, força para superar as dificuldades e a oportunidade de chegar onde estou hoje.

À instituição Universidade Federal da Grande Dourados, que possibilitou a mim e meus colegas acadêmicos entender que ao obter o saber formal, seremos capazes de formar opiniões e contribuir para fazer do mundo um lugar melhor para todos. Á todos os docentes dessa conceituada instituição, pelo dom e a arte de ensinar e aos meus professores do curso pela excelência da qualidade técnica de cada um.

À minha querida Orientadora, a professora Cláucia Aparecida Honorato pelas suas correções e incentivos, que não mediu esforços, me fez acreditar que eu poderia superar cada momento e sempre fazer melhor, que acreditou no meu potencial e me fez chegar ao melhor resultado.

À minha falecida mãe Janilda, meu amor eterno, mesmo não vivenciando este momento comigo a qual sempre sonhou para meu futuro, agradeço pelo amor, ensinamentos, sonhos, incentivo e que sempre continuara sendo minha maior força e inspiração na vida.

Ao meu pai Marcos, pelo amor, incentivo, compreensão e por todo o esforço investido na minha educação.

À minha irmã Maxilaine pelo amor e por sempre estar presente ao meu lado me dando força e incentivo. Agradeço pelo apoio que esta me proporcionando e por ter me abraçado, recebido em seu lar. Obrigada por ser essa irmã maravilhosa.

Ao meu querido cunhado Andrei, pelo apoio e força que tem proporcionado nos últimos tempos.

Ao meu namorado Rogério, amigo de todas as horas, que sempre me compreendeu, me incentivou e me deu força em todos os momentos. Entendeu minhas ausências e minha impaciência. Encontrei nele em pouco tempo o parceiro, amigo e o apoio nas horas mais difíceis.

Aos colegas de turma e curso André Simon, Bárbara Libanio, Jean Carlos, Larissa Dorce, Michael Blank, Natália Azola, Patrícia Gauer, Rebeca Sousa, Tuanny Trindade, Wesley Barbieri, Wesley Paulo e aos demais. Mesmo que os tempos mudem constantemente ainda lembraremos das risadas e dos momentos especiais vividos.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Jéssica Pereira da Silva. Filha de Marcos Roberto da Silva e Janilda Pereira Santana, nascida em 21 de dezembro de 1995 na cidade de Nova Andradina-MS, Brasil. Ingressou no ensino médio em 2009 concluindo em 2012. Em 2013 ingressou na faculdade no curso de Engenharia Civil, não concluindo. Em 2015 ingressou no curso de Engenharia de Aquicultura na Universidade Federal da Grande Dourados, onde estou até o momento. Fui bolsista de projeto ensino por um período de quatro meses e projeto de extensão por um ano. Sou bolsista voluntaria de monitoria da disciplina Fisiologia de Organismos Aquáticos. Atualmente participa de grupo de pesquisa Bioquímica Adaptativa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT..	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Artemia.....	3
2.2. Características gerais do gênero Artemia	4
2.3. Onde se produz Artemia	4
2.4. Para que se usa Artemia.....	5
2.5. Os Naúplios de Artemia.....	6
2.6. Problemas sanitários relacionados ao uso dos naúplios de Artemia.....	7
2.7. Eclodibilidade	7
2.8. Perspectiva em relação ao uso e novas pesquisas com naúplios de Artemia	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Produção de substâncias descapsulantes.....	9
3.2. Eclosão de cistos.....	9
3.3. Procedimento	10
3.4. Teste de toxicidade a pH com Bicarbonato de Sódio	10
3.5. Análise estatística	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
5. CONCLUSÃO.....	17
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Relação da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempo de hidratação dos cistos de Artemia a soluções de distintos pH alterados por bicarbonato de sódio.	12
FIGURA 2. Análise de regressão da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempos de hidratação dos cistos de Artemia a soluções de distintos pH alterados por bicarbonato de sódio. A) pH 6; B) pH 7; C) pH 8; D) pH 9.	14
FIGURA 3. Percentual de mortalidade de náuplios de Artemia submetidos a soluções salinas com diferentes pH alterados com bicarbonato de sódio.	15

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Uso da quantidade de bicarbonato de sódio em g (NaHCO_3) em diferentes soluções para ajuste de pH.....	9
TABELA 2. Processo de hidratação em diferentes tempos e distintas soluções.....	10
TABELA 3. Média ($\pm$ DP) da produção total, taxa de eclosão de náuplios de Artemia submetidos distintos tempos de descapsulação em soluções de diferentes pH alterados por bicarbonato de sódio.....	12
TABELA 4. Média ($\pm$ DP) da sobrevivência dos náuplios de Artemia submetidos a soluções salina com diferentes pH alterados com bicarbonato de sódio.....	16

SILVA, J. P. DA, **Artemia – otimização da taxa de eclosão por método químico**. 2019. 33p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Aquicultura) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade e a descapsulação de *Artemia* frente a soluções com quatro diferentes pH, alterados com NaHCO_3 e avaliar a sobrevivência frente a estas variações. Para alteração do pH foi utilizado NaHCO_3 em quantidades suficientes para cada solução. O pH foi aferido com auxílio de phmetro digital. A taxa de eclosão foi calculada para todos os tratamentos. O ensaio foi analisado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $4 \times 4 \times 3$, quatro tratamentos e três repetições. A sobrevivência foi calculada para cada tratamento. O ensaio de toxicidade foi analisado em DIC em esquema fatorial $4 \times 4 \times 5$, quatro tratamentos e cinco repetições. O grupo controle apresentou a taxa de eclosão de 23%, de uma forma geral todos os tempos de descapsulação apresentaram maior taxa de eclosão independente do tempo de exposição e o pH da solução. Os cistos de *Artemia* submetidos à solução de pH 6, observou-se que o tempo de exposição se adequa uma equação linear, demonstrando que quanto maior o tempo de exposição maior a taxa de eclosão. Já a exposição ao pH 7 em relação ao tempo se adequaram a uma equação quadrática o que revela que para esta solução o ideal é a exposição de no máximo 15 minutos. Para o pH 8 e 9 apesar das baixas taxas de eclosão o aumento do tempo de exposição da solução promoveu aumento das taxas de eclosão. Conclui-se que soluções de pH podem ser utilizadas como descapsulante para *Artemia*. O tempo de exposição dos cistos de *Artemia* apresentam co-relação com a solução. Com base nos resultados desse estudo recomenda-se a utilização de pH 6 com tempo de 30min de exposição dos cistos de *Artemia*. O pH 9 apresentou baixas taxas de sobrevivência, esse resultado mostra que o uso de NaHCO_3 foi tóxico para náuplios de *Artemia*.

Palavras-chave: bicarbonato de sódio; descapsulação; hidratação; toxicidade.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the viability and takeoff of the art against four different pH solutions, altered with NaHCO_3 and to evaluate the survival against these applications. To change the pH, NaHCO_3 was used and used for each solution. The pH was altered with the aid of the digital phometer. An hatching rate was calculated for all controls. The experiment was analyzed in a randomized design in a $4 \times 4 \times 3$ factorial scheme, four uses and three replications. Survival was calculated for each treatment. The toxicity test was analyzed in IHD in the $4 \times 4 \times 5$ factorial scheme, four sessions and five repetitions. The control group shows hatching rates of 23%, generally all takeoff times, the highest hatching rates independent of exposure time and the pH of the solution. Art studies applied to the pH 6 solution calculate whether the exposure time is adequate for a linear equation, demonstrating the longer the exposure and the hatching rates. Exposure to pH 7 over time is adequate for a quadratic equation or reveals that this ideal solution is a maximum exposure of 15 minutes. For pH 8 and 9, despite low hatching rates or increasing solution exposure time, increased hatching rates. Conclude whether pH solutions can be used as descendants for the art. The exposure time of art arguments is correlated with a solution. Based on the results of this study, it is recommended to use pH 6 with 30min exposure time of art arguments. PH 9 has low survival rates, which shows the use of NaHCO_3 in toxic for artifacts.

Keywords: sodium bicarbonate; decapsulation; hydration; toxicity.

1. INTRODUÇÃO

A *Artêmia spp.* Conhecida como um microcrustáceo teve sua exploração comercial iniciada nos Estados Unidos, na década de 50, no litoral de San Francisco, Califórnia e no biótopo interno, Great Salt Lake em Utah, para atender o mercado de aquariofilia (LAVENS e SORGELOS, 2000). Com o avanço do cultivo de peixes marinhos no final da década de 1970, a demanda por *Artemia* aumentou. A partir desse período a demanda mundial do seu cisto, o produto mais nobre, passou de algumas toneladas para aproximadamente 2.000 toneladas por ano, principalmente pela elevada taxa de crescimento na aquicultura nos próximos anos, por volta de 10% ao ano (CAMARA, 2004).

Esse crescimento na demanda pela *Artemia* é respaldado por seu elevado teor proteico, lipídico, de aminoácidos essenciais e pigmentos (ZUANON et al., 2011). Ela é largamente utilizada na larvicultura de camarões e peixes (UT et al., 2007) e na cadeia de produção de peixes ornamentais por causa da alta exigência nutricional (TAKAHASHI et al., 2010).

No Brasil a presença da *Artemia* foi iniciada a partir de inoculações feitas com cistos de *Artemia* importados da Califórnia, E.U.A. (origem comercial; San Francisco Bay Brand), em 1977. Os primeiros organismos introduzidos no Brasil foram soltos em Macau-RN e em seguida se dispersaram por toda a região salina do Rio Grande do Norte. Nesse ambiente a *Artemia* encontrou condições ecológicas favoráveis para sua disseminação em toda área salina adjacente, sendo que um dos aspectos ecológicos que merecem destaque para o estabelecimento da população desse organismo no Brasil foi a elevada produtividade primária dos manguezais e conseqüentemente das salinas onde foram povoadas, fazendo com que proporcionassem rápido e constante desenvolvimento das populações de *Artemia* salina nesses sítios (CAMARA e CASTRO, 1983).

Atualmente a produção é majoritariamente consumida pelo mercado da aquariofilia e por laboratórios de larvas de camarão. A demanda de cistos/náuplios de *Artemia* nas larviculturas (sobretudo de camarões marinhos) não aumentou e se mantém nos mesmos níveis dos anos 2000, em torno de 2-3 ton de cistos, enquanto a produção de biomassa de *Artemia* diminuiu 20-25 ton por ano (ROCHA et al., 2014).

Repensar no protocolo de uso sustentável do mercado da *Artemia* é fomentado por associações positivas entre a *Artemia* e organismos patogênicos (TACON, 2017). Até o momento não foi constatado políticas públicas que tenham estimulado suficientemente pesquisas de novos produtos derivados da *Artemia*, além de não exigir o mínimo controle a

fim de monitorar possíveis viroses transmitidas pelos cistos produzidos aqui e/ou importados. Mesmo com sua ampla distribuição e ocorrência naturalmente no Rio Grande do Norte, verifica-se a ausência de projetos com vistas no melhoramento dessa produção. Além de que, atualmente a indústria de cistos de *Artemia* no Brasil se resume a um único empreendimento extrativista (coleta) de cistos e/ou biomassa e que não atende a toda a demanda de cistos/biomassa nacional (ROCHA et al., 2014), a empresa BioArtemia®.

Camara e Castro (1983), desde a década de 80, apontam que para o Brasil difundir o uso da *Artemia* e seus coprodutos, deveriam ser aumentadas as áreas de cultivo da *Artemia*, apoiando-se em estudos ecológicos, associado ao desenvolvimento de um complexo de beneficiamento de cistos e *Artemias* adultas. Estes apresentaram a liofilização ou congelamento de *Artemias* adultas, como o caminho para o posterior uso dessa matéria prima na alimentação direta de organismos aquáticos ou ingrediente proteico em rações animais.

No entanto, um dos entraves de eclosão da *Artemia* está na etapa que procede a incubação dos cistos. O processo de descapsulação é utilizado para romper o córion que reveste o embrião. Através das substâncias químicas o córion é dissolvido, que além de elimina-lo fazem a assepsia da superfície dos cistos, assim estes podem conter patógenos que ameaçando o ciclo produtivo podem reduzir a eficiência na larvicultura, sendo desfavorável na larvicultura (DA ROCHA, et al., 2005).

O processo de hidratação pode ser aprimorado utilizando substâncias que podem diminuir ou alterar o envoltório, aumentando a taxa de eclosão (TAKATA, 2007). Dentre as substâncias descapsulantes que se reporta na literatura está o hipoclorito (DA ROCHA, et al., 2005), mas esta, se não for bem retirada no processo de lavagem pode promover morte do cisto de *Artemia* (TAKATA, 2007).

O uso de soluções com distintos pH pode ser uma alternativa para o uso na descapsulação, uma vez que há indícios na literatura que há melhor desenvolvimento dos cistos de *Artemia* em pH mais alcalinos (LAVENS e SORGELOS, 1996). Assim o presente trabalho teve o objetivo analisar a viabilidade e a descapsulação de cistos de *Artemia* frente a soluções com diferentes pH alterados pelo bicarbonato de sódio e diferentes tempos de hidratação, consequentemente avaliar a taxa sobrevivência de náuplios de *Artemia* frente a estas variações.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Artemia

Artemia ssp. (Anostraca) popularmente conhecida como camarões de salmoura, são crustáceos branquiópodes considerados um fósseis vivos. Essa espécie desenvolve-se excelentemente em condições hipersalinas, onde a evaporação da água resulta em altas concentrações de cloreto de sódio. No ambiente natural são essenciais para limitar a proliferação de algas e favorecem o crescimento de bactérias halofílicas (VAN STAPPEN, 1996; LO NOSTRO et al., 2015).

Quando a artemia atinge a fase adulta possui um corpo alongado, coberto com um exoesqueleto de quitina fino e flexível (CRIEL e MACRAE, 2002). A Artemia têm um sistema osmorregulador extremamente eficiente (HOLLIDAY et al., 1990), habilidade de sintetizar pigmentos respiratórios eficientes para lidar com os baixos níveis de oxigênio em condições de altas salinidades e a capacidade de produzir embriões adormecidos (cistos), dependendo da concentração de sal no ambiente. Após 24 h de incubação na água do mar, os cistos liberam náuplios larval de natação livre (LO NOSTRO et al., 2015).

O melhor ambiente para *Artemia salina* são as águas salinas concentradas principalmente com NaCl. Entretanto, existem diversas espécies adaptadas, também, aos ambientes ricos em sulfato, carbonato ou potássio, talassalina, dispersados por quase todo o planeta, como o caso da *Artemia monica*, uma subespécie californiana de *Artemia franciscana*, a qual adaptou-se muito bem a altas concentrações de íons carbonato (VAN STAPPEN, 2002). De modo geral, a composição do meio aquoso em termos de natureza e concentração de eletrólitos é decisiva para sua sobrevivência e reprodução (CAMARGO et al., 2005; LO NOSTRO et al., 2015).

A artemia, como crustáceo zooplancônico desempenha uma função essencial no fluxo de energia da cadeia alimentar em diversos ecossistemas de água salgada (ATES et al. 2013, ZHU et al., 2018; NEMATİ et al., 2019). É uma espécie que se alimenta filtrando a água, não seletivas e que podem ingerir diretamente partículas menores que 50 µm (HUND-RINKE e SIMON 2006; ZHU et al., 2018; NEMATİ, et al., 2019).

A artêmia é um dos alimentos vivos mais populares para peixes e invertebrados aquáticos. Logo, comparado com outras espécies aquáticas, possui interações significativas com o ambiente aquático e confronta maior exposição a riscos a contaminantes (ZHU et al., 2018). A artemia possui características intrínsecas que as tornam um organismo modelo popular para testes toxicológicos, como distribuição cosmopolita, produção em curto tempo,

facilidade de cultura e disponibilidade comercial de seus cistos (LIBRALATO, 2014; LIBRALATO et al., 2016, ZHU et al., 2018).

São vários os parâmetros que podem ser selecionados para avaliação toxicológica, incluindo o período de incubação, mortalidade, natação, morfologia e biomarcadores. Entre as espécies do gênero a *Artemia* é considerada um organismo de modelo adequado na avaliação da toxicidade de nanopartículas (LIBRALATO, 2014; RAJABI et al., 2015, ZHU et al., 2018).

2.2.Características gerais do gênero Artemia

Segundo Nunes, et al., (2006) o gênero *Artemia* tem uma ampla distribuição geográfica pelo mundo e é subdividido em seis espécies bissexuais comumente reconhecidas e um grande número de populações partenogenéticas.

Dentre essas espécies, destaca-se a alta adaptabilidade a condições ambientais adversas, no caso a categorias extremas, ou seja, são localizadas em ambientes onde outras formas de vida não são encontradas (TRANTAPHYLIDIS et al., 1998; NUNES, et al., 2006). Um exemplo é sua ocorrência em amplas faixas de salinidade (5-25 g L⁻¹) e temperatura (6-35 °C). A tolerância a concentrações extremamente variáveis de oxigênio das espécies de *Artemias* permite que os invertebrados enfrentem com sucesso os ambientes adversos sob condições extremas (AMAT, 1985; NUNES, et al., 2006).

Ainda, de acordo com Nunes et al., (2006), as espécies possuem elevados padrões de adaptação em relação aos recursos nutricionais. São capazes de utilizar diferentes fontes de nutrientes para sua produção, por exemplo, farelo de trigo, soja, arroz e soro de leite em pó (DOBBELEIR et al., 1980; SORGELOS et al., 1980); até mesmo efluentes de viveiros de peixes (ZMORA et al., 2002) ou dietas comerciais inertes, como Nestum ® (NAEGEL, 1999).

Outras características comuns ao gênero incluem o ciclo de vida curto, alta fecundidade, estratégia de reprodução bissexual/partenogenética, com produção de náuplios ou cistos, tamanho corporal pequeno e adaptabilidade a diversos recursos nutricionais, pois é um filtrador não seletivo (NUNES, et al., 2006).

2.3.Onde se produz Artemia

Devido a intensa adaptabilidade a ambientes hipersalinos, a *Artemia* é amplamente distribuída em lagos salgados e áreas costeiras ao redor do mundo, ou seja, em ambientes de água salgada, como mares, lagos de sal permanentes ou temporais, lagoas costeiras e salinas artificiais. Em geral os habitats em que o gênero *Artemia* é encontrado são caracterizados pela ausência de predadores. Nesses ambientes, a evolução das populações desses invertebrados é beneficiada pela abundância de fitoplâncton, bactérias, protozoários e algas, consumidos como sua dieta. Em laboratórios suas várias características fisiológicas adaptativas facilitam a produção nos ambientes artificiais (AMAT, 1985; NUNES et al., 2006).

2.4. Para que se usa *Artemia*

Em seu ambiente natural a *Artemia* quanto zooplâncton desempenha um papel fundamental na cadeia alimentar dos ecossistemas, uma vez que transferem energia de produtores primários para consumidores de níveis tróficos mais altos. Desta forma, estes invertebrados são considerados presas ideais de peixes juvenis em ambientes aquáticos naturais, consequentemente são amplamente utilizadas como alimento vivo para a nutrição de peixes em sistemas de aquicultura (NEMATI, et al., 2019).

Dentre diferentes fontes de presas vivas, o gênero *Artemia*, nas fases de náuplios, metanáuplio, juvenis e adultos, destaca-se como a presa viva comumente utilizada em peixes e crustáceos cultivados. Entre as fases de desenvolvimento de *Artemia*, os náuplios recém-eclodidos são os alimentos vivos mais usados na larvicultura (SORGELOS et al., 2001; CONCEIÇÃO et al., 2010; JAMILI et al., 2018).

Entre as vantagens no uso de *Artemia* na alimentação enfatiza-se que podem transferir determinados nutrientes benéficos, como vitamina, ácidos graxos essenciais e fosfolípidios para o organismo-alvo por conta de o seu comportamento alimentar não seletivo (GUINOT et al., 2013; JAMILI et al., 2019). Ademais, em consequência à maior adaptabilidade, podem melhorar a ingestão, digestão e absorção da dieta formulada, viabilizada sob um regime de co-alimentação, que é uma combinação entre ração viva e ração artificial (ØIE et al., 2011, JAMILI et al., 2019).

Além disso, as características intrínsecas desse gênero de crustáceo permitem que sejam organismos adequados para uso em Ecotoxicologia, garantindo confiabilidade, viabilidade e custo-efetividade nas práticas de rotina e/ou de pesquisa em ecotoxicidade (NUNES et al., 2006). De acordo com Nunes et al., (2006), a *Artemia* é destaque como um

interessante exemplar de organismos bem adaptados às práticas de laboratório, contanto que sejam mantidos um controle rigoroso sobre os procedimentos e metodologias de laboratório.

As principais vantagens do uso de artemia em testes de toxicidade, as quais lhe conferem status de modelo adequado para estudos toxicológicos, incluem: rapidez, ou seja, 28 a 72 h desde a eclosão até o primeiro ponto final; custo-efetividade; alta fecundidade; a disponibilidade de náuplios provenientes de cistos comerciais duráveis, isto é, homogeneidade da população, disponibilidade durante todo o ano sem a necessidade de cultura (NUNES et al., 2006, MANFRA et al., 2012; LIBRALATO et al., 2016). Durante as condições adversas, as artemias produzem cistos dormentes que podem ser chocados pela reidratação em água salgada, ainda depois de vários anos (LAVENS & SORGELOS, 2000; MADHAV et al., 2017).

Outros fatores relevantes referem-se aos bons conhecimentos de sua biologia e ecologia; fácil manipulação e manutenção em condições de laboratório; tamanho do corpo pequeno, o que permite acomodação em copos ou microplacas pequenas e alta adaptabilidade - resistência - a diferentes condições de teste (KOKKALI et al., 2011; LIBRALATO et al., 2016).

2.5.Os Náuplios de Artemia

De acordo com Clegg e Trotman (2002), o desenvolvimento de embriões encistados de Artemia. ocorre após um período de desenvolvimento pós-pausa (PDD), que varia entre 12 a 24 horas, e é dependente da temperatura e salinidade. O embrião emerge primeiro da casca (E1), continua se desenvolvendo por 2-4 horas (E-2), seguida pela eclosão do primeiro estágio náuplios (NI).

Segundo Libralato et al., (2016) os náuplios representam a fase de desenvolvimento mais utilizada em experimentos de toxicidade, e já foram utilizados para testar uma ampla gama de produtos químicos, entre esses o arsênico (As), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobalto, cobre (Cu), mercúrio (Hg), níquel, estanho (Sn), zinco (Zn), permanganato de potássio , dicromato de potássio e nitrato de prata , antibióticos, nanomateriais manipulados, poliestireno de tamanho nano, amianto, compostos fenólicos, etanolaminas e oligoelementos, herbicidas de triazina, inseticidas , pesticidas, acrilonitrila, carbamatos, ftalatos , agentes antiincrustantes, produtos farmacêuticos, agentes anticorrosivos, óleo e dispersantes de óleo, vários extratos vegetais, toxinas e matrizes ambientais como lixiviados de madeira, águas residuais, águas do mar e descargas marinhas.

Os náuplios são considerados um importante alimento vivo para uma diversidade de peixes, sendo oferecido a mais de 85% das espécies de aquicultura em todo o planeta. A utilização de ração viva com *Artemia* ainda é aplicada em tanques de cultivo com o intuito de aumentar a produtividade (SIVAKUMAR et al., 2009).

2.6.Problemas sanitários relacionados ao uso dos náuplios de *Artemia*

Embora os náuplios sejam vastamente usados como alimentos vivos por causa de suas vantagens nutricionais e operacionais, são considerados um possível vetor para a introdução de patógenos nos sistemas de criação (SKLIRIS e RICHARDS, 1998; SIVAKUMAR et al., 2009). Indaga-se que os náuplios possam operar como reservatório ou transportador mecânico de patógenos bacterianos como *Bacillus*, *Erwinia*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* e *Vibrio*, da mesma forma vírus da necrose pancreática infecciosa (IPNV) e nodavírus (SUDHAKARAN et al., 2007). Em cistos e náuplios/metanáuplios de *Artemia* coletados em incubadoras comerciais, já foi detectado a presença de vírus da doença de *Lymphocystis* (LCDV) através de métodos baseados em PCR (VALVERDE et al., 2019).

Diversas pesquisas analisaram suscetibilidade de *Artemia* a diferentes patógenos virais de crustáceos e sua função como reservatório vetor ou fonte de hospedeiros suscetíveis (DA SILVA et al., 2015). Experimentos como de Li et al. (2003) e Zhang et al. (2010) demonstram a transmissão vertical do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) de instares para adultos e de adultos para cistos reprodutivos.

Os problemas sanitários relacionados aos náuplios é devido a estes transportarem uma carga bacteriana que pode ser transferida de presas vivas aos tanques de peixes e larvas de moluscos, as quais servem de alimentos. Por conta desse fator, os náuplios são frequentemente tratados para reduzir as bactérias associadas a estes antes de servirem como alimentos para as larvas (SIVAKUMAR et al., 2009).

2.7.Eclodibilidade

Em espécies de *Artemia* as condições de eclosão dos cistos podem variar muito. Isso pode resultar em uma avaliação desigual da sensibilidade a cistos/náuplios, embora o primeiro fator que possa afetar a sensibilidade do organismo seja a origem geográfica dos cistos (LIBRALATO et al., 2016). Justamente por isso, vários autores tem buscado estimar condições adequadas que garantam ótima eclodibilidade.

De modo geral os cistos são incubados em temperaturas entre 18 e 28 °C e na maioria dos casos com 35 ‰ de salinidade. Já os valores de pH variam entre 7,5 e 9,0, pois o pH não pode ser menor que 7 para obter uma boa eclosão (VANHAECKE et al., 1980; LIBRALATO et al., 2016). Segundo Vanhaecke et al., (1980), durante o processo de incubação, a água do mar é aerada por uma bomba de ar, sendo a aeração média adequada uma condição necessária para obter uma incubação bem sucedida.

Somado a isso, Manfra et al. (2016) propuseram um nível de saturação de oxigênio aproximadamente > 60%. Ainda, a fase de eclosão pode acontecer na presença de luz (1000-4000 lux), ou parcialmente na escuridão. Guzzella (1997) considerando a eficiência de incubação propôs um limite para avaliar a eficiência de incubação de cistos que é > 90% em ≤ 32 h (LIBRALATO et al., 2016).

2.8. Perspectiva em relação ao uso e novas pesquisas com náuplios

Novos estudos promissores de náuplios de *Artemia* são quanto a testes de toxicidade e na nutrição animal. Atualmente a *A. salina* vem sendo adotada especificamente para pesquisar os efeitos de florações de algas perigosas (BOTES et al., 2003; GIUSSANI et al., 2015). Ainda esses zooplânctons têm se destacado em estudos como um organismo de teste para estimar a influência dos microplásticos no ambiente marinho. Especificamente, partículas microplásticas, entre 1–20 µm, acumularam-se em náuplios de *Artemia* e foram subsequentemente transferidas para peixes via ingestão como itens de presa (BATEL et al., 2016; WANG et al., 2019).

Ressaltam-se as perspectivas de novos estudos em relação à utilização de náuplios de *Artemias* como alimento vivo em diferentes espécies de peixes. De acordo com Coelho-Filho et al., (2018) as larvas de *Macrobrachium carcinus*, também conhecido como camarão-do-rio pintado, em estágios iniciais de desenvolvimento necessita de maior quantidade de alimento vivo, no caso os náuplios de *Artemia* recém-eclodidos, com o intuito de aumentar a eficiência de captura e atender às suas necessidades nutricionais. Porém são necessárias mais pesquisas na área antes de aplicar essa informação em incubatórios em escala comercial.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, localizada na cidade de Dourados - Mato Grosso do Sul.

Foram realizados estudos que avaliar o efeito de substâncias químicas como promotoras de descapsulação da *Artemia*, visando o aumento da taxa de eclosão. Foi utilizada a espécie *Artemia franciscana*, originária da empresa BioArtemia®, em Grossos-RN.

3.1. Produção de substâncias descapsulantes

Foram produzidas quatro soluções com diferentes pH. Para alteração do pH foi utilizado bicarbonato de sódio em quantidades suficientes para cada solução. Para alcançar os valores de pH foi utilizado solução de bicarbonato, partindo do medidor comum de pH 6,0. O valor de pH foi alterado a partir da sua dissolução em 250 ml de água. A hidratação dos cistos foi realizada em copos descartáveis com 20 ml da água com os diferentes níveis de pH durante os três períodos de tempo. Em seguida foram adicionados 80 ml da solução de água com salinidade de 20 ‰ devidamente homogeneizada (Tabela 1).

TABELA 1. Uso da quantidade de bicarbonato de sódio em g (NaHCO_3) em diferentes soluções para ajuste de pH.

Solução	(NaHCO_3) g
Solução pH 6	-
Solução pH 7	0,5
Solução pH 8	4,0
Solução pH 9	8,0

3.2. Eclosão de cistos

Os cistos de *Artemia* foram submetidos ao processo de hidratação com as suas respectivas substâncias descapsulantes (pH: 6, 7, 8, 9 e controle) em distintos tempos de exposição (controle, 5, 15, 30 minutos) (Tabela 2).

TABELA 2. Processo de hidratação em diferentes tempos e distintas soluções.

5 minutos	15 minutos	30 minutos
Solução pH 6	Solução pH 6	Solução pH 6
Solução pH 7	Solução pH 7	Solução pH 7
Solução pH 8	Solução pH 8	Solução pH 8
Solução pH 9	Solução pH 9	Solução pH 9

Neste processo, os cistos foram colocados em um recipiente na densidade de 1g de cisto por 80 ml de água, e colocados para incubação sob aeração constante com salinidade de 20 ‰ (20g de NaCl em 1 litro de H₂O) com temperatura de 28°C. Os cistos foram submetidos à iluminação constante durante todo período de incubação. Após 36 horas os cistos foram avaliados.

3.3.Procedimento

As estimativas da taxa de sobrevivência foram realizadas com auxílio de pipeta de 1 ml, a olho nú, sendo realizadas em triplicata, considerando náuplios mortos aqueles que se encontrarem imóveis dentro da pipeta.

A taxa de eclosão foi calculada pela relação entre o número de náuplios observados após os três dias de incubação e o total de cistos colocados para eclodir, conforme a fórmula (ZANANDREA, 2010).

$$\text{Taxa de eclosão} = \frac{\text{Naúplios observados}}{18.600} \times 100$$

3.4.Teste de toxicidade em pH com Bicarbonato de Sódio

As Artemias eclodidas foram submetidas à solução salinizada de 20 ‰ (20g NaCl para 1 litro de água). As soluções de distintos pH foram ajustados com bicarbonato de sódio (NaCO₃). Foram utilizados 10 náuplios de Artemia submetidos a soluções salinas nas seguintes concentrações de pH: 6; 7; 8; 9. O ensaio foi realizado em quintuplicata por tratamento, sendo a contagem dos náuplios realizadas nos seguintes períodos 1, 6, 12, 24h.

Os dados de porcentagem de náuplios de Artemia mortas em 24h em relação a concentração do pH ajustou-se a uma equação linear para estimar a Dose letal de 50% da

população ao bicarbonato de sódio. Sendo a equação solucionada para encontrar a dose letal de 50% da população.

3.5. Análise estatística

O ensaio de taxa de eclosão foi analisado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x4x3, quatro tratamentos e três repetições, em esquema de parcelas subdivididas, tendo como tratamento principal os distintos produtos e técnicas, como tratamento secundário os períodos de exposição (controle, 5, 15 e 30 minutos).

Para o teste de toxicidade o ensaio foi analisado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x4x5, quatro tratamentos e cinco repetições, foram realizados a análise de regressão sendo o fator principal as soluções com distintos pH e tratamento secundário o tempo (1, 6, 12 e 24 horas).

Foram analisadas a normalidade dos dados (SHAPIRO e WILK, 1965), e a homogeneidade (SNEDOCOR e COCHRAN, 1994) foi testada antes da aplicação da Análise de Variância (ANOVA). Para análise estatística dos dados utilizou-se o programa Graphpad Instat. As análises de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados analisados de produção total de náuplios e taxa de eclosão de cistos de *Artemia* para cada tratamento estão apresentados na Tabela 3. O grupo controle a qual não teve adição de bicarbonato, apresentou a taxa de eclosão de 23%, de forma geral todos os tempos de descapsulação apresentaram maior taxa de eclosão independente do tempo de exposição e o pH da solução.

A baixa taxa de eclosão apresentada no grupo controle pode estar relacionada a falta de hidratação inicial do cisto. Alguns trabalhos demonstram que a utilização de substâncias para o processo de descapsulação confere maiores taxas de eclosão dos cistos de *Artemia* (ROCHA et al., 2005).

TABELA 3. Média ($\pm$ DP) da produção total, taxa de eclosão de náuplios de *Artemia* submetidos distintos tempos de descapsulação em soluções de diferentes pH.

		Produção total (ml)	Taxa de eclosão (%)
Controle	-	43,33 $\pm$ 8,49 c	23%
Tempo de hidratação			
5 min	pH 6	128,33 $\pm$ 41,25 a	69%
	pH 7	142,00 $\pm$ 21,0 a	76%
	pH 8	37,83 $\pm$ 19,2 b	20%
	pH 9	60,67 $\pm$ 25,3 b	33%
15 min	pH 6	138,00 $\pm$ 11,1 a	74%
	pH 7	149,67 $\pm$ 9,3 a	80%
	pH 8	66,83 $\pm$ 29,9 b	36%
	pH 9	39,00 $\pm$ 10,1 c	21%
30 min	pH 6	159,33 $\pm$ 20,1 a	86%
	pH 7	126,67 $\pm$ 21,7 a	68%
	pH 8	66,50 $\pm$ 16,5 ab	36%
	pH 9	57,33 $\pm$ 37,9 c	31%

Letras distintas reportam diferença estatística em cada tempo de exposição ($p > 0,05$).

Na Figura 1, observa-se que as maiores taxas de descapsulação foram observadas para o pH 6 e 7, não havendo diferença significativa entre si.

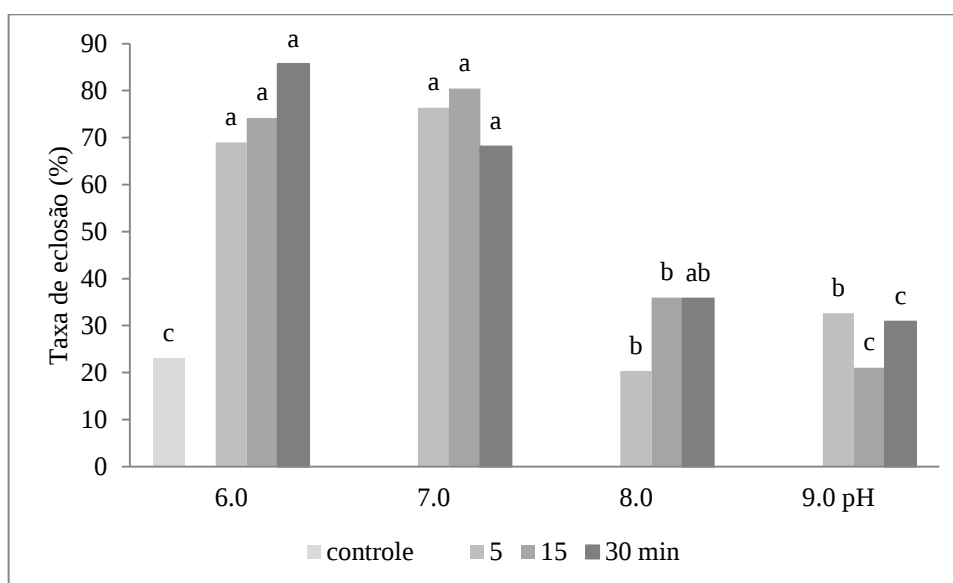


FIGURA 1. Relação da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempo de hidratação dos cistos de *Artemia* a soluções de distintos pH.

Para a taxa de eclosão, cistos de *Artemia* submetidos à solução de pH 6, apresentam um modelo linear com o tempo de exposição. Já a exposição ao pH 7 em relação ao tempo se adequaram a uma equação quadrática o que revela que para esta solução o ideal é a exposição de no máximo 18 minutos. Para o pH 8 apesar das baixas taxas de eclosão o aumento do tempo de exposição da solução promoveu aumento das taxas de eclosão, com 27 minutos de exposição (Figura 2).

A utilização de soluções de diferentes pH para eclosão de *Artemia* é benéfico na taxa de eclosão (LAVENS e SORGELOS, 1996), neste estudo em particular se procurou encontrar uma solução que auxilie no processo de descapsulação. Ressalta-se, no entanto que o bicarbonato de sódio pode ter promovido desidratação dos cistos de *Artemia* por se tratar de um sal (FURTADO, 2011). O Bicarbonato de Sódio é um regulador de alcalinidade e pH e pode ser usado como tampão contra mudanças bruscas de pH e aumentar a alcalinidade total do sistema de cultivo de peixes (QUEIROZ, 2006)

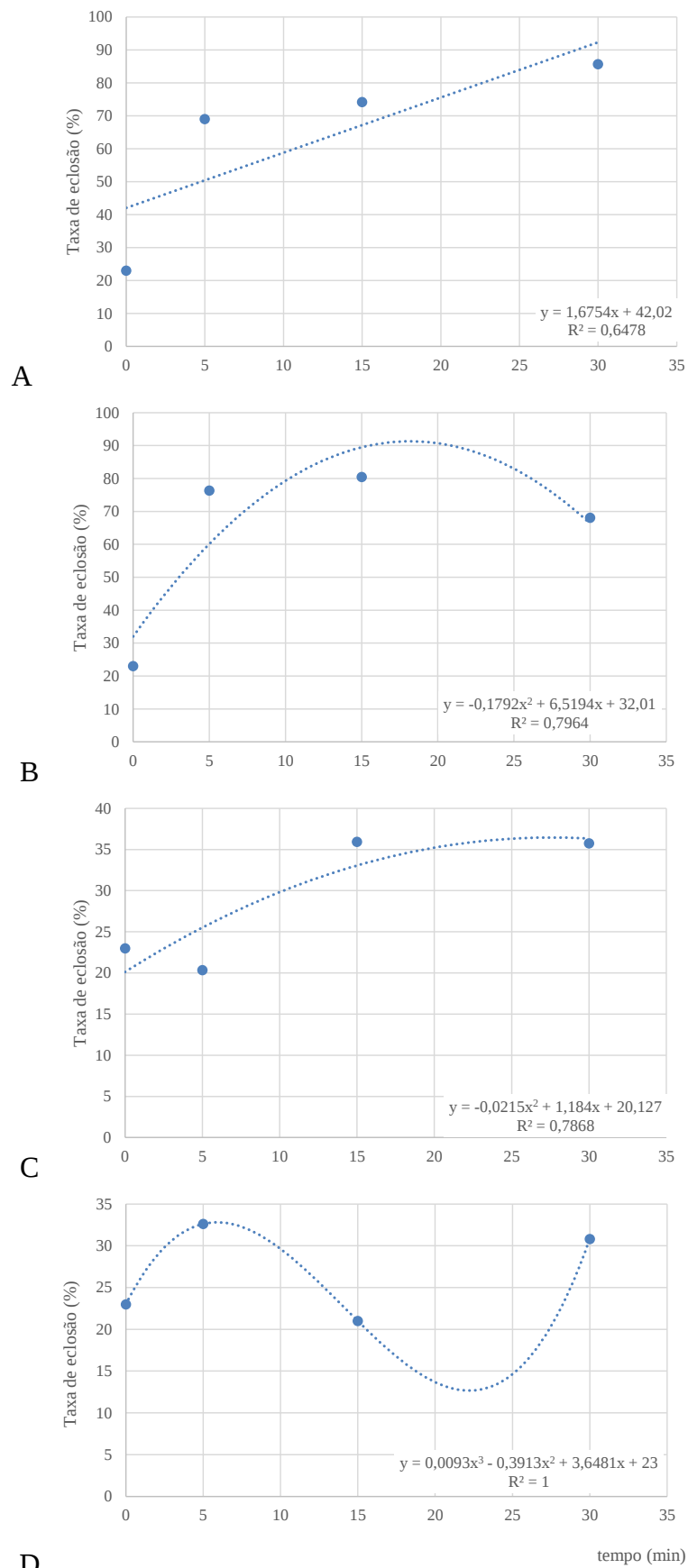


FIGURA 2. Análise de regressão da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempos de hidratação dos cistos de *Artemia* a soluções de distintos pH alterados por bicarbonato de sódio. A) pH 6; B) pH 7; C) pH 8; D) pH 9.

As baixas taxas de eclosão são observadas para cistos de *Artemia* expostas a alta concentração de hipoclorito (ROCHA et al., 2005). Neste estudo observou-se que a exposição dos cistos de *Artemia* em pH 8 e 9 promoveram baixas taxas de eclosão, isto pode estar associado a permeabilidade do cisto e a possível mortalidade desta quando exposto a estas concentrações de bicarbonato. Na literatura há relatos que os melhores taxas de eclosão são observadas com pH em torno de 8 e 8,5 (LAVENS e SORGELOS, 1996) ressalta-se no entanto, que as soluções utilizadas para alteração de pH são determinantes para o sucesso da taxa de eclosão. Segundo Lavens e Sorgelos (1996), a utilização de bicarbonato de sódio como produto para alterar o pH deve ser de no máximo 2 g/L^{-1} .

A análise gráfica do ensaio testado confere para o pH, a dose letal $DL_{50} = 7,27$ do pH (Figura 3). A baixa toxicidade do pH 6 e 7 frente aos náuplios de *Artemia* está relacionado a concentração de bicarbonato de sódio utilizado nas soluções. Observa-se que quantidades superiores a 2 g/L^{-1} conferem problemas de utilização deste produto (LAVENS e SORGELOS, 1996).

No entanto, as substâncias descapsulantes utilizadas também apresentam algum grau de toxicidade como o hipoclorito (WARLAND e WARLAND, 2004) e cloro (ROCHA et al., 2005).

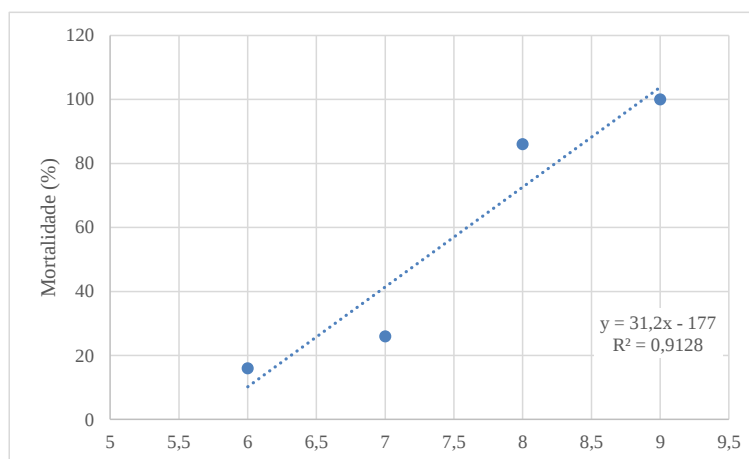


FIGURA 3. Percentual de mortalidade de náuplios de *Artemia* submetidos a soluções salinas com diferentes pH.

Observou-se que em uma hora de exposição ao pH 9 apresentou baixas taxas de sobrevivência e esta tendência foi observada em todos os tempos analisados (Tabela 4). Estes resultados demonstram que o bicarbonato de sódio foi tóxico para náuplios de *Artemia*.

TABELA 4. Média ($\pm$ DP) da sobrevivência dos náuplios de *Artemia* submetidos a soluções salina com diferentes pH.

Tempo de exposição		Sobrevivência (ml)	Sobrevivência total (%)
1 hora	pH6	10,0 $\pm$ 0,00 a	100
	pH7	10,0 $\pm$ 0,00 a	100
	pH8	7,8 $\pm$ 1,30 b	78
	pH9	6,2 $\pm$ 1,64 b	62
6 horas	pH6	10,0 $\pm$ 0,00 a	100
	pH7	10,0 $\pm$ 0,00 a	100
	pH8	5,6 $\pm$ 1,81 b	56
	pH9	2,8 $\pm$ 1,09 c	28
12 horas	pH6	10,0 $\pm$ 0,00 a	100
	pH7	8,8 $\pm$ 0,83 ab	88
	pH8	5,2 $\pm$ 1,78 b	52
	pH9	0,6 $\pm$ 0,54 c	6
24 horas	pH6	8,4 $\pm$ 0,54 ab	84
	pH7	7,4 $\pm$ 1,14 b	74
	pH8	1,4 $\pm$ 1,34 c	11
	pH9	0,0 $\pm$ 0,00 c	0

Letras distintas reportam diferença estatística em cada tempo de exposição ($p > 0,05$).

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que soluções de pH podem ser utilizadas como descapsulantes para *Artemia*. O tempo de exposição dos cistos de *Artemia* apresentam co-relação com a solução. Com base nos resultados desse estudo recomenda-se a utilização de pH 6 com tempo de 30min de exposição dos cistos de *Artemia*.

O teste de toxicidade ao pH foi obtido uma DL50 para o pH 7,27. Sendo, portanto o pH 9 letal para náuplios de *Artemia*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMAT, F. **Biologia de Artemia** Informes Técnicos del Instituto de Investigaciones Pesqueras. 1985.
- ATES, M. et al. Comparative evaluation of impact of Zn and ZnO nanoparticles on brine shrimp (*Artemia salina*) larvae: effects of particle size and solubility on toxicity. **Environ Sci Process Impacts** 15(1):225–23, 2013.
- BATEL, A. et al. Transfer of benzo[a]pyrene from microplastics to *Artemia* nauplii and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants **Environ. Toxicol. Chem.**, 35 (7), pp. 1656-1666, 2016.
- BOTES, L.; SMIT, A.J.; COOK, P.A. The potential threat of algal blooms to the abalone (*Haliotis midae*) mariculture industry situated around the South African coast **Harmful Algae**, 2, p. 247-259, 2003.
- CAMARA, M. R. Biomassa de artemia na carcinicultura. **Panorama da aquicultura**, ed. 82. 30 de abril, 2004.
- CAMARA, M. R. e CASTRO, E. V.. *Artemia salina* L. (Anostraca): urna opção para a aquicultura do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, n. 3, p. 145–147, 1983.
- CAMARGO, W.N. et al. Determination of biological and physicochemical parameters of *Artemia franciscana* strains in hypersaline environments for aquaculture in the Colombian Caribbean **Saline Syst.**, 1, pp. 9-19, 2005.
- CLEGG, J. S. e TROTMAN, C. N. A. **Physiological and Biochemical Aspects of Artemia Ecology**. *Artemia: Basic and Applied Biology*, 129–170, 2002.
- COELHO-FILHO, P.A.; GONÇALVES, A. P.; BARROS, H. P. *Artemia* nauplii intake by *Macrobrachium carcinus* at different larval stages in laboratory **Aquaculture**, 484, p. 333-337, 2018.
- CONCEIÇÃO, L. E. et al. Live feeds for early stages of fish rearing. **Aquaculture Research**, 41(5), 613– 640, 2010.
- CRIEL, G.R.J; MACRAE T.H. **Artemia morphology and structure**. Abatzopoulos, Th.J Beardmore, J.A. Clegg, J.S. Sorgeloos P. (Eds.), *Artemia: Basic and Applied Biology*, Springer Science+Business Media, Dordrecht (2002) chapter 1
- DA ROCHA, A.G. et al. Avaliação dos efeitos de diferentes concentrações de cloro na descapsulação e eclosão de larvas de *Artemia* (*Artemia* sp.). **Scientia Agraria**, v. 6, n. 1-2, p. 41-45, 2005.
- DOBBELEIR, J. et al. **New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp** *The Brine Shrimp Artemia, Ecology, Culturing, Use in Aquaculture*, vol. 3, p. 165–174, 1980.

FURTADO, P, S. **O Efeito do Hidróxido de Cálcio, do Carbonato e do Bicarbonato de Sódio na Qualidade de Água e no Desempenho Zootécnico do Camarão Litopenaeus vannamei Cultivado com Tecnologia de Bioflocos (BFT)**. 2011. 48f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade federal do rio grande – FURG, Rio Grande, 2011.

GIUSSANI, V. et al. Active role of the mucilage in the toxicity mechanism of the harmful benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* Harmful Algae, 44, p. 46-53, 2015.

GUINOT, D., et al 2013. Enrichment of *Artemia metanauplii* in phospholipids and essential fatty acids as a diet for common octopus (*Octopus vulgaris*) paralarvae **Aquac. Nutr.**, 19 (5), p. 837-844, 2013.

GUZZELLA, L. **Saggio di tossicità acuta con Artemia sp. Biologia Ambientale** 1. In Italian. 1997.

HOLLIDAY, C.W.; ROYE, D.B.; ROER R.D. Salinity-induced changes in branchial Na⁺/K⁺ ATPase activity and transepithelial potential difference in the brine shrimp *Artemia Salina* **J. Exp. Biol.**, 151, pp. 279-296, 1990.

HUND-RINKE, K., SIMON, M. Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO₂) on algae and daphnids. **Environ Sci Pollut Res Int** 13(4):225–232, 2006.

JAMALI, H. et al. Improving cofeeding strategies for Neotropical green terror cichlid (*Aequidens rivulatus*) larvae with lecithin-enriched *Artemia franciscana* nauplii: effects on survival, growth performance and body composition. **Aquac Res** 49(12):3909–3918, 2018.

JAMALI, H. et al. Lecithin-enriched *Artemia* combined with inert diet and its effects on reproduction and digestive enzymes of *Aequidens rivulatus*. **Aquaculture**, 25, p. 511:734, 2019.

JOHARI S.A. et al. Introducing a new standardized nanomaterial environmental toxicity screening testing procedure, ISO/TS 20787: aquatic toxicity assessment of manufactured nanomaterials in saltwater Lakes using *Artemia* sp. nauplii. **Toxicol Mech Meth.** 2018.

KOKKALI, V.; KATRAMADOS, I.; NEWMAN, J.D. Monitoring the effect of metal ions on the mobility of *Artemia salina* nauplii **Biosensors**, 1 (2) pp. 36-45, 2011.

LAVENS, P e SORGELOS, P. 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. **Aquaculture**, 2000, v. 181, p. 397–403.

LAVENS, P e SORGELOS, P. 1996. **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. FAO Tech. 1996, p. 361-295.

LIBRALATO, G. The case of *Artemia* spp. in nanoecotoxicology, **Mar. Environ. Res.**, 101, 38 -43, 2014.

LIBRALATO, G. et al. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp, **Ecol. Indic.**, 69, 35 -49, 2016.

LO NOSTRO, P. et al. Specific anion effects in *Artemia salina* **Chemosphere**, 135, p. 335-340., 015 times. www.elsevier.com/locate/chemosphere. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.080

MADHAV M.R. et al. Toxicity and accumulation of Copper oxide (CuO) nanoparticles in different life stages of *Artemia salina* **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 52 , pp. 227-238, 2017.

MANFRA L. et al. Lethal and sublethal endpoints observed for *Artemia* exposed to two reference toxicants and an ecotoxicological concern organic compound **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, p. 60-64123, 2016.

MANFRA, L. et al. Long-term lethal toxicity test with the crustacean *Artemia franciscana* **JOVE**, 62, pp. 2182-2185, 2012.

NAEGEL, C.A. Controlled production of *Artemia* biomass using an inert commercial diet compared with the microalgae *Chaetoceros* **Aquacultural Engineering**, 21, p. 49-59, 1999.

NEMATİ, T.; SARKHEİL, M.; JOHARI, S. A. Trophic transfer of CuO nanoparticles from brine shrimp (*Artemia salina*) nauplii to convict cichlid (*Amatitlania nigrofasciata*) larvae: uptake, accumulation and elimination. **Environmental Science and Pollution Research**, Volume 26, Issue 10, pp 9610–9618, 2019.

NUNES B.S. et al. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing **Environmental Pollution**, 144 (2) , pp. 453-462. (2006)

ØIE, G. et al. **Live feeds** G.J. Holt (Ed.), Larval Fish Nutrition, John Wiley & Sons, Incpp. 307-334, 2011.

QUEIROZ, J. F DE. **Aqüicultura: avaliação ambiental e boas práticas de manejo (BPM)**. In: FERRACINI, V. L.; QUEIROZ, S. C. do N. de; SILVEIRA, M. P. [Ed.]. Bioindicadores de qualidade de água. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. p. 178-200.

RAJABI, S et al. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles, Daru, **J. Pharm. Sci.**, 23 , 20, 2015.

ROCHA, A. G. et al. Avaliação dos efeitos de diferentes concentrações de cloro na descapsulação e eclosão de larvas de artêmia (artêmia sp.). **Scientia Agraria**, v.6, n.1-2, p.41-45, 2005.

ROCHA, R, DE MEDEIROS. Uso atual de *Artemia* (*Branchiopoda*, anostraca) no Brasil. In: FEIRA NACIONAL DO CAMARÃO, 14, 2014, Natal, **Anais...** Associação Brasileira de Criadores de Camarões, 2014. 1. CD-ROM.

SHAPIRO, S. S. e WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). Biometrika Trust, London, **Revista Transportes**, v. 52, p. 591–609, Dec.- 1965.

SIVAKUMAR, V.K. et al. Experimental exposure of *Artemia* to Hepatopancreatic parvo-like Virus and Subsequent transmission to post-larvae of *Penaeus monodon* **J. Invertebr. Pathol.**, 102, p. 191-195, 2009.

SKLIRIS, G.P e RICHARDS, R.H. Assessment of the susceptibility of the brine shrimp *Artemia salina* and rotifer *Brachionus plicatilis* to experimental nodavirus infections. **Aquaculture**. 169, 133–141. 1998.

SNEDECOR, G. W. e COCHRAN, W. G. **Statistical methods**, 8. ed., Iowa State University Press, Ames, 1994, p. 304-07.

SORGELOS, P.; DHERT, P.; CANDREVA, P. Use of the brine shrimp, *Artemia spp.*, in marine fish larviculture. **Aquaculture**, 200(1–2), 147– 159, 2001.

SORGELOS, P. et al. Culture of *Artemia* on rice bran: the conversion of a waste-product into highly nutritive animal protein **Aquaculture**, 21, p. 393-396, 1980.

SUDHAKARAN, R. et al. Experimental vertical transmission of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) from brooders to progeny in *Macrobrachium rosenbergii* and *Artemia*, **Journal of Fish Diseases**, 30, Issue1, p. 27-35, 2007.

TACON, A. G. Biosecure Shrimp Feeds and Feeding Practices: Guidelines for Future Development. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 48, n. 3: p. 381-392, 2017.

TAKAHASHI, L. S. et al. Efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*); **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 1-8, 2010.

TAKATA, R. **Produção de juvenis de *Artemia franciscana* e análise da utilização de dietas vivas e inertes na larvicultura intensiva do pintado *Pseudoplatystoma coruscans***. 2007. 116 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura – UNESP, Jaboticabal, 2007.

TRANTAPHYLLOIDIS, G.V.; ABATZOPOULOS, T.J.; SORGELOS, P. Review of the biogeography of the genus *Artemia* (*Crustacea, Anostraca*). **Journal of Biogeography**, 25, p. 213-226, 1998.

UT, V.N. et al. Development of nursery culture techniques for the mud crab *Scylla paramamosain* (Estampador). **Aquaculture Research**, v. 38, p. 1563–1568, 2007.

VAN STAPPEN, G. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. In: LAVENS, P.; SORGELOOS, P. (Eds.), **Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture**, Rome, FAO Fisheries Technical Paper. 1996.

VANHAECKE, P. et al. **Research on the development of a short-term standard toxicity test with the *Artemia nauplii***. G. PERSOONE.; P. SORGELOOS.; O. ROELS.; E. JASPERS (Eds.), *The Brine Shrimp Artemia: Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology*, vol. 1, Universa Press, Wetteren pp. 263-285, 1980.

WANG Y. et al. Effects of ingested polystyrene microplastics on brine shrimp, *Artemia parthenogenetica* **Environmental Pollution**, p. 715-722, 2019

WARLAND, T e WARLAND, D. **Artemia-descapsulation, hatching, feeding, on- growing and enrichment**, South australian seahorse marine services. Disponível: <http://www.ozreef.org/reference/artemia.html>. Acesso em outubro de 2019.

ZANADREA, A. C. V. Eclosão de *branchonetas dendrocephalus brasiliensis* em condições de laboratório. 2010. p.22. categoria (trabalho de conclusão de curso em engenharia de aquicultura). Universidade federal de santa catarina - UFSC, Florianópolis, 2010.

ZHU, S. et al. Developmental toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles on cysts and three larval stages of *Artemia salina* **Environmental Pollution**, 230, pp. 683-691, 2018.

ZMORA, O.; AVITAL, E.; GORDIN H. Results of an attempt for mass production of *Artemia* in extensive ponds **Aquaculture**, 213 pp. 395-400, 2002.

ZUANON, J. A. S.; SALARO, A. L.; FURUYA, W. M. Produção e nutrição de peixes ornamentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 165-174, 2011.