



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA



***Artêmia franciscana* – otimização da taxa de eclosão por solução de hipoclorito ou
água salinizada**

Eviliane Pátricia Furini Ott

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS FACULDADE
CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA



Artêmia franciscana – otimização da taxa de eclosão por solução de hipoclorito ou água
salinizada

Eviliane Pátricia Furini Ott

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como exigência para
conclusão do Curso de Zootecnia da
UFGD sob orientação do Profa Dra.
Claucia Honorato

Dourados
Mato Grosso do Sul
2021

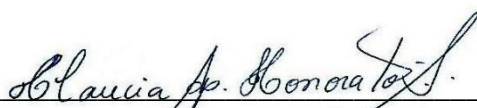
***Artêmia franciscana* – otimização da taxa de eclosão por solução de hipoclorito ou água salinizada**

Por

Eviliane Pátricia Furini Ott

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de ZOOTECNISTA

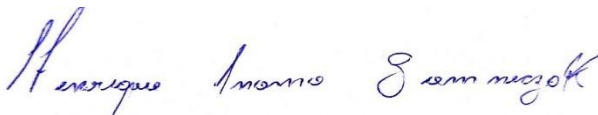
Aprovado em: 02 DE JUNHO DE 2021



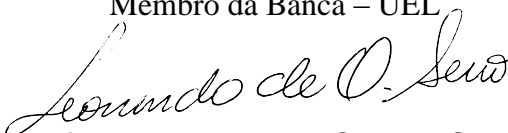
Profa. Dra. Cláucia Aparecida Honorato da Silva
Orientador – UFGD/FCA



Larissa Selini Dorce
Membro da Banca – UFGD/FCA



MSc Henrique Momo Ziemniczak
Membro da Banca – UEL



Prof. Dr. Leonardo de Oliveira Seno
Presidente da comissão do TCC-Zootecnia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

O89a Ott, Eviliane Pátricia Furini

Artêmia franciscana - otimização da taxa de eclosão por solução de hipoclorito ou água salinizada. [recurso eletrônico] / Eviliane Pátricia Furini Ott. -- 2021.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Claucia Aparecida Honorato.

TCC (Graduação em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2021.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

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

1. Artêmia. 2. Descapsulação. 3. Hipoclorito de Sódio. 4. Hidratação. I. Honorato, Claucia Aparecida. 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.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ser essencial na minha vida e ter me permitido a realização desse sonho.

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. À 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.

Agradeço aos meus pais, Volmir e Elisandra que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida. A meus irmãos Nataniel e Bruno Henrique por sempre acreditar no meu potencial.

A minha orientadora, Profa. Dra. Cláucia Honorato, o meu agradecimento por me acolher e me dar todo o apoio, incentivos e conselhos, tudo para a minha formação e crescimento como grande profissional, agradeço imensamente por tudo.

Aos meus melhores amigos Wesley, Jessica e Luciano, que estiveram comigo em todos os momentos ruins nessa jornada. Muito obrigado por tudo, pela amizade, parceria de festas, trabalhos, pelas brigas. Obrigado por fazerem parte da minha vida. E aos demais amigos o meu agradecimento.

Aos meus companheiros de jornada acadêmica Danilo, Leonardo, Gabriel, Jean “Coutinho”, Thaina, Thalita e Guilherme. Que transformaram os dias cansativos, em dias alegres com muito companheirismo, parceria e irmandade. Muito obrigado por tudo, pela amizade, por me aguentarem todos os dias, com e sem humor, pela “chaticé”, pelos conselhos e pela paciência.

Em especial a Thaina e ao Danilo, que estiveram sempre comigo dando conselhos, contribuições, sendo parceiros, meu muito obrigado. Saiba que tenho toda a admiração por vocês, de coração. Desejo tudo de bom e melhor para vocês. Agradeço a Thaina e sua família por me acolherem e me alimentarem em dias não tão bons, gratidão por tudo.

Agradeço a todos, mesmo até os que não foram citados aqui, saibam que direta ou indiretamente vocês contribuíram para a minha formação e jornada acadêmica.

Meus mais sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Eviliane Pátricia Furini Ott. Filha de Volmir Ott e Elisandra Furini Ott, nascida em 19 de maio de 1995 na cidade de Santo Antônio do Sudoeste-PR, Brasil. Ingressou no ensino médio em 2009 concluindo em 2012. Em 2013 ingressou na faculdade no curso de zootecnia no curso de Zootecnia na Universidade Federal da Grande Dourados, onde estou até o momento. Em 2018 ingressou no curso técnico em Agronegócio pelo programa de formação do SENAR concluindo em 2020. Fui bolsista no projeto de extensão por três anos. Atualmente participa de grupo de pesquisa Bioquímica Adaptativa.

SUMÁRIO

<u>LISTA DE FIGURAS</u>	ix
<u>LISTA DE TABELAS</u>	x
<u>RESUMO</u>	11
<u>ABSTRACT</u> ..	12
<u>1. INTRODUÇÃO</u>	13
<u>2. REVISÃO DE LITERATURA</u>	15
<u>2.1. Artêmia Franciscana</u>	15
<u>2.2. Eclodibilidade</u>	16
<u>2.3. Para que se usa Artêmia</u>	16
<u>2.4. Os Náuplios de Artêmia</u>	18
<u>3. MATERIAL E MÉTODOS</u>	19
<u>3.1. Produção de substâncias descapsulantes</u>	19
<u>3.2. Eclusão de cistos</u>	20
<u>3.3. Procedimento</u>	20
<u>3.4. Análise estatística</u>	20
<u>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	21
<u>5. CONCLUSÃO</u>	22
<u>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	22

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 1. Relação da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempos de hidratação dos cistos de artêmia a soluções de Hipoclorito de sódio e sal em diferentes tempos. A) tratamento utilizando hipoclorito. B) Tratamento utilizando sal. Medias com letras distintas reportam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).	21
FIGURA 2. Análise de regressão da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempos de hidratação dos cistos de artêmia a soluções de distintas de HCL e NaCl.	21

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1. Proporção de solução de descapsulação para cada 1 litro de água.....	199
TABELA 2. Processo de hidratação em diferentes tempos e distintas soluções.....	20

Ott, Eviliane Patrícia Furini. *Artêmia franciscana* – otimização da taxa de eclosão por solução de hipoclorito submetido a diferentes faixas de pH. 2021. 23p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade e a descapsulação de artêmia frente a duas distintas soluções, sendo uma de hipoclorito e uma segunda de NaCl. A taxa de eclosão foi calculada para todos os tratamentos. O ensaio foi analisado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3, quatro tratamentos e três repetições. A sobrevivência foi calculada para cada tratamento. O grupo controle apresentou a taxa de eclosão de 19%, de uma forma geral todos os tempos de descapsulação apresentaram maior taxa de eclosão independente do tempo de exposição. Os cistos de artêmia submetidos à solução de hipoclorito, 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, isso aconteceu de maneira semelhante para o tratamento com NaCl. Conclui-se que soluções de hipoclorito pode ser utilizada como descapsulante para artêmia. O tempo de exposição dos cistos de artêmia apresentam co-relação com a solução. Com base nos resultados desse estudo recomenda-se a utilização de hipoclorito com tempo de exposição de 30- 45 minutos de exposição dos cistos de artêmia. Em ambas as soluções os cistos apresentaram altas taxas de sobrevivência, esse resultado mostra que o uso de hipoclorito pode demonstrar uma boa taxa de eclosão.

Palavras-chave: Artêmia; descapsulação; hipoclorito de sódio; hidratação.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the feasibility and decapsulation of brine shrimp against two different solutions, one of hypochlorite and the second of NaCl. Hatch rate was calculated for all treatments. The trial was analyzed in a completely randomized design in a 4x3 factorial scheme, four treatments and three replications. Survival was calculated for each treatment. The control group had a 19% hatch rate, in general, all decapsulation times had a higher hatch rate regardless of the exposure time. In the brine shrimp cysts submitted to the hypochlorite solution, it was observed that the exposure time fits a linear equation, showing that the longer the exposure time, the higher the hatching rate, this happened in a similar way for the treatment with NaCl. It is concluded that hypochlorite solutions can be used as a decapsulant for brine shrimp. The exposure time of artemia cysts is correlated with the solution. Based on the results of this study, the use of hypochlorite with an exposure time of 30-45 minutes of exposure of the brine shrimp is recommended. In both solutions the cysts showed high survival rates, this result shows that the use of hypochlorite can demonstrate a good hatch rate.

Keywords: Artemia; decapsulation; Sodium hypochlorite; hydration.

1. INTRODUÇÃO

Considerando sua verticalização produtiva a Artêmia Franciscana é considerada uma excelente candidata para o direcionamento de esforços acadêmicos e mercadológicos. Teve sua exploração comercial iniciada nos Estados Unidos, na década de 50, no litoral de San Francisco, Califórnia e no biótopo interno, para atender o mercado de aquarofilia local (LAVENS & SORGELOS, 2000). No final da década de 1970 houve um avanço no cultivo de peixes marinhos e com isso a houve um aumento gradativo da produção de artêmia. A partir desse período o consumo do seu cisto, passou de algumas toneladas para aproximadamente 800 toneladas por ano (LAVENS & SORGELOOS, 2000).

Segundo Zuanon et al., (2011), esse crescimento na demanda pela artêmia é devido seu elevado teor proteico, lipídico, de aminoácidos essenciais, pigmentos e etc. ela é largamente utilizada na larvicultura (UT et al., 2007), na cadeia de produção de peixes ornamentais (TAKAHASHI et al., 2010).

No Brasil a presença da artêmia foi iniciada em 1977, a partir de inoculações feitas com cistos de Artêmia Franciscana importados da Califórnia, E.U.A. (origem comercial; San Francisco Bay Brand). Os primeiros organismos que chegaram no Brasil foram soltos em Macau-RN e logo após espalharam-se por toda a região salineira do Rio Grande do Norte. Segundo Camara & Castro et al., (1983), a artêmia encontrou nesse ambiente condições ecológicas favoráveis para sua disseminação em toda área salineira, sendo que o principal aspecto ecológico que merece destaque para o estabelecimento da população desse organismo no Brasil foi à elevada produtividade primária dos manguezais e conseqüentemente das salinas onde foram povoadas, fazendo com que se proporcionem rápido desenvolvimento das populações de artêmia salina nesses sítios.

Atualmente a produção é consumida pelo mercado da aquarofilia e por laboratórios de larvas de camarão. A demanda de cistos/náuplios de artêmia nas larvicultura mantem-se nos mesmos níveis dos anos 2000, em torno de 2-3 ton de cistos, enquanto a produção de biomassa de artêmia diminuiu 20-25 ton por ano (ROCHA et al., 2014).

Para Rocha et al., (2014), mesmo com a ampla distribuição e ocorrência naturalmente no Rio Grande do Norte, nota-se a ausência de projetos para desenvolver o melhoramento dessa produção. Atualmente a indústria de cistos de artêmia no Brasil se resume a um único empreendimento extrativista (coleta) de cistos que não atende a toda a demanda de cistos/biomassa necessária.

Desde a década de 80, estudos apontam que para o Brasil difundir o uso da artêmia e seus coprodutos, deveriam ser aumentadas as áreas de cultivo da artêmia, apoiando-se em estudos ecológicos, associado ao desenvolvimento de um complexo de beneficiamento de cistos e artêmias adultas (CAMARA E CASTRO et al., 1983). Devido ao alto custo de uma unidade deste tipo estes apresentaram a liofilização ou congelamento de artêmias adultas, como o caminho para o posterior uso dessa matéria prima na alimentação direta de organismos aquáticos ou ingrediente proteico em rações animais.

Para Da Rocha et al., (2005), um dos maiores entraves do processo de eclosão da artêmia é o processo que antecede a incubação dos cistos. A 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

O processo de hidratação pode ser aprimorado se utilizarmos substâncias que podem diminuir ou alterar o envoltório, aumentando a taxa de eclosão (TAKATA, 2007). Dentre as substancias descapsulantes que se reporta na literatura está o hipoclorito (DA ROCHA, et al., 2005).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de testar a viabilidade de otimização da eclosão de Artêmia Franciscana, utilizando hipoclorito de sódio (100ml de NaClO em 1 litro de água) e NaCl (25g de NaCl para cada 1 litro de água), testados em 3 diferentes períodos de tempo (0,15,30 e 45 minutos) sendo zero o tempo controle, ou seja, sem hidratação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Artêmia franciscana*

Artêmia franciscana, conhecida popularmente como camarões de salmoura, são crustáceos branquópodes considerados um fóssil vivo. Essa espécie apresenta um maior desenvolvimento em condições hipersalinas, onde devido a evaporação da água tem-se como resultado altas concentrações de cloreto de sódio (VAN STAPPEN, 1996; LO NOSTRO et al., 2015).

A *Artêmia Franciscana* tem um sistema osmorregulador extremamente eficiente (HOLLIDAY et al., 1990), a habilidade de sintetizar pigmentos respiratórios para lidar com baixos níveis de oxigênio em condições de altas salinidades e a capacidade de produzir embriões adormecidos (cistos). Após 24 h de incubação na água salina, os cistos liberam náuplios larval de natação livre (LO NOSTRO et al., 2015).

A *Artêmia Franciscana* é um dos alimentos vivos mais populares para peixes e invertebrados aquáticos. Ao se comparar com outras espécies aquáticas, possui inúmeras interações significativas com o ambiente aquático e confronta maior exposição a riscos a contaminantes (ZHU et al., 2018). A *Artêmia Franciscana* possui características intrínsecas que as tornam um organismo 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). Quanto à eclodibilidade os cistos descapsulados mostraram ter maior taxa, quando comparados com os cistos capsulados (ZHU et al., 2018).

Segundo Nunes, et al., (2006) o gênero artêmia tem uma ampla distribuição geográfica pelo mundo e é subdividido em seis espécies bissexuais comumente reconhecidas e um grande número de populações partenogênicas. As diferentes espécies do gênero que também apresentam algumas características em comum.

Dentre essas características, destaca-se a alta adaptabilidade a condições ambientais adversas, geralmente em condições extremas, ou seja, são localizadas em ambientes onde outras formas de vida não são encontradas (TRIANPHYLLIDIS et al., 1998; NUNES, et al., 2006). A tolerância a concentrações extremamente variáveis de oxigênio das espécies de artêmias permite que os invertebrados enfrentem com sucesso os ambientes adversos sob condições extremas (AMAT, 1985; NUNES, et al., 2006). Um exemplo é sua ocorrência em amplas faixas de salinidade (5-25 g L⁻¹) e temperatura (6-35 °C).

Em sua fase adulta as espécies possuem elevados padrões de adaptação em relação aos recursos nutricionais (NUNES, et al., 2006). Onde são capazes de utilizar diferentes fontes de nutrientes para sua produção, como o farelo de trigo, soja, arroz e soro de leite em pó (DOBBELEIR et al., 1980; SORGELOS et al., 1980); ou dietas comerciais inertes, como Nestum® (NAEGEL, 1999).

Algumas outras características comuns ao gênero estão inclusas, como 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).

2.2. Eclodibilidade

Em algumas espécies de artêmia as condições de eclosão dos cistos podem variar muito. Isso pode vir a resultar em uma desigual avaliação da sensibilidade a cistos, porém, o primeiro fator que possa afetar a sensibilidade do organismo seja a origem geográfica dos cistos (LIBRALATO et al., 2016).

Os cistos são incubados em temperaturas que variam de 18 a 28 °C e em sua grande maioria com salinidade de 35%. Já os valores de pH variam entre 7,5 e 9,0, visto que o pH não pode ser menor que 7 para obter que haja uma boa eclosão, sendo a faixa de pH 8 a mais indicada para eclosão (VANHAECKE et al., 1980; LIBRALATO et al., 2016).

Os pesquisadores 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, quanto 1 h de luz durante 48 h de exposição, também de 12-16 horas de luz durante 24 horas de exposição. 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).

2.3. Para que se usa Artêmia

Devido a sua extrema adaptabilidade a ambientes salinos e hipersalinos, a artêmia 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 artêmia é encontrado são caracterizados pela ausência predadores. Nesses ambientes, a evolução das populações desses

invertebrados é beneficiada pela abundância de fitoplâncton, bactérias, protozoários e algas, consumidos como sua dieta (AMAT, 1985; NUNES et al., 2006). Em laboratórios suas várias características fisiológicas adaptativas facilitam a produção nos ambientes artificiais (YI et al., 2020).

Em seu ambiente natural a *Artêmia Franciscana* 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).

Entre as vantagens no uso de *Artêmia* spp. na alimentação enfatiza-se que podem transferir determinados nutrientes benéficos, como vitaminas e fosfolípidios para o organismo-alvo por conta do seu comportamento alimentar não seletivo (JAMILI et al., 2019). Em consequência à sua maior adaptabilidade podem trazer outros diversos benefícios como, melhorar a ingestão, digestão e absorção da dieta formulada, viabilizada sob um regime de co-alimentação (ØIE et al., 2011, JAMILI et al., 2019).

De acordo com Nunes et al., (2006), a artêmia 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.

Além das características alimentares, a artêmia é um excelente modelo na utilização de testes de toxicidade, sendo que suas principais vantagens em testes de toxicidade, 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).

Segundo Libralato et al., (2011), há outros fatores relevantes que se referem 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; alta adaptabilidade - resistência - a diferentes condições de teste.

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, nano materiais manipulados, poliestireno de tamanho

nano, amianto, compostos fenólicos, etalonaminas e oligoelementos, herbicidas de triazina, inseticidas, pesticidas, acrilonitrila, carbonatos, 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.

2.4. Os Náuplios de Artêmia

O desenvolvimento de embriões encistados de *Artêmia* spp. 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). (CLEGG & TROTMAN et al., 2002)

Segundo Sivakumar et al., (2009), 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 alimento vivo com a artêmia ainda é aplicada em tanques de cultivo com o intuito de aumentar a produtividade.

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 & RICHARDS, 1998; SIVAKUMAR et al., 2009). Indaga-se que os náuplios possam operar como reservatório ou transportador mecânico de patógenos bacterianos como, *Staphylococcus* e *Vibrio*, da mesma forma IPNV e nodavírus (SUDHAKARAN et al., 2007).

Em diversas pesquisas foram analisadas a suscetibilidade de artêmia 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 Zhang et al. (2010) demonstram a transmissão vertical do vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) de adultos para cistos reprodutivos.

O maior problema sanitário relacionado aos náuplios é devido a estes transportarem uma boa carga bacteriana que pode ser transferida de presas vivas aos tanques de peixes. 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).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no mês de maio de 2019, no laboratório de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD, localizada na cidade de Dourados - Mato Grosso do Sul.

Foi utilizada a espécie *Artêmia franciscana*, (BioArtêmia®), Grossos-RN.

3.1. Produção de substâncias descapsulantes

Foram produzidas duas soluções utilizadas para eclosão dos cistos de artemia. Sendo uma com hipoclorito de sódio (NaClO) e a segunda com sal comum (NaCl), ambas foram preparadas partindo de proporções para 1 litro de água (Tabela 1), o delineamento em blocos casualizados, contou com quatro tratamentos e 3 repetições, os tratamentos correspondem a 0,15,30 e 45 minutos, sendo o tempo zero sem hidratação, totalizando 12 unidades experimentais. Em cada repetição dos tratamentos foi usado um grama de oocitos desidratados.

TABELA 1. Proporção de solução de descapsulação para cada 1 litro de água.

Solução	Hipoclorito (ml)	NaCl (g)
Solução 1	-	25
Solução 2	100	-

A hidratação dos cistos foi realizada em copos descartáveis com 100 ml contendo duas soluções devidamente homogeneizadas, durante os três períodos de tempo (0, 15, 30 e 45 minutos).

3.2. Eclosão de cistos

Os cistos de artêmia foram submetidos ao processo de hidratação com as suas respectivas substâncias descapsulantes (NaCl e NaClO) em distintos tempos de exposição (0, 15, 30, 45 minutos) (Tabela 2).

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

SEM TEMPO DE EXPOSIÇÃO	15 minutos	30 minutos	45 minutos
Solução 1 (NaCl)	Solução 1 (NaCl)	Solução 1 (NaCl)	Solução 1 (NaCl)
Solução 2 (hipoclorito)	Solução 2 (hipoclorito)	Solução 2 (hipoclorito)	Solução 2 (hipoclorito)

Neste processo, os cistos foram colocados em um recipiente na densidade de 1g de cisto por 100 ml de solução, e colocados para incubação sob aeração constante com salinidade de 25 ‰ (25g de NaCl em 1 litro H₂O) com temperatura de 30°C. Os cistos foram submetidos à iluminação constante durante todo período de incubação. Após 36 horas houve a eclosão e os cistos foram avaliados.

3.3. Procedimento

As estimativas da taxa de sobrevivência foram realizadas com auxílio de pipeta de 1 ml, onde foram dissolvidos em 10 ml de água e fixados em uma lamina para realizara leitura com o auxílio de microscópio, sendo realizadas em triplicata, considerando náuplios mortos aqueles que se encontrarem imóveis dentro da lamina.

A taxa de eclosão foi calculada pela relação entre o número de náuplios vivos observados após as 36 horas de incubação e o total de cistos colocados para eclodir.

3.4. Análise estatística

O ensaio de taxa de eclosão foi analisado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x3, 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 (0, 15, 30 e 45 minutos).

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

Na Figura 1A, observa-se que as maiores taxas de descapsulação foram observadas para o tempo de 15, 30 e 45 minutos no tratamento utilizando hipoclorito, não havendo diferença significativa entre si. Na Figura 1B, observa-se que as maiores taxas de descapsulação foram observadas para o tempo de 15, 30 e 45 minutos no tratamento utilizando NaCl, não havendo diferença significativa entre si.

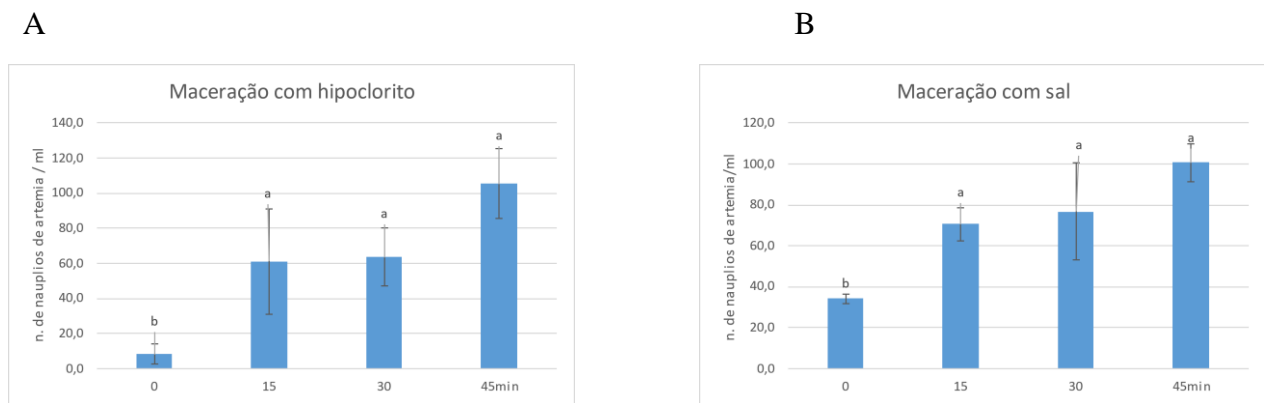


FIGURA 1. Relação da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempos de hidratação dos cistos de artêmia a soluções de Hipoclorito de sódio e sal em diferentes tempos. A) tratamento utilizando hipoclorito. B) Tratamento utilizando sal. Médias com letras distintas reportam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P > 0,05$)

Na figura dois observa-se a análise de regressão da taxa de eclosão de cistos de artêmia submetidos a diferentes tempos de hidratação com NaCl e hipoclorito. Podemos verificar que a utilização de hipoclorito no processo de hidratação apresenta-se adequado a um modelo linear. ($R^2 = 0,9086$) e a utilização de sal neste processo observa-se uma adequação a um modelo quadrático ($R^2 = 0,94$).

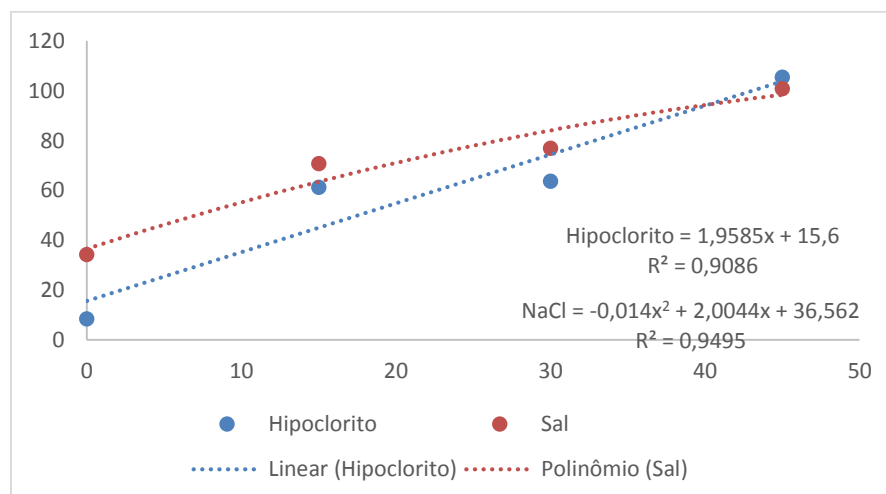


FIGURA 1. Análise de regressão da taxa de eclosão (%) sobre os diferentes tempos de hidratação dos cistos de artêmia a soluções de distintas de NaCl e Hipoclorito.

A baixa taxa de eclosão apresentada no grupo controle está relacionada a falta de hidratação inicial do cisto. A utilização de substâncias para o processo de descapsulação confere maiores taxas de eclosão dos cistos de artêmia, contudo com algumas ressalvas de toxicidade (Beux & Zaniboni-Filho, 2006; Da Rocha et al., 2005; Warland & Warland, 2004).

As baixas taxas de eclosão são observadas para cistos de artemias expostas a alta concentração de hipoclorito (Da Rocha et al., 2005). Neste estudo não foi encontrado diferença significativa para ambos os tratamentos.

Para Warland e Warland 2004, para desencapsulação de dez gramas de oocitos de artêmia é preciso adicionar hipoclorito de sódio com 12,5% de ingrediente ativo (125g/litro) com a concentração desejada de cloro ativo de 22 g por litro de água. Está, por tanto é uma concentração muito acima de ideal encontra neste trabalho que é 1 g para 100ml de água, mas o fato se deve ao temo de exposição dos oocitos ao ingrediente ativo, entre 5 a 7 minutos, enquanto que para este trabalho o tempo foi de 15, 30 e 45 minutos.

Segundo Bloch 1998, é recomendável usar 125g de cloro para descapsulação de oocitos. O tempo, é determinado pela mudança de coloração dos oocistos durante a aplicação do cloro e a concentração que é muito superior ao apresentado nesse trabalho.

5. Conclusão

Conclui-se que soluções de hipoclorito podem ser utilizados como descapsulantes para Artêmia.

6. Referências bibliográficas

AMAT, F. Biología de Artêmia Informes Técnicos del Instituto de Investigaciones Pesqueras. 1985.

ARULVASU, C.; JENNIFER, S. M.; PRABHU, D.; CHANDHIRASEKA, D. Toxicity Effect of Silver Nanoparticles in Brine Shrimp Artêmia, Sci. World J., p. 256-919, 2014.

BLOCH, D. Decapsulated brine Shimp. Newsletter july 1998.

BEUX, L.F.; ZANIBONI-FILHO, E. (2018). Influência da baixa salinidade na sobrevivência de náuplios de Artemia sp. Boletim do Instituto de Pesca, 32,(1), 73-77. São Paulo

CAMARGO, W.N.; DURÁN, G.C.; RADA, O.C.; HERNÁNDEZ, L.C.; LINERO, J.-C.G.; MUELLE, I.M.; Sorgeloos P. Determination of biological and physicochemical parameters of *Artêmia franciscana* strains in hypersaline environments for aquaculture in the Colombian Caribbean Saline Syst., 1, pp. 9-19, 2005.

CLEGG, J. S., & TROTMAN, C. N. A. Physiological and Biochemical Aspects of Artêmia Ecology. *Artêmia: Basic and Applied Biology*, 129–170, 2002.

DA ROCHA, A.G., KRAUSE, C.S., VIEIRA, E.D.S., DE FREITAS, F., CAIMI, L.C & FONSECA, R.R.V.P. (2005). Avaliação dos efeitos de diferentes concentrações de cloro na descapsulação e eclosão de larvas de *Artemia* (*Artemia* sp.). *Scientia agraria*, 6, (1), 41-45

DA SILVA, SMBC; LAVANDER, HD; DE SANTANA LUNA, MM; DA SILVA, AOME; GALVEZ, AO; COIMBRA, MRM Vertical transmission of infectious myonecrosis virus in *Litopenaeus vannamei* *Aquaculture*, 459, pp. 216-222, 2015.

DOBBELEIR, J. ADAM, N. BOSSUYT, E. BRUGGEMAN, E. SORGELLOS P. New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp *The Brine Shrimp Artêmia, Ecology, Culturing, Use in Aquaculture*, vol. 3, p. 165–174, 1980.

GUZZELLA, Saggio di tossicità acuta con *Artêmia* 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 *Artêmia salina* *J. Exp. Biol.*, 151, pp. 279-296, 1990.

JAMALI, H. AHMADIFARD, N.; NOORIF., GISBERT, E. ESTEVEZ, A., AGH N. Lecithin-enriched *Artêmia* combined with inert diet and its effects on reproduction and digestive enzymes of *Aequidens rivulatus*. *Aquaculture*, 25, p. 511:734, 2019.

LAVENS, P. & SORGELLOS, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. Food and Agriculture Organization (FAO).

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

LIBRALATO, G.; PRATO, E.; MIGLIORE, L.; CICERO, A. M.; Manfra, L. A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artêmia* spp, *Ecol. Indic.*, 69, 35 -49, 2016.

LO NOSTRO, P., NINHAM, B.W., CARRETTI, E., DEI, L., BAGLIONI, P. Specific anion effects in *Artêmia salina* *Chemosphere*, 135, p. 335-340., 015 times. www.elsevier.com/locate/chemosphere. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.080

MANFRA L., CANEPA, S. PIAZZA, V. FAIMALI M. Lethal and sublethal endpoints observed for *Artêmia* exposed to two reference toxicants and an ecotoxicological concern organic compound *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, p. 60-64123, 2016.

MANFRA, L. SAVORELLI, F. PISAPIA, M. MAGALETTI, E. Cicero, A.M. Long-term lethal toxicity test with the crustacean *Artêmia franciscana* *JoVE*, 62, pp. 2182-2185, 2012.

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

NEMATI, T.; SARKHEIL, M.; JOHARI, S. A. Trophic transfer of CuO nanoparticles from brine shrimp (*Artêmia 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., CARVALHO F.D., GUILHERMINO L.M., VAN STAPPEN G. Use of the genus *Artêmia* in ecotoxicity testing *Environmental Pollution*, 144 (2) , pp. 453-462. (2006)

ØIE, G. REITAN, K.I. EVJEMO, J.O. STØTTRUP, J. OLSEN Y. Live feeds G.J. Holt (Ed.), *Larval Fish Nutrition*, John Wiley & Sons, Incpp. 307-334, 2011.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI, M.; NAJI, T. *Artêmia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles, *Daru, J. Pharm. Sci.*, 23 , 20, 2015.

SHAPIRO, S.S. & WILK, M.B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, (3/4), 591-611.

SIVAKUMAR, V.K. SARATHI, M. VENKATESAN, C. SIVARAJ, A. HAMEED, A.S.S. Experimental exposure of *Artêmia* 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.; RICHARDS, R.H. Assessment of the susceptibility of the brine shrimp *Artêmia salina* and rotifer *Brachionus plicatilis* to experimental nodavirus infections. *Aquaculture* 1998, 169, 133–141.

SORGELOOS, P.; BAEZA-MESA, M.; BOSSUYT, E.; BRUGGEMAN, E.; DOBBELEIR, J.; VERSICHELE, D.; LAVIÑA, E.; BERNARDINO, A. Culture of *Artêmia* on rice bran: the conversion of a waste-product into highly nutritive animal protein *Aquaculture*, 21, p. 393-396, 1980.

SUDHAKARAN, R.; ISHAQ AHMED, V P.; HARIBABU, P.; MUKHERJEE, S C.; WIDADA, J S.; BONAMI, J R.; SAHUL, A. S. Experimental vertical transmission of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) from brooders to progeny in *Macrobrachium rosenbergii* and *Artêmia*, *Journal of Fish Diseases*, 30, Issue1, p. 27-35, 2007.

TRIANAPHYLLIDIS, G.V. Abatzopoulos, T.J. Sorgeloos P. Review of the biogeography of the genus *Artêmia* (*Crustacea, Anostraca*). *Journal of Biogeography*, 25, p. 213-226, 1998.

VAN STAPPEN, G., Introduction, biology and ecology of *Artêmia*. 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. PERSOONE, G. CLAUS, C. SORGELOOS P. Research on the development of a short-term standard toxicity test with the *Artêmia nauplii* G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels, E. Jaspers (Eds.), *The Brine Shrimp Artêmia: Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology*, vol. 1, Universa Press, Wetteren pp. 263-285, 1980.

YI, X. ZHANG, K., LIU R.; GIESY J. P.; LI Z. LI, W.; ZHAN, J. LIU, L.; GONG, Y. Transcriptomic responses of *Artêmia salina* exposed to an environmentally relevant dose of *Alexandrium minutum* cells or Gonyautoxin 2/3 *Chemosphere* Volume 238, January 2020, p.124-661, 2020.

ZHANG, J.S.; DONG, S.L.; DONG Y.W.; TIAN, X.L.; CAO, Y.C.; LI, Z.J.; YAN D.C. Assessment of the role of brine shrimp *Artêmia* in white spot syndrome virus (WSSV) transmission *Vet. Res. Commun.*, 34, p. 25-32, 2010.

ZHU, S., XUE, M.-Y., LUO, F., CHEN, W.-C., ZHU, B., WANG, G.-X. Developmental toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles on cysts and three larval stages of *Artêmia salina* Environmental Pollution, 230, pp. 683-691, 2018.

WARLAND, T & WARLAND, D. Artemia-descapsulation, hatching, feeding, on- growing and enrichment, South Australian Seahorse marine Sevices.