

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente

INFLUÊNCIA DA DIETA PARENTAL NA QUALIDADE LIPÍDICA
DOS OVOS E NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE
CAMARINHA, *PALAEMONETES VARIANS*

Ana Isabel Candeias Mendes

Mestrado em Biologia Marinha
Especialização em Pescas e Aquacultura

2008

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente

INFLUÊNCIA DA DIETA PARENTAL NA QUALIDADE LIPÍDICA
DOS OVOS E NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE
CAMARINHA, *PALAEMONETES VARIANS*

Ana Isabel Candeias Mendes

Mestrado em Biologia Marinha

Especialização em Pescas e Aquacultura

Dissertação orientada pelo Professor Doutor Luís Cancela da Fonseca
(FCMA) e pelo Professor Doutor Luís Narciso (FCUL)

Supervisão no IPIMAR pelo Doutor Pedro Pousão Ferreira

2008

Resumo

A camarinha *P. varians* é um camarão eurihalino muito abundante em regiões estuarinas e de sapal, de características temperadas. É utilizado para consumo humano e para a pesca apresentando actualmente uma procura crescente. Neste trabalho pretende-se averiguar, de modo preliminar as exigências nutricionais em ácidos gordos e a viabilidade de cultivo. Utilizaram-se cinco dietas, D1 (*Artemia*), D2 (Coelho), D3 (S.One), D4 (Poliqueta), D5 (AquaS2) facilmente disponíveis e com diferentes perfis em ácidos gordos, tendo-se observado a sua aceitabilidade e o efeito na condição física e na reprodução dos camarões, investigou-se a influência das dietas parentais nas reservas lipídicas dos ovos e do embrião e como é efectuada a gestão dos ácidos gordos ao longo da embriogénese. Como comparação aos camarões cultivados, amostraram-se também camarões “selvagens” recolhidos na Ria Formosa. Verifica-se que esta espécie apresenta a capacidade de utilizar os ácidos gordos de forma selectiva, utilizando ácidos gordos não-essenciais e/ou abundantes como forma de energia, armazenando os ácidos gordos essenciais, parece também, demonstrar uma capacidade de biossíntese de HUFA superior a outros decápodes, o que associado à facilidade de cultivo e resistência ao manuseio a tornam muito interessante para aquacultura. As dietas D4 (Poliqueta) e D5 (AquaS2) apresentaram os melhores resultados ao fim de 6 meses de ensaio.

Palavras-chave: *Palaemonetes varians*; camarinha; ácidos gordos; HUFA; embriogénese

Abstract

P. varians is a eurihaline grass shrimp, abundant in temperate saltmarshes and estuaries. It is used for human consumption or as fish bait, presenting an increasing demand. The aim of this work is to study, in a preliminary way, the nutritional requirements in fatty acids and the culture viability. Five diets were used, D1 (*Artemia*), D2 (Rabbit), D3 (S.One), D4 (Marine worm), D5 (AquaS2), easily available and with different fatty acids profile. The acceptability and the effect on the shrimp condition and reproduction were observed, it was investigated the influence of the parental diets on the eggs and embryo lipid reserve, and in embryogenesis fatty acid dynamics. For comparison there were also sampled "wild" shrimps collected in Ria Formosa. This species show the capability of using fatty acids in a selective mode, using non-essential or abundant fatty acids as energy resource, saving the essential fatty acids. It is also suggested that this species seems to have a higher HUFA biosynthesis than other decapods species, which, simultaneously with the easiness of cultivation and resistance to handling, make it an interestingly species for aquaculture. The best outcomes from a 6 months trial were obtained by diets D4 (Marine worm) and D5 (AquaS2).

Key-words: *Palaemonetes varians*; grass shrimp; fatty acids; HUFA; embryogenesis

ARA – Arachidonic Acid (ácido araquidónico)

CC – Comprimento do Cefalotórax

DHA – Docosaheptaenoic Acid (ácido docosaheptaenóico)

D1 – Dieta D1 (*Artemia*)

D2 – Dieta D2 (Coelho)

D3 – Dieta D3 (S.One)

D4 – Dieta D4 (Poliqueta)

D5 – Dieta D5 (AquaS2)

D6 – Tratamento D6 (“Selvagens”)

ES – Early Spring (1ª amostragem – “early spring”)

EFA – Essential Fatty Acids (ácidos gordos essenciais)

EPA – Eicosapentaenoic Acid (ácido eicosapentaenóico)

HUFA – Highlyunsaturated Fatty Acids (ácidos gordos polinsaturados)

LINOLEICO – Ácido linoleico (18:2n-6)

LINOLÉNICO – Ácido linolénico (18:3n-3)

LS – Late Spring (2ª amostragem – “late spring”)

MUFA – Monounsaturated Fatty Acids (ácidos gordos monoinsaturados)

PUFA – Polyunsaturated Fatty Acids (ácidos gordos polinsaturados)

SFA – Saturated Fatty Acids (ácidos gordos saturados)

Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Recursos Biológicos, INRB I.P.-IPIMAR, por ter disponibilizado as instalações da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO) que permitiram a realização deste trabalho, e à Unidade de Valorização dos Produtos da Pesca e Aquicultura (UVPPA), onde foram realizadas as análises bioquímicas.

Ao Professor Doutor Luís Cancela da Fonseca, da Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente da Universidade do Algarve, por ter prontamente aceite e orientado este trabalho, com ajudas valiosas na escrita desta tese.

Ao Professor Doutor Luís Narciso, da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, pela amizade e disponibilidade com que aceitou co-orientar este trabalho facultando generosamente os seus conhecimentos nesta área.

Ao Doutor Pedro Pousão-Ferreira, responsável pela EPPO, pelo apoio e incentivo incondicionais ao longo dos anos.

À Doutora Narcisa Bandarra e à Dr^a. Joana Coutinho pela elevada disponibilidade e atenção no tratamento e execução das análises bioquímicas.

A todos os meus colegas da EPPO, actuais e anteriores. Ao Paulinho e ao Canas pelas incursões no meio do sapal em busca das camarinhas.

A todos os professores, e felizmente foram bastantes, de quem tive o privilegio de ser aluna, ao longo destes anos na Universidade do Algarve.

Às minhas colegas Cristina, a minha parceira de inúmeros, quase todos os trabalhos (já sinto falta daquelas maratonas) e AG, pela amizade e solidariedade, principalmente ao longo da execução deste trabalho final.

Aos meus pais pelo orgulho que sentem e que me faz prosseguir.

Ao Pedro, por tudo.

ÍNDICE

1. Introdução.....	1
1.1. Camarinha <i>Palaemonetes varians</i>	2
2. Estrutura e função dos lípidos.....	4
2.1. Papel dos lípidos na nutrição de Decápodes	7
2.2. Importância da dieta parental.....	8
3. Descrição da espécie <i>P. varians</i> . Biologia e Ecologia. Sistemática e Distribuição Geográfica	10
3.1. Morfologia e Anatomia.....	11
3.2. Reprodução	14
3.3. Alimentação	17
4. Materiais e Métodos	18
4.1. Obtenção dos organismos vivos.....	18
4.2. Dietas experimentais.....	20
4.3. Recolha de Amostras	21
4.4. Análise de lípidos.....	23
4.5. Tratamento estatístico	23
5. Resultados	25
5.1. Sobrevivência.....	25
5.2. Parâmetros populacionais.	26
5.2.1. Relação entre sexos, número de fêmeas ovígeras.....	26
5.2.2. Relações biométricas	29
5.3. Lípidos	31
5.3.1. Perfil lipídico das diferentes dietas experimentais.....	31
5.3.2. Perfil lipídico dos ovos de <i>P. varians</i>	34
5.3.3. Dinâmica lipídica na embriogénese de <i>P. varians</i>	42

6. Discussão	51
6.1 Sobrevivência.....	51
6.2. Parâmetros populacionais. Relação entre sexos, percentil de fêmeas ovígeras e relações biométricas	52
6.3. Lípidos	54
6.3.1. Perfil lipídico dos ovos de <i>P. varians</i>	54
6.3.2. Dinâmica lipídica na embriogênese de <i>P. varians</i>	58
7. Considerações Finais	61
8. Referências Bibliográficas	66
ANEXOS	71

1. Introdução

A União Europeia apresenta um elevado consumo *per capita* de peixes, moluscos e crustáceos. Dados de 2004 apontavam que 19% do total dos produtos da pesca eram de aquacultura, pelo que apresenta um balanço deficitário na produção, necessitando de recorrer à importação de modo a suprir a procura (GAIN Report Number: E40006. 2007). A nível mundial os produtos de aquacultura representam 32,4% do total dos produtos da pesca. Assim, a Aquacultura é uma actividade em expansão, apresentado um crescimento médio anual de 8,8% desde 1970 (FAO, 2007).

A Aquacultura em Portugal centra-se em poucas espécies salientando-se a truta na Piscicultura dulçaquícola, a dourada, o robalo e o pregado no caso da Piscicultura marinha e, a amêijoia e ostra (com larga predominância da primeira) no caso da Moluscicultura.

A crescente diminuição da oferta de pescado e outros produtos do mar por parte da frota pesqueira tem vindo a aumentar a procura dos produtos da aquacultura.

Por outro lado, a competitividade da globalização, com a introdução no nosso mercado de produtos de aquacultura produzidos noutros países, tem impulsionado a crescente necessidade de diversificarmos a nossa oferta em aquacultura.

A diversificação da piscicultura marinha, no campo da produção de espécies com grande valor comercial (linguado, sargos, pargo e corvina), tem vindo a ser desenvolvida experimentalmente no nosso País. Este interesse está directamente relacionado com vários factores, nomeadamente, com o aumento da oferta e a resultante redução do preço de mercado da dourada e do robalo, com as excelentes condições climáticas para o desenvolvimento destas espécies, a disponibilidade de locais com boa qualidade de água e o seu elevado valor comercial.

No entanto, o desenvolvimento desta actividade passa pela possibilidade de obtenção de juvenis, em quantidade, qualidade e época que permita uma produção em contínuo, o que só é possível através da sua produção em cativeiro, em Estações de Reprodução (maternidades) criadas para o efeito.

A investigação nesta área tem igualmente um papel importante no repovoamento piscícola, com consequências na gestão dos stocks e na produção de outras espécies, nalguns casos não dirigidas apenas para o mercado de consumo humano directo. Estão neste caso, a produção de espécies como a minhoca-da-pesca (*Hediste diversicolor*.) ou

da camarinha (*Palaemonetes varians*). Estas espécies poderão ter implicações importantes em termos de ecologia e ordenamento do litoral.

No caso da camarinha esta espécie é utilizada no consumo humano, sendo exportada em grandes quantidades para Espanha e como isco para a pesca (robalo e sargos). A sua crescente procura e captura nos ecossistemas naturais, salinas, reservatórios de água e zonas do sapal, pode afectar seriamente os stocks naturais desta espécie.

Deste modo, a crescente procura, o conseqüente incremento do seu valor comercial e a disponibilidade de inúmeros locais ao longo da costa propícios para o seu cultivo, justificam que se comece a encarar a sua produção em aquacultura, como meio de diversificar a oferta desta actividade e equilibrar a balança de exportações, criando valor acrescentado à economia nacional.

O objectivo deste trabalho foi averiguar, de modo preliminar as exigências nutricionais em ácidos gordos e, testar a viabilidade de cultivo da camarinha. Para tal, utilizaram-se cinco alimentos facilmente disponíveis e com diferentes perfis em ácidos gordos, tendo-se observado a sua aceitabilidade e o efeito na condição física e na reprodução dos camarões

Discute-se a influência das dietas parentais no perfil lipídico dos ovos e conseqüente dinâmica lipídica embrionária.

1.1. Camarinha *Palaemonetes varians*

A camarinha, *Palaemonetes varians*, é um pequeno camarão que se encontra frequentemente em zonas estuarinas (Fig. 1). As características geológicas da Costa Portuguesa (com vários estuários e lagunas com zonas de sapal) e oceanográficas (a água do mar mantém uma temperatura anual de características temperadas), fazem



Figura 1 – Fêmea ovígera de *P. varians*. Foto do autor

com que esta espécie possa ser muito abundante e como tal um recurso que deve ser estudado.

As camarinhas fazem parte da tradição gastronómica, sendo consideradas um “petisco”. São igualmente muito consumidas em Espanha, utilizadas principalmente na preparação de *tortillas*.

São também muito utilizadas na pesca desportiva, com óptimos resultados na captura de algumas espécies de peixes de elevado valor comercial.

Desde há alguns anos que algumas salinas abandonadas na zona da Reserva Natural do Estuário do Tejo estão a ser exploradas para a captura de camarinhas, por cidadãos espanhóis. É necessário que esta actividade seja regulada para minimização dos vários impactos directos. Não é aceitável a captura massiva de um elo do ecossistema sem qualquer controlo dos stocks, nem das relações ecológicas que se desencadeiam.

Para a exploração desta espécie, o nível da água dos tanques é necessariamente superior ao que se utiliza para a extracção do sal. Esta diferença de nível, não permite que sejam utilizadas pelos milhares de aves para as quais as zonas húmidas do nosso território são de extrema importância na sua rota migratória, e que se encontram protegidas pela directiva Aves.

Se considerarmos ainda, as inúmeras salinas abandonadas e aterradas em todo o país, constata-se facilmente que este é um problema ecológico grave. Não devemos também esquecer que como qualquer actividade económica/comercial, deve ser sujeita a regulamentos.

Recentemente realizou-se um fórum para discussão desta actividade e para as consequências de uma actividade não regulamentada. No entanto deve-se considerar este interesse na camarinha como um aspecto importante e positivo, que deve servir de motor para o desenvolvimento sustentado de uma nova actividade e para promover a gestão adequada das áreas litorais que se encontram actualmente abandonadas. É importante não esquecer que salinas desactivadas, onde os ciclos hídricos não se renovam, são zonas que se tornam estéreis e perdem a função ecológica que poderiam executar.

Para começar a explorar um recurso devem ser efectuados vários estudos para aprofundar o conhecimento da espécie. A camarinha foi utilizada no passado em vários ensaios, devido à sua grande resistência em laboratório, maioritariamente para testes de toxicidade.

Quando se começa a utilizar uma espécie em aquacultura pretende-se fechar o seu ciclo de vida. É crucial que se consiga reproduzir em cativeiro de modo regular e periódico, e que a descendência seja de boa qualidade.

2. Estrutura e função dos lípidos

Os lípidos são um grupo diverso de moléculas de origem biológica, compostas quimicamente por hidrocarbonos (Purves *et al.*, 2001 ; Solomons, 1997), podem ser divididos em grupos, em função da presença de glicerol: ácidos gordos em estado livre, lípidos com glicerol (triglicéridos e fosfolípidos) e lípidos sem glicerol, onde se englobam os esteróides (Tacon, 1989).

Os ácidos gordos são ácidos carboxílicos com uma cadeia mais ou menos longa de átomos de carbono ligados a hidrogénio (grupo metileno CH₂) que termina num grupo metilo (CH₃). Devido à rotação relativamente livre em torno das ligações simples entre os carbonos, são moléculas altamente flexíveis, no entanto a conformação mais estável é completamente distendida, em que a interferência estereoquímica é mínima entre os grupos (Voet & Voet, 1995). Podem ser classificados de acordo com três critérios base:

- O número de átomos de carbono - possuem normalmente uma cadeia com número par de átomos de carbono;
- A presença de ligações duplas: - saturados, quando não possuem nenhuma ligação dupla na cadeia; - monoinsaturados, quando possuem uma ligação dupla; - polinsaturados quando possuem duas ou mais ligações duplas;
- A posição das ligações duplas em relação ao grupo metilo;
- A estereoquímica da molécula – lineares ou ramificadas.

Os ácidos gordos de origem animal podem ter até seis ligações duplas, a maioria das plantas superiores não ultrapassam três, enquanto os ácidos gordos das algas podem apresentar até cinco ligações duplas (Christie, 1992 *in* Narciso, 1996).

A notação taquigráfica, normalmente utilizada para facilitar nos referirmos a determinado ácido, como seja 22:6n-3, ácido docosahexaenóico, refere exactamente os critérios descritos anteriormente, assim este ácido tem 22 átomos de carbono, 6 ligações duplas, encontrando-se a primeira entre o terceiro e quarto carbono, a contar do grupo metilo (Fig. 2).

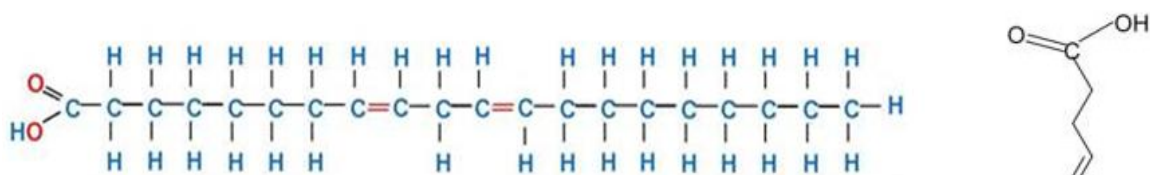


Figura 2 – Exemplos de ácidos gordos. O ácido gordo na horizontal representa 20:2n-9, e na vertical representa-se DHA, 22:6n3.

Os ácidos gordos polinsaturados (PUFA- polyunsaturated fatty acids), são ácidos gordos de cadeia longa (≥ 18 átomos de carbonos), com pelo menos duas ligações duplas. São agrupados em duas famílias principais, a série linoleica (n-6) e a série linolénica (n-3). Os animais são incapazes de sintetizar numerosos PUFA porque as suas enzimas são incapazes de inserir novas ligações duplas entre uma já existente e o grupo carboxilo. Assim o ácido linoleico 18:2n-6 e o ácido linolénico 18:3n-3 são considerados ácidos gordos essenciais (EFA – essential fatty acids), e são obtidos obrigatoriamente através da dieta. São considerados precursores dos restantes ácidos gordos da mesma série, o ácido araquidónico (ARA, 20:4n-6), ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) os seus homólogos altamente insaturados (HUFA – highly unsaturated fatty acids), obtidos através da dieta ou, como já se referiu, biossintetizados através dos seus precursores (Narciso, 1996; Pousão-Ferreira, 2006).

As células animais têm enzimas (elongases e dessaturases), com capacidade de os formar através de processos de insaturação (remoção de átomo de hidrogénio, o que permite a formação de uma ligação dupla) e alongação (adição de dois átomos de carbono ao grupo carboxilo) (Tacon, 1989; Narciso, 1996; Leonard *et al.*, 2004).

Os ácidos gordos altamente insaturados, HUFA, especialmente o ARA e o EPA, são precursores de uma variedade de moléculas com potentes actividades biológicas a que se dá o nome geral de eicosanóides. Alguns dos eicosanóides mais conhecidos são as hormonas prostaglandinas, e podem ser produzidos por diversos tecidos como resposta a estímulos extra-celulares, podendo estar implicadas em inúmeros processos fisiológicos, tais como na reprodução, em funções renais e neurais, assim como em respostas do sistema imunológico (Voet & Voet, 1995; Narciso, 1996, Pousão-Ferreira, 2006, Tocher *et al.*, 2008).

Os triacilgliceróis ou triglicéridos, também designados por gorduras neutras, pelo seu carácter não polar, são ésteres de glicerol, resultado da ligação de uma molécula de glicerol ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) por reacção de esterificação com o grupo carboxilo (COOH) de três ácidos gordos. Nos animais funcionam como reservas de energia, pelo que são da classe de lípidos mais abundantes (Tocher *et al.*, 2008). As gorduras e óleos são misturas complexas de triglicéridos cuja composição em ácidos gordos depende do organismo de origem. Definem-se pelo estado que apresentam à temperatura ambiente, as gorduras são sólidas e os óleos são líquidos. Esta característica física depende da composição em ácidos gordos (Voet & Voet, 1995).

O colesterol é um esteróide, encontra-se esterificado com ácidos gordos e desempenha um conjunto de funções biológicas importantes, sendo o esterol dominante nos tecidos dos animais (Tocher *et al.*, 2008). Está envolvido nos sistemas membranares juntamente com os fosfolípidos, é precursor metabólico dos ácidos biliares, da vitamina D3 e das hormonas esteróides, onde se incluem andrógenos, estrogénios e corticosteróides, que regulam variados mecanismos fisiológicos, dos quais se destacam o desenvolvimento sexual e o metabolismo dos carboidratos. Desempenha também um papel importante no transporte lipídico, entre o intestino, o fígado e os tecidos (Tacon, 1989; Voet & Voet, 1995). Estudos recentes com salmão (Taggart *et al.*, 2008), vieram mostrar que o gene que regula os processos de biossíntese de colesterol era activado quando os salmões eram alimentados com uma dieta com reduzido teor em colesterol.

Os lípidos são componentes fundamentais para o correcto funcionamento e desenvolvimento dos organismos. Servem como veículo biológico na absorção de vitaminas lipossolúveis, tais como as vitaminas A, E e K. São moléculas de grande valor energético ($9,5\text{Kcal.g}^{-1}$). O catabolismo oxidativo dos ácidos gordos ocorre no citosol por hidrólise enzimática, catalizada por triacilglicerol lipases, e por β -oxidação, dando origem a Acetil CoA e NADH, que posteriormente são metabolizados pelo ciclo dos ácidos tricarboxílicos (TCA) e pela fosforolização oxidativa (Voet & Voet, 1995; Narciso, 1996, Tocher *et al.*, 2008). Têm ainda um papel fundamental como componentes das membranas celulares.

As membranas são estruturas de grande importância biológica, individualizam as células, unidade estrutural de todos os organismos vivos, e apresentam um carácter estrutural e funcional. A estrutura de mosaico fluido das membranas biológicas proposta por Singer e Nicholson em 1972, consiste basicamente numa camada dupla lipoprotéica, em que a fluidez é assegurada pelos lípidos que a constituem, principalmente lípidos polares (fosfolípidos) e colesterol, onde a insaturação dos ácidos gordos que a compõem é condicionante (Los & Murata, 2004). Tendencialmente a insaturação diminui o ponto de fusão. A fluidez da membrana permite que as proteínas que se encontram no seu interior possam estar fisiologicamente acessíveis. Esta questão é de extrema pertinência para os animais poiquilotérmicos, sem mecanismos de regulação da temperatura corporal.

A permeabilidade da membrana a substâncias, através de sistemas de bombas iónicas, transporte activo ou difusão passiva, é regulado em parte pela polaridade dos fosfolípidos e dos ácidos gordos das suas cadeias (Voet & Voet, 1995).

2.1. Papel dos lípidos na nutrição de Decápodes

Os lípidos são muito importantes no desenvolvimento dos crustáceos, como fonte de energia mas também como nutrientes essenciais (Kanazawa *et al.*, 1985). Julga-se que são factores chave nas taxas de eclosão e na sobrevivência das larvas (Xu *et al.*, 1994).

Nos crustáceos o hepatopâncreas é o órgão de armazenamento de lípidos, no entanto nas fêmeas também é possível observar grandes quantidades de lípidos nos ovários que não se registam noutros órgãos, o que indicia a importância dos lípidos para a maturação sexual. O perfil em ácidos gordos dos ovários influencia directamente a reprodução, a sobrevivência da postura e o desenvolvimento larvar (Ying *et al.*, 2006). A importância dos lípidos no metabolismo embrionário pode ser aferida pelo facto de representar 60% do total da energia utilizada no desenvolvimento do embrião dos crustáceos (Wehrtmann & Graeve, 1998). Durante a embriogénese, a maioria dos lípidos reorganiza-se, ao invés de ser utilizada como fonte de energia, verificando-se um consumo selectivo (Babu, 1987). Os fosfolípidos e colesterol são usados como componentes estruturais na biogénese de membranas (Rosa & Nunes 2002; Rosa & Nunes 2003). A utilização preferencial de lípidos polares ou neutros depende da espécie e pode ser reflexo de adaptações ambientais (Narciso, 1999).

Tal como nos peixes marinhos, os camarões apresentam uma biossíntese de EPA 20:5n-3 e DHA 22:6n-3 a partir dos seus precursores, muito pouco activa, o que indicia

uma baixa actividade do enzima dessaturase $\Delta 4$ e $\Delta 5$ (Mourente, 1996; Narciso, 1996; Solomons, 1997 ; Pousão-Ferreira, 2006). Assim, EPA e DHA são considerados ácidos gordos essenciais (EFA) para os camarões, com funções importantes na reprodução, fertilização, eclosão e crescimento. O aporte de DHA e EPA tem de ser pela dieta, porque a capacidade para os sintetizar é limitada e a quantidade disponibilizada pelo hepatopâncreas não suprime as necessidades (Ying *et al.*, 2006), sendo o perfil em ácidos gordos dos crustáceos normalmente reflexo da sua dieta, especialmente no que diz respeito aos EFA. A necessidade dos crustáceos em obter PUFA n-3 traduz a importância destes ácidos gordos em funções fisiológicas estruturais (Narciso, 1996).

Nas espécies marinhas o conteúdo em C22:6 e C20:5 é geralmente maior que nas espécies dulcaquícolas, em que as funções executadas por estes HUFA parecem poder ser efectuadas pelos PUFA C18:2 e C18:3 (Cheng *et al.*, 1998). Inclusivamente foi sugerido por Xu *et al.*, (1994) que a composição dos tecidos nestes ácidos gordos poderia ser indicativo do tipo de habitat (estuarino, costeiro, profundidade).

Ao contrário dos peixes, os crustáceos são incapazes de biossintetizar esteróis (Teshima & Kanazawa, 1971; Teshima, 1983 *in* Tacon, 1989; Wouters *et al.*, 2001), razão pela qual, o colesterol é considerado um nutriente essencial nas dietas de crustáceos. Segundo vários estudos com *Penaeus japonicus*, o nível óptimo de colesterol na dieta estará entre 0,5 – 2,0% (Deshimaru, 1981; Kanazawa *et al.*, 1971; Teshima *et al.*, 1982; Teshima & Kanazawa, 1986 *in* Tacon, 1989).

2.2. Importância da dieta parental

Em qualquer espécie a descendência é afectada directa e indirectamente pela qualidade da dieta dos progenitores, com especial ênfase pela dieta materna. A oviparidade foi para muitos organismos multicelulares, uma estratégia de vida que permitiu uma grande salto evolutivo, uma vez que a embriogénese se desenvolve fora do corpo materno (Rosa *et al.*, 2007).

Nas espécies ovíparas ou ovovivíparas, em que o desenvolvimento embrionário é independente do corpo materno, os ovos funcionam quase como um sistema fechado. Não existindo qualquer aporte de nutrientes, é essencial que as reservas vitelinas contenham

os nutrientes e a energia indispensáveis à manutenção da homeostasia e ao desenvolvimento do embrião, até ao início da alimentação exógena (Rosa *et al.*, 2007).

Nos crustáceos, as fêmeas podem transferir até 60% das suas reservas lipídicas para os ovos (Herring, 1973 *in* Rosa *et al.*, 2007), o que sugere que o metabolismo dos lípidos é extremamente dependente das reservas parentais (Rosa & Nunes 2002; Rosa & Nunes 2003), existindo cada vez mais evidências de que a acumulação de lípidos nos ovários provem directamente da dieta (Mourente, 1996; Wouters *et al.*, 2001).

P. varians apresenta ovos lecitotróficos, pelo que os primeiros estádios do seu desenvolvimento dependem das reservas bioquímicas maternas. Os lípidos apresentam uma função energética e estrutural durante o desenvolvimento lecitotrófico, período em que são gradualmente consumidos. Assim é assente que o perfil em ácidos gordos existentes nas reservas vitelinas influencia e condiciona a qualidade e sobrevivência das larvas (Racotta *et al.*, 2003; Rosa *et al.*, 2007).

A taxa de utilização dos nutrientes é regulada pela programação genética da espécie, pelo que pode servir de indicação para os requisitos das larvas de crustáceos (Rosa *et al.*, 2007). Assim, é deste pressuposto que muitos estudos sobre nutrição larvar têm sido desenvolvidos (Koven & Kissil, 1984; Rainuzzo *et al.*, 1997).

Deste modo, os ovos poderão ser considerados como uma “caixa-negra”, no sentido em que a variação bioquímica do vitelo pode ser utilizada como informação dos requisitos energéticos e nutricionais e permitir a formulação de dietas equilibradas para os reprodutores (Mourente, 1996; Wouters *et al.*, 2001).

Em Aquacultura, a gestão dos lotes dos reprodutores vai afectar a qualidade das larvas, um dos aspectos mais estudados é o efeito da nutrição. A análise da variação bioquímica nos tecidos durante o processo de maturação sexual e gametogénese é uma ferramenta que permite uma aproximação dos requisitos nutricionais dos reprodutores (Racotta *et al.*, 2003).

O cultivo de peneídeos (nomeadamente *Litopennaeus vannamei*, actualmente um dos cultivos de maior peso na indústria) foi baseado na recolha de larvas do habitat natural, porque os camarões em cativeiro não apresentavam maturação. O sucesso da maturação e a optimização do cultivo de reprodutores viáveis foi um grande entrave ao rápido desenvolvimento desta actividade, e tem sido considerado como uma das

estratégias para o seu desenvolvimento sustentado. Ao longo das últimas décadas têm sido desenvolvidos vários estudos no intuito de avaliar a qualidade da descendência em função de variados factores, e só recentemente foi possível melhorar a compreensão dos vários condicionalismos que afectam o desenvolvimento e a maturação de *L. vannamei* em cativeiro. A nutrição dos reprodutores tem sido o factor mais explorado, principalmente no efeito de compostos particulares como os lípidos e as vitaminas (Racotta *et al.*, 2003).

A disponibilidade de uma boa dieta é um factor crucial para a maturação sexual e a reprodução nos camarões (Wouters *et al.*, 2001). Uma alimentação deficiente ou inadequada pode provocar fecundidades baixas ou inexistentes (Bray & Lawrence, 1992).

Não é só o conteúdo individual de cada ácido gordo que importa, mas também as proporções entre si. A razão DHA/EPA é muito importante na nutrição, mas também a relação EPA/ARA, que nos peixes planos parece ter um papel primordial na pigmentação e na migração do olho. A deficiência ou excesso de lípidos pode inibir a produção de outros, desestabilizando o sistema, o que provoca várias disfunções tais como dificuldades na assimilação e provocar malformações e patologia de variadas ordens (Pousão-Ferreira, 2006).

3. Descrição da espécie *P. varians*. Biologia e Ecologia. Sistemática e Distribuição Geográfica

A camarinha é um crustáceo decápode, da infraordem Caridae, onde se englobam os camarões de abdómen comprido, em que a margem lateral (pleura) do segundo segmento abdominal se sobrepõe simultaneamente ao primeiro e terceiro segmento e em que o terceiro pereiópode não apresenta pinça (quelícera ou quela). Pertence à família *Palaemonidae* e caracteriza-se por apresentar anténulas, órgãos sensoriais, trirramosas (Smaldon, 1979; Narciso, 1996).

Os crustáceos existem desde o período Câmbrico (Era Paleozóica), ou seja há cerca de 500MA, o mesmo período em que viveram os trilobite, artrópodes marinhos só conhecidos através do registo fóssil e, que foram os primeiros animais a desenvolver olhos complexos, possivelmente ancestrais dos crustáceos.

A posição taxonómica de *P. varians*, segundo Calado & Narciso (2002), é a seguinte:

Filo Arthropoda

Classe Crustacea

SubClasse Malacostrata

SuperOrdem Eucarida

Ordem Decapoda, (Latreille, 1802)

SubOrdem Caridea, (Dana, 1852)

SuperFamília Palaemonoidea, (Rafinesque, 1815)

Família Palaemonidae, (Rafinesque, 1815)

SubFamília Palaemoninae, (Rafinesque, 1815)

Género *Palaemonetes*, (Heller, 1869)

Espécie *Palaemonetes varians* (Leach, 1814)

Espécie de características eurihalinas e euritéricas, tem a capacidade de sobreviver em ambientes com características mais extremas, onde outras espécies não conseguem finalizar o seu ciclo de vida, assim ocorre principalmente em águas salobras, ou de muito reduzida salinidade, mas também em ambientes hipersalinos como nas imediações de salinas. O seu habitat compreende estuários, reservatórios, esteiros, canais ou zonas abrigadas de pouca profundidade, em fundos com algas ou ervas marinhas, onde encontram protecção e alimento. Não existem registos da sua ocorrência em ambientes completamente lacustres. Embora possam ocupar ambientes costeiros não protegidos, esse não é o seu nicho, pelo que outras espécies ganham dominância como p.ex os camarões do género *Palaemon*. Mundialmente distribui-se desde o Mar Báltico Ocidental e Ilhas Britânicas até ao Mar Mediterrâneo e Mar Negro. Em Portugal é conhecido pelo nome comum de camarinha (também camarão-das-salinas, camarão das comportas ou camarão-dos-portos) estando presente em toda a Costa Continental (Smaldon, 1979; Calado & Narciso 2002).

3.1. Morfologia e Anatomia

A ordem Decapoda era comumente dividida em Reptantia e Natantia, no 1º grupo incluíam-se os crustáceos que “caminham” pelo sedimento (caranguejos), e no 2º grupo os que apresentam natação (todos os camarões se incluem no 2º grupo) – a Figura 3- representa a anatomia de um camarão decápode.

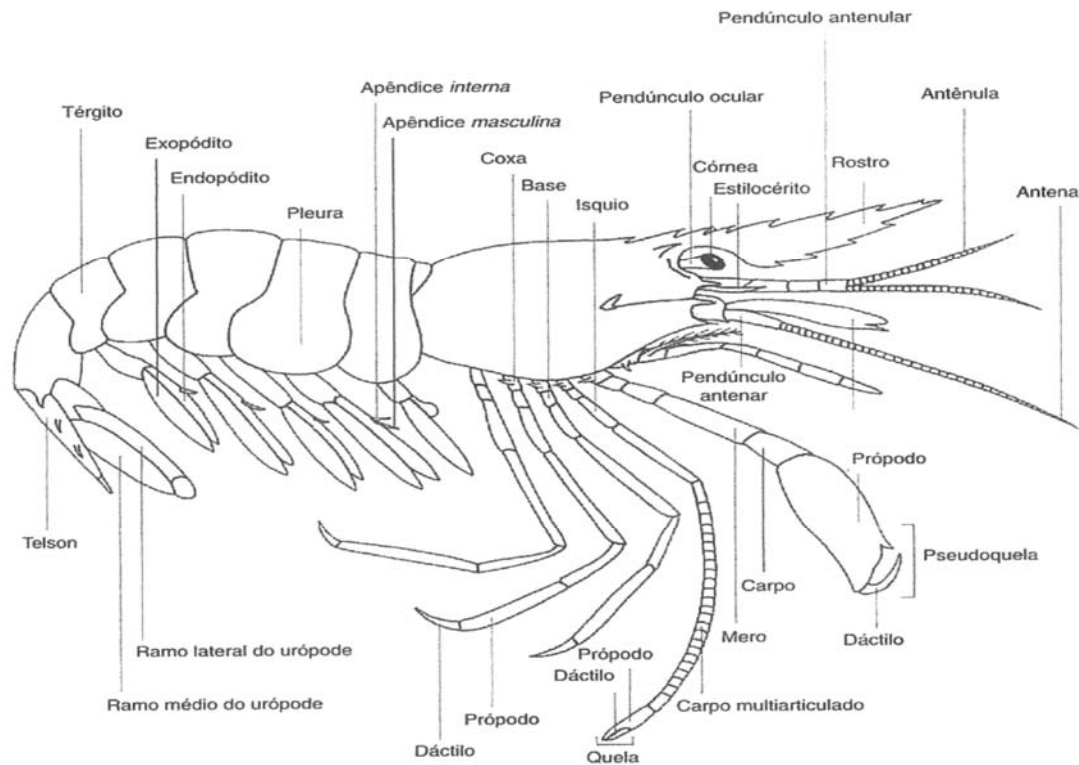


Figura 3 - Anatomia externa de um camarão decápode.
(Adaptado de Zariquiey Alvarez, 1968 in Calado & Narciso, 2002)

Apresentam um corpo segmentado, achatado lateralmente, que facilita a natação, e dividido em duas áreas: uma anterior constituída pelo *acron* (pedúnculos oculares), *cephalon* (cabeça) e *pereion* (tórax) e uma posterior, o abdómen (*pleon*). A cabeça e os primeiros três segmentos torácicos estão fundidos dorsalmente no que se designa cefalotórax, e a cabeça e todos os segmentos torácicos estão protegidos por uma carapaça que se estende lateralmente por forma a cobrir as brânquias e as inserções dos apêndices torácicos. O exoesqueleto é fino e flexível, pouco mineralizado. Lateralmente encontram-se as brânquias, de tipo filobranquiais em câmaras bem definidas (Smaldon, 1979; Barnes, 1980; Narciso, 1996).

O *cephalon* (cabeça) dos crustáceos é bastante similar entre toda a classe, apresenta cinco pares de apêndices cefálicos; 1º par, as antênlulas, 2º par, as antenas, órgãos sensoriais, 3º par, as mandíbulas (encontram-se flanqueando e muitas vezes cobrindo a boca ventral), posteriormente encontram-se ainda dois pares de apêndices acessórios, a primeira e segunda maxila (Barnes, 1980).

O *pereion* (tórax) apresenta 8 pares de apêndices, os apêndices torácicos também designados toracópodes ou pereiópodes (apêndices locomotores, utilizados para andar no substrato). Nos decápodes os primeiros três pares de apêndices estão modificados de

modo a auxiliar na alimentação, designando-se maxilípedes (Smaldon 1979; Barnes, 1980).

A família *Palaemonidae* caracteriza-se por apresentar no primeiro pereiópode uma pinça bem desenvolvida, no entanto de menor dimensão que a pinça do segundo pereiópode (Fig.4).

O *pleon* (abdómen) é constituído por seis segmentos, pleómeros, em que o último se encontra modificado, formando a estrutura designada telson. Cada pleómero, do primeiro ao quinto, tem um par de apêndices birramosos, os pleópodes, utilizados para a natação. Cada pleópode é composto por dois segmentos articulados, o endópodito e o exópodito. Os apêndices do sexto segmento ou telson são designados por urópodes, sendo que o número de espinhos existentes no telson também é um aspecto de identificação taxonómica. *P. varians* apresenta dois pares de espinhos.

A natação ocorre pelos movimentos dos pleópodes. A rapidez com que se movem para trás deve-se à contracção do abdómen e do movimento dos urópodes e telson. Utilizam os pereiópodes para se apoiarem e para efectuarem pequenas deslocações no substrato (Smaldon, 1979; Barnes, 1980).

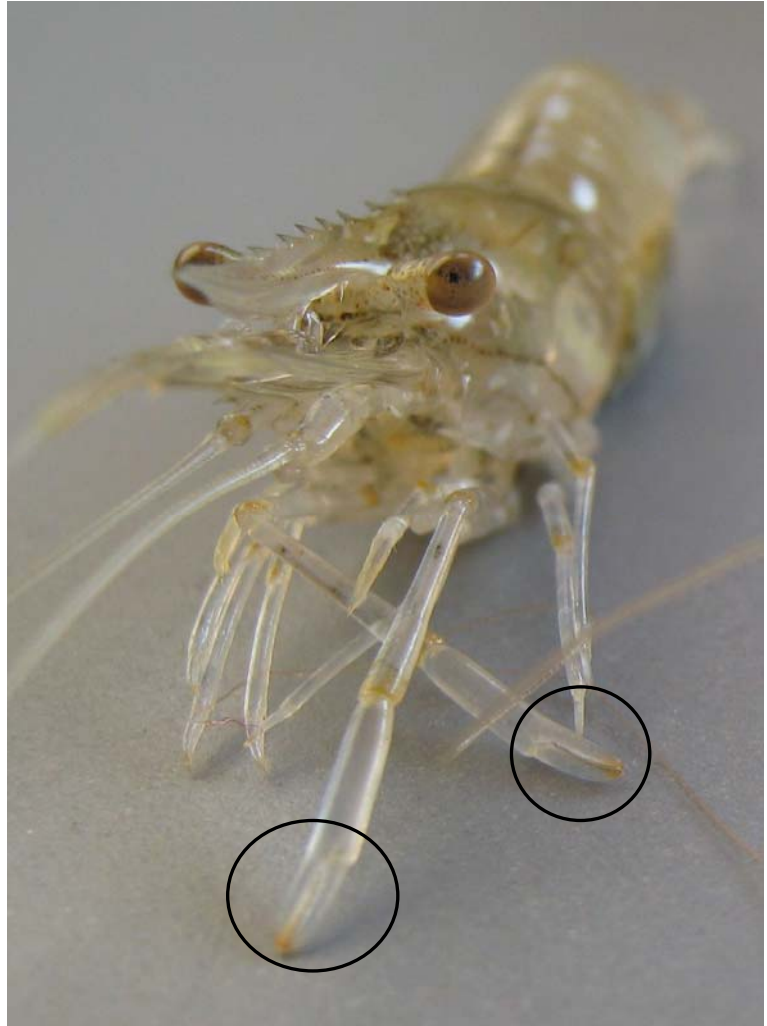


Figura 4 – Fotografia de *P. varians*, onde se observam vários apêndices, e em primeiro plano as pinças do 2º pereiópode, realçadas pelos círculos.

Foto do autor

Atingem um comprimento total máximo de 50 mm, normalmente menos. No campo são muito difíceis de observar devido ao facto de apresentarem uma carapaça praticamente sem coloração, à lupa, é possível observar pequenas manchas de pigmentação preto-acastanhadas (Smaldon, 1979; Calado & Narciso 2002). Na Figura 5, é possível observar as manchas de pigmentação referidas e também, devido à transparência de algumas partes do corpo algumas estruturas, tais como as gónadas, o intestino e neste caso, os ovos.

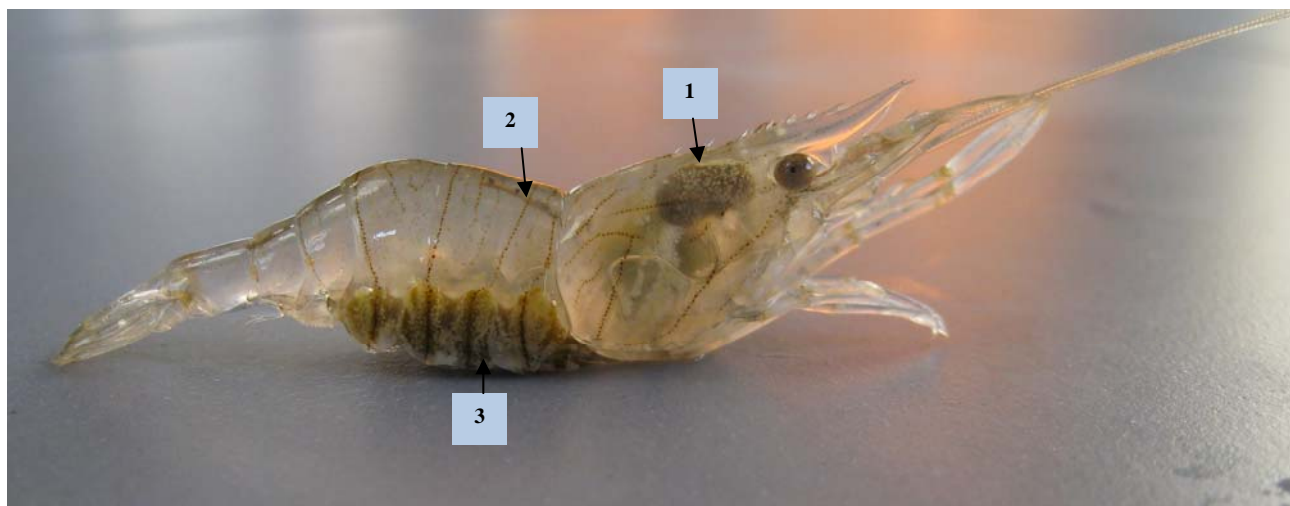


Figura 5 – Fêmea de *P varians*, onde é possível observar os pequenos pontos de pigmentação que forma linhas. É também possível observar algumas estruturas: 1- gónadas (nesta caso ovários); 2- restos alimentares no intestino; 3- ovos protegidos pelos pleópodes. Foto do autor

3.2. Reprodução

P. varians, tal como a maioria dos crustáceos decápodes, apresenta dimorfismo sexual, sendo possível distinguir os géneros por caracteres sexuais secundários. Nos machos é possível observar uma modificação no segundo par de pleópodes o apêndice *masculina* (Fig. 6), que funciona como órgão de transferência de esperma (Smaldon, 1979; Barnes, 1980). Também se verifica que os machos são tendencialmente de menor porte que as fêmeas.

O aparelho sexual masculino é constituído por um par de testículos tubulares, de onde partem canais deferentes que vão confluir junto ao quinto par de pereiópodes; o aparelho sexual feminino é constituído por um ovário loboso, transparente quando imaturo e verde-escuro quando maturo, na zona torácica, pela transparência da carapaça (Fig. 5 e 7), de onde saem dois oviductos que terminam nos poros genitais junto ao quinto par de



Figura 6 – Macho de *P. varians* onde se observa 2º par de pleópodes modificado. b) pormenor do apêndice masculina.
Foto do autor.

pereiópodes. Os gâmetas passam depois por um ducto para a região abdominal, que termina em diferentes segmentos em função do sexo. Nas fêmeas os poros genitais abrem-se na base do 3º par de pereiópodes, ou seja no 6º segmento, enquanto nos machos abre-se na base do 5º par de pereiópodes, ou seja, no 8º segmento (Smaldon, 1979).

A “cópula” ocorre após uma muda das fêmeas, os machos depositam o espermátóforo junto ao terceiro pereiópode das fêmeas, após algumas horas os óvulos começam a ser expelidos do oviducto, sendo fertilizados ao passar pelo espermátóforo. Os ovos são incubados junto ao abdómen das fêmeas, protegidos pelos pleópodes.



Figura 7 – Pormenor do cefalotórax de *P. varians*, onde se podem observar as gónadas.
Foto do autor

Estudos anteriores (Antheunisse *et al.*, 1968 *in* Smaldon, 1979) demonstraram

que os endópoditos dos pleópodes desenvolvem várias sedas que juntamente com a activação da glândula do cimento, que liberta uma substância com propriedade agregante, permite que os ovos permaneçam juntos.

Estas sedas e outras modificações nos pleópodes das fêmeas surgem na muda que antecede a reprodução, e são muitas vezes designadas por “breeding dress”, ou

roupagem para acasalamento numa tradução livre. As outras modificações referidas contemplam uma distensão dos três primeiros pleómeros, e um aprofundamento dos térgitos, que os cobrem, de modo a alojar e proteger os ovos. Desenvolvem sedas plumosas nos pleópodes e outras sedas especiais nos pereiópodes posteriores. Todas estas modificações desaparecem com a muda que ocorre logo após a eclosão dos ovos. Existem, porém, outras modificações que têm carácter permanente, como seja, o alongamento dos três primeiros pleópodes, através do desenvolvimento de uma nova estrutura, a pré-coxa (Smaldon, 1979).

O desenvolvimento embrionário é descrito (Rodriguez *et al.*, 1993), em três estados, como descrito na Tabela 1. O estado 3 é um estado de pré-eclosão.

Estado 0	Estado 1	Estado 2	Estado 3
Sem ovos	Embrião com muito vitelo e sem diferenciação do olho	Embrião com diferenciação do olho	Embrião com reservas vitelinas muito consumidas, apresenta pleópodes desenvolvidos

Na Figura 8 podem-se observar fotografias dos diferentes estados de desenvolvimento embrionário descritos anteriormente.

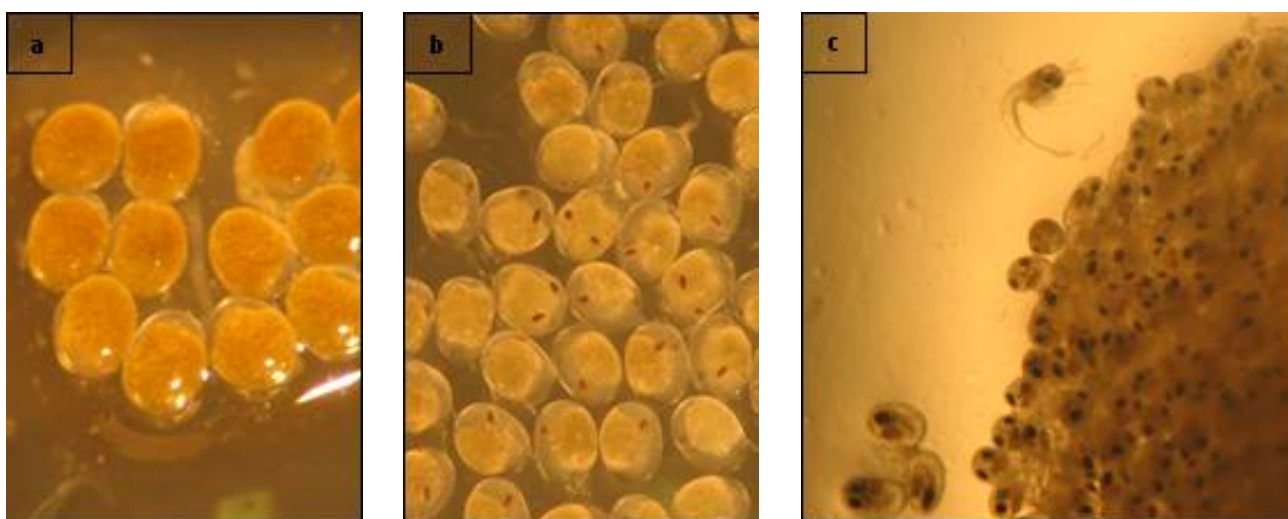


Figura 8 – Fotografias com os vários estados de desenvolvimento embrionário em *P. varians*. a – estado 1; b – estado 2; c – estado 3, também já se podem ver algumas larvas recém-eclodidas.
Fotos do autor

As larvas planctónicas (Fig. 9) eclodem em zoea, com cerca de 3,8 mm. Sofrem 10 mudas, cinco fases de zoea e cinco fases de pós-larva, até completarem a metamorfose e se tornarem juvenis (Fincham, 1979).



Figura 9 – Larva de *P. varians*, em estado zoeaI, recém-eclodida.

Foto do autor

Embora na literatura se refira a Primavera como a época de reprodução (Smaldon, 1979), no Algarve, e particularmente na Ria Formosa, a temperatura da água do mar mantém-se relativamente elevada até meados do Outono, permitindo que esta espécie tenha condições para continuar a maturar.

3.3. Alimentação

A boca tem uma posição ventral e é flanqueada pelos apêndices alimentares, já descritos. Está também coberta anteriormente por uma placa transversal, o epístoma e lateralmente pelas laterais da carapaça (Barnes, 1980). As presas ou partículas alimentares são capturadas com as pinças e posteriormente transferidas para o 3º maxilípede, que então encaminha para a boca. Enquanto uma porção é mordida ou segura pela mandíbula, o restante é manipulado pelas maxilas e maxilípedes (Barnes, 1980).

Os crustáceos apresentam uma elevada plasticidade ambiental e ecletismo alimentar, mudando muitas vezes o tipo de alimento em função da disponibilidade e do ambiente onde se encontram (Costantini & Rossi, 2001). Assim, podemos encontrar filtradores; que se alimentam de plâncton, vários detritos e bactérias; predadores, que se alimentam de larvas de várias espécies, de algumas espécies de anelídeos, gastrópodes e inclusive de alguns peixes e crustáceos; detritívoros, que se alimentam de restos de plantas e animais mortos (Hickman *et al.*, 1993). Smaldon (1979), afirma que *P. varians* se alimenta de uma variedade enorme de organismos aquáticos, tais como algas verdes, anelídeos tubícolas, larvas de mosquito, misidáceos e gobídeos.

Estudos mais recentes com palaemonídeos de água doce demonstraram que embora o género seja considerado omnívoro/detritívoro (Aguzzi *et al.*, 2005), em laboratório os camarões optaram por itens alimentares de origem animal, quer estivessem vivos ou mortos, também foi constatado que a facilidade de captura e ingestão eram factores contabilizados aquando da escolha do alimento (Costantini & Rossi, 2001).

4. Materiais e Métodos

4.1. Obtenção dos organismos vivos



Figura 10 – Fotografia da arte de pesca chalrão ou redisca.

<http://www.olhao.web.pt/Pesca/pesca.htm>

A quantidade necessária para executar o plano de trabalhos foi obtida com duas saídas. Na primeira, os camarões foram capturados em regime de maré baixa, nos vários canais secundários e esteiros do intertidal do sapal na parte Ocidental da Ilha da Armona. Na segunda saída, foram capturados junto a comportas de complexos salineiros na zona Ocidental de Olhão (Fig. 11).

Os exemplares capturados

Os exemplares de *P. varians* utilizados foram capturados durante o mês de Janeiro de 2008, na Ria Formosa, Olhão, no Sul de Portugal. Devido ao habitat desta espécie a sua captura foi efectuada por chalrão ou redisca (Fig. 10), uma arte de pesca artesanal, utilizada em esteiros e pequenos canais, e que consiste numa rede de malhagem pequena presa a duas canas. Esta arte é normalmente de reduzida dimensão, operada apenas por uma pessoa, pelo que se adequa aos pequenos esteiros e canais que existem nas zonas de sapal. Tinham sido efectuadas, anteriormente algumas tentativas de captura com nassas iscadas, mas que se revelaram infrutíferas, porque também atraíam caranguejos, *Carcinus maenas*, que consumiam todos os camarões capturados.



Figura 11 – Mapa com a localização dos locais onde foram capturados os exemplares de *P. varians* utilizados para este trabalho. Foto: Google Earth™

○ - Armona. △ - Salinas.

foram acondicionados em dois recipientes e rapidamente transportados para a Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO) do IPIMAR, onde decorreram os trabalhos, sendo transferidos para um tanque de aclimação, de 400L de capacidade, semelhante aos descritos para a execução dos trabalhos, onde ficaram durante um período de adaptação.

O resultado das duas capturas foi misturado para que não existisse qualquer influência em relação à sua proveniência. Durante aproximadamente duas semanas os camarões foram aclimatados e testou-se a sua receptividade aos diferentes tipos de alimento a serem testados. Quando ficou assegurada a sua adaptação às dietas que iriam ser testadas, foram distribuídos aleatoriamente pelos tanques experimentais. Durante a captura e transporte a mortalidade foi negligenciável, tendo sido inexistente durante a fase de adaptação.

No início do ensaio, os camarões apresentavam um comprimento médio do cefalotórax (CC) de $5,9 \pm 1,84$ mm, e um peso médio de $362 \pm 296,4$ mg. Registou-se um peso mínimo de 96mg e um peso máximo de 1105mg.

Os tanques onde decorreram os cultivos (Fig. 12) foram escolhidos de acordo com as características da espécie, pelo que se privilegiou a área em detrimento do volume.

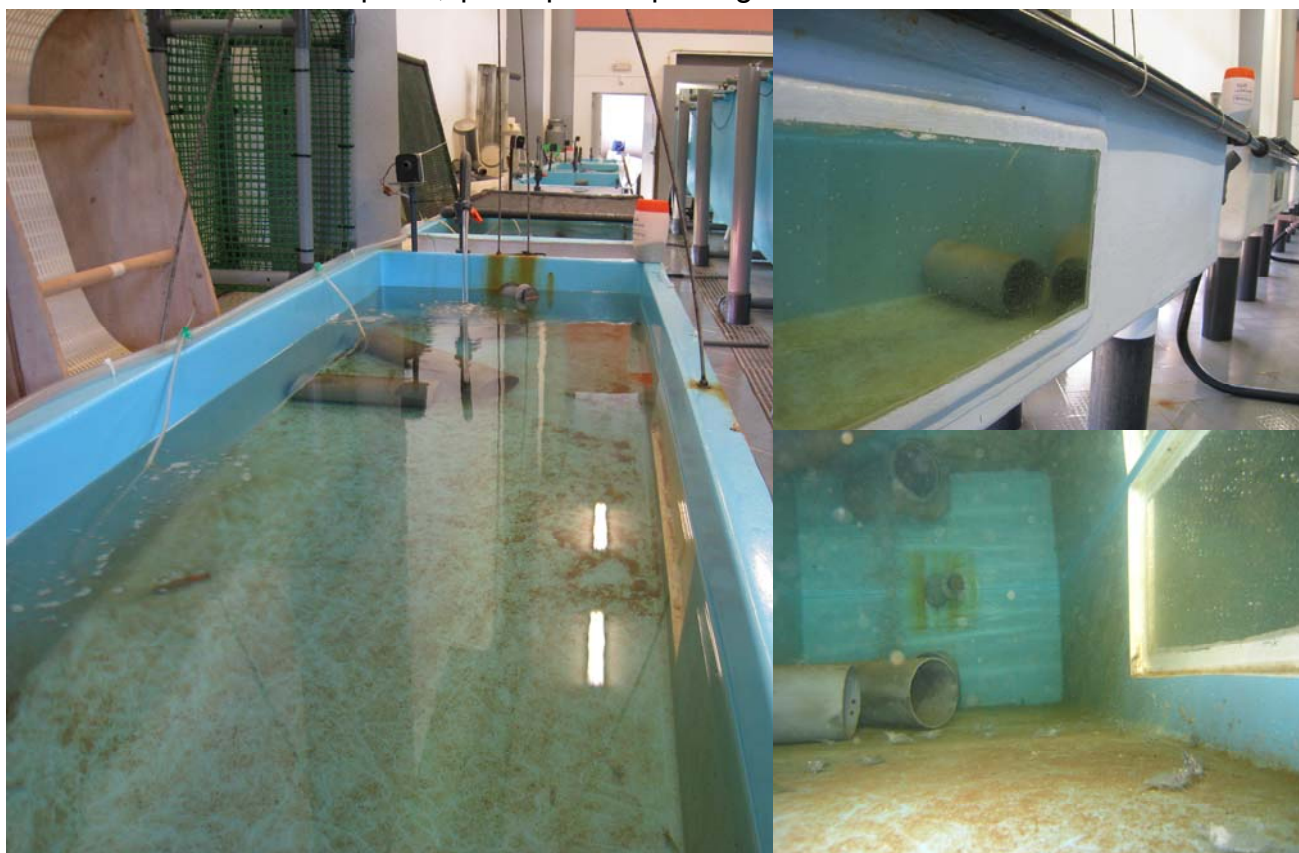


Figura 12 – Fotografias com várias perspectivas dos tanques de cultivo, na EPPO. Na fotografia subaquática (direita em baixo), é possível observar as camarinhas dentro do tanque.

Fotos do autor

Foram utilizados tanques em fibra de vidro, rectangulares, com 2,40x0,70m, de dimensão, e 400L de capacidade. Os camarões foram cultivados a uma concentração de 320 ind.m⁻², ou 1,3 ind.L⁻¹ se considerarmos toda a coluna de água disponível (\approx 0,25m). Adicionalmente colocaram-se pequenos troços de tubo em PVC, de modo a criar esconderijos, simulando galerias e taparam-se parcialmente os tanques, para que a intensidade luminosa (apenas de luz indirecta) ficasse reduzida, e o ambiente fosse o mais próximo possível dos parâmetros ambientais do seu habitat.

A água deste circuito funciona em circuito aberto. É bombeada de um reservatório abastecido pelo regime de marés da Ria Formosa e filtrada por filtros de areia. Os valores dos parâmetros abióticos, temperatura da água, salinidade, assim como o fotoperíodo não foram manipulados, mas foram registados durante todo o período experimental (Fevereiro a Julho). O valor da salinidade durante todo o ensaio foi de 36 \pm 1. A variação da temperatura apresenta-se no gráfico da Figura 15 (ver Resultados).

4.2. Dietas experimentais

Considerando o que foi descrito anteriormente (ver Introdução), em que se considera o teor em lípidos de grande importância para a maturação e desenvolvimento embrionário dos organismos, foram testadas cinco dietas/tratamentos, escolhidas de acordo com o seu perfil em ácidos gordos, e designadas por:

1. D1 – constituída por metanaúplios de artémia (*Artemia* sp.) estirpe continental, enriquecidos numa emulsão comercial Rich Advanced®, da empresa holandesa Catvis, e posteriormente congelada;
2. D2 – constituída por alimento inerte (ração) para coelho, Cunisoja®, produzido e comercializado pela empresa portuguesa Sorgal;
3. D3 - constituída por alimento inerte (ração) com elevado teor em ácidos gordos saturados, produzido e comercializado pela empresa portuguesa Sorgal;
4. D4 - constituída por uma espécie de anelídeo poliqueta, *Marphysa sanguinea*, capturado na Ria Formosa, e posteriormente congelada;
5. D5 - constituída por alimento inerte (ração) para dourada, AquaSoja M2®, produzido e comercializado pela empresa portuguesa Sorgal.

Os camarões foram alimentados diariamente *ad libitum*, preferencialmente ao fim da tarde. Antes de fornecer o alimento, os tanques eram aspirados. Este procedimento é

muito importante porque não só assegura a limpeza dos tanques, mas também permite registar outros aspectos: 1) ajuste da quantidade de alimento a ser fornecido, estes animais têm uma estratégia alimentar diferente da maioria dos peixes e não ingerem o alimento rapidamente, pelo que é necessário fornecer alimento de modo a que possa “sobrar” durante algum tempo; 2) a contabilização de uma eventual mortalidade, 3) a observação de mudas, através da recolha de restos de exoesqueleto. Assim, além da observação normal do comportamento dos animais, que aceitavam e ingeriam o alimento tínhamos a confirmação de que continuavam a crescer, uma vez que observávamos os restos das suas mudas.

A quantidade de alimento foi sendo ajustada ao longo do ensaio em função da mortalidade e também da temperatura da água, para que não compromettesse a qualidade da água, mas também, de modo a não criar constrangimentos alimentares.

O fluxo de água manteve-se elevado, $100\% \cdot \text{hora}^{-1}$ de modo a garantir a manutenção da qualidade da água.

4.3. Recolha de Amostras

O objectivo das amostragens foi avaliar a relação de sexos e o percentil de fêmeas ovígeras na população e recolher ovos nos diferentes estados de desenvolvimento embrionário (ver Tab. 1, Introdução) para posterior análise de lípidos. Todos os animais amostrados foram medidos com o auxílio de uma lupa binocular Zeiss, modelo Stemi 2000-C, equipada com uma ocular micrométrica calibrada.

Optou-se pela medição do cefalotórax porque muitas vezes o rostro encontra-se danificado, minimizando assim possíveis incorrecções nas medições. A medição do cefalotórax, tal como se descreve na Figura 13, compreende a zona desde o bordo orbital até ao bordo posterior e será frequentemente designada por CC – comprimento do cefalotórax.

Os ovos dos camarões para análise bioquímica foram recolhidos em dois períodos amostrais: 2 e 3 meses após o início da administração das dietas, e que correspondem sensivelmente ao início e fim da Primavera, respectivamente, e que por razões práticas passaram a designar-se por “early spring” e “late spring”. Como serão mencionadas frequentemente ao longo do texto e para simplificação da leitura serão referidas como ES (early spring) e LS (late spring).

Para permitir a comparação entre as dietas experimentais administradas aos camarões em cultivo e o regime alimentar desta espécie na Natureza, foram capturados indivíduos na Ria Formosa, nas datas das amostragens. Estes passaram a considerar-se como mais um tratamento, designado D6, procedendo-se à sua amostragem do mesmo modo que para os tratamentos anteriores.

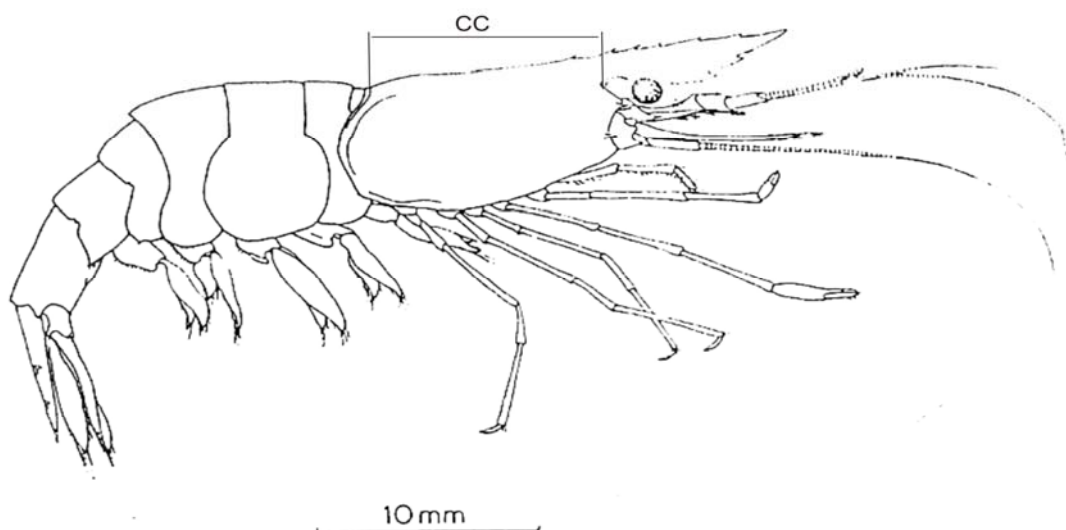


Figura 13 – Ilustração esquemática de um camarão (subordem *Caridea*, em que 2º segmento abdominal sobrepõe-se ao 1º e 3º), com identificação da medição do comprimento do cefalotórax (CC).

Adaptado de Smaldon (1979).

As duas amostragens efectuadas consistiram em duas fases, de modo a facilitar o trabalho, uma vez que para cada fase seria necessário manusear os organismos de modo diferente:

1ª Fase – determinação da relação entre sexos da população e determinação do número de fêmeas ovígeras: recolheram-se aleatoriamente 20 indivíduos de cada tratamento, procedendo-se à medição do cefalotórax e identificação do sexo, todos os indivíduos com excepção das fêmeas ovígeras foram devolvidos aos tanques de cultivo.

2ª Fase – recolha de ovos: capturaram-se fêmeas ovígeras de cada tratamento, que foram rapidamente sacrificadas por choque térmico, mergulhadas em azoto líquido (-196°C). Procedeu-se posteriormente, à medição do cefalotórax e à dissecção dos ovos com identificação do estado embrionário. As amostras de ovos foram recolhidas em triplicado

em tubos tipo “Eppendorf” e rapidamente armazenadas em azoto líquido de modo a garantir a preservação dos lípidos, mantendo-se congeladas até ao seu processamento analítico.

4.4. Análise de lípidos

Aquando do processamento das amostras para determinação dos lípidos, as amostras congeladas (-196°C), foram liofilizadas num liofilizador (RVT 400, Savant), durante 36 horas de modo a garantir uma eficaz sublimação da água de todas as amostras.

O perfil dos ácidos gordos das várias amostras foi obtido por cromatografia gasosa (GC), no laboratório de Lípidos da Unidade de Valorização dos Produtos da Pesca e Aquicultura (UVPPA), no IPIMAR em Lisboa.

Os ésteres metílicos dos ácidos gordos (FAME) foram obtidos através de uma catálise ácida, segundo o método descrito por Lapage & Roy (1986) e modificado por Cohen *et al.* (1988). Os FAME foram separados e quantificados por um cromatógrafo Gás/líquido Varian CP-3800 com FID. A separação foi efectuada numa coluna capilar de sílica fundida DB-WAX (30mx0,25mm IDX 0,25µm), utilizando hélio como gás de arraste. A temperatura do injectores e do detector foram mantidas constantes aos 250°C durante os 40 minutos da análise. A coluna foi sujeita a uma rampa térmica de 4°C.min⁻¹ iniciando-se nos 180°C durante 5 minutos e acabando nos 220°C durante 25 minutos.

4.5. Tratamento estatístico

Todos os procedimentos estatísticos foram efectuados nos programas informáticos Microsoft Excel® e SigmaStat® v.3.5. Para averiguar se as diferentes dietas afectaram o percentil de fêmeas ovígeras foi utilizado um teste de proporções, teste z. Para averiguar se as diferentes dietas tinham afectado o comprimento dos camarões (CC) utilizou-se a análise de variância (one-way ANOVA), quando os pressupostos não o permitiam realizaram-se teste não paramétricos (Kruskal-Wallis) e sempre que se verificou significância procedeu-se a métodos de comparação múltipla (Dunn’s). Para averiguar diferenças na composição em ácidos gordos nos ovos dos camarões dos diferentes tratamentos nos dois períodos amostrais, utilizou-se análise de variância (two-way ANOVA) e sempre que se verificou significância procedeu-se a métodos de comparação

múltipla (Holm-Sidak). Utilizou-se o nível de significância normalmente adoptado para ensaio científicos, $p < 0,05$ (Zar, 1996).

Foi efectuada uma análise multivariada, MDS, através do programa PRIMER v.6.1. (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) (Clarke & Gorley, 2006). A Ordenação MDS (Non-metric scaling analysis) utilizou uma matriz de similaridades obtida com o coeficiente de correlação Bravais-Pearson (dados normalizados) (Clarke & Warwick, 2001), de modo a investigar a relação entre os ácidos gordos (análise em modo R - Legendre & Legendre 1984) e os ovos (análise em modo Q).

5. Resultados

5.1. Sobrevivência

Para avaliar o efeito das dietas na sobrevivência dos camarões, foi utilizada a sobrevivência final, resultante da contagem do número de indivíduos em cada tratamento no final do ensaio. Ao longo do ensaio, a mortalidade foi registada diariamente, e os resultados para a mortalidade aparente – aparente porque considerou-se apenas a observada, não havendo informação suficiente sobre algum eventual canibalismo, principalmente em períodos de muda - encontram-se descritos no gráfico da Figura 14.

Nos dois primeiros meses de ensaio a mortalidade foi muito reduzida, registando-se apenas no tratamento D1 (com 5% de mortalidade no mês de Março). Após este período começou a verificar-se um aumento da mortalidade nos tratamentos D1 e D2. No tratamento D1 a mortalidade manteve-se relativamente constante até ao final do ensaio ($\approx 10\% \cdot \text{mês}^{-1}$). No tratamento D2 verificou-se um aumento muito

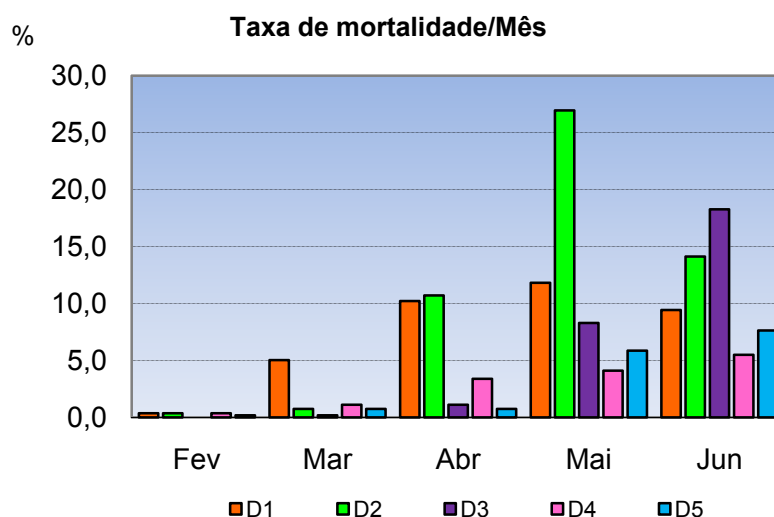


Figura 14 – Gráfico com taxa de mortalidade aparente registada ao longo dos meses.

D1 – *Artemia*; D2 – *Coelho*; D3 – *S. One*; D4 – *Poliqueta*; D5 – *AquaS2*; D6 – *Selvagens*

acentuado no mês de Maio com 27% de mortalidade, voltando a diminuir no mês de Junho e Julho mantendo-se ainda assim, ligeiramente superior ao tratamento D1. No tratamento D3 regista-se um aumento da mortalidade no mês de Maio (3 meses após o início da experiência), que se acentuou bastante no mês de Junho com 18% de mortalidade. No tratamento D4 regista-se uma pequena mortalidade (3,4%) a partir do 2º mês de ensaio (Abril), que se manteve ($\approx 5\% \cdot \text{mês}^{-1}$) até ao final do ensaio. No tratamento D5, tal como no tratamento D3 apenas se verifica mortalidade a partir do 3º mês de experiência (Maio), registando-se $\approx 5\%$ no mês de Maio e Junho. O tratamento D5 é, a par do tratamento D4, o que regista menor mortalidade aparente.

A Tabela 2 apresenta os resultados da sobrevivência final.

O tratamento D4 e o tratamento D5 possibilitaram uma maior sobrevivência final, com cerca de 50%. Foi também, nestes tratamentos que os camarões apresentaram uma melhor condição física (coloração, mobilidade, firmeza da carapaça), até ao final da experiência.

O tratamento D3 e D1 apresentaram sobrevivências semelhantes, com 31 e 33% respectivamente. No entanto, enquanto o tratamento D1 começou a registar mortalidade desde muito cedo, o tratamento D3 apresentou mortalidade apenas nos últimos dois meses de ensaio. A pior sobrevivência registou-se no tratamento D2.

O aumento generalizado da mortalidade nos tratamentos coincidiu com o aumento da temperatura da água. Na Figura 15 apresenta-se a variação da temperatura da água do mar, onde se observa um aumento exponencial no mês de Maio.

Tabela 2 – Sobrevivências finais (Julho) dos camarões cultivados com as diferentes dietas.

Tratamento	%
D1 (Artémia)	35,32
D2 (Coelho)	21,19
D3 (S. One)	31,41
D4 (Poliqueta)	50,37
D5 (AquaS2)	50,56

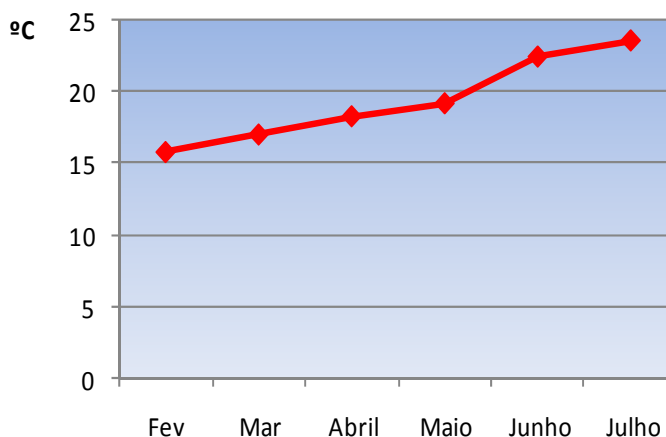


Figura 15 – Registo mensal da média da temperatura da água.

5.2. Parâmetros populacionais.

5.2.1. Relação entre sexos, número de fêmeas ovígeras.

Verifica-se para todos os tratamentos (camarões cultivados) uma maior proporção de fêmeas, o que também se verifica com os camarões *selvagens* (D6) na amostragem *late spring*. Na amostragem ES (*early spring*), a proporção entre machos e fêmeas capturados foi muito semelhante.

De acordo com o gráfico da Figura 16, a menor proporção de fêmeas registou-se no tratamento D6 (camarões “selvagens”) com 51,3%, e a maior no tratamento D5 com 84%.

Obviamente para os machos os valores são inversos, verificou-se a menor proporção no tratamento D5 com 16% e a maior no tratamento D6 (selvagens) com 48,7%.

Na amostragem LS (late spring), a menor proporção de fêmeas registou-se no tratamento D3 com 60%, e a maior no tratamento D5 com 95%. Complementarmente para os machos a menor proporção verificou-se no tratamento D5 com 5% e a maior no tratamento D3 com 40%.

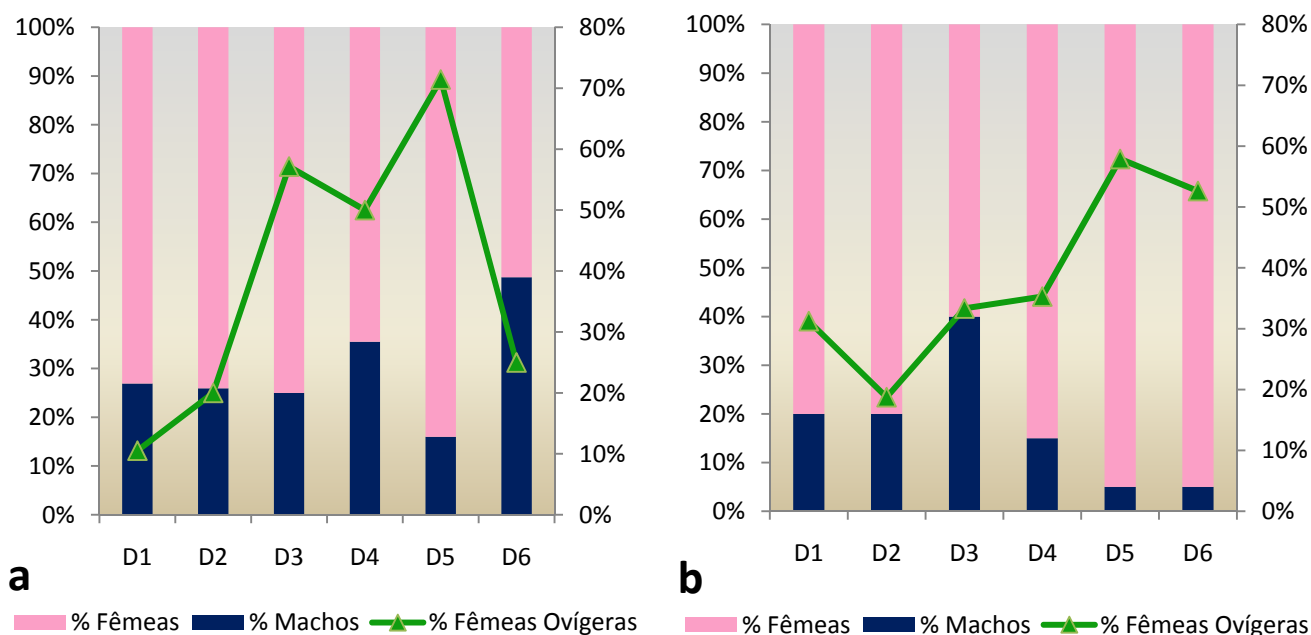


Figura 16 – Proporção entre sexos nos diferentes tratamentos e nos dois períodos de amostragem. (a) “early spring” e (b) “late spring”.

D1 (*Artemia*); D2 (Coelho); D3 (S.One); D4 (Poliqueta); D5 (AquaS2); D6 (“Selvagens”)

A proporção entre sexos parece não interferir com o percentil de fêmeas ovíferas observado pois não existe relação entre estes parâmetros ($r \approx 0$).

O número de fêmeas ovíferas ao longo do tempo (amostragem ES vs LS) apresenta-se no gráfico da Figura 17. Verifica-se um aumento apenas para os tratamentos D1 e D6. O tratamento D2 mantém a proporção, enquanto nos tratamentos D3, D4 e D5 verifica-se uma diminuição.

Existem diferenças estatísticas significativas ($p < 0,005$), entre alguns tratamentos, para o mesmo período amostral. Não existem diferenças entre tratamentos, ao longo do tempo, ou seja amostragem ES vs LS. Os pares de tratamentos com diferenças estatísticas significativas no percentil de fêmeas ovígeras apresentam-se resumidamente na Tabela 3.

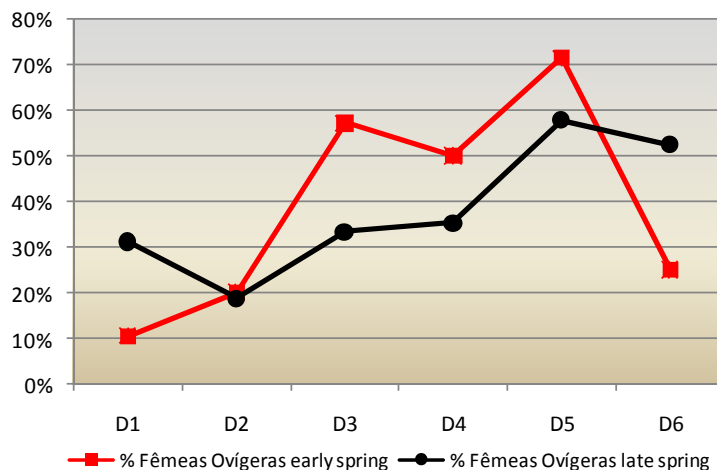


Figura 17 – Gráfico do percentil de fêmeas ovígeras nos dois períodos de amostragem, “early” e “late spring”.

D1 (*Artemia*); D2 (Coelho); D3 (S.One); D4 (Poliqueta); D5 (AquaS2); D6 (“Selvagens”)

Na amostragem “early spring”:

Os camarões da dieta D1 apresentam diferenças com os camarões da dieta D3, com os camarões da dieta D4 e com os camarões da dieta D5. Existem também diferenças entre os camarões da dieta D2 e os camarões da dieta D3 e os camarões da dieta D5.

Existe ainda diferença entre os camarões da dieta D5 e os camarões “selvagens” (D6).

Na amostragem “late spring”:

Existem diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos D2 e D5.

Tabela 3 – Resumo dos resultados dos testes estatísticos (teste z) aplicados ao percentil de fêmeas ovígeras observados nos diferentes tratamentos e, em cada período de amostragem.

Amostragem <i>early spring</i>		Amostragem <i>late spring</i>	
Tratamentos	Teste estatístico z	Tratamentos	Teste estatístico z
D1 vs D3	p=0,006		
D1 vs D4	p=0,020		
D1 vs D5	p<0,001		
D2 vs D3	p=0,034		
D2 vs D5	p=0,003	D2 vs D5	p=0,045
D5 vs D6	p=0,008		

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S. One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

5.2.2. Relações biométricas

Os parâmetros morfométricos - comprimento do cefalotórax (CC), nos dois períodos de amostragem, apresentam-se na Figura 18. Pela análise do gráfico, rapidamente se confirma que em média as fêmeas são maiores que os machos, tal como se refere na literatura (Barnes, 1980).

Os machos registam um aumento do CC em todas as dietas. Os machos dos camarões “selvagens” (D6), pelo contrário, apresentaram uma diminuição. Na amostragem ES os valores médios obtidos variaram entre 4,9mm para os machos do tratamento D5 e 5,8mm para o tratamento D6. Na amostragem LS os valores médios obtidos variaram entre 5,5mm no tratamento D6 e 6,0mm no tratamento D5. No entanto, o ligeiro aumento verificado não é estatisticamente significativo ($p=0,163$).

Nas fêmeas não é possível descrever um comportamento geral nos tratamentos, mas tende a verificar-se uma diminuição. O CC das fêmeas na amostragem ES oscilou entre 7,4mm no tratamento D2 e 7,9mm no tratamento D6.

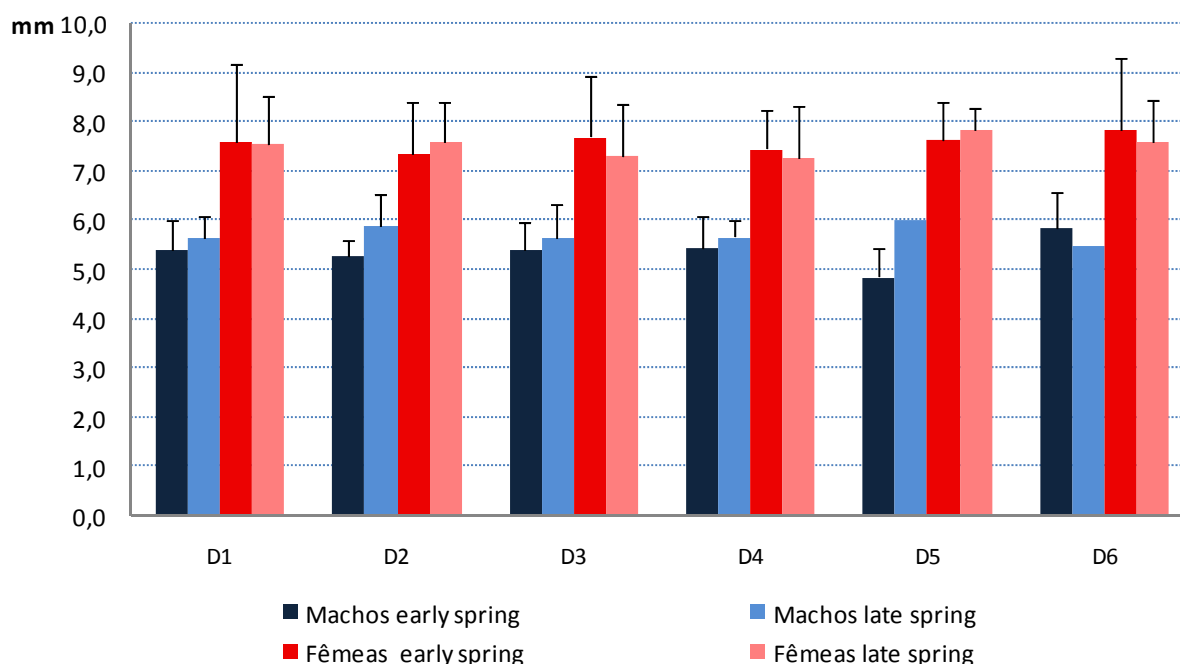


Figura 18 – Comprimento do cefalotórax (CC) (média±desvio padrão) de machos e fêmeas para os seis tratamentos nos dois períodos de amostragem, “early” e “late spring”.

Em LS, não foi possível obter desvio padrão, porque não houve amostra suficiente ($n=1$) nos machos dos tratamentos D5 (AquaS.2) e D6 (“Selvagens”)

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S. One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

Na amostragem LS variou entre 7,3mm para o tratamento D3 e 7,8mm para o tratamento D5. Estatisticamente não existem diferenças significativas entre as amostragens ($p=0,708$).

No gráfico da Figura 19 apresentam-se os comprimentos do cefalotórax (CC) das fêmeas ovígeras.

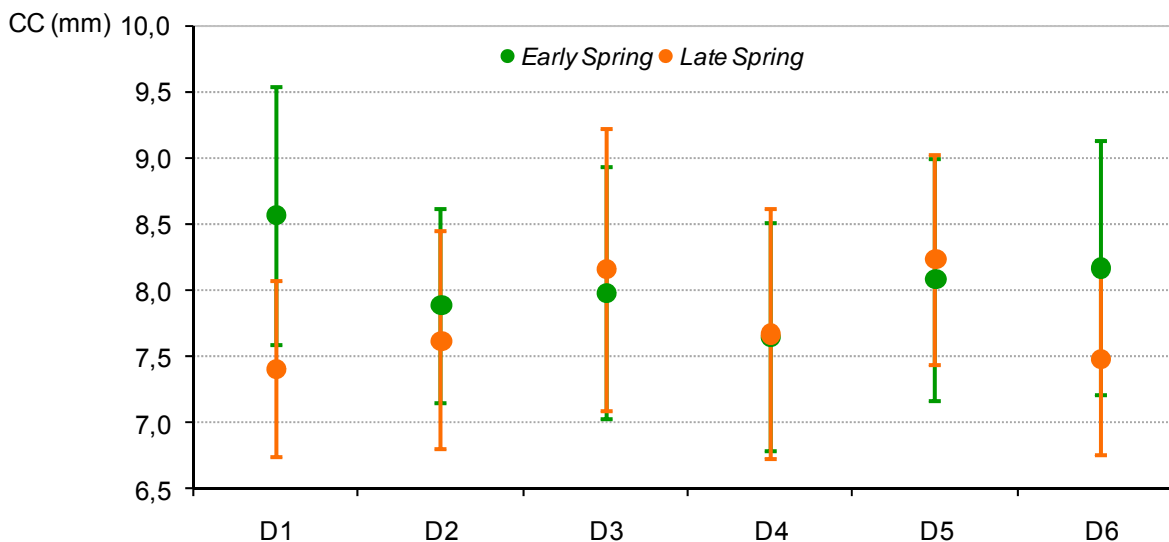


Figura 19 – Comprimento do cefalotórax (CC) (média±desvio padrão) de fêmeas ovígeras nos dois períodos de amostragem, “early” e “late spring”.

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S. One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

Amostragem “early spring”:

O CC médio das fêmeas ovígeras é significativamente superior ($p=0,001$), em todos os tratamentos, que o CC do conjunto global das fêmeas (maturas, não maturas ou ovígeras) (Fig. 18).

O CC médio entre as fêmeas ovígeras apresenta diferenças estatísticas significativas, ($p=0,003$). Oscilou entre 7,6mm no tratamento D4 e 8,6mm na dieta D1. Detectam-se diferenças entre o tratamento D1 e o tratamento D4. De facto o CC dos camarões do tratamento D1 foi superior aos restantes tratamentos, no entanto como a variância nas amostras é elevada, só se registam diferenças significativas entre os camarões do tratamento D4, que apresentaram o CC mais baixo.

Amostragem “late spring”:

Não existem diferenças estatísticas significativas entre o CC das fêmeas ovígeras e do conjunto geral das fêmeas ($p=0,152$). O CC médio das fêmeas ovígeras variou entre 7,4mm para o tratamento D1 e 8,2mm para o tratamento D3 e D5. O CC das fêmeas

ovígeras foi superior ao CC do conjunto geral das fêmeas (maturas, não maturas ou ovígeras) (Fig. 18), nas dietas D3, D4, e D5.

Pela análise do gráfico da Figura 18, o tratamento D3 parece ser o que apresenta fêmeas mais pequenas, ou seja, verificou-se maior mortalidade nas fêmeas de maior porte. No entanto quando analisamos os dados para as fêmeas ovígeras não obtemos os mesmos resultados, porque neste tratamento as fêmeas ovígeras apresentam um CC superior ao conjunto geral das fêmeas e inclusive também um aumento em relação às fêmeas ovígeras na amostragem anterior.

Na dieta D1 e D6 o CC das fêmeas ovígeras é ligeiramente inferior ao conjunto geral das fêmeas, na dieta D2 o CC das fêmeas ovígeras é igual ao conjunto geral das fêmeas.

Existem diferenças estatísticas significativas no CC das fêmeas ovígeras em função da dieta ($p=0,001$). Encontram-se diferenças entre as dietas D1 e D5, D1 e D3, D3 e D6 e D5 e D6.

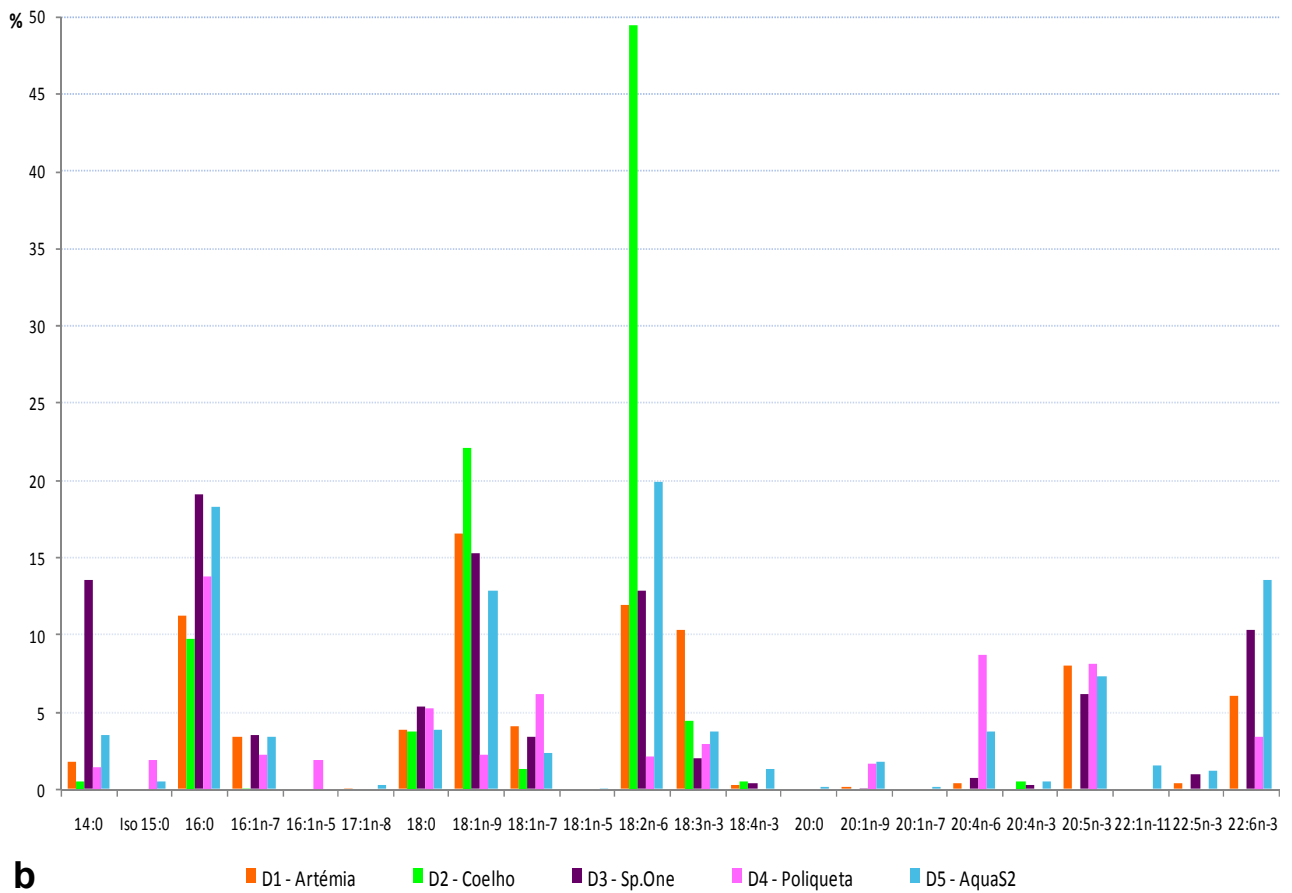
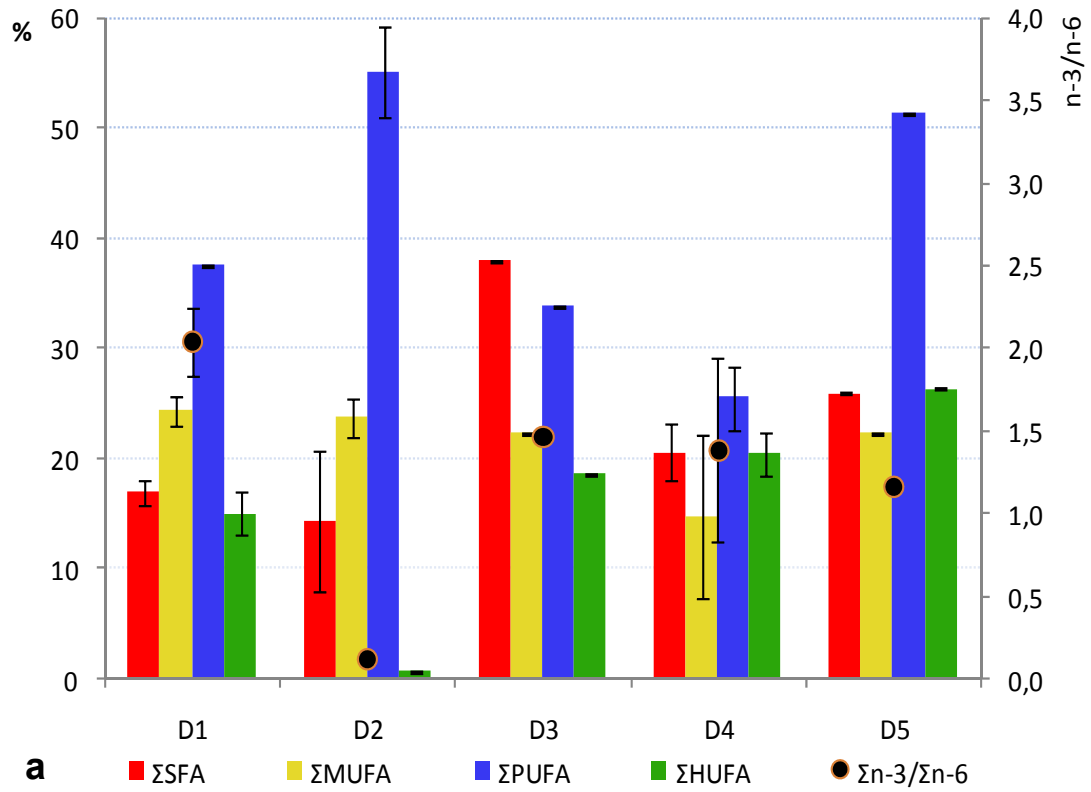
5.3. Lípidos

5.3.1. Perfil lipídico das diferentes dietas experimentais

De um modo geral, pode-se afirmar que o perfil em ácidos gordos dos ovos de *P. varians* reflecte a dieta parental.

Em anexo encontram-se as tabelas onde se apresenta o perfil em ácidos gordos das diferentes dietas testadas e dos ovos de *P. varians* nas amostragens “early” e “late spring”.

Na Figura 20 apresenta-se o perfil em ácidos gordos das 5 dietas experimentais.



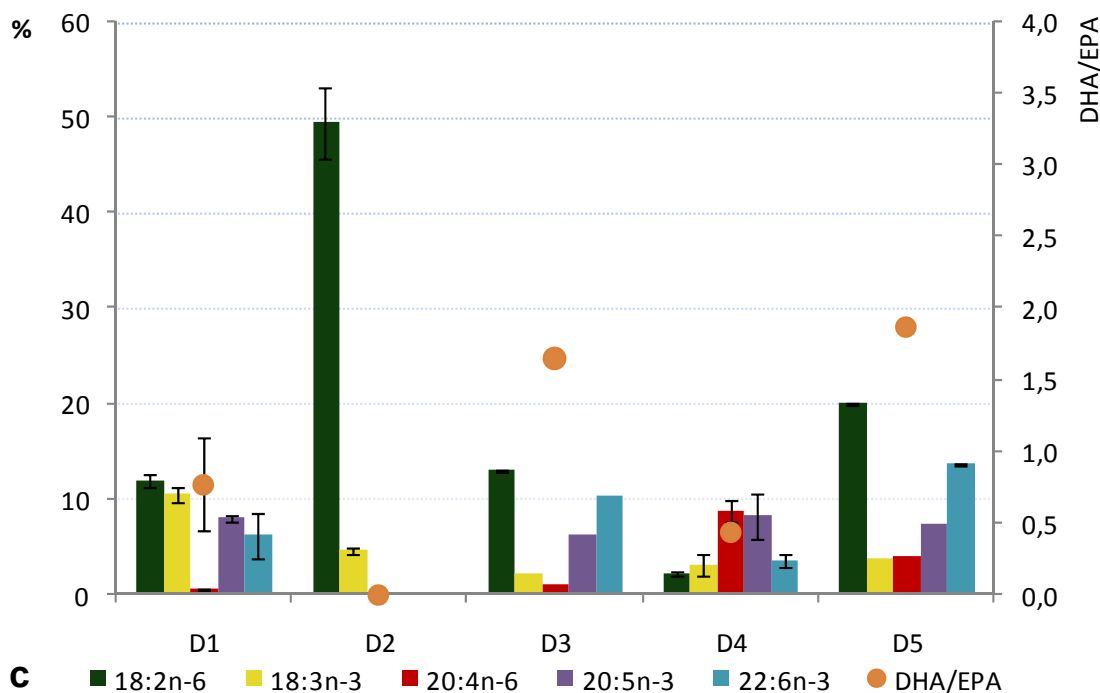


Figura 20 – Perfil em ácidos gordos nas 5 dietas experimentais testadas.

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S.One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2

A dieta D2 apresenta o conteúdo mais elevado em PUFA (55%), seguido pela dieta D5 (51%), seguidamente a dieta D1 e D3 com 37 e 33%, respectivamente. A dieta D4 é a menos rica em PUFA (25%).

O elevado conteúdo em PUFA na dieta D2 deve-se à abundância de ácido linoleico (18:2n-6), onde atinge aproximadamente 50% da percentagem total de lípidos. Na dieta D5 deve-se também à presença de EPA e DHA.

O conteúdo mais elevado em HUFA é apresentado pela dieta D5 (26%), seguido pelas dietas D4 e D3 (20 e 18%). A dieta D1 apresenta teores ligeiramente inferiores (15%) e na dieta D2 apenas se registam vestígios, justificados pela presença de 20:4n-3.

A dieta D3 caracteriza-se por um elevado teor ($\approx 38\%$) em ácidos gordos saturados (SFA) com predominância nos ácidos gordos insaturados C14:0 (ácido mirístico) e C16:0 (ácido palmítico). A dieta D5 também apresenta um elevado conteúdo (26%) em SFA devido à presença de C16:0.

A dieta D1 apresenta uma razão n-3/n-6 ≈ 2 , o que significa que contem o dobro de ácidos gordos da série n-3, que se deve ao facto de apresentar um teor muito baixo de ARA mas também um teor relativamente elevado de linolénico, EPA e DHA. As dietas D3, D4 e D5 apresentam relações entre 1 e 1,5. A dieta D2 apresenta uma razão próxima de 0, obviamente pela reduzida presença de insaturados da série n-3.

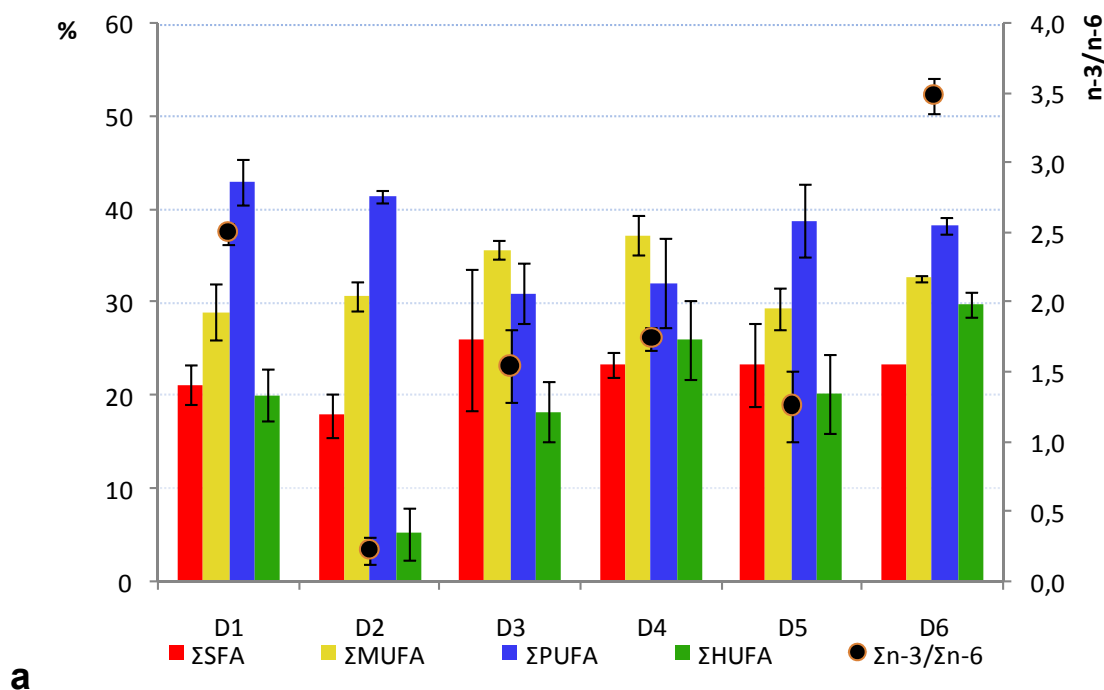
Se considerarmos apenas os ácidos gordos mais importantes para os organismos (linoleico, linolénico, ARA, EPA e DHA) (Fig. 20c), verifica-se que a dieta D2 não apresenta qualquer dos HUFA considerados importantes, ou seja ARA, EPA e DHA. As dietas D1 e D3 apresentam níveis muito baixos de ARA (0,45 e 0,80%, respectivamente). A dieta D4 apresenta um elevado teor de ARA (9%). As dietas D3 e D5 apresentam o teor mais elevado em DHA com 10 e 14%, respectivamente.

Naturalmente a razão DHA/EPA é mais elevada nas dietas D3 e D5 (1,65 e 1,87, respectivamente), segue-se a dieta D1 (0,77) e a dieta D4 (0,44). Obviamente, na dieta D2 a razão DHA/EPA é nula.

5.3.2. Perfil lipídico dos ovos de *P.varians*

Para aferir o efeito da dieta na incorporação lipídica dos ovos dos camarões analisaram-se os ovos de camarão no estado 1 de embriogénese. Nesta fase a análise do perfil dos ovos relaciona-se com as dietas experimentais mas também com o tratamento D6, porque ao considerarmos os ovos dos camarões “selvagens” um grupo de controlo, fornece-nos um perfil de comparação.

Nas Figuras 21, 22 e 23 apresenta-se o perfil em ácidos gordos dos ovos de camarão na amostragem “early spring”. De um modo geral, observa-se no perfil lipídico dos ovos o efeito da dieta.



a

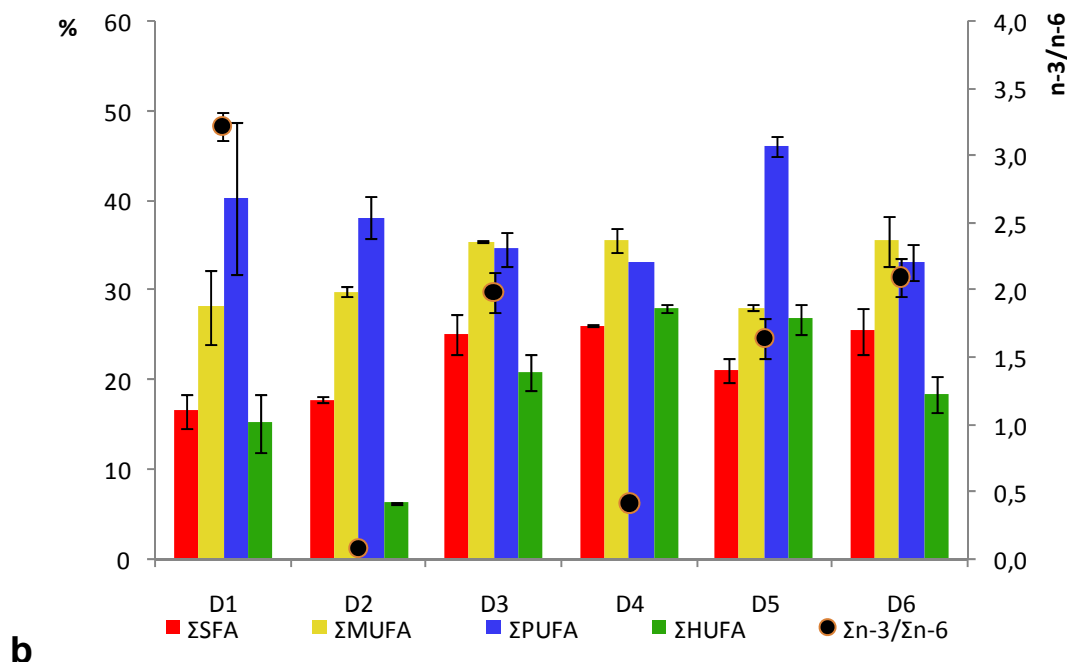


Figura 21 – Perfil lipídico dos ovos de *P. varians*, no estado 1 de desenvolvimento embrionário. Os ácidos gordos foram agrupados em função do número de ligações.

a-amostragem “early spring”; b-amostragem “late spring”
 D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S.One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

Amostragem “early spring”:

Os ovos de camarão da dieta D3 apresentam maior teor em saturados (SFA), o que será um reflexo directo da dieta, no entanto sem significância. Registam-se diferenças estatísticas significativas entre os ovos da dieta D2, D3, D4 e D6 (na Tabela 4 encontram-se resumidos os resultados obtidos nos testes estatísticos).

O perfil dos ovos dos camarões das dietas D3 e D4 apresentam alguma semelhança. Verifica-se também que os ovos de camarão da dieta D4 apresentam um aumento considerável (maior que nos restantes tratamentos) em ácidos gordos monoinsaturados (MUFA). Os ovos apresentam, comparativamente às dietas, um aumento no teor em ácidos gordos monoinsaturados (MUFA). Existem diferenças significativas entre os ovos de camarão dos tratamentos D1, D3 e D4; D4, D2, D5 e D6; D5, D3 e D4 (Tab. 4). A dieta que mais se aproxima do perfil dos camarões “selvagens” (D6) é a D5 que, no entanto, regista menor teor em HUFA, em comparação com os “selvagens”.

Os ovos de camarão da dieta D4 apresentam o perfil em HUFA mais semelhante aos “selvagens” (D6). Se excluirmos os ovos da dieta D2 (que apresentam um conteúdo muito reduzido em HUFA), observa-se nos ovos dos camarões da dieta D1 e D5, uma descida de ≈5 pontos percentuais em relação às dietas. Nos ovos dos camarões da dieta

D3 há uma conservação, enquanto nos ovos de camarão da dieta D4 verifica-se uma subida de ≈ 5 pontos percentuais, razão pela qual este tratamento apresenta maior proximidade com o D6, em termos de HUFA. Os ovos de camarão da dieta D2 apresentam resultados muito interessantes, pois, embora a dieta seja muito rica em PUFA e não contenha HUFA, nos ovos verifica-se uma subida de ≈ 5 pontos percentuais nos HUFA (tal como se verificou nos ovos da dieta D4), sendo no restante semelhante aos outros tratamentos. Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre o tratamento D2 e todos os outros tratamentos. Existem também diferenças significativas entre o tratamento D1 e D6 e os tratamentos D3, D4 e D6 (Tab. 4).

O perfil dos ovos da dieta D1 enquadra-se entre os resultados obtidos para a dieta D3 e D4, mas com um teor muito superior em PUFA, pelo que existem diferenças significativas entre o tratamento D1, D3 e D4 (Tab. 4). Também apresentam a razão n-3/n-6 mais alta entre os camarões cultivados, o que é um reflexo claro da dieta, sendo neste aspecto, o tratamento que mais se aproxima dos camarões “selvagens” (D6).

A razão n-3/n-6 mais elevada foi observada nos ovos dos camarões “selvagens” (D6) ($\approx 3,5$), seguida do tratamento D1 (*Artemia*) ($\approx 2,5$), como já foi referido. Nas restantes dietas, os ovos dos camarões apresentaram uma relação n-3/n-6 mais baixa ($\approx 1,5$).

Amostragem “late spring”:

Verificam-se diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos D1 e D4, D3 e D6 e D2 com todos os outros tratamentos (Tab. 4).

Ao comparar o perfil em todos os ácidos gordos nas dietas (Fig. 20b) e nos ovos dos camarões (Fig. 22), verifica-se que alguns ácidos gordos parecem não atender a nenhuma relação entre a sua presença na dieta e conseqüentemente nos ovos.

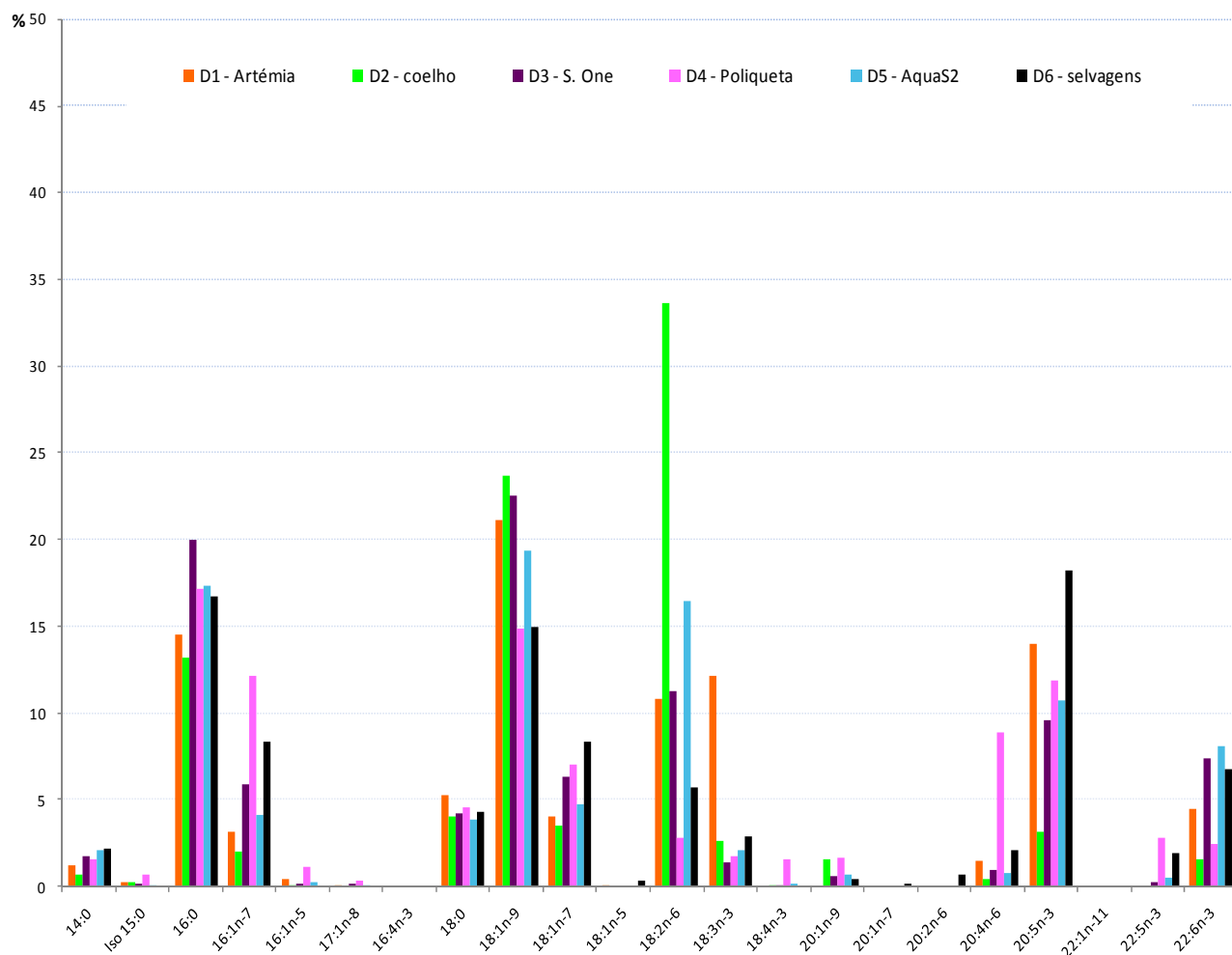


Figura 22 – Perfil em ácidos gordos dos ovos de *P. varians*, em estado 1 de desenvolvimento embrionário, na amostragem “early spring”.

Assim, embora a dieta D3 apresente, comparativamente às restantes dietas, um conteúdo bastante elevado de C14:0 (ácido mirístico), como já foi referido, o conteúdo deste ácido nos ovos dos camarões é semelhante aos outros tratamentos.

O ácido palmítico (C16:0) é bastante abundante nalgumas dietas e consequentemente os ovos dos camarões são bastante ricos neste ácido. Os ovos dos camarões “selvagens” (D6) também apresentam elevados teores neste ácido gordo.

No ácido palmitoléico (16:1n-7) cuja presença é muito reduzida nas dietas, inclusivamente inexistente na dieta D2, verifica-se um aumento da sua abundância nos ovos, principalmente nos ovos dos camarões das dietas D2 e D4. Também se verifica que ocorre com alguma abundância nos ovos dos camarões “selvagens”, apresentando alguma semelhança com a dieta D4.

O ácido oleico (18:1n-9) apresenta maior abundância nos ovos do que seria de esperar em função do seu conteúdo nas dietas. Esse aumento é ainda mais acentuado na dieta D4, onde mais uma vez os ovos dos camarões da dieta D4 apresentam maior proximidade aos camarões “selvagens” (D6).

Os ovos dos camarões das dietas D3 e D4 apresentam conteúdos no ácido gordo 18:1n-7 superiores à dieta. Também neste ácido gordo a dieta D4 é a que mais se aproxima dos “selvagens”.

Quando se analisam os ácidos gordos mais importantes para os organismos, (linoleico, linolénico, ARA, EPA e DHA) (Figura 23), observa-se uma clara influência da dieta no perfil dos ovos de *P. varians*, no estado de desenvolvimento embrionário 1.

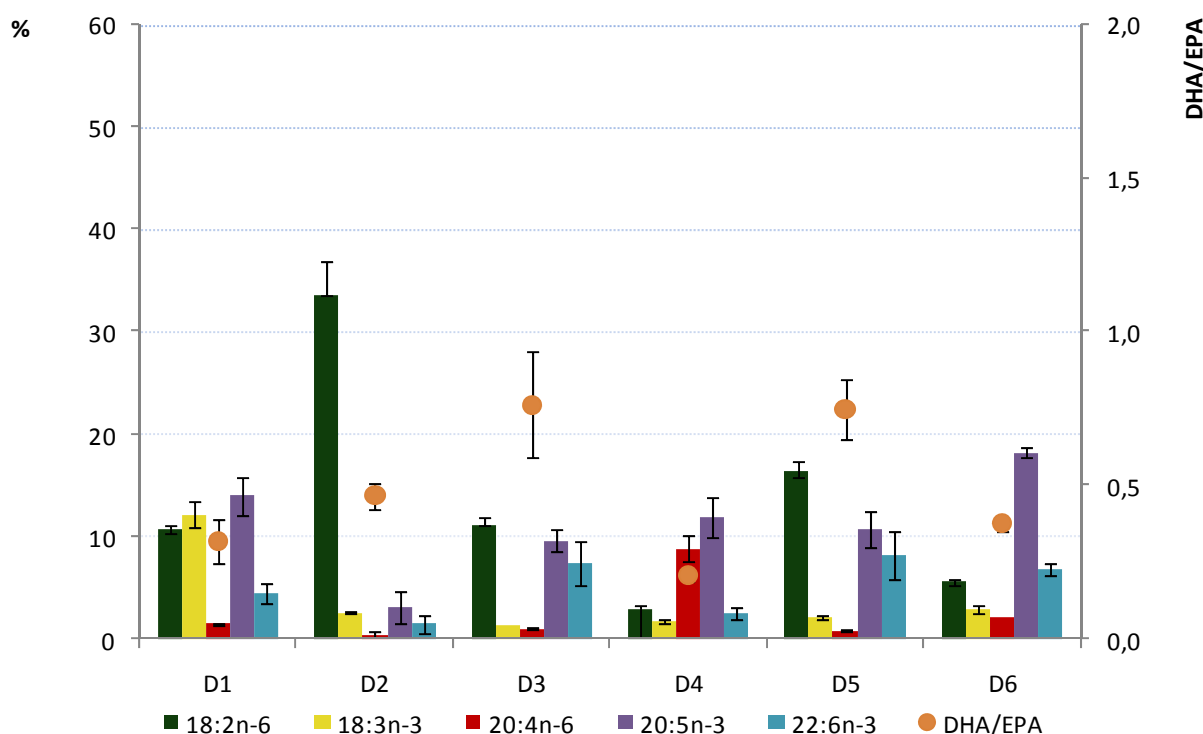
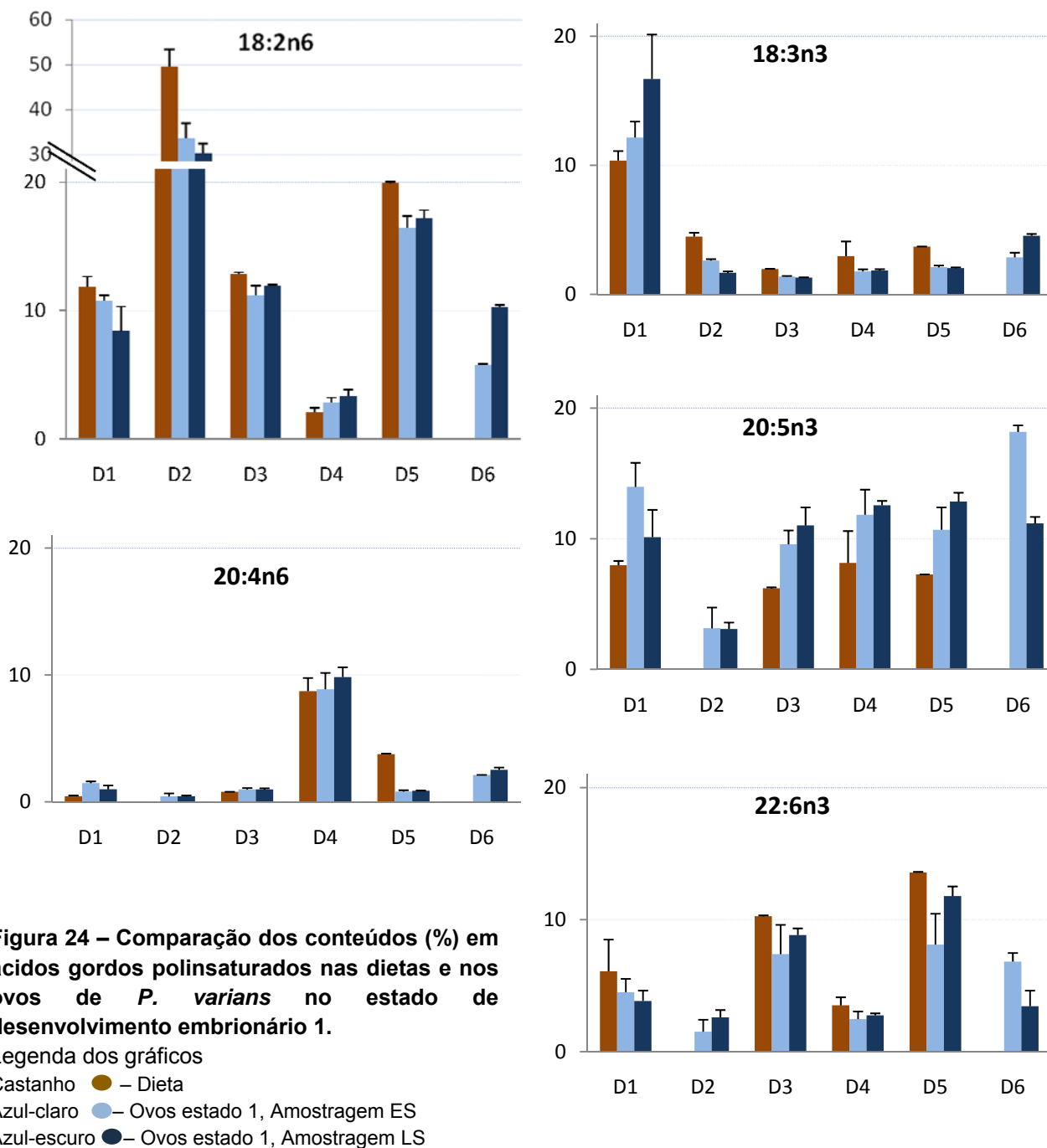


Figura 23 – Perfil nos principais ácidos gordos para os organismos marinhos dos ovos de *P. varians*, em estado 1 de desenvolvimento embrionário, na amostragem “early spring”.

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S.One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

Na Figura 24 compara-se o perfil em ácidos gordos das dietas e dos ovos de camarão em estado 1, na amostragem “early” e “late spring”.



D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S.One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

Nos ovos dos camarões, o conteúdo em ácido linoleico e ácido linolénico, seguem exactamente o perfil observado nas dietas. Os ovos dos camarões da dieta D2 apresentam maior conteúdo em 18:2n-6 enquanto os ovos de camarão da dieta D4 apresentam o menor conteúdo, em correspondência com a dieta. Para o linolénico observar-se que os

ovos dos camarões alimentados com a dieta D1 apresentam valores muito superiores às restantes dietas.

Em relação aos HUFA, os ovos de camarão alimentados com a dieta D4 apresentam um conteúdo em ARA 20:4n-6 muito superior aos restantes tratamentos. Embora a dieta D5 apresente um conteúdo em ARA também elevado, isso parece não se reflectir nos ovos.

O conteúdo da dieta também parece influenciar os ovos dos camarões no perfil em EPA e DHA. Os ovos dos camarões “selvagens” (D6) apresentam o conteúdo mais elevado em EPA, enquanto os ovos dos camarões alimentados com a dieta D5 e D3 registam o conteúdo mais elevado em DHA.

Salienta-se, mais uma vez, a presença de EPA e DHA nos ovos dos camarões da dieta D2, onde estes ácidos gordos eram inexistentes.

A dieta D2 apresenta a menor razão DHA/EPA, e nos ovos verifica-se um valor bastante superior à dieta, inclusivamente muito próximo do valor obtido para os camarões “selvagens” (D6) e também próximo do valor obtido para os ovos da dieta D1. A razão mais elevada verificou-se nos ovos dos camarões alimentados com a dieta D3 e D5, como também já se tinha verificado na dieta. Na amostragem “late spring”, regista-se uma descida generalizada, com excepção da dieta D2 onde se verifica um aumento, e na dieta D4 que mantém a razão. Na Figura 26 pode-se comparar a evolução na embriogénese nos dois tempos.

A Tabela 4 apresenta os resultados dos testes estatísticos na comparação dos teores em alguns ácidos gordos nos ovos de *P. varians* no estado 1 de desenvolvimento embrionário.

Tabela 4 – Comparação do perfil lipídico nos ovos de *P. varians* em estado 1, nos dois períodos amostrais. Apenas estão referidos os tratamentos que apresentam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) (two way ANOVA e posteriores testes de comparação múltipla, Holm-Sidak).

		“early spring”						“late spring”					
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D1	D2	D3	D4	D5	D6
SFA	D1												
	D2			0,004	<0,000		<0,000						
	D3												
	D4												
	D5												
	D6												
	D6												

MUFA	D1			<0,000	<0,000		
	D2						
	D3						
	D4		<0,000			<0,000	<0,000
	D5			<0,000	<0,000		
	D6						
PUFA	D1			0,001	0,003		
	D2						
	D3						
	D4						
	D5						
	D6						
HUFA	D1						0,005
	D2	<0,000		<0,000	<0,000	<0,000	<0,000
	D3				0,005		0,002
	D4						
	D5						
	D6						
18:2n-6	D1		<0,000		<0,000	<0,000	<0,000
	D2			<0,000	<0,000	<0,000	<0,000
	D3				<0,000	<0,000	<0,000
	D4					<0,000	<0,000
	D5						
	D6					<0,000	
18:3n-3	D1		<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000
	D2			<0,000	<0,000	<0,000	
	D3						
	D4			0,004			
	D5			<0,000	0,001		
	D6			<0,000	<0,000	<0,000	
ARA	D1		<0,000	0,005	<0,000	<0,000	<0,000
	D2			<0,000		<0,000	
	D3					0,008	
	D4		<0,000	<0,000		<0,000	<0,000
	D5						
	D6		<0,000	<0,000		<0,000	
EPA	D1			0,001	0,002	<0,000	
	D2	<0,000		<0,000	<0,000	<0,000	<0,000
	D3						
	D4						
	D5						
	D6			<0,000	<0,000	<0,000	
DHA	D1			0,003		0,001	
	D2	<0,000		<0,000		<0,000	<0,000
	D3						
	D4	0,001		<0,000		<0,000	<0,000
	D5						
	D6						

DHA/EPA	D1		0,01	<0,000	0,002	<0,000		
	D2			<0,000	<0,000	<0,000		
	D3				<0,000			
	D4					<0,000		
	D5						<0,000	
	D6							<0,000
				<0,000	<0,000	<0,000		

D1		0,001	0,001	<0,000
D2				
D3				<0,000
D4				
D5				
D6				
		<0,000	<0,000	<0,000

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S. One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

5.3.3. Dinâmica lipídica na embriogénese de *P.varians*

Para se averiguar acerca da dinâmica lipídica embrionária, ou seja, se as diferentes dietas afectam o metabolismo dos lípidos no vitelo, alterando as relações entre os ácidos gordos, ao longo do desenvolvimento embrionário é necessário comparar o perfil lipídico dos ovos nos diferentes estados de embriogénese, neste caso no estado 1 vs estado 3.

Na Tabela 5 encontram-se sumarizados os resultados dos testes estatísticos realizados para verificar a utilização dos lípidos em função da insaturação na embriogénese dos camarões.

Tabela 5 – Resultados dos testes estatísticos (two way ANOVA e posteriores testes de comparação múltipla, Holm-Sidak) aplicados ao perfil lipídico nos ovos de *P. varians* no estado 1 e no estado 3, nos dois períodos amostrais. Apenas estão referidos os tratamentos que apresentam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$), (-- – sem diferenças significativas no perfil lipídico ao longo da embriogénese).

“early spring”						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
Estado	E1-E3	E1-E3	E1-E3	E1-E3	E1-E3	E1-E3
SFA	0.013	--	--	--	--	--
MUFA	0.022	--	0.006	--	--	--
PUFA	--	--	--	--	--	--
HUFA	--	0.000	--	--	--	--
“late spring”						
SFA	--	--	--	--	--	--
MUFA	0.032	--	--	--	--	--
PUFA	--	--	--	--	--	--
HUFA	0.020	--	--	--	--	--

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S. One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

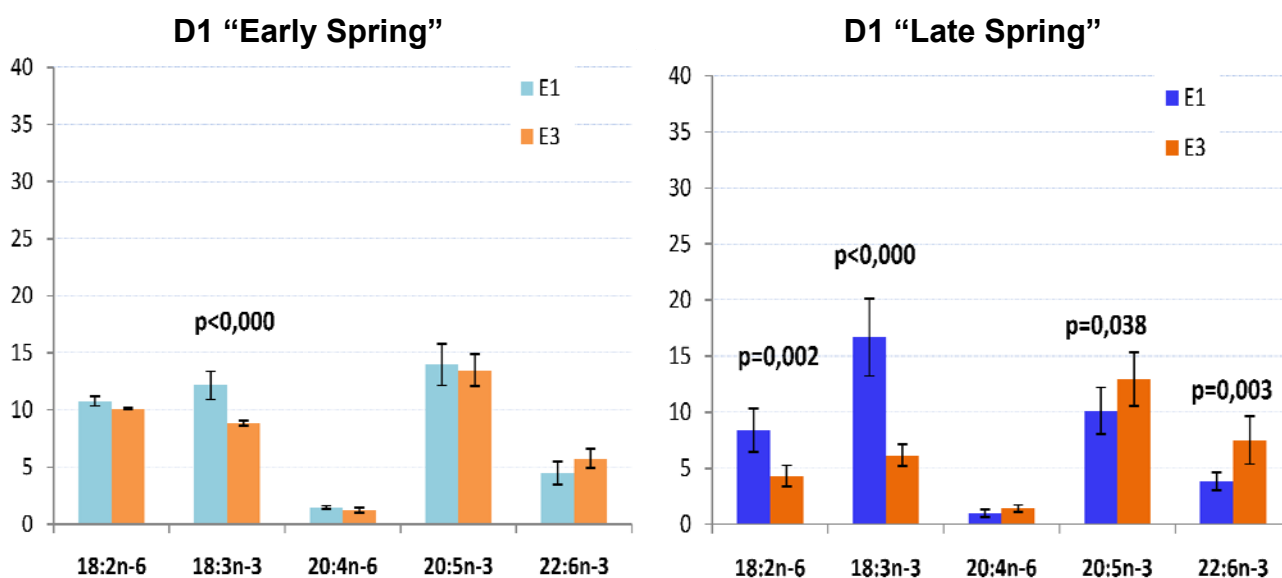
Amostragem “early spring”:

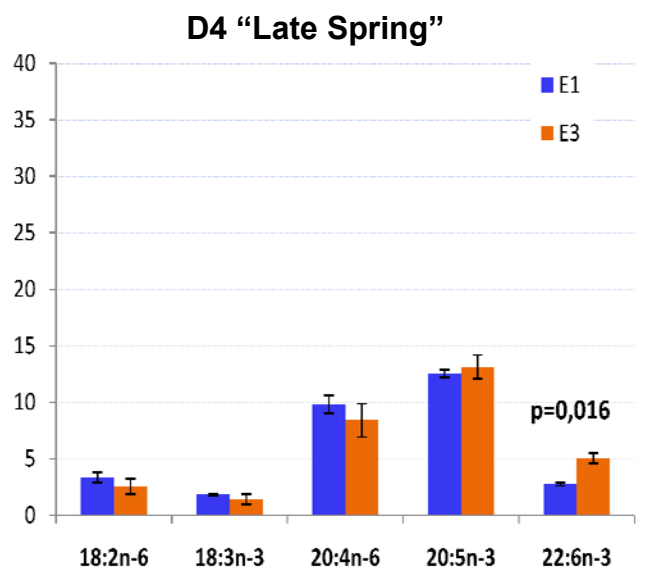
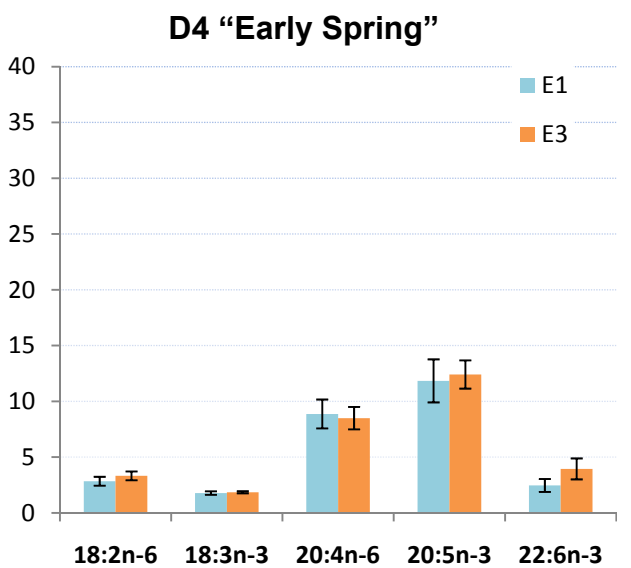
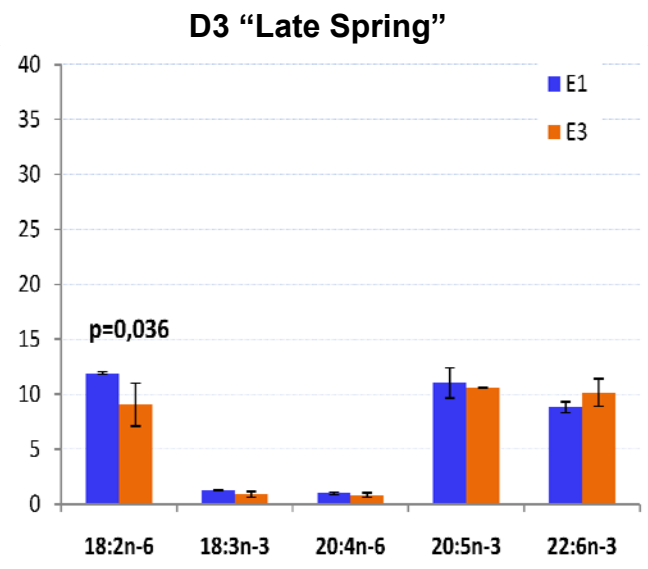
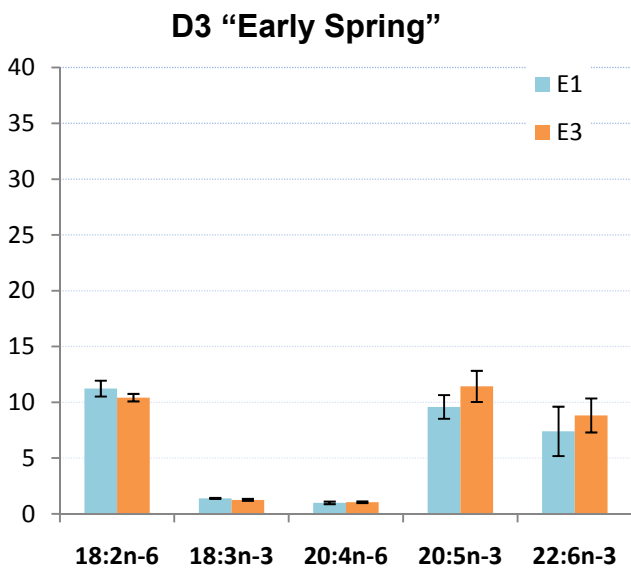
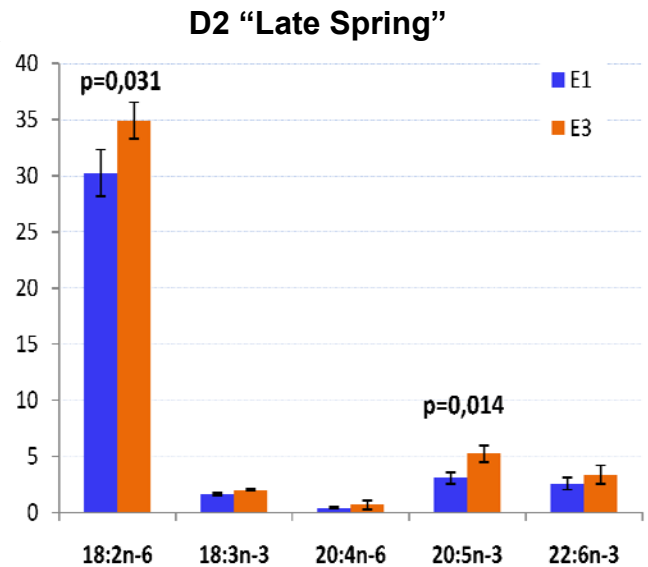
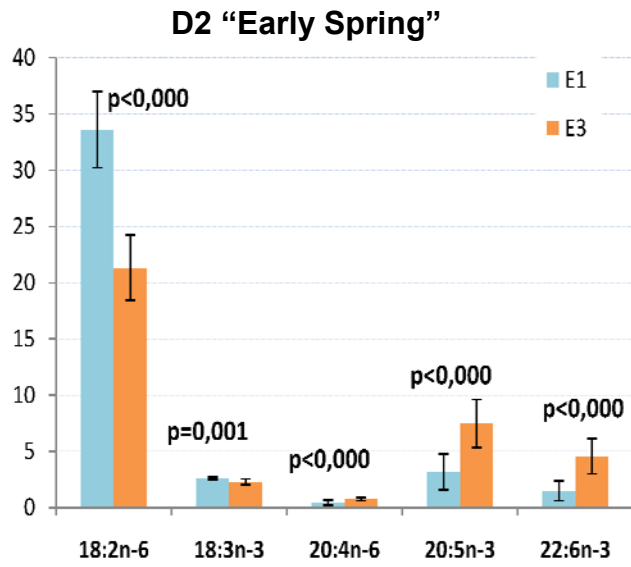
Existem diferenças estatísticas significativas na utilização de ácidos gordos saturados (SFA) nos ovos de camarão da dieta D1. Também existem diferenças estatísticas significativas na utilização de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), nos ovos dos camarões alimentados com a dieta D1 e D3. Nos ácidos gordos altamente insaturados (HUFA) apenas se verificam diferenças estatísticas nos ovos de camarão da dieta D2.

Amostragem “late spring”:

Existem diferenças estatísticas significativas na utilização de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) nos ovos de camarão da dieta D1. Também existem diferenças estatísticas significativas na utilização de ácidos gordos altamente insaturados (HUFA), nos ovos de camarão da dieta D1.

Na Figura 25 comparam-se os perfis em ácidos gordos (linoleico, linolénico, ARA, EPA e DHA) dos ovos dos camarões no estado 1 e no estado 3 de desenvolvimento embrionário, nos dois tempos amostrais, “early” e “late spring”.





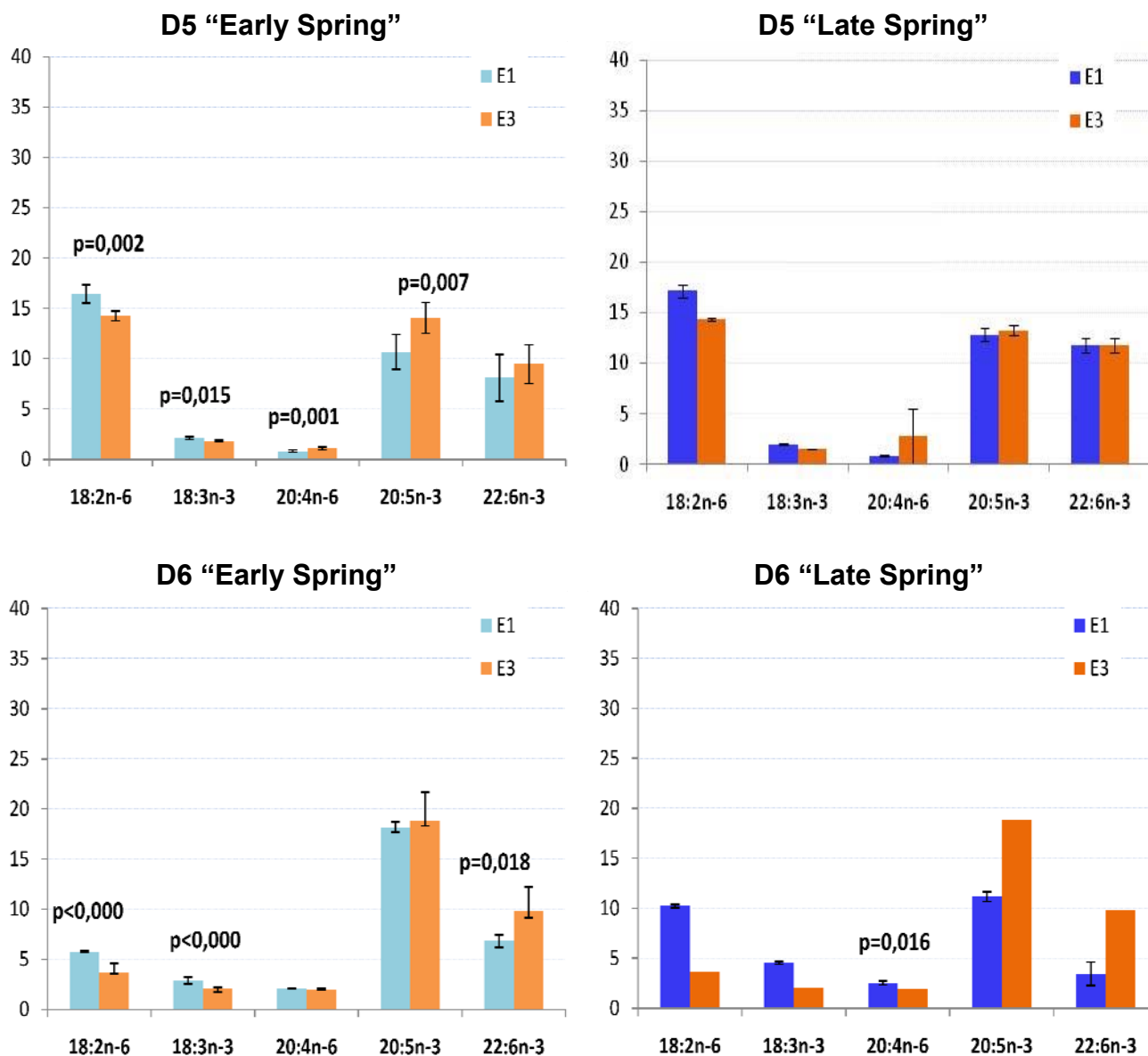


Figura 25 – Perfil dos principais ácidos gordos (%) nos ovos de *P. varians* em dois estados de desenvolvimento embrionário, assinalando-se os tratamentos que apresentam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$).

O E3 da dieta D6, na amostragem "late spring" não apresenta desvio padrão, pois não houve material biológico suficiente para efectuar replicados.

E1 – Estado 1; E3 - Estados 3

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S.One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – "Selvagens"

Dieta D1

1. O ácido linoleico (18:2n-6) presente nos ovos em estado 1 reflecte o teor deste ácido na dieta e os ovos em estado 3 mantêm o mesmo teor. Na amostragem LS, os ovos em estado 1 reflectem o teor da dieta, apresentando valores semelhantes à amostragem anterior, mas os ovos em estado 3 já apresentam um decréscimo;

2. O ARA (20:4n-6) presente nos ovos apresenta o triplo do teor contido na dieta, não sofrendo alterações na transição estado 1-3, na amostragem LS verifica-se uma redução no estado 3;
3. O ácido linolénico (18:3n-3) presente nos ovos dos camarões é superior aos teores registados na dieta, sendo que na amostragem LS é ainda mais elevado. Verifica-se um decréscimo na transição estado 1-3 nas duas amostragens;
4. O EPA (20:5n-3) presente nos ovos dos camarões também é superior aos teores registados na dieta. Na amostragem ES não se verificam alterações na transição estado 1-3. Na amostragem LS os ovos em estado 3 apresentam um aumento no teor deste ácido;
5. O DHA (22:6n-3) presente nos ovos dos camarões em estado 1 é inferior ao registado na dieta. Verifica-se, nas duas amostragens, que ocorre um aumento do teor na transição estado 1-3.

Dieta D2

1. O ácido linoleico (18:2n-6) presente nos ovos dos camarões é muito elevado, reflexo da dieta, que apresenta os níveis mais altos. Na amostragem ES os ovos em estado 1 apresentam um elevado teor, no entanto menor que o presente na dieta. Existe um decréscimo considerável na transição para o estado 3. Na amostragem LS, ocorre um aumento do teor na transição estado 1-3;
2. O ARA (20:4n-6) presente nos ovos de camarão é vestigial, no entanto não deixa de ser significativo, pois este ácido gordo era inexistente na dieta. Embora em muito pequenas quantidades é ainda possível verificar, nas duas amostragens, que não se verifica consumo na transição estado 1-3;
3. O ácido linolénico (18:3n-3) presente nos ovos dos camarões é aproximadamente metade do registado na dieta. Na amostragem LS verifica-se ainda um decréscimo. Não se observam grandes alterações na transição estado 1-3, nas duas amostragens;
4. A presença de EPA (20:5n-3) e DHA (22:6n-3) nos ovos dos camarões são, à semelhança do ARA, muito significativos porque como já se referiu estes ácidos gordos eram inexistentes no alimento. Verifica-se nas duas amostragens e para os dois ácidos gordos um aumento na transição entre estado 1-3.

Dieta D3

1. O teor em ácido linoleico (18:2n-6) nos ovos dos camarões é semelhante ao registado na dieta e não apresenta grande alteração na transição entre estado 1-3, nas duas amostragens;
2. O ARA (20:4n-6) presente nos ovos dos camarões aproxima-se do teor contido na dieta, não sofrendo alterações na transição estado 1-3, nas duas amostragens;
3. O ácido linolénico (18:3n-3) presente nos ovos dos camarões aproxima-se do teor registado na dieta. Verifica-se um decréscimo muito ligeiro na transição estado 1-3 nas duas amostragens;
4. O EPA (20:5n-3) presente nos ovos dos camarões é superior aos teores registados na dieta. Na amostragem ES verifica-se um aumento na transição estado 1-3. Na amostragem LS os teores são semelhantes;
5. O DHA (22:6n-3) presente nos ovos dos camarões aproxima-se dos teores da dieta. Verifica-se, nas duas amostragens, que ocorre um aumento do teor na transição estado 1-3.

Dieta D4

1. O teor em ácido linoleico (18:2n-6) nos ovos dos camarões é superior à dieta. Na amostragem ES verifica-se um ligeiro aumento na transição estado 1-3, enquanto na amostragem LS, verifica-se o inverso;
2. Os ovos de camarão apresentam à semelhança da dieta um elevado teor em ARA (20:4n-6). Não existem grandes alterações na transição estado 1-3, nas duas amostragens;
3. O ácido linolénico (18:3n-3) presente nos ovos dos camarões é inferior aos teores registados na dieta. Não existem grandes alterações na transição estado 1-3, nas duas amostragens;
4. O EPA (20:5n-3) presente nos ovos dos camarões é superior aos teores registados na dieta. Não existem grandes alterações na transição estado 1-3, nas duas amostragens;

5. O DHA (22:6n-3) presente nos ovos dos camarões em estado 1 é inferior ao registado na dieta. Verifica-se, nas duas amostragens, que ocorre um aumento do teor na transição estado 1-3.

Dieta D5

1. O teor em ácido linoleico (18:2n-6) nos ovos dos camarões é ligeiramente inferior à dieta. Verifica-se, nas duas amostragens, um decréscimo na transição estado 1-3;
2. O teor em ARA (20:4n-6) presente nos ovos dos camarões é bastante inferior ao teor contido na dieta. Na amostragem LS observa-se um aumento no estado 3;
3. O ácido linolénico (18:3n-3) presente nos ovos dos camarões é inferior aos teores registados na dieta, Não existem grandes alterações na transição estado 1-3, nas duas amostragens;
4. O EPA (20:5n-3) presente nos ovos dos camarões é superior ao teor registado na dieta, ocorrendo um aumento na amostragem LS. Verifica-se nas duas amostragens um aumento do teor na transição, sendo mais evidente na amostragem ES.
5. O DHA (22:6n-3) presente nos ovos dos camarões em estado 1 na amostragem ES é inferior ao registado na dieta. Verifica-se, nas duas amostragens, que ocorre um aumento do teor na transição estado 1-3.

Dieta D6

1. O ácido linoleico (18:2n-6) presente nos ovos dos camarões em estado 1 na amostragem ES é cerca de metade do teor registado na amostragem LS. No entanto o teor registado nos ovos em estado 3 é aproximadamente o mesmo nas duas amostragens;
2. Os ovos dos camarões “selvagens” apresentam a 2º maior teor em ARA (20:4n-6). Verifica-se, na amostragem LS, uma redução no estado 3;
3. O ácido linolénico (18:3n-3) presente nos ovos dos camarões é ligeiramente superior aos teores registados para todas as dietas, à excepção da dieta D1. Verifica-se um aumento dos teores nos ovos em estado 1 na amostragem LS. Verifica-se um decréscimo na transição estado 1-3 nas duas amostragens;
4. Os ovos de camarão “selvagens” apresentam o maior teor em EPA (20:5n-3), quer em relação aos ovos dos restantes camarões, quer em relação aos teores contidos

em qualquer das dietas. Na amostragem LS, verifica-se uma diminuição considerável nos teores dos ovos. Ocorre um aumento do teor, nas duas amostragens, na transição estado 1-3, atingindo valores muito semelhantes, embora se tenha registado a descida, na amostragem LS, no estado 1;

- O DHA (22:6n-3) presente nos ovos dos camarões em estado 1 nas duas amostragens é semelhante aos registados para os ovos de camarão da dieta D1. Verifica-se, nas duas amostragens, um aumento significativo na transição estado 1-3.

Na Figura 26 encontra-se graficada a variação da relação DHA/EPA nos dois tempos amostrais e para os dois estados de desenvolvimento embrionário.

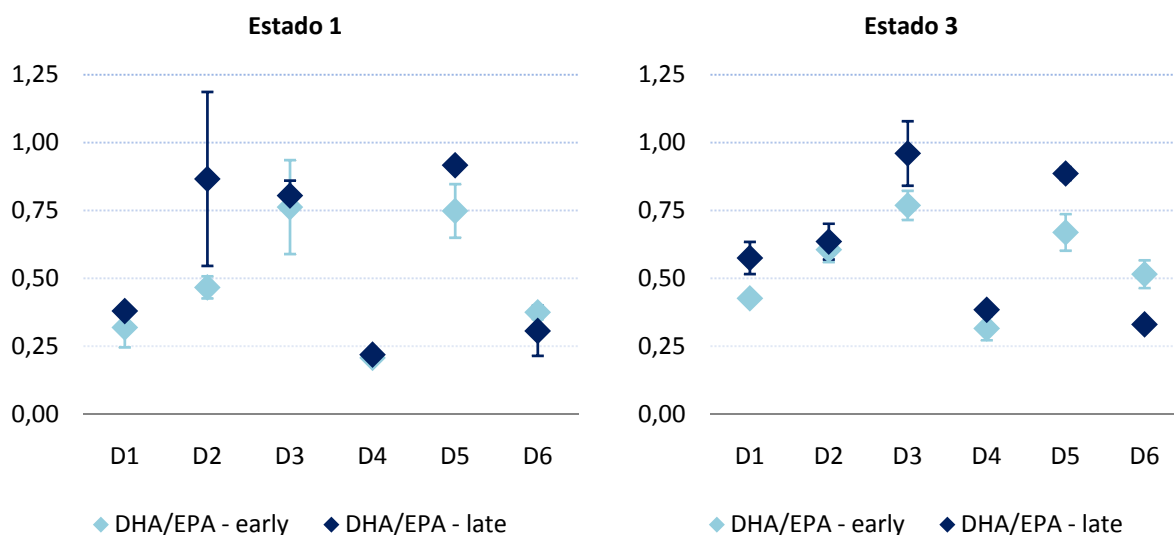


Figura 26 – Evolução da relação DHA/EPA ao longo do tempo (amostragem “early” e “late spring”) e ao longo da embriogénese (estado 1 e estado 3).

Na Figura 27 apresenta-se o esquema resultante da utilização de um método de análise multivariada, que permitiu encontrar 4 grandes grupos onde os descritores se encontram “arrumados”.

Este método permite encontrar similaridades entre os descritores. Assim podemos verificar que os ovos dos camarões encontram-se agrupados no mesmo grupo onde se insere a sua própria dieta, nos dois tempos amostrais, “early” e “late spring”. Também é possível reconhecer algumas similaridades entre as dietas D3 e

D5, que conseguem formar um grupo, assim como nas dietas D4 e D6 que também se unem num grupo.

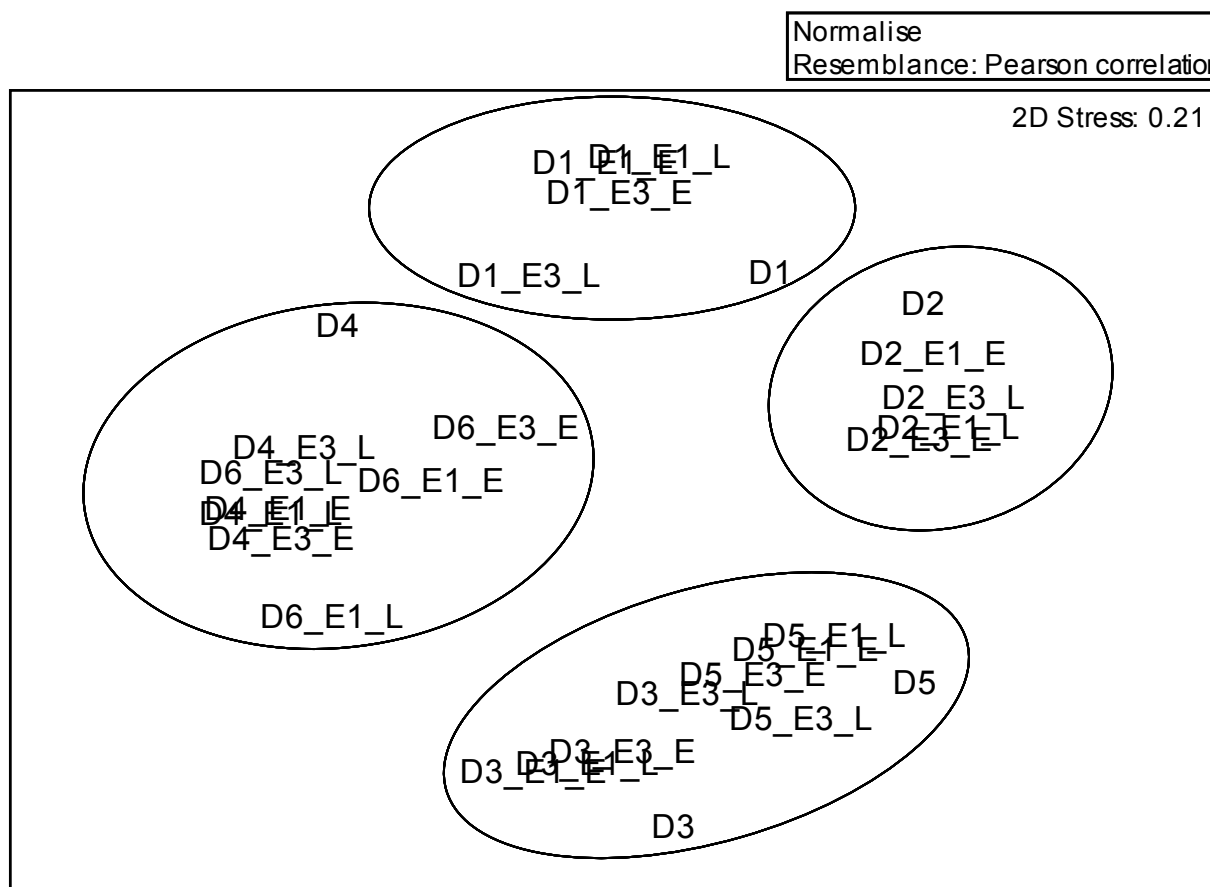


Figura 27 – Distribuição das dietas e dos ovos de camarão nos dois tempos amostrais, através de uma correlação de Pearson.

D1 – *Artemia*; D2 – Coelho; D3 – S.One; D4 – Poliqueta; D5 – AquaS2; D6 – “Selvagens”

E1 – Estado 1; E3 – Estado 3 de desenvolvimento embrionário

E - *early spring*; L – *late spring*

6. Discussão

6.1 Sobrevivência

As melhores taxas de sobrevivência foram apresentadas pelos camarões alimentados com as dietas D4 e D5, a pior foi registada para os camarões da dieta D2. No entanto, como já se referiu, a agudização da mortalidade verifica-se em Maio, 3 meses após o início das experiências. Até essa fase, os regimes alimentares não provocaram mortalidades nas camarinhas. Se observarmos a dieta D1 verifica-se que a mortalidade nesse tratamento começou mais cedo, ou seja, essa dieta provocou mortalidade desde o início do ensaio. Aparentemente, a dieta D1 pode provocar carências nutricionais mais rapidamente que a dieta D2, tratamento que obteve a pior taxa de sobrevivência. É importante salientar que os camarões da dieta D1 apresentaram a 3ª melhor sobrevivência (Fig. 14 e Tab.2), embora tenham mantido uma mortalidade persistente desde praticamente o início do ensaio (desde Março - 1 mês após o início da experiência),

A dieta D3 apresentou, depois da dieta D2, a pior taxa de sobrevivência final. Se analisarmos a mortalidade ao longo dos meses (Fig. 14), verifica-se que neste tratamento ocorre mais tardiamente, com início no mês de Abril (Fig. 14), e ainda assim, com valores inferiores à dieta D4 e semelhantes à D5, aumentando nos meses seguintes. Este resultado, também observado na dieta D2, comprova a característica oportunista desta espécie (*Rosa et al., 2007*). No entanto parece que a dieta D3 permite, durante algum tempo, fornecer os requisitos suficientes para que os camarões sobrevivam.

A verificação de uma mortalidade tardia em vários tratamentos, a partir do 3º mês de ensaio, e que coincidiu com o aumento da temperatura da água do mar, levam-nos a considerar que as eventuais deficiências nutricionais das dietas possam ter sido agravadas pelo aumento do metabolismo dos organismos, consequência da temperatura mais elevada, que assim se tornam mais exigentes nutricionalmente.

6.2. Parâmetros populacionais. Relação entre sexos, percentil de fêmeas ovígeras e relações biométricas

O percentil de fêmeas ovígeras pode dentro de certa medida ser um indicador da fecundidade de uma população. A reprodução é essencial à continuidade da espécie, e exige esforço energético. Todos os organismos vivos investem parte importante das reservas na formação das gónadas e para todo o processo da reprodução. Só organismos saudáveis e em “fitness” conseguem empreender com sucesso todo o processo reprodutivo.

Considerando que os camarões “selvagens” (D6) seguem o “modelo real” da espécie, e permitem um referencial de comparação, constata-se, na amostragem ES, que as dietas D1 e D2 são as que mais se aproximam de D6, no número de fêmeas ovígeras (Fig.17). A dieta D5 apresenta o maior número de fêmeas ovígeras, nas duas amostragens, estatisticamente superior a D6. As dietas D3 e D4 também apresentam um elevado percentil de fêmeas ovígeras. Estes resultados parecem indicar que estas dietas (D3, D4 e D5) promoveram a fecundidade (maior nº de fêmeas ovígeras), contrariamente ao verificado para as dietas D1 e D2 que, não estariam em tão boas condições nutricionais, como também já se verificou na sobrevivência. No entanto, e como se referiu, o percentil de fêmeas ovígeras apresentado por ambas as dietas não foi tão reduzido que indicasse diferenças estatísticas significativas com o tratamento D6, o que isoladamente poderia indicar um bom resultado.

Na amostragem LS verifica-se um aumento do percentil de fêmeas ovígeras nos camarões “selvagens” (D6), o que pode ser explicado pelo facto desta amostragem ter sido efectuada em Maio e, estarmos perante o pico da reprodução. Nos camarões cultivados, apenas o tratamento D1 apresenta um aumento do número de fêmeas ovígeras. De facto, embora este tratamento tenha apresentado mortalidade precocemente, foi possível encontrar fêmeas ovígeras até ao final da experiência (Julho), se bem que em número muito reduzido e de pequeno porte (como se verá, ao analisar os dados de biometria), enquanto no tratamento D2 se observavam pouquíssimos indivíduos nessas condições. No tratamento D2, o número de fêmeas ovígeras foi muito semelhante à amostragem anterior, embora o mês de Maio tenha registado uma elevada taxa de mortalidade. Nos restantes tratamentos D3, D4 e D5, registou-se uma diminuição. D3 e D4 apresentaram valores inferiores a D6, D5 obteve melhores resultados que D6. O que apresentou piores resultados foi o tratamento D3, com um decréscimo muito acentuado. No entanto, o

aumento acentuado da mortalidade, neste tratamento só se fez sentir no mês seguinte, mas a diminuição de fêmeas ovígeras, pode ser interpretado como um sinal de que a população já não se encontrava nas melhores condições.

É interessante cruzar esta informação com os dados biométricos, (comprimento do cefalotórax - CC) (Fig.18 e 19).

Na amostragem “early spring”, não se verificam diferenças significativas de tamanho, entre os camarões cultivados e “selvagens” (D6), o que juntamente com os dados da mortalidade, parece indicar que nesta fase, o efeito das dietas não era ainda condicionante. Verifica-se, em todos os tratamentos que as fêmeas ovígeras apresentam um CC superior ao conjunto geral das fêmeas, o que tem lógica porque biologicamente, a maturação e a reprodução ocorre em fêmeas de maior porte.

Na amostragem “late spring” já não se verifica o mesmo padrão, as fêmeas ovígeras são mais pequenas. Nos camarões “selvagens” (D6) a diferença de tamanho é ainda mais considerável, no entanto o percentil de fêmeas ovígeras aumentou, pelo que podemos especular que o facto de não encontrarmos indivíduos de maior tamanho na população se deva a efeitos de regulação endógenos da própria espécie. Se averiguarmos a variância (Fig.19), verifica-se que é muito mais reduzida, o que indica uma população mais homogénea, o que eventualmente significa o fim de um ciclo de vida de uma coorte, ou ainda eventualmente efeito de uma predação mais acentuada por parte dos restantes elos da teia trófica. Os indivíduos maiores são mais apetecíveis, quer por parte dos predadores naturais, quer por parte da captura dirigida a esta espécie.

Nos camarões em cativeiro, verifica-se que as dietas D3, D4 e D5 continuaram a permitir fêmeas ovígeras de grande porte, enquanto no tratamento D1, as fêmeas ovígeras amostradas eram de tamanho significativamente inferior, ou seja, o aumento de fêmeas ovígeras registado na dieta D1 deve-se à maturação de fêmeas mais pequenas. Também podemos afirmar que as fêmeas ovígeras alimentadas com as dietas D3 e D5 atingiram um tamanho superior às amostradas nos camarões “selvagens” (D6). Resultados similares foram obtidos em camarões ornamentais *Lysmata seticaudata*, alimentados com ração para dourada, que apresentaram melhor sobrevivência e crescimento, inclusivamente superior aos camarões não cultivados (Calado *et al.*, 2005).

6.3. Lípidos

Como já foi mencionado, o tratamento D6 é utilizado como referência, funcionando como um “branco”. Compararam-se os resultados obtidos nos camarões cultivados com as diferentes dietas com os camarões “selvagens”.

Os camarões cultivados reflectem de um modo geral o perfil lipídico das dietas, tal como foi observado por Calado *et al.*, (2005) em camarões juvenis. É muito interessante observar o modo como as dietas e os ovos de camarão nos dois estados de desenvolvimento embrionário se agrupam, nas duas amostragens (Fig. 27). Embora, no final do ensaio as dietas D3 e D5 tenham proporcionado resultados muito diferentes, encontram-se no mesmo grupo, o que pareceu fazer sentido até meio do ensaio. A dieta D4 encontra-se agrupada com o tratamento D6, o que revela alguma similaridade entre as dietas.

6.3.1. Perfil lipídico dos ovos de *P.varians*

Na amostragem ES, verificam-se diferenças estatísticas significativas no conteúdo em SFA, entre o tratamento D6 e D2, que apresentam um valor mais baixo, reflexo da dieta. C16 e C18 são os SFA mais abundantes, com predominância de C16, resultados concomitantes com os obtidos anteriormente para outras espécies (Ying *et al.*, 2006; Rosa *et al.*, 2007).

Nos MUFA, verificam-se, nas duas amostragens, diferenças significativas entre o tratamento D6 e D4, o que se pode dever ao elevado conteúdo em 16:1n-7 nos ovos dos camarões da dieta D4, embora na dieta a sua presença seja muito reduzida. Neste caso o perfil da dieta não parece afectar directamente o perfil nos ovos.

Salienta-se o elevado teor em 18:1n-9, sem relação com qualquer das dietas, e que se deve ao facto de ser o ácido gordo mais abundante nos animais marinhos, servindo frequentemente como indicador de carnivoría (Rosa *et al.*, 2007), pelo que naturalmente está presente nos tecidos dos camarões. É muito interessante verificar que embora a dieta D4 seja comparativamente pobre, o conteúdo dos ovos é semelhante aos ovos dos camarões “selvagens” (D6), ou seja, são dois tratamentos caracteristicamente de origem marinha, que não provocam alterações no balanço natural da composição dos organismos. Estes resultados estão em concordância com Rosa *et al.*, (2007), que verificou para alguns

carídeos, que a maior parcela de MUFA se devia a 16:1n7, 18:1n9 e 18:1n7, detectando grandes diferenças interespecíficas no conteúdo em 18:1n9, que muito naturalmente se devem a variações nas especificidades alimentares de cada grupo. O elevado teor em 18:1n-9 nos ovos de camarão da dieta D2 pode significar alguma carnivoría. A existência de algum canibalismo poderia justificar alguns dos resultados obtidos para este tratamento: poderia ter servido de fonte extra de HUFA e, também como fonte de colesterol, pois os camarões são incapazes de biossintetizar esteróis (Wouters *et al.*, 2001), e os alimentos à base de fontes vegetais, como a dieta D2, não apresentam, virtualmente, colesterol (Tocher *et al.*, 2008), pelo que a ingestão da carcaça de camarões moribundos pode ter sido crucial para os camarões sobreviventes. Em última análise a existência de algum canibalismo poderá ter permitido uma maior sobrevivência. No entanto, devido ao procedimento experimental desenvolvido, julgamos que o potencial canibalismo existente seria de tal modo reduzido que não iria ser suficiente para que se tornasse significativos os aportes de nutrientes por essa via.

Existem diferenças significativas no perfil em alguns PUFA entre os camarões cultivados e os “selvagens” (D6).

No ácido linoleico, na amostragem ES, verificam-se diferenças significativas entre os camarões “selvagens” (D6) e todos os outros tratamentos, no entanto existe maior proximidade com a dieta D4 que apresenta valores mais reduzidos; na amostragem LS, o teor nos ovos dos camarões “selvagens” foi superior, aproximando-se dos valores observados nos ovos de camarão das dietas D1 e D3. Esta alteração vai ter consequências na razão n-3/n-6 que diminui.

No ácido linolénico, na amostragem ES, verificam-se diferenças significativas entre os camarões “selvagens” e todos os outros tratamentos com excepção da dieta D2.

Na amostragem ES, os ovos de camarão da dieta D1 apresentam um perfil muito elevado em linolénico, enquanto os restantes tratamentos apresentam um teor muito baixo. Podemos considerar que o teor da dieta D6 pode ser comparável à D2 (Fig. 22, Tabela 4), o que não deixa de ser surpreendente, atendendo que originalmente se destinam a alimentar mamíferos herbívoros, neste caso coelhos (30% de girassol, 15% de luzerna); na amostragem LS os camarões da dieta D2, que são mantidos com o mesmo teor de linolénico, apresentam um decréscimo, enquanto os ovos dos camarões *selvagens* apresentam um aumento significativo. Nos camarões cultivados apenas na dieta D1 se

verifica um aumento, enquanto nos restantes tratamentos (D3, D4 e D5) o perfil em linolénico é muito semelhante e tende a manter-se estável, independentemente do conteúdo da dieta (Figura 24).

O elevado conteúdo no tratamento D1 deve-se em grande parte à própria dieta, consiste em metanaúplios de *Artemia* spp. enriquecidos numa emulsão comercial. Esta espécie de Anostraca pode ser classificada como estirpe marinha ou continental, sendo estes últimos mais ricos em linolénico. Assim, o elevado teor que se verifica nos ovos dos camarões alimentados com esta dieta justificam-se parcialmente pela contínua ingestão de metanaúplios de *Artemia* spp. de estirpe continental.

Ao considerarmos o tratamento D6 como referencia e se assumirmos que o perfil lipídico observado neste tratamento, é o mais adequado para este palaemonídeo, uma dieta ideal poderia situar-se entre os teores da dieta D1 e D2.

No conteúdo em HUFA, verificam-se diferenças significativas entre os camarões “selvagens” e os camarões das dietas D1, D2 e D3, ou seja apenas as dietas D4 e D5 apresentam semelhança aos camarões “selvagens”. No entanto existem diferenças no perfil em HUFA das dietas D4, D5 e D6; na amostragem LS, o conteúdo em HUFA dos camarões “selvagens” é muito mais reduzido, sem no entanto afectar a dinâmica embrionária (como se verá mais à frente), pelo que deixa de haver diferenças significativas com a dieta D1.

Nos camarões da dieta D3, embora apresentem um perfil semelhante à D5, contêm um conteúdo em EPA muito reduzido, inferior às dietas D1 e D4. Elevados teores em EPA estão relacionados com a maturação e a fecundidade (Xu *et al.* 1994)

A dieta D4 é muito rica em ARA, o que se reflecte nos ovos, com diferenças estatísticas significativas com os restantes tratamentos, nos dois períodos amostrais. Também se verificam diferenças significativas entre os camarões “selvagens” e todos os outros tratamentos, pois os camarões “selvagens” apresentam um teor superior; na amostragem LS, verificam-se diferenças significativas entre os camarões da dieta D4 e os restantes tratamentos.

Excesso de ARA em ovos de caranguejos foi identificado como causa de aborto, pois apenas era detectado nos ovários de caranguejos que abortavam, também se considerou que afectavam o desenvolvimento da membrana do ovo dificultando a fixação dos ovos aos pleópodes (Ying *et al.*, 2006). Neste trabalho não foi possível averiguar se o

mesmo se verifica para *P. varians*, apenas salientamos que a dieta D4 é a única que apresenta um perfil elevado em ARA.

Na amostragem ES o conteúdo em EPA nos ovos dos camarões “selvagens” (D6), é significativamente superior ao observado nos camarões cultivados, com excepção da D1. Embora o conteúdo em EPA da dieta D1 não difira muito das restantes, principalmente da D4, o conteúdo nos ovos é muito elevado, aproximando-se mais do teor dos “selvagens” que das restantes dietas; na amostragem LS, apenas se verificam diferenças com os camarões da dieta D2, que apresentam o teor mais baixo. Os camarões “selvagens”, tal como os camarões da dieta D1, registam uma diminuição no conteúdo em EPA, enquanto nos outros tratamentos (D3, D4 e D5) se regista uma subida. Assim, todos os tratamentos à excepção do D2, apresentam alguma analogia. As dietas D1, D4 e D5 apresentam um perfil em EPA semelhante, que se reflecte nos ovos.

É de salientar que em todos os tratamentos o perfil em EPA nos ovos foi sempre superior ao conteúdo das dietas. Na dieta D2 esse resultado é mais acentuado porque o conteúdo na dieta era inexistente.

Na amostragem ES, os camarões “selvagens” (D6) apresentam um conteúdo em DHA significativamente superior aos camarões das dietas D2 e D4; na amostragem LS o conteúdo nos “selvagens” (D6) é significativamente inferior aos camarões da dieta D3 e D5. A redução da disponibilidade de DHA nas dietas pode traduzir-se na diminuição da fertilidade e na fecundidade das fêmeas, afectando a qualidade e quantidade de ovos, sem no entanto afectar a frequência de maturação (Wouters *et al.*, 1999).

Aparentemente o conteúdo em DHA presente na dieta D3 é suficiente para permitir que os ovos atinjam um perfil semelhante ao obtido nos camarões “selvagens” (D6), o conteúdo da dieta D5 parece ser excessivo, porque, embora os ovos apresentem um valor ligeiramente superior aos ovos da dieta D3, as diferenças não são significativas. Assim, o perfil em DHA a fornecer a esta espécie, deverá situar-se entre as dietas D1 e D3, o que em termos de produção pode traduzir-se numa dieta mais equilibrada e económica.

Ao longo do ensaio os camarões cultivados apresentaram um aumento no teor em EPA e DHA, enquanto os camarões “selvagens” (D6) apresentaram uma descida.

A acumulação de EPA e DHA nos ovos dos camarões cultivados, pode dever-se à capacidade que os crustáceos apresentam de fazer uma utilização selectiva dos ácidos gordos (Rosa *et al.*, 2007), ou seja, embora nalgumas dietas, os HUFA estejam a ser fornecidos sem constrangimentos, não são utilizados, ou são utilizados parcialmente como fonte de energia, sendo canalizados para a reprodução e embriogénese (Babu, 1987).

A variabilidade de HUFA nas dietas provoca diferentes relações DHA/EPA (Tabela 4 e Fig.26). Na amostragem ES, os camarões “selvagens” D6 apresentam diferenças significativas com os camarões das dietas D3, D4 e D5; na amostragem LS, apresentam diferenças significativas com os camarões das dietas D2, D3 e D5. Ao longo de todo o ensaio, os camarões da dieta D1 apresentaram uma relação DHA/EPA semelhante aos camarões “selvagens”, o mesmo aconteceu para os camarões da dieta D2 na amostragem ES. Apesar de não terem apresentado bons resultados no geral, estas dietas permitiram alguma sobrevivência, e alguma fecundidade (embora muito reduzida), o que poderá estar relacionado com a similaridade entre estas dietas e os camarões “selvagens”. O baixo valor obtido para os camarões “selvagens”, nas duas amostragens, parece indicar que esta espécie não é muito exigente em DHA, pelo que o aporte de DHA das dietas D3 e D5 poderá ser excessivo como parecem demonstrar os maus resultados da dieta D3.

6.3.2. Dinâmica lipídica na embriogénese de *P. varians*

Na dinâmica lipídica embrionária, ou seja, na utilização e consumo de ácidos gordos no decurso do desenvolvimento embrionário de *P. varians*, não se verificam diferenças significativas no tratamento D6, quando se consideram os lípidos agrupados em função do número de ligações (ver Tabela 5). No entanto quando analisamos alguns PUFA verificam-se algumas alterações.

Considerando apenas a amostragem “early spring”, (na “late spring” não se obteve material biológico suficiente para efectuar replicados nas análises bioquímicas), verifica-se que existe um consumo significativo de linoleico e linolénico, e uma acumulação significativa de EPA e DHA, ao longo do desenvolvimento embrionário.

Nos camarões cultivados, observa-se nos ovos de camarão da dieta D3 um consumo significativo de MUFA, enquanto nos ovos de camarão da dieta D2 verifica-se uma acumulação de HUFA que aumenta significativamente ao longo da embriogénese (Fig. 25).

Na amostragem LS verificam-se diferenças significativas nas dietas D1 e D2 (Tab. 5). Nos ovos de camarão da dieta D1, verifica-se um consumo de MUFA (Tab. 5), e uma acumulação de HUFA (EPA e DHA) ao longo da embriogénese. Nos ovos dos camarões da dieta D2 continua a verificar-se a acumulação de HUFA, principalmente no teor em EPA. A utilização preferencial de MUFA é referida em alguns estudos sobre embriogénese de decápodes (Rosa *et al.*, 2005).

Pode afirmar-se, que de um modo geral, quando existe acumulação de EPA e DHA (mesmo sem ser significativo), existe paralelamente um decréscimo de linolénico (Fig. 25). Verifica-se, principalmente na dieta D1, de modo mais acentuado em “late spring”, que existe um elevado consumo de linolénico, ao longo da embriogénese, enquanto se verifica uma acumulação significativa de EPA e DHA.

Estudos com peneídeos, sugerem uma razão n-3/n-6 de 2:1, 3:1 para *L. vannamei* (Wouters *et al.*, 2001), embora estejamos a trabalhar com outra família de crustáceos, os resultados obtidos para o tratamento D6 apresentam valores semelhantes. Nos camarões cultivados, a dieta D1 apresentou alguma proximidade aos camarões “selvagens”, contudo não foi suficiente para que esta dieta fosse um sucesso. Provavelmente alguns dos desequilíbrios das dietas estejam na relação n-3/n-6.

O consumo de PUFA C18 e a acumulação de PUFA C20 e C22, como já tinha sido verificado em estudos anteriores num palaemonídeo tropical (Wehrtmann & Graeve, 1998), pode ainda indicar que *P. varians* como espécie eurihalina, pode utilizar os PUFA de modo semelhante às espécies de água doce, que podem substituir, para algumas funções, PUFA C20 e C22 por PUFA C18 (Ying *et al.*, 2006).

Parece verificar-se em todos os tratamentos uma utilização selectiva de ácidos gordos. *P. varians* parece demonstrar ter capacidade para utilizar no consumo energético da embriogénese, ácidos gordos de que dispõe em abundância, quer porque são fornecidos na dieta quer porque os podem biossintetizar, permitindo canalizar os essenciais e pouco abundantes para funções determinantes (Rosa *et al.*, 2007).

O elevado teor em HUFA apresentado pelos ovos no estado 3 de desenvolvimento embrionário, ou seja numa fase pré-eclosão, tem como consequência uma grande independência do meio externo, o que em teoria aumenta as probabilidades de

sobrevivência das larvas (Wehrtmann & Graeve, 1998), o que é característico de uma espécie como *P. varians* que vive num habitat de grande variabilidade ambiental.

7. Considerações Finais

Todas as dietas com exceção da D2 atingiram teores de EPA e DHA próximos de 10-20%. No entanto, a utilidade das dietas deve ser asseverada pela sobrevivência e estado fisiológico dos organismos.

Na amostragem ES, as dietas D3, D4 e D5 pareciam indicar bons resultados, enquanto as dietas D1 e D2 apresentavam já uma mortalidade permanente, o que indiciava problemas. A partir do 3º mês de ensaio, um pouco antes da amostragem LS, os camarões da dieta D3 começaram a registrar mortalidade e no final do ensaio, apenas as dietas D4 e D5 proporcionaram melhores resultados gerais. Apresentaram as melhores sobrevivências, maior fecundidade (maior percentil de fêmeas ovígeras), a dieta D5 apresentou o melhor resultado em relação ao comprimento (CC), e no geral os camarões exibiram até ao final do ensaio um bom estado geral. Após 5 meses de um regime alimentar artificial, estes camarões continuaram a exibir uma condição física saudável (coloração natural, a rigidez da carapaça era normal, o hepatopâncreas apresentava uma consistência firme), pelo que consideramos que estas duas dietas apresentaram os melhores resultados gerais. Antagonicamente, os camarões das dietas D1, D2 e D3, principalmente na D2, exibiam uma aparência débil, uma coloração esbranquiçada, e uma carapaça pouco rígida. Reprodutores de *L. vannamei* exaustos apresentam baixos níveis de cálcio e magnésio no músculo (Wouters *et al.*, 2001).

É de destacar que mesmo as dietas com piores resultados, apresentaram sobrevivências de 20% o que em aquacultura de novas espécies e num ensaio tão longo, não pode ser considerado um resultado totalmente mau. No entanto é necessário salvaguardar que no final do ensaio e para todos os tratamentos, a fecundidade foi muito reduzida, donde se poderá concluir que em qualquer das dietas, principalmente as dietas D1, D2 e D3, os adultos reprodutores apresentavam um baixo *fitness*. Embora a presença de HUFA, nomeadamente EPA e DHA sejam considerados essenciais para a maturação das gónadas, fecundação e embriogénese, os nossos resultados parecem indicar que existem outros factores a considerar, pois as várias dietas continham diferentes teores destes ácidos gordos. Também, não podemos excluir que outros factores populacionais possam ter exercido outros condicionalismos na regulação da actividade reprodutora.

A dieta D4 apresenta menor conteúdo em DHA que a D5, o que se reflecte nos ovos, o que aparentemente parece não causar estrangimentos, talvez porque o teor em HUFA nos ovos dos camarões da dieta D4 é ligeiramente superior. Os camarões da dieta D4 apresentam uma razão DHA/EPA baixa, muito ARA e EPA e pouco DHA; a dieta D5 apresenta uma razão DHA/EPA elevada, pouco ARA e EPA e muito DHA (Fig. 23). Seria necessário obter larvas dos dois tratamentos para aferir algum efeito no desenvolvimento larvar. No entanto pelo perfil observado nos camarões “selvagens” D6, consideramos que a dieta D5 excede os requisitos em DHA para esta espécie.

O perfil em ARA nos ovos dos camarões parece sofrer de outras influências para além das dietas. O conteúdo em ARA da dieta D5 é sensivelmente metade da D4 e, no entanto o conteúdo observado nos ovos não difere muito dos restantes tratamentos sendo até inclusivamente inferior à D1 que, embora com diferenças significativas, é o tratamento que mais se aproxima do valor obtido para os camarões “selvagens” (D6) (Fig. 22).

O aumento do teor em linolénico, assim como a diminuição em EPA e DHA observado nos ovos dos camarões “selvagens” na amostragem LS, pode dever-se a alterações no padrão de alimentação. O índice de carnivoría é sensivelmente o mesmo nas duas amostragens (0,56 e 0,46), mas a qualidade nutricional das presas pode ser diferente.

A Ria Formosa é um sistema lagunar de elevada produtividade primária e como todos os sistemas semelhantes das regiões temperadas, apresenta um característico *bloom* de Primavera, que ocorre entre Fevereiro e Abril, em função de condicionalismos atmosféricos e oceanográficos tais como as correntes marítimas, a temperatura do ar e da água, os ventos, a intensidade da insolação, ou a salinidade. No final de Maio, é possível que o *bloom* de fitoplâncton já tenha sido consumido e que conseqüentemente a riqueza nutricional das presas disponíveis seja inferior. A diminuição da relação n-3/n-6 na amostragem LS (Fig. 21) parece confirmar esta hipótese (as fontes terrestres são mais abundantes em ácidos gordos da família n-6, (Cavalli *et al.*, 1999).

Embora não tenhamos dados sobre a dieta dos camarões “selvagens” (D6), podemos admitir que o teor em HUFA observado nos ovos seja reflexo directo da dieta, porque mesmo assumindo uma taxa de biossíntese elevada e eficiente, os precursores PUFA C18, observados não seriam em quantidade suficiente para que se atingisse os elevados teores observados. A falta de replicados na amostragem LS não nos permite segurança mas, podemos considerar que, uma vez que os valores obtidos nos ovos em estado 1 (onde temos triplicados) foram muito inferiores aos obtidos na amostragem

anterior, o aporte de DHA já não seja do alimento directamente mas das reservas lipídicas das fêmeas.

Se mesmo sem o aporte de EPA e DHA da dieta, na embriogénese os ovos em estado 3 conseguem atingir os mesmos teores que na amostragem anterior (Fig. 25), é porque a utilização selectiva dos lípidos na embriogénese por parte de *P. varians* atinge um elevado grau de eficiência.

Embora estudos anteriores indiquem que a biossíntese de lípidos em crustáceos é muito reduzida, para que possa contribuir significativamente no aumento das reservas nos ovários e das reservas vitelinas, existe alguma controvérsia (Mourente, 1996). Os nossos resultados parecem indicar que *P. varians*, terá uma capacidade mais elevada que a verificada para outros decápodes.

Assim se poderá explicar a existência de HUFA nos ovos dos camarões da dieta D2, e a dinâmica lipídica dos camarões selvagens.

Nos camarões da dieta D2, verifica-se na amostragem LS, um decréscimo no teor em linolénico, (quando o aporte terá sido o mesmo, pois o regime alimentar foi mantido), que poderá ter sido canalizado para a síntese de HUFA n-3, existindo um aumento do teor em DHA (Fig.24).

Nos camarões selvagens, o aumento do teor em linolénico na amostragem LS, pode ter compensado a diminuição em HUFA (Fig.25).

É também possível, como já se referiu, que parte da disponibilidade destes HUFA se deva maioritariamente à capacidade de utilização selectiva dos ácidos gordos ou por utilização das reservas dos próprios tecidos.

Independentemente do modo como o conseguem, *P. varians* promove uma elevada disponibilidade de HUFA no embrião, permitindo às larvas recém-eclodidas uma maior independência do meio, o que pode ser uma vantagem adaptativa, uma vez que vivem em habitats de grande variabilidade ambiental.

Esta capacidade torna esta espécie muito interessante para Aquacultura pois permite alguma maleabilidade na formulação e no fornecimento de alimentos. No entanto poucos estudos descrevem o metabolismo dos lípidos durante a embriogénese (Wehrmann & Graeve, 1998), o que dificulta a interpretação dos nossos resultados, sendo necessário proceder a mais ensaios, com diferenças nutricionais de maior amplitude, de modo a chegar a um resultado mais conclusivo. Talvez uma dieta interessante a estudar

no futuro seria a mistura entre as dietas D1, D4, D5, em diferentes proporções, utilizando também a D2, como forma de diminuição dos custos

Paralelamente, a facilidade de cultivo e elevada resistência ao manejo faz-nos considerar que esta é uma espécie com potencial para exploração, podendo ser bastante interessante como cultivos paralelos ou policultura (com a devida separação física), utilizando os excedentes de ração dos outros cultivos. A optimização da sua produção poderá também, permitir que se torne numa alternativa económica e ecologicamente viável a outras fontes de proteínas e ácidos gordos marinhos.

Esperamos com este trabalho ter despertado o interesse pelo cultivo desta espécie, despoletando outros trabalhos. Foi possível constatar que esta espécie pode ser mantida por vários meses alimentada com dietas relativamente baratas e acessíveis, pelo que seria interessante continuar esta linha de investigação. Consideramos ainda, que esta espécie pode ser muito importante para Portugal, pois permite desenvolver uma nova área de aquacultura, com as vantagens económicas inerentes a um produto cujo mercado da procura/oferta não está saturado. A diversificação da produção possibilita a criação de nichos de mercado, onde não existe ainda competição, como se verifica no caso da piscicultura, nomeadamente de dourada. Saliemos ainda que este cultivo pode ser efectuado utilizando excedentes de outros cultivos, e também não menos importante permite recuperar os complexos salineiros, que se encontram actualmente em degradação.

A preservação das salinas apresenta claras vantagens para os restantes intervenientes no sistema. Portugal encontra-se numa posição geográfica que funciona como uma “plataforma giratória” na rota migratória de inúmeras espécies de aves. Muitas destas aves voam milhares de quilómetros (desde a Europa do Norte e de Leste, ao continente Africano), pelo que, quando chegam a Portugal encontram-se muito desgastadas, podendo morrer se não encontram zonas de descanso e alimentação. Assim o território português é de elevada importância para a manutenção de um património biológico mundial que embora seja global, temos a responsabilidade de assegurar.

Ao longo dos anos, as inúmeras salinas que existiam em todo o território continental, foram sendo desactivadas, por variadas razões. Actualmente, uma grande maioria dessas zonas que dependiam da gestão que a actividade humana propiciava para se manterem, foram evoluindo para outros sistemas, particularmente pela ausência dos fluxos de água, que originaram um assoreamento do que anteriormente eram os tanques e os canais, formando zonas de terreno hipersalino, praticamente estéreis.

O cultivo de camarinha pode então, fomentar a recuperação de antigas salinas, que com uma gestão adequada, contribuem para a preservação de hectares de zonas húmidas de extrema importância ecológica, nomeadamente na preservação das aves.

8. Referências Bibliográficas

- Aguzzi, J.; Cuesta, J.; Librero, M.; Toja, J. 2005. Daily and seasonal feeding rhythmicity of *Palaemonetes varians* (Leach 1814) from southwestern Europe. *Marine Biology* 148, 141-147;
- Babu, DE. 1987. Observations on the embryonic development and energy source in the crab *Xantho bidentatus*. *Marine Biology* 95, 123-127;
- Barnes, R. 1980. Invertebrate Zoology. 4th edition. Saunders College. Philadelphia. 1089pp;
- Bray, W.; Lawrence, A. 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. In “Marine Shrimp Culture: Principles and Practices” (Fast, A., Lester, L.J. (Eds.), pp. 93–170. Elsevier, Amsterdam;
- Calado, R.; Narciso, L. 2002. Camarões e Lagostas da Costa Continental Portuguesa. Prémio do Mar Rei D. Carlos 2000. Câmara Municipal de Cascais. 222pp;
- Calado, R.; Rosa, R.; Morais, S.; Nunes, M.L.; Narciso, L. 2005. Growth, survival, lipid and fatty acid profile of juvenile monaco shrimp *Lysmata seticaudata* fed on different diets. *Aquaculture Research* 205 (36), 493-504;
- Cavalli, R.; Lavens, P.; Sorgeloos, P. 1999. Performance of *Macrobrachium rosenbergii* broodstock fed diets with different fatty acid composition. *Aquaculture* 179, 387-402;
- Cheng, Y.X.; Du, N.S.; Lai, W. 1998. Lipid composition in hepatopancreas of Chinese mitten crab *E. sinensis* at different stages. *Acta Zool. Sin.* 44 (4), 420–429;
- Clarke, K.R.; Warwick, R.M. 2001. Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Plymouth;
- Clarke, K.R.; Gorley, R.N. 2006. *PRIMER v6: Users Manual/Tutorial PRIMER-E*. Plymouth;

- Cohen, Z., Von Shak, A., Richmond, A., 1988. Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red algae *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *J. Phycol.* 24, 328-332;
- Costantini, M.L., Rossi, L. 2001. Laboratory study of the grass shrimp feeding preferences. *Hydrobiologia* 443, 129–136;
- FAO. 2007. The State of World Fisheries and Aquaculture 2006. Food and Agriculture Organization of the United Nations – Fisheries and Aquaculture Department. Rome.180pp;
- Fincham, A. 1979. Larval development of British prawns and shrimps (Crustacea: Decapoda: Natantia). 2. *Palaemonetes (Palaemonetes) varians* (Leach, 1814) and morphological variation. *Bulletin of the British Museum (Natural History) (Zoology)* 35 (2), 127-200;
- GAIN Report Number: E40006. 2007. EU-27-Fishery Products. Annual Report – EU Policy&Statistics. USDA Foreign Agricultural Service, 23pp;
- Hickman, C.; Roberts, L., Larson, A. 1993. Integrated Principles of Zoology, 9th edition. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, 983pp;
- Kanazawa, A.; Teshima, S.; Sakamoto, M. 1985. Effects of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. *Aquaculture* 50, 39–49;
- Koven, W.; Kissil, G. 1984. Requirement for ω 3 polynsaturated fatty acids in the gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Special Publication of the European Mariculture Society* 8, 93-97;
- Legendre, L.; Legendre, P. 1984. Écologie Numérique. I. – Le traitement multiple des données écologiques. II – La structure des données écologiques. (2^{ème} ed.). Masson Ed. Paris. 335 pp;
- Leonard, A.; Pereira, S., Sprecher, H.; Huang, Y-S. 2004. Elongation of long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research* 43, 36-54;

- Lepage, G.; Roy, C.C., 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *J. Lipid Res.* 27, 114-119;
- Los, D. A.; Murata, N. 2004. Membrane fluidity and its role in the perception of environmental signals. *Biochem. Biophys. Acta.* 1666, 142-157;
- Mourente, G. 1996. In Vitro Metabolism of 4C-Polyunsaturated Fatty Acids in Midgut Gland and Ovary Cells from *Penaeus kerathurus* Forskål at the Beginning of Sexual Maturation. *Comp. Biochem. Physiol.* 115B (2), 255-266;
- Narciso, L. 1996. “Biologia e cultivo de alguns crustáceos marinhos, com especial ênfase para as fases larvares de *Artemia* sp. (Branchiopoda), *Penaeus kerathurus* e *Palaemon serratus* (Decapoda)”. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa para a obtenção do grau de Doutor, Lisboa. 468;
- Narciso, L. 1999. Aquaculture development: perspectives for the next decade. In “New Technologies and law of the marine environment” (Beurier J.P., Kiss, A., Mahmoudi, S., Eds), pp 41-52. Kluwer Law International, London;
- Pousão-Ferreira, P. 2006. “Ácidos gordos essenciais na cadeia alimentar para a larvicultura de peixes marinhos”. Provas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar. IPIMAR, Lisboa, 271pp
- Purves, W. K. ; Sadava, D. ; Orians, G. H. ; Heller, H. C. 2001. Life – The Science of Biology, 6ª edição, W. H. Freeman and Company, U.S.A. 1044pp;
- Racotta, I.; Palacios, E.; Ibarra, A. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. *Aquaculture* 227, 107–130;
- Rainuzzo, J.; Reitan, K.; Olsen, Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103-116;
- Rodriguez, F.; Barroso, F; e Galindo, M. 1993. Estudio biometrico y morfologico de los huevos de *Palaemonetes varians* (Leach) de dos localidades del sudoeste espanol. *Limnetica* 9, 67-72;

- Rosa, R.; Nunes, M.L. 2002. Biochemical changes during the reproductive cycle of deep-sea decapod *Nephrops norvegicus* on the south Portuguese coast. *Marine Biology* 141(6), 1001–1009;
- Rosa, R.; Nunes, M.L. 2003. Tissue biochemical composition in relation to the reproductive cycle of deep-sea decapod *Aristeus antennatus* in the south Portuguese coast. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 83, 963–970;
- Rosa, R.; Calado, R.; Narciso, L.; Nunes, M.L. 2007. Embryogenesis of decapod crustaceans with different life history traits, feeding ecologies and habitats: a fatty acid approach. *Marine Biology* 151 (3), 935-947;
- Smaldon, G. 1979. British Coastal Shrimps and Prawns. Academic Press Inc. London. 123pp;
- Solomons, T. 1997. Fundamentals of Organic Chemistry. 5th edition. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1068pp;
- Tacon, A. 1989. Nutrition y Alimentacion de Peces y Camarones Cultivados. Manual de Capacitacion. Documento de Campo n° 4. Programa Cooperativo Gubernamental GCP/RLA/102/ITA. FAO. Brasilia.;
- Taggart, J.; Bron, J.; Martin, S.; Seear, P.; Høyheim, B.; Talbot, R.; Carmichael, S.; Villeneuve, L.; Sweeney, G.; Houlihan, D.; Secombes, C.; Tocher, D.; Teale, A. 2008. A description of the origins, design and performance of the TRAITS–SGP Atlantic salmon *Salmo salar* L. cDNA microarray. *Journal of Fish Biology* 72, 2071–2094;
- Tocher, D.; Bendikse, E.; Campbell, P.; Gordon Bell, J. 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture* 280, 21-34;
- Voet, D.; Voet, J. 1995. Biochemistry. 2nd edition. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1361pp;
- Xu, X.L.; Ji, W.J.; Castell, J.D. 1994. Essential fatty acid requirement of the Chinese prawn, *Penaeus chinensis*. *Aquaculture* 127, 29–40;

- Wehrtmann I.S.; Graeve, M. 1998. Lipid composition and utilization in developing eggs of two tropical marine caridean shrimps (Decapoda: Caridea: Alpheidae: Palaemonidae). *Comp. Biochem. Physiol. B.* 121, 457-463;
- Wouters, R.; Gómez, L.; Lavens, P.; Calderón, J. 1999. Feeding enriched Artemia biomass to *Penaeus vannamei* broodstock: its effect on reproductive performance and larval quality. *J. Shellfish Res.* **18** (2), 651–656;
- Wouters, R.; Lavens, P.; Nieto, J.; Sorgeloos, P. 2001. Penaeid shrimp broodstock nutrition: an updated review on research and development. *Aquaculture* 202, 1-21;
- Ying, X.P.; Yang, W.X.; Zhang, Y.P. 2006. Comparative studies on fatty acid composition of the ovaries and hepatopancreas at different physiological stages of the Chinese mitten crab. *Aquaculture* 256, 617-623;

Anexos

Anexo I – Composição relativa em ácidos gordos (%) nos ovos de *P. varians* no estado de desenvolvimento embrionário 1 (E1) e 3 (E3), na amostragem *early spring*.

	D1 - <i>Artemia</i>		D2 - Coelho		D3 - S. One		D4 - Poliqueta		D5 - AquaS2		D6 – “Selvagens”	
	E1	E3	E1	E3	E1	E3	E1	E3	E1	E3	E1	E3
14:0	1,25±0,345	1,53±0,068	0,69±0,208	0,85±0,110	1,79±0,345	1,45±0,097	1,57±0,167	2,06±0,421	2,07±0,708	1,67±0,271	2,17±0,020	1,96±0,586
Iso 15:0	0,24±0,023	0,23±0,027	0,2±0,037	0,07±0,119	0,14±0,121	0,20±0,036	0,73±0,070	0,62±0,030	0,09±0,079	0,23±0,043		0,23±0,010
16:0	14,54±1,874	15,57±0,225	13,16±2,416	13,4±2,794	19,94±6,819	17,09±0,473	17,17±0,865	19,5±2,578	17,34±3,840	17,00±1,509	16,74±0,013	15,97±2,926
16:1n-7	3,12±0,693	3,33±0,082	1,97±0,580	1,96±0,125	5,90±0,465	4,27±0,564	12,13±1,266	9,98±2,037	4,13±0,883	2,94±0,433	8,35±0,612	6,44±0,078
16:1n-5	0,40±0,023	0,30±0,083	0,06±0,51		0,20±0,176	0,26±0,073	1,16±0,086	1,17±0,185	0,25±0,052	0,13±0,123		
17:1n-8	0,10±0,087				0,16±0,006	0,16±0,032	0,39±0,043	0,21±0,203	0,08±0,071	0,04±0,067		0,04±0,055
16:4n-3		0,09±0,134										
18:0	5,29±0,515	4,99±0,011	3,98±0,390	3,96±0,999	4,21±0,792	4,80±0,314	4,62±0,721	5,33±0,576	3,86±0,113	5,17±0,575	4,34±0,040	4,78±0,582
18:1n-9	21,14±0,742	17,40±1,662	23,69±1,312	19,7±1,663	22,50±1,0424	18,74±0,946	14,88±0,641	13,72±0,462	19,35±0,960	16,72±0,998	14,98±0,096	11,46±1,638
18:1n-7	4,06±3,421	4,28±3,448	3,45±0,227	4,04±0,583	6,30±0,010	6,41±0,302	7,02±0,373	7,98±0,286	4,75±0,408	5,74±0,552	8,34±0,336	8,07±0,440
18:1n-5	0,07±0,130										0,31±0,015	
18:2n-6	10,78±0,442	10,11±0,080	33,6±3,371	21,34±2,886	11,23±0,711	10,41±0,338	2,84±0,401	3,33±0,395	16,45±0,892	14,26±0,502	5,75±0,082	3,68±0,917
IS	6,91±1,840	12,25±7,777	9,93±4,259	18,63±12,327	7,25±3,951	12,60±1,300	6,58±6,597	4,05±2,795	8,56±6,167	8,35±6,340	5,83±0,555	12,7±13,261
18:3n-3	12,15±1,236	8,85±0,199	2,62±0,112	2,3±0,251	1,39±0,044	1,25±0,091	1,78±0,1459	1,86±0,096	2,11±0,131	1,84±0,041	2,87±0,36	2,08±0,138
18:4n-3			0,05±0,078		0,12±0,114	0,17±0,043	1,55±0,256	1,31±0,198	0,16±0,030	0,24±0,089		
20:1n-9		0,58±0,056	1,52±0,174	0,75±0,459	0,65±0,110	0,69±0,067	1,63±0,161	1,74±0,227	0,69±0,094	0,94±0,104	0,45±0,013	0,33±0,176
20:1n-7											0,16±0,222	0,13±0,188
20:2n-6											0,68±0,055	
20:4n-6	1,48±0,140	1,22±0,214	0,43±0,243	0,76±0,162	0,98±0,114	1,04±0,082	8,87±1,295	8,50±1,003	0,82±0,109	1,07±0,127	2,13±0,004	1,98±0,106
20:5n-3	13,98±1,839	13,48±1,413	3,15±1,591	7,48±2,122	9,58±1,062	11,43±1,396	11,84±1,929	12,41±1,266	10,69±1,0716	14,05±1,526	18,19±0,498	18,82±2,820
22:1n-11						0,07±0,122						
22:5n-3				0,11±0,108	0,28±0,257	0,15±0,265	2,78±0,584	2,31±0,688	0,50±0,104	0,13±0,220	1,90±0,123	1,56±0,669
22:6n-3	4,49±1,021	5,75±0,835	1,51±0,905	4,58±1,590	7,39±2,216	8,82±1,526	2,47±0,579	3,95±0,938	8,11±2,336	9,46±1,934	6,82±0,650	9,77±2,417
ΣSFA	21,08±2,147	22,08±0,304	17,83±2,322	18,22±3,886	25,94±7,64	23,34±0,682	23,36±1,359	26,88±2,905	23,27±4,581	23,84±2,170	23,25±0,073	22,71±4,093
ΣMUFA	28,89±3,025	25,94±5,394	30,68±1,498	26,52±2,579	35,70±0,958	30,59±1,357	37,21±2,152	34,79±1,863	29,24±2,269	26,52±2,100	32,59±0,399	26,48±2,091
ΣPUFA	42,88±2,471	39,50±2,714	41,36±0,635	36,57±7,083	30,97±3,327	33,27±2,852	32,13±4,791	33,65±4,188	38,83±4,001	41,06±3,520	38,34±0,880	37,88±7,067
ΣHUFA	19,95±2,830	20,45±2,462	5,09±2,739	12,93±3,953	18,23±3,209	21,44±3,064	25,96±4,170	27,16±3,836	20,11±4,246	24,71±3,352	27,71±1,322	32,13±6,011
Σn-3/Σn-6	2,50±0,074	2,49±0,198	0,22±0,100	0,65±0,087	1,54±0,261	1,91±0,301	1,74±0,081	1,84±0,050	1,25±0,256	1,68±0,217	3,48±0,119	5,70±0,038
DHA/EPA	0,32±0,032	0,43±0,017	0,47±0,041	0,61±0,046	0,76±0,173	0,77±0,054	0,21±0,016	0,32±0,044	0,75±0,099	0,67±0,067	0,37±0,025	0,52±0,051
EPA/ARA	9,53±1,754	11,16±0,799	7,39±0,425	9,72±0,682	9,76±0,091	10,97±0,555	1,34±0,118	1,46±0,067	13,07±0,563	13,21±1,359	8,55±0,252	9,50±0,918
FAME	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Anexo II – Composição relativa em ácidos gordos (%) nos ovos de *P. varians* no estado de desenvolvimento embrionário 1 (E1) e 3 (E3), na amostragem *late spring*.

	D1 - <i>Artemia</i>		D2 - Coelho		D3 - S. One		D4 - Poliqueta		D5 - AquaS2		D6 – “Selvagens”	
	E1	E3	E1	E3	E1	E3	E1	E3	E1	E3	E1	E3*
14:0	0,73±0,075	0,69±0,305	0,48±0,017	0,59±0,157	1,86±0,621	1,13±0,280	1,51±0,122	0,41±0,584	1,35±0,042	1,76±0,062	2,99±0,805	2,44
Iso 15:0	0,13±0,115	0,08±0,117	0,05±0,008	0,05±0,007	0,10±0,022	0,11±0,016	0,18±0,008	0,11±0,149	0,04±0,060	0,05±0,065	0,40±0,069	0,30
16:0	10,77±0,357	14,68±5,494	12,56±0,678	13,90±4,128	18,05±2,320	13,9±2,492	19,08±0,589	15,97±4,281	14,88±1,049	16,13±0,526	16,61±1,996	16,10
16:1n-7	1,61±0,018	1,09±0,456	2,64±1,034	1,68±0,650	5,38±0,622	3,82±1,949	11,49±0,432	7,65±1,896	2,73±0,122	2,44±0,046	8,52±1,564	6,09
17:1n-8	0,02±0,032		0,01±0,015		0,17±0,007			0,27±0,073	0,14±0,016		1,49±0,060	0,35
17:0							0,38±0,028					
18:0	5,01±1,636	6,13±1,146	4,71±0,300	4,52±0,491	5,14±0,709	4,77±0,974	5,44±0,573	5,80±1,261	4,74±0,256	4,02±0,311	5,84±0,234	5,95
18:1n-9	20,35±2,771	12,91±2,785	22,52±0,276	20,01±0,210	23,53±0,090	17,61±5,799	14,91±1,110	12,08±2,673	19,43±0,339	16,73±0,155	16,73±0,980	15,54
18:1n-7	6,03±1,198	5,08±1,434	4,07±0,141	3,97±0,379	6,30±0,313	6,13±1,271	7,23±0,107	6,94±1,564	4,51±0,031	4,97±0,104	7,73±0,459	7,92
18:1n-5							0,3±0,010	0,26±0,072	0,16±	0,08±0,108	0,08±0,113	
18:2n-6	8,40±1,913	4,33±0,929	30,27±2,058	39,94±1,614	11,92±0,110	9,03±1,973	3,37±0,470	2,55±0,705	17,17±0,664	14,40±0,115	10,24±0,180	9,86
IS	15,00±14,539	26,55±18,552	14,24±1,323	8,85±5,830	4,80±0,494	20,22±16,275	5,05±1,383	17,09±15,731	4,79±0,679	7,25±3,595	5,48±3,389	6,87
18:3n-3	16,69±3,444	6,16±0,980	1,67±0,111	2,03±0,054	1,30±0,023	0,9±0,285	1,85±0,107	1,45±0,446	2,03±0,059	1,54±0,005	4,54±0,143	3,74
18:4n-3		0,4±0,045	0,02±0,031						0,14±0,203	0,19±0,031		
20:1n-9	0,06±0,089			0,04±0,054	0,06±0,092	0,25±0,348	0,59±0,344	0,38±0,115	1,08±0,049	0,76±0,108	0,99±0,137	0,57
20:1n-7			0,58±0,030			0,06±0,083	0,37±0,020					
20:2n-6										0,98±0,018	0,35±0,059	0,65
20:4n-6	0,99±0,305	1,41±0,324	0,44±0,074	0,71±0,403	0,98±0,097	0,83±0,188	9,83±0,773	8,42±1,481	0,87±0,027	2,79±2,721	2,53±0,182	6,87
20:4n-3							0,22±0,001	0,15±0,008	0,53±0,029	0,38±0,068	0,53±0,029	0,42
20:5n-3	10,13±2,088	12,97±2,393	3,09±0,499	5,27±0,748	11,02±1,385	10,57±0,005	12,57±0,338	13,17±1,047	12,85±0,684	13,27±0,460	11,17±0,504	12,03
22:1n-11							0,35±0,042					
21:5n-3					0,54±0,041							
22:5n-3	0,18±0,037		0,05±0,069	0,08±0,108		0,46±0,161	2,54±0,128	2,23±0,326	0,76±0,171	0,51±0,038	0,35±0,140	0,34
22:6n-3	3,84±0,788	7,53±2,144	2,60±0,558	3,37±0,826	8,83±0,503	10,15±1,252	2,75±0,150	5,06±0,448	11,78±0,733	11,76±0,722	3,44±1,181	3,97
ΣSFA	16,50±1,919	21,5±6,946	17,74±0,395	19,01±4,776	25,04±2,232	19,79±3,746	26,03±1,138	22,19±4,958	20,97±1,346	21,91±0,899	25,44±2,566	24,49
ΣMUFA	28,14±4,160	19,08±4,675	29,83±0,573	25,69±0,765	35,45±0,134	27,86±8,754	35,062±1,288	27,58±6,163	28,06±0,396	24,97±0,313	35,54±2,812	30,47
ΣPUFA	40,23±8,575	32,79±6,815	38,14±2,283	46,40±0,281	34,60±1,894	32,02±3,758	33,12±0,051	33,03±4,461	46,14±1,124	45,83±4,116	33,15±2,058	37,87
ΣHUFA	15,14±3,218	21,91±4,861	6,18±0,083	9,43±1,280	20,83±1,986	22,02±1,597	27,91±0,414	29,03±3,310	26,8±1,644	29,7±4,027	18,37±2,095	24,28
Σn-3/Σn-6	3,29±0,101	4,72±0,062	0,24±0,012	0,30±0,066	1,68±0,149	2,28±0,337	1,51±0,054	2,03±0,197	1,56±0,153	1,54±0,172	1,53±0,145	1,18
DHA/EPA	0,38±0,000	0,57±0,059	0,87±0,321	0,64±0,067	0,80±0,055	0,96±0,119	0,22±0,006	0,38±0,004	0,92±0,008	0,89±0,024	0,31±0,092	0,33
EPA/ARA	10,34±1,070	9,25±0,426	6,95±0,027	9,16±6,233	11,22±0,298	12,99±2,925	1,28±0,135	1,58±0,153	14,69±0,321	8,91±8,525	4,42±0,119	1,75
FAME	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

*Não houve material biológico suficiente para obter triplicados.