



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Cultivo do copépodo *Acartia tonsa* e sua utilização na larvicultura de robalo-flecha e carapeba

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutora em Aquicultura.

Orientador: Vinicius Ronzani Cerqueira

WANESSA DE MELO COSTA

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Costa, Wanessa de Melo

Cultivo do copépodo *Acartia tonsa* e sua utilização na  
larvicultura de robalo-flecha e carapeba / Wanessa de Melo  
Costa ; orientador, Vinicius Ronzani Cerqueira -  
Florianópolis, SC, 2013.

78 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-  
Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. *Acartia tonsa*. 3. Larvicultura. 4.  
*Centropomus undecimalis*. 5. *Eugerres brasiliensis*. I.  
Cerqueira, Vinicius Ronzani . II. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.  
III. Título.

**Cultivo do copépodo *Acartia tonsa* e sua utilização na larvicultura de robalo-flecha e carapeba**

Por

WANESSA DE MELO COSTA

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

**DOUTOR EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

---

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira – *Orientador*

---

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez

---

Dr. Hilton Amaral Júnior

---

Dr. Marcelo Borges Tesser

---

Dr. Ronaldo Olivera Cavalli



## **DEDICO**

Aos meus pais, à minha irmã Weruska e à minha irmã Waleska, (*in memoriam*). Família que me ensinou e me ensina muito sobre tantas coisas que nem sei explicar...



## AGRADECIMENTOS

Todo dia agradeço a Deus por ter a minha linda família, que me permite fazer as coisas que gosto e me apoia aonde quer que eu vá, embora viva com uma saudade infinita: meus pais Walter e Vera Lucia; minha irmã Weruska; meus sobrinhos Hérique e Luiz Henrique, minhas primas e minhas tias Walderez e Maria Emília.

E, neste momento de conclusão de mais uma etapa científica, agradeço ao professor Vinicius Ronzani Cerqueira por aceitar ser meu orientador.

Ao terminar a redação da tese, além do professor orientador, temos a necessidade de convidar outros professores para nos ajudar a avaliar o trabalho. Portanto, sou muito grata aos professores que se dispuseram a participar como membros da banca examinadora.

Durante o período do doutorado recebi apoio financeiro (bolsa de estudos) concedido pela Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por meio de um convênio entre a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) chamado Programa Amazônia Azul, no qual o professor Paulo Travassos foi coordenador, tendo, portanto, todo o meu agradecimento por esse apoio.

Agradeço imensamente aos professores do Departamento de Aquicultura da UFSC com os quais tive a oportunidade de estudar e que contribuíram para minha formação acadêmica.

Por dois anos participei como representante dos alunos no Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da UFSC, e gostaria de deixar o meu agradecimento aos professores membros do Colegiado, com os quais aprendi muito sobre tomada de decisões e outros assuntos acadêmicos.

Ofereço um agradecimento muito especial a Carlito Klunk, secretário do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura/UFSC, por todo o apoio ao longo do doutorado; por toda sua paciência em responder às mesmas perguntas de todos; por sua vontade de resolver os diversos problemas para não nos deixar prejudicados e por sua simpatia e profissionalismo.

Sou bastante agradecida também à professora Evelise Nazari, LABEmbrio CCB-BEG, pela gentileza em aceitar colaborar na síntese de um novo projeto, assim como devo agradecimentos aos amigos que fiz no LABEmbrio: Dib Ammar, Neide Armiliato, Manuela Cecchini, Karoline Kobus, Valquíria Cardoso, Eliane Zeni, Fabiana Ferreira e Gilian Bourckhardt.

Não posso deixar de agradecer a Claudia Costa (poix, poix!!!), da Universidade de Porto, que durante seu estágio no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) me ajudou bastante nos experimentos, concluídos ou não!!!

Alguns dos grandes amigos que fiz, embora não tenham contribuído diretamente nesta pesquisa, me apoiaram em vários momentos importantes durante esses quatro anos: Maria do Carmo Gominho Rosa; Anita Rademaker Valença; Bruna Loureiro; Geovana Dotta; Pedro Alexandre Valentim Neto; Eduardo Gomes Sanches e eu não poderia nunca deixar de agradecê-los por tudo o que fizeram por mim, além, obviamente, da linda e sólida amizade que estabelecemos.

Outros amigos da pós-graduação, embora não tenham contribuído nesta pesquisa, estiveram em grande parte do doutorado participando das aulas comigo e nas confraternizações realizadas nas casas dos amigos em comum, por isso, agradeço a eles por todos esses momentos inesquecíveis: Roberto, Wesley, Katina, Cassio, Emílio, Marina, Juscilaine, Gabriela, Geovana, Eduardo, Bruna, Felipe...

Agradeço muito a Dona Cris, Maíra e Paula Magdaleno, pela amizade e por todo o apoio na “Maria da Toca”, minha casa por dois anos, na linda e tranquila Fortaleza da Barra...

A Gustavo Martínez, por me apoiar em diversos momentos, por sua compreensão e por me ajudar a suportar a distância entre nós...

É oportuno agradecer ao professor Mauro Mello Júnior, da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE) pela confirmação na identificação da espécie de copépodo objeto desse estudo: *Acartia tonsa*.

No início do doutorado tive uma ajuda muito importante da pesquisadora Marcia Vanacor quando comecei a cultivar os copépodos, pois ela também fez doutorado com essa mesma espécie. Obrigada!

Também deixo aqui um imenso agradecimento aos técnicos e funcionários do Laboratório de Moluscos Marinhos e Laboratório de Camarão Marinho, ambos da UFSC, em especial a Alexandre, Jaqueline Araújo e Rafael, pelo fornecimento de microalgas que me proporcionaram alimentar os copépodos no período da pesquisa.

Tenho a enorme satisfação de agradecer aos reprodutores de robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*, pois no meu penúltimo ano de doutorado estiveram dispostos a desovar pela primeira vez estando mantidos em cativeiro, no LAPMAR, e assim nos proporcionaram a alegria de trabalhar com as suas lindas larvas!!! Aproveito e agradeço às carapebas, *Eugerres brasilianus*, as quais também nos contemplaram com suas desovas e nos permitiram fazer a larvicultura neste doutorado. E, obviamente, agradeço aos copépodos *Acartia tonsa* que conseguimos

coletar, identificar, cultivar e nos ajudaram a alimentar as larvas, pois, sem eles, não haveria esta tese!

No último ano de doutorado fui aprovada no concurso da Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro-FIPERJ, como pesquisadora em produção de alimento vivo para fins de aquicultura e, portanto, devo agradecer aos meus superiores, Marco Botelho, Augusto Pereira e Bruna Loureiro, por permitir que eu terminasse a pesquisa, liberando-me por vários dias para que eu fosse à UFRJ, porém, infelizmente esta parte da pesquisa não foi concluída.

Agradeço a todos os pesquisadores, técnicos, funcionários e estagiários que conheci na FIPERJ e que tenho convívio diário: Beatriz Castelar, Luzia Triani, Silvia Reis, Marcelo Pontes, Felipe Landuci, Antonio Gomes Filho, Ricardo Martino, José Seixas, Marina Bez, Ricardo Soares, Rodrigo Barbosa, Philipe Seixas, Fernanda e Joselito!!!

A pesquisa científica dificilmente pode ser realizada sozinha. No meu caso, ao longo dos quatro anos, pude conhecer e conviver com várias pessoas maravilhosas, inteligentes, inesquecíveis e que contribuíram bastante para a execução deste trabalho e com as quais eu aprendi muito, sobre assuntos diversos. Nem todos estarão citados aqui, mas, não poderei deixar de agradecer todo o conhecimento que trocamos e todos os dias de convívio que nos tornaram amigos de verdade, acima de qualquer pesquisa. Vocês são especiais para mim: Cristina Avelar (saudades das nossas conversas sobre peixes, aquicultura, vida!!!); Gabriel Passini; Andressa Teles; Luiz Augusto Reis; Cibeli Silva; Felipe Landuci; Marcella Nunes; Ricardo Takeuchi; João Henrique Vargas; Scheila Dutra; Virgínia Silva; Beatriz Nunes; Anamaria Brüggemann; Lucas Guinle (e suas tortas deliciosas!!!); Fábio Sterelezcki; Marco Owatari; os técnicos e funcionários Israel Diniz Silva, Maicon Machado; Avair Oscar Angelo e Antônio Carlos Sayão e Salete que é quase uma segunda mãe e nos fazia ficar acordados com os seus cafés que foram degustados com muita alegria e descontração na cozinha do LAPMAR!!!



## RESUMO

A produção de juvenis de peixes marinhos depende do fornecimento de alimentos vivos durante a larvicultura. Pesquisas indicam que a qualidade das larvas de peixes dependerá da alimentação oferecida e esta qualidade aumenta quando se ofertam copépodos. Além disso, a alimentação atua na resistência das larvas ao estresse. Neste estudo foi avaliada a produção de náuplios de copépodos *Acartia tonsa* além da sobrevivência, crescimento e resistência ao estresse em larvas de duas espécies de peixes marinhos: *Centropomus undecimalis* (robalo-flecha) e *Eugerres brasilianus* (carapeba) alimentadas com diferentes organismos. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Piscicultura Marinha da Universidade Federal de Santa Catarina. Adultos de *A. tonsa* foram coletados, identificados, isolados e cultivados com diferentes espécies de microalgas: *Pavlova* sp., *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* e suas combinações, durante 8 dias, para quantificar a produção de náuplios. As larvas utilizadas no teste de estresse foram cultivadas em tanques de 100 L, numa densidade de 10 larvas L<sup>-1</sup> e alimentadas com rotífero *Brachionus plicatilis*; copépodo *Acartia tonsa* e com uma mistura (50% de cada um) destes organismos. A alimentação iniciou no 2º dia de idade para ambas as espécies e seguiu até o 19º dia de idade para robalo-flecha e até o 15º dia de idade para carapeba. No último dia de cada experimento, as larvas foram submetidas ao teste de estresse. As larvas de robalo-flecha sofreram estresse térmico causado pelo aumento abrupto de 10º C na temperatura a qual estavam sendo cultivadas. O estresse causado nas larvas de carapeba foi exposição ao ar, por 10 s. Para comparar o número de náuplios produzido nos diferentes tratamentos e para avaliar se houve efeito da alimentação no peso úmido e comprimento total das larvas foram avaliadas previamente a normalidade (Shapiro-Wilks) e homocedasticidade (Levene) das amostras e, em seguida, realizada análise de variância (ANOVA). Os dados de porcentagem de sobrevivência foram transformados em *arcsen* para serem analisados por ANOVA. Os dados de insuflação da vesícula gasosa e flexão da notocorda foram transformados em porcentagem para serem analisados por ANOVA. Quando os dados demonstraram diferenças significativas, utilizou-se teste de Tukey para determinar a discrepância entre eles. Utilizou-se o teste não-paramétrico  $\chi^2$  para comparação da sobrevivência (%) pós-estresse entre os tratamentos. Primeiramente foi realizado o teste com uma tabela de contingência 3x2 e ao perceber diferenças significativas, utilizaram-se tabelas 2x2 para encontrar as

diferenças. Todas as análises foram realizadas com  $\alpha=0,05$ . A produção de náuplios de *A. tonsa* é maior quando a alimentação é realizada com a microalga *C. muelleri*. O comprimento total das larvas de robalo-flecha foi maior no tratamento misto ( $9,1\pm 0,23$  mm). O comprimento total das larvas de carapeba foi significativamente menor nas larvas em jejum. Os demais tratamentos não diferiram entre si. O peso úmido das larvas de robalo-flecha foi maior no tratamento misto ( $7,5\pm 0,00$  mg). A insuflação da vesícula gasosa teve porcentagem mais alta nas larvas alimentadas com náuplios de *A. tonsa*, unicamente. Todas as larvas de robalo-flecha flexionaram a notocorda. Em ambos os experimentos de estresse, as larvas alimentadas com a mistura rotífero+náuplio de *A. tonsa* alcançaram resistência ao estresse superiores aos demais tratamentos ( $87,36\pm 0,03\%$  para robalo-flecha e  $88,9\pm 0,55\%$  para carapeba), indicando que a mistura dos organismos proporciona resultados satisfatórios quando comparados à dieta composta unicamente por rotíferos.

Palavras-chave: copépodo; larvicultura; *Centropomus undecimalis*; *Eugerres brasiliensis*; peixe marinho; estresse

## ABSTRACT

The production of juvenile marine fish depends on the supply of live food for larval culture. Research indicates that the quality of fish larvae will depend upon the food provided and this quality increases when copepods are offered and, moreover, the feeding of larvae operates in resistance to stress. In this study we evaluated the production of *Acartia tonsa* copepod nauplii, survival, growth and stress resistance in the larvae of two species of marine fish: *Centropomus undecimalis* (common snook) and *Eugerres brasiliensis* (Carapeba) fed different organisms. The experiments were carried out in the Laboratory of Marine Fish Culture of the Federal University of Santa Catarina. Adults of *A. tonsa* were collected, identified, isolated and cultured with different species of microalgae: *Pavlova* sp, *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis galbana* and their combinations for 8 days, to quantify the production of nauplii. The larvae used in the stress test were grown in 100 L tanks at a density of 10 larvae L<sup>-1</sup> and fed rotifers *Brachionus plicatilis*; copepod *Acartia tonsa* and a mixture (50% each) of these organisms. Food began in the 2nd day of age for both species and lasted up to 19 days of age for common snook larvae and until day 15 of age to carapeba larvae. On the last day of each experiment, larvae were subjected to the stress test. Common snook larvae suffered thermal stress caused by the sharp rise of 10 °C in temperature that were being grown. The stress of the carapeba larvae was exposure to air during 10 s. To compare the number of nauplii produced in different treatments and to evaluate whether there was an effect of feeding on the wet weight and the total length of the larvae was evaluated previously normality (Shapiro-Wilks) and homocedasticidadede (Levene) samples and then, analysis of variance (ANOVA). The percentage of survival data were transformed into arcsin and analyzed by ANOVA. The data of functional gas bladder and notochord flexion were converted to percentages for the ANOVA analysis. When the data showed significant differences, the Tukey test used to determine the discrepancy between them. We used a nonparametric test  $\chi^2$  to compare survival (%) after the stress between treatments. The test was conducted with a 3x2 contingency table and noticed significant differences was used 2x2 tables to find the differences. All analyzes were performed with  $\alpha = 0.05$ . Production of nauplii of *A. tonsa* is higher when the supply is made to the microalgae *C. muelleri*. The total length of common snook larvae was higher in the mixed treatment ( $9.1 \pm 0.23$  mm). The total

length carapeba larvae was significantly lower on starvation. The other treatments did not differ. The wet weight of common snook larvae was higher in the mixed treatment ( $7.5 \pm 0.00$  mg). The functional gas bladder percentage was higher in larvae fed nauplii of *A. tonsa* only. All common snook larvae had notochord flexion. In both stress experiments, larvae fed mix rotifers+*A. tonsa* nauplii reached stress resistance than other treatments ( $87.36 \pm 0.03\%$  for common snook and  $88.9 \pm 0.55\%$  for carapeba) indicating that the mixture gives satisfactory results compared to diet composed only of rotifers.

**Key words:** copepod; larviculture; *Centropomus undecimalis*; *Eugerres brasiliensis*; marine fish; stress

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
1.1.	ESPÉCIES UTILIZADAS PARA A PESQUISA .....	20
1.1.1.	<i>Isochrysis galbana</i> e <i>Pavlova</i> sp.....	21
1.1.2.	<i>Chaetoceros muelleri</i> .....	21
1.1.3.	<i>Nannochloropsis oculata</i> .....	21
1.1.4.	<i>Brachionus plicatilis</i> .....	22
1.1.5.	<i>Acartia tonsa</i> .....	22
1.1.2.	<i>Centropomus undecimalis</i> .....	23
1.1.3.	<i>Eugerres brasiliensis</i> .....	25
	CAPÍTULO I (REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS).....	26
	PRODUÇÃO DE NÁUPLIOS DE <i>ACARTIA TONSA</i> POR ADULTOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS .....	26
	PRODUCTION OF <i>ACARTIA TONSA</i> NAUPLII BY ADULTS FED DIFFERENT MICROALGAE SPECIES .....	26
	RESUMO.....	26
	ABSTRACT .....	27
	INTRODUÇÃO.....	28
	MATERIAL E MÉTODOS .....	29
	LOCAL E DURAÇÃO DO EXPERIMENTO.....	29
	OBTENÇÃO DOS COPÉPODOS ADULTOS DE <i>A. TONSA</i> .....	29
	ALIMENTAÇÃO DOS COPÉPODOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	29
	VARIÁVEIS AMBIENTAIS .....	30
	CONTAGEM DOS NÁUPLIOS .....	30
	CONCLUSÃO.....	33
	AGRADECIMENTOS.....	33
	LITERATURA CITADA .....	33
	CAPÍTULO II (AQUACULTURE INTERNATIONAL).....	37
	RESUMO.....	37
	ABSTRACT .....	38
	INTRODUÇÃO .....	39
	MATERIAL E MÉTODOS .....	41
	INDUÇÃO DA DESOVA E OBTENÇÃO DE LARVAS .....	41
	ALIMENTO VIVO.....	41
	LARVICULTURA .....	42
	AMOSTRAGENS .....	43
	TESTE DE ESTRESSE - CHOQUE TÉRMICO.....	43
	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
	AGRADECIMENTOS.....	47
	REFERÊNCIAS.....	48

CAPÍTULO III (AQUACULTURE) .....	54
RESUMO .....	54
ABSTRACT .....	55
1. INTRODUÇÃO .....	56
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	58
2.1. MANUTENÇÃO E INDUÇÃO DA DESOVA DOS REPRODUTORES DE CARAPEBA .....	58
2.2. COLETA DOS OVOS DE CARAPEBA .....	58
2.3. ALIMENTO VIVO .....	58
2.4. LARVICULTURA .....	59
2.5. TESTE DE ESTRESSE .....	61
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	61
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61
AGRADECIMENTOS .....	64
REFERÊNCIAS .....	64
CONCLUSÕES GERAIS .....	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO .....	70

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil, embora possua mais de 8000 km de costa e diversas espécies de peixes com potencial para criação em cativeiro, ainda não participa das estatísticas mundiais de produção de peixes marinhos e estuarinos. Porém, Brasil e Peru foram os países da América do Sul que, em 2010, mostraram forte e contínuo crescimento em termos de aquicultura, em relação aos países da América do Norte, por exemplo, (FAO, 2012), ressaltando o seu potencial para a produção.

Desde a década de 1990, o Laboratório de Piscicultura Marinha da Universidade Federal de Santa Catarina vem obtendo sucesso com um programa para desenvolver tecnologia de criação de duas espécies de peixes da família Centropomidae (robalo-peva *Centropomus parallelus* e robalo-flecha *C. undecimalis*) (Cerqueira e Tsuzuki, 2009).

Atualmente, no Brasil, além dos trabalhos com os centropomídeos (Cerqueira et al., 2002; Corrêa e Cerqueira, 2007, 2008; Soligo et al., 2011), existem trabalhos experimentais sobre diferentes aspectos da criação de tainha (*Mugil platanus*); pampo (*Trachinotus marginatus*); linguado (*Paralichthys orbignyanus*) (Sampaio e Bianchini, 2002); peixe-rei (*Odontesthes argentinensis*) (Rodrigues et al., 2009); garoupa (*Epinephelus marginatus*) (Sanches et al., 2007); cioba e ariocó (*Lutjanus analis* e *L. synagris*) (Souza Júnior et al., 2008; Freitas et al., 2011) e carapeba (*Eugerres brasilianus*) (Passini et al., 2011).

Alguns estados do Nordeste e Sudeste do Brasil como Bahia, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Rio de Janeiro e São Paulo iniciaram pesquisas, a partir de 2004, com criação do peixe marinho beijupirá *Rachycentron canadum*, porém diversas espécies de peixes de importância comercial podem ser cultivadas, desde que haja, de preferência, tecnologia desenvolvida para sua criação, tomando como exemplo a aquicultura continental, na qual, segundo Godinho (2007), pelo menos 40 espécies de peixes brasileiras são cultivadas, representando apenas 1,5% de suas espécies conhecidas.

Robalos peva e flecha e beijupirá foram produzidos por diversos laboratórios no Brasil. A Bahia Pesca/BA; Aqualider/PE; Maricultura Pandini/ES; Laboratório Nacional de Maricultura-LANAM/SP; REDEMAR Alevinos/SP; Aquatec/RN; Camanor/RN e Maricultura Itapema produziram beijupirá e o Laboratório de Piscicultura Marinha-LAPMAR-UFSC/SC; Centro de Produção e Propagação de Organismos Marinhos-CPPOM/PR; Instituto de Pesca/SP; Maricultura Pandini e o Estaleirinho/SC produziram robalo-peva (Cavalli, 2012) e este último

também já produziu alevinos de robalo-flecha (Pitz, 2009), por meio da Danúbio Aquacultura. Porém, ainda são escassas informações sobre as espécies nativas de peixes marinhos, principalmente nas fases iniciais, em condições de criação, o que pode causar morosidade no desenvolvimento comercial.

A produção de formas jovens de peixes marinhos depende do fornecimento de alimentos vivos durante a larvicultura (Cahu e Zambonino Infante, 2001) porque eles aumentam o consumo alimentar, estimulam a secreção enzimática, resultando em crescimento contínuo e boa sobrevivência (Chang et al., 2006). Além disso, a produção é influenciada pelo regime alimentar e qualidade nutricional da primeira dieta, sendo os lipídios um dos mais importantes fatores nutricionais que afetam o crescimento e a sobrevivência das larvas (Watanabe et al., 1983; Fleeger, 2005).

Organismos como microalgas, trocóforas de ostras, rotíferos, copépodos e *Artemia* sp. são os mais utilizados como alimento vivo na larvicultura de peixes marinhos. Os microcrustáceos têm uma ampla gama de tamanhos desde ovo até adultos. Rotíferos e copépodos mostram-se mais eficientes como alimento vivo (Hoff e Snell, 2004). Porém, os copépodos, além de serem pequenos o suficiente para a fase crítica da alimentação dos estágios iniciais das larvas (Su et al., 2005) não necessitam de prévio enriquecimento em emulsões lipídicas, diferentes dos rotíferos e metanúplios de *Artemia franciscana* (Lavens e Sorgeloos, 1996; Støttrup et al., 1999; Knuckey et al., 2005) que são deficientes em ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e ácido araquidônico (ARA, 20:4n-6), essenciais ao desenvolvimento sadio das larvas e os quais precisam estar disponíveis na sua dieta.

Os copépodos são a principal fonte de alimento para larvas de peixes marinhos no ambiente natural (Shansudin et al., 1997) e são nutricionalmente eficazes na larvicultura, por serem fonte de vitamina C e E; astaxantina (van der Meeren et al., 2008); proteína (Vengadeshperumal et al., 2010); lipídios (EPA e DHA) e ARA (Watanabe et al., 1983); carboidratos e enzimas (amilase, protease, exonuclease e esterase), essenciais para a sobrevivência; crescimento; digestão; metamorfose das larvas (Støttrup, 2000); desenvolvimento do sistema nervoso central; manutenção da estrutura e função da membrana celular; desenvolvimento e funcionamento da visão e tolerância ao estresse (Bromage e Roberts, 1995; Sargent et al., 1997).

Outras vantagens dos copépodos citadas por Álvarez-Lajonchère e Hernández-Molejón (1998) são os movimentos que constituem um

estímulo visual para as larvas; o alto conteúdo energético; o predomínio dos fosfolipídios mais que os triglicerídeos e níveis enzimáticos que podem desenvolver um importante papel durante a nutrição larval.

Além disso, copépodos têm passagem mais lenta pelo intestino das larvas de peixes do que *Artemia* spp., o que leva a uma digestão mais completa e a absorção mais eficiente de nutrientes (Pedersen, 1984). Segundo Munilla-Moran et al. (1990), isso pode acontecer porque os copépodos tem conteúdo maior de enzimas digestivas do que a *Artemia* spp.

Os náuplios de copépodo *A. tonsa* são utilizados na alimentação de larvas de peixes como *Gadus morhua*, *Lutjanus johnii* e *L. argentimaculatus* (Støttrup e McEvoy, 2003), porque possuem aproximadamente 65  $\mu$ m sendo, portanto, eficazes para a primeira alimentação (Schipp et al., 1999). Este fato é importante, pois Yúfera e Darias (2007) constataram que é no início da alimentação exógena que a larva vive um momento crucial, pois ao término das reservas vitelinas, se houver privação alimentar ou ingestão de alimento com qualidade inapropriada, haverá redução drástica na sobrevivência.

Apesar da qualidade nutricional dos copépodos como alimento vivo para a piscicultura ser reconhecida, o número de estudos disponíveis na literatura é reduzido e com limitações, visto que os métodos de criação são caracterizados como extensivos ou semi-intensivos, com organismos capturados do ambiente natural e estocados em tanques ao ar livre (Bersano, 2002), o que pode aumentar o risco de contaminação por parasitas (Støttrup, 2000). Além disso, a criação ainda se encontra em escala experimental (Knuckey et al., 2005; Sedlacek e Marcus, 2005; Peck e Holste, 2006), muito embora já exista uma patente para a criação de copépodos em larga escala, com tecnologia desenvolvida pela empresa norueguesa AKVA, para a criação do atum *Thunnus thynnus*, na Espanha (Mispeces, 2011).

Peixes subnutridos não sobrevivem em condições extremas, diferente dos peixes nutridos adequadamente (Watanabe et al., 1983). Portanto, garantir uma boa alimentação inicial dos peixes resulta em melhores condições nutricionais e, conseqüentemente, na resistência ao estresse, pois na larvicultura intensiva o estresse dos animais pode ser considerado uma constante (Luz, 2007; Poltronieri et al., 2008).

O ARA e o EPA estão envolvidos na reação fisiológica ao estresse e pode ser que a relação ideal de EPA:ARA encontrada nos copépodos permita que as larvas de peixes lidem melhor com as condições de estresse (McEvoy e Sargent, 1998).

O DHA mantém a estrutura e a integridade funcional da

membrana biológica devido a sua conformação única, permitindo rápidas mudanças na estrutura das proteínas de membrana e o EPA e o ARA são precursores dos eicosanóides, grupo de hormônios de grande atividade biológica (Plante et al., 2007). A produção de eicosanóides está associada a situações de excessivo estresse, onde uma grande produção de eicosanóides tem sido correlacionada com condições patológicas (Sargent et al., 1999). O DHA e o EPA, em peixes marinhos, são os ácidos graxos polinsaturados mais importantes das membranas celulares e o ARA é o principal precursor das prostaglandinas e por isso também é considerado essencial (Castell et al., 1994).

A resposta ao estresse pode representar uma ferramenta de grande importância para seleção dos melhores indivíduos para a aquicultura, sobretudo aqueles criados em sistemas intensivos de produção comercial (Lima et al., 2006).

Ao expor o peixe a um agente estressor, dois eixos neuroendócrinos são ativados: o eixo hipotálamo-sistema nervoso simpático-células cromafins (HSC), resultando na liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) como produtos finais, e o eixo hipotálamo-hipófise-interrenal (HHI), que libera os corticosteróides (cortisol e cortisona) (Oba et al., 2009).

As respostas ao estresse são divididas em: primárias – ativam os centros cerebrais, liberando catecolaminas e corticosteroides; secundárias – aumentam o débito cardíaco e a capacidade de transporte de oxigênio e terciárias – que se estendem para o nível de organismo e populacional, apresentando efeitos como inibição do crescimento, da reprodução e da resposta imune, além da capacidade de tolerância a agentes estressores adicionais (Oba, et al., 2009).

Considerando as vantagens nutricionais dos copépodos para larvas de peixes marinhos, inferimos que estas serão mais resistentes ao estresse durante a larvicultura quando alimentadas com náuplios de *A. tonsa* se comparadas às larvas alimentadas apenas com rotíferos.

### 1.1. ESPÉCIES UTILIZADAS PARA A PESQUISA

As espécies utilizadas para realizar a presente pesquisa foram: microalgas *Isochrysis galbana*, *Pavlova* sp., *Chaetoceros muelleri*, *Nannochloropsis oculata*; rotífero *Brachionus plicatilis*; copépodo

*Acartia tonsa* e os peixes robalo *Centropomus undecimalis* e carapeba *Eugerres brasilianus*.

#### 1.1.1. *Isochrysis galbana* e *Pavlova* sp.

São algas marinhas pertencentes à Divisão Prymnesiophyta (=Haptophyta), classe Prymnesiophyceae, ordem Isochrysidales e família Isocrysidaceae. São algas flageladas unicelulares e formas vegetativas solitárias ou coloniais não flageladas que possuem estádios flagelados em alguma parte do seu ciclo de vida (Lourenço, 2006). A característica mais marcante do grupo é uma estrutura em forma de fio, conhecida como haptonema, normalmente situada entre os dois flagelos típicos (Lourenço, 2006). Apresentam características de interesse para a aquicultura como a presença de ácidos graxos altamente insaturados, pequeno tamanho, crescimento rápido e fácil digestão pelos animais, portanto são utilizadas mundialmente na alimentação de estágios iniciais de moluscos, peixes e crustáceos (Chen, 2003; Lourenço, 2006).

#### 1.1.2. *Chaetoceros muelleri*

Algas unicelulares marinhas pertencentes à classe Bacillariophyceae, ordem Centrales e família Chaetoceraceae, sendo conhecidas como “diatomáceas”. As frústulas silicosas são as principais características morfológicas distintivas das diatomáceas, pois representam caráter importante na sua classificação devido aos detalhes de forma e ornamentação (Lourenço, 2006). As células das diatomáceas variam de 2,0 µm (picoplâncton) a 2,0 mm de diâmetro (mesoplâncton) (Lourenço, 2006). Diversas espécies de diatomáceas são cultivadas para uso na alimentação de organismos marinhos de interesse comercial na aquicultura, por apresentarem alto valor nutricional e facilidade de cultivo. O alto valor nutricional das diatomáceas deriva, em parte, da presença de ácidos graxos poli-insaturados (como o ácido eicosapentaenoico) em altas concentrações (Lourenço, 2006).

#### 1.1.3. *Nannochloropsis oculata*

Pertencem à classe Eustigmatophyceae, ordem Eustigmatales e família Monopsidacea. São células pequenas (2 a 32 µm), com parede celular rígida (Lourenço, 2006). São utilizadas na aquicultura pela facilidade de cultivo, pequeno tamanho, velocidade de crescimento acentuada e alto valor de ácidos graxos poli-insaturados (Lourenço, 2006).

#### 1.1.4. *Brachionus plicatilis*

O rotífero *B. plicatilis* é um habitante cosmopolita de águas salinas e salobras costeiras. Tolerância a uma notável variedade de condições ambientais e, especialmente em lagos alcalinos, podem alcançar altas densidades populacionais (Walker, 1981). Dentre os rotíferos planctônicos filtradores, *B. plicatilis* é considerado polífono e não-seletivo (Walker, 1981).

O sucesso da criação de peixes ósseos marinhos, em várias partes do mundo, pode ser atribuído à cultura em massa de rotíferos *B. plicatilis* e *B. rotundiformis*, pois esses são organismos utilizados como primeiro alimento de fases iniciais de crustáceos, peixes e moluscos (Dhert et al., 2001; Lubzens et al., 2001; Cheng et al., 2004).

Embora seja tecnicamente possível produzir rotíferos de alto valor nutritivo, a sua qualidade é, muitas vezes, longe da ideal (Dhert et al., 2001). A relação custo-benefício da produção de biomassa de rotíferos baseia-se na utilização de uma fonte de alimento mais barata e explica por que a levedura de pão foi e ainda é utilizada como uma dieta importante (Dhert et al., 2001). Porém, sabe-se que os rotíferos alimentados com levedura são deficientes nutricionalmente para as larvas de peixes marinhos (Lubzens et al., 2001).

Culture Selco<sup>®</sup> (CS) é a dieta mais utilizada para rotíferos porque possui concentrações significativas de DHA e EPA. Uma vez que o uso de CS permite o enriquecimento direto dos rotíferos, sem a necessidade de um tratamento de bioencapsulação, dietas complementares como Protein Selco<sup>®</sup> e DHA Culture Selco<sup>®</sup> foram lançadas, a fim de incorporar níveis mais elevados de proteína e DHA. São várias as vantagens do enriquecimento direto: o perfil de ácidos graxos obtido é estável e reprodutível; o teor de lípidos é comparável ao obtido no zooplâncton selvagem; perdas de rotíferos são mais baixas e custos de trabalho podem ser reduzidos (Dhert et al., 2001).

#### 1.1.5. *Acartia tonsa*

Os copépodos da Ordem Calanoida, como *A. tonsa*, são predominantemente pelágicos, ocorrendo em todas as profundidades. São seletivos, alimentando-se de fitoplâncton por filtração, ou predadores, alimentando-se de diversas presas animais e até ovos de copépodos (Dussart e Defaye, 2001) citados por Støttrup e McEvoy (2003).

*A. tonsa* é predominante em áreas costeiras e estuarinas, ocorrendo em várias regiões do globo e tem como vantagem ser muito

resistente, pode ser encontrada durante todas as estações do ano, classificada, portanto, como eurialina e euritérmica (Montú, 1980).

Esta espécie libera os seus ovos diretamente na coluna d'água, principalmente durante a noite (Cervetto et al., 1993) e o gênero produz entre 11 e 50 ovos por fêmea por dia (Støttrup e McEvoy, 2003).

Os métodos de criação desta espécie são caracterizados por sistemas extensivos ou semi-intensivos, nos quais os copépodos são coletados no ambiente natural e estocados em tanques deixados ao ar livre (Molejón e Alvaréz-Lajonchère 1998). Embora estes sistemas possam render resultados satisfatórios, eles estão sob a influência de variáveis externas como variações meteorológicas inesperadas e contaminações por micro-organismos nocivos que podem não ser controladas e provocar um colapso nas populações de copépodos, comprometendo todo o processo de larvicultura (Bersano, 2002).

O sistema de criação para *A. tonsa* apresentado por Støttrup et al. (1986) inicia com indivíduos de *A. tonsa* coletados no meio natural e isolados em laboratório. Esses indivíduos são criados continuamente nos tanques base (de 200 L) que tem como função fornecer ovos e náuplios para os tanques de despesca (de 450 L), dos quais são retirados os copépodos para a larvicultura. A produção obtida nesse sistema foi relativamente baixa (média de 185 náuplios L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>).

No método apresentado por Schipp et al. (1999), os copépodos também são coletados do meio ambiente, porém não são isolados sob microscópio, sendo vários organismos zooplancônicos capturados conjuntamente com os copépodos, inclusive rotíferos. Para separar os demais organismos zooplancônicos dos copépodos, os autores utilizam um tanque de enxague, onde a saída de água se dá por um cilindro central revestido com malha de 190 µm de abertura. Após duas horas de enxague, o sistema retém adultos de *Acartia* spp., com os quais se iniciam as criações. O sistema consiste de tanques-estoque (100 L), onde os copépodos são mantidos para iniciar criações maiores, e de tanques de criação (1000 L), para concentrar náuplios, copepoditos e adultos por oito dias, antes de serem transferidos para os tanques de larvicultura. Esse sistema alcançou uma média de 250 náuplios L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, valor superior ao encontrado por Støttrup et al. (1986).

### 1.1.2. *Centropomus undecimalis*

Os robalos pertencem à Ordem Perciformes, família Centropomidae, com ocorrência nos Oceanos Atlântico e Pacífico, sendo seis espécies em cada Oceano (Rivas, 1986). São considerados

peixes de alta qualidade, com aceitação de mercado, e algumas espécies atingem até 130 cm de comprimento total (Orrell, 2002).

Peixes do gênero *Centropomus* ainda não são cultivados comercialmente, mas algumas espécies como robalo-flecha *C. undecimalis* e robalo-peva *C. parallelus* têm qualidades atraentes para a aquicultura (Cerqueira e Brugger, 2001). Por apresentarem alto valor comercial, eles despertam grande interesse entre pescadores e ribeirinhos que os capturam, muitas vezes, antes da primeira maturação sexual (Barroso et al., 2005).

*C. undecimalis* vem sendo estudado nos Estados Unidos, no México e no Brasil, pois dentre as espécies do gênero *Centropomus* é a que apresenta maiores taxas de crescimento, podendo atingir 450 g em 1 ano de criação (Alvarez-Lajonchère, 2004) e, segundo Cerqueira e Tsuzuki (2009), poderia ser cultivada em tanque-rede, reservatórios, em canais de fazenda de camarão e nos viveiros destas.

Espécies de Centropomidae habitam águas costeiras rasas, estuários e lagoas salobras, que penetram frequentemente em locais de água doce (Orrell, 2002). São peixes de desova parcial, com alta fecundidade, alcançando mais de 1 milhão de óvulos por Kg de fêmea (Cerqueira, 2005). O robalo-flecha é diádromo, eurialino e estuarino-dependente (Rivas, 1986) e habita sistemas estuarinos tropicais e subtropicais do Atlântico ocidental (Taylor et al., 2000). É considerado euritérmico, contudo, sabe-se que sua temperatura mínima letal está por volta de 10 °C. A faixa ótima de temperatura situa-se entre 25 e 30 °C (Cerqueira, 2004).

Na larvicultura, a taxa de sobrevivência de *Centropomus* sp. é normalmente baixa e a maior incidência de mortalidade ocorre na primeira semana como consequência da dificuldade de adaptação ao primeiro alimento (Seiffert et al., 2001).

A literatura sobre trabalhos com larvas de *C. undecimalis* é muito escassa. A primeira descrição de larvas do gênero *Centropomus*, criadas em laboratório, foi realizada por Lau e Shafland em 1982.

O Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR/UFSC) pesquisa, desde a década de 1990, o robalo-peva *C. parallelus* e o robalo-flecha *C. undecimalis*, porém até o ano de 2011 só havia alcançado reprodução em cativeiro do robalo-peva. No final do ano de 2011 obteve sucesso na desova de reprodutores de robalo-flecha mantidos em cativeiro, portanto, esta pesquisa é resultado da primeira larvicultura desta espécie no Brasil.

### 1.1.3. *Eugerres brasilianus*

Peixes da família Gerreidae são abundantes em lagoas costeiras tropicais e subtropicais, com algumas espécies marinhas, que penetram nos estuários durante seu ciclo de vida, enquanto outras são restritas à água doce ou encontradas em praias arenosas (Figueiredo e Menezes, 1980; Carvalho Filho, 1992; Gilmore Jr. e Greenfield, 2002).

Os integrantes desta família caracterizam-se pela presença de uma boca altamente protusível, podendo ser estendida para capturar presas no substrato (Austin, 1971; Cyrus e Blaber, 1984).

Os gerreídeos possuem importância na alimentação, na pesca comercial, artesanal e esportiva, sendo criados, sobretudo na região nordeste, em sistemas de policultivo com tainhas e robalos (Gaspar e Cervigón, 1987; Araújo e Santos, 1999; Aguirre-León e Diaz-Ruiz, 2000).

A carapeba, como é conhecida popularmente a espécie *E. brasilianus*, é a integrante da família Gerreidae que alcança maior tamanho, podendo medir até 40 cm, com tamanho médio de 25 cm (Figueiredo e Menezes, 1980). *E. brasilianus* é muito comum em todo o litoral brasileiro, sendo mais abundante na região Sudeste (Figueiredo e Menezes, 1980; Gaspar e Cervigón, 1987).

Até o momento, o único estudo sobre aspectos da biologia reprodutiva de *E. brasilianus* foi realizado por Eiras-Stofella e Fanta (1991). A caracterização macro e microscópica dos ovários durante o ciclo reprodutivo foi estudada por Silva et al. (2005). Sobre reprodução induzida e criação em cativeiro de peixes selvagens, há apenas o trabalho realizado por Alvarez-Lajonchère et al. (1996).

Considerando todas as vantagens que os náuplios de copépodo apresentam para a alimentação de larvas de peixes e considerando a importância comercial das espécies robalo-flecha *C. undecimalis* e carapeba *E. brasilianus* para a aquicultura, o objetivo deste trabalho foi utilizar náuplios copépodo *A. tonsa* na alimentação de larvas de robalo-flecha e carapeba, avaliando a oferta desse alimento como fator de aumento à tolerância do estresse larval, proporcionando conhecimento sobre estas duas espécies nativas que são alternativas para a piscicultura marinha no Brasil.

Os capítulos desta tese estão de acordo com as normas das revistas científicas às quais serão submetidos: Revista Brasileira de Ciências Agrárias-RBCA (Qualis B3), Aquaculture International (Qualis B1) e Aquaculture (Qualis A2).

## CAPÍTULO I (REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS)

### PRODUÇÃO DE NÁUPLIOS DE *ACARTIA TONSA* POR ADULTOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS<sup>1</sup>

#### PRODUCTION OF *ACARTIA TONSA* NAUPLII BY ADULTS FED DIFFERENT MICROALGAE SPECIES

Wanessa de M. Costa<sup>2,3</sup>, Cristina V. A. de Carvalho<sup>3</sup>, Cláudia A. P. Costa<sup>4</sup>, Vinicius R. Cerqueira<sup>3</sup>

<sup>2</sup>Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ), Av. das Américas, 31.501, Guaratiba, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Piscicultura Marinha, Serv. dos Coroas, s/n, Barra da Lagoa, Florianópolis-SC, Brasil

<sup>4</sup>Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, s/n, Porto, Portugal

E-mails: [wanessademelo@gmail.com](mailto:wanessademelo@gmail.com); [cvacarvalho@gmail.com](mailto:cvacarvalho@gmail.com); [claudia\\_costa\\_15@hotmail.com](mailto:claudia_costa_15@hotmail.com); [vrqueira@cca.ufsc.br](mailto:vrqueira@cca.ufsc.br)

### RESUMO

Esta pesquisa avaliou a produção de náuplios de copépodos *Acartia tonsa* por adultos alimentados com três espécies de microalgas: *Pavlova* sp., *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* e suas combinações. Os tratamentos foram: A - 100 000 cél mL<sup>-1</sup> de *Pavlova* sp.; B - 100 000 cél mL<sup>-1</sup> de *C. muelleri*; C - 100 000 cél mL<sup>-1</sup> de *I. galbana*; D - 50 000 cél mL<sup>-1</sup> de *Pavlova* sp. + 50 000 cél mL<sup>-1</sup> de *C. muelleri*; E - 50 000 cél mL<sup>-1</sup> de *Pavlova* sp. + 50 000 cél mL<sup>-1</sup> de *I. galbana*; F - 50 000 cél mL<sup>-1</sup> de *C. muelleri* + 50 000 cél mL<sup>-1</sup> de *I. galbana* e G - controle (inanição). Os copépodos adultos foram mantidos por oito dias em

---

<sup>1</sup> Apoio: CAPES

recipientes de 500 mL (350 mL de volume útil) na densidade de  $0,2 \text{ mL}^{-1}$ . Os resultados de produção de náuplios foram submetidos à ANOVA ( $\alpha=5\%$ ). A dieta B foi a que apresentou maior número de náuplios ao final do experimento ( $500,33 \pm 90,74$ ). Os demais tratamentos produziram em média 240 náuplios e não diferiram significativamente entre si. Os resultados sugerem que a produção de náuplios de *A. tonsa* é maior quando a alimentação é realizada com a microalga *C. muelleri*.  
Palavras-chave: alimentação, copépodo, zooplâncton

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the production of copepod nauplii of *Acartia tonsa* adults fed three species of microalgae: *Pavlova* sp, *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis galbana* and their combinations. Copepods were subjected to treatments: A - 100 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  of *Pavlova* sp.; B - 100 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  of *C. muelleri*; C - 100 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  *I. galbana*; D - 50 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  of *Pavlova* sp. + 50 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  *C. muelleri*; E - 50 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  of *Pavlova* sp. + 50 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  of *I. galbana*; F - 50 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  *C. muelleri* + 50 000 cells  $\text{mL}^{-1}$  of *I. galbana* and G - control (starvation). The copepods were maintained for eight days in containers of 500 mL (350 mL working volume) and a density of  $0.2 \text{ mL}^{-1}$ . The results were analyzed using analysis of variance with a  $\alpha = 5\%$ . Diet B showed the highest production at the end of the experiment ( $500.33 \pm 90.74$ ). The other treatments produced an average of 240 nauplii and do not differ significantly from each other. The results suggest that the production of nauplii *A. tonsa* is greater when the supply is made with the microalga *C. muelleri*.

Key words: feeding, copepod, zooplankton

## INTRODUÇÃO

Copépodos são componentes importantes da cadeia alimentar marinha, especialmente como ligações entre os produtores primários e os peixes (Jones et al., 2002). Além de constituírem o alimento natural das larvas de peixes, são ricos em ácidos graxos altamente insaturados (ácido docosaexaenóico e ácido eicosapentaenóico, respectivamente DHA e EPA, siglas em inglês) (Norsker & Støttrup, 1994), fosfolipídeos e antioxidantes naturais, alcançando, portanto, um valor nutricional superior aos alimentos vivos tradicionalmente utilizados na piscicultura marinha: rotíferos e náuplios de *Artemia* sp. (Sargent et al., 1997; Støttrup & Nosker, 1997).

Copépodos Calanoida, por serem pelágicos, tornam-se mais disponíveis como presas para larvas de peixes marinhos, e passam por estágios naupliares nos quais são mais facilmente capturados pelas larvas de peixes com pequena abertura de boca na primeira alimentação (Støttrup, 2000; Drillet et al., 2007; Olivotto et al., 2008).

Entre os calanóides, *Acartia tonsa* tem sido utilizado para a alimentação de larvas de peixes e cultivado com sucesso por muitas gerações em laboratório (Støttrup & Norsker, 1997), porém alcança baixas densidades quando em criação em larga escala, embora atualmente já exista uma patente para a criação de copépodos em larga escala, com tecnologia desenvolvida por uma empresa norueguesa, para a criação do atum (*Thunnus thynnus*), na Espanha (Mispesces, 2011).

A alimentação de copépodos *A. tonsa* cultivados é realizada com espécies de microalgas como *Rhodomonas* (Støttrup & Norsker, 1997); *R. baltica*, *Isochrysis galbana*, *Heterocapsa triquetra* e *Thalassiosira weissflogii* (Støttrup et al., 1999); *I. galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *T. fluviatilis* e *Nannochloropsis oculata* (Kaminski, 2004; Kaminski e Montú, 2005); *Akashiwo sanguinea* (Sedlacek & Marcus, 2005); *Rhodomonas* sp. (Peck & Holste, 2006); *R. salina* e *R. lens* (Marcus & Wilcox, 2007); *R. baltica* e *T. weissflogii* (Calliari et al., 2008); *I. galbana*, *T. weissflogii* e *C. muelleri* (Teixeira et al., 2010).

Embora existam diversos trabalhos relativos à alimentação de copépodos, é necessário estudar possibilidades alternativas para a criação em laboratório visando à manutenção dos copépodos adultos alimentados com as microalgas disponíveis na região e em baixa densidade.

Essa pesquisa objetivou avaliar a produção de náuplios de copépodos *Acartia tonsa* por adultos alimentados com três espécies de microalgas: *Pavlova* sp., *C. muelleri* e *I. galbana* e as combinações entre elas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### LOCAL E DURAÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR)/Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis-SC, em março de 2010, e teve duração de oito dias.

### OBTENÇÃO DOS COPÉPODOS ADULTOS DE *A. tonsa*

Os copépodos adultos utilizados na pesquisa foram coletados no viveiro do LAPMAR (abastecido por água da Lagoa da Conceição) por filtração em malha de 100  $\mu\text{m}$ , através de um sistema de airlift, durante 24 h. Após a coleta, os organismos foram identificados sob microscópio estereoscópico, isolados e cultivados em tanques de fibra de vidro com capacidade para 250 L. Foram realizadas cinco coletas para obtenção dos reprodutores selvagens.

### ALIMENTAÇÃO DOS COPÉPODOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A alimentação dos adultos de *A. tonsa* foi realizada uma única vez, no primeiro dia do experimento, e foi composta por três espécies de microalgas e suas combinações: *Pavlova* sp. e *I. galbana* (Prymnesiophyceae) e *C. muelleri* (Bacillariophyceae) (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração algal ( $\text{cél mL}^{-1}$ ) ofertada aos copépodos *A. tonsa*  
 Table 1. Algal concentration ( $\text{cells mL}^{-1}$ ) offered to the copepods *A. tonsa*

Tratamentos	Concentração algal ( $\text{cél mL}^{-1}$ )
A - <i>Pavlova</i> sp.	100 000
B - <i>Chaetoceros muelleri</i>	100 000
C - <i>Isochrysis galbana</i>	100 000
D - <i>Pavlova</i> sp. + <i>C. muelleri</i>	50 000 e 50 000
E - <i>Pavlova</i> sp. + <i>I. galbana</i>	50 000 e 50 000
F - <i>C. muelleri</i> + <i>I. galbana</i>	50 000 e 50 000
G - Sem alimento	0

As microalgas foram cultivadas com meio Guillard f/2 modificado, em salinidade 36, temperatura entre 19 °C e 21 °C e foram ofertadas aos copépodos na fase exponencial de crescimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, totalizando 21 unidades experimentais. Foram utilizados recipientes de 500 mL e uma densidade de 0,2 adultos de *A. tonsa* mL<sup>-1</sup>.

## VARIÁVEIS AMBIENTAIS

Os recipientes contendo os adultos de copépodo *A. tonsa* foram mantidos em banho termostatizado com temperatura de 25 °C. O fotoperíodo na sala experimental foi mantido em 24 h com lâmpada fluorescente tipo luz do dia, com média de 1300 lux, medidos com luxímetro. O oxigênio dissolvido (média de 6,35 ± 0,89 mg L<sup>-1</sup>) foi monitorado diariamente com sonda multiparâmetro. A salinidade da água do mar foi mensurada com refratômetro e foi mantida em 36, pois não houve renovação de água da criação. As variáveis estiveram dentro da faixa suportável pela espécie (Marcus & Wilcox, 2007).

## CONTAGEM DOS NÁUPLIOS

No oitavo dia de experimento, a contagem dos náuplios produzidos pelos adultos de cada tratamento foi realizada filtrando-se o conteúdo de cada recipiente por meio de uma malha com abertura de 150 µm para a separação dos copépodos adultos. Os náuplios que passaram através dessa malha foram fixados com lugol e levados ao microscópio estereoscópico para realização da contagem.

O número de náuplios produzidos ao fim de oito dias nos diferentes tratamentos foi submetido à análise de variância (ANOVA), precedida dos testes de normalidade (Shapiro-Wilks) e homogeneidade (Levene), com  $\alpha = 5\%$ . Para verificar a diferença entre as médias, utilizou-se o teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, houve diferenças significativas entre os tratamentos com três espécies de microalgas (Tabela 2). A dieta que apresentou maior produção de náuplios (1429,51 ± 90,74 L<sup>-1</sup>) foi 100 000 cél mL<sup>-1</sup> de *C. muelleri* (Tabela 2). Teixeira et al. (2010) ao testar a influência de diferentes espécies de microalgas na produção de ovos de

*A. tonsa* verificaram que *Thalassiosira weissflogi* obteve melhores resultados. Porém, esses autores afirmam que uma combinação de ao menos duas espécies de algas pode melhorar a produção de ovos de *A. tonsa*.

A produção de náuplios obtida com a combinação *I. galbana* + *C. muelleri* (Tabela 2) corroborou Ohs et al. (2010) os quais verificaram que *I. galbana*, quando utilizada sozinha ou conjuntamente com *Thalassiosira weissflogi*, foram as melhores dietas para *Pseudodiaptomus pelagicus*.

Tabela 2. Média e desvio padrão (DP) do número total de náuplios de *A. tonsa* produzidos por copépodos adultos alimentados com diferentes espécies de microalgas

*Table 2. Mean and standard deviation (SD) of the total number of nauplii A. tonsa produced by adult copepods fed with different species of microalgae*

Tratamentos	Náuplios L <sup>-1</sup> (média ± DP*)
A - <i>Pavlova</i> sp.	660,00 <sup>b</sup> ± 20,82
B - <i>C. muelleri</i>	1429,51 <sup>a</sup> ± 90,74
C - <i>I. galbana</i>	811,43 <sup>b</sup> ± 171,66
D - <i>Pavlova</i> sp.+ <i>C. muelleri</i>	562,86 <sup>b</sup> ± 27,78
E - <i>Pavlova</i> sp. + <i>I. galbana</i>	697,14 <sup>b</sup> ± 208,42
F - <i>C. muelleri</i> + <i>I. galbana</i>	705,71 <sup>b</sup> ± 109,86
G - Sem alimento	145,71 <sup>c</sup> ± 10,26

\*Desvio padrão

\*Standard deviation

<sup>a, b, c</sup> Letras diferentes sobrescritas indicam diferenças significativas

<sup>a, b, c</sup> Different letters superscript indicate significant differences

*A. tonsa* atinge um desenvolvimento ótimo sob condições de salinidade que variam entre 15 a 22 (Cervetto et al., 1999). Valores abaixo e acima desse intervalo podem, respectivamente, inibir a produção de ovos e/ou extrapolar os limites de tolerância à salinidade, afetando diretamente a sobrevivência da população. No presente experimento não foi observada mortalidade dos organismos, provavelmente por causa do pequeno intervalo de tempo (oito dias) ao qual estiveram submetidos à salinidade 36. Esta salinidade foi escolhida para criar os copépodos no presente experimento por ser a mesma salinidade de cultivo das microalgas utilizadas como alimento.

Com exceção do tratamento no qual não foi adicionada microalga e que obteve a menor produção ( $145,71 \pm 10,26$  náuplios  $L^{-1}$ ) e do tratamento *C. muelleri*, o qual obteve maior produção ( $1429,51 \pm 90,74$ ), os demais tratamentos produziram uma média de  $687,43$  náuplios  $L^{-1}$  e não diferiram significativamente entre si. Liu & Xu (2010) testaram os efeitos da temperatura da água, salinidade, concentração de alimento e diferentes espécies de alga na alimentação e reprodução do copépodo calanóide *Schmackeria poplesia* e alcançaram densidade de  $290$  indivíduos  $L^{-1}$ , inferior à média encontrada no presente trabalho.

Fêmeas adultas de *A. tonsa* alimentadas com *I. galbana* ( $\varnothing = 4,8 \mu m$ ) apresentam as mais altas taxas de produção de ovos (Støttrup & Jensen, 1990). Kaminski (2004) obteve os melhores resultados de produtividade de ovos e náuplios por fêmea quando *A. tonsa* foi alimentada com *T. fluviatilis* ( $7,42 \mu m$  de largura e  $10,3 \mu m$  de altura) ou com uma dieta mista de *T. fluviatilis* e *Isochrysis* (T-Iso:  $3,7 \mu m$  de largura e  $5,0 \mu m$  de altura). Neste trabalho, a microalga que apresentou melhor resultado na produção de náuplios, *C. muelleri*, possui  $5,33 \mu m$  de comprimento e  $3,15 \mu m$  de largura (Ohse et al., 2008).

Embora os resultados obtidos neste trabalho não indiquem a mistura de algas como a melhor opção para produção de náuplios, sabe-se que dietas mistas de plâncton são importantes (Kleppel, 1993; Kleppel et al., 1998), pois nas microalgas pode faltar um ou mais nutrientes essenciais, então a mistura de espécies aumentaria as chances de alcançar uma dieta equilibrada.

Diatomáceas já foram consideradas bons alimentos para copépodos, porém há evidências crescentes de que este fato não seja tão verdade (Poulet et al., 1994; Miralto et al., 1999), como afirma Ianora et al., (1995) em seu trabalho sobre o efeito inibitório de diatomáceas na biologia reprodutiva de copépodos. Apesar destas evidências, no presente trabalho, a alga que proporcionou maior produção de náuplios de *A. tonsa* foi a diatomácea *C. muelleri* corroborando Kaminski & Montu (2005) que encontraram em *Chaetoceros* sp. uma alternativa alimentar eficiente para criação de copépodos Calanoida, pois é uma microalga presente nos itens alimentares ingeridos por várias espécies de copépodos.

## CONCLUSÃO

Pode-se constatar que a utilização da microalga *C. muelleri* como único alimento para reprodutores de *A. tonsa* garante uma produção de náuplios efetivamente maior do que dietas compostas por *I. galbana*, *Pavlova* sp. ou suas combinações.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida à primeira autora, pelo Programa Amazônia Azul, e ao CNPq pela bolsa de pesquisa concedida ao professor Vinicius Cerqueira. Agradecem a colaboração do professor Mauro Melo Júnior pela ajuda na identificação da espécie de copépodo utilizada nesta pesquisa. Agradecem também aos técnicos e alunos do LAPMAR pela constante colaboração.

## LITERATURA CITADA

Calliari, D.; Borg, M.C.A.; Thor, P.; Gorokhova, E.; Tiselius, P. Instantaneous salinity reductions affect the survival and feeding rates of the co-occurring copepods *Acartia tonsa* Dana and *A. clausi* Giesbrecht differently. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.362, p.18–25, 2008.

[http://champs.cecs.ucf.edu/Library/Journal\\_Articles/pdfs/17\\_Calliari\\_et\\_al\\_Instantaneous\\_salinity\\_reductions\\_affect\\_the\\_survival.pdf](http://champs.cecs.ucf.edu/Library/Journal_Articles/pdfs/17_Calliari_et_al_Instantaneous_salinity_reductions_affect_the_survival.pdf)

Cervetto, G.; Gaudy, R.; Pagano, M. Influence of salinity on the distribution of *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.239; p.33-45, 1999.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022098199000234>

Drillet, G.; Lindley, L.C.; Michels, A.; Wilcox, J.; Marcus, N.H. Improving cold storage of subitaneous eggs of the copepod *Acartia tonsa* Dana from the Gulf of Mexico (Florida — USA). *Aquaculture Research*, v.38, p.457–466, 2007.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2109.2007.01673.x/abstract;jsessionid=BB9A73952FE83C968C7AE64F47C52CCC.d01t02?deniedAccessCustomisedMessage=&userIsAuthenticated=false>

Ianora, A.; Miralto, A.; Poulet, S.A. Are diatoms good or toxic for copepods? Reply to comment by Jonasdottir et al. *Marine Ecology Progress Series*, v.177, p.305-308, 1999.

Jones, R.H.; Flynn, K.J.; Andreson, T.R. Effect of food quality on carbon and nitrogen growth efficiency in the copepod *Acartia tonsa*. *Marine Ecology Progress Series*, v.235, p.147–156, 2002.  
<http://www.int-res.com/abstracts/meps/v235/p147-156/>

Kaminski, S.M. Influência da alimentação sobre a reprodução e o desenvolvimento do copépode calanóide *Acartia tonsa* Dana, 1849, em criação intensiva. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. 55p. Dissertação Mestrado.  
<http://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/87463/204165.pdf?sequence=1>

Kaminski, S.M.; Montu, M.A. Produção de ovos dos copépodes costeiros *Acartia tonsa*, *Temora stylifera* e *Temora turbinata*, da praia do Cassino – Rio Grande – RS. *Atlântica*, v.27, n.2, p.103-111, 2005.  
<http://www.lei.furg.br/atlantica/vol27/Numero2/ATL04.PDF>

Kleppel, G.S. On the diets of calanoid copepods. *Marine Ecology Progress Series*, v.99, p.183–195, 1993.  
<http://www.int-res.com/articles/meps/99/m099p183.pdf>

Kleppel, G.S.; Burkart, C.A.; Houchin, L. Nutrition and the regulation of egg production in the calanoid copepod *Acartia tonsa*. *Limnology and Oceanography*, v.43, n.5, 1998.  
[http://www.aslo.org/lo/toc/vol\\_43/issue\\_5/1000.html](http://www.aslo.org/lo/toc/vol_43/issue_5/1000.html)

Liu, G.; Xu, D. Feeding, egg production and laboratory culture of *Schmackeria poplesia* Shen (Copepoda: Calanoida). *Aquaculture Research*, v.41, p.1817-1826, 2010.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2109.2010.02566.x/abstract>

Marcus, N.H.; Wilcox, J.A. A guide to the meso-scale production of the copepod *Acartia tonsa* (Manual). Florida State University, Department of Oceanography, Biological Oceanography, p.29, 2007.  
<http://nsgl.gso.uri.edu/flsgp/flsgph07002.pdf>

Miralto, A.; Barone, G.; Romano, G.; Poulet, S.A.; 7 others. The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature*, v.402, p.173–176, 1999.

<http://www.ulb.ac.be/preview1/facs/sciences/biol/biol/Miralto1999.pdf>

MisPeces – El portal de acuicultura. 2011. La primera fase Del criadero y preengorde de Futuna Blue SL estará concluída en abril.

[http://www.mispecies.com/noticias/2011/feb/110214-abril-criadero-atun-rojo-futuna.asp?goback=.gde\\_782117\\_member\\_43614301](http://www.mispecies.com/noticias/2011/feb/110214-abril-criadero-atun-rojo-futuna.asp?goback=.gde_782117_member_43614301)

Nosker, N.H; Støttrup, J.G. The importance of dietary HUFA's for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holothuriae* Humes. *Aquaculture*, v.125, p.155-166, 1994.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848694902925>

Ohs, C.L.; Chang, K.L.; Grabe, S.W.; DiMaggio, M.A.; Stenn, E. Evaluation of dietary microalgae for culture of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*. *Aquaculture*, v.307, p.225–232, 2010.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848610004382>

Ohse, S.; Derner, R.B.; Ozório, R.A.; Braga, M.V. da C., Cunha, P.; Lamarca, C.P.; Santos, M.E. dos. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. *Biotemas*, v.21, n.2, p.7-18, 2008.

<http://www.biotemas.ufsc.br/volumes/pdf/volume212/p7a18.pdf>

Olivotto, I.; Buttino, I.; Borroni, M.; Piccinetti, C.C.; Malzone, M.G.; Carnevali, O. The use of the Mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in Yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. *Aquaculture*, v.284, p.211–216, 2008.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848608005607>

Peck, M.A.; Holste, L. Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): Optimizing intensive cultures. *Aquaculture*, v.255, p.341–350, 2006.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848605007647>

Poulet, S.A.; Ianora, A.; Miralto, A.; Meijer, L. Do diatoms arrest embryonic development in copepods? *Marine Ecology Progress Series*, v.111, p.79–86, 1994.

Sargent, J.R.; McEvoy, L.A.; Bell, J.G. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acid in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, v.155, p.117-127, 1997.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848697001221>

Sedlacek, C.; Marcus, N.H. Egg production of the copepod *Acartia tonsa*: The influence of hypoxia and food concentration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.318, p.183–190, 2005.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022098104006744>

Støttrup, J.G.; Norsker, N.H. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture*, v.155, n.1–4, p.231-247, 1997.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848697001208>

Støttrup, J.G.; Jensen, J. Influence of algal diet on feeding and egg production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v.141, p.87–105, 1990.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002209819090216Y>

Støttrup, J.G.; Bell, J.G.; Sargent, J.R. The fate of lipids during development and cold-storage of eggs in the laboratory-reared calanoid copepod, *Acartia tonsa* Dana, and in response to different algal diets. *Aquaculture*, v.176, p.257–269, 1999.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848699000629>

Støttrup, J.G. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquaculture Research*, v.31, p.703-711, 2000.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2109.2000.318488.x/abstract>

Teixeira, P.F.; Kaminski, S.M.; Avila, T.R.; Cardozo, A.P.; Bersano, J.G.F.; Bianchini, A. Diet influence on egg production of the copepod *Acartia tonsa* (Dana, 1896). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.82, n.2, p.333-339, 2010.

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0001-37652010000200009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0001-37652010000200009&script=sci_arttext)

## CAPÍTULO II (AQUACULTURE INTERNATIONAL)

### Náuplios de copépodo *Acartia tonsa* na alimentação de larvas de robalo-flecha *Centropomus undecimalis* aumentam a resistência ao estresse<sup>2</sup>

Wanessa de Melo Costa<sup>1,2\*</sup>, Cristina Vaz Avelar de Carvalho<sup>2</sup>, Gabriel Passini<sup>2</sup>, Cláudia Andreia Pacheco Costa<sup>3</sup>, Manuela Sozo Cecchini<sup>4</sup>, Vinicius Ronzani Cerqueira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ), Av. das Américas, 31.501, Guaratiba, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Piscicultura Marinha, Serv. dos Coroas, s/n, Barra da Lagoa, Florianópolis-SC, Brasil

<sup>3</sup>Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, s/n, Porto, Portugal

<sup>4</sup>Universidade Federal de Santa Catarina, Lab. de Reprodução e Desenvolvimento Animal ([cvacarvalho@gmail.com](mailto:cvacarvalho@gmail.com); [gabrielpassini@ig.com.br](mailto:gabrielpassini@ig.com.br); [claudia\\_costa\\_15@hotmail.com](mailto:claudia_costa_15@hotmail.com); [manucecchini@hotmail.com](mailto:manucecchini@hotmail.com) [vrqueira@cca.ufsc.br](mailto:vrqueira@cca.ufsc.br))

\*Autor correspondente: [wanessademelo@gmail.com](mailto:wanessademelo@gmail.com)

## RESUMO

Este estudo corresponde ao primeiro experimento com larvas de *Centropomus undecimalis* provenientes de reprodutores maturados em cativeiro, no Brasil. O objetivo deste foi avaliar se a alimentação com náuplios de copépodos *Acartia tonsa* pode aumentar a resistência ao estresse térmico de larvas de robalo-flecha *C. undecimalis*. Copépodos selvagens foram coletados, identificados, isolados e cultivados em laboratório com microalgas as *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana* e *Nannochloropsis oculata* para obtenção dos náuplios. Ovos de robalo-flecha foram estocados em tanques circulares com volume útil de 100 L. As larvas, a partir do 2º dia pós-eclosão, foram alimentadas com três tipos de alimento: 1 - rotífero *Brachionus plicatilis* (10 a 15 mL<sup>-1</sup>); 2 - náuplios de *A. tonsa* (0,25 a 0,5 mL<sup>-1</sup>) e 3 - rotíferos (5 a 7,5 mL<sup>-1</sup>) + náuplios de *A. tonsa* (0,12 a 0,25 mL<sup>-1</sup>). Aos 20 dias de idade, 29 larvas foram coletadas de cada tanque e submetidas a um estresse térmico, que correspondeu a um aumento abrupto da temperatura de 27 °C para 37 °C, por 10 minutos. Em seguida foram devolvidas ao ambiente com temperatura de origem (27 °C). Após 24 h foi avaliada a sobrevivência como principal indicador do estresse. As larvas de robalo-flecha alimentadas com rotífero *B. plicatilis*+náuplios de *A. tonsa* alcançaram maiores peso e comprimento (7,5 ± 0,00 mg e 9,1 ± 0,23 mm) e

---

<sup>2</sup> Apoio: MPA, CAPES e CNPq

resistiram mais ao estresse térmico (87,36 %) do que as larvas alimentadas com os demais tipos de alimento, evidenciando que a mistura dos alimentos é mais adequada como dieta inicial para larvas de *C. undecimalis*.

Palavras-chave: *Acartia tonsa*, *Centropomus undecimalis*, copépodo, peixe marinho, resistência ao estresse

## ABSTRACT

This research represents the first result of the experiment with common snook *Centropomus undecimalis* larvae from broodstock matured in captivity in Brazil. The aim of this study was to evaluate whether feeding on nauplii copepod *Acartia tonsa* can improve stress resistance of larval common snook. Wild copepods were harvested, isolated, identified and cultured in the laboratory with the microalgae *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata*, to obtain the nauplii. Common snook eggs were stocked in circular tanks with a volume of 100 L. The larvae were fed three food types. 1 - fed rotifers *Brachionus plicatilis* (10 to 15 mL<sup>-1</sup>); 2 - fed *A. tonsa* nauplii (0.25 to 0.5 mL<sup>-1</sup>) and 3 - fed rotifers (5 to 7.5 mL<sup>-1</sup>) and *A. tonsa* nauplii (0.12 to 0.25 mL<sup>-1</sup>). At 20 days of age, 29 larvae were collected from each tank and subjected to thermal stress, a strong increase of 27 °C to 37 °C for 10 minutes, then returned to the environment with the temperature 27 °C. After 24 h was evaluated stress resistance. Common snook larvae fed rotifers *B. plicatilis* + *A. tonsa* nauplii reached higher weight and length (7.5 ± 0.00 mg and 9.1 ± 0.23 mm) and resisted more heat stress (87.36%) than larvae fed other foods, indicating that the feed mixture is satisfactory as a starter diet for larvae of *C. undecimalis*.

Keywords: *Acartia tonsa*, *Centropomus undecimalis*, copepod, marine fish, stress resistance

## INTRODUÇÃO

Pesquisas com larvas de robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*, têm sido realizadas principalmente nos Estados Unidos, México e Brasil, com ovos obtidos de reprodutores selvagens maduros e, recentemente pelo Mote Marine Laboratory, com peixes de cativeiro (Yanes Roca and Main 2012). Esta espécie tem importância recreativa e comercial nos Estados Unidos, México e Brasil (Cerqueira and Brugger 2001; Pope *et al.* 2006).

Resultados de larvicultura de *Centropomus* spp., no Brasil, são descritos para robalo-peva, *C. parallelus*. Entretanto, para robalo-flecha, este é o primeiro resultado de experimento com larvas obtidas de reprodutores mantidos em cativeiro, uma vez que o único trabalho realizado com larvas de robalo-flecha, no Brasil, foi proveniente da desova de reprodutores selvagens (Soligo *et al.* 2011).

A produção de formas jovens de peixes marinhos depende do fornecimento de alimentos vivos durante a larvicultura (Cahu e Zambonino Infante 2001), porque eles estimulam o consumo alimentar e a secreção enzimática, resultando em crescimento contínuo e boa sobrevivência (Chang *et al.* 2006).

Copépodos marinhos são fonte de proteína, lipídios (especialmente ácidos graxos altamente insaturados: ácido eicosapentaenóico (EPA) 20:5 *n*-3 e ácido docosahexaenóico (DHA) 22:6 *n*-3); carboidratos e enzimas, os quais são essenciais para a sobrevivência; crescimento; digestão; metamorfose das larvas; desenvolvimento do sistema nervoso central; manutenção da estrutura e função da membrana celular; desenvolvimento e funcionamento da visão e tolerância ao estresse (Bromage and Roberts 1995; Sargent *et al.* 1997; Støttrup 2000) e por essas vantagens são importantes como alimentos vivos para cultivar espécies de peixes comercialmente importantes.

*Acartia tonsa* é uma das espécies de copépodos mais estudadas (Peck and Holste, 2006). Seus náuplios têm entre 65 e 120 µm de largura e 106 a 250 µm de comprimento e são completamente digeridos pelas larvas de peixes marinhos (Schipp *et al.* 1999). São utilizados na larvicultura de peixes como *Gadus morhua*, *Lutjanus johnii* e *L. argentimaculatus* (Støttrup and McEvoy 2003), por serem eficazes na primeira alimentação (Schipp *et al.* 1999), pois quando alimentados com uma mistura de microalgas, os copépodos são uma excelente fonte de ácidos graxos altamente insaturados na fração de lipídios polares, que são biologicamente mais disponíveis para as larvas e são fonte de

antioxidantes, astaxantina e vitaminas C e E (Schipf 2006; Schipf *et al.* 1999). A capacidade de incorporar os ácidos graxos essenciais para larvas de peixes marinhos da sua dieta fitoplanctônica pode ser a resposta para o sucesso dos copépodos como alimento vivo (Sargent *et al.* 1997; Støttrup 2000).

Os ácidos araquidônico (ARA) e EPA são derivados dos eicosanóides e estão envolvidos na reação fisiológica ao estresse e, provavelmente, a relação ótima entre EPA:ARA encontrada em copépodos permita às larvas de peixe lidarem melhor com situações de estresse (McEvoy and Sargent 1998).

Na larvicultura de *Centropomus* spp. a taxa de sobrevivência é normalmente baixa e a maior incidência de mortes ocorre na primeira semana como consequência da dificuldade de adaptação ao primeiro alimento (Seiffert *et al.* 2001; Yanes-Roca and Main, 2012).

O êxito na larvicultura é um fator chave para a produção de espécies de peixes de importância comercial. É necessário detectar precocemente o potencial de crescimento e o estado nutricional das larvas, a fim de avaliar a qualidade de cada desova e prever os resultados de larvicultura. Os índices de condição são comumente utilizados como um indicador de crescimento, mas esta medida tem baixa capacidade como indicador de estresse (Cara *et al.*, 2005).

Indicadores quantificáveis de estresse têm sido procurados por aquicultores para monitorar o impacto das condições de criação e práticas sobre a larvicultura (Cara *et al.*, 2005) e diferentes testes de resistência ao estresse são utilizados para este fim: confinamento (Arends *et al.*, 1999); variações de temperatura e exposição a baixos níveis de oxigênio (Tago *et al.*, 1999); choque osmótico (Dhert *et al.*, 1992; Koven *et al.* 2003; van Anholt *et al.* 2004); exposição ao ar (Koven *et al.* 2001; van Anholt *et al.* 2004; Luz and Portella 2005), utilizados tanto em larvas de peixes de água doce como de água salgada/salobra.

A dieta inicial das larvas dos robalos ainda não está bem definida. Diversas pesquisas demonstraram que a inclusão do copépodo na dieta inicial das larvas de robalo-peva e flecha é positiva (Barroso *et al.*, 2013; Yanes-Roca and Main, 2012), mas ainda é necessário provar se o copépodo aumenta a resistência das larvas ao estresse, visando melhorar sua sobrevivência e crescimento quando produzidas em cativeiro.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar se a resistência ao estresse térmico de larvas de robalo-flecha *C. undecimalis* aumenta quando se introduz náuplios de copépodo *A. tonsa* na sua alimentação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado em março de 2012, no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC.

### INDUÇÃO DA DESOVA E OBTENÇÃO DE LARVAS

Os reprodutores de robalo-flecha foram mantidos em tanques circulares de 36000 L, em sistema de recirculação de água e, para a indução da desova, dois machos e uma fêmea foram escolhidos dentre os que apresentavam fluidez do sêmen e ovócitos com média de 350  $\mu\text{m}$  (Landuci, 2012). A dosagem do análogo do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRHa) foi a mesma utilizada para *C. parallelus* (50  $\mu\text{g kg de peixe}^{-1}$ ) (Ferraz *et al.*, 2002).

A coleta dos ovos foi realizada através de saída de água do tanque dos reprodutores para uma incubadora cônica de fibra de vidro (capacidade 36 L) (Reis e Cerqueira, 2003). Em seguida, os ovos foram quantificados pelo método volumétrico e transferidos para tanques de fibra de vidro, circulares, com 100 L de volume útil, numa densidade de 15 ovos  $\text{L}^{-1}$ . A taxa de eclosão foi de 98%.

### ALIMENTO VIVO

Os rotíferos *B. plicatilis* (tamanho médio de 120 a 300  $\mu\text{m}$ ) foram cultivados em água do mar salinidade 35, temperatura média de 26 °C, e alimentados uma vez por dia com microalga *Nannochloropsis oculata* ( $300 \times 10^4$  cél  $\text{mL}^{-1}$ ) e levedura de pão *Saccharomyces cerevisiae* (0,8 g  $10^{-6}$  rotíferos, divididos em três porções, ofertadas às 9h, 13h e 17h). Antes de serem ofertados às larvas, os rotíferos foram enriquecidos com uma emulsão comercial Protein Selco® Plus, INVE, Bélgica (150  $\text{g/m}^3$ , por 12 horas). O enriquecimento dos rotíferos faz-se necessário para melhorar sua qualidade nutricional.

Os reprodutores *A. tonsa* foram obtidos de um viveiro abastecido por água da Lagoa da Conceição (Florianópolis-SC), por filtração em malha de 100  $\mu\text{m}$ , através de um sistema de *airlift*. Os copépodos foram levados ao laboratório, isolados, identificados e cultivados em tanque de fibra de vidro com 250 L, água do mar salinidade 35 e temperatura média de 28 °C, para obtenção dos náuplios, com metodologia modificada de Støttrup (1986). A alimentação dos copépodos foi realizada com três espécies de microalgas na fase exponencial de

crescimento: *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana* e *N. oculata* ( $500 \times 10^4$  cél mL<sup>-1</sup>;  $400 \times 10^4$  cél mL<sup>-1</sup> e  $300 \times 10^4$  cél mL<sup>-1</sup>, respectivamente), pois são microalgas que contém ácidos graxos essenciais para as larvas de peixes marinhos. Durante o período experimental, a produção de náuplios de *A. tonsa* em tanque de 250 L foi bastante instável (Figura 1), porém foi suficiente para suprir as unidades experimentais com as densidades pré-determinadas.

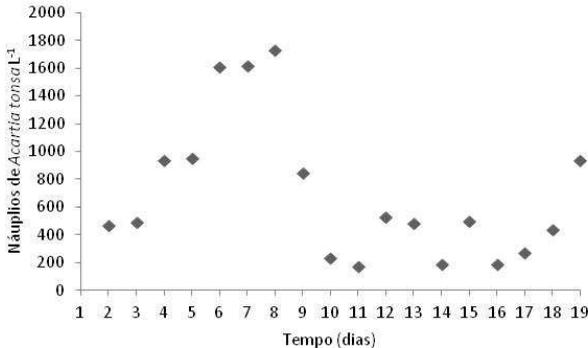


Figura 1. Produção de náuplios de *A. tonsa* L<sup>-1</sup> em tanque de 250 L, para alimentação das larvas utilizadas no experimento.

## LARVICULTURA

A larvicultura foi realizada em sistema de água-verde, no qual se adicionava diariamente microalga *N. oculata* nos tanques, mantendo-se uma densidade de  $500 \times 10^4$  células mL<sup>-1</sup>, em tanques de fibra de vidro, circulares, com 100 L de volume útil. A renovação da água das unidades experimentais iniciou no 9º dia, com 50% até o 13º quando passou para 100% até o final do experimento.

As larvas foram alimentadas a partir do 2º dia de idade até o 19º dia com três diferentes regimes alimentares: 1) rotífero *B. plicatilis* na densidade de 10 a 15 rotíferos mL<sup>-1</sup>; 2) náuplios de copépodos *A. tonsa*, densidade entre 0,25 e 0,5 náuplios mL<sup>-1</sup> e 3) rotífero + náuplios de *A. tonsa*, com a metade da densidade de cada regime anterior. Na Tabela 1, constam as densidades dos diferentes organismos e os períodos nos quais foram ofertados às larvas. Os rotíferos foram ofertados às larvas a partir do 2º dia após eclosão, na mesma densidade utilizada por Ibarra-Castro et al. (2011).

Tabela 1. Densidades de *B. plicatilis* e náuplios de *A. tonsa* e os períodos de alimentação das larvas de *C. undecimalis*.

Alimento vivo	Densidade (mL <sup>-1</sup> )	Tratamento	Período (dias)
<i>B. plicatilis</i>	10	<i>B. plicatilis</i>	2° ao 10°
	15	<i>B. plicatilis</i>	11° ao 19°
	5	Misto	2° ao 10°
	7,50	Misto	11° ao 19°
Náuplios de <i>A. tonsa</i>	0,25	<i>A. tonsa</i>	2° ao 6°
	0,50	<i>A. tonsa</i>	7° ao 19°
	0,12	Misto	2° ao 6°
	0,25	Misto	7° ao 19°

A quantidade de rotíferos e náuplios foi mensurada uma vez ao dia, pela manhã, para manter a densidade experimental determinada para cada tratamento nos tanques de larvicultura. Com o auxílio de um recipiente de 100 mL, retirava-se uma amostra de água de cada tanque, fixava-se uma subamostra de 1 mL com lugol e sob a lupa, realizava-se a contagem dos organismos.

As variáveis temperatura ( $27 \pm 1$  °C), salinidade (34) e oxigênio dissolvido ( $7,3 \pm 0,7$  mg L<sup>-1</sup>) foram mantidas controladas durante o período experimental e em níveis considerados ideais para a espécie (Yanes-Roca and Main, 2012). O fotoperíodo foi mantido 10 h luz: 14 h escuro.

## AMOSTRAGENS

Ao final do experimento, foram amostradas 24 larvas para mensurar o peso úmido (mg), em balança de precisão. O comprimento total (mm), o percentual de larvas com vesícula gasosa formada e de larvas com flexão da notocorda, foram mensurados de forma direta, com auxílio de microscópio estereoscópio.

## TESTE DE ESTRESSE - CHOQUE TÉRMICO

O teste de estresse por choque térmico foi realizado no 20° de idade das larvas. Antes da realização do teste, as larvas de robalo-flecha passaram por um período de privação alimentar, por 3 h, em recipientes com 5 L de água do mar, com as mesmas condições de salinidade, oxigênio dissolvido e temperatura a que foram mantidas na larvicultura em tanque de 100 L.

Vinte e nove larvas de cada tratamento, em triplicata, foram retiradas cuidadosamente de cada tanque, com a ajuda de um recipiente de 500 mL. As larvas foram, então, acondicionadas em um recipiente de 5 L (contendo um pouco da mesma água em que estavam antes com temperatura de 27 °C) com uma peneira no seu interior para que fossem transferidas para o recipiente contendo água do mar 37 °C. O choque térmico agudo (27 °C para 37 °C) durou 10 minutos. Em seguida, as larvas foram cuidadosamente devolvidas aos recipientes de origem, com 27 °C.

Vinte e quatro horas depois foi avaliada a sobrevivência para definição da taxa de resistência ao estresse (Re), onde  $(Re) = [(\text{número de larvas vivas no recipiente} / \text{número total de larvas no recipiente})] \times 100$  (Ako et al., 1994).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de peso úmido (mg) e comprimento total (mm) foram submetidos à análise de normalidade (Shapiro-Wilks) e homocedasticidade (Levene) antes de serem submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA). Em seguida, quando necessário, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Os dados de porcentagem de insuflação da vesícula gasosa e de flexão da notocorda foram analisados por ANOVA.

Utilizou-se o teste não-paramétrico  $\chi^2$  para comparação da sobrevivência (%) pós-estresse entre os tratamentos. Primeiramente foi realizado o teste com uma tabela de contingência 3x2 e ao perceber diferenças significativas, utilizaram-se tabelas 2x2 para encontrar as diferenças. Todas as análises foram realizadas com  $\alpha=0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência das larvas de robalo-flecha (Tabela 2) criadas com diferentes alimentos foi mais alta com a mistura de rotífero *B. plicatilis*+náuplios de *A. tonsa* (13,71%), em comparação aos demais tratamentos. Barroso *et al.*, (2013), comparando os mesmos tipos de alimento em larvas de robalo-peva, *Centropomus paralellus*, recém-eclodidas, encontraram taxa de sobrevivência média de 16,0%, com 14 dias de idade, e afirmam que esta é uma tendência para outras espécies de peixes marinhos. Essa tendência pode ser explicada pelo fato de que, nos primeiros dias de idade, as larvas de peixes marinhos são muito frágeis, apresentando baixa sobrevivência, pois a demanda energética e

proteica para mudanças morfológicas como formação de boca, ânus, pigmentação dos olhos, vesícula gasosa, nadadeiras, escamas e demais órgãos do sistema digestório é muito grande (Chen et al., 2006; Yúfera e Darias, 2007).

Tabela 2. Sobrevivência (S) (%) e média ( $\pm$ DP) do peso úmido (PU) (mg), comprimento total (CT) (mm), vesícula gasosa inflada (BGI) (%) e flexão da notocorda (FN) (%), em larvas de robalo-flecha *Centropomus undecimalis*, com 19 dias de idade, alimentadas com rotíferos *B. plicatilis* (Bp); náuplios de *A. tonsa* (At) e a mistura deles (Bp+At). n=24.

Tratamentos	S	PU	CT	VGI	FN
Bp	10,8	1,4 <sup>c</sup> $\pm$ 0,00	5,3 <sup>a</sup> $\pm$ 0,09	79,17 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,00	100 $\pm$ 0,00
At	11,2	4,4 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	7,7 <sup>b</sup> $\pm$ 0,10	95,83 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	100 $\pm$ 0,00
Bp + At	13,7	7,5 <sup>a</sup> $\pm$ 0,00	9,1 <sup>c</sup> $\pm$ 0,23	70,83 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	100 $\pm$ 0,00

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

Aos 19 dias de idade, as larvas de robalo-flecha alimentadas com a mistura de rotíferos+náuplios de *A. tonsa* apresentaram peso úmido (mg) e comprimento total (mm) superiores aos demais tratamentos (Tabela 2). Larvas de *Epinephelus coioides* quando alimentadas com rotíferos e náuplios de copépodos (0,1 náuplio mL<sup>-1</sup>) também aumentaram crescimento e sobrevivência (Knuckey *et al.* 2005), enquanto as larvas de *C. parallelus* ao serem alimentadas com uma mistura de rotíferos+náuplios de *A. tonsa* não diferiram significativamente das larvas alimentadas com rotíferos e náuplios de *A. tonsa*, alcançando uma média de 3,86 mm aos 14 dias (Barroso, 2013).

Ao descrever o desenvolvimento das larvas de *C. undecimalis*, cultivadas em laboratório, Lau and Shafland (1982) encontraram comprimento total de 9,5 mm. Estes autores alimentaram as larvas, nos 12 primeiros dias de idade, com zooplâncton natural (maioria náuplios de copépodos) e rotíferos cultivados, e em seguida com náuplios de *Artemia* sp. recém eclodidos. No presente trabalho, as larvas alimentadas com a mistura rotíferos + náuplios de *A. tonsa*, até 19 dias de idade, alcançaram crescimento compatível com o das larvas que receberam também náuplios de *Artemia* sp. em Lau and Shafland (1982), o que indica uma alternativa ao uso dos náuplios de *Artemia*, para o período larval estudado, uma vez que sob o ponto de vista nutricional, uma dieta à base de rotíferos e *Artemia* pode ser totalmente

substituída ou complementada com o uso de copépodos, pois em relação ao perfil de ácidos graxos a composição desses animais supre as necessidades das larvas de peixes (Sargent *et al.* 1997; Mckinnon *et al.* 2003).

A formação da vesícula de gás permite o deslocamento vertical na coluna de água enquanto que a flexão da notocorda é um pré-requisito para a formação da aleta caudal, o que é importante para a natação horizontal (Barroso *et al.*, 2013). Embora as larvas do tratamento misto tenham apresentado maior crescimento, a maior taxa de insuflação da vesícula gasosa foi vista nas larvas do tratamento náuplios de *A. tonsa* (Tabela 2). Isto pode ser explicado porque os demais tratamentos receberam rotíferos enriquecidos, que ao serem ofertados às larvas levam consigo o enriquecedor, que é composto principalmente por ácidos graxos, os quais podem formar uma camada na superfície da água dificultando a captura de ar pelas larvas, no momento de insuflar a vesícula gasosa.

Larvas que não inflam a vesícula gasosa são menos resistentes a estresses como manuseio, condições de hipóxia e desmame (Chatain, 1989), porém as larvas alimentadas com o misto suportaram maior estresse após choque térmico (Tabela 2), porque a resistência ao estresse também está relacionada à qualidade do alimento (Luz 2007) e, nesse estudo, podemos qualificar a mistura como uma opção que garante maior resistência (Tabela 3).

Tabela 3. Sobrevivência (%) 24 h após o choque térmico de larvas de robalo-flecha *Centropomus undecimalis*, com 20 dias de idade, alimentadas com rotíferos *B. plicatilis*; náuplios de *A. tonsa* e a mistura deles (n=3).

Tratamentos	Sobrevivência
Rotífero <i>B. plicatilis</i>	4,60 <sup>c</sup> ± 2,31
Náuplios de <i>A. tonsa</i>	43,68 <sup>b</sup> ± 5,69
Rotífero + Náuplios de <i>A. tonsa</i>	87,36 <sup>a</sup> ± 1,15

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

Todas as larvas do presente estudo flexionaram a notocorda (Tabela 2) entre o 10° e 12° dia de idade. Estudando o desenvolvimento osteológico de larvas de *C. undecimalis*, cultivadas em laboratório, Potthof and Tellock (1993) encontraram flexão da notocorda entre o 10° e o 14° dia de idade e 4,4 mm.

O choque térmico de 10 °C aplicado nas larvas de robalo-flecha revelou diferenças significativas em função do tipo de alimento ( $p < 0,05$ )

quanto a resistência ao estresse, após 24 h. As larvas alimentadas com náuplios de *A. tonsa* mostraram-se mais resistentes (Tabela 3). Segundo Watanabe *et al.* (1983), peixes subnutridos não sobrevivem em condições extremas, diferente dos peixes nutridos adequadamente. Na larvicultura intensiva, o estresse dos animais é constante (Luz 2007; Poltronieri *et al.* 2008) e a alimentação atua na resistência das larvas ao estresse (Luz, 2007), como verificado por Ako *et al.* (1994) quando aumentaram a quantidade de ácidos graxos nos náuplios de *Artemia* para alimentar as larvas de *Mugil cephalus* e perceberam que elas se tornaram mais resistentes às respostas ao estresse.

As vantagens dos copépodos em relação aos demais organismos utilizados como alimento podem ser verificadas em diversos trabalhos que provaram que eles são fonte de vitamina C e E; astaxantina; proteína; lipídios (EPA e DHA) e ARA; carboidratos e enzimas (Watanabe *et al.* 1983; Støttrup and Jensen 1990; van der Meeren 2008; Vengadeshperumal *et al.* 2010), os quais são essenciais para a sobrevivência; crescimento; digestão; metamorfose das larvas (Støttrup 2000); sistema nervoso central; manutenção da estrutura e função da membrana celular; desenvolvimento e funcionamento da visão e tolerância ao estresse dos peixes (Bromage and Roberts 1995; Sargent *et al.* 1997). Portanto, essas vantagens esclarecem os resultados constatados no presente trabalho no que diz respeito à resistência ao estresse térmico e ao crescimento das larvas de robalo-flecha. A resposta ao estresse pode representar uma ferramenta de grande importância para seleção dos melhores indivíduos para a aquicultura, sobretudo aqueles criados em sistemas intensivos (Lima *et al.* 2006). Além disso, tem sido demonstrado que os organismos que apresentam termotolerância induzida também demonstram aumento da resistência a outras formas de estresse (Spees *et al.*, 2002).

Neste estudo, concluímos que a dieta composta por rotíferos e náuplios de copépodos *Acartia tonsa* proporciona maior crescimento às larvas de robalo-flecha e maior resistência ao estresse térmico.

## AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa faz parte do projeto “Desenvolvimento de sistemas para a reprodução e engorda do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) em água doce e em fazendas de carcinicultura marinha” financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), edital 36/2009. Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de

Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida à primeira autora, pelo Programa Amazônia Azul, e ao CNPq pela bolsa de pesquisa concedida ao professor Vinicius Cerqueira e bolsa de estudos para os terceiro e quinto autores. Agradecem a colaboração do professor Mauro Melo Júnior pela ajuda na identificação do copépodo utilizado na pesquisa. Agradecem também aos técnicos e alunos do LAPMAR pela ajuda na logística da reprodução dos peixes.

## REFERÊNCIAS

Ako H, Clyde ST, Bass P, Lee CS (1994) Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding of enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 122:81-90.

Arends RJ, Mancera JM, Muñoz JL, Wendelaar Bonga SE, Flik G (1999) The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. *Journal of Endocrinology* 163:149–157.

Barroso MV, Carvalho CVA de, Antoniassi R, Cerqueira VR (2013) Use of the copepod *Acartia tonsa* as the first live food for larvae of the fat snook *Centropomus parallelus*. *Aquaculture* 388–391:153–158.

Bromage NR, Roberts RJ (1995) Broodstock management and egg larval quality. Blackwell Science.

Cahu C, Zambonino Infante J (2001) Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture* 200:161–180.

Cara JB, Aluru N, Moyano FJ, Vijayan MM (2005) Food-deprivation induces HSP70 and HSP90 protein expression in larval gilthead sea bream and rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 142:426-431.

Cerqueira VR, Brugger AM (2001) Effect of light intensity on initial survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) larvae. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 44(4):343-349.

Chang Q, Liang MQ, Wang JL, Chen SQ, Zhang XM, Liu XD (2006) Influence of larval co-feeding with live and inert diets on weaning the tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *Aquaculture Nutrition* 12:135-139.

Chatain B (1989) Problems related to the lack of functional swimbladder in intensive rearing of *Dicentrarchus labrax* and *Sparus auratus*. *Advances in Tropical Aquaculture* 9:669-709.

Chen BN, Qin JG, Kumar MS, Hutchinson W, Clarke S (2006) Ontogenic development of the digestive system in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. *Aquaculture* 256:489-501.

Dhert P, Lavens P, Sorgeloos P. A simple test for quality evaluation of cultured fry of marine fish. University of Gent, 1992.

Ferraz EM, Cerqueira VR, Alvarez-Lajonchère L, Candido S (2002) Indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, através de injeção e implante de LHRHa. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 28(2):125-133.

Ibarra-Castro L, Alvarez-Lajonchère L, Rosas C, Palomino-Albarrán IG, Holt GJ, Sanchez-Zamora A (2011) GnRH $\alpha$ -induced spawning with natural fertilization and pilot-scale juvenile mass production of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). *Aquaculture* 319 (3–4):479–483.

Knuckey RM, Semmens GL, Mayer RJ, Rimmer MA (2005) Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: Effect of algal species and feed concentration on copepod development. *Aquaculture* 249:339– 351.

Koven W, Barr Y, Lutzky S, Ben-Atia I, Weiss R, Harel M, Behrens P, Tandler A (2001) The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 193:107–122.

Koven W, van Anholt R, Lutzky S, Atia IB, Nixon O, Ron B, Tandler A (2003) The effect of dietary arachidonic acid on growth, survival, and cortisol levels in different-age gilthead seabream larvae (*Sparus auratus*) exposed to handling or daily salinity change. *Aquaculture* 228: 307–320.

Landuci FS. Efeitos da aplicação de implantes de um análogo do LHRH associado à domperidona na maturação gonadal do robalo-flecha

(*Centropomus undecimalis*) em cativeiro. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2012. Dissertação Mestrado.

Lau SR, Shafland PL (1982) Larval Development of Snook, *Centropomus undecimalis* (Pisces: Centropomidae). Copeia 1982(3):618-627.

Lima LC, Ribeiro LP, Leite RC, Melo DC (2006) Estresse em peixes. Revista Brasileira de Reprodução Animal 30(3/4):113-117.

Luz RK (2007) Resistência ao estresse e crescimento de larvas de peixes neotropicais alimentadas com diferentes dietas. Pesquisa Agropecuária Brasileira 42(1):65-72.

Luz RK, Portella MC (2005) Tolerance to the air exposition test of *Hoplias lacerdae* larvae and juvenile during its initial development. Brazilian Archives of Biology and Technology 48(4):567-573.

McEvoy LA, Sargent JR (1998) Problems and techniques in live prey enrichment. Bulletin Aquaculture Association, 98:12-16.

McKinnon AD, Duggana S, Nichols PD, Rimmer MA, Semmens G, Robino B (2003) The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. Aquaculture 223:89-106.

Peck MA, Holste L (2006) Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): Optimizing intensive cultures. Aquaculture 255 341:350.

Poltronieri C, Negrato E, Bertotto D, Majolini D, Simontacchi C, Radaelli G (2008) Immunohistochemical localization of constitutive and inducible Heat Shock Protein 70 in carp (*Cyprinus carpio*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to transport stress. European Journal of Histochemistry 52(3):191-198.

Pope KL, Blankinship D.R.; Fisher M, Patiño R (2006) Status of the Common Snook (*Centropomus undecimalis*) in Texas. Nebraska Cooperative Fish & Wildlife Research Unit - Staff Publications. Paper 94. <http://digitalcommons.unl.edu/ncfwrustaff/94>.

Potthof T, Tellock JA (1993) Osteological development of the snook *Centropomus undecimalis* (Teleostei, Centropomidae). *Bulletin of Marine Science* 52(2):669-716.

Reis MA dos, Cerqueira VR (2003) Indução de desova do robalo-peva *Centropomus parallelus* Poey 1860, com diferentes doses de LHRHa. *Acta Scientiarum Animal Sciences* 25(1):53-59.

Sargent JR, McEvoy LA, Bell JG (1997) Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155:85-101.

Schipp GR, Bosmans JMP, Marshall AJ (1999) A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. *Aquaculture* 174:81-88.

Schipp GR (2006). The use of Calanoid copepods in semi-intensive, tropical marine fish larviculture. En: Ed. L. Ellizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando García Ortega. *Avances en Nutrición Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.*

Seiffert MEB, Cerqueira VR, Madureira LAS (2001) Effect of dietary (n-3) highly unsaturated fatty acids on growth and survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) larvae during first feeding. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34:645-651.

Soligo TA, Garcia AS, Cerqueira VR (2011) Weaning of the common snook (*Centropomus undecimalis*) early juveniles reared in laboratory using commercial and experimental diets. *Boletim do Instituto de Pesca* 37(4):367-374.

Spees JL, Chang SA, Snyder MA, Chang ES (2002) Osmotic induction of stress-responsive gene expression in the lobster *Homarus americanus*. *Biological Bulletin* 203:331-337.

Støttrup JG, Richardson K, Kirkegaard E, Pihl NJ (1986) The cultivation of *Acartia tonsa* for use as a live food source for marine

fish larvae. *Aquaculture* 52:87–96.

Støttrup JG (2000) The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquaculture Research* 31:703-711.

Støttrup JG, Jensen J (1990) Influence of algal diet on feeding and egg production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 141:87–105.

Støttrup JG, McEvoy LA (2003). *Live feeds in marine aquaculture*. Blackwell Science.

Tago A, Yamamoto Y, Teshima S, Kanazawa A (1999) Effects of 1,2 di 20:5 phosphatidylcholine (PC) and 1,2 di 22:6-PC on growth and stress tolerance of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae. *Aquaculture* 179:231-239.

Van Anholt RD, Spanings FAT, Koven WM, Nixon O, Wendelaar Bonga, SE (2004) Arachidonic acid reduces the stress response of gilthead seabream *Sparus aurata* L. *The Journal of Experimental Biology* 207:3419-3430.

Van der Meeren T, Olsen RE, Hamre K, Fyhn HJ (2008). Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. *Aquaculture* 274:375-397.

Vengadeshperumal N, Damotharan P, Rajkumar M, Perumal P, Vijayalakshmi S, Balasubramanian T (2010) Laboratory Culture and Biochemical Characterization of the Calanoid Copepod, *Acartia southwelli* Sewell, 1914 and *Acartia centrura* Giesbrecht, 1889. *Advances in Biological Research* 4(2):97-107.

Watanabe T, Kitajima C, Fujita S (1983) Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34:115-143.

Yanes Roca C, Main KL. (2012). Improving larval culture and rearing techniques on common snook (*Centropomus undecimalis*), *Aquaculture*, Zainal Abidin Muchlisin (ed.), ISBN: 978-953-307-974-5, InTech, DOI: 10.5772/28172. Available from: <http://www.intechopen.com/books/aquaculture/improving-larval->

[culture-and-rearing-techniques-on-common-snook-centropomus-undecimalis-](#)

Yúfera M, Darias MJ (2007) The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture* 268:53-63.

### CAPÍTULO III (AQUACULTURE)

#### **Núplios de copépodo *Acartia tonsa* na alimentação de larvas de carapeba *Eugerres brasilianus* aumentam a resistência ao estresse**

Wanessa de Melo Costa<sup>1,2\*</sup>, Cristina Vaz Avelar de Carvalho<sup>2</sup>, Gabriel Passini<sup>2</sup>, Vinicius Ronzani Cerqueira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ), Av. das Américas, 31.501, Guaratiba, Rio de Janeiro-RJ, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Laboratório de Piscicultura Marinha, Serv. dos Coroas, s/n, Barra da Lagoa, Florianópolis-SC, Brasil ([cvacvalho@gmail.com](mailto:cvacvalho@gmail.com); [gabrielpassini@ig.com.br](mailto:gabrielpassini@ig.com.br); [vrqueira@cca.ufsc.br](mailto:vrqueira@cca.ufsc.br))

\*Autor correspondente: [wanessademelo@gmail.com](mailto:wanessademelo@gmail.com); Tel.: +55 21 69497199

#### **RESUMO**

Núplios de copépodos da Ordem Calanoida são do tamanho ideal para alimentação de larvas de peixes marinhos, induzem o seu comportamento alimentar e tem um perfil completo de nutrientes necessários para seu crescimento e sobrevivência. O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência ao estresse de larvas de carapeba *Eugerres brasilianus*, alimentadas com núplios de copépodos *Acartia tonsa*, rotíferos e a mistura destes, desde a abertura da boca até 15 dias de idade. Copépodos selvagens foram coletados, isolados, identificados e cultivados com as microalgas marinhas *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana* e *Nannochloropsis oculata*, para obtenção dos núplios. Ovos de carapeba, obtidos de reprodução artificial, foram estocados em tanques circulares com volume útil de 100 L, numa densidade de 10 L<sup>-1</sup>, com água do mar salinidade 35, temperatura 27 ± 1 °C e aeração central contínua. As larvas foram alimentadas com três diferentes dietas, com três repetições: 1 - rotífero *Brachionus plicatilis* (10 a 15 mL<sup>-1</sup>); 2 - alimentadas com núplio de *A. tonsa* (0,25 a 0,5 mL<sup>-1</sup>); 3 - alimentadas com rotífero (5 a 7,5 mL<sup>-1</sup>) + núplios de *A. tonsa* (0,12 a 0,25 mL<sup>-1</sup>) e (4) sem alimento. Aos 15 dias de idade, 36 larvas foram coletadas de cada tanque e submetidas a um estresse por exposição ao ar, em papel absorvente, por 10 segundos, e devolvidas em seguida ao recipiente de origem. Após 24 h foi avaliada a resistência ao estresse com o teste não-paramétrico ( $\chi^2$ ), com  $\alpha = 5\%$ . As larvas de carapeba alimentadas com rotífero *B. plicatilis*+núplio de *A. tonsa* apresentaram maiores sobrevivência e resistência ao estresse, 20,9%±11,2 e 88,9%, respectivamente, evidenciando o efeito positivo da inclusão do copépodo na dieta.

Palavras-chave: alimento vivo, copépodo, *Eugerres brasilianus*, peixes marinhos, estresse

## ABSTRACT

Calanoida copepod nauplii are the perfect size for feeding marine fish larvae, inducing their feeding behavior of the larvae, and has a full profile of nutrients necessary for their growth and survival. The objective of this study was to evaluate the stress resistance of the carapeba *Eugerres brasilianus* larvae, fed copepod *Acartia tonsa* nauplii, rotifers and mixture these organisms, from mouth opening to 15 days of age. Wild copepods were collected, isolated, identified and cultivated with marine microalgae *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata* to obtain the nauplii. Carapeba eggs, from artificial reproduction, were stocked in circular tanks with a volume of 100 L at a density of 10 L<sup>-1</sup>, seawater salinity 35, temperature 27 ± 1 °C and continuous aeration. The larvae were fed three different diets with three replications: 1 - rotifer *Brachionus plicatilis* (10 to 15 mL<sup>-1</sup>); 2 - fed nauplii *A. tonsa* (0.25 to 0.5 mL<sup>-1</sup>); 3 - fed rotifers (5 to 7.5 mL<sup>-1</sup>) + nauplii *A. tonsa* (0.12 to 0.25 mL<sup>-1</sup>) and 4) starvation. At 15 days of age, 36 larvae were collected from each tank and submitted at stress by exposure to air, on absorbent paper for 10 seconds, and then returned to the original container. After 24 h were evaluated stress resistance with the non-parametric test ( $\chi^2$ ), with  $\alpha = 5\%$ . Carapeba larvae fed *B. plicatilis* rotifers+A. *tonsa* nauplii showed higher survival and stress resistance (20.9%±11.2 e 88.9%, respectively), showing the positive effect of the inclusion of the copepod diet.

Keywords: live feed, copepod, *Eugerres brasilianus*, marine fish, stress

## 1. INTRODUÇÃO

Existem várias espécies nativas de peixes marinhos que apresentam potencial de criação. Porém, ainda há enorme deficiência de informações sobre a biologia e a tecnologia de criação (Cavalli and Hamilton, 2009).

A carapeba, ou caratinga, como é conhecida popularmente a espécie *Eugerres brasilianus*, é a integrante da família Gerreidae que alcança o maior tamanho, podendo medir até 40 cm, com tamanho médio de 25 cm (Figueiredo and Menezes, 1980). É uma espécie muito comum em todo o litoral brasileiro, sendo aparentemente mais abundante na região sudeste (Figueiredo and Menezes, 1980; Gaspar and Cervigón, 1987). É onívora, consumindo principalmente cianofíceas, diatomáceas, restos de vegetais superiores, além de crustáceos (principalmente copépodos), anelídeos e restos de animais digeridos, sendo também consumidoras de primeira ordem (Vasconcelos Filho et al., 2009).

Entre as dificuldades encontradas na criação de peixes marinhos, destacam-se o seu pequeno tamanho e a fragilidade de suas larvas depois da eclosão, comparados com os alevinos de salmão, que possuem reservas vitelinas suficientes para se desenvolver poder ingerir dieta artificial como primeiro alimento. As larvas de peixes marinhos têm reserva vitelina muito escassa que é rapidamente absorvida e por isso devem ingerir seu primeiro alimento vivo (fitoplâncton e zooplâncton) nos primeiros dias de vida (Civera-Cerecedo et al., 2004).

O alimento vivo aumenta o consumo alimentar, estimula a secreção enzimática e resulta em crescimento contínuo e boa sobrevivência de larvas de peixes (Chang et al., 2006). Em consequência disto, a produção de formas jovens de peixes marinhos depende do fornecimento desses alimentos durante a larvicultura (Cahu and Zambonino Infante, 2001; Kolkovski, 2001).

Com o crescente interesse mundial em aquicultura, copépodos podem ser considerados uma fonte de alimento alternativa válida para a criação de larvas de peixes marinhos (Olivotto et al., 2008).

Copépodos marinhos são eficazes como alimento para espécies de peixes comercialmente importantes, pois são fonte de vitaminas C e E; antioxidantes; astaxantina (Schipp et al., 1999), proteína; lipídeos - especialmente ácidos graxos altamente insaturados: ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosaheptaenóico (DHA); carboidratos e enzimas, os quais são essenciais para a sobrevivência; crescimento; digestão; metamorfose das larvas; desenvolvimento do

sistema nervoso central; manutenção da estrutura e função da membrana celular; desenvolvimento e funcionamento da visão e tolerância ao estresse dos peixes (Bromage and Roberts, 1995; Sargent et al., 1997; Støttrup, 2000).

Os copépodos são utilizados satisfatoriamente após um período de uso de rotíferos e antes da introdução de náuplios de *Artemia* sp. (Kraul, 1993), e também podem ser oferecidos simultaneamente (Leu and Chou, 1996). Náuplios de copépodos da Ordem Calanoida são do tamanho ideal, induzem o comportamento alimentar das larvas, e tem um perfil completo de nutrientes necessários para o crescimento e sobrevivência de larvas de peixes marinhos (Støttrup, 2000; Drillet et al., 2007).

O copépodo *A. tonsa* é utilizado na alimentação de larvas de peixes como *Gadus morhua*, *Lutjanus johnii* e *L. argentimaculatus* (Støttrup and McEvoy, 2003). Como o náuplio desta espécie tem em média 65  $\mu\text{m}$  é eficaz para a primeira alimentação de larvas de peixes muito pequenas (Schipp et al., 1999).

Durante a larvicultura, as variáveis de desempenho, crescimento e sobrevivência, são os principais indicadores de gestão da qualidade alimentar (Luz et al., 2012). Resistência aos testes de estresse pode, juntamente com estas variáveis, ser uma ferramenta de suporte para avaliar a qualidade de produção de larvas e alevinos e estabelecer relação entre os efeitos da dieta sobre a melhoria da saúde dos animais (Ako et al., 1994; Luz, 2007).

O estresse pode ser considerado como um conjunto de respostas não específicas do organismo a situações que ameaçam desequilibrar a sua homeostase (Barton, 2002).

A exposição das larvas ao ar por um período de tempo pré-determinado é um dos testes de estresse mais utilizados (Benfey and Biron, 2000; Martins et al., 2000; Koven et al., 2001; Van Anholt et al., 2004; Luz and Portella, 2005; Luz, 2007), por ser eficiente na avaliação da qualidade dos alimentos sobre a taxa de resistência ao estresse (Ako et al., 1994; Kanazawa, 1997; Luz, 2007, Luz et al., 2012).

Diante do exposto, pode-se inferir que as larvas alimentadas com náuplios de copépodos estarão mais bem nutridas e, por isso, serão mais resistentes ao estresse do que as não alimentadas com náuplios. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a resistência ao estresse por exposição ao ar de larvas de carapeba alimentadas com náuplios de copépodo *A. tonsa*, rotíferos e a mistura destes.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR)/Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, em março de 2011.

### 2.1. MANUTENÇÃO E INDUÇÃO DA DESOVA DOS REPRODUTORES DE CARAPEBA

Os reprodutores de carapeba foram mantidos em tanques-rede 2x2x1,5 m, em viveiro com água de salinidade média de 25. Para a indução da desova, os reprodutores (2 machos:1 fêmea) foram escolhidos dentre os que apresentavam fluidez do sêmen e ovócitos com média de 350  $\mu\text{m}$  (Alvarez-Lajonchère et al, 1996; Passini et al., 2011). Posteriormente, os peixes foram induzidos com uma dosagem de 15  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (Passini et al., 2011) do análogo do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRHa), e transferidos para tanques de 500 L, com circulação de água do viveiro, até a desova.

### 2.2. COLETA DOS OVOS DE CARAPEBA

A coleta dos ovos foi realizada através de saída de água do tanque dos reprodutores para uma incubadora cilíndrica de fibra de vidro com capacidade para 6 L (Passini et al, 2011).

Os ovos foram transferidos para tanques de fibra de vidro, circulares, com 100 L de volume útil, numa densidade de 10 ovos  $\text{L}^{-1}$ , estocados pelo método volumétrico.

### 2.3. ALIMENTO VIVO

Os rotíferos *Brachionus plicatilis* (tamanho médio de 120 a 300  $\mu\text{m}$ ) foram cultivados em água do mar salinidade 35, temperatura média de 26 °C, e alimentados uma vez por dia com microalga *Nannochloropsis oculata* (300 x 10<sup>4</sup> cél  $\text{mL}^{-1}$ ) e levedura de pão *Saccharomyces cerevisiae* (0,8 g 10<sup>-6</sup> rotíferos, divididas em três porções ofertadas ao longo do dia). Antes de serem ofertados às larvas, os rotíferos foram enriquecidos com uma emulsão comercial Protein Selco® Plus, INVE, Bélgica (150 g/m<sup>3</sup>, por 12 horas). O enriquecimento dos rotíferos faz-se necessário para melhorar sua qualidade nutricional.

Os reprodutores de copépodo *A. tonsa* foram obtidos de um viveiro abastecido por água da Lagoa da Conceição (Florianópolis-SC),

por filtração em malha de 200  $\mu\text{m}$ , através de um sistema de *airlift*. Os copépodos foram, então, isolados, identificados e cultivados em laboratório, em tanque de fibra de vidro com 250 L, água do mar salinidade 35 e temperatura média de 28 °C, para obtenção dos náuplios, com metodologia modificada de Støttrup (1986). A alimentação dos copépodos foi realizada com três espécies de microalgas na fase exponencial de crescimento: *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana* e *N. oculata* ( $500 \times 10^4$  cél  $\text{mL}^{-1}$ ;  $400 \times 10^4$  cél  $\text{mL}^{-1}$  e  $300 \times 10^4$  cél  $\text{mL}^{-1}$ , respectivamente), pois são microalgas que contém ácidos graxos essenciais para as larvas de peixes marinhos.

A produção de náuplios de *A. tonsa* em tanque de 250 L, durante o período experimental pode ser observada na Figura 1.

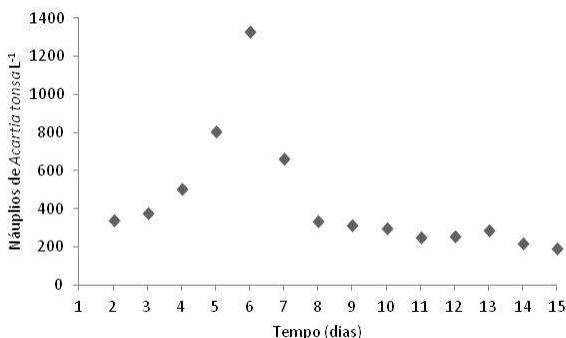


Figura 1. Produção de náuplios de *A. tonsa*, em tanque de 250 L, para alimentação das larvas utilizadas no experimento.

## 2.4. LARVICULTURA

As larvas de carapeba foram alimentadas a partir do 2º dia de idade até o 15º dia com quatro diferentes regimes alimentares, em três repetições, inteiramente casualizadas: 1) rotífero *B. plicatilis*, densidade entre 10 a 15 rotíferos  $\text{mL}^{-1}$ ; 2) náuplios de copépodos *A. tonsa*, densidade entre 0,25 e 0,5 náuplios  $\text{mL}^{-1}$ ; 3) rotífero e náuplios de *A. tonsa* (metade da densidade de cada regime anterior e 4) sem alimento. A densidade de rotíferos do 2º ao 10º dia de larvicultura foi de 10  $\text{mL}^{-1}$  e do 11º ao 15º, de 15  $\text{mL}^{-1}$  (Tabela 1).

Tabela 1. Densidades de *B. plicatilis* e náuplios de *A. tonsa* e os períodos de alimentação das larvas de *E. brasilianus*.

Alimento vivo	Densidade (mL <sup>-1</sup> )	Tratamento	Período (dias)
<i>B. plicatilis</i>	10	<i>B. plicatilis</i>	2° ao 10°
	15	<i>B. plicatilis</i>	11° ao 15°
	5	Misto	2° ao 10°
	7,5	Misto	11° ao 15°
Náuplios de <i>A. tonsa</i>	0,25	<i>A. tonsa</i>	2° ao 6°
	0,50	<i>A. tonsa</i>	7° ao 15°
	0,12	Misto	2° ao 6°
	0,25	Misto	7° ao 15°

As densidades de náuplios de copépodo ofertadas estiveram dentro da faixa reportada para alimentação de *E. brasilianus*: de 0,5 a 2,0 copépodo mL<sup>-1</sup> (Alvaréz-Lajonchère et al., 1996; Hernández-Molejón and Alvaréz-Lajonchère, 2003) para densidades entre 1 e 10 larvas L<sup>-1</sup>.

A densidade de rotíferos e náuplios foi calculada uma vez ao dia, pela manhã, para manter a quantidade de organismos determinada para cada tratamento nos tanques de larvicultura. Com o auxílio de um recipiente de 100 mL, retirava-se uma amostra de água de cada tanque, fixava-se uma subamostra de 1 mL com lugol e sob a lupa, realizava-se a contagem.

A larvicultura foi realizada em sistema de água-verde, no qual se adicionava microalga *N. oculata* nos tanques, mantendo-se uma densidade de 500 000 células mL<sup>-1</sup>.

As variáveis salinidade ( $34 \pm 2$ ), temperatura ( $26,8 \pm 1,5$  °C) e oxigênio dissolvido ( $6,2 \pm 1,8$  mg L<sup>-1</sup>) foram mensuradas diariamente com auxílio de refratômetro (Atago, S10-E) e sonda multiparâmetros (Alfakit), e estiveram dentro dos níveis aceitáveis para larvas de *E. brasilianus* (Alvarez-Lajonchère et al., 1996).

Ao final dos 15 dias de experimento foi calculada a sobrevivência e medido o comprimento total (mm) de uma amostra de 30 larvas de cada repetição, exceto para o tratamento jejum, no qual apenas 16 larvas sobreviveram.

## 2.5. TESTE DE ESTRESSE

Antes do teste de estresse, as larvas passaram 2 h de privação alimentar, para evacuação do alimento, em recipientes com 5 L de água do mar, nas mesmas condições abióticas da larvicultura em 100 L.

O estresse causado nas larvas com 15 dias de idade foi a exposição ao ar, em papel absorvente, durante 10 s, com metodologia adaptada de Luz (2007). A duração de 10 s foi estipulada em testes prévios, sendo observado que quando expostas por mais que 10 s, as larvas não sobreviveram.

Após o teste, as larvas foram devolvidas aos recipientes de 5 L e, 24 h depois, foi observada a sobrevivência para definição da taxa de resistência ao estresse (Re), onde  $Re = [(\text{número de larvas após 24 h} / \text{número inicial de larvas no recipiente})] \times 100$  (Ako et al., 1994).

## 2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de sobrevivência (%) e comprimento total (mm) foram submetidos à análise de normalidade (Shapiro-Wilks) e homocedasticidade (Levene) e em seguida submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando necessário, as médias foram comparadas utilizando teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas ao nível de significância de 95%.

Utilizou-se o teste não-paramétrico  $\chi^2$ , com  $\alpha=0,05$ , para comparação da sobrevivência (%) pós-estresse entre os tratamentos. Primeiramente foi realizado o teste com uma tabela de contingência 3x2 e ao perceber diferenças significativas, utilizaram-se tabelas 2x2 para encontrar as diferenças.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento que recebeu apenas rotíferos apresentou sobrevivência superior (Tabela 2) à encontrada por Hernández-Molejón and Álvarez-Lajonchère (2003), quando alimentaram larvas de carapeba com rotíferos durante 15 dias e alcançaram 6% de sobrevivência.

Tabela 2. Média e desvio padrão da sobrevivência (%) e comprimento total (mm) de larvas de carapeba alimentadas com três diferentes tratamentos, após 14 dias.

Tratamentos	Sobrevivência	Comprimento total	N
Rotífero <i>B. plicatilis</i>	16,8 <sup>ab</sup> ± 10,7	5,12 <sup>a</sup> ± 0,08	30
Náuplios de <i>A. tonsa</i>	7,8 <sup>b</sup> ± 1,5	5,88 <sup>a</sup> ± 0,06	30
Rotífero + Náuplios de <i>A. tonsa</i>	20,9 <sup>a</sup> ± 11,2	5,83 <sup>a</sup> ± 0,38	30
Jejum	3,2 <sup>b</sup> ± 4,8	2,64 <sup>b</sup> ± 2,30	16

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

As larvas de carapeba alimentadas apenas com náuplios de *A. tonsa* alcançaram sobrevivência mais baixa (Tabela 2) quando comparada à encontrada por Hernández-Molejón and Alvaréz-Lajonchère (2003), que obtiveram 12,5 %, com náuplios de *Oithona oculata*. Porém, as larvas alimentadas apenas com náuplios de *A. tonsa*, cresceram tanto quanto as larvas dos demais tratamentos, fato que pode ser explicado pela quantidade de alimento disponível em maior quantidade para um menor número de larvas, uma vez que a sobrevivência foi mas baixa neste tratamento.

A sobrevivência alcançou valores mais altos quando foi ofertada a mistura de rotíferos+náuplios de *A. tonsa* (Tabela 2). Este fato representa a importância de complementar a alimentação das larvas nos primeiros dias de vida com náuplios de copépodos, pois eles são pequenos o suficiente para a fase crítica da alimentação dos estágios iniciais das larvas (Su et al., 2005) e não necessitam de prévio enriquecimento em emulsões lipídicas, como necessitam os rotíferos e metanáuplios de *Artemia franciscana* (Lavens e Sorgeloos, 1996; Støttrup et al., 1999; Knuckey et al., 2005) que são deficientes em ácidos graxos altamente insaturados). Náuplios de copépodos possuem média de 40% de DHA e 16% de EPA, do total de lipídeos, em relação ao seu peso seco, e essa composição parece satisfazer as exigências nutricionais das larvas de peixes marinhos (van der Meeren et al., 2008).

É possível que algumas larvas do tratamento jejum tenham sobrevivido até 14 dias por causa do biofilme formado pelos micro-organismos e de seus produtos extracelulares presentes na água do mar que permaneceu no tanque antes do início da renovação de água, o que pode ter contribuído como fonte de alimento para essas larvas. Thompson et al. (1999) também observaram que micro-organismos

podem ser uma fonte de alimento, pois tem elevada concentração de N e P, permitindo sobrevivência de larvas de *Penaeus paulensis* por longos períodos.

O comprimento total (mm) das larvas do tratamento jejum foi significativamente inferior ao dos demais tratamentos, os quais apresentaram uma média próxima aos 6,00 mm (Tabela 2).

Os resultados indicaram que apesar das larvas possuírem um comprimento total sem diferenças significativas, as larvas alimentadas com a mistura de rotíferos e náuplios de copépodos foram mais resistentes ( $p > 0,05$ ) do que as larvas dos demais tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Sobrevivência (%) após teste de estresse das larvas de carapeba, com 15 dias de idade, alimentadas com três diferentes tratamentos ( $\chi^2$ , com  $\alpha=0,05$ ).

Tratamentos	Sobrevivência pós-estresse (%)
Rotífero <i>B. plicatilis</i>	55,56 <sup>b</sup> ± 1,00
Náuplios de <i>A. tonsa</i>	52,78 <sup>b</sup> ± 2,65
Rotífero + Náuplios de <i>A. tonsa</i>	88,89 <sup>a</sup> ± 2,00
Jejum	10,28 <sup>c</sup> ± 3,51

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

Os tratamentos rotífero e náuplios de copépodo não apresentaram diferenças significativas entre si, e apresentaram baixas taxas de resistência ao teste de estresse (Tabela 3). Porém, foram encontradas diferenças entre as larvas alimentadas com a mistura rotíferos + náuplios de copépodos e os demais tratamentos, comprovando que, embora as larvas sofram estresse durante a larvicultura (Luz, 2007; Poltronieri et al., 2008), a alimentação atua na resistência ao estresse (Luz, 2007) como observado por Kraul *et al.* (1993) ao alimentar larvas de dourado *Coryphaena hippurus* com copépodos e/ou com *Artemia* enriquecida com diferentes níveis de ácidos graxos, principalmente DHA. As larvas de dourado obtiveram uma maior resistência ao estresse quando altas concentrações de DHA estiveram presentes na dieta.

A resposta ao estresse pode representar uma ferramenta de grande importância para seleção dos melhores indivíduos para a aquicultura, sobretudo aqueles criados em sistemas intensivos (Lima et al., 2006). Dessa forma, os resultados do presente estudo indicam que poderia ser inapropriado continuar a larvicultura com as dietas que promoveram pouco mais de 50% no teste de estresse.

Sob o ponto de vista nutricional, uma dieta à base de rotíferos e *Artemia* pode ser totalmente substituída ou complementada com o uso de copépodos, uma vez que em relação ao perfil de ácidos graxos a composição desses animais supre as necessidades das larvas de peixes (Sargent et al., 1997; Mckinnon et al., 2003). A substituição total por copépodos, no presente estudo, não foi satisfatória, possivelmente não pela qualidade, mas pela quantidade de náuplios oferecida às larvas. Porém, a mistura de náuplios+rotíferos mostrou-se eficiente na resistência das larvas de carapeba ao estresse por exposição ao ar.

Com esses resultados, pode-se concluir que a dieta composta por rotíferos e complementada com náuplios de copépodos *A. tonsa* é uma opção que confere às larvas maior resistência ao estresse.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida à primeira autora, pelo Programa Amazônia Azul, e ao CNPq pela bolsa de pesquisa concedida ao professor Vinicius Cerqueira e bolsa de estudos para o terceiro autor. Agradecem também a colaboração do professor Mauro Melo Júnior pela confirmação da espécie de copépodo utilizado na pesquisa e ao apoio dado pelos alunos e técnicos do LAPMAR.

## REFERÊNCIAS

Ako, H., Clyde, S.T., Bass, P., Lee, C.S. 1994. Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding of enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 122, 81-9.

Alvaréz-Lajonchère, L., Pérez Sánchez, L. Hernández Molejón, O.G., Torres, Gómez. 1996. Mass production of striped patao *Eugerres brasilianus* juveniles in Cuba. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27, 3, 347-352.

Barton, B. A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42, 517-525.

Benfey, T.J., Biron, M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 184, 167-176.

Bromage, N. R., Roberts, R. J. 1995. Broodstock management and egg larval quality. Blackwell Science.

Cahu, C., Zambonino Infante, J. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200, 161-180

Cavalli, R.O., Hamilton, S. 2009. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. *Revista Brasileira de Reprodução Animal Suplemento*, 6, 64-69.

Chang, Q., Liang, M.Q., Wang, J.L., Chen, S.Q., Zhang, X.M., Liu, X.D. 2006. Influence of larval co-feeding with live and inert diets on weaning the tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *Aquaculture Nutrition*, 12, 135-139.

Civera-Cerecedo, R., Alvarez-González, C.A., Moyano-Lopez, F.J. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. In: Cruz Suárez, L.E.; Ricque Marie, D.; Nieto López, M.G.; Villarreal, D.; Scholz, U.; González, M. 2004. Avances en nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México.

Drillet, G., Lindley, L.C., Michels, A., Wilcox, J., Marcus, N.H. 2007. Improving cold storage of subterranean eggs of the copepod *Acartia tonsa* Dana from the Gulf of Mexico (USA-Florida). *Aquaculture Research*, 38, 457-466.

Figueiredo, J.L., N.A. Menezes. 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. VI Teleostei (5). São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.

Gaspar, A.G., Cervigón, F. 1987. Perspectivas del cultivo de peces marinos en el Caribe Sur y noreste de Sudamerica. *Revista Latinoamericana de Acuicultura*, 34, 41-52.

Hernández-Molejón, O.G., Álvarez-Lajonchère, L. 2003. Culture experiments with *Oithona oculata* Farran, 1913 (Copepoda: Cyclopoida), and its advantages as food for marine fish larvae. *Aquaculture*, 219, 471-483.

Kanazawa, A. 1997. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. *Aquaculture*, 155, 129-134.

Knuckey, R.M., Semmens, G.L., Mayer, R.J., Rimmer, M.A. 2005. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: Effect of algal species and feed concentration on copepod development. *Aquaculture*, 249, 339-351.

Kolkovski, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles—implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200, 181-201.

Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., Tandler, A. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193, 107-122.

Kraul, S., Britain, K., Cantrell, R., Nagao, T., Ako, H., Ogasawara, A., Kitagawa, H. 1993. Nutritional factors affecting stress resistance in the larval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24, 187-193.

Lavens, P., Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Tech. Fish. Pap. 361. Lavens and Sorgeloos (Eds), Ghent, Belgium, 295 p.

Leu, M.M., Chou, Y.H. 1996. Induced spawning and larval rearing of captive yellowfin porgy, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn). *Aquaculture*, 143, 155-166.

Lima, L.C., Ribeiro, L.P., Leite, R.C., Melo, D.C. 2006. Estresse em peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 30, 3/4, 113-117.

Luz, R.K., Portella, M.C. 2005. Tolerance to the air exposition test of *Hoplias lacerdae* larvae and juvenile during its initial development. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 4, 567-573.

Luz, R.K. 2007. Resistência ao estresse e crescimento de larvas de peixes neotropicais alimentadas com diferentes dietas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42, 1, 65-72.

- Luz, R.K., Ribeiro, P.A. P., Ikeda, A.L., Santos, A.E.H., Melillo Filho, R., Turra, E.M., Teixeira, E. de A. 2012. Performance and stress resistance of Nile tilapias fed different crude protein levels. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 2, 457-461.
- Martins, M.L., Moraes, F.R., Moraes, J.R.E., Malheiros, E.B. 2000. Falha na resposta do cortisol ao estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Acta Scientiarum*, 22, 545-552.
- McKinnon, A.D., Duggana, S., Nichols, P.D., Rimmer, M.A., Semmens, G., Robino, B. 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. *Aquaculture*, 223, 89-106.
- Olivotto, I., Buttino, I., Borroni, M., Piccinetti, C.C., Malzone, M.G., Carnevali, O. 2008. The use of the Mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in Yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. *Aquaculture*, 284, 211-216.
- Passini, G., Carvalho, C.V.A., Landuci, F.S., Cerqueira, V.R. Maturation and induced spawning of mojarra *Eugerres brasiliensis*. In: World Aquaculture Society, 2011, Natal, RN. Anais... Natal: 2011.
- Poltronieri, C., Negrato, E., Bertotto, D., Majolini, D., Simontacchi, C., Radaelli, G. 2008. Immunohistochemical localization of constitutive and inducible Heat Shock Protein 70 in carp (*Cyprinus carpio*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to transport stress. *European Journal of Histochemistry*, 52 (3), 191-198.
- Sargent, J.R., McEvoy, L.A., Bell, J.G. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155, 85-101.
- Schipp, G.R., Bosmans, J.M.P., Marshall, A.J. 1999. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. *Aquaculture*, 174, 81-88.
- Støttrup, J.G., Richardson, K., Kirkegaard, E., Pihl, N.J. 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* for use as a live food source for marine fish larvae. *Aquaculture* 52, 87-96.

Støttrup, J.G. 2000. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquaculture Research*, 31, 703-711.

Støttrup, J.G., Bell, J.R. 1999. Sargent .The fate of lipids during development and cold-storage of eggs in the laboratory-reared calanoid copepod, *Acartia tonsa* Dana, and in response to different algal diets. *Aquaculture* 176. 257–269.

Støttrup, J.G., McEvoy, L.A. 2003. Live feeds in marine aquaculture. Blackwell Science.

Su, H. M. et al. Culture of copepods and applications to marine finfish larval rearing in Taiwan. In: *Copepods in aquaculture*. Eds. LEE, C-S.; O'BRYEN, P.; MARCUS, N. H. Blackwell Publishing, USA, 2005. 269p.

Thompson, F.L., Abreu, P.C., Cavalli, R. 1999. The use of microorganisms as food source for *Penaeus paulensis* larvae. *Aquaculture*, 174-139-153.

Toledo, J.D., Golez, M.S., Ohno, A. 2005. Studies on the use of copepods in the semi-intensive seed production of grouper *Epinephelus coioides*. In: *Copepods in Aquaculture* (ed. By. Lee, C.S.; O'Bryen, P.J.; Marcus, N.H.), pp.11-24. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

Van Anholt, R.D., Koven, W.M., Lutzky, S., Bonga, S.E.W. 2004. Dietary supplementation arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 238, 369-383.

Van der Meeren, T., Olsen, R.E., Hamre, K., Fyhn, H.J. 2008. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. *Aquaculture*, 274, 375-397.

Vasconcelos Filho, A.L., Neumann-Leitão, S., Eskinazi-Leça, E., Oliveira, A.M.E., Porto-Neto, F.F. 2009. Hábitos alimentares de consumidores primários da ictiofauna do sistema estuarino de Itamaracá (Pernambuco - Brasil). *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 4, 1, 21-31.

## CONCLUSÕES GERAIS

Com os resultados desta pesquisa pode-se constatar que é possível obter uma produção de náuplios para iniciar uma criação de copépodo, sendo a dieta 100 000 cél mL<sup>-1</sup> de *C. muelleri* uma opção que garante maior produção de náuplios em relação às demais.

A manutenção desses organismos sob condições de baixo fornecimento de alimento ajuda em momentos em que não há suficiente produção de microalgas em laboratório, o que é uma realidade principalmente para aquarofilistas.

A dieta composta por rotíferos e náuplios de copépodos *Acartia tonsa* torna as larvas de robalo-flecha, de 20 dias de idade, mais resistentes ao estresse térmico.

O presente estudo demonstrou, ainda, que a resistência ao estresse por exposição ao ar aumenta quando a dieta das larvas de carapeba é complementada com náuplios de copépodos. Mas a dieta composta apenas por náuplios, na quantidade utilizada neste trabalho, não torna as larvas mais resistentes, sendo, portanto, inapropriada a alimentação unicamente com náuplios.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

AGUIRRE-LEÓN, A.; DIAZ-RUIZ, S. Estrutura poblacional, madurez gonádica y alimentación de *Eugerres plumieri* (Gerreidae) en el sistema fluvio-deltaico Pom-Atasta, México. **Ciencias Marinas**, v.26, n.2, p.253-273, 2000.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; PÉREZ-SÁNCHEZ, L.; HERNÁNDEZ-MOLEJÓN, O.G.; TORRES-GÓMEZ, E. Mass production of striped patao *Eugerres brasilianus* juveniles in Cuba. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.27, n.3, p.347-352, 1996.

\_\_\_\_\_; HERNÁNDEZ-MOLEJÓN, O.G. **Reproducción y larvicultura de peces marinos**. Recife: Aquicultura Brasil'98. 110 p. 1998.

\_\_\_\_\_. Cultivo de robalos: Potencialidades e resultados. **Panorama da Aquicultura**, v.14, n.85, p.15-21. 2004.

ARAÚJO, F.G.; SANTOS, A.C. de A. Distribution and recruitment of Mojarra (Perciformes, Gerreidae) in the continental margin of Sepetiba Bay, Brazil. **Bulletin of Marine Science**, v.65, n.2, p.431-439, 1999.

AUSTIN, H.A. Some aspects of the biology of the rhomboid mojarra *Diapterus rhombeus* in Puerto Rico. **Bulletin of Marine Science**, v.21, n.4, p.886-903, 1971.

BARROSO, M.V.; PEREIRA JUNIOR, M.A.; TARDIN, F.D. Freqüência relativa das populações de robalo *Centropomus parallelus*, *Centropomus undecimalis* e *Centropomus ensiferus* na foz do Rio Doce, Linhares, Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 14, 2005. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: CONBEP, 2005, p.1035-1049, 1 CD.

BERSANO, J.G.F. 2002. Cultivos massivos de copépodes para utilização como alimento vivo na piscicultura marinha: Apresentação de um novo método de cultivo. Trabalho apresentado como relatório final – CNPq Proc. RD No 301318/00.0.

BROMAGE, N.R; ROBERTS, R.J. Broodstock management and egg larval quality. Blackwell Science. 1995. 424p.

CAHU, C.; ZAMBONINO INFANTE, J. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. **Aquaculture**, v.200, p.161–180, 2001.

CARVALHO FILHO, A. Peixes da costa brasileira. São Paulo. Ed Marca D'água, 1992. 304p.

CASTELL, J.D.; BELL, J.G.; TOCHER, D.R.; SARGENT, J.R. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenili turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v.128, p.315-333, 1994.

CAVALLI, R.O. Beijupirada? **Panorama da Aquicultura**, v.22, p.56-59, 2012.

CERQUEIRA, V.R. Cultivo de robalo-peva, *Centropomus parallelus*. In: Baldisseroto, B.; Gomes, L. de C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Ed. UFSM. 2005. 468 p.

\_\_\_\_\_, V.R.; BRUGGER, A. M. Effect of light intensity on initial survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) larvae. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.44, n.4, p.343-349, 2001.

\_\_\_\_\_; ARAÚJO, J.; NOLLI, N.L.; MACCHIAVELLO, J. Incubação de ovos e larvicultura. In: **Cultivo do Robalo: Aspectos da Reprodução, Larvicultura e Engorda**. CERQUEIRA, V. R. Florianópolis: Ed. Do autor, 2002. 94p.

\_\_\_\_\_. Cultivo de peixes marinhos. In: Poli, C. R.; POLI, A. T. B.; ANDREATTA, E. e BELTRAME E. (org.). **Aquicultura: Experiências brasileiras**. Multitarefa Editora. Florianópolis/SC. 2004. p.369-406.

\_\_\_\_\_; TSUZUKI, M.Y. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. **Fish Physiology Biochemistry**, v.35, p.17-28, 2009.

CERVETTO, G.; GAUDY, R.; PAGANO, M.; SAINT-JEAN, L.; VERRIOPOULOS, G.; ARFI, R.; LEVEAU, M. Diel variations *Acartia*

*tonsa* feeding, respiration and egg production in a Mediterranean coastal lagoon. **Journal of Plankton Research**, v.11, n.15, p.1207-1228, 1993.

CHANG, Q.; LIANG, M.Q.; WANG, J.L.; CHEN, S.Q.; ZHANG, X.M.; LIU, X.D. Influence of larval co-feeding with live and inert diets on weaning the tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. **Aquaculture Nutrition**, v.12, p.135–139, 2006.

CHEN, Y.C. Immobilized *Isochrysis galbana* (Haptophyta) for long-term storage and applications for feed and water quality control in clam (*Meretrix lusoria*) cultures. **Journal of Applied Phycology**, v.15, p.439–444, 2003.

CHENG, S.H.; AOKI, S.; MAEDA, M.; HINO, A. Competition between the rotifer *Brachionus rotundiformis* and the ciliate *Euplotes vannus* fed on two different algae. **Aquaculture**, v.241, p.331–343, 2004.

CORRÊA, C.F.; CERQUEIRA, V.R. Effects of stocking density and size distribution on growth, survival and cannibalism in juvenile fat snook (*Centropomus parallelus* Poey). **Aquaculture Research**, v.38, p.1627-1634, 2007.

\_\_\_\_\_. Densidade de estocagem para juvenis de robalo-peva após a larvicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 34(4): 571 - 576, 2008.

CYRUS, D. P.; BLABER, S. J. M. The reproductive biology of Gerres in Natal estuaries. **Journal of Fishery Biology**, v.24, p.491-504, 1984.

DHERT, P.; ROMBAUT, G.; SUANTIKA, G.; SORGELOOS, P. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. **Aquaculture**, v.200, p.129–146, 2001.

EIRAS-STOFELLA, D.R.; FANTA, E. Ontogenesis of *Eugerres brasiliensis* (Cuvier, 1830) (Pisces-Gerreidae) obtained by fertilization “in-vitro”. **Revista de Biología Marina**, v.26, n.1, p.21-36, 1991.

FAO, 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, 2012. Disponível online: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e00.htm> Acessado em 23 de abril de 2013.

FIGUEIREDO, J.L.; N.A. MENEZES. 1980. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil**. VI Teleostei (5). São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.

FLEEGER, J. W. The potential to mass-culture harpacticoid copepods for use as food for larval fish. In: **Copepods in aquaculture**. Eds. LEE, C-S.; O'BRYEN, P.; MARCUS, N. H. Blackwell Publishing, USA, 2005. 269p.

FREITAS, L.E.L.; NUNES, A.J.P.; SÁ, M.V do C. Growth and feeding responses of the mutton snapper, *Lutjanus analis* (Cuvier 1828), fed on diets with soy protein concentrate in replacement of Anchovy fish meal. **Aquaculture Research**, v.42, n.6, p.866–877, 2011.

GASPAR, A. G.; CERVIGÓN, F. Perspectivas del cultivo de peces marinos en el Caribe Sur y noreste de Sudamerica. **Revista Latinoamericana de Acuicultura**, v.34, p.41-52, 1987.

GILMORE Jr., R. G.; GREENFIELD, D.W. 2002. Gerreidae. In: FAO-WCA: 1506- 1521.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquíicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.351-360, jul./set. 2007.

HOFF, F.H.; SNELL, T.W. **Plankton culture manual**. Sixth edition. Florida, USA: Florida Aqua Farms, Inc., 2004. 181 p.

KNUCKEY, R.M.; SEMMENS, G.L.; MAYER, R.J.; RIMMER, M.A. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: Effect of algal species and feed concentration on copepod development. **Aquaculture**, v.249, p.339-351, 2005.

LAU, S.R.; SHAFLAND, P.L. Larval Development of Snook, *Centropomus undecimalis* (Pisces: Centropomidae). **Copeia**, v.1982, n.3, p.618-627, 1982.

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. 1996. **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. FAO Tech. Fish. Pap. 361. Lavens and Sorgeloos (Eds), Ghent, Belgium, 295 p.

LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, R. C.; MELO, D. C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, n.3/4, p.113-117, 2006.

LOURENÇO, S. Cultivo de Microalgas Marinhas - Princípios e Aplicações. Ed. Rima. 2006. 606p.

LUBZENS, E.; ZMORA, O.; BARR, Y. Biotechnology and aquaculture of rotifers. **Hydrobiologia**, v.446/447, p.337-353, 2001.

LUZ, R.K. Resistência ao estresse e crescimento de larvas de peixes neotropicais alimentadas com diferentes dietas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.1, p.65-72, 2007.

McEVOY, L.A.; SARGENT, J.R. Problems and techniques in live prey enrichment. **Bulletin Aquaculture Association**, v.98, p.12-16, 1998.

MISPECES – El portal de acuicultura. 2011. La primera fase Del criadero y preengorde de Futuna Blue SL estará concluída en abril. [http://www.mispecies.com/noticias/2011/feb/110214-abril-criadero-atun-rojo-futuna.asp?goback=.gde\\_782117\\_member\\_43614301](http://www.mispecies.com/noticias/2011/feb/110214-abril-criadero-atun-rojo-futuna.asp?goback=.gde_782117_member_43614301)

MOLEJÓN, O.G.H.; ALVARÉZ-LAJONCHÈRE, L. Sistemas de policultivos de zooplancton para alimentar larvas de peces marinos en Cuba. In: Aquicultura Brasil'1998. Recife. **Anais...**1998. p.141-150.

MONTÚ, M. Zooplâncton do estuário da Lagoa dos Patos. I. Estrutura e variações temporais e espaciais da comunidade, **Atlântica**, v.4, p.53-72. 1980.

MUNILLA-MORAN, R.; STARK, J.R.; BARBOUR, A. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, v.88, p.337-350, 1990.

OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In:

TAVARES-DIAS, M. (Org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Embrapa. Amapá, Macapá. 2009. p.22-247.

ORRELL, T.M. 2002. Order Perciformes. Suborder Percoidei. Centropomidae. Snooks. In: CARPENTER, K. E. (ed.). The living marine resources of the Western Central Atlantic. FAO Species identification Guide for Fishery Purposes and American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication, n.5, v2. Roma: FAO, p.1286-1293.

PASSINI, G.; CARVALHO, C.V.A ; LANDUCI, S. F. ; CERQUEIRA, V.R. . Maturation and induced spawning of mojarra *Eugerres brasilianus*. In: WORLD AQUACULTURE 2011, Natal-RN. **Anais...** World Aquaculture 2011.

PECK, M.A.; HOLSTE, L. Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): Optimizing intensive cultures. **Aquaculture**, v.255, p.341–350, 2006.

PEDERSEN, B.H. The intestinal evacuation rates of larval herring (*Clupea harengus* L.) predated on wild plankton. **Dana**, v.3, p.21-30, 1984.

PITZ, S. Especialista produz com sucesso alevinos de robalo-flecha. **Panorama da Aquicultura**, n.114, p.9, 2009.

PLANTE. S.; PERNET, F.; HACHÉ, R.; RITCHIE, R.; JI, B.; McINTOSH, D. Ontogenetic variations in lipid class and fatty acid composition of haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* in relation to changes and diet and microbial environment. **Aquaculture**, v.263, p.107-121, 2007.

POLTRONIERI, C.; NEGRATO, E.; BERTOTTO, D.; MAJOLINI, D.; SIMONTACCHI, C.; RADAELLI, G. Immunohistochemical localization of constitutive and inducible Heat Shock Protein 70 in carp (*Cyprinus carpio*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to transport stress. **European Journal of Histochemistry**, v.52, n.3, p.191-198, 2008.

RIVAS, L. R. Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. **Copeia**, v.3, p.579–611, 1986.

RODRIGUES, R.V.; FREITAS, L.S.; SAMPAIO, L.A. efeito da intensidade luminosa sobre a capacidade de predação de larvas do peixe-rei marinho *Odontesthes argentinensis*. **Ciência Rural**, v.39, n.1, p.246-249, 2009.

SAMPAIO, L. A.; BIANCHINI, A. Salinity effects on osmoregulation and growth of the eurialine flounder *Paralichthys orbignyanus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, n.269, p.187-196, 2002.

SANCHES, E.D.; AZEVEDO V.G.; COSTA, M.R. Criação da groupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Teleostei; Serranidae) alimentada com rejeito de pesca e ração úmida em tanques-rede. **Atlântica**, v.2, n.29, p.121-126, 2007.

SARGENT, J.; McEVOY, L.A.; BELL, J.G. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. **Aquaculture**, v.155, p.85-101, 1997.

SARGENT, J.; BELL, G.; McEVOY, L.; TOCHER, D.; STEVEZ, A. Recent developments in the essential fatty acids nutrition in fish. **Aquaculture**, v.177, p.191-199, 1999.

SCHIPP, G.R.; BOSMANS, J.M.P.; MARSHALL, A.J. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. **Aquaculture**, n.174, p.81-88, 1999.

SEDLACEK, C.; MARCUS, N.H. Egg production of the copepod *Acartia tonsa*: The influence of hypoxia and food concentration. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.318, p.183–190, 2005.

SEIFFERT, M. E. B.; CERQUEIRA, V. R.; MADUREIRA, L. A. S. Effect of dietary (n-3) highly unsaturated fatty acids on growth and survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) larvae during first feeding. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 645-651, 2001.

SHANSUDIN L.; YUSOF, M.; AZIS, A.; SHUKRI, Y. The potential of certain indigenous copepod species as live food for commercial fish larval rearing. **Aquaculture**, v.151, p.351-356, 1997.

SILVA, J. P.; REIS, N. S.; MELLO, R. M. Caracterização macro- e microscópica dos ovários das carapebas e caratingas, durante o ciclo reprodutivo. **Omnia Saúde**, v.I (II), p.55-67, 2005.

SOLIGO, T.A.; GARCIA, A.S.; CERQUEIRA, V.R. Weaning of the common snook (*Centropomus undecimalis*) early juveniles reared in laboratory using commercial and experimental diets. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.37, n.4, p.367-374, 2011.

SOUSA Jr., V.B. de; SILVA, J.R.F.; SALLES, R. de. Análise ovariana do ariacó, *Lutjanus synagris* (Actinopterygii: Lutjanidae), e considerações sobre sua reprodução no estado do Ceará. **Arquivos de Ciências do Mar**, v.41, n.1, p.90-97, 2008.

STØTTRUP, J.G.; RICHARDSON, K.; KIRKEGAARD, E.; PIHL, N.J. The cultivation of *Acartia tonsa* for use as a live food source for marine fish larvae. **Aquaculture**, v.52, p.87-96, 1986.

STØTTRUP, J.G. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. **Aquaculture Research**, v.31, p.703-711, 2000.

\_\_\_\_\_.; McEVOY, L.A. **Live feeds in marine aquaculture**. Blackwell Science. 2003. 318 p.

\_\_\_\_\_.; BELL, J.G.; SARGENT, J.R. The fate of lipids during development and cold-storage of egg in the laboratory-reared calanoid copepod, *Acartia tonsa* Dana, and in response to different algal diets. **Aquaculture**, v.176, p.257-269, 1999.

SU, H. M. et al. Culture of copepods and applications to marine finfish larval rearing in Taiwan. In: **Copepods in aquaculture**. Eds. LEE, C-S.; O'BRYEN, P.; MARCUS, N. H. Blackwell Publishing, USA, 2005. 269p.

TAYLOR, R.G. et al. Age, growth, maturation, and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east

and west coasts of South Florida. **Fishery Bulletin**, v.98, p.612-624, 2000.

VAN DER MEEREN, T.; OLSEN, R.E.; HAMRE, K.; FYHN, H.J. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. **Aquaculture**, v.274, p.375-397, 2008.

VENGADESHPERUMAL, N.; DAMOTHARAN, P.; RAJKUMAR, M.; PERUMAL, P.; VIJAYALAKSHMI, S.; BALASUBRAMANIAN T. Laboratory Culture and Biochemical Characterization of the Calanoid Copepod, *Acartia southwelli* Sewell, 1914 and *Acartia centrura* Giesbrecht, 1889. **Advances in Biological Research**, v.4, n.2, p.97-107, 2010.

WALKER, K.F. A synopsis of ecological information on the saline lake rotifer *Brachionus plicatilis* Müller 1786. **Hydrobiologia**, v.81, p.159-167, 1981.

WATANABE, T.; KITAJIMA, C.; FUJITA, S. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. **Aquaculture**, n.34, p.115-143, 1983.

YÚFERA, M.; DARIAS, M.J. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. **Aquaculture**, v.268, p.53-63, 2007.