



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

EFEITO DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM NO CULTIVO DO COPÉPODE  
*Acartia tonsa* E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL COMO ALIMENTO  
VIVO NA LARVICULTURA DO ROBALO-PEVA *Centropomus parallelus*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

**Orientador:** Vinícius Ronzani Cerqueira

FELIPE MORAIS SANTOS

Florianópolis – 2005

## FICHA CATALOGRÁFICA

SANTOS, Felipe Morais

Efeito da Densidade de Estocagem no cultivo do *Acartia tonsa* e avaliação do seu potencial como alimento vivo na larvicultura do robalo-peva *Centropomus parallelus* / Felipe Morais Santos – 2005.

57 f.: grafs., tabs.

Orientador: Vinícius Ronzani Cerqueira

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias.

1. *Acartia tonsa*, , , copépode 2. Copépode 3. cultivo 4. densidade de estocagem 5. *Centropomus parallelus*.

Efeito da Densidade de Estocagem no cultivo do Copépode *Acartia tonsa* e avaliação do seu potencial como alimento vivo na larvicultura do robalo-peva *Centropomus parallelus*

**Por**

FELIPE MORAIS SANTOS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQÜICULTURA**

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

---

Profa. Débora Machado Fracalossi, Dra.  
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira - *Orientador*

---

Dra. Andrea Santarosa Freire

---

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki

*Este trabalho é dedicado aos meus pais  
Clóvis dos Santos e Regina Célia*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo aos meus pais Clóvis e Regina, que sempre me incentivaram e me apoiaram na tomada de decisões por toda minha vida.

Agradeço ainda à minha mais querida irmã Cynthia, aos meus primos irmãos Sanny Lys e Nano, meus tios e tias e a minha avó por sempre torcerem pelo meu sucesso pessoal e profissional.

Não tenho palavras para agradecer à pessoa mais importante da minha vida, que me ajudou a enfrentar todas as dificuldades e a ser muito feliz: minha melhor amiga Carol...nunca vou te esquecer linda!

Sou muito grato aos meus amigos, irmãos que estão convivendo e enfrentando essa batalha comigo desde os tempos da faculdade (bons tempos aqueles moçada): Baiano, Buscapé, Karina, Dea, Fred e Saulinha.

Ao Dr. Vinícius Cerqueira pela orientação, pelos conselhos e por sua colaboração ao longo de todo o desenrolar desse mestrado.

Aos companheiros do LAPMAR: Sônia, Sayão, Jaque, Vaíco, Israel, Prof<sup>a</sup>. Mônica, Sara, Andreza e aos amigos e incentivadores, Julico do Jaíba (agora de Cananéia), Davi (perna oca), Soligo e Ari (outro!!!).

Aos colegas de mestrado e amigos que fiz aqui ao longo desses dois anos: Thais, Karlia, Tati, Léo, Rafa, Mônica, Flávia, Jesus, Moira, Cláudio, Ricardo e Pedro.

Não posso deixar de falar dos muitos amigos e vizinhos que fiz nessa ilha maravilhosa e que foram ótimos companheiros em muitos momentos: Débora, Elis, Nara, Lu, Elaine, Paulinha, Karlinha, Beto, Alê, Miojo, Caroço, Negão, Ziggy, Flávia, Katinha, Mari, Cris, Mili, Deba, Tiago (Braço), Dimi, Dona Fátima e Seu Luiz.

Ao apoio obtido dos funcionários e estagiários dos cepários do LCM, através do Roberto, e do LMM, através da Adriana, pelo fornecimento das microalgas utilizadas neste trabalho.

À banca examinadora por suas críticas e sugestões e ao Prof. José Guilherme Bersano (FURG) por seu interesse e sua valiosa colaboração.

Aos professores e funcionários do PPG em Aqüicultura da UFSC pelos ensinamentos e pelo apoio oferecido.

À CAPES pelo provimento da bolsa de apoio ao desenvolvimento deste trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E FIGURAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVOS.....	4
CORPO DO ARTIGO DE REVISÃO.....	5
Resumo/Abstract.....	5
Introdução.....	6
A importância das microalgas.....	7
Métodos de cultivo dos copépodes.....	9
O potencial do copépode como alimento vivo.....	15
Potencial como alimento vivo para o robalo-peva.....	17
Referências bibliográficas.....	18
CORPO DO ARTIGO CIENTÍFICO.....	22
Resumo/Abstract.....	22
Introdução.....	23
Material e métodos.....	24
Resultados.....	28
Discussão.....	35
Conclusões.....	38
Referências bibliográficas.....	39
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL..... 43

ANEXO I..... 47

ANEXO II..... 54

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

### ARTIGO DE REVISÃO

#### FIGURAS

1: Diagrama esquemático do sistema de produção de copépodes <i>A. tonsa</i> desenvolvido por Støttrup <i>et al.</i> (1986).....	11
2: Diagrama esquemático do sistema de produção de copépodes <i>Acartia</i> spp. desenvolvido por Schipp <i>et al.</i> (1999).....	13
3: Modelo de funcionamento do sistema de filtração e coleta de ovos do tanque de reprodutores desenvolvido por Bersano (2002).....	14
4: Diagrama esquemático do sistema de produção de copépodes <i>A. tonsa</i> proposto por Bersano (2002).....	15

### ARTIGO CIENTÍFICO

#### FIGURAS

1: Modelo de funcionamento do sistema coletor de ovos do copépode <i>A. tonsa</i> desenvolvido por Bersano (2002).....	26
2: Produção de ovos pelas fêmeas de <i>A. tonsa</i> no cultivo do tanque de reprodutores.....	28
3: Taxas de eclosão dos ovos produzidos pelas fêmeas do copépode <i>A. tonsa</i> no cultivo do tanque de reprodutores.....	29
4: Percentual de sobrevivência média dos copépodes <i>A. tonsa</i> cultivados nas diferentes densidades de estocagem, ao longo do período experimental. Letras diferentes no mesmo dia indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).....	30
5: Taxas de desenvolvimento (náuplio, copepodito e adulto) do copépode <i>A. tonsa</i> nas densidades de 500 L <sup>-1</sup> (A), 1000 L <sup>-1</sup> (B), 2000 L <sup>-1</sup> (C) e 4000 L <sup>-1</sup> (D). Letras diferentes no mesmo dia indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).....	31
6: Consumo médio de células da microalga T-Iso por indivíduo por dia nas diferentes densidades de cultivo do copépode <i>A. tonsa</i> . Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão.....	32
7: Percentual de sobrevivência média do copépode <i>A. tonsa</i> cultivado nas diferentes densidades de estocagem, ao longo do período experimental. Letras diferentes no mesmo dia indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).....	33
8: Produção média de ovos por dia pelas fêmeas do copépode <i>A. tonsa</i> cultivado nas diferentes densidades de estocagem. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão.....	33

- 9: Taxa de eclosão média dos ovos do copépode *A. tonsa* cultivado nas diferentes densidades de estocagem. Letras iguais indicam que não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão..... 34
- 10: Consumo médio de células da microalga TWE por indivíduo por dia nas diferentes densidades de cultivo de adultos do copépode *A. tonsa*. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão..... 35
- TABELAS**
- 1: Valores máximos, mínimos e médios do número de ovos produzidos por dia, do número de ovos por fêmea por dia e a sua taxa de eclosão, para o cultivo no tanque de reprodutores..... 28
- 2: Valores máximos e mínimos do número de ovos produzidos por fêmea por dia e suas taxas de eclosão para *A. tonsa* nas diferentes densidades de estocagem..... 34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ARA 20:4(n-6).....	Ácido araquidônico
DHA 22:6(n-3).....	Ácido docosahexaenóico
EPA 20:5(n-3).....	Ácido eicosapentaenóico
PUFA.....	Ácidos graxos polinsaturados
NH <sub>3</sub> + NH <sub>4</sub> .....	Amônia total
cél. dia <sup>-1</sup> .....	Células por dia
cél. mL <sup>-1</sup> .....	Células por mililitro
CI-CVI.....	Copepoditos um a seis
Ø.....	Diâmetro
DAE.....	Dias após eclosão
EUA.....	Estados Unidos da América
°C.....	Grau Celsius
h.....	Horas
ind.....	Indivíduos
T-Iso.....	<i>Isochrysis</i> (cepa do Tahiti)
LAPMAR.....	Laboratório de Piscicultura Marinha
μE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> .....	Micro-Einstein por metro quadrado por segundo
μg C L <sup>-1</sup> .....	Micrograma de Carbono por litro
μm.....	Micrômetro
μmole m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> .....	Micromole por metro quadrado por segundo
mg.....	Miligrama
mm.....	Milímetro
min.....	Minuto
NI-NVI.....	Náuplios um a seis
O <sub>2</sub> .....	Oxigênio
%.....	Partes por mil
ppm.....	Partes por milhão
fêmea <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> .....	Produção por fêmea por dia
TWE.....	<i>Thalassiosira weissflogii</i>
UFSC.....	Universidade Federal de Santa Catarina

## RESUMO

O copépode calanóide *Acartia tonsa* é considerado uma espécie cosmopolita, cuja bioecologia foi amplamente estudada por diversos pesquisadores em várias partes do mundo. O interesse por esta espécie vem sendo renovado devido ao seu potencial como fonte de alimento vivo de elevado valor nutricional para larvas de peixes marinhos. O presente trabalho apresenta uma revisão dos trabalhos relacionados a este copépode. É mostrada a importância das microalgas em relação às suas fases de desenvolvimento, em termos de tamanho de partícula, sua concentração e suas vantagens qualitativas para a sobrevivência e uma maior produção de ovos por fêmea. Para que o uso destes animais em larviculturas se torne uma realidade, algumas metodologias de cultivo do copépode *Acartia* spp foram descritas por pesquisadores na Dinamarca, Austrália e Brasil. Além disso, são discutidas as suas vantagens, do ponto de vista nutricional, para larvas de peixes marinhos e o seu potencial como alimento vivo na larvicultura do robalo-peva *Centropomus parallelus*. Adultos da espécie *Acartia tonsa* capturados no ambiente natural foram cultivados por um mês sob condições controladas, sendo oferecida a microalga *Thalassiosira weissflogii* a uma densidade de  $5 \times 10^4$  cél. mL como único alimento. Os ovos e náuplios produzidos nos tanques de reprodutores foram coletados diariamente através de um sistema simples e eficiente, e transferidos para tanques de crescimento, sendo oferecida *Isochrysis* (T-Iso) a uma densidade de  $1 \times 10^5$  cél. mL<sup>-1</sup>. Uma parte dos náuplios coletados diretamente dos tanques de reprodutores foi cultivada sob as densidades de 500, 1000, 2000 e 4000 ind. L<sup>-1</sup>. As taxas médias de sobrevivência após uma semana foram respectivamente de 28,6%, 62,2%, 49,7% e 13,3%. As taxas de desenvolvimento foram mais lentas em 4000 L<sup>-1</sup> de náuplios a copepoditos, no quinto dia, e de copepoditos a adultos, no sétimo dia. Copépodes adultos retirados dos tanques de crescimento foram cultivados nas densidades de 50, 100, 200 e 400 ind. L<sup>-1</sup>. As taxas médias de sobrevivência após uma semana foram respectivamente de 19,5%, 20,0%, 25,0% e 14,2%. A produtividade foi mais elevada na menor densidade (26,7, 17,2, 16,2 e 10,4 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>), havendo diferença significativa em relação à maior. As taxas de eclosão foram elevadas e muito próximas entre si (82, 88, 85 e 88%).

EFFECT OF STOCKING DENSITY OVER THE CULTURE OF THE COPEPOD  
*Acartia tonsa* AND AVALIATION OF ITS POTENTIAL AS LIVE FOOD IN THE REARING  
OF THE FAT SNOOK *Centropomus parallelus*

ABSTRACT

The calanoid copepod *Acartia tonsa* is considered a cosmopolitan species and its bioecology was widely studied by many researchers around the world. The interest in this species has been renewed because of its potential as a source of live feed with an elevated nutritional value for marine fish larvae. This dissertation presents a review of previous studies related to this copepod. It emphasizes the importance of some microalgae in relation to the copepod developmental stages in terms of particle size, concentration, and its advantages concerning survival and egg production per female. In order to use these animals in hatcheries, some methodologies about the *Acartia* spp. culture were described by researchers in Denmark, Australia and Brazil. Some of the copepod advantages from the point of view of its nutritional value to marine fish larvae and its potential as live feed in the rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*, were also discussed. Adult *Acartia tonsa* captured in the wild were cultured for a month under controlled conditions and fed the microalgae *Thalassiosira weissflogii* at a density of  $5 \times 10^4$  cells mL<sup>-1</sup>. Eggs spawned in reproduction tanks were daily collected by means of a simple and efficient system and transferred to rearing tanks, where the copepods were fed the microalgae *Isochrysis* (T-Iso) at a density of  $1 \times 10^5$  cells mL<sup>-1</sup>. Part of the nauplii collected from the reproduction tanks were reared in 500, 1000, 2000 and 4000 individuals L<sup>-1</sup> stocking densities. After one week survival rates were 28.6%, 62.2%, 49.7 and 13.3%, respectively. Developmental rates were lower in 4000 L<sup>-1</sup> from nauplii to copepodites, in the fifth day, and from copepodites to adults, in the seventh day. Adult copepods taken from the rearing tanks were stocked at densities of 50, 100, 200 and 400 individuals L<sup>-1</sup>. After one week, mean survival rates were 19.5%, 20.0%, 25.0% and 14.2%, respectively. Better productivity was observed in the lower density (26,7, 17,2, 16,2 e 10,4 eggs female<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) occurring significant difference to the higher. Hatching rates were elevated and near each other (82, 88, 85 and 88%).

## INTRODUÇÃO GERAL

A aqüicultura é uma atividade que abrange diversas áreas, dentre as quais se destaca a piscicultura marinha, que visa fundamentalmente promover o cultivo das espécies de peixes adaptados a viver em ambientes de água salgada ou estuários (Le François *et al.*, 2002). Este ramo do cultivo de organismos aquáticos é uma atividade que passou a ser considerada imprescindível como alternativa à oferta de pescados de origem marinha (Brown, 2002). Inúmeras pesquisas vêm sendo direcionadas ao cultivo desses peixes, com a finalidade de desenvolver uma tecnologia apropriada e promover o crescimento da atividade (Shields, 2001; Brown, 2002). Assim, diversas espécies marinhas passaram a receber atenção especial por parte dos pesquisadores, inclusive no Brasil, sendo que na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) vem tendo sucesso na reprodução e larvicultura do robalo-peva *Centropomus parallelus* (Cerqueira, 2002), pela realização de pesquisas voltadas à criação de um pacote tecnológico para o cultivo dessa espécie em escala comercial.

O robalo-peva *Centropomus parallelus* Poey, 1860, da família Centropomidae, é uma espécie eurihalina, amplamente distribuída pelas regiões tropical e subtropical do Oceano Atlântico Ocidental (Rivas, 1986), habitando águas costeiras e estuarinas desde a costa da Flórida (EUA) até o litoral de Santa Catarina (Figueiredo e Menezes, 1980), com ocorrências esporádicas na costa do Rio Grande do Sul (Chao *et al.*, 1982), sendo este o seu limite no Hemisfério Sul. Benetti (1998) e Cerqueira (2002) indicam que esta espécie apresenta potencial para aqüicultura por ser resistente às variações de temperatura e salinidade, por ser apreciado na pesca esportiva, por apresentar boa qualidade de sua carne e por atingir um elevado valor comercial.

A maioria dos trabalhos envolvendo a reprodução artificial, larvicultura e produção de alevinos de *Centropomus* spp. foi desenvolvida por pesquisadores no estado da Flórida (Chapman *et al.*, 1982; Tucker, 1987; Edwards e Henderson, 1987). No Brasil, as primeiras desovas artificiais do robalo-peva foram obtidas no LAPMAR em 1991. Desde então, informações importantes foram geradas a respeito da indução à desova (Cerqueira, 1995), larvicultura (Seiffert *et al.*, 2001; Temple *et al.*, 2004), alevinagem (Cerqueira *et al.*, 1995; Alvarez-Lajonchère *et al.*, 2002) e crescimento de juvenis em cativeiro com dietas formuladas (Barbuio, 1999).

Diversos autores apontam que a larvicultura de peixes marinhos é um dos principais entraves ao desenvolvimento de cultivos experimentais e comerciais (Sargent *et al.*, 1997; Bell *et al.*, 2003; Cahu *et al.*, 2003). Isto se deve principalmente às altas taxas de mortalidade que ocorrem nesta fase inicial da vida dos peixes. Uma de suas causas seria o período crítico pelo qual passam essas larvas durante o seu desenvolvimento pós-eclosão. A alimentação endógena, proveniente do consumo das reservas do saco vitelino, passa a ser substituída por uma forma de alimentação exógena, representada normalmente pelo alimento vivo (fito e zooplâncton) ou por uma dieta formulada inerte (Shields, 2001). Devido às altas taxas de crescimento das larvas, é essencial que as suas exigências nutricionais sejam supridas qualitativa e quantitativamente (Sargent *et al.*, 1997). De acordo com Watanabe *et al.* (1983) e Sargent *et al.* (1997), estas larvas requerem uma alimentação a partir de organismos que apresentem concentrações relativamente altas de ácidos graxos polinsaturados (PUFA) de cadeia longa, tais como o eicosapentaenóico [EPA, 20:5 (n-3)] e o docosahexaenóico [DHA, 22:6 (n-3)], sendo que a razão entre DHA e EPA considerada ideal para larvas de peixes marinhos é de aproximadamente 2:1 (Bell *et al.*, 2003).

Os organismos freqüentemente utilizados como alimento vivo em larviculturas de peixes marinhos são os rotíferos do gênero *Brachionus*, por seu curto período de geração e cultivo relativamente simples, e os náuplios do crustáceo branquiópodo *Artemia*, pela disponibilidade de cistos (Watanabe *et al.*, 1983). Entretanto, baixas taxas de crescimento e sobrevivência em inúmeras espécies alimentadas com estes organismos revelaram deficiências nutricionais, uma vez que *Artemia* e rotíferos são naturalmente pobres em uma série de nutrientes essenciais, especialmente ácidos graxos (Bell *et al.*, 2003).

Os copépodes constituem a principal fonte de alimento para larvas de peixes no ambiente marinho, além disso, tendem a ser ricos em PUFA (Norsker e Støttrup, 1994). Payne *et al.* (1998 e 2001) mostraram que a provisão de náuplios de copépodes durante a alimentação inicial proporcionou o aumento das taxas de sobrevivência de larvas de peixes marinhos como o “spotted pipefish” *Stigmatopora argus* (Syngnathidae) e “West Australian dhufish” *Glaucosoma hebraicum* (Glaucosomatidae). Além destas espécies, este resultado também foi demonstrado para o linguado *Scophthalmus maximus* (Witt *et al.*, 1984), o qual demonstrou preferência por náuplios de copépodes sobre rotíferos quando alimentado em dieta mista (van der Meeren, 1991). A provisão de náuplios de copépodes diminuiu a má pigmentação no linguado *Hippoglossus hippoglossus* (McEvoy *et al.*, 1998) e aumentou a resistência ao estresse do dourado marinho *Coryphaena hippurus* (Kraul *et al.*, 1993).

No presente trabalho deteremos nossa atenção na espécie *Acartia tonsa*, pertencente à ordem Calanoida e que vem sendo considerada de grande interesse para a aqüicultura atualmente (Støttrup, 2003). Os animais desta espécie são exclusivamente aquáticos e podem ser encontrados em ambientes estuarinos e marinhos. São eurihalinos, euritêrmicos e holoplanctônicos de vida livre, habitando as águas costeiras dos principais oceanos (Atlântico, Indico e Pacífico), sendo carregados pelas ma

## **OBJETIVOS**

### **GERAL**

Analisar o potencial de cultivo e uso do copépode planctônico *Acartia tonsa* como alimento vivo na larvicultura de peix

## POTENCIAL DE CULTIVO E USO DO COPÉPODE *ACARTIA TONSA* NA LARVICULTURA DE PEIXES MARINHOS\*

Felipe Morais SANTOS<sup>1</sup> e Vinicius Ronzani CERQUEIRA<sup>2</sup>

### RESUMO

Os copépodes constituem a principal fonte de alimento para larvas de peixes no ambiente marinho. Algumas espécies vêm sendo estudadas com o intuito de se avaliar a sua capacidade de produção intensiva e o seu potencial como alimento vivo em larviculturas de peixes marinhos, por demonstrarem uma série de vantagens sobre os alimentos vivos empregados usualmente. Uma espécie que vem sendo considerada nesse sentido é o copépode calanóide *Acartia tonsa*. O presente trabalho apresenta uma revisão dos estudos relacionados à bio-ecologia, produção em laboratório e utilização deste copépode como alimento vivo. As suas vantagens do ponto de vista nutricional também são discutidas.

**Palavras-chave:** cultivo, copépodes, *Acartia tonsa*, alimento vivo

### POTENTIAL OF CULTURE AND USE OF THE COPEPOD *ACARTIA TONSA* IN THE REARING OF MARINE FISH LARVAE

### ABSTRACT

Copepods represent the major prey item for larval fish in the marine environment. Some species has been studied in order to evaluate their intensive production capacity and potential as live food for rearing marine fish larvae, as they present a number of advantages over the commonly used prey items. One copepod that has been taken in consideration is the calanoid *Acartia tonsa*. This paper presents a review related to the

---

<sup>1</sup>Aluno do PPG em Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

e-mail: [fmoraissantos@yahoo.com.br](mailto:fmoraissantos@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Prof. Titular do Departamento de Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

e-mail: [vrqueira@cca.ufsc.br](mailto:vrqueira@cca.ufsc.br)

<sup>1,2</sup>Endereço/Address: Laboratório de Piscicultura Marinha, Estação de Maricultura da UFSC, Florianópolis, SC, CEP: 88.061-600

bio-ecology, laboratory production and use of this species as live food. Its advantages from a nutritional point of view are also discussed.

**Key-words:** culture, copepods, *Acartia tonsa*, live food

## INTRODUÇÃO

A larvicultura de peixes marinhos é um dos principais entraves ao desenvolvimento dos cultivos comerciais, que se deve principalmente às altas taxas de mortalidade que ocorrem nesta fase, freqüentemente relacionadas a deficiências nutricionais decorrentes da primeira alimentação exógena (CAHU *et al.*, 2003). Os organismos comumente utilizados como alimento vivo em larviculturas de peixes marinhos são os rotíferos do gênero *Brachionus*, por seu curto período de geração e cultivo relativamente simples, e os náuplios do crustáceo branquiópodo *Artemia*, pela disponibilidade de cistos (WATANABE *et al.*, 1983). Entretanto, baixas taxas de crescimento e sobrevivência de inúmeras espécies alimentadas com estes organismos revelam suas deficiências nutricionais, uma vez que são naturalmente pobres em uma série de nutrientes essenciais, especialmente ácidos graxos (BELL *et al.*, 2003). As larvas de peixes marinhos precisam de uma alimentação com organismos que apresentem concentrações ótimas dos ácidos graxos essenciais polinsaturados (PUFA) da série (n-3) e (n-6), tais como o eicosapentaenóico [EPA, 20:5 (n -3)], o docosahexaenóico [DHA, 22:6 (n -3)] e o araquidônico [ARA, 20:4 (n-6)] (BELL *et al.*, 2003).

Os copépodes constituem a principal fonte de alimento para larvas de peixes no ambiente marinho, além disso, tendem a ser ricos em PUFA (NORSKER e STØTTRUP, 1994; NANTON e CASTELL, 1999). PAYNE *et al.* (1998 e 2001) mostraram que a provisão de náuplios de copépodes durante a alimentação inicial proporcionou o aumento das taxas de sobrevivência de larvas de peixes marinhos como “spotted pipefish” *Stigmatopora argus* (Syngnathidae) e “West Australian dhufish” *Glaucosoma hebraicum* (Glaucosomatidae). Além destas espécies, este resultado também foi demonstrado para o linguado *Scophthalmus maximus* (WITT *et al.*, 1984), o qual teve preferência por náuplios de copépodes quando alimentado com dieta mista contendo rotíferos (van der MEEREN, 1991). Por outro lado, a alimentação com náuplios de copépodes calanóides diminuiu a má pigmentação no linguado *Hippoglossus hippoglossus* (McEVOY *et al.*, 1998; NÆSS e LIE, 1998).

Diversas espécies de copépodes marinhos vêm sendo estudadas com o intuito de se avaliar a sua capacidade de produção intensiva e o seu potencial como alimento vivo em

larviculturas para cultivo comercial. O copépode calanóide *Acartia tonsa* vem sendo considerado nesse sentido por ser uma espécie cosmopolita, por sua bio-ecologia ser bastante conhecida e pelo fato de alguns procedimentos de cultivo já terem sido previamente descritos (STØTTRUP *et al.*, 1986; MEDINA e BARATA, 2003). Além disso, BERSANO (2002) desenvolveu, pela primeira vez no Brasil, uma metodologia simples e eficiente para permitir a expansão do cultivo intensivo de *A. tonsa*.

O presente trabalho tem como objetivo contribuir para o estudo e a divulgação de conhecimentos relevantes ao cultivo e à utilização do copépode *A. tonsa* como alimento vivo em larviculturas de peixes marinhos.

## **A IMPORTÂNCIA DAS MICROALGAS**

Assim como no ambiente natural marinho a produção de peixes depende basicamente da produtividade primária e da capacidade de transferência dessa energia para os níveis tróficos superiores (PAULY e CHRISTENSEN, 1995), a produção de peixes cultivados tem como base a cultura de algas unicelulares, que podem ser oferecidas diretamente às larvas ou servirão como fonte de energia aos organismos utilizados como alimento vivo (BROWN *et al.*, 1997). Copépodes da espécie *A. tonsa* são geralmente herbívoros e filtradores de partículas em suspensão, podendo ser cultivados através de dietas mistas (STØTTRUP e JENSEN, 1990), mono-algais (STØTTRUP *et al.*, 1999) ou artificiais (KAMINSKI, 2004). Uma variedade de microalgas de diversas famílias pode ser produzida em monocultivo através do controle dos fatores físico-químicos da água (temperatura, salinidade, pH, O<sub>2</sub> dissolvido) e pela adição em quantidades adequadas de um meio de cultura rico em nutrientes (BROWN *et al.*, 1997).

A taxa de consumo do fitoplâncton pelos copépodes pode ser influenciada pelo tamanho das partículas, abundância e qualidade nutricional (KIØRBOE *et al.*, 1985; BERGGREEN *et al.*, 1988; STØTTRUP e JENSEN, 1990). A importância do tamanho das partículas está relacionada à estrutura dos apêndices orais, sendo que indivíduos adultos retêm com menor eficiência células pequenas, como foi demonstrado para *A. tonsa* quando alimentada com *Isochrysis galbana*, requerendo mais baixas concentrações de outras espécies de tamanho maior para maximizar suas taxas de ingestão (STØTTRUP e JENSEN, 1990). BERGGREEN *et al.* (1988) determinaram os tamanhos mínimo (2 a 4 µm), ótimo (7 a 70 µm) e máximo (10 a 250 µm) para a captura de partículas em relação aos estágios de desenvolvimento de *A. tonsa*. De acordo com STØTTRUP e JENSEN (1990), fêmeas adultas de *A. tonsa* alimentadas com a microalga *I. galbana* (Ø = 4,8 µm)

apresentaram as mais altas taxas de produção de ovos. Porém a microalga *Thalassiosira weissflogii* ( $\varnothing = 14,3 \mu\text{m}$ ) foi retida com maior eficiência. KAMINSKI (2004) obteve os melhores resultados de produtividade de ovos e náuplios por fêmea quando *A. tonsa* foi alimentada com *Thalassiosira fluviatilis* (7,42  $\mu\text{m}$  de largura e 10,3  $\mu\text{m}$  de altura) ou com uma dieta mista de *T. fluviatilis* e *Isochrysis* (T-Iso; 3,7  $\mu\text{m}$  de largura e 5,0  $\mu\text{m}$  de altura).

A relação entre a taxa de produção de ovos e a concentração de fitoplâncton, em *A. tonsa*, indica que a concentração de alimento na qual a produção de ovos se inicia e atinge seu nível máximo difere entre as espécies de microalgas utilizadas (STØTTRUP e JENSEN, 1990). A produção de ovos por fêmea por dia cresce com o aumento da concentração de alimento disponível (KIØRBOE *et al.*, 1985). Isto pode estar relacionado com as taxas de ingestão e a concentração de células disponíveis, sugerindo que a resposta funcional (taxa de consumo das partículas algais) em *A. tonsa* seja influenciada pela quantidade de alimento oferecido já que a taxa de ingestão aumentou com o aumento da concentração de alimento disponível (BERGGREEN *et al.*, 1988). O desenvolvimento de náuplios a adultos da espécie *A. tonsa* sob diversas concentrações da microalga *Rhodomonas baltica*, também foi avaliado em laboratório (BERGGREEN *et al.*, 1988). A taxa de crescimento específico de juvenis foi exponencial e aumentou hiperbolicamente com a concentração de alimento, porém foi aproximadamente independente da concentração de alimento acima de 500  $\mu\text{g C L}^{-1}$  de *R. báltica*. Por outro lado, a taxa de mortalidade foi nula para a mais alta taxa de alimentação, que por sua vez apresentou relação inversa com a concentração de alimento.

A qualidade do alimento também influencia o crescimento e a reprodução, uma vez que as microalgas cultivadas apresentam proporções variadas de proteínas, carboidratos e lipídeos em sua composição (BROWN *et al.*, 1997). *Acartia tonsa* produziu mais ovos quando alimentada com *Isochrysis galbana* do que com *Thalassiosira weissflogii*, mesmo com taxas de ingestão similares em termos de carbono e nitrogênio (STØTTRUP e JENSEN, 1990). Apesar de não ter sido estabelecida uma relação clara entre fecundidade e as concentrações de EPA ou DHA na dieta, a maior razão DHA:EPA resultou nas melhores taxas de produção de ovos em *A. tonsa* (STØTTRUP e JENSEN, 1990; JÓNASDÓTTIR, 1994). A importância dos ácidos graxos da série (n-3) comparados aos da série (n-6) foi demonstrada em experimentos de laboratório para *A. tonsa* (JÓNASDÓTTIR, 1994). KIØRBOE *et al.*, (1985) sugerem que os lipídeos foram importantes para a produção de ovos, enquanto as proteínas para o crescimento somático de náuplios e copepoditos. Quando alimentado com *Dunaliella tertiolecta*, uma Chlorophyta deficiente em (n-3), a fecundidade de *A. tonsa* foi afetada irreversivelmente (STØTTRUP e

JENSEN, 1990). Além dos ácidos graxos, os aminoácidos também representam um papel importante na dieta dos copépodes. KLEPPEL e BURKART (1995) demonstraram a correlação existente entre o conteúdo nutricional de aminoácidos e a produção de ovos em *A. tonsa*. O conteúdo de proteínas, carbono e nitrogênio no alimento demonstrou estar positivamente correlacionado com a fecundidade em *A. tonsa* e *A. hudsonica*, entretanto os ácidos graxos exerceram influência superior sobre a fecundidade de *A. tonsa* (JÓNASDÓTTIR, 1994).

## MÉTODOS DE CULTIVO DOS COPÉPODES

As espécies desejáveis para propósitos de aquicultura devem apresentar um ciclo de vida relativamente curto em temperatura ambiente, assim como tolerância às variações de temperatura e salinidade. Diversas tentativas de cultivos massivos de copépodes em sistemas intensivos têm sido realizadas com variado sucesso e resultaram no desenvolvimento de diferentes sistemas para algumas espécies de copépodes (STØTTRUP, 2003). Serão descritos três métodos de cultivo intensivo para *Acartia* desenvolvidos respectivamente na Dinamarca (STØTTRUP *et al.*, 1986), na Austrália (SCHIPP *et al.*, 1999) e no Brasil (BERSANO, 2002), objetivando sua utilização como alimento vivo na larvicultura de peixes marinhos.

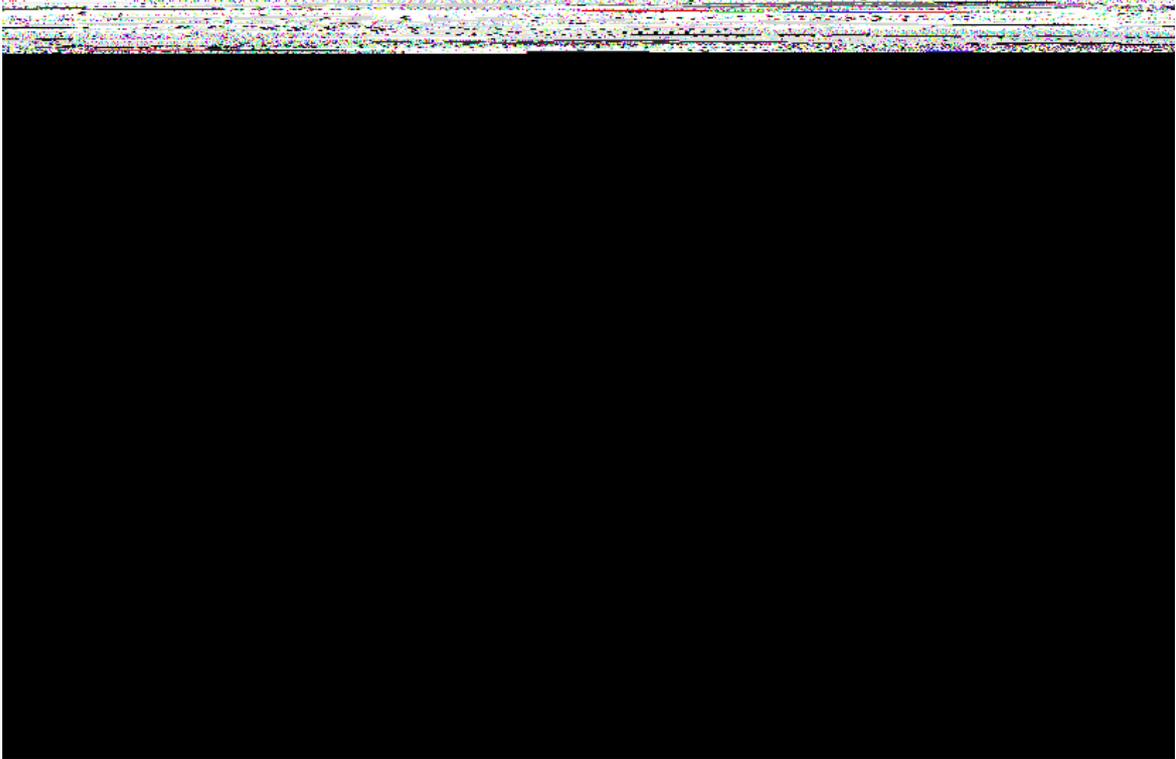
### A metodologia dinamarquesa (STØTTRUP *et al.*, 1986)

Adultos de *Acartia tonsa* foram isolados a partir de amostras coletadas com rede de zooplâncton no meio natural e levados ao laboratório. Os organismos utilizados para sustentar este cultivo foram a Criptophyta *Rhodomonas baltica* e a Haptophyta *Isochrysis galbana*. As algas foram mantidas a  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , iluminadas com  $120 \mu\text{mole m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sendo a densidade da *Rhodomonas* mantida a  $1-2 \times 10^6 \text{ cél. mL}^{-1}$  e da *Isochrysis* a  $3-4 \times 10^6 \text{ cél. mL}^{-1}$ . O sistema de cultivo foi dividido em duas fases: “cultivos de base” e “cultivos de coleta”. Os cultivos de base são mantidos continuamente para garantir um estoque permanente de indivíduos saudáveis e os ovos produzidos são usados para restaurar o estoque populacional de ambas as fases. Os cultivos de coleta são mantidos separadamente e os ovos produzidos são usados para obter os náuplios que servirão como alimento às larvas de peixes (Fig. 1).

Os cultivos de base foram mantidos a  $16-18^\circ\text{C}$ , em tanques de PVC de 200 L. A água do mar (35‰) foi filtrada a  $1\mu\text{m}$  antes de ser adicionada aos tanques que recebem uma aeração fraca a partir do fundo. Nenhuma iluminação artificial foi aplicada sobre os cultivos, sendo de  $25 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a luminosidade natural na superfície da água. *Rhodomonas* foi fornecida duas vezes

ao dia e cada tanque recebeu aproximadamente  $8 \times 10^8$  cél. dia<sup>-1</sup>. A concentração de adultos nos tanques foi mantida menor que 100 L<sup>-1</sup> e uma vez por semana essa concentração foi ajustada com copepoditos nos estágios IV-V para 50-100 copépodes L<sup>-1</sup> a uma razão entre machos e fêmeas próxima de 1:1. Uma vez ao dia 10 L foram sifonados do fundo de cada tanque para remover os ovos produzidos e uma quantidade similar de água filtrada foi adicionada aos mesmos. Uma média de  $95 \times 10^3$  ovos dia<sup>-1</sup> foi coletada de cada tanque do cultivo de base, correspondendo a uma taxa de produção média de 25 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. Os ovos coletados foram transferidos para tanques de crescimento e os náuplios começaram a eclodir em 24 h. O percentual de eclosão após 48 h foi de  $45 \pm 8,5\%$  para uma concentração de 1 a  $5,8 \times 10^3$  ovos L<sup>-1</sup>. *Isochrysis* foi fornecida aos estágios iniciais a uma concentração de 1000 cél. mL<sup>-1</sup>. Após dez dias uma mistura de *Rhodomonas* e *Isochrysis* foi fornecida a concentrações de 900 e 570 cél. mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Após 21 dias adultos foram coletados dos tanques de crescimento para repor os estoques populacionais nos cultivos de base e de coleta.

Os cultivos de coleta foram mantidos em tanques de 450 L com temperatura, aeração e iluminação similares aos descritos para o cultivo de base. A concentração de copépodes adultos nestes tanques também foi mantida abaixo de 100 L<sup>-1</sup>. Cada tanque recebeu aproximadamente  $1,6 \times 10^9$  cél. dia<sup>-1</sup> de *Rhodomonas*. Os ovos foram sifonados do fundo dos tanques de cultivo de coleta diariamente e transferidos para tanques de eclosão. A aeração nestes tanques foi mais intensa para assegurar um mínimo de 80% de saturação do oxigênio. Os náuplios recém-eclodidos foram alimentados com *Isochrysis* como descrito para os tanques de crescimento. Nesta fase a produção foi de  $25 \times 10^4$  náuplios dia<sup>-1</sup>. Quando atingiram o tamanho ideal foram coletados e fornecidos às larvas de peixes.



**Figura 1: Diagrama esquemático do sistema de produção de copépodes *A. tonsa* desenvolvido por Støttrup *et al.* (1986).**

O propósito deste sistema foi o de desenvolver uma fonte estável de alta produção de copépodes para alimentar larvas de peixes marinhos. Entretanto a produção obtida foi relativamente baixa. Possíveis causas desse resultado insatisfatório foram o canibalismo dos adultos sobre os ovos, os métodos inadequados de coleta dos ovos, a escassez de alimento e a alta densidade de indivíduos. Portanto, seria possível aumentar a produção de ovos por fêmea diminuindo a densidade de estocagem e aumentando a concentração de alimento.

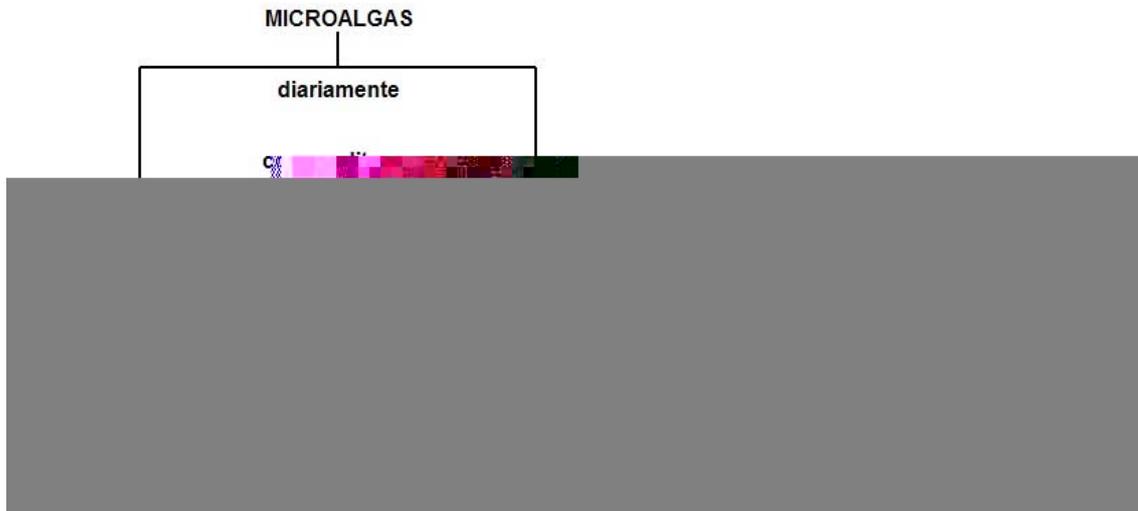
#### **A metodologia australiana (SCHIPP *et al.*, 1999)**

Os copépodes *Acartia* spp. foram coletados do ambiente durante a noite através de atração luminosa com rede de 150  $\mu\text{m}$ . Após a coleta o zooplâncton foi passado através de uma malha de 500  $\mu\text{m}$  para retirar os organismos maiores (larvas de peixes e camarão) e então colocado em um tanque com um dreno central com malha de 190  $\mu\text{m}$ , chamado de “lavador de zooplâncton”. Este lavador tem a função de remover a maior quantidade possível de organismos de menor tamanho (náuplios de copépodes, rotíferos e larvas de cracas) e reter copepoditos maiores e copépodes adultos através do fluxo contínuo de água por cerca de 2 h. A concentração de rotíferos após esse período era sempre menor que 7 L<sup>-1</sup>. Os organismos retidos foram usados para iniciar o cultivo, sendo oferecida uma combinação de três espécies de

microalgas: *Rhodomonas* sp., *Tetraselmis* sp. e *Isochrysis* sp. a uma razão de 2:1:1. As algas foram cultivadas a 26°C, salinidade 30‰, fotoperíodo de 14 h de luz e 10 h de escuro, luminosidade de 17 a 20 x 10<sup>3</sup> lux e fertilizadas com meio de cultura. A água salgada foi filtrada através de 5, 1 e 0,2 µm e em seguida exposta à luz ultravioleta. A cultura era iniciada em frascos de 500 mL, repicadas para garrações de 20 L e em seguida para bolsas plásticas de 300 L, de onde eram fornecidas aos copépodes.

Um tanque de fibra de 5000 L foi usado como reservatório de água filtrada em filtro de areia, com salinidade ajustada a 30‰. Esta água era desinfetada com hipoclorito de cálcio (20 ppm) por 24 h, sendo o cloro residual eliminado com tiosulfato de sódio.

O cultivo de *Acartia* spp. foi iniciado em tanques redondos de polietileno (100 L), mantidos com 60 L de água desinfetada a uma salinidade de 30 a 34‰, temperatura de 28 a 32 °C e aeração de aproximadamente 500 mL min<sup>-1</sup>. Os tanques estavam localizados em uma área coberta com fotoperíodo natural. Cada cultivo era iniciado com 3000 copépodes adultos (50 L<sup>-1</sup>) sendo alimentados com uma mistura das três microalgas a uma densidade de 2 x 10<sup>4</sup> cél. mL<sup>-1</sup>. Os tanques eram esvaziados a cada oito dias e seu conteúdo era transferido para o lavador de zooplâncton utilizando a água do reservatório. Os indivíduos retidos eram usados para reiniciar o cultivo ou eram transferidos para tanques de 1000 L a uma densidade inicial de 50 a 100 adultos e 150 a 200 copepoditos por litro. O alimento oferecido foi o mesmo utilizado para os tanques de 100 L. Após um ciclo de oito dias de cultivo, quando os tanques eram esvaziados passando pelo lavador de zooplâncton, os adultos e copepoditos eram usados para reiniciar os tanques de 1000 L ou eram transferidos diretamente para os tanques de larvicultura (20 e 40 x 10<sup>3</sup> L) de *Lutjanus johnii* (Lutjanidae), a uma densidade de 50 a 60 L<sup>-1</sup> (Fig. 2). Após sete semanas de operação o sistema produziu nos tanques de 1000 L uma média de aproximadamente 2000 náuplios, 750 copepoditos e 320 copépodes adultos por litro, a cada ciclo de cultivo de oito dias. Entretanto, a produção de náuplios decaía após sete dias, coincidindo com o aumento da concentração de rotíferos (2 mL<sup>-1</sup>) e a deterioração da qualidade da água pela elevação dos níveis de amônia e nitrito, por consequência do sistema estático.

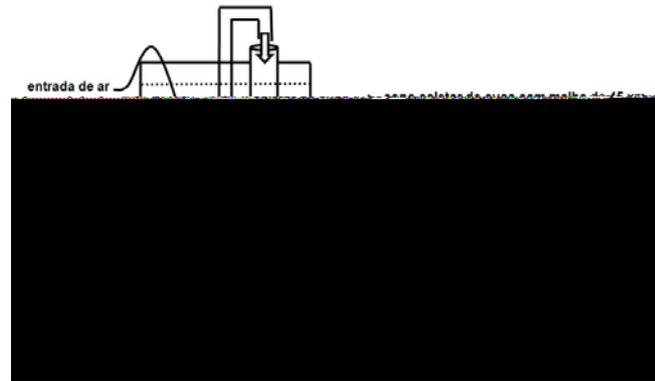


**Figura 2: Diagrama esquemático do sistema de produção de copépodes *Acartia* spp. desenvolvido por Schipp *et al.* (1999).**

Uma das diferenças entre este sistema e os outros aqui descritos é o fato deste cultivo ser reiniciado através da utilização de copepoditos e adultos ao invés de ovos e náuplios, já que estes não são facilmente separados dos rotíferos pelo tamanho similar, além de sofrerem muitos danos no lavador de zooplâncton. Este método de cultivo apresentado é simples, de baixo custo e produz seguramente uma grande quantidade de copépodes permitindo a eliminação dos organismos indesejáveis.

### **A metodologia brasileira (BERSANO, 2002)**

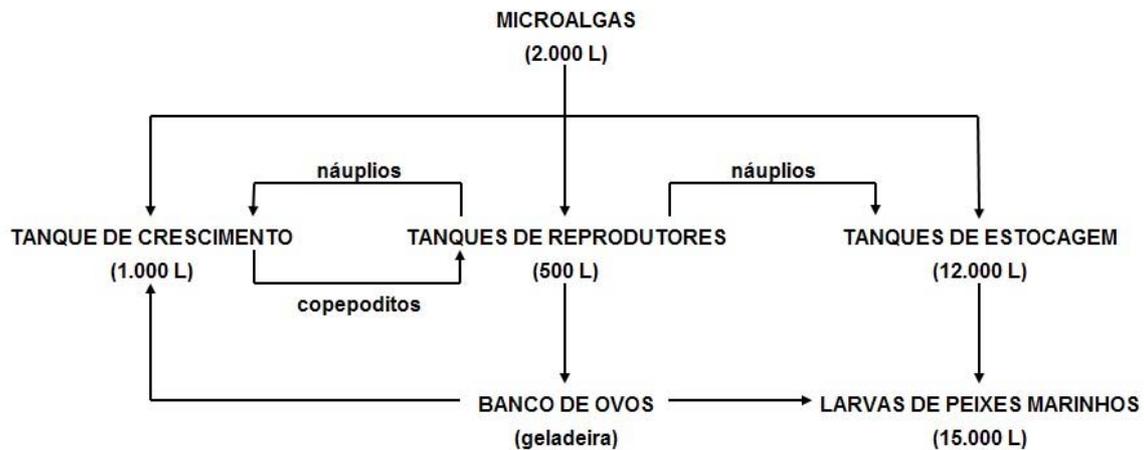
Adultos de *Acartia tonsa* foram coletados do ambiente natural, na Lagoa da Conceição (Florianópolis - SC), através de arrastos com rede de coleta de zooplâncton. As amostras foram levadas ao laboratório e os indivíduos isolados sob microscópio, por sexo e por espécie, sendo em seguida enumerados. Foram utilizados aproximadamente 900 adultos, numa proporção de 4 fêmeas : 1 macho. Desde então foram mantidos em um tanque cilindro-cônico de fibra de vidro de 37 L (tanque de reprodutores). O alimento foi composto por uma mistura de duas microalgas, *Isochrysis* sp. (T-Iso) e *Thalassiosira fluviatilis* em excesso ( $> 0,5 \text{ mg C L}^{-1}$ ). Um sistema para coleta de ovos foi instalado nos tanques de reprodutores (Fig. 3). Diariamente, os ovos e náuplios recém-eclodidos foram concentrados e contados. Após foram transferidos para um tanque circular de 12000 L com fundo plano (tanque de estocagem). O alimento fornecido nesta etapa foi composto por uma mistura de *Isochrysis*, *Thalassiosira* e principalmente *Nannochloropsis oculata*.



**Figura 3: Modelo de funcionamento do sistema de filtração e coleta de ovos do tanque de reprodutores desenvolvido por Bersano (2002).**

A eficiência do sistema de cultivo foi avaliada através do acompanhamento da produção de ovos no tanque de reprodutores em intervalos de 24 h, durante sete dias consecutivos. A temperatura da água foi de  $21 \pm 1,2$  °C, a salinidade permaneceu em 34‰ e a concentração média de  $O_2$  foi de  $7,8 \pm 0,3$  mg L<sup>-1</sup>. O tanque de reprodutores produziu uma média de 430 náuplios L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> ou 21 náuplios fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. A taxa de eclosão ficou em torno de 80%. Após 12 dias, os náuplios que foram transferidos para o tanque de estocagem a uma densidade inicial de 9 L<sup>-1</sup>, passaram a se reproduzir dentro do tanque. O cultivo durou dois meses com temperatura média de 30 °C e salinidade entre 35-37‰. A produção média foi de 600 náuplios L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, ou seja,  $7,2 \times 10^6$  náuplios dia<sup>-1</sup>, que foram parcialmente utilizados como complemento dos rotíferos na dieta para larvas de 7-15 dias do robalo-peva *Centropomus parallelus*, numa densidade de 0,3 copépodes mL<sup>-1</sup>.

A partir dos resultados obtidos foi proposto um modelo do sistema de cultivo intensivo planejado para aperfeiçoar a produção e coleta de ovos de *A. tonsa*. Ele é composto por dois tanques de reprodutores de 500 L que seriam os fornecedores de náuplios para o tanque de crescimento de 1000 L e para os dois tanques de estocagem de 12000 L, de onde sairiam os copépodes para a larvicultura. Todo o sistema seria sustentado por cultivos massivos de *Thalassiosira* e *Isochrysis*, em tanques de 2000 L (Fig. 4). Portanto, os principais objetivos deste estudo foram introduzir, aprimorar e desenvolver metodologias aplicadas ao cultivo massivo de copépodes em sistema intensivo, visando sua utilização como alimento vivo na piscicultura marinha.



**Figura 4: Diagrama esquemático do sistema de produção de copépodes *A. tonsa* proposto por Bersano (2002).**

## O POTENCIAL DO COPEÓDE COMO ALIMENTO VIVO

O uso de copépodes como alimento vivo pela piscicultura marinha pode se tornar essencial para a expansão do setor, com um aumento do interesse pelo cultivo de novas espécies. De modo geral, todos os estágios de copépodes são formas de alimento adequadas para larvas de peixes marinhos. A larva do linguado *Scophthalmus maximus* preferiu náuplios de copépodes ao invés de rotíferos, sugerindo que os copépodes podem ser presas mais facilmente visíveis, atrativas e com um tamanho mais apropriado (van der MEEREN, 1991). Algumas larvas de peixes marinhos apresentaram melhorias em suas taxas de crescimento, sobrevivência e pigmentação quando alimentadas somente com copépodes ou com copépodes como um suplemento às dietas tradicionais, quando comparados apenas com rotíferos ou náuplios de *Artemia* (WITT *et al.*, 1984; McEVOY *et al.*, 1998; NÆSS e LIE, 1998; PAYNE *et al.*, 1998; NANTON e CASTELL, 1999; PAYNE *et al.*, 2001).

As melhorias nas taxas de crescimento, sobrevivência e de pigmentação são geralmente atribuídas aos níveis de DHA, EPA e ARA das dietas (SARGENT *et al.*, 1997) e, em particular, às relações DHA:EPA (BELL *et al.*, 1995; SARGENT *et al.*, 1997; NANTON e CASTELL, 1999) e EPA:ARA (BELL *et al.*, 1995; SARGENT *et al.*, 1997). O DHA pode ser sintetizado a partir de precursores de cadeias menores em algumas larvas de peixes marinhos, porém as taxas são insuficientes para garantir crescimento e sobrevivência normais (SARGENT *et al.*, 2002).

Os copépodes são a principal fonte de nutrientes para as larvas de peixes marinhos no meio ambiente, representando um papel importante para o seu desenvolvimento normal, uma vez que apresentam altos níveis de DHA e outros PUFA, os quais são obtidos e acumulados a

partir do fitoplâncton consumido. Os níveis de DHA nos copépodes selvagens podem alcançar valores que superam em muito o da *Artemia* enriquecida (McEVOY *et al.*, 1998). A razão DHA:EPA em copépodes *A. tonsa* é geralmente maior que dois (STØTTRUP *et al.*, 1999), sendo considerada ideal para larvas de peixes marinhos, já que estas apresentam valores muito próximos a dois em suas reservas vitelinas. A importância do DHA para as larvas de peixes marinhos está relacionada à manutenção da integridade das membranas celulares, ao desenvolvimento neural e da retina e à visão (BELL e SARGENT, 1996). Além disso, o DHA pode ter um papel importante no desenvolvimento normal da pigmentação, já que NÆSS e LIE (1998) mostraram que pode ser evitada a má pigmentação ao se oferecer copépodes para larvas do linguado *Hippoglossus hippoglossus*.

Além de serem superiores aos rotíferos e náuplios de *Artemia* no que diz respeito à composição dos ácidos graxos, os copépodes apresentam uma grande quantidade de lipídeos polares (FRASER *et al.*, 1989), os quais são mais facilmente digeridos e auxiliam na digestão de outros lipídeos pelas larvas (KOVEN *et al.*, 1993). Em náuplios e adultos de *A. tonsa* alimentados com diferentes dietas monoalgais, os lipídeos polares representam, respectivamente, 47% e 46% dos lipídeos totais (STØTTRUP *et al.*, 1999). O nível de lipídeos polares em calanóides selvagens foi quase o dobro do encontrado em náuplios de *Artemia* enriquecidos (McEVOY *et al.*, 1998). Portanto, as larvas de peixes podem assimilar mais facilmente o DHA e outros ácidos graxos essenciais quando ingerem copépodes marinhos.

A explicação para a ocorrência de problemas com a pigmentação de larvas de peixes marinhos pode estar relacionada à diferença de pigmentos carotenóides presentes em copépodes (astaxantina) e náuplios de *Artemia* (cantaxantina), uma vez que este segundo tipo não é assimilado facilmente pelas larvas (McEVOY *et al.*, 1998). A astaxantina é um possível precursor da vitamina A em peixes. Larvas do linguado *H. hippoglossus* que foram alimentadas com náuplios de *Artemia* continham 50-80% menos vitamina A do que as alimentadas com zooplâncton, sugerindo que não foram capazes de converter o carotenóide presente na *Artemia* em vitamina A (RØNNESTAD *et al.*, 1998).

Os PUFA são muito propensos à auto-oxidação. Os elevados níveis de antioxidantes naturais presentes nos copépodes os protegem, sendo que ambos os nutrientes irão contribuir com suas propriedades para as larvas de peixes marinhos (SARGENT *et al.*, 1997). Por outro lado, tais antioxidantes precisam ser adicionados às emulsões de enriquecimento para rotíferos e *Artemia* para prevenir a auto-oxidação. Os copépodes também são fonte de enzimas digestivas

exógenas, tendo um papel importante na digestão das larvas de peixes (MUNILLA-MORAN *et al.*, 1990).

## **POTENCIAL COMO ALIMENTO VIVO PARA O ROBALO-PEVA**

O Laboratório de Piscicultura Marinha da Universidade Federal de Santa Catarina vem obtendo sucesso no processo de reprodução do robalo-peva *Centropomus parallelus* Poey 1860, através de indução hormonal de indivíduos mantidos em laboratório sob condições controladas. A desova e a fertilização ocorrem após indução hormonal, e os ovos eclodem a uma taxa média de 90%, após 22-23 h a 25 °C (ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.*, 2002a). As larvas ao eclodirem apresentam de 1,70 a 2,00 mm de comprimento total e sua boca ainda não está formada. O saco vitelino é consumido completamente até o quinto dia após a eclosão. A partir do terceiro dia a boca já está aberta e completamente formada, possibilitando que a larva passe a consumir alimentos exógenos (ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.*, 2002b).

Os organismos utilizados como alimento vivo durante a larvicultura de *C. parallelus* são o rotífero *B. rotundiformis*, o náuplio e o metanáuplio enriquecido de *Artemia*. Entretanto ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.* (2002a) indicam que uma melhora no programa de utilização do alimento vivo, pelo uso de pequenos copépodes pelágicos, poderia aumentar a sobrevivência e o crescimento obtidos na larvicultura do robalo-peva. LIRA JUNIOR (2002) testou a inclusão do copépode *Apocyclops procerus* no regime alimentar de larvas do robalo-peva, porém a sobrevivência e o comprimento total não foram diferentes dos obtidos com rotíferos ou *Artemia*.

O copépode *A. tonsa* é uma espécie para a qual já estão descritos alguns procedimentos de cultivo e que foi apontada como um organismo de elevada qualidade nutricional, com potencial como complemento da dieta utilizada na larvicultura do robalo-peva (BERSANO, 2002). Além do valor nutritivo, os indivíduos desta espécie apresentam uma ampla gama de tamanhos ao longo de suas fases de desenvolvimento, cujos valores de comprimento variam de 123,8 a 218,7 µm para náuplios, 285,2 a 624,2 µm para copepoditos e 560,0 a 787,3 µm para os indivíduos adultos (KAMINSKI, 2004).

ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.* (2002b) descreveram o desenvolvimento dos primeiros estádios larvais do robalo-peva e indicaram que o tamanho adequado das presas na primeira alimentação deve ser de 110 a 165 µm. Esta classe de tamanho está de acordo com a encontrada em náuplios iniciais (NI-NIII) de *A. tonsa* (STØTTRUP *et al.*, 1986; KAMINSKI, 2004), podendo

ser oferecidos como um suplemento à dieta de rotíferos, que varia de 10 a 40 ind. mL<sup>-1</sup> do 5º ao 36º dia de cultivo (ALVAREZ-LAJONCHÈRE, 2002a). Além disso, náuplios finais (NIV-NVI) e copepoditos iniciais (CI-CIII) podem ser introduzidos na dieta à medida que as larvas vão crescendo. O tamanho adequado para as presas é de 315 a 473 µm aos 20 dias, de 495 a 743 µm aos 25 dias e de 670 a 1005 µm aos 30 dias (ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.*, 2002b). Metanáuplios enriquecidos de *Artemia* são supridos aos tanques de larvicultura a partir de 22 até 60 dias, a uma densidade inicial de 0,5 mL<sup>-1</sup>, passando a 4 mL<sup>-1</sup> e decrescendo a 2 mL<sup>-1</sup>, quando se dá o desmame (ALVAREZ-LAJONCHÈRE *et al.*, 2002a). Assim, copepoditos finais (CIV-CVI) e copépodes adultos poderiam ser introduzidos como suplemento à dieta de náuplios e metanáuplios de *Artemia* (WATANABE *et al.*, 1983).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; CERQUEIRA, V.R.; SILVA, I.D.; ARAUJO, J.; REIS, M. 2002a. Mass production of juveniles of the fat snook *Centropomus parallelus* in Brazil. *J. World Aquacult. Soc.*, 33 (4): 506-516.
- ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; CERQUEIRA, V.R.; REIS, M. 2002b. Desarrollo embrionario y primeros estadios larvales del robalo chucumite, *Centropomus parallelus* Poey (Pisces, Centropomidae) con interés para su cultivo. *Hidrobiológica*, 12 (2): 89-100.
- BELL, J.G.; CASTELL, J.D.; TOCHER, D.R.; MacDONALD, F.M.; SARGENT, J.R. 1995. Effects of different dietary arachidonic acid : docosahexaenoic acid ratios on phospholipid fatty acid compositions and prostaglandin production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Fish Physiol. Biochem.*, 14: 139-151.
- BELL, J.G.; McEVOY, L.A.; ESTEVEZ, A.; SHIELDS, R.J.; SARGENT, J.R. 2003. Optimizing lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*, 227: 211-220.
- BELL, M.V. e SARGENT, J.R. 1996. Lipid nutrition and fish recruitment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 134: 315-316.
- BERGGREEN, U.; HANSEN, B.; KIØRBOE, T. 1988. Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: implications for determination of copepod production. *Mar. Biol.*, 99: 341-352.
- BERSANO, J.G.F. 2002. *Cultivos Massivos de Copépodes para Utilização como Alimento Vivo na Piscicultura Marinha: Apresentação de um Novo Método de Cultivo*. 26p. (Trabalho apresentado como Relatório Final – CNPq Proc. N° 301318/00.0).

- BROWN, M.R.; JEFFREY, S.W.; VOLKMAN, J.K.; DUNSTAN, G.A. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 151: 315-331.
- CAHU, C.; INFANTE, J.Z.; TAKEUSHI, T. 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*, 227: 245-258.
- FRASER, A.J.; SARGENT, J.R.; GAMBLE, J.C. 1989. Lipid class and fatty acid composition of *Calanus finmarchicus* (Gunnerus), *Pseudocalanus* sp. and *Temora longicornis* Muller from a nutrient-enriched seawater enclosure. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 130: 81-92.
- JÓNASDÓTTIR, S.H. 1994. Effects of food quality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: laboratory observations. *Mar. Biol.*, 121: 67-81.
- KAMINSKI, S.M. 2004. *Influência da alimentação sobre a reprodução e o desenvolvimento do copépode Calanoida Acartia tonsa Dana 1849, em cultivo intensivo*. Florianópolis. 53p. (Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Agrárias, UFSC).
- KIØRBOE, T.; MOHLENBERG, F.; HAMBURGER, K. 1985. Bioenergetics of the copepod *Acartia tonsa*: relation between feeding, egg production and respiration, and composition of specific dynamic action. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 26: 85-97.
- KLEPEL, G.S. e BURKART, C.A. 1995. Egg production and the nutritional environment of *Acartia tonsa*: the role of food quality in copepod nutrition. *ICES J. Mar. Sci.*, 52: 297-304.
- KOVEN, W.M.; TANDLER, A.; SKLAN, D.; KISSIL, G.W. 1993. The association of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the main phospholipids of different-age *Sparus aurata* larvae with growth. *Aquaculture*, 116: 71-82.
- LIRA JUNIOR, G.P. 2002. *Influência da dieta na reprodução e crescimento do copépode, Apocyclops procerus, e seu potencial como alimento na larvicultura do robalo-peva, Centropomus parallelus*. Florianópolis. 41p. (Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Agrárias, UFSC).
- McEVOY, L.A.; NÆSS, T.; LIE, Ø. 1998. Lipid and fat acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*, 163: 237-250.
- MEDINA, M. e BARATA, C. 2003. Static-renewal culture of *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) for ecotoxicological testing. *Aquaculture*, 229: 203-213.
- van der MEEREN, T. 1991. Selective feeding and prediction of food consumption in turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) reared on the rotifer *Brachionus plicatilis* and natural zooplâncton. *Aquaculture*, 93: 35-55.

- MUNILLA-MORAN, R.; STARK, J.R.; BARBOUR, A. 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, **88**: 337-350.
- NÆSS, T. e LIE, Ø. 1998. A sensitive period during first feeding for the determination of pigmentation pattern in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., juveniles: the role of diet. *Aquacult. Res.*, **29**: 925-934.
- NANTON, D.A. e CASTELL, J.D. 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as live food for marine fish larvae. *Aquaculture*, **175**: 167-181.
- NORSKER, N.H. e STØTTRUP, J.G. 1994. The importance of dietary HUFA's for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holonthuriae* Humes. *Aquaculture*, **125**: 155-166.
- PAULY, D. e CHRISTENSEN, V. 1995. Primary production required to sustain global fisheries. *Nature*, **374**: 255-257.
- PAYNE, M.F.; RIPPINGALE, R.J.; LONGMORE, R.B. 1998. Growth and survival of juvenile pipefish (*Stigmatopora argus*) fed live copepods with high and low HUFA content. *Aquaculture*, **167**: 237-245.
- PAYNE, M.F.; RIPPINGALE, R.J.; CLEARY, J.J. 2001. Cultured copepods as food for West Australian dhufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*) larvae. *Aquaculture*, **194**: 137-150.
- RØNNESTAD, I.; HELLAND, S.; LIE, Ø. 1998. Feeding *Artemia* to larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) results in lower larval vitamin A content compared with feeding copepods. *Aquaculture*, **165**: 159-164.
- 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**: 117-127.
- SARGENT, J.R.; TOCHER, D.R.; BELL, J.G. 2002. The Lipids. In: HALVER, J.E. e HARDY, R.W. *Fish Nutrition*. San Diego: Academic Press. p.181-257.
- 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. 2003. Production and Nutritional Value of Copepods. In: STØTTRUP, J.G. e McEVOY, L.A. *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Oxford: Blackwell Publishing. p.145-205.
- STØTTRUP, J.G.; RICHARDSON, K.; KIRKEGAARD, E.; PIHL, N.J. 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. *Aquaculture*, **52**: 87-96.

- STØTTRUP, J.G. e JENSEN, J. 1990. Influence of algal diet on feeding and egg-production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, *141*: 87-105.
- STØTTRUP, J.G.; BELL, J.G.; SARGENT, J.R. 1999. 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*: 256-269.
- WATANABE, T.; KATAJIMA, C.; FUJITA, S. 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, *34*: 115-143.
- WITT, U.; QUANTZ, G.; KUHLMANN, D.; KATTNER, G. 1984. Survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L. reared on different food organisms with special regard to long-chain polyunsaturated fatty acids. *Aquacult. Eng.*, *3* (3): 177-190.

**EFEITO DA DENSIDADE DE ESTOCAGEM SOBRE A REPRODUÇÃO E O  
DESENVOLVIMENTO DO COPÉPODE *Acartia tonsa***

Felipe Morais SANTOS<sup>1</sup> e Vinicius Ronzani CERQUEIRA<sup>2</sup>

**RESUMO**

Copépodes calanóides da espécie *Acartia tonsa* capturados no ambiente natural foram cultivados por um mês sob condições controladas, sendo oferecida como alimento a microalga *Thalassiosira weissflogii* a uma densidade de  $5 \times 10^4$  cél. mL<sup>-1</sup>. Os ovos produzidos nos tanques de reprodutores foram coletados diariamente e transferidos para tanques de crescimento, sendo oferecida *Isochrysis* (T-Iso) a uma densidade de  $1 \times 10^5$  cél. mL<sup>-1</sup>. Uma parte dos náuplios coletados diretamente dos tanques de reprodutores foi cultivada sob as densidades de 500, 1000, 2000 e 4000 ind. L<sup>-1</sup> e apresentaram taxas de sobrevivência médias respectivamente de 28,6%, 62,2%, 49,7 e 13,3%. As taxas de desenvolvimento foram mais lentas em 4000 L<sup>-1</sup> de náuplios a copepoditos, no quinto dia, e de copepoditos a adultos, no sétimo dia. Copépodes adultos retirados dos tanques de crescimento foram cultivados sob as densidades de 50, 100, 200 e 400 ind. L<sup>-1</sup> e apresentaram taxas de sobrevivência médias respectivamente de 19,5%, 20,0%, 25,0% e 14,2%. A produtividade foi mais elevada na menor densidade (26,7, 17,2, 16,2 e 10,4 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>), havendo diferença significativa em relação à maior. As taxas de eclosão foram elevadas e muito próximas entre si (82, 88, 85 e 88%).

**Palavras-chave:** *Acartia tonsa*, cultivo, densidade de estocagem.

EFFECT OF STOCKING DENSITY OVER REPRODUCTION AND DEVELOPMENT OF THE  
COPEPOD *Acartia tonsa*

**ABSTRACT**

Adult *Acartia tonsa* captured in the natural environment were cultured for a month under controlled conditions and fed the microalgae *Thalassiosira weissflogii* at a density of  $5 \times 10^4$  cells mL<sup>-1</sup>. Eggs spawned in the reproduction tanks were daily collected and transferred to growth tanks in which was added *Isochrysis* (T-Iso) at a density of  $1 \times 10^5$  cell mL<sup>-1</sup>. Part of the nauplii collected from the reproduction tanks were reared in 500, 1000, 2000 and 4000 individuals L<sup>-1</sup> stocking densities, resulting in average survival rates of 28.6%, 62.2%, 49.7 and 13.3%, respectively. Developmental rates were lower in 4000 L<sup>-1</sup> from nauplii to copepodites, in

the fifth day, and from copepodites to adults, in the seventh day. Adult copepods taken from the growing tanks were stocked at densities of 50, 100, 200 and 400 individuals L<sup>-1</sup>, resulting in average survival rates of 19.5%, 20.0%, 25.0% and 14.2%, respectively. Better productivity was observed in the lower density (26,7, 17,2, 16,2 e 10,4 eggs female<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) occurring significant difference to the higher. Hatching rates were elevated and near each other (82%, 88%, 85% and 88%).

**Key-words:** *Acartia tonsa*, culture, stocking density.

## INTRODUÇÃO

Os copépodes constituem a principal fonte de alimento para larvas de peixes no ambiente marinho e vem sendo considerada a utilização destes organismos como alimento vivo em larviculturas por serem ricos em ácidos graxos essenciais e outros nutrientes (NORSKER e STØTTRUP, 1994; NANTON e CASTELL, 1999). Diversas espécies de copépodes marinhos foram estudadas com o intuito de avaliar a sua capacidade de produção intensiva e o seu potencial como alimento vivo em larviculturas para cultivo comercial (STØTTRUP, 2003).

O copépode calanóide *Acartia tonsa* é considerado nesse sentido por ser uma espécie cosmopolita, por sua bio-ecologia ser bastante conhecida e pelo fato de alguns procedimentos de cultivo já terem sido previamente descritos (STØTTRUP *et al.*, 1986; MEDINA e BARATA, 2003). BERSANO (2002) desenvolveu uma metodologia para permitir a expansão do cultivo intensivo de *A. tonsa* no Brasil. O interesse sobre o cultivo deste animal passou a ser relevante a partir da necessidade da inserção de novas espécies de organismos de alto valor nutritivo com vistas a sua utilização como fonte de alimento vivo na larvicultura de peixes marinhos (STØTTRUP *et al.*, 1986). PAYNE *et al.* (1998 e 2001) demonstraram que a provisão de náuplios de copépodes durante a alimentação inicial de larvas de peixes marinhos proporcionou o aumento das taxas de sobrevivência de *Stigmatopora argus* (Syngnathidae) e *Glaucosoma hebraicum* (Glaucosomatidae). Além destas espécies, este resultado também foi demonstrado para o linguado *Scophthalmus maximus* (WITT *et al.*, 1984), que demonstrou preferência por náuplios de copépodes sobre rotíferos quando alimentado em dieta mista (van der MEEREN, 1991). A dieta com náuplios de copépodes calanóides diminuiu a má pigmentação no linguado *Hippoglossus hippoglossus* (McEVOY *et al.*, 1998; NÆSS e LIE, 1998).

As larvas de peixes marinhos requerem uma alimentação a partir de organismos que apresentem concentrações ótimas dos ácidos graxos essenciais polinsaturados (PUFA) da série

(n-3) e (n-6), tais como o eicosapentaenóico [EPA, 20:5(n-3)], o docosahexaenóico [DHA, 22:6(n-3)] e o araquidônico [ARA, 20:4(n-6)] (BELL *et al.*, 2003). Os copépodes mostram tendência de serem naturalmente ricos nesses ácidos graxos, sendo que WATANABE *et al.* (1983) sugerem a possibilidade do uso de copépodes, incluindo *Acartia*, como suplemento a rotíferos e *Artemia*. As técnicas de cultivo desenvolvidas para *Acartia* (STØTTRUP *et al.*, 1986; SCHIPP *et al.*, 1999; BERSANO, 2002) demonstraram bons resultados em termos de produtividade a partir de diferentes maneiras de obtenção de ovos e náuplios, porém apenas MEDINA e BARATA (2003) avaliaram a importância da densidade de estocagem sobre o desenvolvimento e a reprodução de *A. tonsa*.

Para que a utilização de copépodes como alimento vivo em larviculturas de peixes marinhos se torne uma realidade é preciso o desenvolvimento da sua capacidade de produção intensiva comercialmente para que haja disponibilidade contínua de náuplios no momento em que estes forem necessários. O presente trabalho tem por objetivo contribuir para o desenvolvimento das técnicas de cultivo intensivo de copépodes. A partir da metodologia adaptada de BERSANO (2002) para a produção intensiva de copépodes, foram avaliadas as taxas de desenvolvimento, reprodução e a sobrevivência de copépodes da espécie *A. tonsa* quando cultivados sob diferentes densidades de estocagem.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e período de estudo**

Os trabalhos foram realizados no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Estação de Maricultura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizada na Barra da Lagoa (Florianópolis, SC). Os experimentos de densidade foram realizados em outubro e novembro de 2004, iniciando com a formação do estoque de microalgas e de copépodes adultos, para posteriormente obter os náuplios em laboratório.

### **Animais experimentais**

Os copépodes *Acartia tonsa* foram coletados do ambiente natural, na Lagoa da Conceição (Florianópolis - SC). No momento da coleta a temperatura e a salinidade eram 24,5°C e 26‰, respectivamente, sendo realizada através de arrastos horizontais com rede de zooplâncton de 300 µm de abertura de malha e 0,3 m de diâmetro de boca e em seguida isolados das outras espécies. Foram mantidos em tanques cilindro-cônicos de fibra de vidro de 500 L (tanques de

reprodutores), com paredes negras, a fim de manter um estoque regular para a obtenção dos indivíduos utilizados nos experimentos.

### **Cultivo das microalgas**

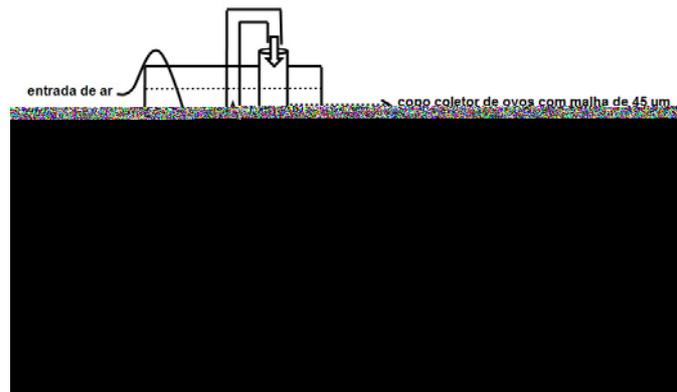
Duas microalgas marinhas foram fornecidas como alimento aos copépodes: a haptofíceia *Isochrysis* (T-Iso) e a diatomácea *Thalassiosira weissflogii* (TWE).

A cultura inicial de microalgas foi fornecida em frascos de Erlenmeyer de 2 L pelo Laboratório de Moluscos Marinhos (T-Iso) e pelo Laboratório de Camarões Marinhos (TWE), ambos da UFSC.

As microalgas foram repicadas para garrafões de 20 L, cultivadas na sala de algas do LAPMAR, e em seguida, para tanques cilíndricos de fibra de vidro transparentes de 500 L, com aeração constante (6 a 8 mg L<sup>-1</sup> de O<sub>2</sub>) e iluminação contínua (1000 a 2000 lux, na superfície da água). As microalgas eram repicadas a cada três dias com introdução de água salgada filtrada através de um filtro de 1 µm de poro de malha e meio de cultura (1 mL L<sup>-1</sup>) composto por nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>) e fosfato de sódio monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), enriquecido com solução de cloreto de ferro (FeCl<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O; 0,04 mL L<sup>-1</sup>) e, ainda, com solução de silicato de sódio (Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>; 1 mL L<sup>-1</sup>) para o caso da diatomácea. As microalgas foram mantidas na fase de crescimento exponencial enquanto eram fornecidas aos copépodes, tanto durante a fase de cultivo dos indivíduos quanto durante a realização dos experimentos.

### **Cultura estoque**

Os tanques de reprodutores foram mantidos a 24-25°C, salinidade em 35-37‰ e volume de 400 L. O O<sub>2</sub> dissolvido apresentou média de 5,92 ± 0,86 mg L<sup>-1</sup>. A proporção entre fêmeas e machos foi próxima a 3:1, portanto um total aproximado de 4000 fêmeas e 1200 machos. Um sistema de coletores de ovos, desenvolvido por BERSANO (2002) foi instalado nos tanques de reprodutores (Fig. 1). Diariamente eram coletados ovos e náuplios recém-eclodidos. Uma parte foi utilizada nos experimentos e a outra foi transferida para os tanques de crescimento de 120 L. Aí eram mantidos por 8 dias até atingirem a fase adulta e transferidos para as unidades experimentais e para os tanques de reprodutores, compensando perdas por mortalidade.



**Figura 1: Modelo de funcionamento do sistema coletor de ovos do copépode *A. tonsa* desenvolvido por Bersano (2002).**

As microalgas T-Iso e TWE eram fornecidas como alimento, sendo a primeira importante principalmente para a nutrição dos náuplios e copepoditos e a segunda para a nutrição dos adultos (KAMINSKI, 2004). As densidades utilizadas foram de  $1 \times 10^5$  e  $5 \times 10^4$  cél. mL<sup>-1</sup>, respectivamente para T-Iso e TWE. Diariamente era feita uma contagem de células para ajustar as densidades.

### **Experimentos de densidade**

Os experimentos tiveram a duração de sete dias cada um. Foram realizados com triplicatas para todos os tratamentos, em tanques cilindro-cônicos de fibra de vidro de fundo preto com volume útil de 38 L. Cada unidade experimental era equipada com difusor de ar e pedra porosa para aeração contínua, termostato e aquecedor elétrico de 250 W, ativado assim que a temperatura estava abaixo de 25 °C. Os náuplios utilizados foram obtidos dos tanques de reprodutores (500 L) e os adultos coletados nos tanques de crescimento (120 L). No experimento com adultos foram instalados coletores de ovos (Fig. 1) nas unidades experimentais, de modo a simular os tanques de reprodutores.

### **Densidade de estocagem de náuplios**

Náuplios coletados diretamente dos tanques de reprodutores, com o máximo de 24 h após eclosão, foram estocados nas unidades experimentais. Estas foram mantidas a um volume de 20 L, sendo fornecida T-Iso a uma concentração de  $1 \times 10^5$  cél. mL<sup>-1</sup> durante todo o período experimental. Quatro tratamentos foram definidos com o intuito de avaliar a densidade de estocagem ideal para os náuplios de copépodes atingirem a fase adulta: 500, 1000, 2000 e 4000 indivíduos L<sup>-1</sup>. Para acompanhar o desenvolvimento (mudança de estágio larval ou

metamorfose), diariamente foram retiradas alíquotas de 100 mL de cada unidade experimental. As amostras foram fixadas com solução de formaldeído a 4% em água salgada, e posteriormente eram feitas as análises do estágio de desenvolvimento ( $n = 30$ ). Foram ainda avaliadas a densidade final ( $n^{\circ}$ . ind.  $L^{-1}$ ), a taxa de sobrevivência (indivíduos:  $n^{\circ}$ . inicial -  $n^{\circ}$ . final/100) e a taxa de alimentação, calculada a partir do residual de células algais ( $n^{\circ}$ . inicial -  $n^{\circ}$ . final ind. $^{-1}$  dia $^{-1}$ ) ao longo do experimento. A temperatura, a salinidade e o teor de oxigênio dissolvido foram medidos diariamente, enquanto o pH e a amônia total ( $NH_3 + NH_4$ ) eram medidos a cada 2 a 3 dias. Para estas medições foram utilizados, respectivamente, termômetro de mercúrio, refratômetro manual, oxímetro digital, peagâmetro digital e um teste colorimétrico (Tetra $test^{\circ}$  amônia total). A temperatura apresentou média igual a  $25,1 \pm 0,06$  °C e a salinidade igual a  $35,4 \pm 0,42$  ‰. As médias do oxigênio dissolvido, pH e amônia total foram respectivamente  $5,85 \pm 0,12$  mg  $L^{-1}$ ,  $7,9 \pm 0,16$  e  $0,67 \pm 0,39$  ppm.

### **Densidade de estocagem de adultos**

Náuplios coletados dos tanques de reprodutores foram estocados nos tanques de crescimento por oito dias, até que atingissem a maturidade sexual, sendo então transferidos para as unidades experimentais. O volume utilizado neste experimento foi de 25 L, sendo oferecida TWE a uma concentração de  $5 \times 10^4$  cél.  $mL^{-1}$ . Quatro tratamentos foram definidos com o intuito de avaliar a densidade de estocagem ideal para a reprodução dos copépodes adultos (matrizes reprodutoras): 50, 100, 200 e 400 indivíduos  $L^{-1}$ . Diariamente eram coletados os ovos e náuplios produzidos pelas fêmeas do copépode *A. tonsa*, estes eram contados, sendo ainda avaliadas as suas taxas de eclosão. Para acompanhar a produtividade de ovos e suas respectivas taxas de eclosão, eram recolhidas alíquotas de 11 mL do conteúdo concentrado nos copos coletores através de pipeta de Bogorov, fixadas em solução de formaldeído a 4% e contadas em placas de Kline. A produtividade total de ovos foi considerada como a soma dos náuplios recém-eclodidos e dos ovos que ainda não haviam eclodido. Estes foram incubados por mais um dia para que a taxa de eclosão não fosse subestimada. Seguindo-se o procedimento descrito para o experimento anterior, foram avaliadas a sobrevivência ao longo do experimento e a densidade final, além das taxas de alimentação. Os parâmetros de qualidade da água foram medidos como no experimento anterior. Os valores médios de salinidade e temperatura foram respectivamente  $35,6 \pm 0,45$  ‰ e  $26,0 \pm 0,25$  °C, para os quatro tratamentos. Oxigênio dissolvido, pH e amônia total apresentaram média respectivamente de  $5,7 \pm 0,4$  mg  $L^{-1}$ ,  $8,1 \pm 0,03$  e  $1,4 \pm 0,24$  ppm.

### Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância unifatorial (one-way ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com um nível de significância de 5%. As taxas (em %) de sobrevivência, desenvolvimento, alimentação e eclosão dos ovos foram transformadas através da raiz quadrada do arco seno (CENTENO, 1999).

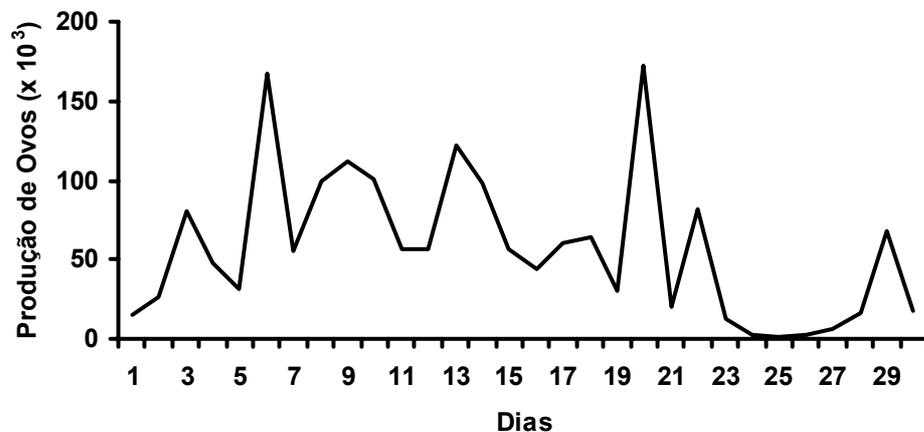
## RESULTADOS

### Cultura estoque

Diariamente eram acessados a produtividade de ovos pelas fêmeas, bem como sua taxa de alimentação, cuja média foi de  $64 \pm 0,27\%$  do total de alimento oferecido (Tab. 1). A produção total acumulada ao longo de um período de 30 dias ininterruptos foi de 1.722.228 ovos, com uma produtividade média de  $57.408$  ovos  $\text{dia}^{-1}$  (Fig. 2) e uma taxa de eclosão de  $85,8 \pm 0,11\%$  (Fig. 3).

**Tabela 1: Valores máximos, mínimos e médios do número de ovos produzidos por dia, do número de ovos por fêmea por dia e a sua taxa de eclosão, para o cultivo no tanque de reprodutores.**

	Nº. ovos dia <sup>-1</sup>	Ovos fêmea <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup>	Taxa de eclosão	Taxa de alimentação
Máximo	171.826	43	100%	100%
Mínimo	1.795	0,45	62,7%	0%
Média	57.408	14	85,8%	64%



**Figura 2: Produção de ovos pelas fêmeas de *A. tomsa* no cultivo do tanque de reprodutores.**

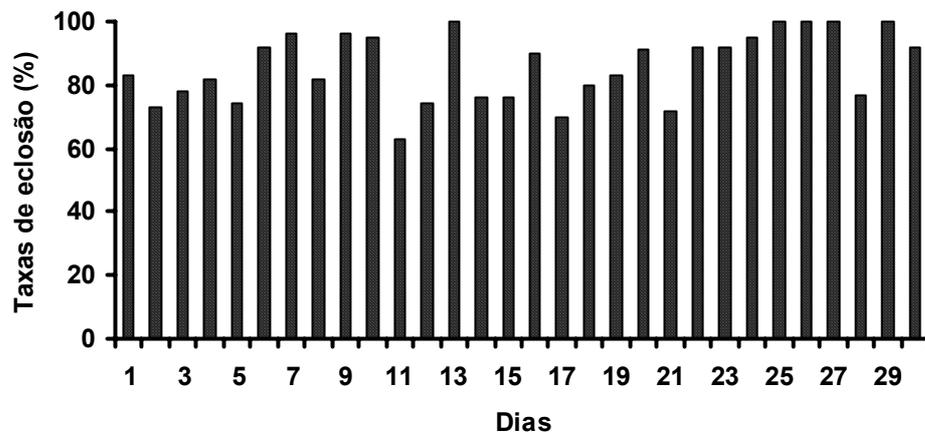
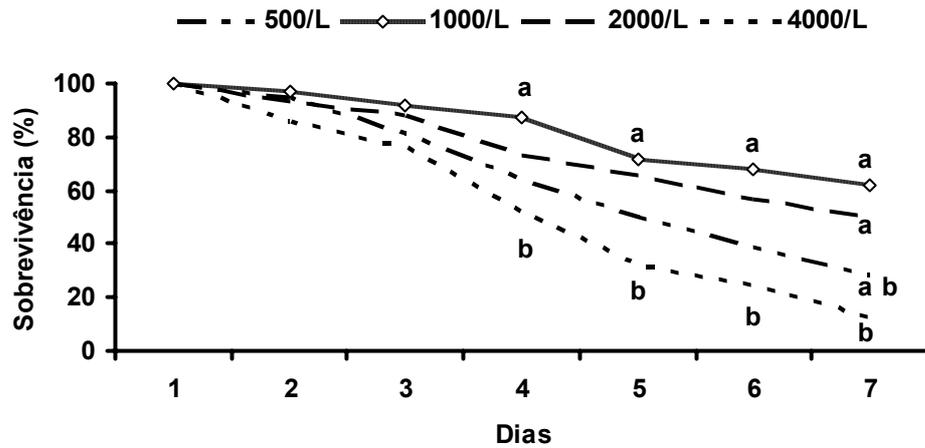


Figura 3: Taxas de eclosão dos ovos produzidos pelas fêmeas do copépode *A. tonsa* no cultivo do tanque de reprodutores.

#### Densidade de estocagem com náuplios de copépodes

No decorrer do experimento as densidades diminuíram devido à mortalidade. Ao final do período experimental a densidade de 500 L<sup>-1</sup> apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ), em número de indivíduos por litro, em relação às densidades de 1000 L<sup>-1</sup> e 2000 L<sup>-1</sup>, entretanto 500 L<sup>-1</sup> e 4000 L<sup>-1</sup> não foram diferentes ( $p \geq 0,05$ ), ressaltando a baixa sobrevivência na maior densidade de estocagem. Os valores finais para os tratamentos 500 L<sup>-1</sup>, 1000 L<sup>-1</sup>, 2000 L<sup>-1</sup> e 4000 L<sup>-1</sup> foram respectivamente de 141, 620, 993 e 533 ind. L<sup>-1</sup>. A partir do quarto dia, a sobrevivência (Fig. 4) no tratamento 4000 L<sup>-1</sup> passou a ser significativamente menor ( $p < 0,05$ ) do que no tratamento 1000 L<sup>-1</sup>, sendo que esta diferença se expandiu até o último dia, quando 4000 L<sup>-1</sup> também foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que 2000 L<sup>-1</sup>. Ao final do experimento os tratamentos 500 L<sup>-1</sup>, 1000 L<sup>-1</sup> e 2000 L<sup>-1</sup> não apresentavam diferenças significativas ( $p \geq 0,05$ ) quanto à sobrevivência.



**Figura 4: Percentual de sobrevivência média dos copépodos *A. tonsa* cultivados nas diferentes densidades de estocagem, ao longo do período experimental. Letras diferentes no mesmo dia indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).**

Em termos de desenvolvimento (Fig. 5), todos os tratamentos apresentaram um desempenho semelhante, com os náuplios predominando até o terceiro dia, quando surgiram os primeiros indivíduos na fase de copepodito. Estes predominaram no quarto e quinto dias, quando os náuplios se extinguíram. A partir do sexto dia já havia grande quantidade de indivíduos adultos, que eram maioria no sétimo dia de experimento. As taxas de desenvolvimento não apresentaram diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) até o quarto dia de experimento, porém no quinto dia foi observado que a taxa de desenvolvimento de náuplios a copepoditos foi mais lenta no tratamento 4000 L<sup>-1</sup>, apresentando diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos 1000 L<sup>-1</sup> e 2000 L<sup>-1</sup>. No último dia, o desenvolvimento de copepoditos a adultos também foi mais lento para o tratamento 4000 L<sup>-1</sup> e apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação aos tratamentos 500 L<sup>-1</sup> e 2000 L<sup>-1</sup>.

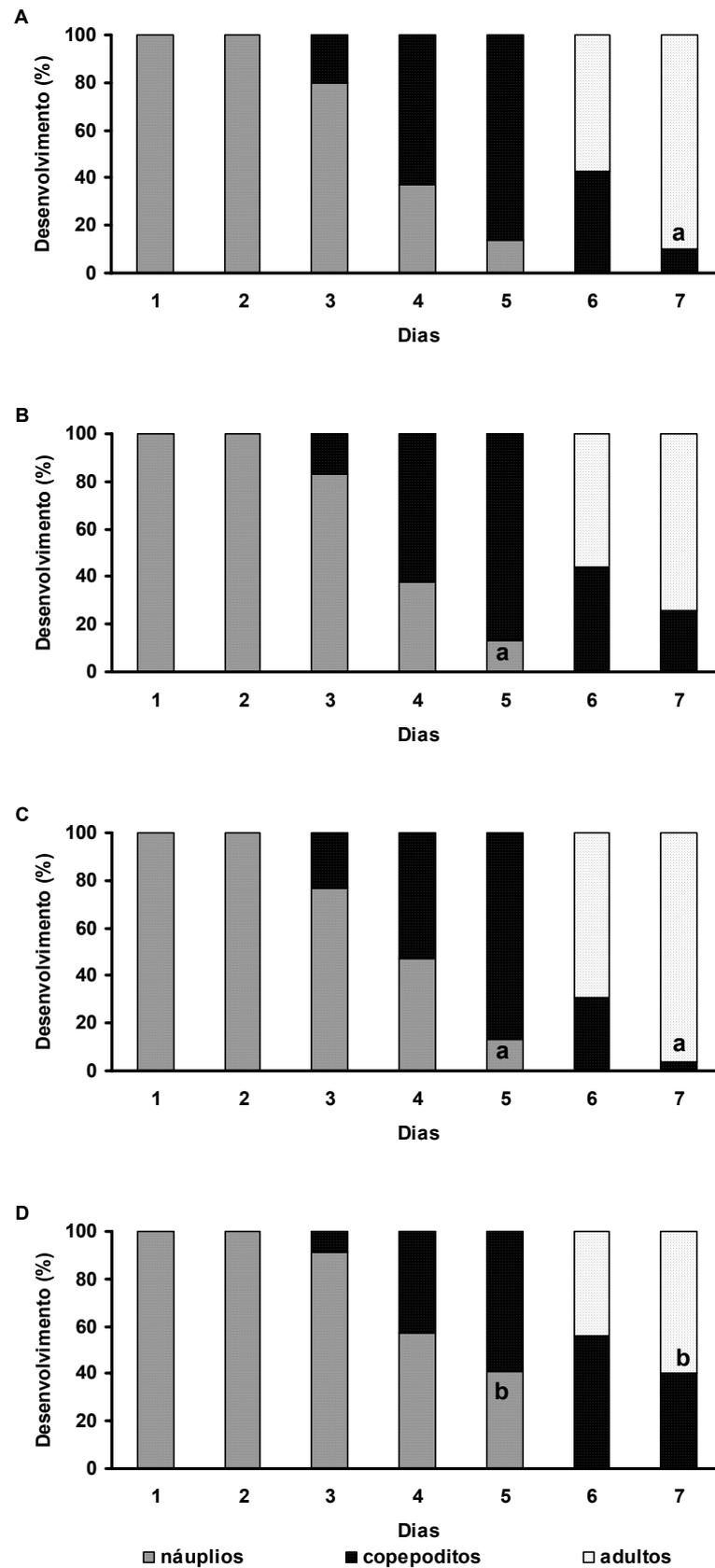
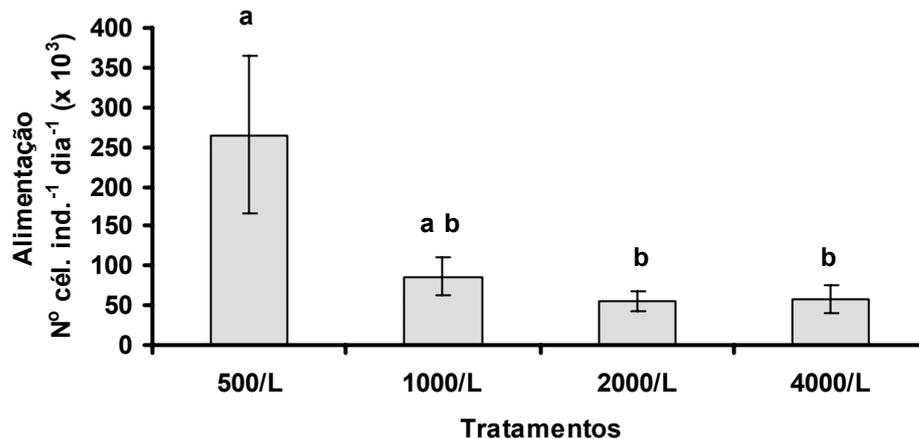


Figura 5: Taxas de desenvolvimento (náuplio, copepodito e adulto) do copépode *A. tonsa* nas densidades de 500 L<sup>-1</sup> (A), 1000 L<sup>-1</sup> (B), 2000 L<sup>-1</sup> (C) e 4000 L<sup>-1</sup> (D). Letras diferentes no mesmo dia indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

O consumo médio da microalga T-Iso pelos copépodes foi mais elevado ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos de 500 L<sup>-1</sup> e 1000 L<sup>-1</sup>, sendo respectivamente de 264,5 e 86,3 x 10<sup>3</sup> cél. ind.<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> (Fig. 6), entretanto apenas o tratamento 1000 L<sup>-1</sup> não apresentou diferenças significativas em relação aos tratamentos 2000 L<sup>-1</sup> e 4000 L<sup>-1</sup>, respectivamente de 55,4 e 57,7 x 10<sup>3</sup> cél. ind.<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>.



**Figura 6: Consumo médio de células da microalga T-Iso por indivíduo por dia nas diferentes densidades de cultivo do copépode *A. tonsa*. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão.**

#### **Densidade de estocagem com copépodes adultos**

Ao longo dos sete dias as densidades diminuíram devido à mortalidade e ao final do período experimental as densidades não apresentavam diferenças significativas ( $p \geq 0,05$ ). As taxas de sobrevivência ao final do experimento foram muito próximas (Fig. 7), resultando em 19,5, 20,0, 25,0 e 14,2%, respectivamente para 50 L<sup>-1</sup>, 100 L<sup>-1</sup>, 200 L<sup>-1</sup> e 400 L<sup>-1</sup>, e também não apresentaram diferenças significativas ( $p \geq 0,05$ ). Entretanto, o tratamento 400 L<sup>-1</sup> foi inferior ao demais durante todo o experimento, havendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação aos tratamentos 50 L<sup>-1</sup> no segundo dia, 50 L<sup>-1</sup>, 100 L<sup>-1</sup> e 200 L<sup>-1</sup> no terceiro dia e 50 L<sup>-1</sup> e 100 L<sup>-1</sup> no quinto dia.

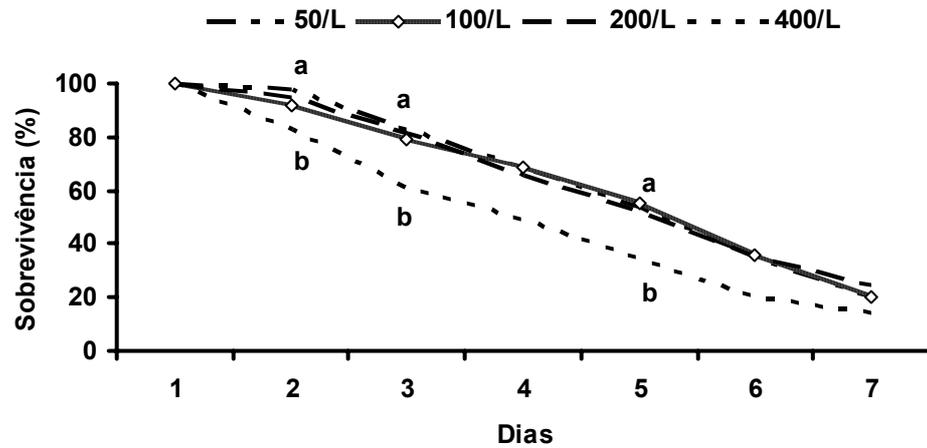


Figura 7: Percentual de sobrevivência média do copépode *A. tonsa* cultivado nas diferentes densidades de estocagem, ao longo do período experimental. Letras diferentes no mesmo dia indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

A produção diária de ovos por fêmea (Fig. 8) foi superior no tratamento de 50 L<sup>-1</sup> (26,7 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>), porém não houve diferenças significativas ( $p \geq 0,05$ ) em relação aos tratamentos de 100 L<sup>-1</sup> (17,2 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) e 200 L<sup>-1</sup> (16,2 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>). A menor produtividade foi observada no tratamento de 400 L<sup>-1</sup> (10,4 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>). Em todos os tratamentos as taxas de eclosão mantiveram-se altas e não diferiram entre si ( $p \geq 0,05$ ), sendo a média igual a 85,8% (Fig. 9). Os valores máximos e mínimos de produtividade diária de ovos por fêmea e suas taxas de eclosão nos diferentes tratamentos são apresentados na Tabela 2.

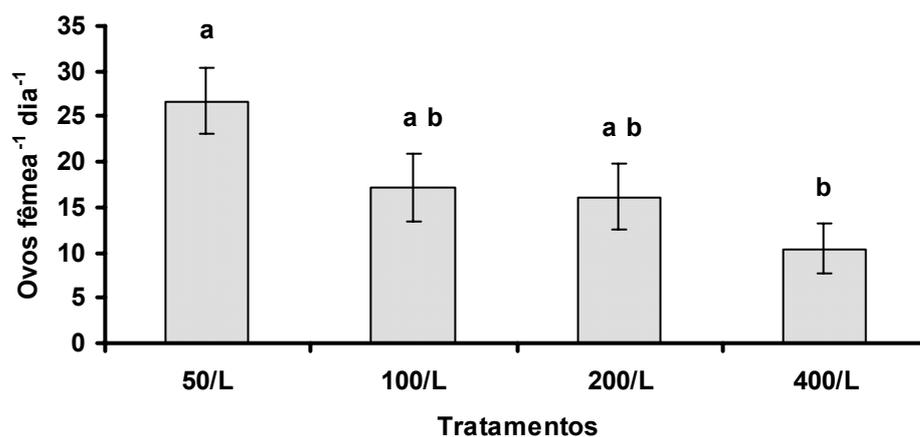


Figura 8: Produção média de ovos por dia pelas fêmeas do copépode *A. tonsa* cultivado nas diferentes densidades de estocagem. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão.

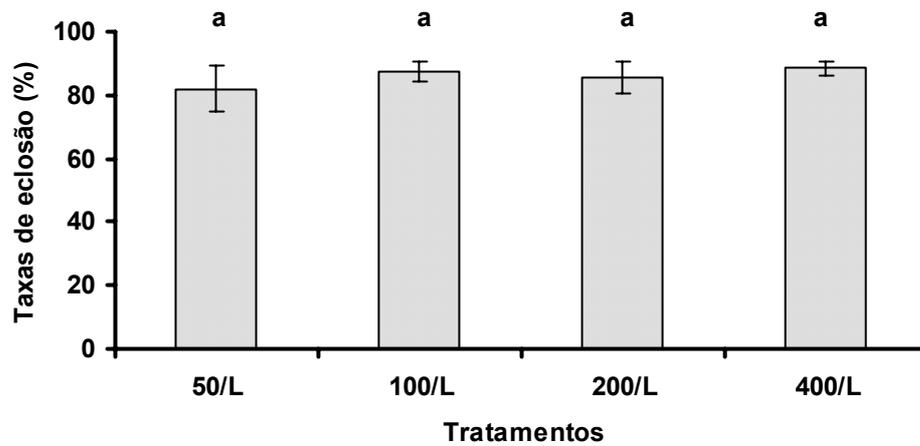
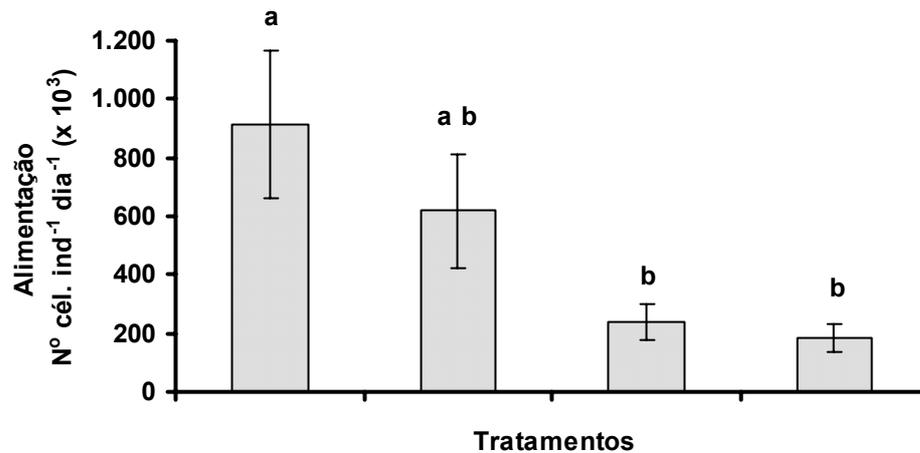


Figura 9: Taxa de eclosão média dos ovos do copépode *A. tonsa* cultivado nas diferentes densidades de estocagem. Letras iguais indicam que não houve diferenças significativas ( $p \geq 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão.

Tabela 2: Valores máximos e mínimos do número de ovos produzidos por fêmea por dia e suas taxas de eclosão para *A. tonsa* nas diferentes densidades de estocagem.

	TRATAMENTOS			
	50 L <sup>-1</sup>	100 L <sup>-1</sup>	200 L <sup>-1</sup>	400 L <sup>-1</sup>
Nº. ovos fêmea <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup>				
máximo	43	40	34	22
mínimo	16	11	6	3
Taxa de eclosão				
máximo	89,44%	93,23%	94,00%	90,88%
mínimo	67,29%	82,26%	77,99%	84,24%

O consumo médio de células da microalga TWE por indivíduo por dia foi mais elevado nos tratamentos de 50 L<sup>-1</sup> e 100 L<sup>-1</sup>, sendo respectivamente de 912,3 e 619 x 10<sup>3</sup> cél. ind.<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> (Fig. 10). O consumo nos tratamentos de 200 L<sup>-1</sup> e 400 L<sup>-1</sup> foi menor, apresentando médias respectivamente de 238,5 e 184,7 x 10<sup>3</sup> cél. ind.<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, com diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) em relação ao tratamento de 50 L<sup>-1</sup>.



**Figura 10:** Consumo médio de células da microalga TWE por indivíduo por dia nas diferentes densidades de cultivo de adultos do copépode *A. tonsa*. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e as barras verticais o erro padrão.

## DISCUSSÃO

### Cultura estoque

Os copépodes coletados do ambiente natural foram estocados nos tanques de reprodutores a uma densidade baixa (13 ind. L<sup>-1</sup>) proporcionando uma boa sobrevivência, além de garantir a obtenção de uma prole de boa qualidade ao evitar-se o estresse das matrizes por competição de alimento e espaço. Os copépodes calanóides são bastante sensíveis a altas concentrações de amônia, sendo que a viabilidade dos ovos de *Acartia clausi* foi afetada negativamente com uma concentração de 0,12 ppm na amônia total (BUTTINO, 1994). Apesar do nível de amônia não ter sido medido durante o cultivo, provavelmente não atingiu valores elevados já que a taxa de eclosão dos ovos foi elevada (média de 86%). A produtividade diária de ovos por fêmea (Tab. 1) foi bastante instável, variando entre 43 e 0,45, devido a fatores relativos ao comportamento reprodutivo das fêmeas de *A. tonsa* (MIRALTO *et al.*, 1999) e esteve abaixo da média de 20-30 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, observada para esta espécie em trabalhos anteriores (STØTTRUP *et al.*, 1986; BERSANO, 2002; KAMINSKI, 2004) e pode estar associada ao estresse sofrido pelas matrizes devido ao manejo, já que a cada oito dias os reprodutores eram concentrados e transferidos para o outro tanque de reprodutores nas mesmas condições de salinidade, temperatura e alimentação. Dadas as taxas de alimentação e de eclosão dos ovos, o alimento oferecido (TWE) foi suficiente para a nutrição dos indivíduos em termos de quantidade e qualidade da microalga. De acordo com POULET *et al.* (1994), copépodes podem produzir ovos não-viáveis ou inférteis dependendo das condições do alimento oferecido.

O coletor de ovos do tanque de reprodutores desenvolvido por BERSANO (2002) é de funcionamento simples e se mostrou bastante eficiente ao evitar o canibalismo (o consumo dos ovos e náuplios), concentrando toda a produção diária no copo coletor e possibilitando que fosse facilmente transferida para os tanques de crescimento. Segundo KIØRBOE *et al.* (1996), copépodes *A. tonsa* apresentam duas estratégias diferentes de captura do alimento, sendo capazes de escolher entre ser filtradores de partículas em suspensão (fitoplâncton) ou caçadores de presas móveis (microzooplâncton). Além disso, LONSDALE *et al.* (1979) e KIØRBOE *et al.* (1985) observaram adultos canibais consumindo seus próprios ovos e náuplios.

### **Densidade de estocagem com náuplios**

As densidades de estocagem propostas inicialmente foram sofrendo reduções, não proporcionais entre os tratamentos, ao longo do experimento devido à mortalidade. O tratamento 4000 L<sup>-1</sup> apresentou as maiores taxas de mortalidade. Isto mostra que a sobrevivência dos copépodes foi afetada negativamente pela mais alta densidade, devido provavelmente ao elevado nível médio de amônia total das unidades experimentais neste tratamento (1,08 ppm). Apesar de não ter havido diferenças significativas no nível da amônia total, este foi menor para os tratamentos 500 L<sup>-1</sup>, 1000 L<sup>-1</sup> e 2000 L<sup>-1</sup>. MEDINA e BARATA (2003) demonstraram que a sobrevivência de copépodes *A. tonsa* não apresentou diferenças significativas quando náuplios foram cultivados em densidades iniciais de 500, 1000 e 2000 indivíduos L<sup>-1</sup>.

O padrão de desenvolvimento observado no presente estudo foi muito semelhante ao descrito por KAMINSKI (2004), que utilizou uma densidade inicial de 800 náuplios L<sup>-1</sup>. Os resultados demonstram que a densidade de cultivo apresentou efeito significativo sobre a taxa de desenvolvimento. Isto também foi demonstrado para esta mesma espécie (MEDINA e BARATA, 2003), que ao ser cultivada sob diferentes densidades apresentou atraso na taxa de metamorfose de copepodito para adulto na densidade mais alta, sendo que no sexto dia houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a maior e a menor densidades e no 12º dia a quantidade de indivíduos que haviam atingido a fase adulta variou significativamente entre os diferentes tratamentos.

O consumo diário de T-Iso pelos copépodes foi influenciado pela densidade de estocagem. O tratamento de 500 L<sup>-1</sup> foi superior aos demais, ocorrendo diferença significativa em relação aos tratamentos de 2000 L<sup>-1</sup> e 4000 L<sup>-1</sup>. A taxa de consumo do fitoplâncton pelos copépodes pode ser influenciada pelo tamanho e abundância das partículas (BERGGREEN *et*

*al.*, 1988; STØTTRUP e JENSEN, 1990). A importância do tamanho das partículas está relacionada à estrutura dos apêndices orais de acordo com o estado de desenvolvimento do indivíduo. A microalga oferecida (T-Iso) pode ser considerada de tamanho ideal para ingestão e nutrição dos náuplios, uma vez que apresenta uma relação altura x largura de 4.6  $\mu\text{m}$  (WIKFORS e PATTERSON, 1994). BERGGREEN *et al.* (1988) demonstraram que o tamanho mínimo para captura das partículas pelos náuplios de *A. tonsa* está entre 2 e 4  $\mu\text{m}$ , sendo seu ótimo próximo a 7  $\mu\text{m}$ , porém este tamanho ótimo aumenta com o desenvolvimento do indivíduo. Adultos de *A. tonsa* não demonstraram eficiência na captura de *I. galbana*, porém em concentração acima de 1  $\mu\text{g C mL}^{-1}$  a eficiência foi máxima (STØTTRUP e JENSEN, 1990). Provavelmente T-Iso não apresentava o tamanho e nem densidade ideais para os estágios mais avançados de copepoditos e adultos, já que em todos os tratamentos o residual de células foi igual a zero nos dois últimos dias de experimento. Entretanto, KAMINSKI (2004) considerou que T-Iso, oferecida na mesma concentração do presente trabalho ( $1 \times 10^5$  cél.  $\text{mL}^{-1}$ ), foi suficiente para promover um bom crescimento dos náuplios até a fase adulta.

### **Densidade de estocagem com copépodes adultos**

As densidades de estocagem iniciais diminuíram devido às taxas de mortalidade registradas durante o período experimental, porém os tratamentos não apresentaram diferenças significativas no final. Apesar da sobrevivência final para o tratamento 400  $\text{L}^{-1}$  não ter demonstrado diferenças significativas em relação aos demais tratamentos, esta foi mais baixa no decorrer de todo o experimento, sendo observada diferença em relação ao tratamento 50  $\text{L}^{-1}$  já a partir do segundo dia. A sobrevivência de indivíduos adultos do copépode *A. tonsa* não foi influenciada quando cultivados em densidades de estocagem de 500, 1000 e 2000 ind.  $\text{L}^{-1}$ , ficando abaixo de 12% após 26 dias de cultivo (MEDINA e BARATA, 2003).

A produtividade total de ovos foi considerada através da soma dos náuplios recém-eclodidos e dos ovos que ainda não haviam eclodido, mantidos por mais um dia. De acordo com PARRISH e WILSON (1978), ovos que não eclodiram após 48 h de incubação não foram fertilizados, sendo que copépodes podem produzir ovos não-viáveis ou inférteis dependendo das condições do alimento oferecido (POULET *et al.*, 1994). JÓNASDÓTTIR (1994) descobriu que a idade do cultivo de diatomáceas influenciou a taxa de eclosão de ovos de *Acartia* spp. O alimento oferecido (TWE) no presente estudo pode ser considerado adequado para a nutrição dos indivíduos, pois em todos os tratamentos as taxas de eclosão mantiveram-se altas (média

aproximada de 86%). O sucesso de eclosão observado por BERSANO (2002) foi em torno de 80%, enquanto STØTTRUP *et al.* (1986) obtiveram 45%.

A produtividade foi influenciada pela densidade de estocagem, sendo que apenas o tratamento de 50 L<sup>-1</sup> apresentou uma média (26 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) aproximada da registrada para *A. tonsa* em trabalhos anteriores. STØTTRUP *et al.* (1986) registraram 25 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, utilizando uma densidade entre 50 e 100 ind. L<sup>-1</sup>. BERSANO (2002) utilizando uma densidade de 25 ind. L<sup>-1</sup> obteve uma produção média de 21 náuplios fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, enquanto KAMINSKI (2004), utilizando a densidade aproximada de 17 fêmeas L<sup>-1</sup>, obteve os melhores resultados quando foram alimentadas com *T. fluviatilis* e com uma dieta mista (*T. fluviatilis* + T-Iso) resultando em produções médias respectivamente de 27 e 25 ovos fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, entretanto a taxa de eclosão não foi acessada. A quantidade e a qualidade do alimento oferecido influenciam a reprodução do copépode *A. tonsa* (PARRISH e WILSON, 1978; KIØRBOE *et al.*, 1985; JÓNASDÓTTIR, 1994). De acordo com STØTTRUP e JENSEN (1990), quando fêmeas adultas de *A. tonsa* foram alimentadas com a microalga *I. galbana* apresentaram as mais altas taxas de produção de ovos, porém esta foi retida com menor eficiência do que *T. weissflogii*. Entretanto, KAMINSKI (2004) obteve melhores resultados de produtividade de ovos por fêmea quando *A. tonsa* foi alimentada com *T. fluviatilis* ou com uma dieta mista (*T. fluviatilis* + T-Iso).

A microalga TWE pode ser considerada adequada para a nutrição de copépodes adultos, proporcionando uma boa produtividade diária no tratamento de menor densidade. A microalga *T. fluviatilis* proporcionou a maior produtividade média por fêmea quando comparada a T-Iso (KAMINSKI, 2004). As densidades elevadas agiram como um fator de estresse, provavelmente devido à competição por espaço e alimento. Além disso, o nível médio da amônia foi mais elevado nas maiores densidades e podem ter inibido o consumo e, conseqüentemente, a produtividade.

## CONCLUSÕES

O cultivo dos náuplios do copépode *Acartia tonsa* é afetado por uma densidade de estocagem elevada, quanto à sobrevivência, taxa de desenvolvimento e consumo de microalgas.

As densidades de 2000 ind. L<sup>-1</sup> é a mais indicada para cultivar náuplios em tanques de crescimento e garantir sobrevivência e taxas de desenvolvimento adequadas.

O cultivo das matrizes de *A. tonsa* é afetado por uma densidade de estocagem elevada, quanto à produtividade diária de ovos por fêmea e ao consumo de microalgas.

As densidades de 200 ind. L<sup>-1</sup> é a mais indicada para cultivar as matrizes nos tanques de reprodutores e garantir sobrevivência e produção de ovos adequadas.

A microalga *Isochrysis* é adequada para a nutrição de náuplios e copepoditos iniciais, porém deve ser substituída por espécies de maior tamanho (*Chaetoceros* e *Thalassiosira*) com o desenvolvimento dos indivíduos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, J.G.; McEVOY, L.A.; ESTEVEZ, A.; SHIELDS, R.J.; SARGENT, J.R. 2003. Optimizing lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*, 227: 211-220.
- BERGGREEN, U.; HANSEN, B.; KIØRBOE, T. 1988. Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: implications for determination of copepod production. *Mar. Biol.*, 99: 341-352.
- BERSANO, J.G.F. 2002. *Cultivos Massivos de Copépodes para Utilização como Alimento Vivo na Piscicultura Marinha: Apresentação de um Novo Método de Cultivo*. 26p. (Trabalho apresentado como Relatório Final – CNPq Proc. N° 301318/00.0).
- BUTTINO, I. 1994. The effect of low concentrations of phenol and ammonia on egg production rates, fecal pellet production and viability of the calanoid copepod *Acartia clausi*. *Mar. Biol.*, 119: 629-634.
- CENTENO, A.J. 1999. *Curso de estatística aplicada à biologia*. 2ª ed. Goiânia: UFG. 234p.
- JÓNASDÓTTIR, S.H., 1994. Effects of food quality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: laboratory observations. *Mar. Biol.*, 121: 67-81.
- KAMINSKI, S.M. 2004. *Influência da alimentação sobre a reprodução e o desenvolvimento do copépode Calanoida **Acartia tonsa** Dana 1849, em cultivo intensivo*. Florianópolis. 53p. (Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências Agrárias, UFSC).
- KIØRBOE, T.; SAIZ, E.; VITASALO, M., 1996. Prey switching behaviour in the planktonic copepod *Acartia tonsa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 143: 65-75.
- KIØRBOE, T.; MOHLENBERG, F.; HAMBURGER, K. 1985. Bioenergetics of the copepod *Acartia tonsa*: relation between feeding, egg production and respiration, and composition of specific dynamic action. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 26: 85-97.
- LONSDALE, D.J.; HEINLE, D.R.; SIEGFRIED, C. 1979. Carnivorous feeding behaviour of the adult calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 36: 235-248.

- McEVOY, L.A.; NÆSS, T.; LIE, O. 1998. Lipid and fat acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*, 163: 237-250.
- MEDINA, M. e BARATA, C. 2003. Static-renewal culture of *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) for ecotoxicological testing. *Aquaculture*, 229: 203-213.
- van der MEEREN, T. 1991. Selective feeding and prediction of food consumption in turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) reared on the rotifer *Brachionus plicatilis* and natural zooplâncton. *Aquaculture*, 93: 35-55.
- MIRALTO, A.; BARONE, G.; ROMANO, G.; POULET, S.A.; IANORA, A.; RUSSO, G.L.; BUTTINO, I.; MAZZARELLAS, G.; LAABIR, M.; CABRINI, M.; GIACOBBE, M.G. 1999. The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature*, 402: 173-176.
- NÆSS, T. e LIE, Ø. 1998. A sensitive period during first feeding for the determination of pigmentation pattern in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., juveniles: the role of diet. *Aquacult. Res.*, 29: 925-934.
- NANTON, D.A. e CASTELL, J.D. 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as live food for marine fish larvae. *Aquaculture*, 175: 167-181.
- NORSKER, N.H. e STØTTRUP, J.G. 1994. The importance of dietary HUFA's for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holonthuriae* Humes. *Aquaculture*, 125: 155-166.
- PARRISH, K. e WILSON, D. 1978. Fecundity studies on *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) in standardized culture. *Mar. Biol.*, 46: 65-81.
- PAYNE, M.F.; RIPPINGALE, R.J.; CLEARY, J.J. 2001. Cultured copepods as food for West Australian dhufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*) larvae. *Aquaculture*, 194: 137-150.
- PAYNE, M.F.; RIPPINGALE, R.J.; LONGMORE, R.B. 1998. Growth and survival of juvenile pipefish (*Stigmatopora argus*) fed live copepods with high and low HUFA content. *Aquaculture*, 167: 237-245.
- POULET, S.A.; IANORA, A.; MIRALTO, A.; MEIJER, L. 1994. Do diatoms arrest embryonic development in copepods? *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 111: 79-86.
- STØTTRUP, J.G. 2003. Production and Nutritional Value of Copepods. In: STØTTRUP, J.G. e McEVOY, L.A. *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Oxford: Blackwell Publishing. p.145-205.
- STØTTRUP, J.G. e JENSEN, J. 1990. Influence of algal diet on feeding and egg-production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 141: 87-105.

- STØTTRUP, J.G.; RICHARDSON, K.; KIRKEGAARD, E.; PIHL, N.J. 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. *Aquaculture*, 52: 87-96.
- WATANABE, T.; KATAJIMA, C.; FUJITA, S. 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, 34: 115-143.
- WIKFORS, G.H. e PATTERSON, G.W. 1994. Differences in strains of *Isochrysis* of importance for mariculture. *Aquaculture*, 123: 127-135.
- WITT, U.; QUANTZ, G.; KUHLMANN, D.; KATTNER, G. 1984. Survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L. reared on different food organisms with special regard to long-chain polyunsaturated fatty acids. *Aquacult. Eng.*, 3 (3): 177-190.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As microalgas exercem uma influência significativa na reprodução, desenvolvimento e sobrevivência do copépode *Acartia tonsa*, devido a fatores como tamanho, quantidade e qualidade nutricional.

O copépode *A. tonsa* é uma espécie indicada para aquíicultura por apresentar reprodução em cativeiro, sendo que a metodologia para cultivo em laboratório desenvolvida no Brasil é a mais adequada para a obtenção de náuplios recém-eclodidos.

Copépodes marinhos são naturalmente ricos em ácidos graxos polinsaturados, não sendo necessário o seu enriquecimento com emulsões lipídicas.

O cultivo de copépodes para sua utilização como alimento vivo em larviculturas de peixes marinhos poderá contribuir de forma significativa nas taxas de sobrevivência, crescimento e pigmentação e na resistência ao estresse.

*A. tonsa* apresenta potencial como alimento vivo na larvicultura do robalo-peva *Centropomus parallelus*, por sua qualidade nutricional e por sua ampla gama de tamanhos, podendo ser utilizado como suplemento aos rotíferos e à *Artemia*.

O cultivo de copépodes deve ser realizado sob condições controladas e, de preferência, em uma sala separada de outros organismos, como rotíferos e *Artemia*, evitando desta forma contaminações indesejáveis.

O cultivo de adultos foi influenciado pelas densidades de estocagem utilizadas, sendo que a densidade de 200 ind. L<sup>-1</sup> é a mais indicada para cultivar as matrizes nos tanques de reprodutores e garantir sobrevivência e produção de ovos adequadas.

O sistema coletor de ovos é de simples implantação e bastante eficiente ao garantir a separação dos ovos e náuplios e evitar o canibalismo pelos adultos.

O cultivo dos náuplios do copépode *Acartia tonsa* foi influenciado pela densidade de estocagem, sendo a densidade de 2000 ind. L<sup>-1</sup> a mais indicada para o cultivo nos tanques de crescimento e garantir sobrevivência e taxas de desenvolvimento adequadas.

Visando o aprimoramento do cultivo de *A. tonsa*, sugere-se a realização de experimentos testando níveis de salinidade e oferta de alimento que favoreçam a sobrevivência, o desenvolvimento e a produtividade de ovos por fêmea. Além destes, a induzir a produção de cistos ou ovos em diapausa seria de importância na formação de um banco de ovos.

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- Barbuio, M.A.T. 1999. Efeito da utilização de uma dieta comercial e dietas experimentais, nas formas seca e semi-úmida, no crescimento e composição corporal do robalo (*Centropomus parallelus* Poey 1860). Dissertação de Mestrado, UFSC. Florianópolis. 57p.
- Bell, J.G.; McEvoy, L.A.; Estevez, A.; Shields, R.J.; Sargent, J.R. 2003. Optimizing lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*, 227: 211-220.
- Benetti, D.D. 1998. Recent progress in marine fish aquaculture. In: X Simpósio Brasileiro de Aqüicultura. 1998, Recife: Associação Brasileira de Aqüicultura – ABRAq, 1998. p. 183-198.
- 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. N° 301318/00.0.
- Brown, N. 2002. Flatfish farming systems in the Atlantic region. *Rev. Fish. Sci.*, 10 (3 &4): 403-419.
- Cahu, C.; Infante, J.Z.; Takeushi, T. 2003. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. *Aquaculture*, 227: 245-258.
- Cerqueira, V.R. 2002. Cultivo do robalo: aspectos da reprodução, larvicultura e engorda / Vinícius Ronzani Cerqueira – Florianópolis: Ed. do Autor, 2002. 94p.
- Cerqueira, V.R. 1995. Testes de indução de desova do robalo, *Centropomus parallelus*, do litoral da ilha de Santa Catarina com Gonadotrofina Coriônica Humana (HCG). In: Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 7, 1991, Santos-SP. Anais... Recife: Associação dos Engenheiros de Pesca de PE, 1995. p. 95-102.
- Cerqueira, V.R.; Honkzarik, A. 1992. Growth of juvenile common snook, *Centropomus undecimalis*, with dry pellets and chemical feeding attractants. In: *Aquaculture '92 – Meeting of the world Aquaculture Society*, 23, 1992, Orlando-USA. Abstracts... Orlando: WAS, 1992. p. 59.
- Cerqueira, V.R.; Macchiavello, J.A.G.; Brügger, A.M. 1995. Produção de alevinos de robalo, *Centropomus parallelus* Poey, 1860, através de larvicultura intensiva em laboratório. In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 7, 1992, Peruíbe-SP. Anais... São Paulo: Academia de Ciências do Estado de São Paulo. p. 191-197.

- Chao, L.N.; Pereira, L.E.; Vieira, J.P.; Benvenuti, M.A.; Cunha, L.P.R. 1982. Relação preliminar dos peixes estuarinos e marinhos da Lagoa dos Patos e região costeira adjacente. *Atlântica*, 5: 67-75.
- Chapman, P.; Cross, F.; Fish, W.; Jones, K. 1982. Final report for sportfish introductions project. Study I: Artificial culture of snook. Florida Game and Fresh Water Fish Commission. 35p.
- Edwards, R.E.; Henderson, B.D. 1987. An experimental hatchery project: Studies of propagation, culture and biology of snook (*Centropomus undecimalis*). In: Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute, 38, 1985, Trois-Islets, Martinique. Proceedings... Miami. p. 211-221.
- Figueiredo, J.L.; Menezes, N.A. 1980. Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil. III. Teleostei (2). São Paulo, Museu de Zoologia de USP. 90p.
- Jónasdóttir, S.H. 1994. Effects of food quality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acartia hudsonica*: laboratory observations. *Mar. Biol.*, 121: 67-81.
- Kjørboe, T.; Mohlenberg, F.; Hamburger, K. 1985. Bioenergetics of the copepod *Acartia tonsa*: relation between feeding, egg production and respiration, and composition of specific dynamic action. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 26: 85-97.
- Kjørboe, T.; Saiz, E.; Vitasalo, M. 1996. Prey switching behaviour in the planktonic copepod *Acartia tonsa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 143: 65-75.
- Kraul, S.; Brittain, K.; Cantrell, R.; Nagao, T.; Ako, H.; Ogasawara, A.; Kitagawa, H. 1993. Nutritional factors affecting stress resistance in the larval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *J. World Aquacult. Soc.* 24: 186-193.
- Le François, N.R.; Lemieux, H.; Blier, P.U. 2002. Biological and technical evaluation of the potential of marine and anadromous fish species for cold-water mariculture. *Aquaculture Research*, 33: 95-108.
- McEvoy, L.A.; Næss, T.; Lie, Ø. 1998. Lipid and fat acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*, 163: 237-250.
- van der Meeren, T. 1991. Selective feeding and prediction of food consumption in turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) reared on the rotifer *Brachionus plicatilis* and natural zooplâncton. *Aquaculture*, 93: 35-55.
- Norsker, N.H.; Støttrup, J.G. 1994. The importance of dietary HUFA's for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holonthuriae* Humes. *Aquaculture*, 125: 155-166.

- Payne, M.F.; Ripplingale, R.J.; Cleary, J.J. 2001. Cultured copepods as food for West Australian dhufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*) larvae. *Aquaculture*, 194: 137-150.
- Payne, M.F.; Ripplingale, R.J.; Longmore, R.B. 1998. Growth and survival of juvenile pipefish (*Stigmatopora argus*) fed live copepods with high and low HUFA content. *Aquaculture*, 167: 237-245.
- Rivas, L.R. 1986. Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia*, 3: 579-611.
- 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: 117-127.
- Seiffert, M.E.B.; Cerqueira, V.R.; Madureira, L.A.S. 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. *Braz. Journ. Med. Biol. Res.*, 34: 645-651.
- Shields, R.J., 2001. Larviculture of marine fish in Europe. *Aquaculture*, 200: 55-88.
- Støttrup, J.G.; Richardson, K.; Kirkegaard, E.; Pihl, N.J. 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. *Aquaculture*, 52: 87-96.
- Støttrup, J.G.; Jensen, J. 1990. Influence of algal diet on feeding and egg-production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 141: 87-105.
- Støttrup, J.G. 2003. Production and Nutritional Value of Copepods. In: *Live Feeds in Marine Aquaculture* (Støttrup, J.G. e McEvoy, L.A., Eds.). Oxford: Blackwell Publishing. p. 145-205.
- Sun, B.; Fleeger, J.W. 1995. Sustained mass culture of *Amphiascoides atopus* a marine harpacticoid copepod in a recirculating system. *Aquaculture*, 136: 313-321.
- Temple, S.; Cerqueira, V.R.; Brown, J.A. 2004. The effects of lowering prey density on the growth, survival and foraging behaviour of larval fat snook (*Centropomus parallelus* Poey 1860). *Aquaculture*, 233: 205-217.
- Tucker Jr., J.W. 1987. Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. *Prog. Fish Cult.*, 49: 49-57.
- Watanabe, T; Katajima, C.; Fujita, S. 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, 34: 115-143.

Witt, U.; Quantz, G.; Kuhlmann, D.; Kattner, G. 1984. Survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L. reared on different food organisms with special regard to long-chain polyunsaturated fatty acids. Aquacult. Eng., 3 (3): 177-190.

## ANEXO I

## DENSIDADE DE ESTOCAGEM COM NÁUPLIOS

DENSIDADE FINAL (Indivíduos/L)				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	141,6667	25,16611	14,52966	633,3333
1000/L	620,0000	281,6026	162,5833	79300,00
2000/L	993,3333	201,3289	116,2373	40533,33
4000/L	533,3333	100,6645	58,11865	10133,33

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
1099523	3	366507,6	11,22535	0,003074*

\*diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Teste de Tukey			
500/L x 1000/L	0,047382*	1000/L x 2000/L	0,128953
500/L x 2000/L	0,002024*	1000/L x 4000/L	0,933171
500/L x 4000/L	0,108353	2000/L x 4000/L	0,056412

\*diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 2				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	1,118817	0,044904	0,025925	0,002016
1000/L	1,168253	0,086294	0,049822	0,007447
2000/L	1,089834	0,026314	0,015192	0,000692
4000/L	1,024809	0,091228	0,052671	

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 3				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,971175	0,066315	0,038287	0,004398
1000/L	1,096263	0,088332	0,050999	0,007803
2000/L	1,041072	0,021112	0,012189	0,000446
4000/L	0,930216	0,094784	0,054724	0,008984

\*\*transformação da raiz quadrada do arcoseno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,048838	3	0,016279	3,010489	0,094481

Teste de Tukey				
500/L x 1000/L	0,23692	1000/L x 2000/L	0,795852	
500/L x 2000/L	0,663818	1000/L x 4000/L	0,092703	
500/L x 4000/L	0,901112	2000/L x 4000/L	0,320976	

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 4				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,830909	0,044565	0,02573	0,001986
1000/L	1,038179	0,104212	0,060167	0,01086
2000/L	0,90265	0,054678	0,031569	0,00299
4000/L	0,736652	0,037358	0,021569	0,001396

\*\*transformação da raiz quadrada do arcoseno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,145376	3	0,048459	11,24873	0,003053*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey				
500/L x 1000/L	0,020027*	1000/L x 2000/L	0,129223	
500/L x 2000/L	0,566442	1000/L x 4000/L	0,00236*	
500/L x 4000/L	0,357195	2000/L x 4000/L	0,058051	

\*diferença significativa (p<0,05).

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 5				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,723415	0,031951	0,018447	0,001021
1000/L	0,912906	0,199526	0,115197	0,039811
2000/L	0,849405	0,074826	0,043201	0,005599
4000/L	0,570233	0,033104	0,019112	0,001096

\*\*transformação da raiz quadrada do arcoseno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,205979	3	0,06866	5,778675	0,021136*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey				
500/L x 1000/L	0,223025	1000/L x 2000/L	0,889104	
500/L x 2000/L	0,524621	1000/L x 4000/L	0,020502*	
500/L x 4000/L	0,373663	2000/L x 4000/L	0,054935	

\*diferença significativa (p<0,05).

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 6				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,632929	0,00858	0,004953	0,000074
1000/L	0,874424	0,206754	0,11937	0,042747
2000/L	0,775032	0,101036	0,058333	0,010208
4000/L	0,498235	0,041546	0,023986	0,001726

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,243501	3	0,081167	5,929441	0,019751*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey				
500/L x 1000/L	0,129403	1000/L x 2000/L	0,732192	
500/L x 2000/L	0,486653	1000/L x 4000/L	0,018224*	
500/L x 4000/L	0,527649	2000/L x 4000/L	0,076965	

\*diferença significativa (p<0,05).

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 7				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,534696	0,049541	0,028602	0,002454
1000/L	0,826786	0,240677	0,138955	0,057925
2000/L	0,719637	0,081377	0,046983	0,006622
4000/L	0,364642	0,034571	0,01996	0,001195

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,374637	3	0,124879	7,324612	0,011071*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey			
500/L x 1000/L	0,096131	1000/L x 2000/L	0,751232
500/L x 2000/L	0,367679	1000/L x 4000/L	0,010831*
500/L x 4000/L	0,432412	2000/L x 4000/L	0,041922*

\*diferença significativa (p<0,05).

TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 3 - Náuplios				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,96339	0,028895	0,016683	0,000835
1000/L	0,99894	0,095042	0,054873	0,009033
2000/L	0,934985	0,02784	0,016074	0,000775
4000/L	1,075869	0,062621	0,036154	0,003921

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 3 - Copepoditos				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,447742	0,038013	0,021947	0,001445
1000/L	0,39573	0,131136	0,075711	0,017197
2000/L	0,484522	0,035433	0,020457	0,001255
4000/L	0,288213	0,094792	0,054728	0,008986

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância					
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Náuplios	0,033434	3	0,011145	3,060785	0,091451
Copepoditos	0,065616	3	0,021872	3,029111	0,093345

Teste de Tukey			
Náuplios		Copepoditos	
500/L x 1000/L	0,885911	500/L x 1000/L	0,874447
500/L x 2000/L	0,936439	500/L x 2000/L	0,949359
500/L x 4000/L	0,181348	500/L x 4000/L	0,177353
1000/L x 2000/L	0,588911	1000/L x 2000/L	0,599095
1000/L x 4000/L	0,449076	1000/L x 4000/L	0,454951
2000/L x 4000/L	0,081204	2000/L x 4000/L	0,084722

TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 4 - Náuplios				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,612389	0,029287	0,016909	0,000858
1000/L	0,619299	0,090678	0,052353	0,008223
2000/L	0,693501	0,124364	0,071801	0,015466
4000/L	0,775955	0,069092	0,03989	0,004774

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

<b>TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 4 - Copepoditos</b>				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,828196	0,026041	0,015035	0,000678
1000/L	0,819822	0,080112	0,046253	0,006418
2000/L	0,74774	0,12325	0,071159	0,015191
4000/L	0,667782	0,074698	0,043127	0,00558

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

<b>Análise de Variância</b>					
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Náuplios	0,05267	3	0,017557	2,395145	0,143809
Copepoditos	0,050236	3	0,016745	2,40366	0,142935

<b>Teste de Tukey</b>			
Náuplios		Copepoditos	
500/L x 1000/L	0,999648	500/L x 1000/L	0,999326
500/L x 2000/L	0,665966	500/L x 2000/L	0,654622
500/L x 4000/L	0,167807	500/L x 4000/L	0,164616
1000/L x 2000/L	0,720734	1000/L x 2000/L	0,72279
1000/L x 4000/L	0,191967	1000/L x 4000/L	0,194581
2000/L x 4000/L	0,655211	2000/L x 4000/L	0,658711

<b>TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 5 - Náuplios</b>				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,376956	0,06684	0,03859	0,004468
1000/L	0,344467	0,152484	0,088036	0,023251
2000/L	0,357579	0,095441	0,055103	0,009109
4000/L	0,647352	0,111591	0,064427	0,012452

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

<b>TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 5 - Copepoditos</b>				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	1,015047	0,04824	0,027852	0,002327
1000/L	1,034709	0,105767	0,061064	0,011187
2000/L	1,027996	0,067129	0,038757	0,004506
4000/L	0,792658	0,106709	0,061609	0,011387

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

<b>Análise de Variância</b>					
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Náuplios	0,187819	3	0,062606	5,081642	0,02937*
Copepoditos	0,123021	3	0,041007	5,577868	0,023175*

\*diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Teste de Tukey			
Náuplios		Copepoditos	
500/L x 1000/L	0,983147	500/L x 1000/L	0,991729
500/L x 2000/L	0,996311	500/L x 2000/L	0,997623
500/L x 4000/L	0,068161	500/L x 4000/L	0,051945
1000/L x 2000/L	0,998876	1000/L x 2000/L	0,999679
1000/L x 4000/L	0,041208*	1000/L x 4000/L	0,035093*
2000/L x 4000/L	0,05045	2000/L x 4000/L	0,040105*

\*diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 6 - Copepoditos				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,668597	0,055432	0,032004	0,003073
1000/L	0,678179	0,041744	0,024101	0,001743
2000/L	0,714155	0,055454	0,032016	0,003075
4000/L	0,766638	0,092784	0,053569	0,008609

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 6 - Adultos				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,775981	0,052268	0,030177	0,002732
1000/L	0,767331	0,040037	0,023115	0,001603
2000/L	0,731881	0,05564	0,032124	0,003096
4000/L	0,67619	0,096817	0,055897	0,009374

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância					
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Copepoditos	0,01774	3	0,005913	1,433592	0,303212
Adulto	0,018482	3	0,006161	1,466444	0,295003

Teste de Tukey			
Copepoditos		Adultos	
500/L x 1000/L	0,997716	500/L x 1000/L	0,998369
500/L x 2000/L	0,82073	500/L x 2000/L	0,837543
500/L x 4000/L	0,311809	500/L x 4000/L	0,305628
1000/L x 2000/L	0,899667	1000/L x 2000/L	0,905646
1000/L x 4000/L	0,389083	1000/L x 4000/L	0,373209
2000/L x 4000/L	0,75347	2000/L x 4000/L	0,725724

TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 7 - Copepoditos				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	0,3135	0,053707	0,031007	0,002884
1000/L	0,499824	0,12427	0,071747	0,015443
2000/L	0,56144	0,047295	0,027306	0,002237
4000/L	0,640602	0,04995	0,028839	0,002495

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

TAXA DE DESENVOLVIMENTO** DIA 7 - Adultos				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	1,059739	0,036551	0,021103	0,001336
1000/L	0,919215	0,102421	0,059133	0,01049
2000/L	0,871995	0,040264	0,023246	0,001621
4000/L	0,802226	0,045069	0,026021	0,002031

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância					
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
Copepoditos	0,174802	3	0,058267	10,1074	0,004265*
Adultos	0,106569	3	0,035523	9,180025	0,00572*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey			
Copepoditos		Adultos	
500/L x 1000/L	0,066084	500/L x 1000/L	0,092548
500/L x 2000/L	0,600675	500/L x 2000/L	0,547301
500/L x 4000/L	0,003455*	500/L x 4000/L	0,00438*
1000/L x 2000/L	0,757141	1000/L x 2000/L	0,790544
1000/L x 4000/L	0,184355	1000/L x 4000/L	0,176384
2000/L x 4000/L	0,016791*	2000/L x 4000/L	0,025254*

\*diferença significativa (p<0,05).

CONSUMO DE CÉLULAS/INDIVÍDUO/DIA				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
500/L	264541,6	263102,4	99443,36	6,92x10 <sup>10</sup>
1000/L	86354,43	62257,52	23531,13	3,88x10 <sup>9</sup>
2000/L	55448	36103,93	13646	1,3x10 <sup>9</sup>
4000/L	57774,14	46760,41	17673,77	2,19x10 <sup>9</sup>

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
2,1x10 <sup>11</sup>	3	7x10 <sup>10</sup>	3,655913	0,026601*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey			
500/L x 1000/L	0,102372	1000/L x 2000/L	0,974957
500/L x 2000/L	0,043271*	1000/L x 4000/L	0,979998
500/L x 4000/L	0,046295*	2000/L x 4000/L	0,99999

\*diferença significativa (p<0,05).

## ANEXO II

## DENSIDADE DE ESTOCAGEM COM ADULTOS

Tratamentos	DENSIDADE FINAL			
	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
50/L	9,833333	0,288675	0,166667	0,083333
100/L	20,00	10,00	5,773503	100,00
200/L	50,00	30,00	17,32051	900,00
400/L	54,66667	23,09401	13,33333	533,3333

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
4387,729	3	1462,576	3,815209	0,057673

Teste de Tukey				
50/L x 100/L	0,917563	100/L x 200/L	0,309111	
50/L x 200/L	0,132212	100/L x 400/L	0,211623	
50/L x 400/L	0,087758	200/L x 400/L	0,990734	

Tratamentos	TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 2			
	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
50/L	1,165963	0,025593	0,014776	0,000655
100/L	1,082054	0,030569	0,017649	0,000934
200/L	1,119889	0,014372	0,008298	0,000207
400/L	1,061316	0,050619	0,029225	0,002562

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,019055	3	0,006352	5,829503	0,020656*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey				
50/L x 100/L	0,056775	100/L x 200/L	0,530948	
50/L x 200/L	0,378858	100/L x 400/L	0,866097	
50/L x 400/L	0,019621*	200/L x 400/L	0,210276	

\*diferença significativa (p<0,05).

Tratamentos	TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 3			
	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
50/L	0,987263	0,03585	0,020698	0,001285
100/L	0,958309	0,048419	0,027954	0,002344
200/L	0,976828	0,064154	0,037039	0,004116
400/L	0,809972	0,028113	0,016231	0,00079

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,061925	3	0,020642	9,673214	0,00488*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey			
50/L x 100/L	0,866854	100/L x 200/L	0,958987
50/L x 200/L	0,992083	100/L x 400/L	0,018348*
50/L x 400/L	0,006829*	200/L x 400/L	0,009662*

\*diferença significativa (p<0,05).

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 4				
Tratamentos	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
50/L	0,870508	0,051382	0,029665	0,00264
100/L	0,870121	0,02777	0,016033	0,000771
200/L	0,850059	0,091693	0,052939	0,008408
400/L	0,717686	0,056722	0,032748	0,003217

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,048701	3	0,016234	4,318545	0,043521*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey			
50/L x 100/L	1,00	100/L x 200/L	0,976827
50/L x 200/L	0,975539	100/L x 400/L	0,062505
50/L x 400/L	0,06183	200/L x 400/L	0,109958

TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 5				
Tratamento	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
50/L	0,752618	0,016372	0,009453	0,000268
100/L	0,760159	0,052683	0,030417	0,002776
200/L	0,734799	0,104369	0,060258	0,010893
400/L	0,591493	0,034491	0,019914	0,00119

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
0,056973	3	0,018991	5,022055	0,030246*

\*diferença significativa (p<0,05).

Teste de Tukey			
50/L x 100/L	0,998732	100/L x 200/L	0,955647
50/L x 200/L	0,98364	100/L x 400/L	0,040235*
50/L x 400/L	0,049633*	200/L x 400/L	0,081817

\*diferença significativa (p<0,05).

<b>TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 6</b>				
<b>Tratamento</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Variância</b>
<b>50/L</b>	0,594457	0,036078	0,02083	0,001302
<b>100/L</b>	0,603227	0,09496	0,054825	0,009017
<b>200/L</b>	0,592837	0,109566	0,063258	0,012005
<b>400/L</b>	0,443249	0,049044	0,028315	0,002405

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

<b>Análise de Variância</b>				
<b>Soma dos quadrados</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
0,053265	3	0,017755	2,871972	0,10349

<b>Teste de Tukey</b>			
<b>50/L x 100/L</b>	0,999063	<b>100/L x 200/L</b>	0,998416
<b>50/L x 200/L</b>	0,999994	<b>100/L x 400/L</b>	0,136053
<b>50/L x 400/L</b>	0,164286	<b>200/L x 400/L</b>	0,170063

<b>TAXA DE SOBREVIVÊNCIA** DIA 7</b>				
<b>Tratamento</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Variância</b>
<b>50/L</b>	0,444893	0,006644	0,003836	0,000044
<b>100/L</b>	0,43907	0,118045	0,068154	0,013935
<b>200/L</b>	0,486887	0,163076	0,094152	0,026594
<b>400/L</b>	0,363771	0,085813	0,049544	0,007364

\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

<b>Análise de Variância</b>				
<b>Soma dos quadrados</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
0,023619	3	0,007873	0,656953	0,600996

<b>Teste de Tukey</b>			
<b>50/L x 100/L</b>	0,999899	<b>100/L x 200/L</b>	0,948085
<b>50/L x 200/L</b>	0,963723	<b>100/L x 400/L</b>	0,833276
<b>50/L x 400/L</b>	0,801691	<b>200/L x 400/L</b>	0,54527

<b>TAXA DE ECLOSÃO**</b>				
<b>Tratamento</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Variância</b>
<b>50/L</b>	0,98594	0,109849	0,063421	0,012067
<b>100/L</b>	1,035412	0,05687	0,032834	0,003234
<b>200/L</b>	1,045927	0,087271	0,050386	0,007616
<b>400/L</b>	1,043223	0,036853	0,021277	0,001358

\*\*transformação da raiz quadrada do arco seno.

<b>Análise de Variância</b>				
<b>Soma dos quadrados</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
0,007130	3	0,002377	0,391599	0,762486

Teste de Tukey			
50/L x 100/L	0,862500	100/L x 200/L	0,998314
50/L x 200/L	0,783696	100/L x 400/L	0,999327
50/L x 400/L	0,805172	200/L x 400/L	0,999972

PRODUÇÃO DE OVOS/FÊMEA/DIA				
Tratamento	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
50/L	26,7	9,563472	3,614653	91,46
100/L	17,15714	9,923013	3,750546	98,46619
200/L	16,17143	9,875848	3,73272	97,53238
400/L	10,38571	7,240495	2,73665	52,42476

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
959,6496	3	319,8832	3,764624	0,023988*

\*diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Teste de Tukey			
50/L x 100/L	0,239934	100/L x 200/L	0,997150
50/L x 200/L	0,170358	100/L x 400/L	0,526934
50/L x 400/L	0,014603*	200/L x 400/L	0,648478

\*diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

CONSUMO DE CÉLULAS/INDIVÍDUO/DIA				
Tratamento	Média	Desvio padrão	Erro padrão	Variância
50/L	912344,1	664504,2	251159	$4,42 \times 10^{11}$
100/L	619001,1	514924,3	194623,1	$2,65 \times 10^{11}$
200/L	238512,7	163089,5	61642,05	$2,66 \times 10^{10}$
400/L	184715,6	126805,3	47927,89	$1,61 \times 10^{10}$

Análise de Variância				
Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F	p
$2,46 \times 10^{12}$	3	$8,2 \times 10^{11}$	4,377193	0,013585*