



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA

Produção e utilização de diferentes fontes de alimento vivo na fase inicial de larvicultura do neon gobi (*Elacatinus figaro*).

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Aqüicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aqüicultura.

Orientadora: Profa. Mônica Yumi Tsuzuki

Guilherme de Freitas Côrtes

Côrtes, Guilherme de Freitas

Produção e utilização de diferentes fontes de alimento vivo na fase inicial de larvicultura do neon gobi (*Elacatinus figaro*) / Guilherme de Freitas Côrtes – 2009.

53 f : 8 figs., 2 tab.

Orientadora: Mônica Yumi Tsuzuki.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

1.*Elacatinus figaro*; 2.Neon gobi; 3.Peixe ornamental; 4.Larvicultura; 5.Alimento vivo.

Produção e utilização de diferentes fontes de alimento vivo na fase inicial de larvicultura do neon gobi (*Elacatinus figaro*).

Por

GUILHERME DE FREITAS CÔRTEZ

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.

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki – *Orientadora*

Dr. Ronaldo Olivera Cavalli

Dr. Anita Rademaker Valença

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos:

A minha família, Fiorella e Luara. Gracias Fio, por sua paciência e apoio incondicional ao meu trabalho, e por acreditar em mim. Amos vocês!

A tia Jaque, que incentivou o meu ingresso no mestrado e me fez acreditar que este trabalho era possível, apesar das dificuldades encontradas naquele momento, muito obrigado!

A minha mãe, que também sempre apoiou meus estudos e ajudou de muitas outras formas para que este trabalho se concretizasse.

A minha orientadora e amiga Monica Tsuzuki por sua atenção, ensinamentos e constante participação neste projeto, foi muito enriquecedor trabalhar em sua companhia.

Aos amigos, estagiários e técnicos de laboratório, com os quais convivi grande parte do ano de 2008 no laboratório do LAPMAR e que me ajudaram de maneira decisiva para a conclusão deste trabalho. Muito obrigado à: Israel Silva, Vaico, Antonio Sayão, Moises Barbosa, Fabio Neves, Gledson, Marcos Nunes, Annelise, André Gonçalves, Samanta, Ricardo Zommer, Eduardo Carvalho, Emílio Melo, Felipe Vieira, Marcia Vanacor, Eduardo Ferraz e Crisitina Carvalho. E a todos aqueles que contribuíram de alguma forma.

Dedico este trabalho em memória a Dupuy Antônio Côrtes. Pai obrigado por iluminar o meu caminho pelos momentos difíceis que passei.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	7
INTRODUÇÃO	8
ARTIGO 1 - Efeito de diferentes tamanhos de rotífero na sobrevivência e no crescimento de neon gobi <i>Elacatinus figaro</i> durante as fases iniciais de larvicultura	12
Resumo	12
Abstract	12
1. Introdução	13
2. Materiais e Métodos	14
3 Resultados e Discussão	17
4. Conclusão	19
5. Agradecimentos	19
6. Bibliografia	20
ARTIGO 2 - Monocultivo do protozoário ciliado <i>Euplotes</i> sp. com diferentes dietas	22
Resumo	22
Abstract	22
1. Introdução	23
2. Materiais e Métodos	24
3, Resultados	26
4. Discussão	27
5. Conclusão	28
6. Agradecimentos	28
7. Bibliografia	29
ARTIGO 3 - Efeito da utilização de diferentes tipos de alimento vivo na sobrevivência e crescimento no período de primeira alimentação de neon gobi (<i>Elacatinus figaro</i>)	30
Resumo	30
Abstract	30
1. Introdução	31
2. Materiais e Métodos	32
3. Resultados	35
4. Discussão	37
5. Conclusão	39
6. Bibliografia	39
CONCLUSÕES GERAIS	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO	44
ANEXOS	46

RESUMO

Um dos principais gargalos no cultivo de peixes marinhos, incluindo os ornamentais, incide na oferta de um alimento apropriado às larvas no início de sua alimentação exógena. O presente estudo trabalhou com larvas de neon gobi *Elacatinus figaro*, espécie endêmica da costa brasileira, ameaçada de extinção, com o objetivo de identificar fontes de alimento vivo apropriado para a primeira alimentação das larvas desta espécie. Em um primeiro experimento foi analisada a influência no crescimento e na sobrevivência das larvas com a utilização de rotíferos de diferentes tamanhos. Em outro estudo, avaliou-se a utilização de náuplios de copépodes selvagens e de protozoários ciliados marinhos (*Euplotes* sp.) combinados com rotíferos na primeira alimentação das larvas nos mesmos parâmetros anteriores. Além dos trabalhos com as larvas, um terceiro experimento foi realizado para desenvolver um protocolo de monocultivo do protozoário ciliado *Euplotes* sp., utilizado como alimento para as larvas de *E. figaro*. Entre os principais resultados destaca-se que a seleção de rotíferos com tamanho de lóricas entre 102 e 146 μm , promove um aumento de até 10,6% na sobrevivência, analisada no dia 8 após eclosão, em relação a utilização de rotíferos com tamanho de lóricas médio de 177 μm . O emprego de náuplios de copépodes junto com rotíferos melhora o crescimento das larvas em 24,3% até o dia 10 após a eclosão e 47,5% até o dia 20 após a eclosão, em comparação com a utilização de rotíferos somente. Para o monocultivo de *Euplotes* sp. pode ser utilizado o produto comercial Culture Selco (INVE), usado para cultura de rotíferos. Já a microalga *Nannochloropsis oculata* viva não é recomendada para estes organismos.

Palavras-chave: *Elacatinus figaro*; neon gobi; peixe ornamental marinho; larvicultura; alimento vivo.

ABSTRACT

One of the main bottlenecks in marine fish cultivation, including the ornamentals, consists in offering an adequate food for the larvae at the beginning of the exogenous feeding. The present study dealt with the larviculture of *Elacatinus figaro*, an endemic species of the Brazilian coast, threatened with extinction, aiming to identify appropriate live food sources at the first feeding of this species. At the first experiment, survival and growth of the larvae were evaluated using rotifers of different sizes. At the second experiment, the same parameters were evaluated using wild copepod nauplii and marine ciliates (*Euplotes* sp.) combined with rotifers. Besides the work with larvae, a third experiment was held to develop a monoculture protocol for the ciliated protozoa *Euplotes* sp. Among the main results, the selection of lower sized rotifers (lorica length between 102 and 146 μ m), promoted an increase in the larval survival rate up to 10.6% on the 8th day after hatch, compared to rotifers with an average size of 177 μ m. The use of copepod nauplii combined with rotifers improved the growth of the larvae in 24.3%, until day 10 after hatch, and in 47.5% until day 20 after hatch, when compared to the use of rotifers only. For the ciliated protozoa monoculture, the commercial diet for rotifers Culture Selco (INVE) can be used for *Euplotes* sp. growth. On the other hand, live microalgae *Nannochloropsis oculata* is not recommended for the growth of these organisms.

Keywords: *Elacatinus figaro*; neon goby; ornamental marine fish; larviculture; live food.

INTRODUÇÃO

*Mercado de ornamentais e o neon gobi *Elacatinus figaro**

Segundo Chapman et al. (1997), estima-se que 1,5 a 2,0 milhões de pessoas no mundo mantenham aquários marinhos ornamentados, em sua grande maioria com espécies de peixes recifais. As estimativas apontam um comércio de 20 a 30 milhões de indivíduos por ano para fins ornamentais, compreendendo cerca de 1500 espécies de peixe (WOOD, 2001; WABNITZ *et al.*, 2003). Monteiro-Neto *et al.* (2003) expõem que neste mercado cerca de 90% das espécies são capturadas do ambiente natural, oriundas principalmente de áreas tropicais.

A coleta de peixes ornamentais envolve um alto grau de seletividade, exemplares que apresentam morfologia externa, comportamento e coloração exuberantes, características visadas no mercado do aquarismo, podendo alcançar altos valores monetários (ALBUQUERQUE-FILHO, 2003). Segundo Sampaio e Rosa (2003), entre os problemas decorrentes deste extrativismo, se encontram: a prática do perfuramento da bexiga natatória (para acelerar a descompressão durante a subida), técnicas de captura e instrumentos inadequados, e modo de transporte impróprio. Em muitos países como as Filipinas e a Indonésia (maiores coletores e exportadores de ornamentais marinhos do mundo), a utilização de cianeto de sódio, substância tóxica que serve para desentocar e facilitar a captura dos peixes, foi empregada de forma indiscriminada durante as décadas de 80 e 90, sendo proibida recentemente pelos governos locais por se tratar de uma exploração predatória e que causa sérios prejuízos aos recifes de corais e seus habitantes (WOOD, 2001). A coleta de peixes marinhos ornamentais também é caracterizada pelo elevado número de perdas, desde o momento da captura até o consumidor final, o aquarista. No entanto, entende-se que o fator mais preocupante é a diminuição dos estoques naturais dos peixes coletados e a destruição dos recifes de corais causada por esta prática.

No Brasil, a região costeira do Nordeste é a principal área de exploração de peixes ornamentais marinhos do país e o estado do Ceará é o maior exportador (MONTEIRO-NETO *et al.* 2003). O estado da Bahia também possui uma grande representatividade nesta atividade, sendo um dos pioneiros na extração de organismos marinhos para fins ornamentais no país. Entre os peixes mais explorados por este estado, entre os anos de 1995 e 2000, figurava *Elacatinus figaro* (neon gobi). A pesca ocorria no interior da Bahia de Todos os Santos, junto aos recifes de corais dominados por *Montastrea cavernosa*, locais onde existia uma grande concentração deste peixe (SAMPAIO & ROSA, 2003).

O neon gobi (*E. figaro*) é um pequeno peixe pertencente à família Gobiidae, endêmico da costa brasileira, apresenta a coloração do corpo preto-azulada com duas faixas amarelas brilhantes no dorso. Tem um importante papel nos ambientes de recifes, atuando como uma espécie limpadora, comportamento simbiótico de limpeza de peixes e invertebrados, que ajuda a manter os habitantes dos recifes de corais livre de ectoparasitos (SAZIMA *et al.*, 1996). O neon gobi habita uma pequena região sem grandes deslocamentos durante sua vida, característica que facilita sua adaptação aos aquários marinhos (WITTENRICH, 2007). Em 2004, *E. figaro* foi incluído na lista de animais

ameaçados de extinção pelo IBAMA, tanto sua captura como comercialização passaram a ser proibidas (Instrução Normativa Número 5 de 21 de maio de 2004).

Aqüicultura de peixes ornamentais e importância do alimento vivo na larvicultura

A aqüicultura de peixes ornamentais marinhos representa uma ferramenta que pode ser utilizada para ajudar a conservação das espécies e o desenvolvimento sustentável do aquarismo marinho. O cultivo comercial de ornamentais marinhos ainda é incipiente, contudo, avanços nesta área podem ser alcançados mais rapidamente, utilizando-se do conhecimento produzido para as espécies de peixes marinhos de corte. Segundo Ostrowski et al. (2001), atualmente existem dois gargalos que limitam a expansão da atividade. O primeiro é referente ao controle da maturação e desova dos reprodutores em ambiente de cultivo; o segundo, a produção em larga escala de alimentos vivo apropriados para a primeira alimentação das larvas.

Na natureza, as larvas de peixes passam os seus primeiros dias ou semanas de vida à deriva nas correntes oceânicas. Em águas ricas em plâncton, estas larvas possuem a sua disposição uma enorme quantidade e variedade de microzooplâncton, podendo escolher entre estes organismos como presa conforme seu tamanho, cor, formato ou comportamento natatório. A preferência por determinado alimento, muitas vezes também está associada aos aspectos morfológicos e anatômicos de cada larva.

Já na piscicultura marinha a oferta de presas é limitada, sendo que um dos principais entraves encontrados na larvicultura consiste em oferecer um alimento vivo de tamanho apropriado e nutricionalmente adequado, e, ao mesmo tempo, técnica e economicamente viável de se cultivar. Os rotíferos vêm sendo amplamente utilizados como alimento para as larvas de várias espécies de peixes cultivados em laboratórios do mundo todo (FAO, 1998). Algumas características fazem do rotífero um excelente substituto ao zooplâncton selvagem, entre elas tamanho diminuto (90 – 350 µm), formato do corpo arredondado e sem espinhos, movimentação lenta, distribuição na coluna d'água e resistência a altas densidades de cultivo, assim como a uma grande faixa de salinidade. Além do mais, sua composição corporal pode ser manipulada para apresentar uma qualidade nutricional adequada às larvas.

Apesar da descoberta dos rotíferos ter proporcionado um enorme avanço para a piscicultura marinha, existem muitas espécies de peixes de interesse comercial que não apresentam boa sobrevivência, ou não sobrevivem, quando lhes são ofertados somente rotíferos como primeiro alimento. Um trabalho sobre a primeira alimentação de larvas de *Lutjanus johni* apresentou mortalidade total em apenas cinco dias de cultivo (SCHIPP et al., 1999). Estes autores observaram ainda que os rotíferos foram defecados inteiros, portanto não foram absorvidos pelo trato digestório, muito provavelmente devido à lóricas (carapaça de quitina) que os rotíferos do gênero *Brachionus* possuem. Outros estudos com larvas de olhete (*Seriola rivolana*), garoupa (*Cephalopholis argus*) e peixe-anjo (*Centropyge loricula*), também apresentaram alta mortalidade nos primeiros dias de vida.

Nestes casos, as larvas destas espécies ao eclodir, possuíam um tamanho de boca que não lhes permitia ingerir alimentos com a dimensão dos rotíferos (KRAUL, 2006).

Copépodes são empregados no cultivo de espécies marinhas há algumas décadas, porém seu cultivo intensivo começou a ser pesquisado a partir da década de 90. Neste período, o surgimento do cultivo de novas espécies de peixes marinhos trouxe consigo a demanda de outros tipos de alimentos vivos que viessem a substituir o tradicional protocolo de larvicultura (com rotíferos e *Artemia*), posto que as novas espécies não estavam sobrevivendo, a exemplo dos peixes ornamentais marinhos (STØTTRUP & MCEVOY, 2003). Além do mais, houve uma queda na produção global de cistos de *Artemia*, fato que encareceu significativamente a utilização deste insumo. Neste contexto, os copépodes passaram a ganhar importância na aquicultura.

Dentre as características positivas, podemos ressaltar que os copépodes têm uma composição que preenche as exigências nutricionais das larvas dos peixes marinhos, especialmente com relação aos ácidos graxos poliinsaturados EPA e DHA, importantes constituintes das biomembranas, além de servirem também como fonte de energia (SARGENT et al., 1997). Além disso, apresentam vários estádios de desenvolvimento. Entre as fases de náuplio e adulto, seu tamanho pode variar entre 20 e 250 μm , dependendo da espécie (HICKS & COULL, 1983). Isso é útil para a larvicultura de peixes, possibilitando cultivar um único organismo para servir de alimento vivo, uma vez que o aumento de tamanho dos copépodes com a idade acompanharia o desenvolvimento da larva e a necessidade de presas maiores. Porém, um dos aspectos negativos da utilização de copépodes consiste justamente no seu cultivo. Sua produção em larga escala ainda não foi dominada completamente, já que cultivos destes organismos não conseguem alcançar altas densidades, o qual representa um grande empecilho para sua utilização na aquicultura, pois o cultivo em larga escala de larvas de peixes necessita de grandes quantidades de alimento vivo.

Outro alimento vivo com potencial de uso na larvicultura de peixes marinhos são os protozoários ciliados, freqüentemente encontrados em águas costeiras no zooplâncton. Na cadeia trófica marinha eles fazem parte do importante grupo que consome o pico- e nano-plâncton, não aproveitados eficientemente por zooplânctons maiores, como náuplios de copépodes e larvas de peixes (KAMYAMA, 1994). Muitas vezes a densidade de náuplios de copépodes no ambiente é insuficiente para suportar o crescimento das larvas. Além disso, as larvas com tamanho de boca muito pequeno podem sofrer restrições quanto à disponibilidade de alimento com tamanho adequado. Assim, devido a sua presença em quase todos os ambientes aquáticos e a seu tamanho de corpo, menor que dos rotíferos e de náuplios de copépodes, acredita-se que eles tenham um importante papel na alimentação das larvas de peixes (SHERR & SHERR, 1987, PANDEY & YERAGI, 2004; FIGUEIREDO et al., 2007). O ciliado *Euplotes* sp. apresenta algumas características que lhe conferem potencial para a utilização como alimento vivo, entre as quais podemos citar o tamanho de corpo diminuto (em torno de 60 μm), tolerância a altas densidades de cultivo, podendo ser produzido em grande escala, e segundo Xu et al. (2004), é muito resistente às altas concentrações de amônia. Até o momento existem poucos estudos sobre seu cultivo e sua aplicação na larvicultura de peixes marinhos ainda é questionável para muitas espécies.

Trabalhos desenvolvidos com Elacatinus figaro

Os primeiros estudos realizados com *E. figaro* focaram na reprodução e no cultivo da espécie com protocolos de larvicultura tradicionalmente utilizados. Corrêa (2006) descreve a reprodução e a larvicultura, seguido por Meirelles (2007) (Meirelles et al. no prelo) e Shei (2008), que estudaram a biologia reprodutiva, descreveram o desenvolvimento embrionário e larvicultura da espécie. Estes trabalhos demonstraram que é possível reproduzir naturalmente o neon gobi em cativeiro, utilizando *Artemia* sp. e rotíferos na larvicultura. Destacam também, que os juvenis de neon gobi se adaptam facilmente às rações inertes comerciais para desmame, e citam que um melhor desempenho produtivo desta espécie pode ser alcançado com a utilização de outros alimentos vivos na primeira alimentação, bem como o estudo e a compreensão dos requerimentos nutricionais das larvas e reprodutores.

Neste contexto, este estudo busca desenvolver métodos de larvicultura com o neon gobi, enfocando na primeira alimentação das larvas, fase mais crítica para a produção em larga escala da espécie. Nosso objetivo é maximizar as taxas de sobrevivência e de crescimento das larvas através da identificação de alimentos vivo mais apropriados para a larvicultura.

Desta forma, inicialmente realizamos um experimento com os rotíferos tradicionalmente utilizados como alimento vivo na piscicultura marinha, onde questionamos se a seleção de rotíferos com menor comprimento de lóricas oferece um melhor suporte para a sobrevivência e o crescimento das larvas. Para tal, utilizamos três tamanhos diferentes de *Brachionus* sp.

O segundo experimento descrito neste trabalho reserva um espaço para testar o protocolo alimentar para o cultivo de um protozoário ciliado marinho do gênero *Euplotes* sp. Pretendemos avaliar a melhor fonte de alimento no incremento da biomassa destes organismos com vista a sua utilização em larvicultura de peixes marinhos e, em especial, do *E. figaro*.

No terceiro e último artigo, utilizamos três fontes de alimento vivo: *Brachionus* sp., *Euplotes* sp. e náuplios de copépodes selvagens na primeira alimentação das larvas, avaliando a melhor sobrevivência e crescimento.

Os dois primeiros artigos serão submetidos para o Brazilian Journal of Oceanography, e estão formatados conforme as normas da revista. O terceiro artigo será submetido para a revista Aquaculture Research, também está formatado conforme especificação deste periódico.

Efeito de diferentes tamanhos de rotífero na sobrevivência e no crescimento de neon gobi
Elacatinus figaro durante as fases iniciais de larvicultura

Guilherme de F. Côrtes, Mônica Y. Tsuzuki e André F. N. Gonçalves

Universidade Federal de Santa Catarina
(Caixa Postal 476, 88040-970 Florianópolis, SC, Brasil)
mtsuzuki@cca.ufsc.br

Resumo

Na larvicultura de peixes marinhos, as maiores taxas de mortalidade geralmente ocorrem no início da alimentação exógena. A utilização de um alimento de tamanho adequado na primeira semana de larvicultura pode representar um aumento significativo na sobrevivência. Para avaliar o efeito do tamanho dos rotíferos na taxa de sobrevivência e no crescimento de larvas de *Elacatinus figaro*, utilizaram-se três tratamentos em triplicata: Tratamento P: rotíferos com $102,2 \pm 14,9 \mu\text{m}$ (comprimento de lóricas; média \pm Desvio Padrão; $n=10$); Tratamento G: rotíferos com $177,0 \pm 18,9 \mu\text{m}$; Tratamento M: rotíferos com $146,0 \pm 40,9 \mu\text{m}$. A taxa de sobrevivência e crescimento foram avaliadas no oitavo dia após a eclosão. A sobrevivência foi significativamente maior ($P < 0,05$) nas larvas de TP ($13,3 \pm 2,3 \%$; média \pm DP) e TM ($9,3 \pm 6,1 \%$) em relação a TG ($2,7 \pm 2,3 \%$). TP e TM não diferiram significativamente. Não houve diferença significativa para o comprimento total entre os tratamentos P ($4,0 \pm 0,5 \text{mm}$), G ($4,0 \pm 0,1 \text{mm}$) e M ($3,6 \pm 0,6 \text{mm}$). A seleção de linhagens de rotíferos com menor tamanho auxilia no aumento da sobrevivência das larvas de *E. figaro*. As dimensões dos rotíferos a serem utilizados na primeira alimentação das larvas, deve estar na faixa de 60 a 90 μm , no máximo, para comprimento de lóricas ou largura.

Abstract

In marine fish larviculture, the highest mortality rates occur at the beginning of the exogenous feeding. The use of an adequate live food size at the first week of the larviculture might represent a significant increase in survival rates. To evaluate the effect of different rotifer size on the survival and growth rates of *Elacatinus figaro* larvae, three treatments were tested in triplicate: Treatment A: rotifers with $102.2 \pm 14.9 \mu\text{m}$ (lorica length; mean \pm Standard Deviation; $n=10$); Treatment B: rotifers with $177.0 \pm 18.9 \mu\text{m}$; Treatment C: rotifers with $146.0 \pm 40.9 \mu\text{m}$. The survival and growth rates were evaluated on the eighth day after hatch. Survival was significantly higher ($P < 0.05$) for the larvae at TA ($13.3 \pm 2.3 \%$) and TC ($9.3 \pm 6.1 \%$) compared to TB ($2.7 \pm 2.3 \%$). TA and TC were not statistically different. No significant difference for growth as total length among treatments A ($4.0 \pm 0.5 \text{mm}$), B ($4.0 \pm 0.1 \text{mm}$) and C ($3.6 \pm 0.6 \text{mm}$) was detected. The selection of rotifers with smaller size strains improves the survival and the success of *E. figaro* cultivation.

Descritores: alimento vivo, rotíferos, *Brachionus* sp., peixes ornamentais marinhos.

Descriptors: live food, rotifers, *Brachionus* sp, marine ornamental fish

1. Introdução

O neon gobi (*Elacatinus figaro*) é um pequeno peixe que habita recifes de corais (SAZIMA et al., 1997). Endêmico da costa brasileira, apresenta coloração preta com duas faixas amarelas brilhantes no dorso. Tem um importante papel nos ambientes recifais e apresenta comportamento simbiótico de limpeza em peixes e invertebrados, ajudando a manter a população que vive neste ecossistema livre de ectoparasitos (SAZIMA et al., 1997). Existe uma forte demanda por este peixe para a comercialização no mercado de ornamentais devido ao seu comportamento de limpeza, sua exuberante coloração e facilidade de adaptação ao cativeiro. Entretanto, uma vez que foi observada uma queda dos estoques naturais de *E. figaro*, este peixe foi incluído na lista de animais ameaçados de extinção e sua captura e comercialização passaram a ser proibidas pelo IBAMA (Instrução Normativa Número 5 de 21 de maio de 2004).

Nos últimos anos houve um aumento no número de pesquisas sobre aspectos da reprodução, nutrição e cultivo de larvas e juvenis de peixes ornamentais marinhos (SALES; JANSSENS, 2003; OLIVOTTO et al., 2003, 2005, 2006; AVELLA et al., 2007). Segundo Moe (2003), atualmente existem 72 espécies de peixes ornamentais produzidas em cativeiro, número pouco expressivo se comparado com as mais de 1.400 espécies que são capturadas e comercializadas (WABNITZ et al., 2003). A reprodução e o cultivo das espécies de peixes comumente comercializadas no mercado da aquarofilia representa uma ferramenta econômica e ecológica importante para o desenvolvimento sustentável da atividade.

Um dos principais gargalos no cultivo de peixes marinhos, incluindo os ornamentais, incide na oferta de um alimento apropriado às larvas no início de sua alimentação exógena. Em larvas de robalo-peva (*Centropomus paralelus*) e robalo-flecha (*C. undecimalis*) são observados altos índices de mortalidade na primeira semana após a eclosão (TUCKER, 1987; CERQUEIRA; BRÜGGER, 2001). Estudos com larvas do gobídeo *Gobiossoma evelynae* mostraram que as maiores taxas de mortalidade ocorrem entre o primeiro e o terceiro dia após a eclosão (OLIVOTTO et al., 2005). Este fato está associado com o momento da exaustão da reserva vitelínica, em que a larva passa da alimentação endógena para a exógena (SARGENT et al., 1997).

A descoberta de que rotíferos do gênero *Brachionus* poderiam ser utilizados como primeiro alimento, tanto para larvas de peixes de água salgada como de água doce, representou um enorme avanço para a aqüicultura (HIRATA, 1979). Este pequeno zooplâncton permitiu o desenvolvimento do cultivo de muitas espécies, cujas pequenas larvas recém eclodidas não conseguiam ingerir presas tão grandes quanto os náuplios de *Artemia*. A facilidade de cultivo em grande escala e a capacidade de bio-encapsulação, fez do rotífero um alimento amplamente empregado nas fases larvais iniciais da maioria das espécies de peixes marinhos produzidos no mundo (FAO 1998). Segundo Hagiwara (2001), as principais espécies de rotíferos *Brachionus* utilizadas em aqüicultura incluem *Brachionus plicatilis* (130-340 µm de comprimento de lóricas) e *B. rotundiformis* (100-210 µm). Pesquisas recentes classificam algumas linhagens como a S- e SS-tipo, como pertencentes às espécies *B. ibericus* e *B. rotundiformis* que medem 90-150 µm de comprimento de lóricas (HAGIWARA et al., 2007).

Apesar da ampla utilização de rotíferos na piscicultura marinha, poucos estudos foram realizados com o objetivo de avaliar o tamanho ideal de rotífero a ser utilizado para determinada espécie de peixe e em diferentes estágios de desenvolvimento (OOZEKI et al. apud HAGIWARA, 2007). Nas espécies em que as primeiras fases larvais apresentam um tamanho de boca muito pequeno, a utilização de um alimento de tamanho adequado pode representar um aumento significativo na sobrevivência destas larvas, e conseqüentemente no sucesso do cultivo. Estudos com larvas de olhete (*Seriola quinqueradiata*) mostraram diferentes respostas no crescimento quando rotíferos de tamanhos variados foram ofertados nos distintos estágios de desenvolvimento larval (HAGIWARA et al., 2001). Isso sugere que a utilização de um alimento de tamanho apropriado promove um cultivo mais eficiente.

Desta forma, este estudo investigou, em condições controladas de cultivo, a taxa de sobrevivência e o crescimento de larvas de neon gobi (*E. figaro*), com a utilização de rotíferos (*Brachionus* sp.) de três diferentes faixas de tamanho, empregados como primeiro alimento.

2. Materiais e Métodos

2.1. Origem do material biológico e condições de manutenção dos reprodutores e obtenção de larvas

Este estudo foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina em abril de 2008. Em maio de 2007, foram adquiridos dez exemplares selvagens de *E. figaro*, provenientes do estado da Bahia, com a autorização do IBAMA número 136/2006-DIFAP/IBAMA. Estes animais foram acondicionados juntos em um tanque de 100 litros e, posteriormente, os casais formados foram separados em tanques menores de 30 litros, conforme descrito por Meirelles (2007).

Desta forma, a manutenção dos reprodutores foi feita em tanques plásticos pretos com volume útil de 25 litros, em sistema de circulação aberto (renovação diária, cerca de cinco vezes o volume do tanque) e aeração moderada. A temperatura foi controlada por termostatos aquecedores e mantida em 25 ± 3 °C (média \pm Desvio Padrão), monitorada diariamente com um termômetro de mercúrio. A salinidade ficou em 32 ± 3 ppt, medida com um refratômetro óptico Atago, Japão, precisão de 1 ppt. O fotoperíodo foi ajustado para simular a estação do verão, com 18 horas de luz e 6 horas de escuro, controladas com um timer analógico e com intensidade luminosa de 2.343 LUX.

Os reprodutores foram alimentados até a saciedade aparente, duas vezes ao dia (manhã e tarde), com uma dieta variada que incluiu ração comercial para peixes ornamentais marinhos (Tetra Inc., Germany), ração comercial para reprodutores e para juvenis de peixes marinhos (INVE Co, Bélgica), *Artemia* sp. enriquecida com emulsões comerciais de ácidos graxos (INVE Co, Bélgica), além de moluscos bivalves (ostra, mexilhão e vieira), lula e peixes frescos (atum, salmão e sardinha) picados e camarão marinho. Após a alimentação, procedeu-se a sifonagem do fundo dos tanques para a retirada de sobras de alimentos e fezes.

A checagem das desovas de cada casal foi feita diariamente, e com estas informações calculou-se o dia que antecede a eclosão, para que os ovos fossem transferidos para os tanques de

eclosão/larvicultura de 25 litros com as mesmas condições físico-químicas da água dos pais. Desta forma, os ovos permaneceram o máximo de tempo com os pais, uma vez que estes exercem um importante cuidado parental. Para este experimento, utilizou-se a desova de um casal selvagem, com aproximadamente 250 ovos.

A eclosão dos ovos ocorreu normalmente 168 h após a fertilização a 25°C (Meirelles, 2007). A taxa de eclosão foi de 95%.

2.2. Cultivo de rotíferos

Os rotíferos *Brachionus* sp. foram cultivados em um sistema semicontínuo, em tanques cônicos com capacidade de 40 litros, a uma densidade de aproximadamente 90 rotíferos ml⁻¹, com aeração moderada, temperatura de 26°C e 24 horas de luz. Utilizou-se a dieta comercial Culture Selco 3000 (INVE Co, Bélgica) para o crescimento e o enriquecimento com ácidos graxos dos rotíferos antes de serem ofertados às larvas. A separação dos rotíferos por faixas de tamanho foi realizada com auxílio de telas de 60 e 86 µm.

2.3. Desenho experimental

Foram testados três tratamentos, em triplicata: Tratamento com rotíferos Pequenos - utilização de rotíferos com menor tamanho ($102,2 \pm 14,9$ µm de comprimento de lóricas e $59,4 \pm 8,4$ µm de largura; média \pm Desvio Padrão, n = 10); Tratamento com rotíferos Grandes - rotíferos com maior tamanho ($177,0 \pm 18,9$ µm de comprimento e $117,0 \pm 17,7$ µm de largura); Tratamento controle com rotíferos Mistos - rotíferos com tamanhos variados ($146,0 \pm 40,9$ µm de comprimento e $92,7 \pm 29,8$ µm de largura). Neste último tratamento não houve seleção de rotíferos, contendo portanto rotíferos de menor e maior tamanho, ofertados diretamente para as larvas.

Amostras de rotíferos foram retiradas dos diferentes tratamentos (n=10), e fixadas em formaldeído 5% para que o comprimento e a largura destes fossem medidos, através de uma lupa com régua graduada na objetiva, em um aumento de 9 vezes. Os rotíferos utilizados nos distintos tratamentos apresentaram tamanhos significativamente diferentes ($P < 0,05$) na Análise de Variância (ANOVA) para o comprimento e a largura (Figura 1).

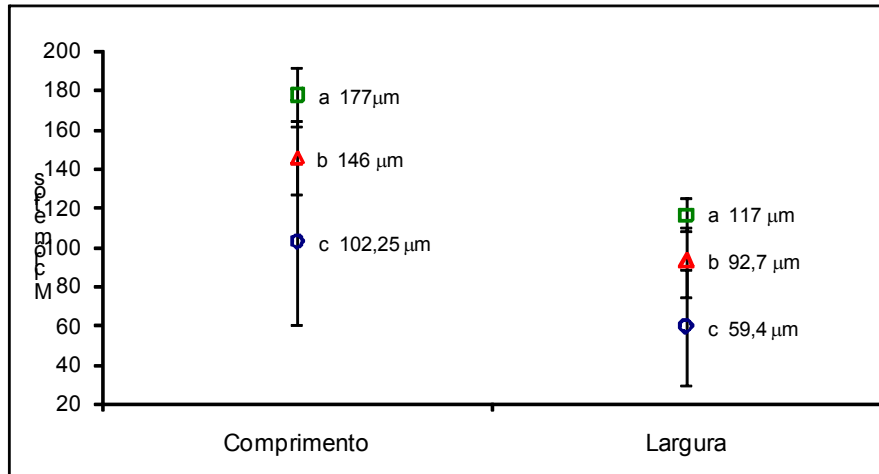


Figura 1: Média (n=10) do comprimento e largura em μm , da lórcia dos rotíferos utilizados nos diferentes tratamentos (tratamento P ○, tratamento G □, tratamento M △). Letras demonstram diferenças entre os tratamentos ($P < 0,05$). Barras verticais demonstram o desvio padrão.

Após a eclosão, as larvas foram divididas em nove tanques com paredes e fundo preto, contendo 20 litros de água. A água utilizada para preencher estes tanques passou por um filtro de 1 μm , e foi ajustada para as mesmas condições físico-químicas do tanque de eclosão, temperatura de 25 °C e salinidade de 33 ppt. O fotoperíodo utilizado no experimento foi de 24 horas de luz.

A densidade de larvas nos tanques foi de 1 larva l^{-1} . A larvicultura foi realizada em água clara (sem adição de microalgas), para facilitar a observação de sujeira e larvas mortas, e a remoção das mesmas. Desta forma, utilizou-se rotíferos enriquecidos com ácidos graxos, sendo estes retirados dos tanques e repostos a cada 12 horas. Foi utilizada uma densidade de 10 rotíferos ml^{-1} em cada tanque. A amostragem dos rotíferos nos tanques foi feita em três pontos distintos, e a contagem em lupa com placa de Klein feita com três repetições. Diariamente, foram feitas trocas parciais de água de 50%, bem como sifonamento do fundo, sendo a água repostada ajustada para a temperatura do tanque.

As larvas foram cultivadas durante oito dias, e ao final deste período avaliou-se o crescimento (comprimento total) e a sobrevivência. Todas as larvas foram fixadas em formaldeído 5%, contadas e medidas através de uma lupa com régua graduada na objetiva, em um aumento de 4,7 vezes.

2.4. Análise estatística

Foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) para constatar se houveram diferenças significativas entre os tratamentos com probabilidade de 95%, e, quando constatada diferenças aplicou-se o teste de Tukey para comparação entre as médias. Os dados são apresentados como médias e desvio padrão. Para o processamento dos dados utilizou-se o programa Statistica 7.0 © (StatSoft, Inc. 1984 – 2004).

3. Resultados e Discussão

3.1. Sobrevivência e crescimento

Foi observada uma taxa de sobrevivência significativamente maior nas larvas alimentadas com rotíferos do tratamento P ($13,3 \pm 2,3$ %) e do tratamento controle M ($9,3 \pm 6,1$ %), que não diferiram estatisticamente entre si, em relação às larvas alimentadas com rotíferos de maior tamanho do tratamento G ($2,76 \pm 2,3$ %) ($P < 0,05$, figura 2). A maior sobrevivência alcançada foi de 16% em uma repetição do TP, sendo que no TG, uma repetição apresentou mortalidade total das larvas.

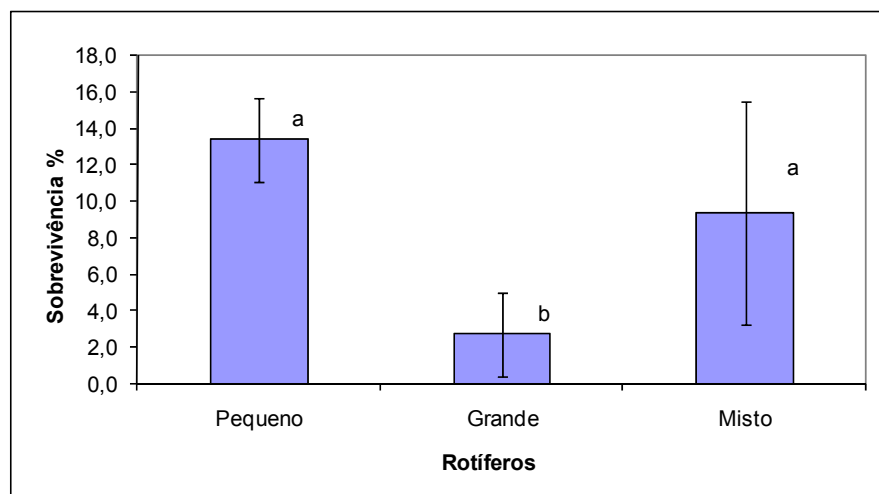


Figura 2: Sobrevivência (média \pm DP) das larvas de neon gobi no oitavo dia de larvicultura com diferentes tamanhos de rotíferos. Letras diferentes demonstram diferenças entre os tratamentos ($P < 0,05$). Pequeno: rotíferos com $102,2 \mu\text{m}$; Grande: rotíferos com $177,0 \mu\text{m}$; Misto: rotíferos com $146,0 \mu\text{m}$ (média do comprimento de lóricas).

A boca das larvas de *E. figaro*, ao eclodir, possui uma dimensão de $308,0 \pm 63,0 \mu\text{m}$ de comprimento por $233,0 \pm 14,0 \mu\text{m}$ de largura (CÔRTES, 2009). Alguns autores consideram que o tamanho da presa que a larva é capaz de ingerir está restrito a somente 25 - 40% da menor abertura da sua boca (NAGANO et al., 2000; TUCKER JR., 1998).

Podemos dizer que o tamanho adequado dos rotíferos para se utilizar nos períodos iniciais de larvicultura, deve estar na faixa de 60 a 90 μm , para comprimento de lóricas ou largura. Se observarmos o comprimento de lóricas dos rotíferos utilizados neste experimento (figura 1) constatamos que nenhum dos tratamentos contém rotíferos com tamanho adequado para as larvas., entretanto, analisando a largura destes rotíferos, vemos que os rotíferos do tratamento P e M estão dentro desta faixa.

As maiores taxas de sobrevivência em TP e TM podem ser justificadas pelo fato de que ambos os tratamentos possuíram disponibilidade de alimento com tamanho adequado para um número significativo da população de larvas. Pode se dizer também, que as larvas foram capazes de ingerir a presa, aparentemente maior que sua boca, pela menor dimensão que esta apresenta.

Estudos com outro gobídeo (*Gobiossoma evelynae*) mostraram baixa taxa de sobrevivência (10%) quando se utilizou somente *B. plicatilis* (comprimento de lóricas médio de 239 μm) na primeira alimentação (OLIVOTTO et al., 2005).

Sabe-se que as larvas possuem uma tendência natural em selecionar rotíferos cada vez maiores, de acordo com o seu crescimento. Entretanto, oferecer rotíferos maiores nos estágios de desenvolvimento em que estas não conseguem consumi-los é prejudicial para o crescimento e a sobrevivência das mesmas (HAGIWARA et al., 2007).

Desta forma, é vantajoso manter rotíferos em cultivos separados e com tamanhos diferentes, para serem ofertados às larvas durante seus diversos estágios de crescimento. Assim, a seleção do alimento adequado por parte da larva se vê facilitado, o qual resulta em larviculturas com maior sobrevivência e crescimento.

Quanto ao comprimento total das larvas, a análise no dia oito após a eclosão, não houve diferença significativa entre os diferentes tratamentos e também em relação às larvas do dia zero ($P > 0,05$, figura 3). As larvas dos tratamentos P, G e M apresentaram um comprimento total médio de $4,0 \pm 0,5$ mm, $4,0 \pm 0,9$ mm e $3,6 \pm 0,6$ mm, respectivamente. As larvas que foram medidas no dia da eclosão apresentaram um comprimento total de $3,6 \pm 0,1$ mm. A maior larva medida no oitavo dia aferia 5 mm e a menor 3,5 mm de comprimento total no tratamento com rotíferos pequenos, e em TG devido a poucas amostras que puderam ser medidas, houve um pequeno desvio padrão amostral.

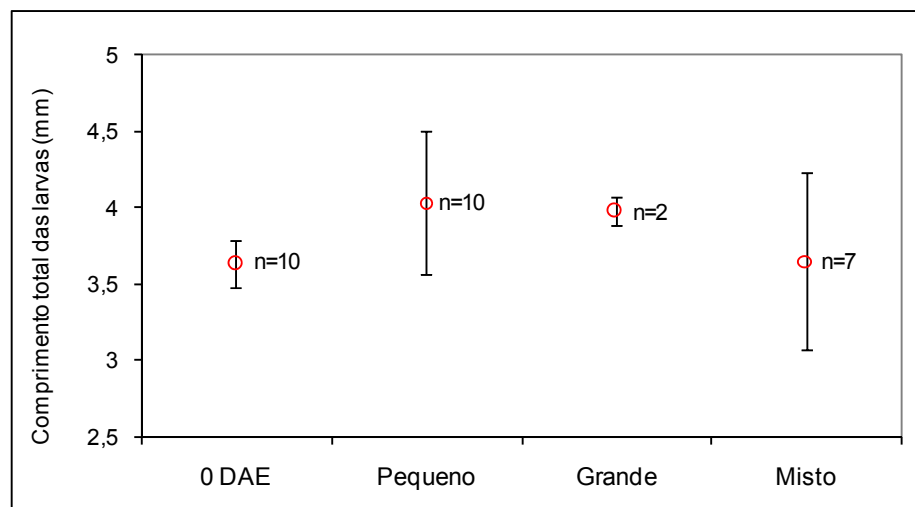


Figura 3: Comprimento total (média \pm DP) das larvas de neon gobi, no dia 0 (0 DAE) e no oitavo dia após eclosão nos diferentes tratamentos. Tratamento Pequeno: rotíferos com 102,2 μm ; Tratamento Grande: rotíferos com 177,0 μm ; Tratamento Misto: rotíferos com 146,0 μm (média do comprimento de lóricas).

Apesar dos tratamentos não mostrarem diferença significativa para o crescimento, as larvas deste experimento tiveram um crescimento adequado. Outros estudos (Côrtes, 2009) demonstraram que as larvas de *E. figaro* alimentadas com rotíferos podem crescer até 1 mm em dez dias após a eclosão, alcançando 4,6 mm de comprimento total no 10 DAE, próximo do comprimento apresentado pelas larvas no dia 8 AE.

A homogeneidade no comprimento total das larvas entre os diferentes tratamentos demonstra que, apesar dos rotíferos terem diferentes tamanhos, sua composição nutricional foi similar. Desta

forma, provavelmente o gasto de energia que a larva teve para capturar uma presa maior ou menor não produziu grandes efeitos no crescimento. As maiores larvas foram encontradas no tratamento P (média de $4,0 \pm 0,5$ mm). Com relação à TG ($4,0 \pm 0,9$ mm) a baixa sobrevivência mostrou a dificuldade das larvas em ingerir o alimento disponível, restando apenas uma pequena parcela da população de larvas maiores.

Os resultados deste estudo demonstraram que existe uma relação entre o tamanho do rotífero ofertado e a sobrevivência das larvas de *E. figaro*, onde a oferta de rotíferos com tamanho na faixa entre 60 e 90 micrômetros resulta em maior taxa de sobrevivência nos primeiros dias de vida, acredita-se que as larvas de *E. figaro* procuraram ingerir as presas pela menor dimensão do seu corpo.

A melhor taxa média de sobrevivência obtida (13,3%) neste estudo pode ser considerada relativamente baixa quando comparada com outros trabalhos. Meirelles et al. (no prelo) obtiveram taxas de sobrevivência de até 30,6 % para a mesma espécie, utilizando métodos de larvicultura com água verde, renovação diária de 30% a partir do terceiro dia e maiores densidades de rotíferos (até 20 ind./mL). Olivotto et al. (2005) obtiveram taxas de sobrevivência entre 10 e 35% utilizando rotíferos de linhagens grandes (*B. plicatilis*) e pequenas (*B. rotundiformi*), respectivamente. Entre os motivos que podem explicar a baixa taxa de sobrevivência neste estudo, podemos mencionar o possível estresse de manejo na separação e contagem das larvas, além disto foi utilizado um pequeno número de larvas nas repetições.

Neste experimento utilizou-se água clara na larvicultura, com renovação diária da água do tanque, o que trouxe algumas vantagens, como melhor visualização das larvas e menor acúmulo de matéria orgânica no fundo do tanque. Entretanto, podemos ressaltar que a utilização de microalgas no tanque de larvicultura pode trazer mais benefícios, devido à manutenção da qualidade de água, melhora do contraste entre a água e a presa, facilitando a alimentação da larva e servindo como alimento para os rotíferos (BRISTOW et al. 1994; PALMER et al., 2007). Ainda com relação aos rotíferos, a utilização de 10 ind./mL neste estudo encontra-se dentro da faixa considerada boa para larvicultura de peixes marinhos, que é de 5 a 20 ind./mL (TEMPLE et al., 2004).

4. Conclusão

A seleção de linhagens de rotíferos com menor comprimento de lóricas auxilia no incremento da sobrevivência e no sucesso do cultivo do *E. figaro* durante as fases iniciais de larvicultura.

As dimensões dos rotíferos que serão utilizados na primeira alimentação das larvas, deve ser na faixa de 60 a 90 μm , no máximo, para comprimento de lóricas ou largura.

5. Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao técnico de laboratório do LAPMAR Israel D. Silva e ao estagiário Gledson, pelo auxílio no cultivo dos rotíferos e assistência na parte experimental do

trabalho. Gostaríamos de agradecer também ao CNPq por oferecer auxílio ao primeiro autor na forma de bolsa.

6. Bibliografia

- AVELLA, M. A.; OLIVOTTO, I.; GIOACCHINI, G.; MARADONNA, F.; CARNEVALI, O. The role of fatty acids enrichments in the larviculture of false percula clownfish *Amphiprion ocellaris*. **Aquaculture**, v. 273, p. 87–95, 2007.
- BRISTOW, B.T.; SUMMERFELT, R.C. Performance of larval walleye cultured intensively in clear and turbid water. **J.World Aquac. Soc.**, v. 25, n. 3, p. 454–464, 1994.
- CERQUEIRA, V.; BRÜGGER, A. Effect of Light Intensity on Initial Survival of Fat Snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) Larvae. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 44, n. 4, p. 343 – 349, 2001.
- CÔRTEZ, G.F. Produção e utilização de diferentes fontes de alimento vivo na fase inicial de larvicultura do neon gobi (*Elacatinus figaro*). Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura – UFSC, 52 p., 2009.
- FAO, **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 1998.
- HAGIWARA, A.; GALLARDO, W. G.; ASSAVAAREE, M.; KOTANI, T.; DE ARAÚJO, A.B. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. **Aquaculture**, v. 200, p. 111–127, 2001.
- HAGIWARA, A.; SUGA, K.; AKAZAWA, A.; KOTANI, T.; SAKAKURA, Y. Development of rotifer strains with useful traits for rearing fish larvae. **Aquaculture**, v. 268, p. 44–52, 2007.
- HIRATA, H. Rotifer culture in Japan. In: STYCZYNSKA-JUREWICZ, T.; BACKIEL, E. (Ed.). **Cultivation of Fish Fry and its Live Food**. European Mariculture Society. Special publication n. 4, Bredene, 1979, p. 361-375.
- IBAMA. **Reunião nacional sobre regulamentação específica para a exploração de peixes ornamentais marinhos** Fortaleza, 2003, 36p.
- MEIRELLES, M. E. Viabilidade do Cultivo do Neon Gobi, *Elacatinus figaro*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura - UFSC, 52p, 2007.
- MOE, M. A. Culture of marine ornamentals: for love, for money and for science. In: CATO, J.C., BROWN, C.L. (Eds.). **Marine ornamental species: collection, culture and conservation** Iowa State Press, Ames, 2003, p. 11–28.
- NAGANO N.; IWATSUKI Y.; KAMIYAMA T.; NAKATA H. Effects of marine ciliates on survivability of the first-feeding larval surgeonfish, *Paracanthurus hepatus*: laboratory rearing experiments. **Hydrobiologia**, v. 432, p. 149–157, 2000.
- OLIVOTTO, I.; CARDINALI, M.; BARBARESI, L.; MARADONNA, M.; CARNEVALI, O. Coral reef fish breeding: the secrets of each species. **Aquaculture**, v. 224, p. 69–78, 2003.
- OLIVOTTO, I.; ZENOBI, A.; ROLLO, A.; MIGLIARINI, B.; AVELLA, M.; CARNEVALI, O. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. **Aquaculture**, v. 250, p. 175–182, 2005.
- OLIVOTTO, I.; ROLLO, A.; SULPIZIO, R.; AVELLA, M.; TOSTI, L.; CARNEVALI, O. Breeding and rearing the Sunrise Dottyback *Pseudochromis flavivertex*: the importance of live prey enrichment during larval development. **Aquaculture**, v. 255, p. 480–487, 2006.
- PALMER, P.J.; BURKE, M.J.; PALMER, C.J.; BURKE, J.B. Developments in controlled green-water larval culture technologies for estuarine fishes in Queensland, Australia and elsewhere. **Aquaculture**, v. 272, p. 1 – 21, 2007.
- SALES, J.; JANSSENS G.P.J. Nutrient requirements of ornamental fish. **Aquatic Liv. Res.**, v. 16, p. 533–540, 2003.

- SARGENT, JR; MCEVOY, L.; BELL., J.G. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine larval feeds. **Aquaculture**, v. 155, p. 117-127, 1997.
- SAZIMA, I.; MOURA, R.L.; ROSA, R.S. *Elacatinus figaro* sp. n. (Perciformes: Gobiidae), a new cleaner goby from the coast of Brazil. **Aqua. J. Ichth. Aquat. Biol.**, v. 2(3), p. 33–38, 1997.
- TEMPLE, S.; CERQUEIRA, V. R.; BROWN, J. A. The effects of lowering prey density on the growth, survival and foraging behaviour of larval fat snook (*Centropomus parallelus* poey 1860). **Aquaculture**, v. 233, p. 205–217, 2004.
- TUCKER, J. W. Snook and Tarpon Snook Culture and Preliminary Evaluation for Commercial Farming. **The Prog. Fish-Cult.**, v. 49, p. 49-57, 1987.
- TUCKER J. W. **Marine Fish Culture**. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, USA. 1998, 750p.
- WABNITZ, C.; TAYLOR, M.; GREEN, E.; RAZAK, T. **From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species**. Cambridge: UNEP. 2003, 64 p.

Monocultivo do protozoário ciliado *Euplotes* sp. com diferentes dietas

Guilherme de F. Côrtes, Mônica Y. Tsuzuki, Eduardo P. L. de Carvalho, Emílio M.C. Melo.

Universidade Federal de Santa Catarina
(Caixa Postal 476, 88040-970 Florianópolis, SC, Brasil)
mtsuzuki@cca.ufsc.br

Resumo

Euplotes sp. é um protozoário ciliado que comumente aparece como contaminante em culturas intensivas de rotíferos, apresentando potencial para ser utilizado na larvicultura de peixes marinhos. A fim de se obter um monocultivo de *Euplotes* sp., foram testados três tipos de alimento com quatro repetições: 1) microalga *Nannochloropsis oculata*, 2) dieta comercial para rotíferos Culture Selco 3000, 3) fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*). Os ciliados foram inoculados na concentração de 10 indivíduos mL⁻¹. No quinto dia, a densidade de protozoários nos tratamentos com dieta comercial para rotíferos (1.911,0±248,7 ind. mL⁻¹; média±desvio padrão) e fermento biológico (2.600,0 ± 195,3) não diferiram entre si, mas foram superiores ao tratamento com microalga (2,0±1,4) (P<0,05). Ao sexto dia de cultivo, o tratamento com fermento (15.484,0 ± 1.164,9 ind. mL⁻¹) foi superior aos tratamentos com microalga (3,0 ± 1,4 ind. mL⁻¹) e dieta comercial (11.287,0 ± 1.468,0 ind. mL⁻¹), com a dieta comercial superior ao da microalga. O cultivo destes ciliados apresentou uma curva de crescimento exponencial para o fermento (R² = 0,992; P<0,05) e a dieta comercial (R²=0,979; P<0,05). O uso da microalga *N. oculata* não resultou em crescimento satisfatório destes organismos. É possível obter ótimos resultados no monocultivo de *Euplotes* sp. com a utilização de fermento biológico e dieta comercial para rotíferos.

Abstract

Euplotes sp. is a ciliated protozoan that commonly contaminates massive rotifer cultures, presenting potential to be used in marine fish larviculture. In order to obtain a monoculture of this ciliate, three types of food with four replicates each were tested: 1) microalgae *Nannochloropsis oculata*; 2) commercial diet for rotifer culture - Culture Selco 3000; 3) baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). The ciliate was inoculated at a concentration of 10 individuals mL⁻¹. On the fifth day, the growth of the protozoan at the treatments with commercial diet for rotifers (1,911.0±248.7 ind. mL⁻¹; mean±Standard Deviation) and baker's yeast (2,600.0± 195.34) were similar, and superior to the treatment with microalgae (2.0±1.4) (P<0.05). On the sixth day of cultivation, the treatment with the baker's yeast (15,484.0±1,164.9 ind. mL⁻¹) was superior to the treatments with microalgae (3.0±1.4 ind. mL⁻¹) and the commercial rotifer diet (11,287.0±1,468.0 ind. mL⁻¹), with the commercial diet being superior to the microalgae treatment. The cultivation of this ciliate presented an exponential growth curve for the baker's yeast (R²=0.992; P<0.05) and commercial rotifer (R²=0.979; P<0.05) diet. The use of microalgae *N. oculata* did not result in satisfactory growth of this organism. It is possible to obtain excellent results on *Euplotes* sp. monoculture using baker's yeast and commercial diet for rotifers.

Descritores: alimento vivo, cultivo intensivo, fonte de alimentos, microalga, fermento, rotíferos.

Descriptors: live food, intensive culture, food sources, microalgae, yeast, rotifers.

1. Introdução

Os protozoários ciliados estão presentes na maioria dos ambientes aquáticos, são consumidores dominantes de bactérias em águas eutróficas (KAMYAMA, 1994). Poucos estudos tratam do seu real papel na cadeia trófica aquática, contudo, é muito provável que sejam um importante alimento nos estágios iniciais de muitos peixes e invertebrados, devido a sua abundância em quase todos os ambientes aquáticos e ao tamanho do seu corpo, similar ou até menor que náuplios de copépodes. Segundo Holt e Holt (2000), no habitat natural, larvas de peixes marinhos se alimentam comumente de uma enorme variedade de micro-zooplâncton, incluindo protozoários (tintinídeos e ciliados), dinoflagelados, larvas de moluscos e, principalmente, ovos e náuplios de copépodes.

A dieta para larvas de peixes em geral é determinada pelo tamanho da boca da larva, tamanho da presa e habilidade de captura da larva, sugerindo que presas pequenas com natação vagarosa, como alguns protozoários (ciliados, dinoflagelados), seriam adequadas (HUNT VON HERBING; GALLAGER, 2000; HUNT VON HERBING et al., 2001).

A maior parte dos peixes marinhos, e principalmente os ornamentais, possuem larvas com tamanho de boca muito pequeno ao eclodir, como o “flame angelfish” (*Centropyge loricula*), neon gobi (*Elacatinus figaro*) e *Pseudochromis flavivertex* (KRAUL, 2006; OLIVOTO et al., 2005). Portanto, precisam de um alimento com tamanho pequeno, como por exemplo rotíferos de linhagens SS (Super Small), náuplios de *copépodes* ou protozoários ciliados como o *Euplotes* sp.

Na larvicultura de peixes marinhos em ambientes controlados, a escolha do tipo de zooplâncton a ser utilizado como primeiro alimento das larvas, isto é, quando elas passam da alimentação endógena (reserva vitelínica) para a exógena, é determinada não só pelos fatores supracitados, mas também pela qualidade nutricional da presa. O domínio da técnica de cultivo destes organismos também é fundamental, de modo que se garanta uma produção constante, controlada e principalmente em altas densidades. Rotíferos (*Brachionus* sp.) e *Artemia* sp são amplamente utilizados na larvicultura de peixes marinhos. Ambos apresentam as características citadas acima, porém nem sempre são as melhores opções devido ao tamanho, qualidade nutricional ou mesmo à atratividade visual.

O uso de náuplios de *copépodes* como primeiro alimento pode ser mais adequado para muitas espécies. Kraul (2006) relata um aumento de 10% na sobrevivência de larvas do olhete *Seriola rivoliana* com estes organismos. Algumas espécies de copépodes possuem um pequeno tamanho quando se encontram na fase naupliar (*Tisbe cucumariae* com 68 µm, *Acartia* spp com 65 µm) e além do mais, seu perfil nutricional é bem adequado às necessidades das larvas dos peixes marinhos (STOTTRUP; MCEVOY, 2003). Porém, a dificuldade na utilização de *copépodes* consiste no seu cultivo intensivo em ambiente controlado.

Por outro lado, alguns autores obtiveram bons resultados na sobrevivência de larvas de gobídeos *Gobiosoma evelynae* com a utilização de *Euplotes* sp. (OLIVOTO et al., 2005). Estes mesmos autores, comparando a utilização de rotífero e *Artemia* sp. como alimento em relação ao uso

de *Euplotes* sp. com rotífero, obtiveram um incremento de 15% na sobrevivência das larvas com o emprego deste protozoário ciliado. Entretanto, estes trabalhos, apesar de fazerem uso deste organismo, não indicam a forma de obtenção deste protozoário ou do seu cultivo.

Euplotes sp. são geralmente considerados contaminantes indesejáveis no cultivo de rotíferos (HAGIWARA et al., 2001), entretanto, estudos vêm tentando mostrar a importância e o potencial da utilização destes animais durante as primeiras fases larvais de peixes marinhos (FIGUEIREDO et al., 2007; OLIVOTTO et al., 2005).

Uma vez que os trabalhos que descrevem o protocolo sobre cultivo de protozoários ciliados são escassos, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes dietas no monocultivo de *Euplotes* sp. e, desta forma, determinar qual a dieta que permite o melhor desempenho para seu crescimento. Além disto, é discutido o potencial da utilização de *Euplotes* sp. como primeiro alimento para larvas de peixes marinhos ornamentais.

2. Materiais e Métodos

2.1. Animais experimentais e condições gerais de manutenção

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. Para o início dos cultivos, o protozoário ciliado foi isolado de uma cultura de rotíferos *Brachionus* sp. contaminada, onde a temperatura da água era de 25 °C e salinidade de 25 ppt. A água do cultivo passou primeiramente por uma peneira com tela de 45 µm para reter o rotífero, e posteriormente por uma tela de 18 µm para reter o protozoário para posterior identificação como *Euplotes* sp (figura 1). O tamanho médio dos protozoários foi de $60,0 \pm 9,4$ µm (\pm DP) de comprimento e $39,0 \pm 7,4$ µm de largura.



Figura 1: Foto do protozoário ciliado *Euplotes* sp. em momento de divisão celular, bipartição. (foto Nino Santamaría)

2.2. Diferentes dietas no cultivo de *Euplotes* sp.

Para a avaliação do crescimento de *Euplotes* sp., foram testados três tratamentos como única fonte de alimento, com quatro repetições cada.: 1) microalga *Nannochloropsis oculata*; 2) dieta comercial para rotífero, Culture Selco 3000 (INVE Technologies, Bélgica); 3) fermento biológico *Saccharomyces cerevisiae*. O experimento teve duração de 6 dias.

A quantidade de fermento e Culture Selco utilizada foi de 0,5 gramas para cada 1 milhão de protozoários, sendo reposta diariamente em uma única refeição. A densidade microalgal ao longo do experimento foi apenas monitorada, mantendo-se com $2,2 \pm 1,7 \times 10^6$ células ml^{-1} durante todo experimento. A microalga foi cultivada em meio de cultura Guillard f/2 modificado, sob constante luminosidade e forte aeração. A microalga foi colhida na fase de crescimento logarítmico e ofertada como alimento para os protozoários. A densidade algal encontrada nesta fase foi de $4,0 \times 10^6$ células ml^{-1} .

Os *Euplotes* sp. foram todos inoculados a uma concentração de 10 indivíduos ml^{-1} . Cada unidade experimental continha dois litros de água para os tratamentos com o Culture Selco e fermento biológico, e dois litros de alga para o Tratamento com microalgas. A água foi previamente clorada e decorada com tiosulfato de sódio antes da inoculação, a microalga filtrada com uma malha de 5 μm de diâmetro. Todos os tratamentos foram mantidos com um fotoperíodo de 24 horas de luz, a uma temperatura de 25 ± 1 DP °C, por meio de termostato-aquecedores, salinidade de 30 ± 2 DP ppt, aeração constante e sem renovação de água. O nível de amônia total foi monitorado diariamente em todos os tratamentos através de kit comercial (Labcon, Brasil).

2.3. Contagem de células

A densidade microalgal foi determinada utilizando-se uma câmara de Neubauer. A densidade de protozoários ciliados foi verificada em um microscópio com aumento de 5 X, a partir de uma amostra de 1 ml em uma placa de Sedgewick-Rafter e fixados com uma solução de formol 5%. *Euplotes* sp. nem sempre habitam a região da coluna d'água, apresentando uma preferência por se movimentar pelos substratos e detritos que se acumulam no fundo do recipiente. Para assegurar uma contagem fidedigna, cada unidade experimental foi homogeneizada com forte aeração antes da retirada das amostras. Todas as contagens foram realizadas em duplicata.

2.4. Análise estatística

Para determinar o tratamento que apresentou o melhor desempenho de crescimento durante os dias de cultivo, bem como a variação da amônia total nos tratamentos, utilizou-se a análise de variância com parcelas subdivididas no tempo. Para determinar a curva crescimento utilizou-se

análise de regressão. Foi utilizada uma probabilidade de 0,05% para estabelecer as diferenças estatísticas entre as médias. Utilizou-se o programa Statistica (versão 7.0, StatSoft) para as análises.

3. Resultados

A tabela 1 mostra o crescimento da população do protozoário *Euplotes* sp. com as diferentes dietas testadas. Durante os quatro primeiros dias de cultivo todos os tratamentos mantiveram-se iguais em número de protozoários por ml. A partir do quinto dia de cultivo, não houve diferença no crescimento da população dos protozoários entre os tratamentos com o Culture Selco ($1.911,0 \pm 248,7$ ind. mL^{-1} ; média \pm desvio padrão) e o fermento ($2.600,0 \pm 195,3$). Entretanto, estes foram estatisticamente diferentes, com melhor crescimento em relação ao tratamento com microalgas ($2,0 \pm 1,4$) ($P < 0,05$).

No final do experimento (6º dia de cultivo), o tratamento que utilizou o fermento como fonte de alimento foi o que mostrou melhor desempenho de crescimento, sendo diferente dos outros dois tratamentos, atingindo uma média de $15.484,5 \pm 1.164,9$ indivíduos mL^{-1} ($P < 0,05$). O tratamento com Culture Selco foi o segundo melhor em termos produtivos ($11.287,0 \pm 1.468,0$ ind. mL^{-1}), e o com microalgas o que apresentou os piores resultados ($3,0 \pm 1,4$ ind. mL^{-1}). O cultivo destes ciliados apresentou uma curva de crescimento exponencial para o tratamento com fermento biológico ($R^2 = 0,992$; $P < 0,05$) e para o com o Culture Selco ($R^2 = 0,979$; $P < 0,05$).

	Cels./mL \pm DP	Cels./mL \pm DP	Cels./mL \pm DP
6	15484,5 \pm 1164,9 a	11287,7 \pm 1468,9 b	237,0 \pm 468,7 c
5	2600,5 \pm 195,3 a	1911,0 \pm 248,7 a	2,0 \pm 1,0 b
4	614,7 \pm 28,3	469,0 \pm 70,3	1,25 \pm 1,0
3	387,5 \pm 52,3	339,0 \pm 79,9	1,25 \pm 1,0
2	222,2 \pm 49,2	384,5 \pm 5,4	8,0 \pm 6,7
1	27,2 \pm 3,3	22,0 \pm 4,9	4,5 \pm 3,1
Dias	Fermento	Selco	Alga

Tabela 1: Tabela de crescimento da população do protozoário ciliado *Euplotes* sp. com as diferentes dietas durante os dias de cultivo. Média, de cada tratamento (n=4), do número de células por mililitro \pm desvio padrão. Letras diferentes indicam as diferenças entre as médias ($P < 0,05$).

Em relação aos níveis de amônia total durante o cultivo, todos os tratamentos mostraram níveis baixos até o terceiro dia de experimento, com concentrações em torno de $0,25 \text{ mg l}^{-1}$. A partir do quarto dia, os tratamentos com fermento e Culture Selco apresentaram uma elevação nos níveis de amônia. No sexto dia, o tratamento com fermento alcançou 4 mg l^{-1} , o tratamento com o Culture Selco 3 mg l^{-1} , diferentes do tratamento com microalga. O tratamento com microalga alcançou níveis

de amônia total significativamente menores, que os outros tratamentos, durante todo o experimento, em torno de $0,10 \text{ mg l}^{-1}$ (figura 2).

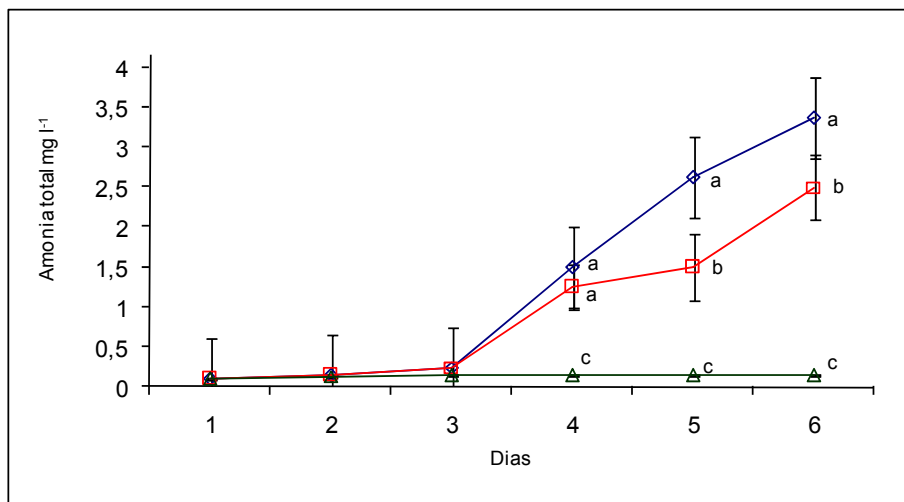


Figura 2: Variação do nível de amônia total (mg l^{-1}) na água nos diferentes tratamentos (fermento \diamond , selco \square , microalga \triangle) ao longo dos seis dias de experimento. Pontos em cada dia mostram a média ($n=4$), barras verticais denotam desvio padrão e letras comprovam diferenças entre as médias ($P < 0,05$).

4. Discussão

Alguns estudos demonstram que os protozoários, incluindo o *Euplotes* sp., alimentam-se de bactérias (WILKS; SLEIGHT, 1998). Cheng et al. (2004) demonstraram que os ciliados comem também fitoplâncton, sendo observadas naquele estudo a ingestão das microalgas *N. oculata* e *Tetraselmis tetrahele*. No presente estudo, o tratamento que utilizou a microalga *N. oculata* como fonte de alimento não mostrou crescimento significativo da população de *Euplotes* sp. Este fato pode indicar que a concentração de microalgas não foi suficiente para um aumento significativo da população deste protozoário, ou que estes organismos podem consumir as microalgas, porém não conseguem aproveitar adequadamente este alimento. Segundo Cheng et al. (2004), estes ciliados não possuem uma estrutura especializada para mastigar, não sendo capazes de digerir a dura parede celular do fitoplâncton.

A dieta que apresentou o melhor crescimento foi a que utilizou o fermento biológico como alimento, tratamento onde também foram registrados níveis significativamente mais elevados de amônia total ($4,0 \text{ mg l}^{-1}$). Apesar de ser uma concentração relativamente alta, capaz de inibir o crescimento ou até mesmo matar muitos organismos aquáticos como rotíferos e larvas de peixes (CHENG et al., 2004; XU et al., 2004), a amônia parece não ter afetado o crescimento da população de *Euplotes* sp. Xu et al. (2003) mostraram que concentrações de 100 mg l^{-1} de amônia total na água inibem o crescimento de *Euplotes vannus* e a concentração letal ocorre a partir de $7.870,5 \text{ mg l}^{-1}$. De fato, é extraordinária a capacidade de tolerância deste organismo a este composto tóxico nitrogenado, sendo muito mais resistente se comparado a outros tipos de alimento vivo. Entretanto, o *Euplotes* sp. cultivado somente com o fermento como alimento provavelmente não poderia ser ofertado diretamente para larvas de peixes marinhos devido ao seu baixo valor nutricional. Desta forma, antes do seu fornecimento como alimento vivo, deve ser devidamente enriquecido, principalmente com ácidos graxos poliinsaturados. Kraul (2006) realizou análises da composição de

ciliados do gênero *Euplotes*, alimentados com produtos comerciais para enriquecimento nutricional e observou que são capazes de incorporar em seus tecidos níveis moderados de ácidos graxos (especialmente os Ômega 3 EPA e DHA), entretanto, esta incorporação de nutrientes foi inferior à dos rotíferos e *Artemia*.

O crescimento do *Euplotes* sp. com a dieta Culture Selco foi satisfatório, apesar de ser um produto originalmente desenvolvido para a alimentação de rotíferos. Mesmo apresentando um crescimento inferior ao tratamento que utilizou fermento, o emprego de Culture Selco no cultivo de *Euplotes* sp. pode ser mais interessante quando se pretende utilizar este organismo na alimentação de larvas, uma vez que contém ácidos graxos poliinsaturados que auxiliam no crescimento e no enriquecimento de rotíferos. Entretanto, trabalhos futuros devem avaliar a capacidade de incorporação destes nutrientes em protozoários ciliados.

Assim como os outros organismos, o cultivo de *Euplotes* sp. apresenta algumas vantagens e desvantagens. Podem-se destacar como vantagens, o pequeno tamanho, a rápida taxa de crescimento, as altas densidades de cultivo e a resistência a níveis elevados de amônia na água. Entre as possíveis desvantagens encontramos que estes protozoários precisariam ser enriquecidos antes do seu fornecimento a larvas de peixes e que apresentam hábito preferencialmente bentônico, o que pode dificultar a sua captura por parte das larvas (Cheng et al., 2004 e Xu et al., 2004). Complementarmente, possuem um único tamanho de corpo ao longo de sua vida, não havendo diferença entre os indivíduos jovens e adultos, fazendo-se necessário o emprego de outro alimento vivo (de tamanhos maiores como rotíferos) durante o crescimento das larvas.

5. Conclusão

O presente trabalho mostra a viabilidade do monocultivo do protozoário ciliado *Euplotes* sp. em sistema intensivo. A utilização da microalga *N. oculata* na densidade de $2,2 \pm 1,7 \times 10^6$ não mostrou ser eficiente para o cultivo destes organismos. Pode-se alcançar ótimos resultados para incremento da biomassa utilizando-se fermento biológico e Culture Selco 3000, produtos comumente utilizado para o cultivo de rotíferos.

6. Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Dra. Gisela Figueiredo por nos ajudar a isolar o organismo objeto deste estudo, ao técnico de laboratório Israel Silva pelo apoio e contibuição na coleta do material biológico e ao doutorando Felipe do Nascimento Vieira por sua ajuda na análise estatística do trabalho. Gostaríamos de agradecer também ao CNPq por oferecer auxílio ao primeiro autor na forma de bolsa.

7. Bibliografia

- CHENG, S.H.; AOKI, S.; MAEDA, M.; HINO, A. Competition between the rotifer *Brachionus rotundiformis* and the ciliate *Euplotes vannus* fed on two different algae. **Aquaculture**, v. 241, p. 331-343, 2004.
- FIGUEIREDO, G. M.; NASH, R. D. M.; MONTAGNES, D. J. S. Do protozoa contribute significantly to the diet of larval fish in the Irish Sea? **Mar. Biol. Ass.**, v. 87, p. 843-850, 2007.
- HAGIWARA, A.; W. G.; GALLARDO, M.; ASSAVAAREE, T.; KOTANI, DE ARAUJO, A.B. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. **Aquaculture**, v. 200, p. 111–127, 2001.
- HOLT, J.; HOLT, S. A.; Vertical distribution and role of physical processes in the feeding dynamics of two larval sciaenids *S. Ocellatus* and *C. nebulosus*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 193, p. 181– 190, 2000.
- HUNT VON HERBING, I.; GALLAGER, S. M.; HALTEMAN, W.; Metabolic costs of pursuit and attack in early larval Atlantic cod. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 216, p. 201–212, 2001.
- HUNT VON HERBING, I.; GALLAGER, S. M. Foraging behaviour in early Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*) feeding on protozoan (*Balanion* sp.) and a copepod nauplius (*Pseudodiaptomus* sp.). **Mar. Biol.**, v. 136, p. 591–602, 2000.
- KAMYAMA, T. The impact of grazing by microzooplankton in northern Hiroshima Bay, the Seto Inland Sea, Japan. **Mar. Biol.**, v. 119, p.77–88, 1994.
- KRAUL, S. **Live food for marine fish larvae**. Avances en Nutricion Acuicola VIII.VII Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo Leon, Monterrey, Nuevo Leon, México, 2006
- OLIVOTTO, I.; ZENOBI, A.; ROLLO, A.; MIGLIARINI, B.; AVELLA, M.; CARNEVALI, O. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. **Aquaculture**, v. 250, p. 175–182, 2005.
- WILKS, S.A.; SLEIGH, M. A. Grazing rates in *Euplotes mutabilis*: relationship between particle size and concentrations. **Microb. Ecol.**, v. 36, p. 165-174, 1998.
- XU, H.; SONG, W.; WARREN, A. An investigation of the tolerance to ammonia of the marine ciliate *Euplotes vannus* (Protozoa, Ciliophora). **Hydrobiologia**, v. 519, p. 189-195, 2004.

Efeito da utilização de diferentes alimentos vivos na sobrevivência e crescimento no período de primeira alimentação de larvas de neon gobi (*Elacatinus figaro*)

Guilherme de F. Côrtes, Mônica Y. Tsuzuki, Cristina V. A. de Carvalho

Universidade Federal de Santa Catarina
(Caixa Postal 476, 88040-970 Florianópolis, SC, Brasil)
mtsuzuki@cca.ufsc.br

Resumo

No cultivo de peixes marinhos, um dos principais entraves consiste em oferecer presas de tamanho e valor nutricional adequados para a primeira alimentação das larvas. Nem sempre os alimentos vivos tradicionalmente empregados como os rotíferos e *Artemia* são as melhores opções. A fim de testar o papel de diferentes zooplâncton na larvicultura do *Elacatinus figaro* utilizou-se; TA: protozoário ciliado *Euplotes* sp. com rotíferos *Brachionus* sp.; TB: Zooplâncton selvagem com rotíferos; TC: Somente rotíferos. A taxa de sobrevivência foi analisada para os três tratamentos no dia 10 após a eclosão (DAE), e para os tratamentos TB e TC foi analisado o crescimento no dia 10 e 20 após eclosão. Não houve diferença significativa na sobrevivência entre os tratamentos TA ($20,5 \pm 18,1\%$; média \pm DP), TB ($41,1 \pm 14,2\%$) e TC ($32,1 \pm 16,5\%$). No dia 10 após a eclosão o crescimento foi significativamente maior em TB ($5,7 \pm 0,6$ mm) que em TC ($4,6 \pm 0,5$ mm). Isso também aconteceu no dia 20 TB ($8,6 \pm 0,5$ mm) e TC ($5,8 \pm 0,7$ mm). A análise do crescimento no tratamento A não foi possível devido a problemas de fixação das larvas. A utilização de zooplâncton selvagem, com predominância de náuplios de copépodes, melhorou o crescimento das larvas.

Palavras-chave: alimento vivo, *Brachionus*, *Euplotes*, copépodes, larvicultura, peixes ornamentais marinhos, *Elacatinus figaro*.

Abstract

In marine fish culture, one of the main bottlenecks consists in offering preys with an adequate size and nutrition at the larvae first feeding. Not always the commonly live food organisms used such as rotifers and *Artemia* sp. are the best options. In order to test the role of different zooplankton on the *Elacatinus figaro* larviculture, three treatments were used, TA: *Euplotes* sp. with rotifers *Brachionus* sp.; TB: copepod nauplii with rotifers; TC: rotifers only. The survival rates were estimated on the tenth day after hatch for the three treatments, and the growth rate evaluated for the treatments TB and TC on the tenth and twentieth day post hatch. There was no significant difference in survival rates between treatments TA ($20.5 \pm 18.1\%$; mean \pm Standard Deviation), TB ($41.1 \pm 14.2\%$) and TC ($32.1 \pm 16.5\%$). On the tenth day after hatch, the growth rate was significantly higher at TB (5.7 ± 0.6 mm) than at TC (4.6 ± 0.5 mm). This also occurred on the twentieth day - TB (8.6 ± 0.5 mm) and TC (5.8 ± 0.7 mm). The use of copepod nauplii improved the performance of *Elacatinus figaro* larviculture. However, ciliates did not show to be a satisfactory diet.

Keywords: live food, *Brachionus*, *Euplotes*, copepods, larviculture, ornamental marine fish, *Elacatinus figaro*.

1. Introdução

O comércio de peixes ornamentais marinhos têm se estabelecido como uma indústria altamente lucrativa nas últimas décadas, com milhões de dólares movimentados todos os anos ao redor do mundo (Wabnitz et al., 2003). Como mais de 90% das espécies comercializadas são coletadas do ambiente, percebe-se um declínio nos estoques naturais destes peixes (Moe, 2003; Wood, 2001). Como uma das alternativas para minimizar o extrativismo de espécies recifais, alguns estudos vem sendo realizados para desenvolver métodos de cultivo de peixes ornamentais marinhos (Moe, 1975, Holt, 2003, Olivotto et al., 2005, 2006a,b, Meirelles, 2007, Wittenrich et al., 2007, Olivotto et al. 2008).

A maior dificuldade que os criadores de peixes marinhos encontram no cultivo das larvas é na transição da alimentação larval endógena para exógena (Sargent et al., 1997). Grande parte das espécies de peixes marinhos são cultivadas utilizando rotíferos (*Brachionus* sp.) e *Artemia* sp., uma vez que são organismos fáceis de se cultivar em grandes volumes e alcançam altas densidades. Mas o uso destes organismos nem sempre promove um cultivo eficiente das larvas, muitas vezes devido ao perfil nutricional inadequado de ácidos graxos, ou mesmo por causa do seu grande tamanho.

Pesquisas com algumas espécies de peixes marinhos (turbot *Scophthalmus maximus*, red snapper *Lutjanus campechanus*) mostraram que, quando utilizada uma dieta com mistura de zooplâncton, as larvas recém eclodidas consumiram mais náuplios de copépodes do que rotíferos (Treece & Davis, 2000). Esta preferência pode estar relacionada com o tamanho e o comportamento natatório das presas. Além disso, copépodes possuem uma ampla faixa de tamanhos entre as fases de náuplio e adulto, que podem ser aproveitadas pelas larvas durante o seu desenvolvimento, e também são ricos em ácidos graxos essenciais extremamente importantes para a sobrevivência e o crescimento das larvas. Conseqüentemente, existe um considerável interesse em usar os copépodes como fonte de alimento para as larvas pequenas de peixes marinhos. Infelizmente o cultivo em grande escala de copépodes é mais difícil, diferentemente dos rotíferos, pois os copépodes não se reproduzem assexuadamente e em ambientes controlados alcançam baixas densidades.

Alguns estudos sugerem que os protozoários ciliados marinhos, como *Euplotes* sp., possuem um importante papel dentro da cadeia trófica marinha, principalmente para larvas pequenas de peixes marinhos, uma vez que estes organismos ocorrem em grandes quantidades na natureza e possuem um tamanho diminuto (Nagano et al., 2000, Pandey & Yeragi, 2004, Figueiredo et al., 2005). Pesquisas mostraram que estes zooplâncton podem ser utilizados na primeira alimentação de larvas de algumas espécies ornamentais com sucesso (Nagano et al., 2000, Olivotto et al., 2005). Contudo, o cultivo controlado destes ciliados e sua utilização para larvas de peixes marinhos precisam ser mais bem compreendidos a fim de usá-los como substitutos aos alimentos vivo tradicionais.

O objetivo deste estudo foi testar a utilização de diferentes fontes de alimentos vivo na primeira alimentação das larvas de *Elacatinus figaro* e a sua influência na sobrevivência e no crescimento.

2. Materiais e Métodos

2.1. Origem e condições gerais de manutenção dos reprodutores

Esta pesquisa foi realizada no período de junho a dezembro de 2008, no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina. O material biológico foi proveniente de adultos de *Elacatinus figaro* selvagens obtidos em maio de 2007, do estado da Bahia, com autorização do IBAMA (número 136/2006-DIFAP/IBAMA). Estes animais foram cultivados segundo métodos descritos por Meirelles et al. (no prelo). Desta forma, as larvas foram obtidas de desovas de um casal selvagem e outras duas de dois reprodutores gerados no próprio laboratório (F1).

Os reprodutores foram mantidos em tanques plásticos pretos com volume útil de 25 litros, em sistema de circulação aberto (renovação diária, cerca de cinco vezes o volume do tanque) e aeração moderada. A temperatura foi mantida em $25,0 \pm 3$ °C (média \pm DP), medidas diariamente com um termômetro de mercúrio, por meio de termostato-aquecedores em cada tanque. A salinidade ficou próxima de $32,0 \pm 3$ ppt (medidas com um refratômetro óptico Atago, Japão, precisão de 1 ppt). O fotoperíodo foi ajustado para simular a estação do verão, com 16 horas de luz e 8 horas de escuro, controladas com um timer analógico e com intensidade luminosa de 2.343 LUX.

Os reprodutores foram alimentados até a saciedade aparente, três vezes ao dia, com uma dieta variada que incluiu ração comercial para peixes ornamentais marinhos (Tetra Inc., Alemanha), ração comercial para reprodutores e juvenis de peixes marinhos (INVE Co, Bélgica), *Artemia* sp. enriquecida com emulsões comerciais de ácidos graxos (INVE Co, Bélgica), além de moluscos bivalves (ostra, mexilhão e vieira), camarão, lula e peixes (atum, salmão e sardinha) frescos picados. Após uma hora de cada alimentação, sifonou-se o fundo dos tanques para a retirada de sobras de alimentos e fezes.

Cada tanque de reprodutor continha um único casal e um substrato (moluscos bivalves) que servia como local para proteção e desova. Examinou-se cada concha duas vezes ao dia, pela manhã e pela tarde, para verificar a ocorrência de desovas.

2.2. Obtenção de desovas

Através da checagem diária das desovas dos reprodutores, estimava-se o dia da eclosão. Desta forma, procedia-se a retirada da concha com os ovos no dia previsto para a eclosão. O tanque contendo a desova, era transferido para outra bancada e a concha rearranjada de forma que a luz incidisse sobre os ovos, aderidos na superfície desta, servindo de estímulo para eclosão.

A quantidade média de ovos obtidos nas posturas durante este experimento foi de $206,0 \pm 73,3$ com uma taxa de eclosão de $95,7 \pm 3,7$ %. O tempo de incubação dos ovos de *E. figaro* foi de aproximadamente 168h a 26 °C após a fertilização como já observado por Meirelles et al. (no prelo). O tempo entre posturas variou entre 7 e 15 dias para cada casal. Como não houveram desovas

simultâneas entre os diferentes casais, cada repetição de cada tratamento foi realizado em períodos diferentes com desovas de diferentes casais.

2.3. Cultivo, coleta, amostragem e identificação do alimento vivo

Os rotíferos (*Brachionus* sp.), com comprimento médio de lóricas de $146,0 \pm 40,9 \mu\text{m}$ e $92,7 \pm 29,8 \mu\text{m}$ de largura, foram cultivados em um sistema semicontínuo, em tanques cônicos com capacidade de 40 litros, em uma densidade de aproximadamente 90 ind./mL, com aeração moderada, temperatura de 26°C e 24 horas de luz. Utilizou-se o produto comercial Culture Selco 3000 (INVE Co, Bélgica) para alimentação e enriquecimento com ácidos graxos antes de serem ofertados às larvas.

Os protozoários ciliados, com $60,0 \pm 9,4 \mu\text{m}$ de comprimento e $39,0 \pm 7,4 \mu\text{m}$ de largura, foram isolados de uma cultura de rotíferos e identificados como *Euplotes* sp. Posteriormente, foram cultivados em tanques em sistema semicontínuo, fotoperíodo de 24 horas de luz, com salinidade de 25 ppt, temperatura de 25°C e alimentados com Culture Selco 3000 (INVE Co, Bélgica), para crescimento e enriquecimento com ácidos graxos, seguindo o protocolo da empresa para o cultivo e enriquecimento de rotíferos.

O zooplâncton selvagem foi coletado diariamente, entre os meses de outubro e dezembro. Nesse período, a lagoa apresentou uma salinidade média de $19,0 \pm 1,5$ ppt e temperatura de $26,0 \pm 1,5^\circ\text{C}$. A coleta foi realizada com arrasto de uma rede pela superfície, com tamanho de malha de $50 \mu\text{m}$. O material coletado foi lavado com água salgada e filtrado em duas malhas, de 150 e $85 \mu\text{m}$, para retirada de sujeira e animais indesejáveis.

Na amostra retida na malha de $150 \mu\text{m}$ foram identificados dois tipos de copépodes na fase adulta: *Acartia* sp. e *Euterpina acutifrons*, com visível predominância deste segundo. Utilizou-se nas larviculturas somente a parcela de zooplâncton que passou pela malha de $85 \mu\text{m}$, com visível predominância de náuplios de copépodes. Estes possuíam um tamanho médio de $126,0 \pm 36,5 \times 77,0 \pm 13,0 \mu\text{m}$ (comprimento \times largura) ($n=10$).

Com o auxílio de uma lupa, alguns náuplios foram isolados destas coletas e cultivados em tanques com microalga *Nannochloropsis oculata* até atingirem o tamanho adulto, posteriormente identificados como *E. acutifrons*, pertencentes à ordem Harpacticoida.

2.4. Efeito de diferentes tipos de alimento vivo na sobrevivência e crescimento das larvas

Para este experimento foram utilizadas seis desovas, num total de cerca de 1200 embriões, obtidos de três casais diferentes.

A fim de testar a influência de diferentes tipos de alimento vivo na sobrevivência e no crescimento de larvas de *E. figaro* no 10º e 20º dia de larvicultura, foram testados 3 tratamentos:

Tratamento A (TA): alimentação somente com rotíferos *Brachionus* sp (10 ind./mL) e ciliados *Euplotes* sp. (10 ind./mL) enriquecidos, realizado em triplicata. Utilizou-se ao todo $135,0 \pm 10,0$ larvas.

Tratamento B (TB): alimentação com *Brachionus* sp. (10 ind./mL) e zooplâncton selvagem (10 ind./mL), realizado em triplicata. Utilizou-se um total de $173,5 \pm 75,2$ larvas.

Tratamento C (controle): alimentação somente com *Brachionus* sp. (20 ind./mL), realizado com seis repetições. Total de $128,5 \pm 111,2$ larvas.

As larvas foram contadas e divididas entre os tanques com o auxílio de um béquer. A água utilizada para preencher os tanques experimentais foi a mesma do tanque de eclosão para minimizar o efeito da qualidade de água. A densidade média inicial de larvas em cada tratamento ficou em $9,9 \pm 3,7$ ind/L.

Os tanques experimentais tinham capacidade de 25 litros, com as paredes cobertas com um plástico preto para reduzir a incidência da luz. Utilizou-se larvicultura em água verde com a microalga *N. oculata* a uma densidade de 50.000 células/mL. As trocas parciais de água foram realizadas diariamente, com a retirada de aproximadamente 10% do volume do tanque, repostos com microalga.

A contagem do residual de cada alimento vivo foi realizada uma vez ao dia, sendo repostas as quantidades, quando necessário, para manter a densidade total de alimento no tanque em no mínimo 20 ind./mL. Para o tratamento B, somente foi contado o número de residual para os náuplios de copépodes.

A intensidade luminosa foi de aproximadamente 1500 LUX, e o fotoperíodo permaneceu com 24 horas de luz durante o período experimental. A temperatura ficou em 26 ± 1 °C, mantida através de termostatos-aquecedores. Manteve-se uma leve aeração em cada tanque. A amônia total, foi monitorada diariamente através de um teste comercial colorimétrico (Labcon, Brasil).

2.5. Amostragem de larvas

Para a análise de sobrevivência (no dia 10 após a eclosão), os tanques foram esvaziados até restar uma pequena lâmina d'água para facilitar a captura das larvas, as quais foram contadas com o auxílio de um béquer. Para a análise de crescimento, foram capturadas aleatoriamente 10 larvas nos dias 10 e 20 após a eclosão dos tratamentos B e C, fixadas em formol 5% e medidas com o auxílio de uma lupa com régua graduada em um aumento de 5X. O tamanho da boca foi mensurado (largura e altura) com a amostra de 10 larvas recém eclodidas fixadas em formol 5%, através de uma lupa em aumento de 5X.

A análise do crescimento no tratamento A não foi possível devido a problemas de fixação das larvas.

2.6. Análise estatística

Foi utilizada Análise de Variância (ANOVA) para constatar se houveram diferenças significativas entre as médias, com probabilidade de 95%. Quando constatada diferença, aplicou-se o teste de Tukey para comparação. Os dados são apresentados como médias e desvio padrão. Para o processamento dos dados utilizou-se o programa Statistica 7.0 © StatSoft, Inc. 1984 – 2004.

3. Resultados

3.1. Sobrevivência e crescimento

As larvas alimentadas com zooplâncton selvagem mais rotíferos (TB) tiveram uma taxa média de sobrevivência de $41,1 \pm 14,2$ % (figura 1). O tratamento controle (TC) alcançou uma taxa média de $32,1 \pm 16,5$ %, e o tratamento que utilizou *Euplotes* sp. mais rotíferos (TA) ficou com uma taxa média de $20,5 \pm 18,1$ %, como mostra a figura 1. Não foram detectadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos para este parâmetro ($P > 0,05$).

Uma das repetições do tratamento B alcançou uma sobrevivência de 60% ao 10 DAE. Entretanto, devido à falta de microalgas no início do experimento, a repetição não foi considerada para a análise estatística.

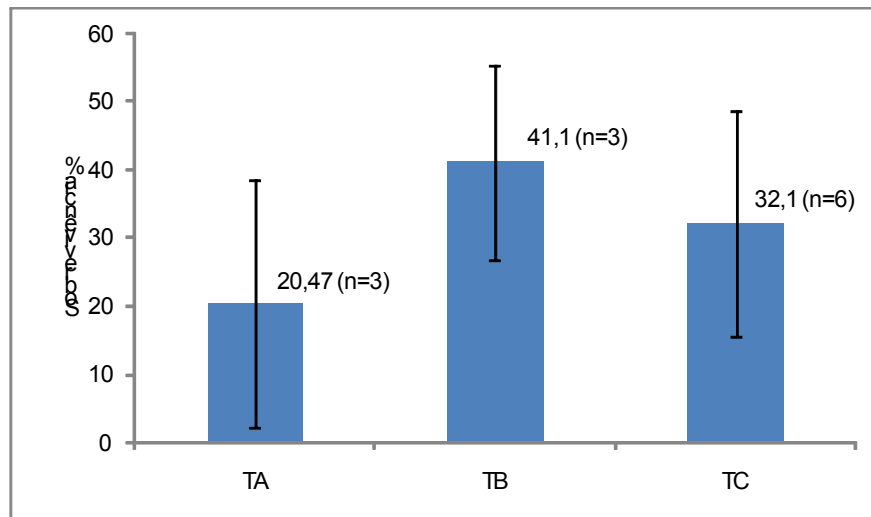


Figura 1: Média (\pm DP) da sobrevivência, em porcentagem, das larvas de *E. figaro* no décimo dia de larvicultura nos diferentes tratamentos: *Euplotes* sp + rotíferos (TA); zooplâncton selvagem + rotíferos (TB); Somente Rotíferos (TC).

Em relação ao crescimento, foi observado que o comprimento total das larvas do tratamento que utilizou zooplâncton selvagem (TB) foi significativamente maior do que no tratamento somente com rotíferos (TC) em ambas datas avaliadas, ou seja, 10 e 20 dias após eclosão (DAE) ($P < 0,05$). As larvas do tratamento TB apresentaram um comprimento total médio de $5,7 \pm 0,6$ mm e as do TC alcançaram um comprimento total médio de $4,6 \pm 0,5$ mm no 10 DAE. Ao 20 DAE, as larvas do TB atingiram um comprimento total de $8,6 \pm 0,5$ mm e as do TC ficaram com $5,8 \pm 0,7$ mm de comprimento total (figura 2).

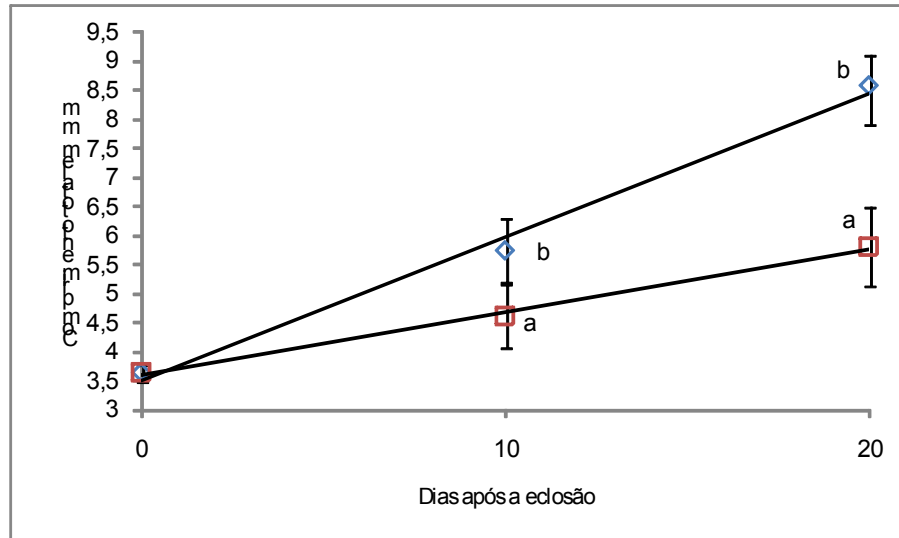


Figura 2: Média (n=10) do comprimento total das larvas de *E. figaro* nos dias 0, 10 e 20 após a eclosão nos diferentes tratamentos (\diamond TB= zooplâncton selvagem + rotíferos, \square TC= rotíferos). Letras diferentes demonstram diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$). Barras verticais denotam o desvio padrão.

A amônia total manteve-se entre 0 e 1,25 ppm nos três tratamentos durante todo o cultivo, como mostra a figura 3. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para amônia total.

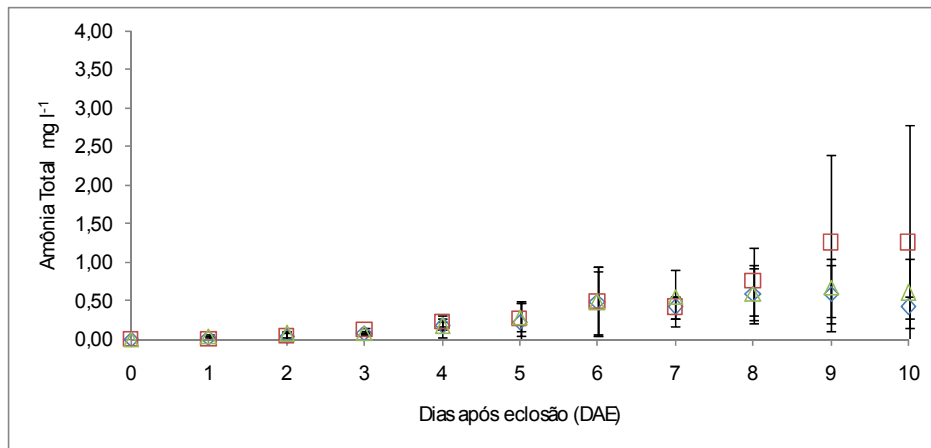


Figura 3: Variação do nível de amônia total (mg l^{-1}) na água nos diferentes tratamentos (TA – *Euplotes* sp + rotíferos \diamond , TB – Zooplâncton selvagem + rotíferos \square , TC – Rotíferos Δ) ao longo do cultivo. Pontos representam a média de cada tratamento. Barras denotam o desvio padrão.

3.2 Residual de alimento vivo

O residual de alimento vivo é apresentado na tabela 1 em forma de média \pm desvio padrão (n=3). No tratamento A não houve diferença significativa para a densidade residual entre os alimentos vivo *Euplotes* sp. e Rotíferos. No tratamento B os náuplios de copépodes ficaram em uma densidade significativamente menor nos dias 1,3,4,8 e 9 após a eclosão. No tratamento C é apresentado o residual de rotíferos quando acrescentados a uma densidade inicial de 20 ind./mL.

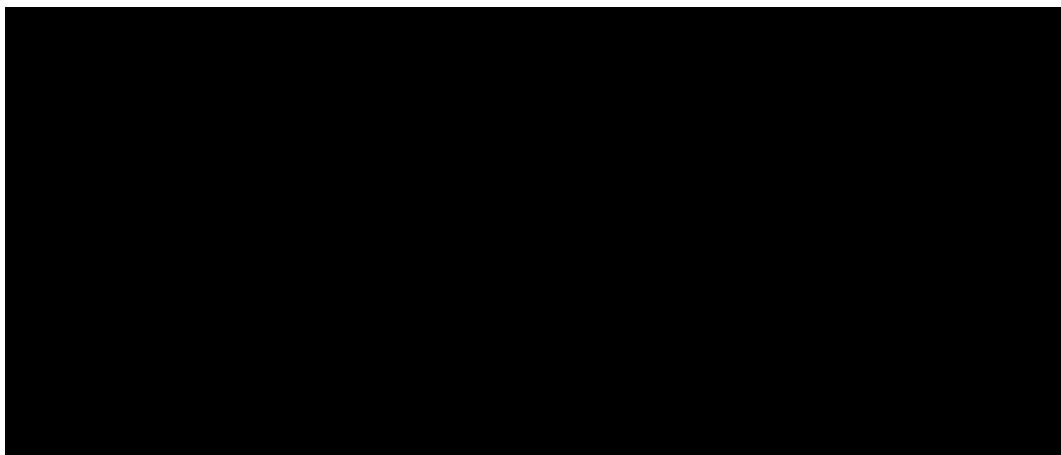


Tabela 1: Média (\pm DP) do residual de alimento vivo nos tanques dos tratamento A, B e C. Letras denotam diferenças significativas entre as médias.

4. Discussão

No presente estudo, apesar da análise estatística não mostrar diferenças significativas entre os tratamentos, verificou-se que as larvas de neon gobi apresentaram uma boa sobrevivência inicial. Os melhores resultados foram obtidos com 52,8% e 52,5% em uma das repetições dos tratamentos B (rotíferos adicionado com zooplâncton selvagem) e C (somente rotíferos), respectivamente, seguido de 36,6% no melhor resultado do tratamento A (rotíferos adicionado com *Euplotes* sp.) até o dia 10 após a eclosão. Ainda que este estudo não tenha avaliado a sobrevivência até o final da larvicultura, de acordo com Meirelles (2007) após a primeira semana de larvicultura a mortalidade do neon gobi (*E. figaro*) é bastante reduzida. Shei (2008), que estudou a mesma espécie com protocolo de larvicultura similar ao de Meirelles, relata que as maiores mortalidades também ocorrem entre o 1º e 3º dia após eclosão, com alguma mortalidade observada também no período de metamorfose.

O tamanho da boca do *E. figaro* ao eclodir possui uma dimensão de $308,0 \pm 63,0$ μ m de comprimento por $233,0 \pm 14,0$ μ m de largura (Côrtes, 2009). É conhecido que o tamanho da presa que a larva consegue ingerir aumenta conforme o seu desenvolvimento, sendo, portanto, o tamanho da presa que a larva pode consumir determinada pela dimensão de sua boca (Hagiwara, 2001). Alguns autores relatam que o tamanho do alimento que uma larva possa ingerir, está restrito a somente 25 a 40% do menor tamanho da sua boca (Tucker Jr., 1998; Nagano et al., 2000). Portanto, as larvas recém eclodidas de *E. figaro*, estariam aptas para capturar presas com tamanho de aproximadamente 60 e 90 μ m. Neste caso se analisarmos o tamanho médio dos alimentos vivos utilizados neste estudo (*Euplotes* sp.: $60,0 \pm 9,4$ μ m x $39,0 \pm 7,4$ μ m; náuplios de copépodes: $126,0 \pm 36,5$ x $77,0 \pm 13,0$ μ m; *Brachionus* sp.: $146,0 \pm 40,9$ μ m x $92,7 \pm 29,8$ μ m), percebemos que sua captura pode ter ocorrido, em um primeiro momento, pela menor dimensão do seu corpo.

Em relação aos diferentes tipos de alimento vivo testados, mesmo apresentando um tamanho adequado para servir de presa ao neon gobi, no presente estudo a utilização do *Euplotes* sp. (60 μ m) combinada com rotíferos (TA) não apresentou uma melhora da sobrevivência ($20,47 \pm 18,1$ %) em relação ao controle. Esta constatação pode estar ligada ao fato de as larvas de *E. figaro* não terem conseguido capturar os ciliados, já que a movimentação deste organismo na água é visivelmente

mais rápida que a dos rotíferos, o que pode ter dificultado sua captura. A disponibilidade dos *Euplotes* sp. na coluna d'água também é questionável, uma vez que eles apresentam uma tendência natural a ficar junto aos grumos de bactéria, próximos ao sedimento (Kamyama, 1994; Cheng et al. 2004). Estes dois fatores podem ter contribuído para que o alimento vivo ficasse indisponível para as larvas.

Entretanto, Olivotto et al. (2005), testando diferentes tipos de alimento vivo durante o início da alimentação de larvas do gobídeo *Gobiosoma evelynae*, obtiveram melhor sobrevivência (50%) com a utilização de *Euplotes* sp. e *B. rotundiformis* no protocolo de larvicultura. A utilização destes ciliados promoveu um aumento da sobrevivência em 15% quando comparada com a utilização somente de rotíferos, sugerindo que estes organismos podem ser uma alternativa para a primeira alimentação das larvas deste gobídeo. Estes autores também destacam que o maior índice de mortalidade para esta espécie ocorre nos três primeiros dias após a eclosão. Depois deste período a mortalidade se estabiliza.

Kraul (2006) realizou análises da composição de ciliados do gênero *Euplotes* sp. alimentados com produtos comerciais para enriquecimento nutricional e observou que estes são aptos a incorporar em seus tecidos níveis moderados de ácidos graxos (especialmente os Ômega 3 EPA e DHA), sendo esta incorporação de nutrientes inferior à capacidade de incorporação dos rotíferos e *Artemia*. Este autor observou ainda que algumas larvas de peixes (*Seriola rivoliana*, *Centropyge loricula*, *Cephalopholis argus*) submetidas a uma primeira dieta somente com *Euplotes* sp. enriquecidos, sempre apresentaram uma sobrevivência inferior em comparação com o tratamento controle, que consistia de larvas alimentadas com náuplios de copépodes.

Analisando os resultados do tratamento B podemos dizer que as larvas de neon gobi conseguem se alimentar de zooplâncton selvagem com eficiência, principalmente de náuplios de copépodes que predominavam no tanque. Com base no tamanho dos náuplios ofertados (126,0 × 77,0 µm, comprimento x largura) percebe-se que são alimentos passíveis de serem capturados. Esta afirmação fica mais evidente quando analisamos o comprimento total das larvas deste tratamento, que foi significativamente maior (5,7 ± 0,6 mm) que o do controle (4,61 ± 0,54 mm) no 10 DAE. No 20 DAE o mesmo padrão de crescimento foi observado para TB (8,57 ± 0,54 mm) e TC (5,81 ± 0,67 mm). É muito provável que a ingestão destes náuplios tenha melhorado o crescimento das larvas em função do melhor perfil nutricional contido neste tipo de zooplâncton, rico em ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs) (Sargent et al., 1997).

Trabalhos sobre a importância dos ácidos graxos HUFAs mostraram que a deficiência destes lipídeos na dieta de larvas de peixes marinhos, leva a um baixo desempenho de crescimento e a altas taxas de mortalidade (Sargent et al., 1999; Olivotto et al., 2006b; Avella et al., 2007). Estudos recentes com larvas de peixe palhaço (*Amphiprion clarkii*) mostraram que a utilização de náuplios de copépodes da ordem harpacticoides (*Tisbe* spp.), em conjunto com rotíferos, demonstram melhores resultados de sobrevivência (55%) e crescimento quando comparados com a utilização exclusiva de rotíferos (42% de sobrevivência) ou só de copépodes (zero de sobrevivência no dia 6 após eclosão) no protocolo de larvicultura daquela espécie (Olivotto et al., 2008).

O tratamento controle (TC), que utilizou somente rotíferos se mostrou eficiente. Este resultado mostra que é possível manter uma larvicultura com o protocolo tradicional de rotíferos e *Artemia*,

porém com um crescimento mais lento. O tratamento controle foi realizado com seis repetições e teve uma variação de 13,2% até 52,5% entre a pior e a melhor sobrevivência. Meirelles et al. (no prelo) trabalhando com larvas de *E. figaro* alimentadas com *Brachionus* sp e *Artemia* sp., obtiveram a melhor sobrevivência com 30,6% até a metamorfose. Shei (2008), em condições de larvicultura similares, obteve a melhor sobrevivência de 20% também até a metamorfose, com a mesma espécie.

Analisando os dados da tabela de alimento residual (tabela 1) no tratamento B podemos dizer que as larvas de neon gobi têm uma preferência em predação náuplios de copépodes, em relação aos rotíferos, considerando que a quantidade residual deste primeiro foi significativamente menor em cinco, dos dez dias de cultivo. É possível observar também, que o consumo dos náuplios de copépodes selvagens já inicia no dia 1 após a eclosão. No tratamento A, não é possível afirmar se houve preferência por rotíferos ou *Euplotes* sp., a reprodução destes dois organismos no tanque pode ter mascarado o consumo destes por parte das larvas. No tratamento C, o consumo de rotíferos foi constatado a partir do dia 1 após a eclosão, quando a densidade por mililitro deste, caiu pela metade nos tanques experimentais.

A coleta de copépodes selvagens para utilização em conjunto com rotíferos representa uma ótima ferramenta para melhorar o desempenho das larviculturas de neon gobi, bem como de outros peixes ornamentais, devido ao pequeno volume de água utilizado para a produção dos mesmos, se comparado com larviculturas de peixes de corte. Mais estudos são necessários para determinar se estas larvas são capazes de aproveitar copepoditos e copépodes adultos, durante seus estágios de desenvolvimento até o desmame. O isolamento, identificação e cultivo destes copépodes em ambiente controlado, são caminhos a serem percorridos até que estes organismos possam ser incorporados definitivamente no protocolo de larvicultura.

5. Conclusão

O presente estudo deixou em evidência o potencial dos náuplios de copépodes como alimento suplementar em relação ao protocolo tradicional, o qual oferece somente rotíferos na primeira alimentação do *E. figaro*. Alimentar as larvas com uma dieta combinada de náuplios de copépodes não apenas produziu uma boa sobrevivência, como também melhorou o desempenho para o crescimento destas. A utilização dos ciliados *Euplotes* sp. não tiveram influência sobre a sobrevivência das larvas. O uso de rotíferos constitui uma boa opção para a larvicultura desta espécie, contudo as investigações com copépodes sugerem que estes organismos sejam peça chave para uma melhor larvicultura. Mais pesquisas com a alimentação de larvas com copepoditos e copépodes adultos são necessárias para determinar seu desempenho.

6. Bibliografia

Avella M.A., Olivotto I., Gioacchini G., Maradonna F. & Carnevali O. (2007) The role of fatty acids enrichments in the larviculture of false percula clownfish *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture* **273**, 87–95.

- Cheng S.H., Aoki S., Maeda, M. & Hino A. (2004) Competition between the rotifer *Brachionus rotundiformis* and the ciliate *Euplotes vannus* fed on two different algae. *Aquaculture* **241**, 331-343.
- Hagiwara A., Gallardo W.G., Assavaaree M., Kotani, T. & de Araújo A.B. (2001) Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture* **200**, 111–127.
- Holt G.J. (2003) Research on culturing the early life history stages of marine ornamental species. In: *Marine ornamental species: collection, culture and conservation* (eds. by J.C., Cato, C.L., Brown), pp. 251–254. Iowa State Press.
- Kamyama, T. (1994) The impact of grazing by microzooplankton in northern Hiroshima Bay, the Seto Inland Sea, Japan. *Mar. Biol.* **119**, 77–88.
- Kraul S. (2006) Live Food for Marine Fish Larvae. In: *L.E.C. Suárez et al. Avances en Nutrición Acuicola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. México.
- Meirelles M.E. (2007) Viabilidade do Cultivo do Neon Gobi, *Elacatinus figaro*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura - UFSC, 52p.
- Moe M.A. (1975) Propagating the neon goby, *Gobiosoma oceanops*. *Mar. Aquar.* **6** (2), 4–10.
- Moe M.A. (2003) Culture of marine ornamentals: for love, for money and for science. In: *Marine ornamental species: collection, culture and conservation* (eds. by J.C., Cato, C.L., Brown), pp. 251–254. Iowa State Press.
- Nagano N., Iwatsuki Y., Kamiyama T & Nakata H. (2000) Effects of marine ciliates on survivability of the first-feeding larval surgeonfish, *Paracanthurus hepatus*: laboratory rearing experiments. *Hydrobiologia* **432**, 149–157.
- Olivotto I., Zenobi A., Rollo A., Migliarini B., Avella M. & Carnevali O. (2005) Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. *Aquaculture* **250**, 175–182.
- Olivotto I., Holt S.A., Carnevali O. & Holt J.G. (2006a) Spawning, early development and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture* **253**, 270–278.
- Olivotto I., Rollo A., Sulpizio R., Avella M., Tosti L. & Carnevali O. (2006b) Breeding and rearing the sunrise dottyback *Pseudochromis flavivertex*: the importance of live prey enrichment during larval development. *Aquaculture* **255**, 480–487.
- Olivotto I., Capriotti F., Buttino I., Avella A.M., Vitiello V., Maradonna F. & Carnevali O. (2008) The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: effects on larval survival and growth. *Aquaculture* **274**, 347–352.
- Pandey B.D. & Yeragi S.G. (2004) Preliminary and mass culture experiments on a heterotrichous ciliate, *Fabrea salina*. *Aquaculture* **232**, 241–254.
- Sargent J.R., McEvoy L.A. & Bell J.G. (1997) Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* **155**, 85–101.
- Sargent J., McEvoy L., Estevez A., Bell G., Bell M., Henderson J. & Tocher D. (1999) Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* **179**, 217–229.
- Shei, M.R.P. (2008) Reprodução, desenvolvimento embrionário e larvicultura do “neon goby” *Elacatinus figaro* em laboratório. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Aqüicultura–FURG.28p.
- Treece G.D. & Davis D.A. (2000) Culture of Small Zooplankters for the Feeding of larval Fish. Southern Regional Aquaculture Center Publication No. 701, USA.

Tucker J.W. (1998) *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, USA.

Wabnitz C., Taylor M., Green E. & Razak T. (2003) *From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species*. Cambridge: UNEP. 64 p.

Wittenrich M.L., Turingan R.G. & Creswell R.L. (2007) Spawning, early development and first feeding in the gobiid fish *Priolepis nocturna*. *Aquaculture* **270**, 132–141.

Wood E. (2001) Collection of coral reef fish aquaria: global trade, conservation issues and management strategies. *Aquarium Sciences and Conservation* **3**, 65–77.

CONCLUSÕES GERAIS

A utilização de rotíferos é amplamente empregada em larviculturas de peixes marinhos no mundo todo. Algumas características zootécnicas fazem destes organismos bons substitutos para o zooplâncton natural. Nossos estudos confirmaram que as larvas de neon gobi aceitam bem os rotíferos em sua primeira alimentação, sendo possível melhorar o desempenho da larvicultura, com a seleção de rotíferos menores. A seleção de rotíferos com tamanho de lóricas entre 102 e 146 µm promoveu um aumento de até 10,6% na sobrevivência, analisada no dia 8 após eclosão, em relação a utilização de rotíferos com tamanho médio de lóricas de 177 µm.

Embora os rotíferos tenham contribuído enormemente com a piscicultura marinha, a identificação de novos alimentos vivos para as larvas ainda é fundamental para o desenvolvimento do cultivo de novas espécies de peixes marinhos. Na aquicultura, o protozoário ciliado *Euplotes* sp. normalmente aparece associado com a cultura de rotíferos, sendo considerado contaminante deste cultivo. Na natureza, porém, estes protozoários têm um papel vital na cadeia trófica marinha devido principalmente à sua abundância e pequeno tamanho.

Apesar de alguns trabalhos relatarem o uso deste ciliado na alimentação das larvas, poucos estudos descrevem o seu cultivo. Neste trabalho foi demonstrado que o monocultivo de *Euplotes* sp. pode ser conduzido de forma similar ao dos rotíferos, com utilização de uma dieta comercial para rotíferos (Culture Selco 3000) e fermento biológico como fonte de alimento. Já a utilização de microalga *Nannochloropsis oculata* não promove incremento na biomassa destes organismos. Também ficou em evidência a capacidade de rápida reprodução e sua alta tolerância à amônia, características que mostram o potencial deste organismo como alimento vivo.

A utilização de náuplios de copépodes no cultivo de larvas de peixes marinhos é considerada por muitos autores a primeira alimentação ideal, uma vez que estes organismos fazem parte de sua alimentação natural. Os copépodes também possuem um perfil nutricional adequado às exigências nutricionais das larvas. Em nosso trabalho, a utilização de náuplios de copépodes associada com rotíferos melhorou o crescimento (comprimento padrão) das larvas em 24,3% até o dia 10 após a eclosão e 47,5% até o dia 20 após a eclosão, em comparação com a utilização de rotíferos somente. Hoje o grande desafio das pesquisas consiste em elaborar um protocolo de cultivo massivo destes organismos. A coleta de copépodos selvagens também é muito utilizada, e, dependendo do caso, pode ser mais viável que o cultivo, como por exemplo, na larvicultura de peixes ornamentais marinhos, onde a quantidade de alimento demandada é menor quando comparada com a cultura de peixes para corte.

Através do acompanhamento reprodutivo de vários casais de *E. figaro*, deixamos registrado que a produção de ovos e larvas de casais da geração F1, formadas a partir de casais selvagens, é totalmente possível quando ofertadas as condições ideais, corroborando com outros estudos que confirmam que a propagação deste peixe é totalmente viável de se produzir em cativeiro.

Estes resultados são importantes e devem ser incorporados no pacote tecnológico produtivo da espécie e servir como fonte de pesquisa para novos estudos com esta espécie ou outros do gênero Gobiidae.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

ALBUQUERQUE-FILHO, A.C. *Análise dos dados biológicos e comerciais de peixes ornamentais no Brasil/Fortaleza*. Dissertação de Mestrado, Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 93p., 2003.

CHAPMAN, F.A.; FITZ-COY, S.A.; THUNBERG, E.M. United States trade in ornamental fish. *J. World Aquac. Soc., Baton Rouge*, v. 28, p.1-10, 1997.

CORRÊA, C.F.; CERQUEIRA, V.R.; SILVA, D.I.; TSUZUKI, M.Y. Reprodução e larvicultura do Góbideo limpador *Elacatinus figaro*. In *Aquaciência 2006*. Anais do Aquaciência 2006, 14 – 19 agosto, Bento Gonçalves, Brasil, CD ROM.

CÔRTEZ, G.de F. Produção e utilização de diferentes fontes de alimento vivo na fase inicial de larvicultura do neon gobi (*Elacatinus figaro*). Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura – UFSC, 52 p., .2009.

FAO, *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, 1998.

FIGUEIREDO, G. M.; NASH, R. D. M.; MONTAGNES, D. J. S. Do protozoa contribute significantly to the diet of larval fish in the Irish Sea? *Mar. Biol. Ass.*, v. 87, p. 843-850, 2007.

GASPARINI, J.L.; FLOETER, S.R.; FERREIRA, C.E.L. Marine Ornamental Trade in Brazil. *Biodiv. Conserv.*, v.14, p. 2883–2899, 2005.

HICKS, G.R.F; COULL, B.C. The ecology of marine meiobenthic harpacticoid copepods. *Oceanogr.Mar.Biol.Annu.Rev.*,v.21, p.67-175, 1983.

KAMYAMA, T. The impact of grazing by microzooplankton in northern Hiroshima Bay, the Seto Inland Sea, Japan. *Mar. Biol.*, v.119, p.77–88, 1994.

KRAUL, S. Live food for marine fish larvae. *Avances en Nutricion Acuicola VIII.VII Simposium Internacional de Nutricion Acuicola. 15-17 Noviembre*. Universidad Autónoma de Nuevo Leon, Monterrey, Nuevo Leon, México, 2006

MEIRELLES, M.E. *Viabilidade do Cultivo do Neon Gobi, Elacatinus figaro*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 52p., 2007.

MONTEIRO-NETO, C.; CUNHA, F.E.A.; NOTTINGHAM, M.C., ARAÚJO, M.E.; ROSA, I.L.; LEITE, G.M.B. Analysis of the marine ornamental fish trade at Ceará State, northeast Brazil. *Biodiv. Conserv.*, Holanda, v. 12, p. 1287-1295, 2003.

OSTROWSKI, A. C.; LAIDLEY, C. W. Application of marine foodfish techniques in marine ornamental aquaculture: Reproduction and larval first feeding. *Aquar. Sci. Conserv.*, v 3, p. 191–204, 2001.

PANDEY B.D.; YERAGI S.G. Preliminary and mass culture experiments on a heterotrichous ciliate, *Fabrea salina*. *Aquaculture*, v. 232, p. 241–254, 2004.

SAMPAIO, C.L.S.; ROSA, I.L. Comércio de peixes ornamentais marinhos na Bahia: passado, presente e futuro. *Boletim da SBI*, Nº 71, João Pessoa, 2003.

SARGENT, JR; MCEVOY, L.; BELL., J.G. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine larval feeds. *Aquaculture*, v. 155, p. 117-127, 1997.

SAZIMA, I.; MOURA, R.L.; ROSA, R.S. *Elacatinus figaro* sp. n. (Perciformes: Gobiidae), a new cleaner goby from the coast of Brazil. *Aqua J. Ichthyol. Aquat. Biol.*, v. 2, p. 33-38, 1996.

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

SHEI, M.R.P., *Reprodução, desenvolvimento embrionário e larvicultura do "neon goby" Elacatinus figaro em laboratório*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Aqüicultura, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 28p., 2008.

SHERR, E.B.; SHERR, B.F. High rates of consumption of bacteria by pelagic ciliates. *Nature* v.325, p.710–711, 1987.

STØTTRUP, J.G., MCEVOY, L.A. *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Blackwell Science Ltd., Oxford, UK, 318 p., 2003.

WABNITZ, C.; TAYLOR, M.; GREEN, E.; RAZAK, T. *From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species*. Cambridge: UNEP. 64 p., 2003.

WITTENRICH, M.L. *The complete illustrated breeder's guide to marine aquarium fishes*. TFH, New Jersey, 304p., 2007.

WOOD, E. Collection of coral reef fish aquaria: global trade, conservation issues and management strategies. *Aquarium Sciences and Conservation*, v.3, p.65–77, 2001.

XU, H.; SONG, W.; WARREN, A. An investigation of the tolerance to ammonia of the marine ciliate *Euplotes vannus* (Protozoa, Ciliophora). *Hydrobiologia*, v. 519, p. 189-195, 2004.

ANEXOS

Anexo 1.

Antecipação de náuplios de *Artemia* no protocolo de larvicultura do neon gobi *Elacatinus figaro* e sua influência na metamorfose das larvas

Guilherme de Freitas Côrtes, Mônica Yumi Tsuzuki

Laboratório de Piscicultura Marinha, Departamento de Aqüicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Caixa Postal 476, Florianópolis, SC 88040-970 – Brasil

Nos protocolos tradicionais de larvicultura de peixes marinhos, o início da utilização de náuplios de *Artemia* (450 – 700 μm) é indicado quando as larvas estão aptas a predar alimentos maiores que os rotíferos (80 – 340 μm). A transição de alimento vivo deve ser feita de forma gradativa, e seu início varia conforme a espécie, por exemplo, larvas de pequeno tamanho irão demorar mais para começar a predar náuplios de *Artemia*. É importante que a introdução de um alimento maior no cultivo seja ofertada no tempo certo, isto porque, existe um momento em que a utilização de rotíferos não é mais benéfica para as larvas. Este momento ocorre quando o gasto de energia que a larva utiliza para capturar o alimento não é compensado pela energia contida neste. É possível que, quando há um atraso muito grande no fornecimento da *Artemia*, as larvas atrasem seu desenvolvimento e, por conseguinte sua metamorfose para juvenil.

Para a espécie de gobideo *Elacatinus oceanops*, Wittenrich (2007) recomenda iniciar a utilização de *Artemia* 10 dias após a eclosão (DAE), com ocorrência da metamorfose entre os dias 33 e 40 após a eclosão. Outros estudos com a mesma espécie adicionam *Artemia* com 15 DAE, e relatam a metamorfose entre os dias 30 e 40 após a eclosão (OLIVOTTO et al., 2005). No protocolo inicial de larvicultura desenvolvido para a espécie *Elacatinus figaro* no LAPMAR a utilização da *Artemia* iniciou-se com 18 DAE, sendo que a obtenção de juvenis ocorreu entre os dias 30 e 44 após a eclosão (MEIRELLES, no prelo).

Com o objetivo de verificar se a antecipação na introdução de *Artemia* no protocolo de larvicultura do *E. figaro* antecipa também a transformação para juvenis, comparamos dois protocolos de cultivo: Tratamento A: início da *Artemia* no dia 12 após eclosão; tratamento B: início da *Artemia* no dia 18 após eclosão (Fig. 1 e 2).

Foram utilizadas três repetições para cada tratamento, com desovas de diferentes reprodutores. As larvas receberam diferentes zooplâncton na primeira alimentação (somente rotíferos ou, *Euplotes* combinados com rotíferos ou, náuplios de copépodes combinados com rotíferos) até a introdução de náuplios de *Artemia*. Esta primeira alimentação foi distribuída aleatoriamente entre as repetições dos dois tratamentos.

Utilizou-se náuplios de *Artemia* de linhagens super pequena (INVE, Bélgica) com tamanho próximo de 450 μm , oferecidos às larvas de neon nas densidades de 1 a 3 ind./mL. Os metanáuplios foram enriquecidos com ácidos graxos, através de dietas comerciais para enriquecimento (Super

Selco DHA, INVE), sendo ofertados nos dias 15 e 21 após eclosão nos tratamentos A e B, respectivamente, na concentração de 3 a 5 ind./mL. Os metanúplios de *Artemia* foram ofertados até os dias 28 e 34 após eclosão nos tratamentos A e B respectivamente, como mostra a figura 1 e 2. A *Artemia* (náuplios e metanúplios) foi substituída a cada 24 horas.

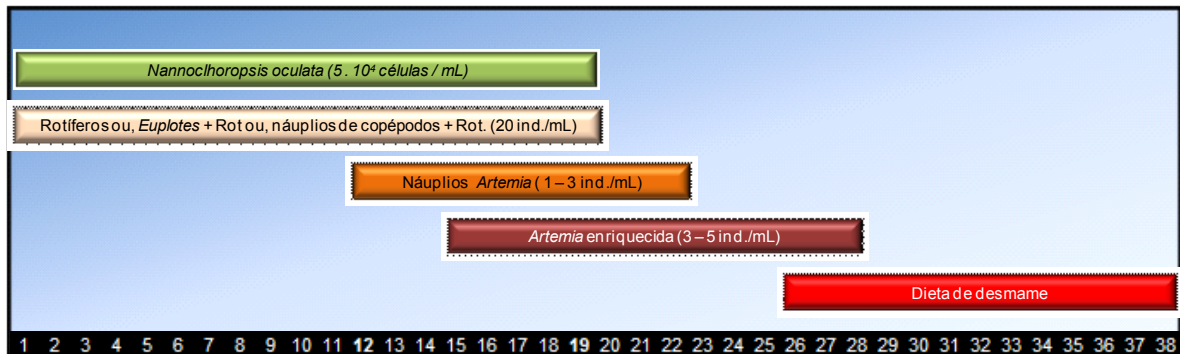


Figura 1: Protocolo alimentar do tratamento A.

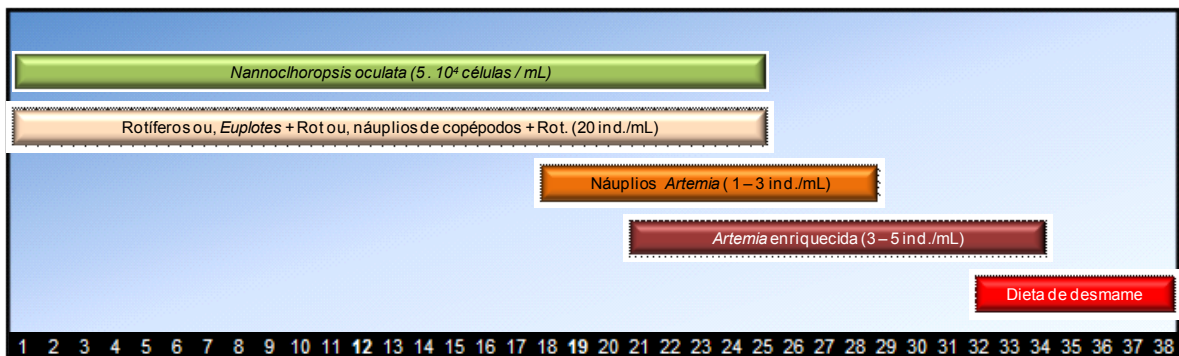


Figura 2: Protocolo alimentar do tratamento B

A metamorfose, passagem de larva para juvenil, das larvas de neon gobi é caracterizada pela mudança de comportamento natatório, de planctônico para bentônico. Também é possível perceber esta passagem, através da pigmentação do corpo, que começa a apresentar a típica coloração negra com listras amarelas, iguais aos adultos, estas características ajudam a identificar os juvenis e facilitam o acompanhamento do desenvolvimento larval.

As larvas do tratamento A começaram sua metamorfose no dia 27 ± 1 após a eclosão e completaram (100% de larvas transformadas) no dia $38 \pm 2,6$ após a eclosão. As larvas do tratamento B iniciaram a metamorfose no dia $33 \pm 1,5$ dias após a eclosão, completando a transformação no dia 48 ± 2 após a eclosão (figura 3). A comparação entre o número médio de dias entre os tratamentos para atingir a metamorfose foi analisada através de ANOVA (com $p < 0,05$).

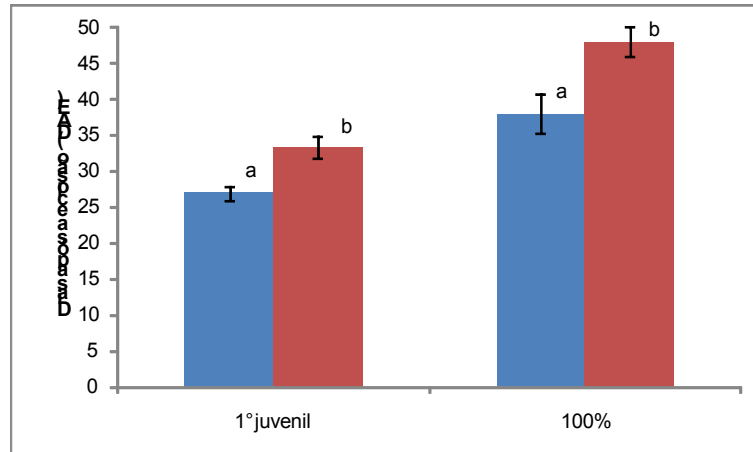


Figura 3: Média (n=3) dos tratamentos A (em azul) e B (em vermelho) para o início (surgimento do primeiro juvenil) e o fim (100% das larvas transformadas) da metamorfose. Letras indicam diferença significativa entre as médias de cada idade.

O tratamento que entrou com *Artemia* no dia 12 após a eclosão (TA) promoveu a aparição de juvenis mais cedo que o tratamento B, com diferença significativa de seis dias entre um tratamento e outro. As larvas do tratamento A, também finalizaram a transformação mais cedo que as larvas do tratamento B, com diferença significativa de 10 dias de antecipação.

Não se pode dizer ao certo, somente com este estudo, se o tempo para iniciar a metamorfose está diretamente relacionado com a introdução de um alimento maior (mais energético), mas estes dados mostram que é possível produzir bons resultados na larvicultura de *E. figaro* com a antecipação do uso de *Artemia* em seu protocolo de cultivo.

Mais estudos devem ser feitos para determinar o momento exato da introdução da *Artemia* e da ração de desmame no cultivo do neon gobi.

Anexo 2.

Acompanhamento do desempenho reprodutivo de casais selvagens e de cativoiro (geração F1) de *Elacatinus figaro*

Guilherme de Freitas Côrtes, Mônica Yumi Tsuzuki

Laboratório de Piscicultura Marinha, Departamento de Aqüicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Caixa Postal 476, Florianópolis, SC 88040-970 – Brasil

Ao longo de 11 meses de observação (entre janeiro e novembro de 2008), foram anotadas um total de 62 desovas, provenientes de 9 casais, destes quatro selvagens e cinco de geração F1, pareados durante este estudo. A postura de ovos iniciou em média com $22,0 \pm 12,5$ dias (média \pm desvio padrão) após o pareamento do casal. A temperatura foi controlada por meio de termostato-aquecedores em cada tanque, sendo mantida em 25 ± 3 °C, a salinidade ficou próxima de 32 ± 3 ppt. O fotoperíodo foi ajustado para 16 horas de luz e 8 horas de escuro. O número de ovos variou aproximadamente de 50 – 300 ovos/postura.

A obtenção de desovas de boa qualidade dos reprodutores foi uma das principais dificuldades encontradas durante período de estudos realizados. A oofagia parental foi observada com certa frequência, processo que ocorre quando existem ovos fungados, possível deficiência nutricional ou estresse. No primeiro caso, o macho remove os ovos gorados para não contaminar os outros. Na natureza, este processo também ocorre quando o casal está sob condições de estresse ambiental ou com pouca disponibilidade de alimento (ARAÚJO et al., 2004).

A oferta de um alimento adequado e um ambiente tranquilo para o casal é fundamental para a obtenção de boas desovas nos tanques dos reprodutores. Em função da baixa produtividade de ovos dos casais até meados de junho de 2008, procurou-se melhorar estes dois fatores da seguinte maneira: a alimentação foi ofertada de forma mais constante (antes era oferecida duas vezes ao dia e passou a ser ofertada três vezes), também foi acrescentada uma maior variedade de alimentos na dieta dos reprodutores (como ovas de peixe, *Artemia* adulta enriquecida e moluscos bivalves). Para diminuir o estresse no tanque do casal, o manejo de verificação das desovas passou a ser realizado uma vez ao dia, ao invés de duas. Estas medidas surtiram um rápido efeito na produtividade, aumentando o número e a qualidade das desovas produzidas: de 4 desovas em junho para, 7 em julho e 10 desovas em agosto de 2008 (figura 1).

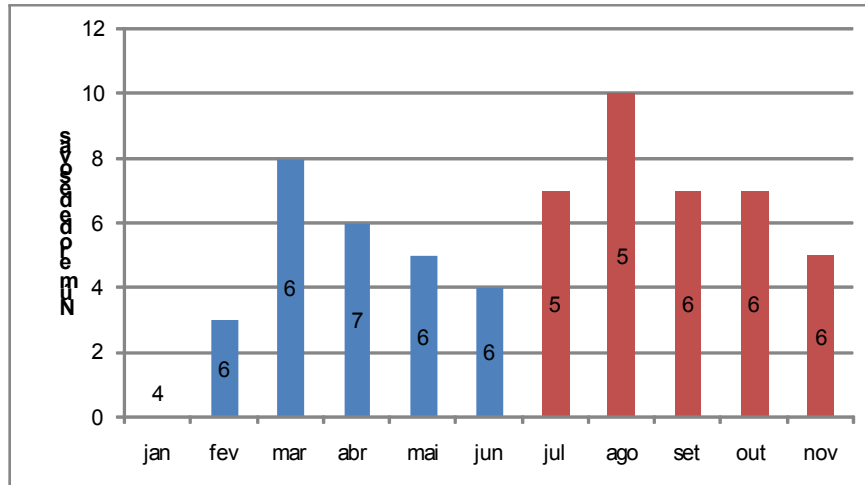


Figura 1: Número de desovas produzidas nos diferentes meses observados. As barras em azul indicam o período antes do novo manejo e as em vermelho indicam o período em que foi adotado novo manejo no tanque dos reprodutores. Números dentro das barras mostram a quantidade de casais ativos naquele mês.

Os casais mais produtivos foram o selvagem R4, que produziu 17 desovas em 11 meses de observação (uma taxa de 1,54 desovas/mês), seguido do casal geração F1 R11, que produziu 11 desovas em 8 meses (taxa de 1,37 desovas/mês), resultados apresentados na figura 2.

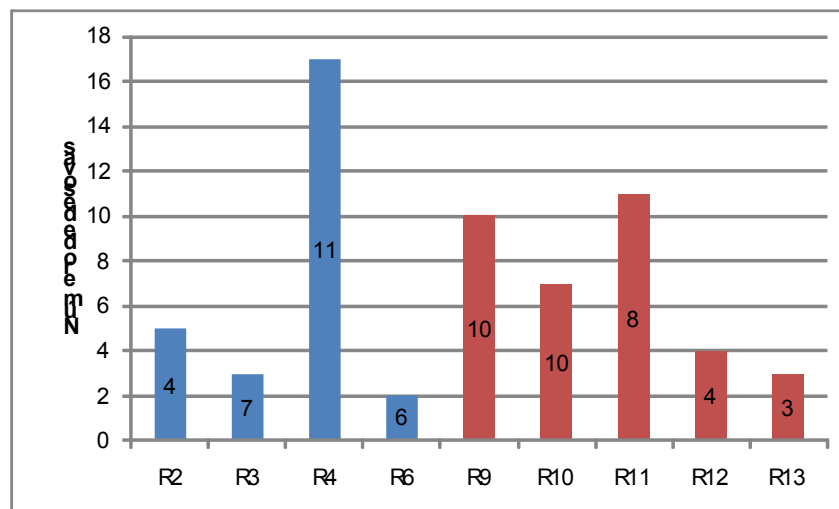


Figura 2: Número de desovas obtidas pelos diferentes casais (representados pela letra R). As barras em azul representam os casais selvagens e em vermelho casais da geração F1. Os números contidos nas barras representam a quantidade de meses que cada casal permaneceu em atividade durante os 11 meses observados.

Os casais selvagens (na figura 2 representados em barras azuis) foram formados em 2007, anterior ao estudo em questão. Destes quatro, somente o casal R4 continua ativo, os outros morreram em meados de 2008. Este acompanhamento demonstrou a viabilidade da geração F1 em reproduzir e desovar tanto quanto indivíduos selvagens. Mais pesquisas com as exigências nutricionais são necessários para elaborar uma dieta mais adequada para os reprodutores, e melhorar a qualidade das larvas. Estudos futuros lidarão com a avaliação da fecundidade, qualidade dos ovos e larvas casais produzidos em cultivo.

Anexo 3. Fotos de *Elacatinus figaro* adulto.



Foto 1: *Elacatinus figaro* adulto (foto Antônio Amaral)



Foto 2: Macho de *Elacatinus figaro* junto aos ovos, comportamento de cuidado parental (foto Ricardo Zomer)

Anexo 4. Foto de larvas e juvenil de *E. figaro*.



Foto 1: Larva de neon gobi com 0 dia após eclosão (foto Meirelles)



Foto 2: Juvenil de neon gobi com 30 dias após eclosão (foto Meirelles)

Anexo 5. Fotos de *Euplotes* sp., copépodes selvagens (náuplios e adultos) utilizados no cultivo das larvas de neon gobi.



Foto 1: Náuplio de copépode selvagem (não identificado) coletado em ambiente natural.



Foto 2: Copépode selvagem coletado e identificado como *Euterpina acutifrons*. Espécie dominante encontrada nas coletas.

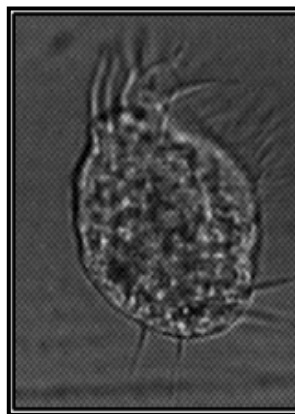


Foto 3: Protozoário ciliado, isolado de cultura de rotíferos, identificado como *Euplotes* sp.