



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

MARCIA VANACOR BARROSO

Utilização do copépodo *Acartia tonsa* para diferentes fases de desenvolvimento da larva do robalo-peva *Centropomus parallelus*

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

Orientador: Vinicius Ronzani Cerqueira

Florianópolis - 2010

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária da
Universidade Federal de Santa Catarina

B277u Barroso, Marcia Vanacor

Utilização do copépodo *Acartia tonsa* para diferentes fases de desenvolvimento da larva do robalo-peva *Centropomus parallelus* [tese] / Marcia Vanacor Barroso ; orientador, Vinícius Ronzani Cerqueira. - Florianópolis, SC, 2010.

82 p.: graf., tabs., figs.

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

Inclui bibliografia

1. Aqüicultura. 2. Peixe - Criação. 3. Larvicultura. 4. Ácidos graxos. 5. Robalo (Peixe). 6. *Acartia tonsa*. I. Cerqueira, Vinícius Ronzani. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura. III. Título.

CDU 639.3

Utilização do copépodo *Acartia tonsa* para diferentes fases de desenvolvimento da larva do robalo-peva *Centropomus parallelus*.

Por

MÁRCIA VANACOR BARROSO

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

DOUTOR EM AQUICULTURA

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

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

Banca Examinadora:

Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira – *Orientador*

Dr. Alexandre Sachsida Garcia

Dr. Evoy Zaniboni Filho

Dra. Débora Machado Fracalossi

Dr. Ronaldo Olivera Cavalli

DEDICATÓRIA

A Lysis e Cenira, Peter e Breno, pelo amor...
A Miguel, pelo silencioso e confortante amor,
ao longo da minha vida...

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Vinicius Ronzani Cerqueira, pelo apoio, colaboração científica, orientação e pela presença nos importantes momentos de decisão do desenvolvimento desta tese de doutorado.

A Professora Dra. Monica Yumi Tsuzuki, pela co-orientação quando o Professor Vinicius Cerqueira esteve no pós-doutorado na Espanha e pela ajuda durante estes anos de estudo.

Aos Professores do Departamento de Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, com os quais tive a oportunidade de estudar e que tanto auxiliaram no aprimoramento do meu saber.

Aos membros do Colegiado da Pós-Graduação em Aquicultura, que durante o período em que fui a representante dos alunos me ensinaram muito.

Aos técnicos do LAPMAR, Antônio Carlos Sayão e Israel Diniz Souza pelo constante apoio durante os experimentos e a Avair Oscar Angelo pelo apoio, quando necessário.

Aos técnicos e funcionários do LCM, LMM e LAPAD pela ajuda prestada, e em especial a Jaqueline Araújo pelo fornecimento de microalgas e a José Luiz Mouriño pela sempre presente boa vontade em ajudar.

Ao Professor Dr. Jaime Ferreira, chefe do Laboratório de Moluscos Marinhos, pela doação das microalgas marinhas utilizadas nos experimentos.

Aos Professores Edegar Andreatta e Elpídio Beltrame (in memoriam) pelo auxílio na captura, desova induzida e fertilização do robalo-flecha no Rio Itapocu e Fazenda Yakult.

A Carlito Klunk por todo o apoio ao longo da nossa convivência na pós-graduação.

A Pesquisadora Rosemar Antoniassi da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos pelo aprimoramento dos métodos e realização das análises de ácidos graxos do zooplâncton e larvas de robalo, fundamentais para a discussão desta tese.

A Pesquisadora Sônia Coury pela amizade e apoio na intermediação dos contatos junto ao Laboratório de Óleos Graxos da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação, em especial a Cristina Vaz Avelar de Carvalho, Eduardo Ferraz, Neiva Braun, Isabel Portugal, Danielle Pedrociani e Juliano Guarizi pela amizade e apoio nas disciplinas e experimentos; e a Wanessa de Melo Costa pela ajuda na formatação desta tese.

A Luciano Willadino Andrade de Oliveira, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelos auxílios na captura e manejo dos copépodos durante o período em que esteve em treinamento na Universidade Federal de Santa Catarina.

Aos alunos de graduação do Curso de Engenharia de Aquicultura Gabriel Passini e João Henrique Vargas pelo apoio no LAPMAR.

A Jorge de Paula e Lisia Vanacor Barroso pela revisão de português da tese de doutorado.

Ao INCAPER, Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, pela liberação de minhas atividades técnico-científicas para esta formação.

A FAPES, Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo, pela bolsa de estudos para cursar o doutorado.

A meus pais, Lysis Valle Barroso e Cenira Vanacor Barroso por sempre apoiarem a minha carreira profissional.

A meus filhos, Peter Boos e Breno Boos, por suportarem as constantes ausências durante meu crescimento profissional. E a Peter pelo apoio na arte final da apresentação oral e escrita desta tese.

Ao Biólogo Miguel Boos, meu eterno companheiro, pela grande paciência nos ensinamentos quando eu era uma jovem estagiária, que até hoje trago comigo e que tanto me auxiliaram ao longo da minha vida profissional.

RESUMO

O robalo-peva *Centropomus parallelus* é um peixe marinho de águas costeiras com importância econômica. Este trabalho testou o copépodo como alimento vivo para a larva de robalo-peva. Foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis). Foram três tratamentos e três ou quatro repetições e utilizou rotíferos (rot) *Brachionus rotundiformis* e *B. plicatilis*, copépodos (cop), predominando *Acartia tonsa* e *Artemia* sp. (art) isolados ou combinados, em larvas até 14 dias, de 15 a 27 dias e de 31 a 45 dias. Sobrevivência, crescimento, índices de desenvolvimento e o perfil de ácidos graxos foram avaliados. Para comparar as diferenças entre as médias utilizou-se teste de Tukey com nível de significância de $\alpha = 0,05$. Para as larvas de 0-14 dias o Tratamento Misto (rot + cop) foi significativamente superior para sobrevivência ($16,0 \pm 7,5$ %), peso médio ($0,84 \pm 0,05$ mg) e desenvolvimento ($\cong 70\%$). Os resultados das larvas de 15-27 dias foram significativamente melhores para sobrevivência ($10,5 \pm 5,5$ %) e peso médio ($5,83 \pm 0,85$ mg) no Tratamento 3 (rot + cop + art). Já para as larvas de 31-45 dias os resultados foram significativamente melhores com artemia. Concluiu-se que o uso do copépodo melhorou o desenvolvimento das larvas do robalo-peva em estágio inicial, podendo ser utilizado em larvas até 30 dias.

Palavras chave: piscicultura marinha, larvicultura, crescimento, sobrevivência.

ABSTRACT

The fat snook *Centropomus parallelus* is a marine fish of coastal areas with economic importance. This study was aimed to carry out a fat snook hatchery using copepod as live feed. It was carried out at the Marine Fish Laboratory (Universidade Federal de Santa Catarina - Florianopolis). There were three treatments and three or four replicates and it tested rotifer (rot) *Brachionus rotundiformis* and *B. plicatilis*, copepod (cop) predominantly *Acartia tonsa* and *Artemia* sp. (art) as live feed isolated or combined, in larvae from hatching to day 14, from day 15 to 27 and from day 31 to 45. Survival, growth, development indices and fatty acid profile were evaluated. Tukey's multiple comparison test was used to compare differences with significance was set at $\alpha = 0.05$. For the larvae of 0-14 days the Mixed Treatment (rot + cop) it was significantly higher for survival ($16.0 \pm 7.5\%$), average weight (0.84 ± 0.05 mg) and development ($\cong 70\%$). Larvae of 15-27 days were significantly better for survival ($10.5 \pm 5.5\%$) and average weight (5.83 ± 0.85 mg) in the Treatment 3 (rot + cop + art). For the larvae of 31-45 days the results were significantly better with artemia. It was concluded that the use of the copepod improved the development of fat snook larvae at the beginning stages, being possible using it in larvae at up 30 days.

Key words: marine rearing culture, hatchery, growth, survival

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1 – Coletor de copépodos a) no viveiro; b) detalhe do sistema “airlift” 33
- Figura 2 – Residual diário de alimento vivo nos diferentes tratamentos, no Experimento 2; (a) Tratamento Controle; (b) Tratamento Copépodo; (c) Tratamento Misto..... 36
- Figura 3 – Sobrevivência das larvas de robalo-peva com 14 dias de idade em dois tratamentos do Experimento 1: alimentadas somente com rotíferos e alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto) 38
- Figura 4 – Peso das larvas de robalo-peva com 14 dias de idade em dois tratamentos do Experimento 1: alimentadas somente com rotíferos e alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto)..... 38
- Figura 5 – Copépodos *Acartia tonsa* cultivados. n - náuplios; c - copepodito; a - adulto 39
- Figura 6 – Peso das larvas de robalo-peva com 14 dias de idade em três tratamentos do Experimento 2: alimentadas com rotíferos, alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto) e alimentadas com copépodos..... 40
- Figura 7 – Percentual de larvas de robalo-peva com flexão da notocorda, com 14 dias de idade em três tratamentos do Experimento 2: alimentadas com rotíferos, alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto) e alimentadas com copépodos 40

CAPÍTULO II

- Figura 1 – Residual diário utilizado como alimento vivo para as larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* de 15 a 27 dias nos diferentes tratamentos, no experimento 1; (a) alimentação com rotífero e artemia; (b) alimentação com rotífero e copépodo; (c) alimentação com rotífero, copépodo e artemia..... 59
- Figura 2 – Sobrevivência das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 27 dias de idade, após 12 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Rot = rotífero; Art = Artemia; Cop = Copépodo).....62

Figura 3 – Peso das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 27 dias de idade, após 12 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Rot = rotífero; Art = Artemia; Cop = Copépodo).....62

Figura 4 – Sobrevivência das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 45 dias de idade, após 15 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Art = Artemia; Cop = Copépodo).....64

Figura 5 – Peso das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 45 dias de idade, após 15 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Art = Artemia; Cop = Copépodo).....65

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 – Médias (\pm Desvio Padrão) de peso úmido, comprimento total, fator de condição, sobrevivência e percentual com bexiga natatória formada de larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 14 dias de idade, no Experimento 2..... 39

Tabela 2 – Composição de ácidos graxos (percentagem do total de ésteres metílicos de ácidos graxos) e lipídeos totais do zooplâncton, ovos e larvas de robalo-peva alimentados com alimento vivo no Experimento 2 (g/100g) 42

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos (percentagem do total de ésteres metílicos de ácidos graxos) e lipídeos totais do zooplâncton e larvas de robalo-peva com 15 (T_0) e 27 dias nos tratamentos (g/100g)..... 63

Tabela 2 – Composição de ácidos graxos (percentagem do total de ésteres metílicos de ácidos graxos) das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 30 (T_0) e com 45 dias nos tratamentos (g/100g)..... 66

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
CAPÍTULO I.....	23
USO DO COPÉPODO <i>Acartia tonsa</i> COMO PRIMEIRO ALIMENTO DA LARVA DO ROBALO-PEVA <i>Centropomus parallelus</i>	28
Resumo.....	28
Abstract	29
1. Introdução	25
2. Material e métodos	27
3. Resultados	33
4. Discussão.....	37
5. Conclusões	47
6. Referências bibliográficas	47
CAPÍTULO II	52
UTILIZAÇÃO DO COPÉPODO <i>Acartia tonsa</i> COMO ALIMENTO VIVO E FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS PARA A LARVA DO ROBALO-PEVA (<i>Centropomus parallelus</i>) DA FLEXÃO DA NOTOCORDA ATÉ A METAMORFOSE.....	52
Resumo.....	52
Abstract	53
1. Introdução	54
2. Material e métodos	56
3. Resultados	62
4. Discussão.....	66
5. Conclusões	69
6. Referências bibliográficas	69
CONCLUSÕES GERAIS	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO	75

INTRODUÇÃO

Importância da aquicultura e da piscicultura marinha

A produção pesqueira mundial vem se mantendo estabilizada nos últimos anos em cerca de 100 milhões de toneladas e grande parte das espécies de interesse comercial está sobre-explotada ou próxima ao seu nível máximo de exploração. Neste contexto, o incremento na produção de pescados tem sido proveniente basicamente de empreendimentos de aquicultura (FAO, 2008).

A crescente demanda global de alimentos tem gerado o desenvolvimento de tecnologias no setor agropecuário, ocupando a aquicultura lugar de destaque neste segmento produtivo. Eis um dos setores em elevada expansão mundial, evoluindo de modelos rudimentares para uma atividade altamente tecnicizada, que tem produzido significativa contribuição econômica nas zonas rural e costeira, tanto para agricultores familiares e pescadores artesanais, quanto para empreendimentos empresariais.

A produção mundial de organismos aquáticos através da aquicultura cresceu de cerca de 35 milhões de toneladas em 2000 para pouco mais de 50 milhões de toneladas em 2007, gerando um incremento de 42 % nesse período (FAO, 2008). Os empreendimentos brasileiros de aquicultura cresceram de cerca de 88.000 toneladas em 1997 para mais de 270.000 toneladas em 2006 (FAO, 2008). A atividade gerou, segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura, cerca de US\$ 600 milhões de dólares em 2005 (MPA, 2005).

No desenvolvimento da aquicultura brasileira, a piscicultura marinha ainda é um ramo que demanda muitos estudos, sendo uma atividade produtiva ainda incipiente, porém com grande potencialidade. Os robalos, peixes marinhos de águas costeiras tropicais e subtropicais, enquadram-se neste contexto e foram apontados como espécies prioritárias para estudos pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (Consepa, 2004).

Caracterização dos robalos *Centropomus* sp.

Os robalos pertencem à Ordem Perciformes, família Centropomidae, sendo citadas doze espécies com ocorrência nas Américas, sendo seis no Oceano Atlântico e seis no Oceano Pacífico (Rivas, 1986). Para a costa brasileira, são identificadas quatro espécies: *Centropomus parallelus* (robalho peba, peva, corcunda); *Centropomus*

undecimalis (robalo flecha, robalão, fincado, furão); *Centropomus ensiferus* (robalo pena) e *Centropomus pectinatus* (Figueiredo e Menezes, 1985). As duas primeiras são mais abundantes. *Centropomus parallelus* é predominante nas regiões Sul e Sudeste; e *C. undecimalis*, nas regiões Norte e Nordeste do país.

No Brasil, estes peixes têm grande importância econômica e social. São pescadas cerca de 3.000 toneladas anuais ou 25% da pesca da América Latina, sendo essas capturas provenientes, basicamente, da pesca artesanal (Cerqueira, 2002). Por apresentarem alto valor comercial, eles despertam grande interesse entre pescadores e ribeirinhos que os capturam, muitas vezes, antes da primeira maturação sexual (Barroso et. al., 2005). De acordo com Couto e Guedes (1981), Gilmore et al. (1983) e Rodrigues (2005), estuários e rios são locais de eventos reprodutivos dos robalos e preferenciais para pesca através de redes de espera, de cerco e tarrafas, o que tem contribuído para a redução dos estoques naturais desses peixes.

Historicamente, a espécie mais estudada é o *Centropomus undecimalis* por apresentar maior crescimento, chegando a 24 kg (Alvarez-Lajonchere, 2004). Sua bioecologia foi pesquisada na Flórida (Gilmore et al., 1983; Tucker e Campbell, 1988), tendo predominado os meses de verão como o período de desova para esta espécie, naquela região. Foi observada grande quantidade de adultos férteis na zona nerítica durante o verão e o outono, indicando que os adultos maduros sexualmente migram para enseadas ou para a zona costeira a fim de desovar. No Brasil, foram realizados alguns estudos sobre a reprodução desta espécie. Em Pernambuco, são apontados os meses de verão como os do pico reprodutivo (Couto e Guedes, 1981). No Espírito Santo, a desova ocorre de setembro, no início da primavera, estendendo-se até o final do verão, em fevereiro (Vanacor e Aoki, 1997). Em Santa Catarina, o ciclo reprodutivo é de dezembro a fevereiro. Para normatizar o ordenamento da pesca dos robalos-flecha na barra do Rio Itapocu, municípios de Barra Velha e Araquari, no norte de Santa Catarina, o IBAMA instituiu a Instrução Normativa nº 20 (IBAMA, 2005), que, entre outras medidas, permite a pesca dos robalos com redes de emalhar de dezembro a fevereiro, com malha mínima de cento e oitenta milímetros, as chamadas “redes de robalão”. Em São Paulo, a pesca é proibida no mês de dezembro e, nos demais meses, somente podem ser capturados indivíduos com mais de 45 cm de comprimento, sendo regulamentada pela portaria IBAMA nº 2 (IBAMA, 1997). Os robalos-flecha são hermafroditas protândricos, e, portanto, tornam-se fêmeas

com comprimento padrão acima de 60 cm e idade acima de cinco anos, tamanho avantajado e de difícil manejo (Taylor et al., 2000).

A espécie *Centropomus parallelus* tem seu período reprodutivo no Espírito Santo e no sul da Bahia de março a agosto, sendo que o pico de desova ocorre de maio a julho (Barroso et al., 2005; Rodrigues, 2005). Para proteção dos robalos nesta região, existia a Portaria IBAMA nº 49-N (IBAMA, 1992), que regulamentava a pesca dos robalos no litoral e em águas interiores. Ela foi substituída pela Instrução Normativa IBAMA nº 10 (IBAMA, 2009) que, no seu artigo 1º, proíbe, anualmente, de 1º de maio a 30 de junho, o exercício da pesca de robalo, robalo branco e camurim ou barriga mole (*Centropomus parallelus*, *Centropomus undecimalis*, *Centropomus* spp.) com qualquer tipo de petrecho de pesca, no litoral e em águas interiores do estado do Espírito Santo. Embora esta instrução normativa cite as duas espécies mais abundantes, na realidade, ela só protege o robalo-peva, que tem sua migração reprodutiva confirmada neste período. Para o estado de São Paulo, a Portaria IBAMA nº 2 proíbe a captura do robalo-peva em dezembro e fixa o tamanho mínimo de 25 cm de comprimento (IBAMA, 1997). Em Santa Catarina, o robalo-peva desova de outubro a abril (Cerqueira, 2005) e não há normatização específica que proteja seus estoques naturais.

O hábito alimentar dos robalos foi descrito por Rojas (1975), Vasconcellos Filho et al. (1980), Ramos-Porto e Vasconcellos Filho (1978), Anni e Pinheiro (2009), que identificaram, através da análise do conteúdo estomacal, a sua preferência por peixes, sem seleção de espécies, e crustáceos, completando a dieta com moluscos, ovos de peixes e insetos, sendo classificados como carnívoros.

O uso dos robalos em aquicultura, segundo Cerqueira e Tsuzuki (2009), está em fase de estudos e de desenvolvimento, pois já há resultados satisfatórios em maturação, desova e larvicultura, necessitando-se, porém, otimizar as taxas de sobrevivência em todas as fases do ciclo de vida. As pesquisas com estes peixes demonstram que os mesmos aceitam o catifeiro e a alimentação à base de ração, o que permite seu uso em aquicultura (Barroso et al., 2002). Cerqueira (2002) e Silva (2003) destacam que é fundamental a continuidade dos estudos com centropomídeos para se sustentar uma produção comercial.

Embora os robalos (*Centropomus* spp.) apresentem crescimento lento quando comparados a outras espécies em aquicultura, vale salientar que são peixes de qualidade e de alto valor de mercado. Person-Le Ruyet e Noël (1982) relatam que, na costa oeste da França, o ganho de peso de dois quilos em três anos para o linguado *Scophthalmus*

maximus é considerado satisfatório, pois se consideram a oferta e a demanda na comercialização, visão que pode ser aplicada aos robalos no Brasil. Entre as espécies deste gênero, o robalo-flecha é a que apresenta melhores taxas de crescimento, atingindo 450 g em um ano de cultivo (Alvarez-Lajonchere, 2004).

Larvicultura de robalos *Centropomus* sp.

Na piscicultura marinha, o cultivo das larvas ainda é o grande gargalo, sendo considerado um fator limitante para o desenvolvimento industrial da atividade (Marte, 2003; Rajkumar e Vasagam, 2006). Atualmente, ainda não existem técnicas que permitam cultivar larvas de peixes marinhos com alimento inerte no final da fase lecitotrófica, quando terminam as reservas vitelinas, havendo, porém, variadas técnicas disponíveis de produção de alimentos vivos bem diversificados. As principais são baseadas na densidade de cultivo (intensivo, mesocosmos e extensivo) e na qualidade de água (água clara, água verde e água pseudo-verde); cada uma destas se subdivide em variáveis de acordo com a origem da água (mar aberto ou poço freático litorâneo) ou com o tipo de circuito hídrico (aberto ou com recirculação, depurado ou não). O tipo de alimentação ou de enriquecimento das presas (com fitoplâncton, alimentação artificial, emulsão rica em ácidos graxos poliinsaturados, proteínas, vitaminas) também caracteriza o cultivo e o tipo de inovação usados para simular as funções da água verde com fitoplâncton conservado em meio heterotrófico, refrigerado, congelado ou com produtos orgânicos (Divanach e Kentouri, 1999). Condições ambientais inadequadas (temperatura, fotoperíodo, intensidade de luz, coloração dos tanques, etc.) e, também, fatores como hereditariedade e nutrição influenciam o crescimento, a sobrevivência e a qualidade larval (Abellán et al., 1999).

Estudos preliminares com larvicultura de robalos, utilizando a espécie *Centropomus undecimalis*, foram realizados na década de setenta (Ager et al., 1976). Porém, havia altas taxas de mortalidade entre o 6º e o 10º dia de cultivo, até que foi inserida suplementação alimentar com zooplâncton selvagem e foi possível produzir 42 (quarenta e dois) juvenis. Alguns anos depois, Shafland e Koehl (1979) cultivaram esta espécie até alevinos com alimentação à base de zooplâncton natural, acrescido de rotíferos e artemia. Nestes estudos, observou-se também alta mortalidade em dois períodos: 4-6 dias após a eclosão, associado ao término das reservas vitelinas e ao início da alimentação exógena e 9-12 dias, relativo ao período anterior à flexão da notocorda.

Lau e Shafland (1982), continuando os estudos, foram precursores em relatar o desenvolvimento larval do robalo-flecha de larvas recém-eclodidas até juvenis de 47 dias. Descreveram ovos esféricos, com cerca de 0,7 mm, apresentando gota de óleo, córion separado e sem ornamentações. As larvas eclodem com comprimento entre 1,4 e 1,5 mm, e, 36 horas após, os olhos vão se tornando pigmentados, inicia-se o desenvolvimento da boca, e o intestino está presente como um fino tubo. Em três dias, consomem o vitelo armazenado e tem início o processo de alimentação exógena à base de zooplâncton. Os raios das nadadeiras dorsal e anal terminam de se formar com cerca de 7 mm de comprimento, as primeiras escamas aparecem com 14 mm e um juvenil de 26 mm já sofreu metamorfose e é uma miniatura do adulto (Cerqueira, 2005).

Da década de noventa em diante, a Universidade Federal de Santa Catarina, através do Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) passou a estudar a espécie *Centropomus parallelus* para uso em aquicultura. Cerqueira et al. (1995) cultivaram larvas do robalo-peva em sistema intensivo de água clara até 66 dias após a eclosão. Observaram, também, como Ager et al. (1976) e Shafland e Koehl (1979), para *C. undecimalis*, uma alta mortalidade na primeira semana, obtendo-se uma taxa de sobrevivência de 10% ao final do experimento.

Seiffert et al. (2001) estudaram o crescimento, a sobrevivência e a taxa de inflação da bexiga natatória em larvas de *Centropomus parallelus* cultivadas até 14 dias de idade, recebendo rotíferos *Brachionus rotundiformis* alimentados com dietas compostas por diferentes ácidos graxos altamente insaturados. Os tratamentos não apresentaram diferenças significativas para os parâmetros analisados, embora o tratamento com enriquecimento de rotíferos com emulsão comercial tenha fornecido a melhor relação (0,5) entre os ácidos graxos essenciais (ácido docosahexaenóico e ácido eicosapentaenóico). Em tal estudo, também se observou mortalidade importante entre o 6º e o 9º dia. Moschen (2000) estudou o efeito dos ácidos graxos altamente insaturados na larvicultura do robalo-peva entre o 22º e o 45º dia. Os tratamentos foram artemia sem enriquecimento (controle), enriquecida com emulsão experimental e com emulsão comercial. Embora não tenha havido melhora significativa no comprimento e no peso das larvas, concluiu-se que o enriquecimento com ácidos graxos produziu maior biomassa, maior sobrevivência final e mais resistência ao estresse, resultando em melhores condições fisiológicas.

Cerqueira e Brugger (2001) estudaram o efeito de diferentes intensidades de luz no desenvolvimento de larvas de *C. parallelus* até 14

dias de idade, cultivadas em água verde e alimentadas com rotíferos, numa densidade inicial de 30-50 larvas/L. O trabalho mostrou significativa influência da luminosidade, e os tratamentos intermediários, entre 200 e 1.500 lx, foram os mais favoráveis.

Alvarez-Lajonchere et al. (2002a) descreveram o desenvolvimento embrionário e os primeiros estágios larvais para *C. parallelus*, verificando grande semelhança com *C. undecimalis*. A boca em *C. parallelus* torna-se funcional no 3º ou 4º dia, o saco vitelino e a gota de óleo são consumidos nos primeiros cinco dias. A insuflação da bexiga natatória ocorre por volta do 7º dia de vida, e a flexão da notocorda até o 14º dia, em temperaturas de 25 a 26 °C. As mudanças morfológicas que ocorrem nesses primeiros dias são fundamentais para assegurar a sobrevivência da larva, uma vez que a insuflação da bexiga natatória permite à larva subir e descer na coluna de água; e a flexão da notocorda torna a nadadeira caudal funcional, permitindo o deslocamento na horizontal, fornecendo, assim, autonomia na natação e, conseqüentemente, na capacidade de capturar presas.

Quanto ao sistema digestório, o desenvolvimento ontogenético ainda não está bem estudado, mas estima-se que o estômago esteja totalmente formado com cerca de 30 dias, quando o robalo-peva passa a se alimentar com dieta inerte (Alves Jr. et al., 2006). A ausência de um estômago funcional neste primeiro mês de vida demonstra uma limitação na capacidade digestiva e, conseqüentemente, restrição do uso de dietas artificiais, que devem ser introduzidas num período correto de co-alimentação com presas vivas.

O aprimoramento das técnicas para larvicultura de centropomídeos foi relatado por Alvarez-Lajonchere et al. (2002a, 2002b), que descreveram o protocolo de manejo ambiental e programação alimentar para o cultivo de larvas de *C. parallelus*, adaptado das técnicas descritas por Cerqueira et al. (1995). Dando seqüência a estes estudos, no final dos anos noventa, Alvarez-Lajonchere et al. (2004) conseguiram obter produção massiva de juvenis de *C. parallelus* cultivados em 88 dias, despesando 35.000 indivíduos com comprimento de $57,6 \pm 0,1$ mm e peso de $2,11 \pm 0,12$ g, e 25,5% de taxa de sobrevivência. Os ovos foram postos para eclodir em água contendo a microalga *Nannochloropsis oculata*. Foi mantida a adição algal até 31 dias após a eclosão. As larvas foram alimentadas com rotíferos enriquecidos com emulsão de óleo do 3º ao 36º dia e artemia enriquecida com emulsão comercial do 22º ao 60º dia. O desmame (início do alimento inerte) começou aos 45 dias com utilização de dieta seca com 50% de proteína bruta. A fase de berçário foi de 43 dias e os peixes apresentaram uma conversão

alimentar de 1,17. Não foram observados nado errático, falência, paralisia, morte instantânea ou qualquer outro sinal de estresse ao longo do cultivo. Este trabalho tem grande importância, pois o robalo-peva foi cultivado em escala piloto com sucesso e demonstrou a viabilidade técnica para uma larvicultura de produção comercial.

Absorção de nutrientes pelas larvas de peixes marinhos

A produção em massa de larvas e juvenis de peixes marinhos de boa qualidade ainda é feita com dificuldades, e os aspectos nutricionais são apontados como o principal entrave. Ao se compararem adultos e larvas de peixes, foram observados os mecanismos morfológicos e fisiológicos, bem como as taxas de digestão e de assimilação, que apontam para diferenças nas exigências nutricionais entre as duas idades. A fisiologia da nutrição durante o cultivo ainda não é bem conhecida para fornecer o suporte necessário ao entendimento das reais necessidades nutricionais das larvas (Dinis et al., 1999).

Izquierdo et al. (2000) relataram que, para a maioria das larvas de peixes marinhos, conforme o desenvolvimento do sistema digestório, o número de microvilosidades aumenta e o estômago vai aprimorando suas funções. Conseqüentemente, ocorre uma maior eficiência na digestão e na absorção de nutrientes. Citam, como importante forma de absorção de proteínas, a pinocitose que ocorre no epitélio do reto. Devido a uma menor complexidade do sistema digestório das larvas, seria esperado que estas tivessem menor eficiência digestiva que peixes adultos. Entretanto, estudos com o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) e o linguado (*Scophthalmus maximus*) verificaram que enzimas digestivas como lipase e esterase estão presentes desde o início da alimentação exógena (Morais et al., 2007).

A absorção de lipídeos em peixes é semelhante a dos mamíferos. Depois da hidrólise no lúmen, a gordura da dieta entra nas células epiteliais do intestino por difusão sob a forma de micelas dos monoglicerídeos e ácidos graxos. Reacilação ocorre de duas formas: 1) Os monoglicerídeos seguem para o retículo endoplasmático liso para síntese de triglicerídeos; e 2) O L- α -glicerofosfato age em ambos os retículos endoplasmáticos liso e rugoso para síntese de triglicerídeos e fosfolipídeos. Os lipídeos absorvidos são finalmente descarregados como partículas em uma submucosa como lipoproteínas de baixa densidade (Izquierdo et al., 2000).

Enzimas proteolíticas estão localizadas em três diferentes partes do trato digestório: estômago, pâncreas e intestino. Segundo Chen et al.

(2006), o estômago do olhete (*Seriola lalandi*) produz a pepsina, que, porém, só começa a ser produzida no final do desenvolvimento da larva, quando a mesma já está no final do desenvolvimento ontogenético. Este órgão não é diferenciado na eclosão e seu desenvolvimento é progressivo durante a vida da larva e a secreção da pepsina tem sido associada com o processo de morfogênese, isto é, a transição da larva para juvenil.

O epitélio intestinal é responsável pela digestão terminal nos vertebrados. A enzima peptídeo hidrolase intestinal é encontrada em dois locais: citosol e nas microvilosidades das membranas dos enterócitos. As principais enzimas do citosol dos enterócitos são dipeptidase e tripeptidase, completando a hidrólise protéica pela redução de peptídeos em aminoácidos livres e são expressas em enterócitos imaturos nas primeiras três semanas de vida de larvas de peixes temperados. Quando a maturação dos enterócitos ocorre, a atividade das enzimas do citosol descrece concomitantemente com o desenvolvimento de enzimas como a fosfatase alcalina e aminopeptidase, localizadas nas microvilosidades dos enterócitos (Zambonino Infante e Cahu, 2007).

Como os peixes carnívoros têm uma habilidade limitada para utilizar carboidratos da dieta como energia, os lipídeos são uma fonte de energia bastante eficaz para este grupo de peixes. A qualidade e quantidade de lipídeos dietários disponíveis são essenciais, pois estes estão entre os principais fatores nutricionais que afetam o desenvolvimento das larvas. Em estudos com a pescada-vermelha (*Sciaenops ocellatus*) houve maior crescimento quando foram alimentadas com uma dieta contendo mais lipídeos e menos carboidratos, com relação a outras dietas isoenergéticas. E em dietas com elevada quantidade de lipídeos, observou-se um aumento no depósito de lipídeos nos músculos, fígado e cavidade visceral (Gatlin, 1996).

Lipídeos

Lipídeos são um grande grupo com componentes heterogêneos, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. São divididos em duas classes: lipídeos neutros, solúveis em solventes não polares e lipídeos polares. Os principais lipídeos neutros em peixes são os triacilgliceróis (triglicerídeos), ceras e esteróides. Triacilgliceróis e ceras são importantes fontes de armazenamento de energia, enquanto os esteróides têm função estrutural nas membranas celulares. Triacilgliceróis são a classe mais abundante em peixes e são formadas

de três moléculas de ácidos graxos esterificados de três grupos de álcool de glicerol (um álcool trihidratado). Ceras são muito abundantes no zooplâncton marinho e consistem de uma molécula única de ácidos graxos esterificados numa molécula única de álcool graxo. Esteróides são compostos de hidrocarbonetos tetracíclicos e o mais comum é o colesterol (Yanes-Roca, 2006).

Fosfolipídeos são lipídeos polares com função estrutural nas membranas celulares dos animais. Influenciam várias funções de membranas incluindo trocas iônicas e transporte, endocitose e exocitose, atividades de membrana associadas a sítios receptores e enzimas, dentre outras (Ibeas et al., 1997).

Com exceção do colesterol, a unidade básica de todas as classes de lipídios mencionadas é o ácido graxo, que pode ser classificado em saturados (SFA), os quais não possuem nenhuma dupla ligação na sua cadeia de carbono; monoinsaturados (MUFA), que contêm uma dupla ligação; e ácidos graxos polinsaturados (PUFA), tendo mais que uma dupla ligação (Lehninger et al., 1995).

Importância dos ácidos graxos polinsaturados para os peixes

As larvas de peixes marinhos necessitam de três ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (PUFA) para obter crescimento normal: ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e ácido araquidônico (ARA, 20:4n-6) e estes precisam estar disponíveis na dieta (Sargent et al., 1999b). As funções bioquímicas e fisiológicas destes três ácidos graxos nos peixes têm duas categorias: uma é que o DHA é envolvido na manutenção da estrutura e integridade funcional da membrana biológica devido a sua conformação única, a qual permite rápidas mudanças na estrutura das proteínas de membrana. A segunda é relacionada aos PUFA C20, tais como o EPA e ARA, que representam precursores dos eicosanóides, um grupo de hormônios de grande atividade biológica que inclui prostaglandinas, leucotrienos e ácidos hidroxieicosatetraenóicos (Plante et al., 2007). A produção de eicosanóides é associada a situações de excessivo estresse, onde uma grande produção de eicosanóides é correlacionada com condições patológicas (Sargent et al., 1999a). Em peixes marinhos, o DHA e o EPA são os mais importantes ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs) das membranas celulares (Castell et al., 1994). Consequentemente, os tecidos dos peixes em geral têm maiores concentrações de DHA e EPA que de ARA e por isso maiores demandas de n-3 HUFA. Como crescimento e sobrevivência de larvas de peixes

são altamente dependentes da aquisição dos ácidos graxos essenciais (EFA) para incorporação de fosfolípidos na membrana, a dieta deve conter uma boa relação entre estes ácidos graxos e os copépodos são um bom veículo de fornecimento de tais nutrientes.

Importância dos copépodos nas larviculturas de peixes marinhos

O sucesso do cultivo das larvas de peixes marinhos é altamente influenciado pelo regime alimentar e qualidade nutricional da primeira dieta, sendo os lípidos um dos mais importantes fatores nutricionais que afetam crescimento e sobrevivência (Watanabe et al., 1983). A produção de alimento vivo de qualidade é condição fundamental para um bom desempenho larval, uma vez que estas têm uma capacidade digestiva limitada. Por isso, as larviculturas intensivas de peixes marinhos são altamente dependentes da produção de rotíferos (*Brachionus plicatilis* e *Brachionus rotundiformis*) e de *Artemia* sp. como fonte de alimento vivo, pois as técnicas de produção já estão bem dominadas. Porém, segundo Lavens e Sorgeloos (1996), Stottrup et al. (1999) e Knuckey et al. (2005), estes organismos são deficientes em ácidos graxos polinsaturados (PUFA), essenciais ao desenvolvimento sadio das larvas, necessitando de prévio enriquecimento com emulsões lipídicas.

Os copépodos, por sua vez, são a principal fonte de alimento para larvas de peixes marinhos no ambiente natural e apresentam superioridade nutricional já bem conhecida em relação a rotíferos e a náuplios de artemia (Stottrup e Norsker, 1997). A espécie calanoide *Acartia tonsa*, com ocorrência no Atlântico, é utilizada de forma experimental como alimento vivo nas larviculturas de peixes marinhos. Segundo Schipp (2006) e Stottrup et al. (1999) os copépodos são uma rica fonte de antioxidantes naturais, como os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), fornecendo uma boa relação dos ácidos docosahexaenoico (DHA), 22:6n-3 e eicosapentaenoico (EPA), 20:5n-3.

Os níveis de ácidos graxos em copépodos variam em função da dieta e, com frequência, refletem a composição de lipídios das algas utilizadas como alimento, que variam entre os grupos taxonômicos, o estágio de desenvolvimento da cultura de algas e o estágio de desenvolvimento dos copépodos (Stottrup, 2003). Além do aspecto nutricional, outra vantagem dos copépodos é o seu amplo espectro de tamanhos, ideal para pequenas larvas de peixes marinhos como os centropomídeos, os serranídeos e os lutjanídeos (Marte, 2003, Schipp et al., 1999).

Justificativa

A presente tese de doutorado tem como justificativas para sua execução:

- A importância econômica e social dos centropomídeos no Brasil e o fato dos estoques naturais estarem próximos a sobre-exploração, podendo a aquicultura minimizar este impacto negativo.
- A larvicultura dos *Centropomus* sp. em escala comercial ainda ser um entrave, pois devido às baixas taxas de sobrevivência há pouca disponibilidade de juvenis para a criação de robalos.

Objetivos

Os experimentos realizados tiveram como objetivo geral:

- Testar a hipótese de que a adição de copépodos à dieta das larvas fornece melhor composição de ácidos graxos e propicia melhores taxas de crescimento e sobrevivência para as larvas do robalo-peva *Centropomus parallelus*, utilizando diferentes combinações de alimentos vivos, testados em diferentes idades larvais, visando contribuir para a geração de resultados numa linha de pesquisa da piscicultura marinha que é prioritária para o desenvolvimento da atividade.

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Utilizar diferentes combinações de zooplâncton, na dieta de larvas de *Centropomus parallelus*, visando obter o melhor desempenho zootécnico nas diferentes idades;
- Isolar copépodos do ambiente natural e cultivá-los como alternativa alimentar de larvas de *Centropomus parallelus*;
- Comparar o crescimento e sobrevivência das larvas de *Centropomus parallelus* com diferentes combinações de zooplâncton, utilizando rotíferos, copépodos, artemia e tratamentos mistos; e avaliar os níveis de ácidos graxos no zooplâncton e nas larvas.

Os artigos que compõem esta tese de doutorado seguiram as normas da Revista científica Aquaculture para a qual serão submetidos os dois trabalhos para publicação.

CAPÍTULO I

USO DO COPÉPODO *Acartia tonsa* COMO PRIMEIRO ALIMENTO DA LARVA DO ROBALO-PEVA *Centropomus parallelus*

Marcia Vanacor Barroso, Cristina Vaz Avelar de Carvalho, Antônio Carlos Sayão, Rosemar Antoniassi, Vinicius Ronzani Cerqueira

Resumo

Os primeiros dias da larvicultura do robalo-peva *Centropomus parallelus* são críticos, pois ocorrem drásticas mudanças morfofisiológicas. O sistema digestório é rudimentar e as larvas necessitam ingerir alimento vivo. Os copépodos são uma rica fonte nutricional e constituem a dieta de larvas de peixes marinhos na natureza. O estudo foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha (UFSC, Florianópolis, Brasil) e testou o uso de copépodos como alimento para larvas da eclosão até 14 dias em dois experimentos. Copépodos foram coletados na Lagoa da Conceição e cultivados em laboratório, com microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*. Os experimentos ocorreram em nove tanques redondos de 50 L, estocados com 2.500 ovos fertilizados em três tratamentos e três repetições. Utilizou-se rotíferos (rot) *Brachionus rotundiformis* e *B. plicatilis* e copépodos (cop), predominando *Acartia tonsa*, isolados ou combinados. Sobrevivência, crescimento, formação de bexiga natatória e flexão da notocorda, e o perfil de ácidos graxos foram avaliados. Para comparar as diferenças entre as médias utilizou-se teste de Tukey com nível de significância de $\alpha = 0,05$. No Experimento 1, o Tratamento Misto (rot + cop) foi significativamente superior para sobrevivência ($16,0 \pm 7,5$ %) e peso médio ($0,84 \pm 0,05$ mg). No Experimento 2 houve diferença significativa entre os Tratamentos Misto e Copépodo ($\cong 70\%$) e Controle ($\cong 8\%$) para larvas com flexão da notocorda. Para o perfil de ácidos graxos os ovos de robalo apresentaram uma relação DHA:EPA:ARA de 11,4:2,4:1,0 e as larvas dos Tratamentos Copépodo e Misto de 5,5:1,9:1,0 e 2,5:1,9:1,0, respectivamente. Este estudo conclui que a utilização do copépodo melhorou o desenvolvimento das larvas de robalo em estágio inicial e sugere uma relação DHA:EPA:ARA entre 10,0:2,0:1,0 e 5,0:2,0:1,0.

Termos de indexação: Larvicultura, peixes marinhos, lipídeos, ácidos graxos.

CHAPTER I

USE OF THE COPEPOD *Acartia tonsa* AS FIRST FEEDING FOR FAT SNOOK (*Centropomus parallelus*) LARVAE

Marcia Vanacor Barroso, Cristina Vaz Avelar de Carvalho, Antônio Carlos Sayão, Rosemar Antoniassi Vinicius Ronzani Cerqueira

Abstract

The first days of development of the fat snook *Centropomus parallelus* are critical, because it occur drastic morphophysiological changes. The digestive system is rudimentary and the larvae need to ingest live feed. The copepods are a rich nutritional source and are the diet of the marine fish larvae in the nature. The study it was carried out at the Marine Fish Laboratory (UFSC, Florianopolis) and tested the use of the copepods as live feed for larvae from hatching to day 14 in two experiments. Copepods were collected in Lagoa da Conceição and cultured in the laboratory, with the microalgae *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis galbana*. The experiments were done in nine round tanks of 50 L, stocked with 2,500 fertilized eggs in three treatments and three replications. It used rotifers (rot) *Brachionus rotundiformis* and *B. plicatilis* and copepods (cop), predominantly *Acartia tonsa*, isolated or combined. Survival, growth, functional swim bladder and notochord flexion, and the fatty acid profile were evaluated. Tukey's multiple comparison test was used to compare differences with significance was set at $\alpha = 0.05$. In the Experiment 1, Mixed Treatment (rot + cop) was significantly higher for survival ($16.0 \pm 7.5\%$) and average weight (0.84 ± 0.05 mg). In Experiment 2 there was significant difference between the Mixed and Copepod Treatments ($\cong 70\%$) and Control ($\cong 8\%$) for larvae with notochord flexion. For the fatty acid profile of snook eggs showed a ratio DHA:EPA:ARA of 11.4:2.4:1.0 and the larvae of Copepods and Mixed Treatments of 5.5:1.9:1.0 and 2.5:1.9:1.0, respectively. This study concludes that use of the copepod improved the development of snook larvae at its initial stage and suggests a ratio DHA:EPA:ARA between 10.0:2.0:1.0 and 5.0:2.0:1.0.

Index terms: Larviculture, marine fish, lipids, fatty acid.

1. Introdução

Na piscicultura marinha, o cultivo das larvas ainda é o principal fator limitante para o desenvolvimento industrial da atividade, o que é válido para espécies do gênero *Centropomus*, mas também para diversas outras, como garoupas (*Epinephelus septemfasciatus* e *E. marginatus*) (Liao et al., 2001; Sakakura et al., 2007; Russo et al., 2009), robalo asiático (*Lates calcarifer*) (Rajkumar e Vasagam, 2006), olhetes (*Seriola lalandi*) (Chen et al., 2006) e vermelhos (*Lutjanus analis*) (Watanabe et al., 1998; Benetti et al., 2002).

Uma das razões que impedem a produção em massa de larvas de espécies marinhas é o pequeno conhecimento da sua fisiologia, o qual poderia fornecer o suporte necessário ao entendimento das suas exigências nutricionais (Dinis et al., 1999). As larviculturas de peixes marinhos geralmente apresentam altas mortalidades nos primeiros dias de cultivo devido à fragilidade das larvas nos primeiros estágios de desenvolvimento. Há uma grande demanda energética e proteica para mudanças morfológicas importantes como: formação de boca e ânus, pigmentação dos olhos, bexiga natatória, nadadeiras, escamas e demais órgãos do sistema digestório, dentre outras (Alvarez-Lajonchere et al., 2002a; Chen et al., 2006; Yúfera e Darias, 2007). A falta de atendimento às reais exigências nutricionais ocasionam grandes mortalidades em diferentes grupos como centropomídeos, lutjanídeos e serranídeos (Watanabe et al., 1998; Alvarez-Lajonchere et al., 2002b; Marte, 2003).

O robalo-peva (*Centropomus parallelus*), uma espécie de grande importância econômica e social nas águas quentes do litoral Atlântico das Américas (Rivas, 1986) tem sido estudado para uso em aquicultura (Cerqueira e Tsuzuki, 2009). Desde os primeiros ensaios de larvicultura (Cerqueira, 1995; Cerqueira et al., 1995; Seiffert et al., 2001; Cerqueira e Brugger, 2001), altas taxas de mortalidade foram observadas durante a primeira semana de vida, resultando em sobrevivências abaixo de 10% ao final de 15 dias, quando as larvas se encontram na fase de flexão de notocorda. Após essa fase, a mortalidade costuma diminuir significativamente, portanto o período mais crítico, sobre o qual são necessários ainda mais estudos, é o que vai do início da alimentação exógena até a flexão da notocorda.

A maioria das larvas de peixes marinhos só tem estômago funcional após inúmeras mudanças morfológicas e fisiológicas, pois o

desenvolvimento do sistema digestório é bastante espécie-específico e pode levar de 15 a 45 dias de vida ou mais, quando geralmente passam a ser alimentadas com dietas artificiais (Chen et al., 2006; Plante et al., 2007; Conceição et al., 2007). Portanto, as larviculturas intensivas de peixes marinhos são bastante dependentes de rotíferos (*Brachionus plicatilis* e *B. rotundiformis*) e de *Artemia* sp. como alimento vivo, pois suas técnicas de produção já estão bem dominadas. Porém, estes organismos são deficientes em ácidos graxos polinsaturados (PUFA), essenciais para as larvas, necessitando de prévio enriquecimento com emulsões lipídicas (Lavens e Sorgeloos, 1996; Stottrup et al., 1999; Knuckey et al., 2005).

Os copépodos, por sua vez, são o principal alimento de larvas de peixes marinhos no ambiente natural e apresentam maior valor nutricional que rotíferos e náuplios de artemia (Stottrup e Norsker, 1997). A dieta ideal para larvas deve considerar o próprio ovo de peixe ou o saco vitelino da larva, que tem composição e conteúdo lipídico similares a larvas alimentadas com copépodos do zooplâncton natural (Sargent et al., 1999b). Os copépodos são uma rica fonte de nutrientes essenciais, sobretudo os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), como o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) e o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) (Stottrup et al., 1999). A concentração de HUFA nos copépodos varia em função da dieta e, frequentemente, reflete a composição de lipídios das microalgas das quais se alimentam. Além do aspecto nutricional, outra vantagem dos copépodos é o seu tamanho, ideal para as pequenas larvas pelágicas de peixes marinhos. Os calanoides *Acartia* spp., por exemplo, apresentam um amplo espectro de tamanhos, pois, dos primeiros náuplios ao adulto, eles variam de 65 µm de largura e 106 µm de comprimento a 355 de largura e 965 de comprimento (Schipp et al., 1999).

Os copépodos Calanoides do gênero *Acartia* vêm sendo cultivados experimentalmente para oferta como primeiro alimento vivo, porém sua utilização em larviculturas de peixes marinhos ainda é restrita, pois não há tecnologia disponível para cultivo massivo. Sua utilização com vantagens como alimento vivo foram descritas para os vermelhos (Schipp et al., 1999), para o bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* (Stottrup, 2006), para o robalo asiático (Rajkumar e Vasagam, 2006) e para as garoupas (Marte, 2003), confirmando a superioridade desses organismos como alimento vivo.

Em função das diversas qualidades dos copépodos e da necessidade de incrementar a sobrevivência inicial no cultivo das

larvas do robalo-peva, o principal objetivo do presente trabalho foi testar o náuplio de *Acartia tonsa* como primeiro alimento, utilizando o rotífero como controle, e avaliar o desempenho zootécnico das larvas e o perfil de ácidos graxos de ambos os alimentos.

2. Material e métodos

2.1 Local do experimento e obtenção das larvas de robalo-peva

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR), da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado na Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC, que possui reprodutores de robalo-peva *Centropomus parallelus* aclimatados ao cativeiro, e onde foram realizadas as larviculturas e o cultivo de zooplâncton utilizado como alimento vivo das larvas. Estas foram obtidas através de desova induzida com hormônio, segundo a metodologia de Ferraz et al. (2002). A fertilização foi natural e os ovos foram coletados em incubadoras com volume de 200 L, com aeração constante e temperatura de 26° C. O povoamento dos tanques de larvicultura foi feito antes da eclosão das larvas.

2.2 Cultivo de fitoplâncton

As microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* foram cultivadas no Laboratório de Moluscos Marinhos da UFSC, conforme a metodologia descrita por Lourenço (2006). Foram utilizadas quando atingiram a densidade de 70×10^4 células/mL. A microalga *Nannochloropsis oculata*, cultivada no LAPMAR seguindo a metodologia de Lourenço (2006), foi utilizada na densidade de 100×10^4 células/mL.

2.3 Zooplâncton

2.3.1 Coleta e cultivo de copépodos

Copépodos selvagens foram coletados diretamente na Lagoa da Conceição e em viveiros próximos a ela, utilizando um sistema

desenvolvido neste estudo, que consiste de um balde de 20 L com janelas de tela de 200 μm , no qual um tubo de PVC com sistema “airlift” acoplado bombeou água em fluxo lento e contínuo por 24 horas (Figuras 1a e 1b). O material coletado foi concentrado diariamente, após ser filtrado em malha de 650 μm , para retirar excesso de matéria orgânica (galhos, folhas, etc...) e larvas indesejáveis; e posteriormente em 200 μm , para reter os copépodos maiores. Os copépodos (predominantemente *Acartia tonsa*) foram acondicionados num tanque cilindro-cônico de 500 L, com salinidade de 35‰ e temperatura de 26 °C, contendo *C. muelleri* e *I. galbana* na densidade de 30.000 e 60.000 células/mL, respectivamente. Posteriormente, copepoditos maiores e copépodos adultos de *Acartia tonsa* foram concentrados em um tanque cilindro-cônico de 250 L (tanque de produção), segundo a técnica desenvolvida por Bersano (2003), que continha um coletor com malha de 45 μm , onde os ovos e náuplios eram concentrados. Todos os dias pela manhã os náuplios eram removidos, contados e utilizados na larvicultura. Quando as coletas diárias atingiram 200.000 náuplios, os copépodos passaram a ser cultivados, seguindo as mesmas condições descritas acima, totalizando oito dias do náuplio recém-eclodido ao adulto. Inicialmente o cultivo foi em erlenmeyers de 3 L, com volume inicial de 500 mL, havendo um acréscimo de cerca de 100% no volume a cada dia. Após, foram transferidos para garrafas de 5 L e depois para tanques cilindro-cônicos de 37 L, com volume inicial de 10 L e aumento gradual de volume. Quando os copépodos ficaram adultos, foram transferidos ao tanque de produção.

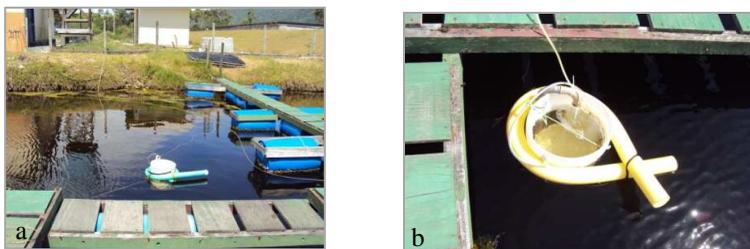


Figura 1 – Coletor de copépodos a) no viveiro; b) detalhe do sistema “airlift”

2.3.2 Cultivo de Rotíferos

Os rotíferos *Brachionus rotundiformis* e *B. plicatilis* foram mantidos no cepário do LAPMAR em banho-maria na temperatura de

28 °C, salinidade de 25‰, com água esterilizada e alimentados com *N. oculata* numa densidade inicial de 20 rotíferos/mL. Após sete dias foram transferidos para tanques cilindro-cônicos de 37 L com aeração constante, cultivados por três dias e alimentados com levedura seca (*Saccharomyces cerevisiae*; 1 g/milhão de rotíferos), microalgas *N. oculata* (100.000 células/rotífero) e Culture Selco (INVE®, Bélgica) (0,5 g/milhão de rotíferos, somente no terceiro dia). Com o incremento da biomassa foram transferidos para tanques cilindro-cônicos de 500 L. O cultivo foi mantido por três dias com densidade de 100-500 indivíduos/mL, quando foram utilizados nos experimentos de larvicultura.

2.4 Experimentos de larvicultura do robalo-peva

Experimento 1

Foi realizado em nove tanques cilíndricos com volume de 50 L, povoados com 2.500 ovos fertilizados e teve duração de quatorze dias. Foram acrescentadas 200.000 células/mL de *N. oculata* diariamente. A renovação de água começou a partir do quinto dia, com 10% do volume, e houve um acréscimo gradual diário até atingir 25% no nono dia, quando a renovação foi mantida neste percentual até o final do experimento.

Foram três tratamentos e três repetições, sendo: Tratamento 1 (Controle), larvas alimentadas com rotíferos *B. rotundiformis* e *B. plicatilis*. No início foram 3/mL, que se reproduziram nos tanques experimentais chegando a 20/mL; Tratamento 2 (Copépodo), larvas alimentadas com náuplios e copepoditos de *Acartia tonsa* selvagem e cultivado (0,03 a 0,06/mL); Tratamento 3 (Misto), larvas alimentadas com náuplios e copepoditos de *Acartia tonsa* (0,015 a 0,03/mL) e rotíferos (1,5 a 10/mL). O residual de alimento vivo (concentração de itens alimentares remanescentes após 24 horas expostos às larvas de robalo) foi contado todos os dias pela manhã, mas não foi demonstrado pois tendeu a zero durante todo o experimento. As variáveis de qualidade de água monitoradas diariamente foram: temperatura ($26,0 \pm 1,0$ °C), salinidade ($35,0 \pm 1,0$ ‰), oxigênio dissolvido ($5,4 \pm 0,4$ mg/L) e amônia não ionizada ($0,10 \pm 0,03$ mg/L). A sobrevivência e o crescimento (em comprimento total médio e em peso médio) foram quantificados.

Experimento 2

Foi realizado por um período de quatorze dias e utilizou os mesmos tanques e densidade de estocagem do Experimento 1. Para aumento quantitativo de alimento vivo nos tanques experimentais, foram povoados, junto com os ovos fertilizados (três dias antes do fim da fase lecitotrófica), o zooplâncton e o fitoplâncton que o alimenta, fornecendo condições ambientais (aeração fraca e temperatura em torno de 26° C) favoráveis ao cultivo do zooplâncton. Para que se reproduzissem nos tanques experimentais, o tratamento controle foi povoado com rotíferos (10/mL) e *N. oculata* (100.000 cel/mL), conforme protocolo de Alvarez-Lajonchere (2002a) para larvicultura de *C. parallelus*. No Tratamento 2, os copépodos (náuplios, copepoditos e adultos) foram colocados nos tanques de larvicultura junto com *C. muelleri* (30.000 cel/mL) e *I. galbana* (60.000 cel/mL). No Tratamento Misto, rotíferos (10/mL), copépodos (0,25/mL) e as três microalgas foram adicionadas nas mesmas densidades citadas anteriormente.

Os tanques possuíam abastecimento e drenagem da água (com uma tela de 120 µm na saída) individuais, embora nos primeiros quatro dias não tenha havido renovação, somente adição de microalgas. Nos dias subseqüentes a renovação foi como no Experimento 1.

O residual de alimento vivo foi monitorado diariamente pela manhã (Figura 2); (a) No Tratamento Controle o residual de rotíferos se manteve estável ao longo do experimento; (b) No Tratamento Copépodo houve grande variação na disponibilidade de copépodos como presas, chegando a zero nos 6º e 10º dias; (c) No Tratamento Misto, o residual de rotíferos foi ascendente até o sexto dia e depois declinou gradativamente, os copépodos zeraram nos dias 4, 8 e nos últimos três dias. Após esta contagem diária era adicionado alimento vivo para manutenção do residual mínimo descrito para os tratamentos.

Variáveis de qualidade de água como temperatura ($27,9 \pm 0,9$ °C), salinidade ($35,0 \pm 1,0$ ‰) e oxigênio dissolvido ($5,6 \pm 0,6$ mg/L) foram monitorados diariamente. A sobrevivência e o crescimento (em comprimento total médio e em peso médio) foram quantificados. O desenvolvimento das larvas foi avaliado pela presença ou não de bexiga natatória e flexão da notocorda, analisados em microscópio óptico durante a biometria final.

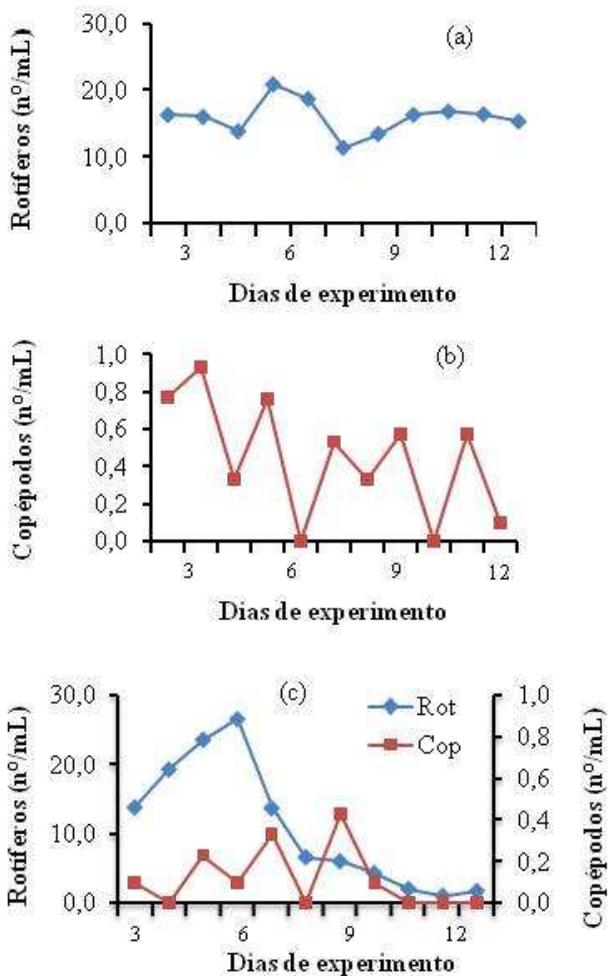


Figura 2 – Residual diário de alimento vivo nos diferentes tratamentos, no Experimento 2; (a) Tratamento Controle; (b) Tratamento Copépodo; (c) Tratamento Misto

2.5 Análises de ácidos graxos

Amostras de rotíferos, copépodos, ovos e larvas de robalo-peva com 14 dias de idade dos diferentes tratamentos foram coletados após 24 horas da última alimentação e armazenadas em frascos de vidro, lacrados e congelados a -80° C. As análises foram realizadas no Laboratório de Óleos Graxos da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, RJ. Para liberação do conteúdo das células, o material foi exposto por dois minutos a um sonicador (Branson Sonifier 250 selecionado em out put control, micro tip unit 7, Duty cycle 30).

Foi aplicada a metodologia de Bligh & Dyer (1959) para extração de óleos, utilizando como solventes clorofórmio, metanol e água na proporção inicial de 1:2:0,8, e, em seguida, 2:2:1,8 para separar as fases. Adicionou-se padrão interno triglicérido triundecanoico (C11) de mais baixo teor. O óleo foi filtrado em papel de filtro e sulfato de sódio, armazenado em balão de 250 mL e levado ao rotaevaporador (Büchi 461 Water Bath) a 40° C por 10 minutos, para a evaporação do solvente e adicionado 0,5 mL de acetona e nitrogênio gasoso para eliminar água.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram preparados com o método de Hartman e Lago (1973), onde se adiciona aos lipídeos 2,5 ml de potassa metanólica 0,5 N e condensa-se por 4 minutos, quando então, adiciona-se o reagente de esterificação por 3 minutos. Num funil de decantação adicionam-se 15 mL de éter etílico e 25 mL de água destilada que separa as fases. No éter etílico ficam os ácidos graxos, onde é adicionada a solução de diluição. As amostras foram analisadas em cromatógrafo gasoso (Agilent Technologies 6890N) com injetor automático, temperatura de detecção de 280 graus, para identificação dos ácidos graxos sob a forma de ésteres metílicos. Os ácidos graxos polinsaturados foram comparados com os padrões PUFA 1 Marine source e PUFA 3 Menhaden oil da Supelco. A partir das áreas de ácidos graxos obtidas na cromatografia gasosa, foram calculados os pesos de cada ácido graxo por amostra e em g/100g de amostra. As análises foram realizadas em amostras de duas ou três repetições.

2.6 Análise estatística

Para todos os parâmetros avaliados nas larvas (sobrevivência, peso, comprimento, fator de condição, bexiga gasosa e flexão da notocorda), foram realizadas análises de variância, sendo antes confirmadas a homocedasticidade das variâncias e a normalidade da distribuição dos dados. Havendo diferenças significativas entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$), foi aplicado o teste de Tukey HSD para a separação de médias. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software STATISTICA versão 6.0.

3. Resultados

Experimento 1

O Tratamento Misto apresentou sobrevivência ($16,0 \pm 7,5$ %) e peso médio ($0,84 \pm 0,05$ mg) significativamente superiores ao Tratamento Controle ($5,0 \pm 5,2$ % e $0,71 \pm 0,02$ mg, respectivamente), conforme se observa nas Figuras 3 e 4. No Tratamento Copépodo a mortalidade foi total, o que provavelmente ocorreu devido à insuficiência de alimento (média de $0,04$ cop/mL), uma vez que as demais condições de cultivo foram as mesmas dos demais tratamentos.

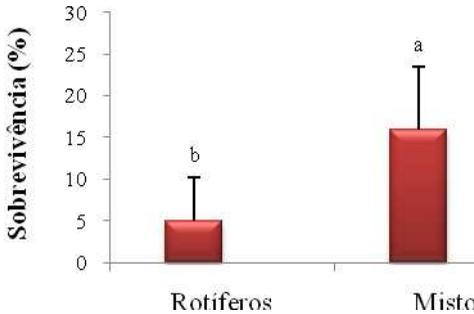


Figura 3 – Sobrevivência das larvas de robalo-peva com 14 dias de idade em dois tratamentos do Experimento 1: alimentadas somente com rotíferos e alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto).

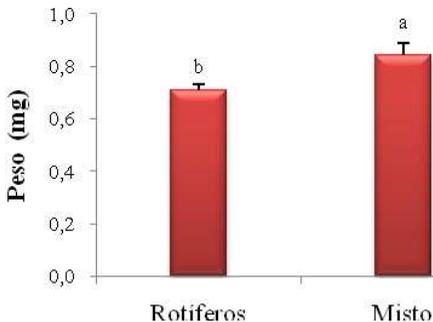


Figura 4 – Peso das larvas de robalo-peva com 14 dias de idade em dois tratamentos do Experimento 1: alimentadas somente com rotíferos e alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto).

Experimento 2

Durante as contagens do residual foram observados náuplios recém-eclodidos e copepoditos de *Acartia tonsa* (Figura 5) nas amostras coletadas, perfazendo uma média de 4 ind/mL no Tratamento Copépodo e 2 ind/mL no Tratamento Misto, indicando que os adultos de copepodos se reproduziram nos tanques experimentais.



Figura 5 – Copépodos *Acartia tonsa* cultivados. n - náuplio; c - copepodito; a - adulto.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação à sobrevivência, com o mínimo de 3,6% no Tratamento Copépodo e máximo de 11,3% no Tratamento Misto (Tabela 1). Da mesma forma, não houve diferença significativa para comprimento, fator de condição e formação de bexiga natatória.

Tabela 1 – Médias (\pm Desvio Padrão) de peso úmido, comprimento total, fator de condição, sobrevivência e bexiga natatória formada nas larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 14 dias de idade, no Experimento 2.

Parâmetros	Tratamentos		
	Rotífero	Misto	Copépodo
Peso úmido (mg)	0,53 \pm 0,15 ^a	1,15 \pm 0,07 ^a	1,17 \pm 0,76 ^a
ComprimentoTotal (mm)	3,75 \pm 0,49 ^a	3,86 \pm 0,22 ^a	3,56 \pm 0,36 ^a
Fator de condição (FC)	0,010 \pm 0,003 ^a	0,020 \pm 0,002 ^a	0,024 \pm 0,01 ^a
Sobrevivência (%)	4,7 \pm 1,2 ^a	11,3 \pm 4,1 ^a	3,6 \pm 5,1 ^a
Presença de bexiga natatória (%)	90,0 \pm 14,6 ^a	100,0 \pm 0,0 ^a	92,7 \pm 8,6 ^a

Também não houve diferença significativa entre os tratamentos no peso das larvas (Figura 6). Por outro lado, os tratamentos com adição de copépodos (Copépodo e Misto) apresentaram diferença significativa no desenvolvimento das larvas (flexão da notocorda) com relação ao Tratamento Rotífero. O Tratamento Misto apresentou os melhores indicadores de desenvolvimento (Figuras 6 e 7).

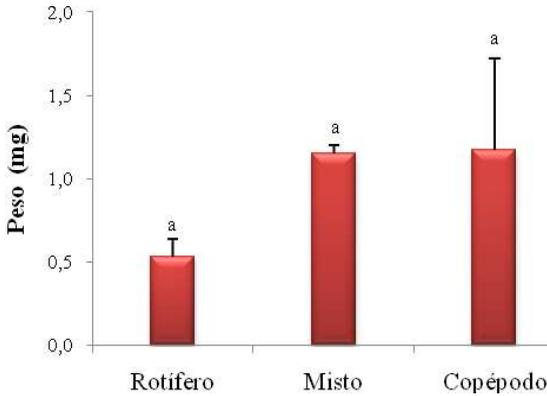


Figura 6 – Peso das larvas de robalo-peva com 14 dias de idade em três tratamentos do Experimento 2: alimentadas com rotíferos, alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto) e alimentadas com copépodos.

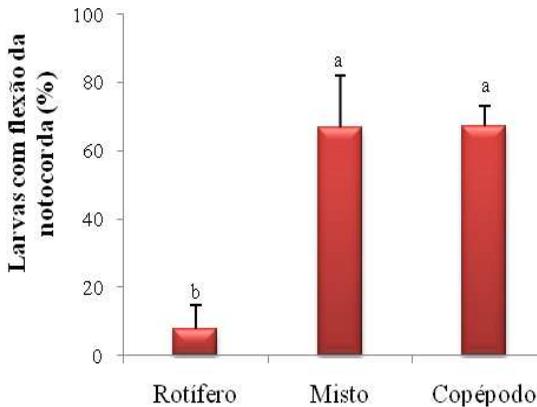


Figura 7 – Percentual de larvas de robalo-peva com flexão da notocorda, com 14 dias de idade em três tratamentos do Experimento 2: alimentadas com rotíferos, alimentadas com rotíferos + copépodos (Misto) e alimentadas com copépodos.

Os ácidos graxos foram divididos nas categorias saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e polinsaturados (PUFA) e estão apresentados na Tabela 2.

Os copépodos cultivados apresentaram as maiores quantidades de SFA e composição bem e diferente da dos copépodos selvagens (30% inferior). Estes valores foram altos em função das grandes quantidades de ácido palmítico (16:0), ácido mirístico (14:0) e ácido esteárico (18:0) dos copépodos cultivados. Os ácidos graxos MUFA foram bastante abundantes nos copépodos cultivados (41%), em função de maiores quantidades do ácido oléico (18:1 n-9) e ácido palmitoléico (16:1 n-7). Os copépodos selvagens apresentaram cerca de 60% menos quantidade de MUFA que os copépodos cultivados. As quantidades de PUFA foram elevadas (36%) nos copépodos selvagens e baixas (6,4%) nos copépodos cultivados. Foi constatada grande quantidade de DHA e EPA (17,0 e 9,6%) no copépodo selvagem. Os copépodos cultivados apresentaram pouca disponibilidade destes ácidos graxos. Nos copépodos o ARA não foi detectado no cultivado e foi menor que 1% no selvagem, apresentando neste último uma relação de EPA/ARA em torno de 10:1.

Os rotíferos apresentaram cerca de 50% da quantidade de SFA dos copépodos cultivados, e devido aos altos teores dos ácidos oléico e palmitoléico tiveram 45,5% de MUFA. O total de PUFA foi de apenas 16,0%, com maiores quantidades de EPA (6%) e ARA (2%) e valor ínfimo para DHA (0,3%). Apresentaram também quase 10% de gordura trans, embora esta não tenha se acumulado nas larvas deste tratamento.

As larvas de todos os tratamentos apresentaram valores altos para SFA (> 40%), em função dos ácidos palmítico, esteárico e mirístico e quantidades semelhantes para MUFA (de 18 a 21%), sendo mais abundante nas larvas do Tratamento Rotífero. As larvas dos Tratamentos Copépodo e Misto tiveram maior disponibilidade de DHA, que foi mais de 30% inferior nas larvas do Tratamento Controle (Rotífero). Quanto ao EPA e ARA, estavam mais disponíveis no Tratamento Misto.

Os ovos de robalo-peva analisados apresentaram valores de SFA cerca de 40% menores que o das larvas e as maiores quantidades de PUFA, em função de altos teores de DHA (22,7%) e ácido linoléico (18:2 n-6, 9,2%). Os teores de MUFA foram semelhantes em ovos e larvas, havendo, porém, maior disponibilidade nos ovos.

Tabela 2 – Composição de ácidos graxos (percentagem do total de ésteres metílicos de ácidos graxos) e lipídeos totais do zooplâncton, ovos e larvas de robalo-peva alimentados com alimento vivo no Experimento 2 (g/100g).

	Copépodo cultivado	Copépodo selvagem	Rotífero	Ovos de robalo	Larvas Rotífero	Larvas Copépodo	Larvas Mistó
Ácidos Graxos							
C14:0	9,63	5,73	2,05	2,67	4,16	3,05	2,46
C16:0	30,06	20,72	12,52	19,00	29,74	29,73	26,15
C18:0	8,62	6,22	5,65	4,12	10,78	12,59	9,51
∑ SFA ^a	49,75	35,12	23,41	26,71	46,58	47,12	40,62
C16:1(n-7)	12,31	4,75	16,26	5,28	5,57	4,72	7,85
C18:1(n-9)	27,57	10,10	24,73	16,86	15,12	10,37	9,28
∑ MUFA ^b	41,06	16,10	45,45	23,92	20,69	19,01	17,96
C18:2(n-6)	4,06	4,36	3,08	9,24	6,26	4,23	4,40
C20:4(n-6) ARA	ND	0,92	2,40	1,99	3,33	3,07	5,17
C18:3(n-3)	ND	3,39	0,82	2,12	ND	ND	0,49
C20:5(n-3) EPA	0,85	9,58	6,25	4,68	4,19	5,69	9,59
C22:5(n-3)	ND	0,69	3,18	2,93	3,77	ND	4,29
C22:6(n-3) DHA	1,45	17,03	0,34	22,66	5,40	16,82	12,74
∑ PUFA ^c	6,36	35,97	16,07	43,62	22,95	29,81	36,68
∑ Trans ^d	ND	6,59	9,57	2,03	1,91	ND	0,74
DHA/EPA	1,7	1,8	0,05	4,8	1,3	3,0	1,3
EPA/ARA	-	10,4	2,6	2,4	1,3	1,9	1,9
Lipídeos Totais	2,42	1,34	0,36	2,61	2,14	1,95	2,45

^aInclui 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0. ^bInclui 14:1, 16:1 (n-7), 17:1, 18:1 (n-9), 20:1 (n-9), 22:1, 24:1. ^cInclui 18:2(n-6), 20:4(n-6), 18:3(n-3), 20:5(n-3), 22:5(n-3), 22:6(n-3). ^dInclui 14:1 trans; 16:1 trans; 18:1 trans; 18:2 trans; 18:2 trans trans. ND – Não detectado. Valores em cada coluna representam duas ou três repetições /análises. Valores de ácidos graxos para expressar a percentagem do total da área identificada nos cromatogramas; os picos não identificados não foram considerados).

4. Discussão

A larvicultura de robalo-peva com larvas recém-eclodidas, devido à sua fragilidade e as enormes demandas fisiológicas, morfológicas e ecológicas (aprimoramento metabólico, inúmeras diferenciações funcionais e adaptação ao ambiente de cultivo), rotineiramente resulta em altas mortalidades na primeira quinzena, o que foi observado neste estudo a partir do nono dia após a eclosão, período em que aparentemente ocorre a insuflação da bexiga natatória. Mortalidades

constantes nesta fase foram descritas por Cerqueira et al. (1995) e Alvarez-Lajonchere et al. (2002b), que relataram serem críticos os primeiros dias de larvicultura desta espécie. Seiffert et al. (2001) e Cerqueira e Brugger (2001) obtiveram sobrevivências próximas a 1% com larvas em estágio inicial de *Centropomus parallelus*. Os melhores resultados em sobrevivência de larvas do robalo-peva na fase inicial de larvicultura foram obtidos por Temple et al. (2004), que obtiveram sobrevivências entre 38,8% e 29,4%. Utilizaram povoamento adensado de 500 ovos/L em tanque de 100 L, e após a eclosão das larvas retiraram subamostras para uma taxa de estocagem inicial de 27 larvas/L em tanques de 140 L. No presente trabalho seguimos a metodologia de povoamento de ovos descrita por Alvarez-Lajonchere et al. (2002a).

Em larviculturas de outras espécies de peixes marinhos também ocorreram baixas sobrevivências. Sugama et al. (2003), ao estudar a larvicultura da garoupa (*Cromileptes altivelis*), obtiveram sobrevivências de 2,65 a 5,13 % e observaram que grandes mortalidades ocorreram do segundo ao quinto dias de cultivo. No cultivo de larvas de pargo (*Pagrus auratus*) até 21 dias, a sobrevivência foi de 3,8 a 16,9% (Fielder et al., 2005). Segundo Yúfera e Darias (2007), é no início da alimentação exógena que a larva vive um momento crucial, pois após o término das reservas vitelinas a privação alimentar ou ingestão de alimento com qualidade inapropriada reduz drasticamente a sobrevivência. Nesta fase, a eficiência nas mudanças morfológicas e fisiológicas são fundamentais para assegurar às larvas natação autônoma e digestibilidade dos nutrientes ingeridos. A formação da bexiga natatória permite à larva o deslocamento vertical na coluna d'água e a flexão da notocorda é condicionante para a finalização da formação da nadadeira caudal, importante para propiciar a natação na horizontal. O aprimoramento do sistema digestório permite eficiência na digestão e absorção de nutrientes, fornecendo assim a energia requisitada às transformações morfológicas e fisiológicas necessárias. Fundamentalmente, estas mudanças morfofisiológicas permitem às larvas melhores condições de capturar alimento, buscar ambientes mais estáveis, absorver melhor os nutrientes ingeridos, e assim, assegurar sua sobrevivência.

Quanto ao crescimento, os resultados de comprimento total encontrados estão dentro da variabilidade descrita por Alvarez-Lajonchere et al. (2002a) para larvas de *C. parallelus* com 14 dias de idade (3,0 a 5,3 mm). No entanto, os valores são menores que os encontrados por Araújo et al. (2000) e Temple et al. (2004) (4,5 a 4,8 mm), mas maiores que os descritos por Seiffert et al. (2001) (3,1 a 3,4

mm). No desenvolvimento das larvas, obteve-se um alto percentual de larvas com inflação da bexiga natatória (90 a 100%), superiores aos encontrados por Araújo et al. (2000) (84,1 a 87,5%), Cerqueira e Brügger (2001) (36,8 a 100%) e Seiffert et al. (2001) (11,9 a 34,7%).

No presente estudo as larvas dos tratamentos Copépodo e Misto apresentaram os melhores resultados zootécnicos quando comparadas ao Controle. No Experimento 1, o Tratamento Misto apresentou sobrevivência e peso significativamente maiores que o controle (Figuras 3 e 4). No Experimento 2, os Tratamentos Misto e Copépodo tiveram um percentual significativamente maior de larvas com flexão da notocorda, indicador de desenvolvimento morfológico importante para a idade (Figura 7).

Estes resultados podem ser explicados pelas vantagens apresentadas pelos copépodos em relação aos rotíferos, apesar da pouca quantidade adicionada. Neste trabalho, foi usada uma boa mistura de microalgas, que são uma excelente fonte de HUFA's para os copépodos, e conseqüentemente, para as larvas de robalo. Além disso, segundo Schipp (2006) e Schipp et al. (1999), os copépodos possuem uma maior proporção de lipídios polares ou estruturais, que são biologicamente mais disponíveis para as larvas de peixes do que sob a forma de triacilgliceróis. Os náuplios têm tamanho diminuto ($<100\mu\text{m}$) e podem ser facilmente digeridos, sendo ainda fonte de antioxidantes, astaxantina e Vitaminas C e E. Possuem também uma característica importante, que é o movimento abrupto dos copépodos (“jerking swimming”) na coluna d'água, que são um estímulo visual à predação pelas larvas de centropomídeos, que possuem boa visão.

Russo et al. (2009), em estudos com larvicultura de garoupa verdadeira (*E. marginatus*) em cultivo em mesocosmos (zooplâncton nativo com rotíferos e artemias), concluíram que larvas entre os tamanhos de 2,0 e 12,0 mm e abertura de boca entre 0,25 e 0,70 mm, selecionaram eletivamente náuplios de copépodos para sua alimentação. Knuckey et al. (2005) também citam a preferência de *E. coioides* por náuplios recém-eclodidos de copépodos, quando alimentados com uma mistura de rotíferos e copépodos. Alvarez-Lajonchere et al. (2002a) identificaram que as larvas de robalo-peva têm média de 2,8 mm de comprimento e 0,22 mm de abertura de boca no início da alimentação exógena, sendo provável que esta seletividade tenha também ocorrido no presente estudo, devido aos melhores índices zootécnicos obtidos nos tratamentos com inclusão de copépodos. Outros indicadores são o crescimento da população de rotíferos no início do Experimento 2 do

Tratamento Misto e o baixo residual de copépodos nas contagens diárias do Tratamento Copépodo (média de 0,45 cop/mL).

Olivotto et al. (2008) trabalharam com o copépodo *Centropage typicus* para alimentação inicial de larvas de peixe palhaço (*Amphiprion clarkii*) e utilizaram 5 náuplios/mL nos primeiros 7 dias e 3 copepoditos/mL nos 4 dias subsequentes. Com estas quantidades tiveram maior crescimento ($5,8 \pm 0,3$ mg) e maior sobrevivência ($90,0 \pm 2,0\%$) em comparação ao tratamento rotífero/artemia, apesar da concentração de copépodos ter sido a metade da usada para aqueles organismos (10 rot/mL e 6 art/mL). Russo et al. (2009) adicionaram 0,01 a 0,1 cop/mL e 0,2 a 1 rot/mL a partir do terceiro dia para larvicultura de garoupas em mesocosmos e obtiveram sobrevivência média de 10% após 35 dias de cultivo, superior as médias entre 2 e 5% obtidas por Sugama et al. (2003). Knuckey et al. (2005) citam que larvas de *E. coioides* incrementaram sobrevivência e crescimento quando a dieta de rotíferos foi suplementada com apenas 0,1 náuplio de copépodo/mL. As larvas do Tratamento Misto do Experimento 2 tiveram os melhores índices de desenvolvimento morfológico, apresentando 100% de insuflação da bexiga natatória e 66,7% de flexão da notocorda. O Tratamento Rotífero apresentou alto percentual de larvas com bexiga natatória formada (90,0%), mas somente 7,8% de larvas com flexão da notocorda.

Os ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) essenciais para as larvas de peixes marinhos são o ácido araquidônico, o DHA e o EPA (Sargent et al., 1999a, 1999b). Os PUFAs são considerados essenciais para as larvas porque estas não têm, ou têm uma limitada capacidade de converter DHA e EPA a partir do ácido linolênico (LNA, 18:3n-3) e ARA do ácido linoléico (LA, 18:2n-6). Esta incapacidade ocorre porque os peixes marinhos ou não possuem ou têm insuficiência das enzimas desaturase e elongase, necessárias para mudanças de graus de insaturação dentro das séries ou alongamento das cadeias de carbonos (Nanton e Castell, 1999, Sargent et al., 1999b, Izquierdo et al., 2000). DHA, EPA e ARA são componentes dos fosfolípidos das membranas celulares dos animais, e podem atuar em trocas iônicas e transporte, endocitose e exocitose, atividades de membrana associadas a sítios receptores e enzimas, dentre outras. A atividade de algumas destas proteínas de membrana demonstram que elas são moduladas pelos lipídeos que compõem a membrana plasmática (Ibeas et al., 1997).

A qualidade do lipídeo dietário é um fator que pode afetar o desenvolvimento do trato gastrointestinal da larva e a atividade das enzimas digestivas. Os triacilgliceróis são quantitativamente a principal

classe de lipídeos na dieta de peixes. Sua constituição composta de ácidos graxos pode afetar a digestão e absorção de nutrientes, em função dos comprimentos de cadeia de carbonos e graus de saturação destes ácidos graxos (Morais et al., 2007).

Segundo Sargent et al. (1999b) a dieta ideal para larvas de peixes é o conteúdo do saco vitelino, ou de larvas alimentadas com copépodo selvagem. Como para larvas de robalo-peva ainda não existem estudos aprofundados sobre composição e conteúdo lipídico, utilizaremos os resultados do perfil de ácidos graxos dos ovos de robalo-peva do plantel do LAPMAR como base. Com relação a SFA, estes ovos apresentaram 19% de ácido palmítico e, por isso, cerca de 27% de ácidos graxos saturados; 17% de ácido oléico e cerca de 24% de MUFA; e em torno de 44% de PUFA, em função do alto teor de DHA ($\cong 23\%$), fornecendo uma relação DHA:EPA:ARA de 11,4:2,4:1,0; DHA:EPA em torno de 5,0:1,0 e EPA:ARA de aproximadamente 2,5:1,0. Comparando com o estudo de Yanes-Roca et al. (2009) com ovos não fertilizados de robalo-flecha selvagem, os ácidos graxos predominantes foram coincidentes, variando as quantidades e a relação DHA:EPA:ARA, que foi de 3,7:0,7:1,0, provavelmente devido às fêmeas selvagens praticarem migração reprodutiva com alto gasto energético.

Os copépodos cultivados neste estudo apresentaram baixos teores dos ácidos graxos essenciais, e por isso tiveram maiores percentuais de SFA e MUFA, em detrimento de PUFA. O copépodo selvagem apresentou a relação DHA:EPA:ARA de 18,5:10,4:1,0, provavelmente em função de uma dieta bem diversificada e rica em DHA e EPA na natureza. As larvas dos tanques experimentais que ingeriram copépodos tiveram percentuais de DHA e EPA superiores ao do copépodo cultivado. Uma explicação para isso pode ser atribuída à forma como o experimento 2 foi conduzido, com adição diária de náuplios, copepoditos e adultos de copépodos e uma mistura de duas ou três microalgas, sugerindo que os copépodos se alimentaram e se reproduziram nos tanques experimentais.

As larvas dos tratamentos Copépodo e Misto apresentaram a relação DHA:EPA:ARA mais próximas do ovo de robalo, embora as quantidades de DHA tenham sido bastante inferiores (5,5:1,9:1,0 e 2,5:1,9:1,0, respectivamente). As larvas alimentadas exclusivamente com rotíferos (Tratamento Controle) apresentaram baixos teores de DHA e por isso, relação desbalanceada (DHA:EPA:ARA = 0,1:2,6:1,0). Os melhores resultados zootécnicos foram obtidos com os Tratamentos Copépodo e Misto, o que sugere uma relação positiva entre EPA:ARA em torno de 2,0:1,0. Quanto ao DHA, os resultados sugerem que a

relação DHA:EPA deve ser entre 5,0:1,0 (ovo) e 3,0:1,0 (Tratamento Misto). Em função da grande demanda do DHA para o desenvolvimento do cérebro e visão de larvas de peixes marinhos em estágio inicial de desenvolvimento (Castell et al., 1994; Sargent et al., 1999b) e dos resultados dos ovos, sugerimos uma relação DHA:EPA:ARA para larvas de robalo-peva entre 10:2,0:1,0 e 5,0:2,0:1,0.

5. Conclusões

A utilização do copépodo *Acartia tonsa* como primeiro alimento da larva do robalo-peva melhorou o seu desenvolvimento, mesmo com as pequenas quantidades adicionadas. Os resultados demonstram que as larvas que ingeriram copépodos apresentaram uma melhor composição, em termos de ácidos graxos essenciais, do que os rotíferos que são normalmente utilizados como alimento inicial. Entretanto, mais informações ainda são necessárias a respeito da densidade ótima de copépodos a ser oferecida às larvas de *C. parallelus*.

6. Referências bibliográficas

- ALVAREZ-LAJONCHERE, L., CERQUEIRA, V. R., REIS, M. 2002a. Desarrollo embrionario y primeros estadios larvales del robalo gordo, *Centropomus parallelus* Poey (Pisces, Centropomidae) con interés para su cultivo. *Hidrobiológica* 12, n. 2, 89-100
- ALVAREZ-LAJONCHERE, L., CERQUEIRA, V. R. , SILVA, I. D., ARAÚJO, J., REIS, M. 2002b. Mass production of juveniles of the fat snook *Centropomus parallelus* in Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society* 33, n. 4, 506-516.
- ARAÚJO, J., CERQUEIRA, V. R., ALVAREZ-LAJONCHERE, L. S. 2000. The effect of salinity in the rearing of fat snook (*Centropomus parallelus*) larvae. *AQUA 2000. World Aquaculture Society, n° 28, European Aquaculture Society, Oostende, Belgium. p. 27.*
- BENETTI, D. D., MATERA, J. A., STEVENS, O. M., ALARCÓN, J. F., FEELEY, M. W., ROTMAN, F. J., MINEMOTO, Y., BANNER-STEVENSON, G., FANKE, J., ZIMMERMAN, S., ELDRIDGE, L. 2002. Growth, survival and feed conversion rates of hatchery-reared mutton snapper *Lutjanus analis* cultured in floating net cages. *Journal of the World Aquaculture Society* 33, n. 3, 349-357.

BERSANO, J. G. 2003. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Acartia tonsa*. A potential source of live food for aquaculture. Book abstracts volume I, World Aquaculture 2003, p. 95.

BLIGH, E. G. & DYER, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.

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

CERQUEIRA, V. R. 1995. Testes de indução de desova do robalo, *Centropomus parallelus*, do litoral de Santa Catarina com gonadotrofina coriônica humana. In: Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 7, 1991, Santos. Anais... Recife: Associação dos Engenheiros de Pesca de Pernambuco – SUDENE, 1995.

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

CERQUEIRA, V. R., MACHIAVELLO, J. A. G., BRUGGER, A. M. 1995. Produção de alevinos de robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860, através de larvicultura intensiva em laboratório. *SIMBRAQ* 7, EMBRAPOA 2, pp.191-199.

CERQUEIRA, V. R., TSUZUKI, M. Y. 2009. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiol. Biochem.* 35, 17-28.

CHEN, B. N., QIN, J. G., KUMAR, M. S., HUTCHINSON, W., CLARKE, S. 2006. Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail *Seriola lalandi* larvae. *Aquaculture* 256, 489-501.

CONCEIÇÃO, L. E. C., RIBEIRO, L., ENGROLA, S., ARAGÃO, C., MORAIS, S., LACUISSE, M., SOARES, F., DINIS, M. T. Nutritional physiology during development of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). 2007. *Aquaculture*, 268, 64-81.

DINIS, M. T., RIBEIRO, L., CONCEIÇÃO, L. E. C., ARAGÃO, C. 1999. Larvae digestion and new weaning experiments in *Solea senegalensis*. *Cah. Options. Mediterr.* 47, 193-204.

- FERRAZ, E. M., CERQUEIRA, V. R., ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L., CANDIDO, S. 2002. Indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, através de injeção e implante de LHRHa. Bol. Inst. Pesca 28 (2), 125-133.
- FIELDER, D. S., BARDSLEY, W. J., ALLAN, G. L., PANKHURST, P. M. 2005. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. Aquaculture, 250, 201-214.
- HARTMAN, L., LAGO, R. C. A. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory Practice 22, p. 475-476-494.
- IBEAS, C., CEJAS, J., GÓMEZ, T., JEREZ, S., LORENZO, A. 1997. Influence of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth and tissue fatty acid composition. Aquaculture 142, 221-235.
- IZQUIERDO, M. S., SOCORRO, J., ARANTZAMENDI, L., HERNÁNDEZ-CRUZ. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. Fish Physiol. Biochem. 22, 97-107.
- KNUCKEY, R. M., SEMMENS, G. L. MAYER, R. J., RIMMER, M. A. 2005. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: Effect of algal species and feed concentration on copepod development. Aquaculture 249, 339-351.
- LAVENS, P., SORGELOOS, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Tech. Fish. Pap. 361. Lavens and Sorgeloos ed., Ghent, Belgium. 295 p.
- LIAO, I. C., SU, H. M., CHANG, E. Y. 2001. Techniques in finfish larviculture in Taiwan. Aquaculture 200, 1-31.
- LOURENÇO, S. O. 2006. Tipos de cultivo, coleta e análises químicas das microalgas. In: Cultivo de microalgas marinhas. Princípios e aplicações.; Rima (Ed.), São Carlos, pp. 295-344.
- MARTE, C. L. 2003. Larviculture of marine species in Southeast Asia: current research and industry prospects. Aquaculture 227, 293-304.
- MORAIS, S., CONCEIÇÃO, L. E. C., RONNESTAD, I., KOVEN, W., CAHU, C., ZAMBONINO INFANTE, J. L., DINIS, M. T. 2007. Dietary neutral lipid level and source in marine fish larvae: Effects on digestive physiology and food intake. Aquaculture 268, 106-122.
- NANTON, D. A.; CASTELL, J. D. 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid

copepods, for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture*, v. 175, p. 167-181.

OLIVOTTO, I., BUTTINO, I., BORRONI, M., PICCINETTI, C. C., MALZONE, M. G., CARNEVALI, O. 2008. The use of the Mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkia*) larviculture. *Aquaculture* 284, 211-216.

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

RAJKUMAR, M., VASAGAM, K. P. K. 2006. Suitability of copepod, *Acartia clausi* as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): compared to traditional live food organisms with special emphasis on the nutritional value. *Aquaculture* 261, 649-658.

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

RUSSO, T., BOGLIONE, C., DE MARZI, P., CATAUDELLA, S. 2009. Feeding preferences of the dusky grouper (*Epinephelus marginatus*, Lowe 1834) larvae reared in semi-intensive conditions: A contribution addressing the domestication of this species. *Aquaculture* 289, 289-296.

SAKAKURA, Y., SHIOTANI, S., CHUDA, H., HAGIWARA, A. 2007. Flow field control of the larviculture of seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Aquaculture* 268, 209-215.

SARGENT, J., BELL, G., McEVOY, L., TOCHER, D., ESTEVES, A. 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191-199.

SARGENT, J., McEVOY, L., ESTEVES, A., BELL, G., BELL, M., HENDERSON, J., TOCHER, D. 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179, 217-229.

SCHIPP, G. The use of Calanoid copepod in semi-intensive, tropical marine fish larviculture. In: Editores Elizabeth Cruz-Suarez, Denis Ricque Marie, Mireya Salazar, Martha López, David Cavazos, Ana Puello Cruz e Armando Garcia Ortega. Avances em Nutrición Acuicola VIII.VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 15-17 de novembro. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo

León, México. p. 84-94. 2006.

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

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

STOTTRUP, J. 2006. A review on the status and progress in rearing copepods for marine larviculture. Advantages and disadvantages. Among Calanoid, Harpacticoid and Cyclopoid copepods. In: Cruz Suárez, Ricque, Salazar, Lopéz, Cavazos, Cruz e Ortega (Ed.). *Avances em Nutrición Acuicola VIII*. Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, 8, Monterrey, Nuevo Leon, Mexico, p. 62-83.

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

STOTTRUP, J. G., NORSKER, N. H. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture* 155, 231-248.

SUGAMA, K., ISMI, S., KAWAHARA, S., RIMMER, M. 2003. Improvement of larval rearing technique for Humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. *Aquaculture Asia*, v. 8, n. 3, 34-37.

TEMPLE, S., CERQUEIRA, V. R., BROWN, J. A. 2004. The effect of lowering prey density on the growth, survival and foraging behaviour of larval fat snook (*Centropomus parallelus* poey 1860). *Aquaculture* 233, 205-217.

WATANABE, W. O., ELLIS, E. P., ELLIS, S. C., CHAVES, J., MANFREDI, C. 1998. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish species for aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 29, n. 2, 176-187.

YANES-ROCA, C., RHODY, N., NYSTROM, M., MAIN, K. L., 2009. Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Aquaculture* 287, 335-340.

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

CAPÍTULO II

UTILIZAÇÃO DO COPÉPODO *Acartia tonsa* COMO ALIMENTO VIVO E FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS PARA A LARVA DO ROBALO-PEVA (*Centropomus parallelus*) DA FLEXÃO DA NOTOCORDA ATÉ A METAMORFOSE

Marcia Vanacor Barroso, Cristina Vaz Avelar de Carvalho, Rosemar Antoniassi, Vinicius Ronzani Cerqueira

Resumo

Os robalos *Centropomus* spp. são peixes marinhos, eurialinos e de águas costeiras. Possuem alto valor comercial e seus estoques naturais estão decrescendo. Nos primeiros trinta dias de vida, as larvas sofrem drásticas transformações morfológicas e fisiológicas que demandam qualidade nutricional na dieta. Os copépodos são a principal fonte de alimento vivo na natureza e apresentam alto valor nutritivo. O estudo foi realizado no Laboratório de Piscicultura Marinha da UFSC, Florianópolis e testou o copépode *Acartia tonsa* como alternativa alimentar para larvas de robalo-peva. Copépodos foram coletados na Lagoa da Conceição e cultivados. Os experimentos utilizaram doze tanques retangulares com capacidade de 30 L e densidade de 3,3 Larvas/L, com três tratamentos e quatro repetições. O Experimento 1 (larvas de 15-27 dias com peso inicial de 1,34 mg): Utilizou rotíferos (rot) *Brachionus rotundiformis* e *B. plicatilis* e *Artemia* sp.; rotíferos e copépodos (cop), predominando *Acartia tonsa*; e rotíferos, copépodos e *Artemia* sp.; e o Experimento 2 (larvas de 31-45 dias com peso inicial de 2,8 mg): Utilizou *Artemia* sp.; copépodos (cop), predominando *Acartia tonsa*; e *Artemia* sp. e copépodo. Sobrevivência, crescimento e o perfil de ácidos graxos foram avaliados. Para comparar as diferenças entre as médias utilizou-se teste de Tukey com nível de significância de $\alpha = 0,05$. Os resultados do Experimento 1 mostram que o tratamento misto (rot + cop + art), foi significativamente superior em sobrevivência ($10,5 \pm 5,5\%$) e peso médio ($5,83 \pm 0,85$ g). No Experimento 2 a sobrevivência e o peso foram significativamente maiores no Tratamento artemia ($85,3 \pm 8,8\%$ e $16,83 \pm 1,99$ mg). As larvas que ingeriram copépodo apresentaram maiores reservas de DHA ($\cong 25\%$), próxima a dos ovos de robalo ($\cong 23\%$). Conclui-se que o copépodo foi benéfico na dieta das larvas mais jovens (15-27 dias). No entanto, para larvas com mais de 30 dias, as artemias produziram melhores resultados.

Termos de indexação: Larvicultura, peixes marinhos, lipídeos, ácidos graxos.

CHAPTER II

USING OF THE COPEPOD *Acartia tonsa* AS LIVE FEED AND ESSENTIAL FATTY ACIDS SOURCE FOR FAT SNOOK (*Centropomus parallelus*) LARVAE FROM NOTOCHORD FLEXION TO METAMORPHOSIS

Marcia Vanacor Barroso, Cristina Vaz Avelar de Carvalho, Rosemar Antoniassi, Vinicius Ronzani Cerqueira

Abstract

The snook *Centropomus* spp. are marine and euryhaline fish of coastal waters. They have high commercial value and its natural supplies are decreasing. In first month of life, the larvae suffer drastic morphologic and physiological changes that demand nutritional quality in the diet. The copepods are the main live feed source in the nature and present high nutritional value. The study it was carried out in the Marine Fish Laboratory (UFSC, Florianopolis) and tested copepod *Acartia tonsa* as fed alternative for larvae of fat snook. Copepods had been collected in the Lagoa da Conceição and cultivated. The experiments had used twelve rectangular tanks with capacity of 30 L and 3.3 Larvae/L, with three treatments and four repetitions. Experiment 1 (15-27 larvae days with initial weight of 1.34 mg): It used rotifers (rot) *Brachionus rotundiformis* and *B. plicatilis*, and *Artemia* sp.; rotifers and copepods (cop), predominantly *Acartia tonsa*; and rotifers, copepods and *Artemia* sp.; and Experiment 2 (31-45 larvae days with initial weight of 2.8 mg): used *Artemia* sp.; copepods (cop), predominantly *Acartia tonsa* and *Artemia* sp.; and copepod. Survival, growth and the fatty acid profile had been evaluated. To compare the differences between the averages test of Tukey with level of significance of $\alpha = 0.05$ was used. The results of Experiment 1 show that the mixed treatment (rot + cop + art) was significantly higher in survival ($10.5 \pm 5.5\%$) and average weight (5.83 ± 0.85 g). In Experiment 2 the survival and the weight had been significantly bigger in the artemia treatment ($85.3 \pm 8.8\%$ and 16.83 ± 1.99 mg). The larvae that had ingested copepod had presented greater reserves of DHA ($\cong 25\%$), next to eggs of snook ($\cong 23\%$). One concludes that copepod was beneficial in the diet of the larvae youngest (15-27 days). However, for larvae with more than 30 days, the artemia had produced better resulted.

Index terms: larviculture, marine fishes, lipids, fatty acids.

1. Introdução

Os robalos *Centropomus* spp. são peixes marinhos, eurialinos, de águas costeiras, sendo encontrados tanto no mar como em águas salobras estuarinas e em mananciais de água doce com acesso permanente ou intermitente com o mar. Habitam as Américas Tropical e Subtropical, ocorrendo no Oceano Atlântico desde a Carolina do Sul até o sul do Brasil e no Oceano Pacífico do Golfo da Califórnia ao noroeste do Peru (Rivas, 1986). Por serem peixes de alto valor comercial, são muito capturados por pescadores e ribeirinhos, muitas vezes antes da primeira maturação sexual, o que tem contribuído para a redução dos estoques naturais (Barroso et al., 2002).

O robalo-peva (*Centropomus parallelus*) possui fecundação externa, portanto, as larvas não recebem cuidados parentais. Eclodem com cerca de 1,5 mm, muito frágeis, e em três dias termina a fase lecitotrófica (quando a larva possui vitelo) e inicia-se o processo de alimentação exógena. Os raios das nadadeiras dorsal e anal terminam de formar-se com cerca de 7 mm de comprimento, aparecendo as primeiras escamas com 14 mm (Alvarez-Lajonchère et al., 2002a) e sendo os juvenis de 26 mm são uma miniatura do adulto (Cerqueira, 2005).

Nos primeiros trinta dias de vida as larvas sofrem mudanças morfológicas e fisiológicas drásticas para adaptar-se ao habitat, propiciar a captura de presas e a assimilação de nutrientes, pré-requisitos básicos para crescimento e sobrevivência. Um bom desempenho larval nesta fase é fortemente influenciado pelo regime alimentar e sua qualidade nutricional, sendo que os lipídeos são considerados nutrientes de grande importância nesta fase. Entretanto, a utilização destes lipídeos da dieta pode ser influenciada pela funcionalidade do sistema digestório das larvas, que vai se aprimorando à medida que a larva se desenvolve (Izquierdo et al., 2000). Segundo Chen et al. (2006), o sistema digestório das larvas do carangídeo *Seriola lalandi* só tem estômago totalmente formado com cerca de 18 dias após a eclosão. Conceição et al. (2007) descrevem a ausência de um estômago funcional até os 30 dias de vida para o linguado *Solea senegalensis*. Em função das grandes demandas morfofisiológicas necessárias, diversos autores consideram críticos o primeiro mês de vida das larvas, descrevendo mortalidades acentuadas neste período (Alvarez-Lajonchere et al. 2002b; Sugama et al. 2003; Marte, 2003).

Para o robalo-peva, supõe-se que o estômago torne-se funcional por volta dos 30 dias de idade, quando a assimilação de dietas artificiais é possível (Alves Jr. et al., 2006). Portanto, como para outras espécies de

peixes marinhos, pode-se supor que a produção de enzimas digestivas pelos centropomídeos seja ainda limitada neste primeiro mês (Izquierdo et al., 2000; Zambonino Infante e Cahu, 2007; Morais et al., 2007). No protocolo de cultivo do robalo-peva a artemia deve ser utilizada na larvicultura do vigésimo ao trigésimo dia, quando se inicia o desmame (Alvarez-Lajonchere et al. 2002a). Estudos sobre o período ideal para desmame desta espécie demonstraram ser entre 45 e 55 dias de idade da larva (Cerqueira e Bernardini, 1995; Cerqueira, 2005), o que faz com que o alimento vivo seja muito importante nesta fase.

As larviculturas de peixes marinhos utilizam amplamente rotíferos, *Brachionus plicatilis* e *B. rotundiformis*, e *Artemia* sp. como alimento vivo, pois suas técnicas de produção já estão bem dominadas. Porém, estes organismos são deficientes em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), essenciais ao desenvolvimento sadio das larvas, necessitando de prévio enriquecimento em emulsões lipídicas (Lavens e Sorgeloos, 1996; Stottrup et al., 1999; e Knuckey et al., 2005).

Na fase pós-flexão da notocorda, a artemia tem sido muito usada em larviculturas de peixes marinhos, devido às vantagens sobre outros alimentos vivos tais como: a facilidade de estocagem sob a forma de cistos; facilidade no manejo; a capacidade de bioencapsulação de nutrientes, probióticos e antibióticos; a possibilidade de estocagem em baixas temperaturas (5 °C) com redução do metabolismo, dentre outras (Sorgeloos et al., 1986; Garcia et al., 2008b). Em contrapartida, existem as desvantagens como a sazonalidade da oferta de cistos; o alto custo dos cistos e produtos para bioencapsulação. Adicionalmente, o enriquecimento da artemia com HUFAs ocorre principalmente sob a forma de triacilgliceróis, que são lipídeos de armazenamento (ou neutros), que têm seus ácidos graxos menos disponíveis do ponto de vista biológico para serem usados nas funções celulares das larvas (Sorgeloos et al., 2001; Schipp, 2006; Sargent et al., 1999b).

As larvas de peixes marinhos necessitam de três ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (PUFA), para obter crescimento e desenvolvimento normais: ácido docosaheptaenóico (DHA, 22:6n-3), ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e ácido araquidônico (ARA, 20:4n-6), que atuam na manutenção da integridade funcional e estrutural das membranas celulares e são precursores do grupo de hormônios conhecidos como eicosanóides (Sargent et al., 1999a). Os tecidos dos peixes em geral têm maiores concentrações de DHA e EPA que de ARA (Yanes-Roca et al., 2009) e por isto, maiores demandas nas dietas destes ácidos graxos denominados n-3 HUFA (ácidos graxos altamente insaturados da série n-3). As exigências para DHA são mais altas em

larvas de peixes marinhos do que para juvenis e pré-adultos, pois este ácido graxo é o maior componente de olhos, cérebro e tecidos nervosos dos vertebrados, sendo necessário na fase em que estes órgãos e estruturas estão sendo formados. Embora o ARA tenha exigência quantitativa mais baixa, ele é bastante importante, pois está envolvido com uma grande variedade de funções fisiológicas, tais como, resposta imune e resistência ao estresse.

Os copépodos, por sua vez, são a principal fonte de alimento para larvas de peixes marinhos no ambiente natural e apresentam superioridade nutricional já bem conhecida em relação a rotíferos e a náuplios de *Artemia* sp. (Stottrup et al., 1999; Stottrup e Norsker, 1997). Copépodos calanóides são utilizados experimentalmente como alimento vivo em larviculturas de peixes marinhos, com bons indicadores de desenvolvimento das larvas, com melhorias na sobrevivência e no crescimento (Russo et al., 2009; Olivotto et al., 2008; Stottrup, 2006). São uma rica fonte de antioxidantes naturais e de fosfolipídios, como os ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), fornecendo uma boa relação (2:1) de DHA:EPA (Stottrup, 2003). Os calanóides *Acartia* spp. apresentam uma ampla variação de tamanhos que vão de 65-106 µm de largura até 820-965 µm de comprimento (do náuplio recém eclodido até o adulto), podendo ser utilizado como alimento em larvas de peixes de diferentes idades (Schipp et al., 1999; Rajkumar e Vasagam, 2006).

Em função das qualidades nutricionais e funcionais dos copépodos, o presente trabalho teve como objetivo testar a utilização da oferta de copépodos *Acartia tonsa* como alimento para larvas de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) da fase pós-flexão da notocorda até a metamorfose final.

2. Material e métodos

2.1 Local do experimento e obtenção das larvas de robalo-peva

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Piscicultura Marinha – LAPMAR, da Universidade Federal de Santa Catarina, localizado na Barra da Lagoa, Florianópolis, SC, que possui reprodutores de robalo *Centropomus parallelus* aclimatados ao cativeiro, e onde foram realizadas as larviculturas e cultivo de zooplâncton utilizado como alimento. As larvas foram obtidas através de desova induzida segundo a metodologia de Ferraz et al. (2002), povoadas em tanque de larvicultura com volume de 5m³ e cultivadas segundo o protocolo de Alvarez-Lajonchere et al. (2002a), com densidade inicial de 50 larvas/L,

alimentadas com rotíferos do primeiro ao 25º dia e artemia do 20º ao 30º dia, quando passaram a ser alimentadas com dieta inerte.

2.2 Cultivo de fitoplâncton

As microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* foram cultivadas no Laboratório de Moluscos Marininhos da UFSC, conforme a metodologia descrita por Lourenço (2006). Foram utilizadas quando atingiram a densidade de 70×10^4 células/mL. A microalga *Nannochloropsis oculata* foi cultivada no LAPMAR seguindo a metodologia de Lourenço (2006), até a densidade de 100×10^4 células/mL quando foram utilizadas nos experimentos.

2.3 Zooplâncton

2.3.1 Coleta e cultivo de copépodos

Copépodos selvagens foram coletados diretamente na Lagoa da Conceição e em viveiros próximos a ela, utilizando um sistema desenvolvido neste estudo, que consiste de um balde de 20 L com janelas de tela de 200 µm, no qual um tubo de PVC com sistema “airlift” acoplado bombeava água em fluxo lento e contínuo por 24 horas. O conteúdo do balde era coletado diariamente, concentrado e filtrado em malha de 650 µm, para retirar excesso de matéria orgânica (galhos, folhas, etc...) e larvas indesejáveis; e posteriormente em 200 µm, para reter os copépodos maiores. Os copépodos (99% de *Acartia tonsa*) foram cultivados num tanque cilindro-cônico de 37 L, com salinidade de 35‰ e temperatura de 26 °C, contendo *C. muelleri* e *I. galbana* na densidade de 30.000 e 60.000 células/mL. Neste tanque foi acoplado um coletor de ovos e náuplios através de sistema “airlift” e um copo coletor com malha de 45 µm, segundo a técnica desenvolvida por Bersano (2003). Todos os dias pela manhã os náuplios eram removidos, contados e utilizados na larvicultura. Para incremento do residual de copépodos nos tanques experimentais foram adicionados copépodos selvagens aos cultivados.

2.3.2 Cultivo de Rotíferos

Os rotíferos *Brachionus rotundiformis* e *B. plicatilis* foram mantidos no cepário do LAPMAR em banho-maria na temperatura de 28 °C, salinidade de 25‰, com água esterilizada e alimentados com *N. oculata* por sete dias. Após, foram cultivados em tanques cilindro-

cônicos de 37 L e posteriormente em tanques de 500 L, com aeração constante e alimentados com levedura seca (*Saccharomyces cerevisiae* – 1 g/milhão de rotíferos), microalgas *N. oculata* (100.000 células/rotífero) e Culture Selco (INVE®, Bélgica) (0,5 g/milhão de rotíferos). Quando atingiram cerca de 500 indivíduos/mL, foram utilizados nos experimentos de larvicultura.

2.3.3 Manejo de Artemia

Os cistos de *Artemia* sp. (*Artemia* High 5, INVE®, Bélgica) foram hidratados por uma hora em água doce e posteriormente colocados para eclodir em tanques cilíndrico-cônico de 500 L de volume contendo água do mar a 35‰ e temperatura controlada de 26°C, forte aeração e iluminação contínua (Lavens e Sorgeloos, 1996). Após cerca de 18 horas, os náuplios foram concentrados, contados e imersos em emulsão lipídica a 28 °C (Selco DC DHA, INVE®, Bélgica). A densidade de estocagem foi de 500.000 náuplios/g por 24 horas para bioencapsulação de ácidos graxos altamente insaturados até a fase de metanáuplio.

2.4 Experimentos de larvicultura do robalo-peva

Experimento 1: larvas com 15 a 27 dias de idade

O experimento foi instalado em 12 tanques retangulares com volume de 30 L, povoados com 100 larvas (3,3 Larvas/L) de 15 dias de idade provenientes da larvicultura do LAPMAR, com peso médio de 1,34 mg e teve a duração de doze dias. As larvas foram acondicionadas em água clara, aeração fraca, temperatura de 26 °C e renovação de água diária de 10 a 25% do volume. Três tratamentos com quatro repetições foram estabelecidos: Tratamento 1 (Controle – Rot + Art), alimentação com rotíferos *Brachionus rotundiformis* e *B. plicatilis* (5/mL) e náuplios de *Artemia* sp. (0,25/mL); Tratamento 2 (Rot + Cop), alimentação com rotíferos (5/mL) e náuplios e copepoditos de copepodo selvagem e cultivado com predominância de *Acartia tonsa* (0,25/mL); Tratamento 3 (Rot + Cop + Art), alimentação com rotíferos (5/mL), náuplios e copepoditos de copepodo (0,12/mL) e náuplios de *Artemia* sp. (0,12/mL). O residual de alimento vivo, que é a concentração de itens alimentares remanescentes após 24 horas expostos as larvas de robalo (Figura 1) foi contado diariamente. Os parâmetros físico-químicos (temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido) também foram monitorados diariamente, sendo encontrados os valores de 27,3 ± 1,0 °C, 35,0 ± 1,0‰, 5,6 ± 0,5 mg/L, respectivamente.

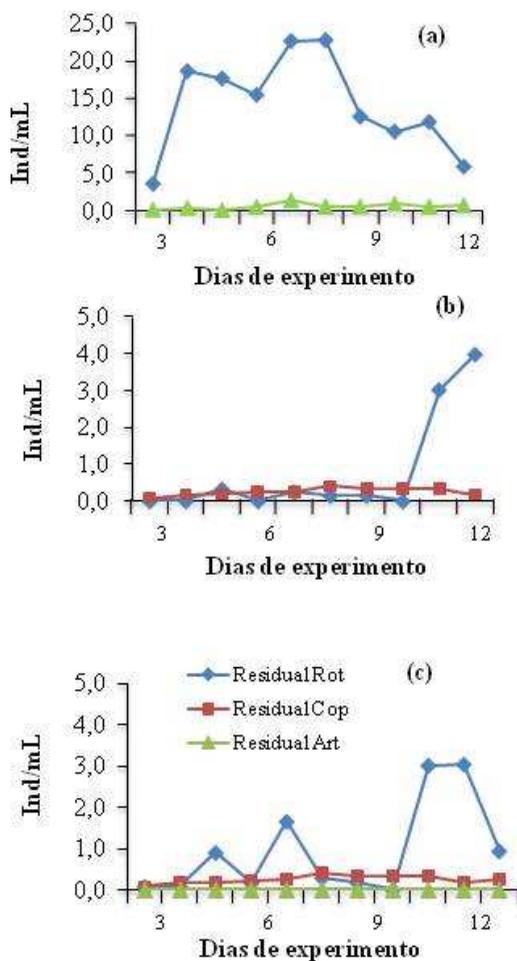


Figura 1 – Residual diário utilizado como alimento vivo para as larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* de 15 a 27 dias nos diferentes tratamentos, no experimento 1: (a) alimentação com rotífero e artemia; (b) alimentação com rotífero e copépodo; (c) alimentação com rotífero, copépodo e artemia.

Experimento 2: larvas com 31 a 45 dias de idade

Foi realizado em 12 tanques retangulares com volume de 30 L, povoados com 100 larvas (3,3 larvas/L) de 31 dias após a eclosão, provenientes da larvicultura do LAPMAR, com peso médio inicial de 2,8 mg. As larvas foram acondicionadas em água clara, aeração fraca, temperatura controlada e renovação diária de pelo menos 25% do volume. Foram três tratamentos e quatro repetições sendo: Tratamento 1 (Controle - Art), onde as larvas foram alimentadas com náuplios de *Artemia* sp. (0,5 a 1,0/mL); Tratamento 2 (Cop), as larvas foram alimentadas com náuplios e copepoditos de copépodo selvagem e cultivado, com predominância de *Acartia tonsa* (0,02 a 0,14/mL); Tratamento 3 (Misto - Cop + Art), alimentação das larvas com náuplios, copepoditos e adultos de copépodo (0,01 a 0,07/mL) e náuplios de *Artemia* sp. (0,25 a 0,5/mL). O residual de alimento vivo foi monitorado diariamente pela manhã, antes da alimentação. Este valor, em todos os tratamentos e todas as repetições, foi sempre muito próximo de zero. Dessa forma, foi feita uma reposição diária de alimento vivo em todos os tratamentos e repetições, seguindo as quantidades descritas acima para os tratamentos. Os parâmetros de qualidade de água, tais como temperatura ($27,0 \pm 2,1$ °C), salinidade ($35,0 \pm 1,0\%$) e oxigênio dissolvido ($5,8 \pm 0,9$ mg/L) também foram monitorados diariamente.

2.5 Análises de ácidos graxos

Foram coletadas amostras de rotíferos, copépodos selvagens, náuplios de artemia enriquecidos com emulsão lipídica, larvas de robalo-peva com 27 e 45 dias de idade provenientes dos diferentes tratamentos e larvas de 15 e 30 dias oriundas da larvicultura do LAPMAR. As larvas foram coletadas 24 horas depois de serem alimentadas. Todas as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro com tampa rosqueável, lacrados com fita teflon e armazenadas em congelador a -80°C para preservação do material. As análises foram realizadas na EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, RJ. Antes da análise de ácidos graxos, foram pesadas em balança analítica. Para liberação do conteúdo das células do zooplâncton e das larvas de peixes o material foi exposto a um sonicador Branson Sonifier 250, selecionado em “out put control”, micro tip unit 7, Duty cycle 30 por dois minutos. As larvas de peixes foram maceradas com bastão de vidro e adicionado 2 mL de água antes de “sonicadas”.

Após foi aplicada a metodologia de Bligh & Dyer (1959) para extração de lipídeos, que utiliza como solventes clorofórmio, metanol e água na proporção inicial de 1:2:0,8 para garantir uma solução homogênea de fase única e em seguida 2:2:1,8 para separar as fases e criar uma fase clorofórmica (clorofórmio e gorduras) e uma fase metanólica (álcool e água). Na extração foi adicionado padrão interno triglicérido triundecanóico (C11). O óleo foi filtrado em papel de filtro e sulfato de sódio, lavado com clorofórmio e armazenado em balão de fundo redondo de 250 mL previamente pesado. O balão foi levado ao rotaevaporador Büchi 461 Water Bath na temperatura de 40 °C, por cerca de 10 minutos, para evaporação do solvente, foi adicionado 0,5 mL de acetona e nitrogênio gasoso para eliminar qualquer resíduo de água e pesado novamente.

Foram então preparados os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) com o método de Hartman e Lago (1973) para a conversão de lipídeos (triacilgliceróis, ésteres, ácidos graxos) em ésteres metílicos visando obter os derivados de mais baixo ponto de ebulição, capazes de serem facilmente analisados por cromatografia gasosa. Adiciona-se aos lipídeos 2,5 mL de potassa metanólica 0,5 N e deixa-se condensar por 4 minutos. Depois se adiciona o reagente de esterificação por 3 minutos. Transfere-se a amostra para um funil de decantação de 250 mL e se adiciona 15 mL de éter etílico e 25 mL de água destilada que separa as fases. No éter etílico fica a fase apolar, onde estão os ácidos graxos e na água ficam os sais da solução. O excesso de solvente foi evaporado, o balão pesado e adicionada a solução de diluição. As amostras foram transferidas para pequenos frascos de 2 mL, identificadas, sendo em seguida analisadas em cromatógrafo gasoso (Agilent Technologies 6890N com injetor automático 7683 séries), temperatura de detecção de 280 graus, para identificação dos ácidos graxos sob a forma de ésteres metílicos. Os ácidos graxos polinsaturados foram comparados com os padrões PUFA 1 (Marine source) e PUFA 3 (Menhaden oil) (Supelco). As áreas de ácidos graxos obtidas na cromatografia gasosa foram digitadas em planilha eletrônica para cálculo peso por peso e g/100g de ácido graxo. Os picos não identificados não foram considerados. As amostras foram analisadas em duplicata e/ou provenientes de duas ou três repetições.

2.6 Análise estatística

Para todos os dados experimentais (sobrevivência, comprimento e peso) foram realizadas análises de variância, sendo antes confirmada a

sua homocedasticidade e a normalidade da distribuição dos dados. Havendo diferenças significativas entre os tratamentos ($\alpha = 0,05$), foi aplicado o teste de Tukey HSD para a separação de médias. Todas as análises foram realizadas utilizando o software STATISTICA versão 6.0.

3. Resultados

3.1. Experimento 1: larvas com 15 a 27 dias de idade

O Tratamento 3, composto por rotífero, copépodo e artemia, teve médias de sobrevivência ($10,5 \pm 5,5\%$) e peso médio ($5,83 \pm 0,85$ mg) significativamente superiores às observadas no Tratamento Controle ($4,0 \pm 3,6\%$ e $4,1 \pm 1,4$ mg) e no Tratamento 2 ($6,0 \pm 3,3\%$ e $4,0 \pm 0,8$ mg), conforme se verifica nas Figuras 2 e 3.

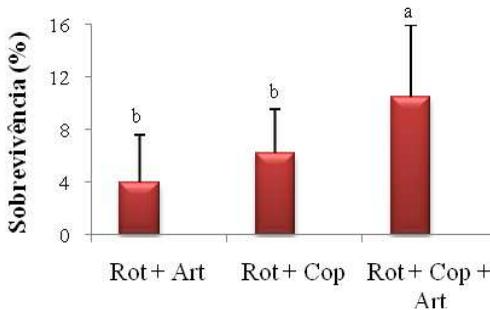


Figura 2 – Sobrevivência das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 27 dias de idade, após 12 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Rot = rotífero; Art = Artemia; Cop = Copépodo).

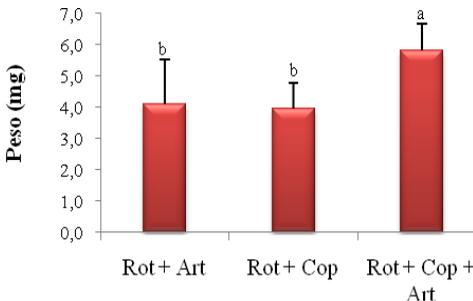


Figura 3 – Peso das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 27 dias de idade, após 12 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Rot = rotífero; Art = Artemia; Cop = Copépodo).

No perfil de ácidos graxos do zooplâncton (Tabela 1), copépodos e artemias enriquecidas apresentaram maiores quantidades do ácido palmítico (C16:0), e por isso, valores mais elevados de ácidos graxos saturados em relação aos rotíferos.

Tabela 1 – Composição de ácidos graxos (percentagem do total de ésteres metílicos de ácidos graxos) e lipídeos totais do zooplâncton e larvas de robalo-peva com 15 (T₀) e 27 dias nos tratamentos (g/100g).

	Copépodo selvagem	Rotífero	Artemia	Larvas T ₀ 15 dae	Larvas Rot + Art	Larvas Rot + Cop	Larvas Rot + Cop + Art
Ácidos Graxos							
C14:0	5,73	2,05	2,12	1,93	1,49	1,99	1,64
C16:0	20,72	12,52	22,16	26,08	22,65	23,42	21,40
C18:0	6,22	5,65	8,77	11,39	11,74	10,01	8,70
∑ SFA ^a	35,12	23,41	36,72	43,10	39,51	36,81	32,24
C16:1(n-7)	4,75	16,26	2,93	6,95	0,44	2,48	6,41
C18:1(n-9)	10,10	24,73	17,93	13,52	26,45	20,85	20,87
∑ MUFA ^b	16,10	45,45	27,46	21,66	28,37	24,20	28,65
C18:2(n-6)	4,36	3,08	5,52	4,36	6,44	7,60	8,41
C20:4(n-6) ARA	0,92	2,40	1,23	4,74	2,20	2,21	3,73
C18:3(n-3)	3,39	0,82	14,38	0,45	10,50	1,08	3,28
C20:5(n-3) EPA	9,58	6,25	4,16	7,28	4,56	5,24	7,83
C22:5(n-3)	0,69	3,18	0,54	6,45	2,00	2,43	3,82
C22:6(n-3) DHA	17,03	0,34	10,20	6,16	4,47	16,97	9,46
∑ PUFA ^c	35,97	16,07	36,30	29,44	30,17	35,53	36,53
∑ Trans ^d	6,59	9,57	1,39	1,93	1,81	2,29	2,44
DHA/EPA	1,8	0,05	2,5	0,9	1,0	3,2	1,2
EPA/ARA	10,4	2,6	3,4	1,6	2,1	2,4	2,1
Lipídeos Totais	1,34	0,36	1,02	2,29	3,17	3,47	3,41

^aInclui 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0. ^bInclui 14:1, 16:1 (n-7), 17:1, 18:1 (n-9), 20:1 (n-9), 22:1, 24:1. ^cInclui 18:2(n-6), 20:4(n-6), 18:3(n-3), 20:5(n-3), 22:5(n-3), 22:6(n-3). ^dInclui 14:1 trans; 16:1 trans; 18:1 trans; 18:2 trans; 18:2 trans trans. Valores em cada coluna representam duas ou três repetições /análises. Valores de ácidos graxos para expressar a percentagem do total da área identificada nos cromatogramas; os picos não identificados não foram considerados)

Rotíferos apresentaram abundância de ácidos palmitoléico e oléico (C16:1 e C18:1), totalizando 45,5% de MUFA. Copépodo e artemia foram abundantes em DHA e EPA, embora copépodos tenham, respectivamente, 60 e 43% maior disponibilidade. Os valores de ARA

foram próximos a 1% para copépodos e artemias, e 2,4% para rotíferos. A relação $DHA:EPA:ARA$ foi de 18,5:10,4:1,0 para o copépodos, 8,3:3,4:1,0 para a artemia e 0,14:2,6:1,0 para o rotífero, que apresentou um valor muito baixo para DHA (0,34%). A artemia apresentou grande quantidade do ácido linolênico (18:3n-3) (14,4%).

Todas as larvas de 27 dias tiveram perfis semelhantes na composição de SFA (Tabela 1), predominando os ácidos palmítico e esteárico (C16:0 e C18:0). Com relação aos MUFA, as larvas do Tratamento 3 tiveram maior quantidade de ácido palmitoléico (C16:1), provavelmente incorporado através dos rotíferos, pois estes apresentaram altos teores deste ácido graxo, enquanto que artemia e copépodos não. Quanto aos ácidos graxos PUFA, as larvas do Tratamento 1 (rot + art) apresentaram 10,5% de ácido linolênico, possivelmente proveniente da ingestão da artemia.

As larvas do Tratamento 2 (rot + cop) apresentaram grande quantidade de DHA e a melhor relação $DHA:EPA$ (3,2:1,0). A relação entre $DHA:EPA:AA$ para os Tratamentos 1, 2 e 3 foi respectivamente, 2,0:2,1:1,0; 7,7:2,4:1,0 e 2,5:2,1:1,0.

3.2. Experimento 2: larvas com 31 a 45 dias de idade

A sobrevivência foi significativamente maior no Tratamento 1 (85,3 ± 8,8%) e no Tratamento 3 (82,8 ± 5,6%), onde os alimentos vivos foram artemia e artemia com adição de copépodos, em relação ao Tratamento 2 (32,8 ± 4,3%), onde as larvas foram alimentadas unicamente com copépodos (Figura 4).

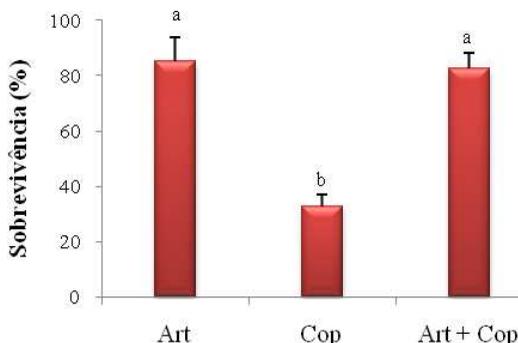


Figura 4 – Sobrevivência das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 45 dias de idade, após 15 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Art = Artemia; Cop = Copépodos).

Quanto ao peso (Figura 5), foi significativamente superior ($16,83 \pm 1,99$ mg) no Tratamento 1, do que nos tratamentos 3 ($12,81 \pm 2,22$ mg) e 2 ($7,62 \pm 1,77$ mg).

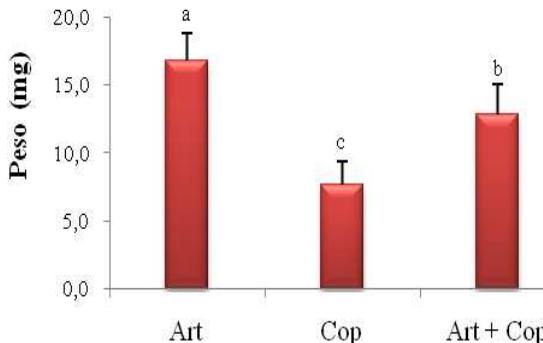


Figura 5 – Peso das larvas de robalo-peva *Centropomus parallelus* com 45 dias de idade, após 15 dias, alimentadas com diferentes alimentos vivos (Art = Artemia; Cop = Copépodo).

A composição de ácidos graxos dos ovos e larvas de robalo-peva no início do experimento (T_0 , 30 dias) e com 45 dias de idade nos diferentes tratamentos estão na Tabela 2. As larvas de robalo-peva no povoamento (T_0) tinham mais disponibilidade de SFA do que PUFA e quantidade de DHA inferior a EPA. O conteúdo de MUFA foi semelhante para os ovos e a larva T_0 . Para PUFA, ovos e larvas de todos os tratamentos tiveram altos teores ($> 40\%$). As larvas T_0 tiveram 30% menos PUFA que as demais e relação DHA:EPA:ARA de 1,4:1,6:1,0. As larvas do Tratamento Copépodo apresentaram quantidade de DHA ($\cong 25\%$) próxima a do ovo e relação DHA:EPA de 4,0:1,0. Esta relação no ovo de robalo foi de 4,8:1,0 e DHA:EPA;ARA de 11,4:2,4:1,0.

As larvas do Tratamento 1, que ingeriram artemia, tiveram perfil de ácidos graxos semelhantes as do Tratamento 3 (copépodos + artemias), diferindo basicamente nas quantidades do ácido linolênico (C18:3n-3), que foi 15% maior, e de DHA, que foi 32% menor. As larvas deste tratamento apresentaram uma relação DHA:EPA:ARA de 4,0:1,6:1,0. As larvas alimentadas com copépodos (Tratamento 2) apresentaram a maior disponibilidade de DHA e 7,3:1,8:1,0 para a relação DHA:EPA:ARA. O Tratamento 3, que combinou artemia e copépodo na alimentação, apresentou boas quantidades dos ácidos palmítico, esteárico, oléico, DHA, EPA e ARA e a relação 5,2:1,5:1,0 entre os três últimos.

Tabela 2 – Composição de ácidos graxos (percentagem do total de ésteres metílicos de ácidos graxos) dos ovos e larvas de robalo-peva com 30 dias (T₀) e com 45 dias nos tratamentos (g/100g).

	Ovos de robalo	Larva T ₀ 30 dae	Larva Artemia	Larva Copépodo	Larva Art+ Copépodo
Ácidos Graxos					
C14:0	2,67	1,93	0,86	1,94	0,85
C16:0	19,00	24,52	18,74	23,50	18,12
C18:0	4,12	11,93	9,16	10,81	10,17
∑ SFA ^a	26,71	40,67	30,86	37,69	31,13
C16:1(n-7)	5,28	0,58	0,51	2,60	0,40
C18:1(n-9)	16,86	17,77	21,43	12,80	18,50
∑ MUFA ^b	23,92	25,68	22,81	16,28	19,75
C18:2(n-6)	9,24	6,16	6,98	3,11	5,98
C20:4(n-6) ARA	1,99	3,59	2,64	3,41	3,15
C18:3(n-3)	2,12	4,04	13,46	3,04	11,69
C20:5(n-3) EPA	4,68	5,86	4,34	6,18	4,77
C22:5(n-3)	2,93	4,35	0,96	2,01	1,31
C22:6(n-3) DHA	22,66	5,11	11,12	24,78	16,43
∑ PUFA ^c	43,62	29,41	39,51	42,53	43,33
∑ Trans ^d	2,03	1,99	6,73	3,51	5,80
DHA/EPA	4,8	0,9	2,6	4,0	3,4
EPA/ARA	2,4	1,6	1,6	1,8	1,5

^aInclui 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0. ^bInclui 14:1, 16:1 (n-7), 17:1, 18:1 (n-9), 20:1 (n-9), 22:1, 24:1. ^cInclui 18:2(n-6), 20:4(n-6), 18:3(n-3), 20:5(n-3), 22:5(n-3), 22:6(n-3). ^dInclui 14:1 trans; 16:1 trans; 18:1 trans; 18:2 trans; 18:2 trans trans. Lipídeos Totais dos ovos de robalo = 2,61. Valores em cada coluna representam duas ou três repetições/análises. Valores de ácidos graxos para expressar a percentagem do total da área identificada nos cromatogramas; os picos não identificados não foram considerados)

4. Discussão

Para as larvas mais jovens (15 a 27 dias de idade), o tratamento com maior diversidade de zooplâncton apresentou os melhores resultados em sobrevivência e crescimento (Tratamento 3 - Rot + Cop + Art). Este tratamento apresentou a maior disponibilidade de presas (cerca de 1.500 ind/larva/dia, Fig. 1c); e a maior disponibilidade de ácidos graxos (Tab. 1). A sobrevivência foi de apenas 10,5 ± 5,5%, mas deve-se considerar o estresse da captura e distribuição nas unidades experimentais de 30 L, mesmo após um período de aclimação. Em

experimentos realizados por Russo et al. (2009) em tanques de 60 m³ com larvicultura de garoupa, larvas também frágeis como as de robalo, utilizando zooplâncton selvagem, acrescido de rotífero e artemia, a sobrevivência foi de $10,0 \pm 7,0\%$ com 35 dias de cultivo, ressaltando-se que tanques maiores são ambientes mais estáveis para as larvas. No presente estudo, o crescimento também foi significativamente maior no Tratamento 3, e os tamanhos atingidos estão dentro dos padrões descritos previamente para o robalo-peva (Alvarez-Lajonchere et al, 2004). As larvas deste tratamento apresentaram quantidade de PUFA semelhante ao copépodo selvagem, porém o teor de DHA foi 55% menor e a relação DHA:EPA foi de 1,2:1,0. Sargent et al. (1999a) citam que larvas de linguado que ingeriram copépodos calanóides (*Eurytemora* sp.) tiveram maior sobrevivência, taxa de metamorfose e melhor padrão de pigmentação com DHA:EPA de 4,4, embora estes conteúdos sejam bastante espécie-específicos. A relação EPA:ARA no Tratamento 3 foi em torno de 2,0 e no estudo de Sargent et al. (1999a) de 2,6.

Como os padrões de ácidos graxos para larvas de robalo-peva ainda não estão bem estudados, o conteúdo dos ovos destes peixes será apresentado como base, que segundo Sargent et al. (1999b) possuem o conteúdo da dieta ideal para larvas de peixes. Os ovos de robalo apresentaram 44% de PUFA, em função do alto teor de DHA ($\cong 23\%$), fornecendo uma relação DHA:EPA:ARA de 11,4:2,4:1,0; DHA:EPA em torno de 5,0:1,0 e EPA:ARA de aproximadamente 2,5:1,0.

Quanto ao conteúdo de ácidos graxos do alimento vivo, o copépodo selvagem (predominantemente *Acartia tonsa*) e a artemia enriquecida apresentaram grande quantidade de DHA e EPA, e valores mais baixos para ARA. A relação DHA:EPA:ARA foi de 18,5:10,4:1,0 para os copépodos e 8,3:3,4:1,0 para as artemias enriquecidas. Os rotíferos tinham uma quantidade ínfima de DHA, e por isso, apresentaram uma desproporção entre os ácidos graxos essenciais (DHA:EPA:ARA = 0,14:2,6:1,0).

Em experimentos com larviculturas de robalo asiático *Lates calcarifer* (Rajkumar e Vasagam, 2006), os teores de DHA dos copépodos *Acartia clausi* foram bem inferiores (9,37%) aos encontrados no presente estudo (17,0%), e pode ser considerado um desbalanceamento entre DHA:EPA, pois a relação foi de 1,0:1,0 (Sargent et al., 1999b). Para os rotíferos, os teores de ácidos graxos foram semelhantes nos dois estudos, que foram respectivamente: 0,21 e 0,34% de DHA; 6,27 e 6,25% de EPA e 3,64 e 2,4% de ARA. Para artemia a quantidade de DHA variou bastante entre os dois estudos,

provavelmente em função de termos utilizado artemia enriquecida em emulsão lipídica.

Além de ser necessária uma determinada quantidade de cada um dos ácidos graxos essenciais na dieta, as proporções encontradas nos tecidos das larvas estão diretamente relacionadas com as taxas de crescimento. Como pode existir competição entre esses ácidos graxos, é importante controlar tanto a proporção entre os ácidos graxos, quanto as quantidades absolutas. Em estudos com larvas de pargo europeu (*Sparus aurata*) a elevação do DHA na dieta de 0,7 para 2,6%, mantendo-se o EPA constante (0,7%), aumentou o conteúdo do DHA nos lipídeos polares (fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina), disponíveis para as funções metabólicas da larva, e o crescimento das larvas foi significativamente maior (Izquierdo et al., 2000). Isto demonstra a importância do balanço entre os ácidos graxos dos carbonos 20 e 22, indicativo de que o teor de DHA deve ser superior ao de EPA.

No experimento 1 do presente estudo, as larvas do Tratamento 2 (Rot + Cop) apresentaram relação DHA:EPA de 3,2, próxima a descrita por Izquierdo et al. (2000) para o pargo europeu. A quantidade de ARA também esteve dentro dos padrões descritos na literatura (Garcia et al. 2008a), indicando que as larvas do Tratamento 2 tiveram um bom balanceamento entre os ácidos graxos essenciais na sua dieta. As larvas do Tratamento Controle (Rot + Art) apresentaram grande quantidade do ácido linolênico (C18:3n-3), bem superior ao das larvas dos demais tratamentos. Apresentaram também uma relação desbalanceada entre os ácidos graxos DHA:EPA:AA, de 2,0:2,1:1,0, com pouca disponibilidade de DHA. Como a artemia também continha grande quantidade do ácido linolênico, seu alto teor nas larvas estaria explicado. A relativa abundância do ácido linolênico pode ser um problema, uma vez que as larvas de peixes marinhos hidrolisam preferencialmente ARA, EPA, ácido linoléico, ácido oléico e DHA (Plante et al. 2007) e demonstram uma limitada capacidade de biossintetizar fosfolipídeos (Sargent et al. 1999b). E como crescimento e sobrevivência das larvas são dependentes da aquisição dos ácidos graxos essenciais para incorporação como fosfolipídeos da membrana, estes precisam ser ingeridos na dieta.

No Experimento 2 a adição de copépodos não gerou o impacto desejado, pois as larvas do Tratamento Controle tiveram desempenho significativamente superior ou igual aos demais tratamentos. No perfil dos ácidos graxos, as larvas do Tratamento 1 apresentaram uma boa relação DHA:EPA:ARA, que foi de 4,0:1,6:1,0, superior a das larvas no povoamento (T₀) que foi de 1,4:1,6:1,0. As larvas que ingeriram copépodos (Tratamentos 2 e 3) apresentaram maiores reservas de DHA,

com relação entre os ácidos graxos essenciais de 7,3:1,8:1,0 e 5,2:1,5:1,0, respectivamente. Estes índices sugerem que os copépodos são um bom veículo para incorporação de DHA pelas larvas de peixes marinhos. As larvas provenientes dos três tratamentos testados possuíam disponibilidade de DHA bem superior ao das larvas T₀ no povoamento. O Tratamento copépodo apresentou quantidade de DHA cinco vezes maior, o Tratamento copépodo + artemia cerca de três vezes e o tratamento artemia o dobro. Estes resultados são indicadores da boa incorporação do DHA pelas larvas durante o período experimental, seja o veículo artemia enriquecida em emulsão lipídica ou copépodos.

5. Conclusões

A utilização do copépodo *Acartia tonsa* como complemento da dieta foi benéfica para larvas do robalo-peva entre os 15 e 27 dias de idade, pois apesar da pequena quantidade adicionada, melhorou sua sobrevivência e seu crescimento. Para as larvas de 30 a 45 dias a artemia apresentou os melhores resultados. Havendo disponibilidade, é recomendável a adição dos copépodos em larviculturas de robalo-peva até 27 dias em co-alimentação com outros organismos zooplanctônicos.

6. Referências bibliográficas

ALVAREZ-LAJONCHERE, L., CERQUEIRA, V. R., REIS, M. 2002a. Desarrollo embrionario y primeros estadios larvales del robalo gordo, *Centropomus parallelus* Poey (Pisces, Centropomidae) con interés para su cultivo. *Hidrobiológica* 12, n. 2, 89-100

ALVAREZ-LAJONCHERE, L., CERQUEIRA, V. R., SILVA, I. D., ARAÚJO, J., REIS, M. 2002b. Mass production of juveniles of the fat snook *Centropomus parallelus* in Brazil. *Journal of the World Aquaculture Society* 33, n. 4, 506-516.

ALVAREZ-LAJONCHERE, L., CERQUEIRA, V. R., REIS, M., SILVA, I. D., ARAÚJO, J. 2004. First basis for a sustained juvenile production technology of fat snook *Centropomus parallelus* Poey. *Hidrobiológica*, v. 14, n. 1, p. 37-45.

ALVES JR., T. T., CERQUEIRA, V. R., BROWN, J. A. 2006. Early weaning of fat snook (*Centropomus parallelus* Poey 1864) larvae. *Aquaculture*, 253, 334-342.

BARROSO, M. V., CASTRO, J. C., AOKI, P. C. M., HELMER, J. L. 2002. Valor nutritivo de alguns ingredientes para o robalo (*Centropomus parallelus*). *R. Bras. Zootec.* 31, n.6, 2157-2164.

BERSANO, J. G. 2003. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Acartia tonsa*. A potential source of live food for aquaculture. Book abstracts volume I, *World Aquaculture 2003*, p. 95.

BLIGH, E. G. & DYER, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.

CERQUEIRA, V. R. 2005. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. In: *Cultivo do robalo-peva, Centropomus parallelus*. B. Baldisseroto e L. C. Gomes (Org.) UFSM (Ed.), Santa Maria. pp. 401 – 431.

CERQUEIRA, V. R., BERNARDINI, M. E. 1995. The weaning of fat snook *Centropomus parallelus* larvae with experimental and commercial artificial diets. In: *LARVI'95 - Fish & Crustacean Larviculture Symposium*. Oostende, v. 24, p. 272-275.

CHEN, B. N., QIN, J. G., KUMAR, M. S., HUTCHINSON, W., CLARKE, S. 2006. Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail *Seriola lalandi* larvae. *Aquaculture* 256, 489-501.

CONCEIÇÃO, L. E. C., RIBEIRO, L., ENGROLA, S., ARAGÃO, C., MORAIS, S., LACUISSE, M., SOARES, F., DINIS, M. T. 2007. Nutritional physiology during development of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 268, 64-81.

FERRAZ, E. M., CERQUEIRA, V. R., ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L., CANDIDO, S. 2002. Indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, através de injeção e implante de LHRHa. *Bol. Inst. Pesca* 28 (2), 125-133.

GARCIA, A. S., PARRISH, C. C., BROWN, J. A. 2008a. Growth and lipid composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae in response to differently enriched *Artemia franciscana*. *Fish Physiol Biochem* 34, 77–

94.

GARCIA, A. S., PARRISH, C. C., BROWN, J. A. 2008b. Use of enriched rotifers and *Artemia* during larviculture of Atlantic cod (*Gadus morhua* Linnaeus, 1758): effects on early growth, survival and lipid composition. *Aquaculture Research* 39, 406-419.

HARTMAN, L., LAGO, R. C. A. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice* 22, p. 475-476-494.

IZQUIERDO, M. S., SOCORRO, J., ARANTZAMENDI, L., HERNÁNDEZ-CRUZ. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 97-107.

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

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

LOURENÇO, S. O. 2006. Tipos de cultivo, coleta e análises químicas das microalgas. In: *Cultivo de microalgas marinhas. Princípios e aplicações.* ; Rima (Ed.), São Carlos, pp. 295-344.

MARTE, C. L. 2003. Larviculture of marine species in Southeast Asia: current research and industry prospects. *Aquaculture* 227, 293-304.

MORAIS, S., CONCEIÇÃO, L. E. C., RONNESTAD, I., KOVEN, W., CAHU, C., ZAMBONINO INFANTE, J. L., DINIS, M. T. 2007. Dietary neutral lipids level and source in marine fish larvae: Effects on digestive physiology and food intake. *Aquaculture*, 268, 106-122.

OLIVOTTO, I., BUTTINO, I., BORRONI, M., PICCINETTI, C. C., MALZONE, M. G., CARNEVALI, O. 2008. The use of the Mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkia*) larviculture. *Aquaculture* 284, 211-216.

PLANTE, S., PERNET, F., HACHÉ, R., RITCHIE, R., JI, B., McINTOSH, D. 2007. Ontogenetic variations in lipid class and fatty acid composition of haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* in

realtion to changes in diet and microbial environment. *Aquaculture*, 263, 107-121.

RAJKUMAR, M., VASAGAM, K. P. K. 2006. Suitability of copepod, *Acartia clausi* as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): compared to traditional live food organisms with special emphasis on the nutritional value. *Aquaculture* 261, 649-658.

RIVAS, S. L. R. 1986. Systematic review of Perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia* 3, 579-611.

RUSSO, T., BOGLIONE, C., DE MARZI, P., CATAUDELLA, S. 2009. Feeding preferences of the dusky grouper (*Epinephelus marginatus*, Lowe 1834) larvae reared in semi-intensive conditions: A contribution addressing the domestication of this species. *Aquaculture* 289, 289-296.

SARGENT, J., BELL, G., McEVOY, L., TOCHER, D., ESTEVES, A. 1999a. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191-199.

SARGENT, J., McEVOY, L., ESTEVES, A., BELL, G., BELL, M., HENDERSON, J., TOCHER, D. 1999b. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179, 217-229.

SCHIPP, G. The use of Calanoid copepod in semi-intensive, tropical marine fish larviculture. In: Editores Elizabeth Cruz-Suarez, Denis Ricque Marie, Mireya Salazar, Martha López, David Cavazos, Ana Puello Cruz e Armando Garcia Ortega. *Avances em Nutrición Acuícola VIII.VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 15-17 de novembro. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. p. 84-94. 2006.

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

SORGeloos, P., DHERT, P., CANDREVA, P. 2001. Use of the brine shrimp. *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200, 147-159.

SORGELOOS, P., LAVENS, P., LÉGER, P., TACKAERT, W., VERSICHELE, D. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. The Belgian Administration for Developmente Cooperation / FAO, State University of Ghent, Belgium, Faculty of Agriculture, 319 p.

STOTTRUP, J. 2006. A review on the status and progress in rearing copepods for marine larviculture. Advantages and disadvantages. Among Calanoid, Harpacticoid and Cyclopoid copepods. In: Cruz Suárez, Ricque, Salazar, Lopéz, Cavazos, Cruz e Ortega (Ed.). Avances em Nutrición Acuicola VIII. Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, 8, Monterrey, Nuevo Leon, Mexico, p. 62-83.

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

STOTTRUP, J. 2003. Production and nutritional value of copepods. In: Live Feeds in marine aquaculture. Stottrup e McEvoy (Eds.), Oxford, UK, pp. 144-205.

STOTTRUP, J. G., NORSKER, N. H. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture* 155, 231-248.

SUGAMA, K., ISMI, S., KAWAHARA, S., RIMMER, M. 2003. Improvement of larval rearing technique for Humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. *Aquaculture Asia*, v. 8, n. 3, 34-37.

YANES-ROCA, C., RHODY, N., NYSTROM, M., MAIN, K. L., 2009. Effects of fatty acid composition and spawning season patterns on egg quality and larval survival in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Aquaculture* 287, 335-340.

ZAMBONINO INFANTE, J. L., CAHU, C.L. 2007. Dietary modulation of some digestive enzymes and Metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. *Aquaculture*, 268, 98–105.

CONCLUSÕES GERAIS

A utilização do copépodo *Acartia tonsa* como primeiro alimento da larva do robalo-peva em estágios iniciais (de 0 a 14 dias) melhorou o seu desenvolvimento, mesmo com as pequenas quantidades adicionadas. Os resultados demonstram que os copépodos tinham uma melhor composição, em termos de ácidos graxos essenciais do que os rotíferos, que são normalmente utilizados como alimento para larvas no final da fase lecitotrófica. Nesta fase, importantes transformações morfofisiológicas ocorrem e as larvas alimentadas com copépodos tiveram um melhor desenvolvimento.

Nas larvas com idades entre 15 e 27 dias, o Tratamento composto de rotífero, copépodo e artemia apresentou os melhores resultados em crescimento e sobrevivência, indicando que o acréscimo de copépodos, com suas qualidades morfológicas, comportamentais e nutricionais, foi benéfico para larvas desta idade. As larvas do Tratamento Copépodo e Rotífero apresentaram a melhor relação entre os ácidos graxos essenciais.

Para as larvas com mais de trinta dias, nas condições estudadas, não verificou-se impacto positivo com a adição de copépodos. O Tratamento Controle (artemia) apresentou resultados para sobrevivência e crescimento significativamente superiores ou iguais a aqueles onde foram adicionados copépodos. Porém, o estudo demonstrou que a adição de copépodos na dieta melhorou o balanço de ácidos graxos essenciais destas larvas.

Os copépodos selvagens apresentaram altos teores de DHA e EPA e de ARA compatíveis com um bom balanceamento entre eles. As larvas com idade entre a eclosão e 27 dias, que foram alimentadas com dieta contendo copépodos, apresentaram incorporação dos ácidos graxos essenciais, porém, nas dietas mistas os teores de DHA precisam ser melhorados.

Baseado nos resultados obtidos e na dificuldade ainda eminente de produção massiva de copépodos para atender as larviculturas de peixes marinhos, recomenda-se o acréscimo de copépodos para as larvas de robalo-peva do terceiro ao décimo quarto dia de idade. Porém, mais estudos devem ser feitos a respeito da densidade ótima de copépodos a ser ofertada às larvas de *Centropomus parallelus*, para melhor avaliação do seu desempenho como alimento vivo para larvas desta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

ABELLÁN, E.; GARCIA-ALCÁZAR, A.; ARIZCUN, M.; NORTES, M. D.; GARCIA-ALCÁZAR, S. Effect of the photoperiod on growth, survival and inflation of the swim bladder in dentex larvae (*Dentex dentex* L.) **Cah. Options. Mediterr**, Zaragoza, 47: 177-180, 1999.

AGER, L. A.; HAMMOND, D. E.; WARE, F. Artificial spawning of snook. In: ANNUAL CONFERENCE SOUTHEASTERN ASSOCIATION OF FISH AND WILDLIFE, 30, 1976. **Proceedings...** Florida, 1976, v. 30, p. 158-166.

ALVAREZ-LAJONCHERE, L. Cultivo de robalos: potencialidades e resultados. **Panorama da Aquicultura**, V.14, n.85, p. 15-21. 2004.

_____; CERQUEIRA, V. R.; REIS, M. Desarrollo embrionario y primeros estadios larvales del robalo gordo, *Centropomus parallelus* Poey (Pisces, Centropomidae) con interés para su cultivo. **Hidrobiológica**, v. 12, n. 2, p. 89-100. 2002a.

_____; CERQUEIRA, V. R. , SILVA, I. D., ARAÚJO, J., REIS, M. 2002. Mass production of juveniles of the fat snook *Centropomus parallelus* in Brazil. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 33, n. 4, p. 506-516. 2002b.

_____; _____.; _____.; SILVA, I. D.; ARAÚJO, J. First basis for a sustained juvenile production technology of fat snook *Centropomus parallelus* Poey. **Hidrobiológica**, v. 14, n. 1, p. 37-45. 2004.

ALVES JR., T. T.; CERQUEIRA, V. R.; BROWN, J. A. Early weaning of fat snook (*Centropomus parallelus* Poey 1864) larvae. **Aquaculture**, v. 253, p. 334-342. 2006.

ANNI, I. S. A.; PINHEIRO, P. C. Hábito alimentar das espécies de robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1986 e *Centropomus undecimalis* (bloch, 1792) no litoral norte de Santa Catarina e sul do Paraná, Brasil. In: Congresso Latino Americano de Ecologia, 3, 2009, São Lourenço – MG. Anais... São Lourenço, SEB, 2009, p. 1-3.

BARROSO, M. V.; PEREIRA JUNIOR, M. A.; TARDIN, F. D. Frequência relativa das populações de robalo *Centropomus parallelus*,

Centropomus undecimalis e *Centropomus ensiferus* na foz do Rio Doce, Linhares, Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 14, 2005, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: CONBEP, 2005, p.1035-1049. 1 CD.

_____; CASTRO, J. C.; AOKI, P. C. M.; HELMER, J. L. Valor nutritivo de alguns ingredientes para o robalo (*Centropomus parallelus*). **R. Bras. Zootec.**, V.31, n.6, p. 2157-2164. 2002.

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

CERQUEIRA, V. R. **Cultivo do robalo:** aspectos da reprodução, larvicultura e engorda. Ed. Do autor. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2002. 94p. : il., grafs., tabs.

_____; **Espécies nativas para piscicultura no Brasil.** In: Cultivo do robalo-peva, *Centropomus parallelus*. B. Baldisseroto e L. C. Gomes (Org.) Santa Maria: Ed. UFSM, 2005. pp. 401 – 431.

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

_____; MACHIAVELLO, J. A. G.; BRUGGER. A. M. Produção de alevinos de robalo *Centropomus parallelus* Poey, 1860, através de larvicultura intensiva em laboratório. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7, 1992, Peruíbe-SP. **Anais...** São Paulo: Academia de Ciências do Estado de São Paulo, 1995, p.191-199.

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

CHEN, B. N.; QIN, J. G.; KUMAR, M. S.; HUTCHINSON, W.; CLARKE, S. Ontogenetic development of the digestive system in

yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae. *Aquaculture*, v. 256, p. 489-501, 2006.

CONSEPA. Reunião Técnica de Piscicultura. Palmas: UNITINSAGRO, 2004.

COUTO, L. M. M. R.; GUEDES, D. S. Estudo ecológico da região estuarina de Itamaracá, Pernambuco-Brasil. Reprodução de *Centropomus undecimalis* (Block, 1792) - (Pisces: Centropomidae) no Canal de Santa Cruz. Recife: **Boletim Oceanográfico da Universidade Federal de Pernambuco**, v.16, p.217 - 218, 1981.

DINIS, M. T.; RIBEIRO, L.; CONCEIÇÃO, L. E. C.; ARAGÃO, C. Larvae digestion and new weaning experiments in *Solea senegalensis*. **Cah. Options. Mediterr**, Zaragoza, 47: 193-204, 1999.

DIVANACH, P.; KENTOURI, M. Hatchery techniques for specific diversification in Mediterranean finfish larviculture. **Cah. Options. Mediterr**, Zaragoza, 47: 75-87, 1999.

FAO. 2006 Yearbook Fisheries and Aquaculture Statistics. Fisheries and Aquaculture Statistics. Aquaculture Production. FAO, Rome, 2008. p. 25.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, A. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. v. Teleostei (4). São Paulo, Museu de Zoologia da USP, 1985. 105 p.

IBAMA. Portaria nº 49-N, de 13 de maio de 1992. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, DOU 14.05.92, Brasília. Disponível em: <<http://www.propesca.com.br/ProPesca/Area/legislacao.pdf>> Acesso em: 23 jun. 2010.

_____. Portaria nº 2, de 10 de outubro de 1997. Disponível em: <<http://www.mp.sp.gov.br/portal/cao.urbanismoemeioambiente/legislacao.pdf>> Acesso em: 28 jun. 2010.

_____. Instrução normativa nº 20, de 24 de junho de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content.pdf>> Acesso em: 23 jun. 2010.

_____. Instrução normativa nº 10, de 27 de abril de 2009. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil** nº 81, Brasília. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/wp-content/files/IN_n_10-2009-DefesoRobalo-ES.pdf> Acesso em: 23 jun. 2010.

IBEAS, C., CEJAS, J., GÓMEZ, T., JEREZ, S., LORENZO, A. Influence of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth and tissue fatty acid composition. *Aquaculture* 142, 221-235. 1997.

IZQUIERDO, M. S.; SOCORRO, J.; ARANTZAMENDI, L.; HERNÁNDEZ-CRUZ. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 97-107. 2000.

GATLIN, D. M. 1996, Nutrición y alimentación de la curvina y híbrido de lobina. En: Mendoza, Cruz-Suárez y Ricque (Eds.). *Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 7-9 de noviembre de 1994. Monterrey, N.L., Mexico. Universidad Autónoma de Nuevo Leon, p. 123-129, 1996.

GILMORE, R. G., DONOHOE, J., COOKE, D. W. Observations on the distribution and biology of east-central Florida populations of the common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). **Florida Sci.**, 46(3/4), p. 313-336. 1983.

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

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

LAVENS, P., SORGELOOS, P. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Fisheries Technical Paper 361. Patrick Lavens and Patrick Sorgeloos Ed. Rome, 1996. 305 p.

LEHNINGER, A.L., NELSON, D. L., COX, M. M. Princípios de bioquímica. 2º ed. São Paulo: Editora Sarvier, 1995. 1202 p.

MARTE, C. L. Larviculture of marine species in Southeast Asia: current research and industry prospects. *Aquaculture* 227, 293-304. 2003.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Estatística da Aqüicultura e Pesca no Brasil - 2005**. Disponível em: <http://www.presidencia.gov.br/estrutura_presidencia/seap/estatistica> Acesso em: 23 jun. 2010.

MORAIS, S., CONCEIÇÃO, L. E. C., RONNESTAD, I., KOVEN, W., CAHU, C., ZAMBONINO INFANTE, J. L., DINIS, M. T. Dietary neutral lipid level and source in marine fish larvae: Effects on digestive physiology and food intake. *Aquaculture* 268, 106-122. 2007.

MOSCHEN, F. V. A. **Efeito da Artemia enriquecida com ácidos graxos essenciais na larvicultura do robalo-peva *Centropomus parallelus* (Poey, 1860)**. Florianópolis, SC: UFSC, 2000. 65 p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2000.

PERSON-LE RUYET, J.; NOËL, T. Effects of moist pelleted foods on the growth of hatchery turbot (*Scophthalmus maximus*) juvenis. **J. Word Maricul. Soc.**, n.13, p. 237-245, 1982.

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

RAJKUMAR, M.; VASAGAM, K. P. K. Suitability of copepod, *Acartia clausi* as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): compared to traditional live food organisms with special emphasis on the nutritional value, **Aquaculture**, v. 261, p. 649-658. 2006.

RAMOS-PORTO, M.; VASCONCELOS FILHO, A. L. Estudo da disponibilidade de alimentos para os peixes Centropomídeos da região de Itamaracá (Pernambuco-Brasil). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE

AQUICULTURA, 1, 1978. **Anais...** Academia Bras. De Ciências, 1980. p.185-192.

RIVAS, S. L. R. Systematic review of Perciform fishes of the genus *Centropomus*. **Copeia** v.3, p. 579-611.1986.

RODRIGUES, P. P. **Aspectos reprodutivos do robalo peba, *Centropomus parallelus*, na foz do Rio Doce. Linhares/ES.** Vitória, ES: UFES, 2005. 51 p. Monografia (Graduação em Oceanografia) – Universidade Federal do Espírito Santo, 2005.

ROJAS, J. C. Contribucion al concieniento de La biologia de los robalos *Centropomus undecimalis* y *C. poey* em La Laguna de Terminos, Campeche, Mexico. Bol. Inst. Oceanogr. Univ. Oriente, v. 14 (1), p. 51-70. 1975.

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

SARGENT, J.; McEVOY, L.; ESTEVES, A.; BELL, G.; BELL, M.; HENDERSON, J.; TOCHER, D. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. **Aquaculture**, v. 179, p. 217-229. 1999b.

SCHIPP, G. The use of Calanoid copepod in semi-intensive, tropical marine fish larviculture. In: Editores Elizabeth Cruz-Suarez, Denis Ricque Marie, Mireya Salazar, Martha López, David Cavazos, Ana Puello Cruz e Armando Garcia Ortega. Avances em Nutrición Acuícola VIII.VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 de novembro. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. p. 84-94. 2006.

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

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

Biological Research, v. 34, p. 645-651. 2001.

SHAFLAND, P. L.; KOEHL, D. H. Laboratory rearing of the common snook. **Proc. Ann. Conf. S.E. Assoc. Fish. Wildl. Agencies** v. 33, p. 425-431. 1979.

SILVA, A. **Cultivo de peces marinos**. Alfonso Silva Ed. Coquimbo, 2003. 253 p.

STOTTRUP, J. G. Production and nutritional value of copepods. In: *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Stottrup e McEvoy Ed. Oxford, UK, p. 147-205. 2003.

STOTTRUP, J. G; NORSKER, N. H. Production and use of copepods in marine fish larviculture. **Aquaculture**, v. 155, p. 231-248. 1997.

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

TAYLOR, R. G.; WHITTINGTON, J. A.; GRIER, H. J.; CRABTREE R. E. Age, growth, maturation, and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coasts of South Florida. **Fishery Bulletin** 98, n. 3, p. 612-624, 2000.

TUCKER, J. W.; CAMPBELL, S. W. Spawning season of common snook along the East Central Florida Coast. **Florida Scientist**, Fort Pierce, v. 51, n. 1, p. 1-6. 1988.

VASCONCELOS FILHO, A. L.; AZEVEDO, S. B.; ALVES, M. L. C. Regime alimentar dos camorins (*Centropomus undecimalis*, Bloch, 1792 e *Centropomus parallelus*, Poey, 1860) do Canal de Santa Cruz, Pernambuco, Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 1, 1978. **Anais...** Academia Bras. De Ciências, 1980. p.175-184.

VANACOR, M.; AOKI, P. Ocorrência dos robalos *Centropomus* spp. nos rios Guaxindiba, Sahy, Putiri I e Putiri II, Barra do Sahy, município de Aracruz - Espírito Santo (Perciformes: Centropomidae) In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 10, 1997, Guarapari. **Anais...** Vitória. 1 CD.

YANES-ROCA, C. **Husbandry and larval rearing of common snook (*Centropomus undecimalis*)**. Stirling, Scotland: University of Stirling, 2006. 288 p. Thesis. (Doctor on Philosophy) – University of Stirling, 2006.

ZAMBONINO INFANTE, J. L., CAHU, C.L. Dietary modulation of some digestive enzymes and Metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. **Aquaculture**, v. 268, p. 98–105. 2007.