

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
MESTRADO EM BIOLOGIA ANIMAL

Cultivo em Massa do Copépodo Bentônico *Tisbe biminiensis*
(Harpacticoida) e Sua Utilização na Larvicultura do Camarão
Macrobrachium rosenbergii (Palaemonidae).

Aurelyanna Christine Bezerra Ribeiro

RECIFE
2005

MESTRADO EM BIOLOGIA ANIMAL

Aurelyanna Christine Bezerra Ribeiro

Cultivo em Massa do Copépodo Bentônico *Tisbe biminiensis*
(Harpacticoida) e Sua Utilização na Larvicultura do Camarão
Macrobrachium rosenbergii (Palaemonidae).

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado em Biologia Animal da Universidade
Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências
Biológicas na área de Biologia Animal.

Orientador:

Profa. Dra. Lília Pereira de Souza Santos

RECIFE
2005

Ribeiro, Aurelyanna Christine Bezerra
Cultivo em massa do copépodo bentônico *Tisbe biminiensis* (Harpacticoida) e sua utilização na larvicultura do camarão *Macrobrachium rosenbergii* (Palaemonidae) / Aurelyanna Christine Bezerra Ribeiro. – Recife : O Autor, 2005.
viii, 51 : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Biologia Animal, 2005.

Inclui bibliografia.

1. Ciências biológicas – Biologia animal. 2. Meiofauna – Copépodo bentônico – Cultivo. 3. *Tisbe biminiensis* (Harpacticoida) – Utilização na larvicultura do camarão *Macrobrachium rosenbergii*.
I. Título.

595.34
595.34

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
BC2005-304

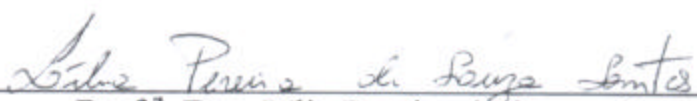
MESTRADO EM BIOLOGIA ANIMAL

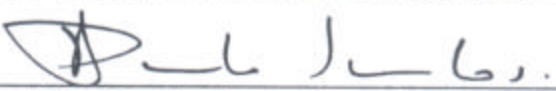
Aurelyanna Christine Bezerra Ribeiro

Cultivo em Massa do Copépodo Bentônico *Tisbe biminiensis*
(Harpacticoida) e Sua Utilização na Larvicultura do Camarão
Macrobrachium rosenbergii (Palaemonidae).

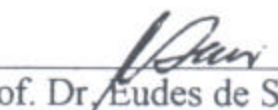
Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 21 de Fevereiro de 2005.

Examinadores


Prof.^a. Dra. Lília Pereira de Souza Santos.


Prof. Dr. Paulo Jorge Parreira dos Santos.


Prof. Dr. Ralf Schwamborn.


Prof. Dr. Eudes de Souza Correia.

Suplentes:

Prof. Dr. Petrônio Alves Coelho.

Prof.^a. Dra. Verônica Gomes da Fonseca Genevois.

RECIFE
2005

“Deus deu aos homens a terra firme, as lagoas e os mares mansos. Mas o mar absoluto, esse ele deu ao perigo e ao abismo. Então o jeito é só navegar no marzinho sem perigo e sem abismo! Pode ser. Mas aí o olho de gente fica feito olho de boi, parado nada vê, e quando vê fica assustado. Deus é perigo é abismo. Mora no grande mar. Por isso é só nele que se espelha o céu. Quem viu o céu espelhado no abismo e no perigo, esse terá para sempre no olhar, o brilho da eternidade”.

Rubem Alves

**Ao grande amigo Osni A. da
Silva, pela sua torcida, incentivo
e pelo seu amor por mim.**

AGRADECIMENTOS

À professora Dra. Lília Pereira de Souza Santos, pela a orientação e pelos valiosos ensinamentos adquiridos neste curto período de convívio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento deste trabalho como parte do projeto Produção de Alimentos Vivos Alternativos na Larvicultura do *Macrobrachium rosenbergii*.

Aos pesquisadores e técnicos da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA/E. E. Ipojuca, pelo apoio durante o período de realização deste trabalho. Com muito carinho agradeço aos grandes amigos Eidy Simões, Mario Alberto e Severino Marcelino, cada um com sua maneira bem particular de ser me ajudou, me incentivou e me conquistou.

À Lília, Paulo e Amanda Santos, pelo carinho amizade e pela companhia nos muitos finais de semana em Porto de Galinhas.

À Silvia Cecília, Beatriz Oliveira, Rodolfo Castro, Alzira Patrícia, Daniele Vasconcelos, Waleska Costa, Ana Cecília, Carla Daniele, Lílian Cristine, Rodolfo Araújo, Arley Andrade, Teodoro Vaske, Marcelo Nóbrega, André Samico, Natasha Ferreira e Débora Suzuki pela valiosa ajuda e por me fazerem companhia lá em Porto de Galinhas ajudando a diminuir a saudade.

Aos professores da banca examinadora pelas sugestões para o aprimoramento desta dissertação.

À Professora Maria Eduarda de Larrazábal, coordenadora do Mestrado em Biologia Animal, assim como à Ana Elizabeth, secretária do Mestrado, pela atenção, disponibilidade sempre demonstrada e pelo carinho.

Aos professores e alunos do Mestrado em Biologia Animal pelos bons momentos compartilhados, em especial a Déborah Suzuki, Eduardo Lima, Ilca Araújo, Leandro Yokota, Priscila Murolo, Etienne Almeida e Viviane Lúcia.

Aos professores, funcionários e alunos do Departamento de Oceanografia da UFPE pela amizade e companheirismo, em especial a Professora Mônica Costa, Professor Petrônio Alves Coelho, Professor Ralf Schwamborn, Petrônio Filho, Adilma Cocentino, Anita Valença, Nathalia Guimarães, Thiago Reis, Maristela Casé, Maria Cristina Araújo e Marcelo Rollnic.

A todos que fizeram e fazem parte da equipe do Laboratório de Cultivo do Departamento de Oceanografia da UFPE: Cristiane Castro, Júlia Maria, Lílian Cristine, Natasha Ferreira, Rodolfo Araújo e Weruska Melo, por todos os momentos que vivemos juntos, compartilhando as alegrias e os ensinamentos.

À Cristiane M.V. de A. Castro, pelo apoio constante e sua valiosa amizade.

Aos professores, alunos e funcionários do Departamento de Pesca da UFRPE, sempre muito atenciosos e amigos, o que faz me sempre me sentir “em casa”, em especial aos Professores Rosangela Lessa, Eudes Correia, Alfredo Galvez, José Carlos, Paulo Guilherme, Paulo Travassos, Fábio Hazin e José Milton.

A Alex Dantas, pela presença constante, sua amizade e seu carinho especialmente nos momentos que antecederam a apresentação deste trabalho.

Aos muito queridos: Adriana das Graças, Adriano Guaraná, Bernardo Muniz, Francisco Marcante, Grazielle Dariano, Jacqueline Guimarães, Joab Joaquim, José Lúcio, Karina Suzana, Marcelo Costa, Mércia Lima, Niraldo Melo, Paulo Duarte, Simone Fernanda e Taysa Adriana, Teodoro Vaske e Werlane Mendes que, cada um com uma história diferente e com jeito todo especial, continuam sendo o meu referencial de coragem, profissionalismo, otimismo, companheirismo e amizade.

À minha família: meus pais, irmãos e minha tia Rozélia Bezerra por todo incentivo e carinho.

À Deus que está sempre presente em todos os momentos da minha vida.

Tabela 1 – Produção obtida para algumas espécies de copépodos cultivados com diferentes métodos.....	24
Tabela 2 – Resumo dos resultados obtidos nos dois experimentos de sustentabilidade dos cultivos de <i>Tisbe biminiensis</i> (média $\pm$ desvio padrão).....	26
Tabela 3 – Esquema distribuição do alimento vivo nos experimentos testando a substituição total e parcial de náuplios de <i>Artemia</i> pela prole do copépodo <i>Tisbe biminiensis</i> na larvicultura de <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	36
Tabela 4 – Ingredientes utilizados na formulação do alimento inerte (PME) produzido no Laboratório de Larvicultura da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA – Estação Experimental de Ipojuca/PE.....	36
Tabela 5 – Resultados do primeiro teste de desempenho do copépodo <i>Tisbe biminiensis</i> na larvicultura de <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	38
Tabela 6 – Resultados do segundo teste de desempenho do copépodo <i>Tisbe biminiensis</i> na larvicultura de <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	40
Tabela 7 – Densidades mínimas de náuplios de <i>Artemia</i> fornecidas para larvas de <i>M. rosenbergii</i> e respectivas médias de sobrevivência obtidas.....	44

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1 – Copépodo Harpacticoida bentônico <i>Tisbe biminiensis</i> Volkmann-Rocco, 1973.....	06
Figura 2 – Caixas utilizadas no cultivo do copépodo <i>Tisbe biminiensis</i>	09
Figura 3 – Procedimento de troca da água dos cultivos de <i>Tisbe biminiensis</i>	09
Figura 4 – Médias e desvios padrões do número total de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros nos tratamentos com coleta de prole e sem coleta de prole e produção de prole ao longo de 28 dias de cultivo.....	13
Figura 5 – Médias e desvios padrões do número de náuplios de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros nos tratamentos com coleta de prole e sem coleta de prole e náuplios coletados na prole ao longo de 28 dias de cultivo.....	14
Figura 6 – Médias e desvios padrões do número de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros e prole coletada nos tratamentos com sedimento e sem sedimento após uma semana.....	15
Figura 7 – Médias e intervalos de confiança da população total e náuplios de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a primeira etapa de 130 dias.....	16
Figura 8 – Médias e intervalos de confiança do número de copépodos e fêmeas ovadas de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a primeira etapa de 130 dias.....	16
Figura 9 – Produção de prole de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante o cultivo em massa realizado na primeira etapa de 130 dias.....	17
Figura 10 – Médias e intervalos de confiança da população total e náuplios de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a segunda etapa de 70 dias.....	18
Figura 11 – Médias e intervalos de confiança do número de copépodos e fêmeas ovadas de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a segunda etapa de 70 dias.....	19
Figura 12 – Produção de prole de <i>Tisbe biminiensis</i> em cultivos de 5 litros realizados na estação de aqüicultura do IPA durante o cultivo em massa realizado na segunda etapa de 70 dias.....	20

Figura 13 – Médias e desvios padrões do número total de copépodos existentes em 5 caixas de cultivo antes e depois da retirada da prole e a evolução da recuperação dos cultivos durante sete dias. Letras iguais representam médias não estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey.....	21
Figura 14 – Tanques de cultivo experimentais utilizados na larvicultura do <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	33
Figura 15 – Médias e desvios padrões do número total de <i>M. rosenbergii</i> sobreviventes após o primeiro teste de avaliação do <i>T. biminiensis</i> como substituto da <i>Artemia</i> . Letras iguais representam médias não estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey.....	39
Figura 16 – Médias e desvios padrões do número total de <i>M. rosenbergii</i> sobreviventes após o segundo teste de avaliação do <i>T. biminiensis</i> como substituto da <i>Artemia</i> . Letras iguais representam médias não estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey.....	41

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos desenvolver técnicas de cultivo em massa do copépodo *Tisbe biminiensis* em volumes de 5 litros e avaliar o seu desempenho como substituto da *Artemia* na larvicultura do camarão *Macrobrachium rosenbergii*. O cultivo do copépodo foi realizado em caixas plásticas (32 x 47 x 14,5 cm) munidas de aeração, com 5 litros de água do mar filtrada, sob temperatura ambiente e salinidade de 35‰. O alimento fornecido diariamente foi ração para peixes de aquário e a cada dois dias, nas trocas de água, 500ml das diatomáceas *Phaeodactylum tricornutum* ou *Thalassiosira fluviatilis*. Em todos os experimentos o número de copépodos foi estimado por sub-amostragem. O teste de desempenho do copépodo na larvicultura do *M. rosenbergii* foi realizado com quatro réplicas para cada um dos cinco tratamentos: 0, 25, 50, 75 e 100% de introdução de copépodo. Os resultados obtidos demonstraram que a coleta semanal de prole e a presença de sedimento arenoso não afetaram o crescimento dos copépodos. Os testes de sustentabilidade dos cultivos demonstraram que *T. biminiensis* cresceu bem em laboratório mantendo altas densidades por períodos de até 130 dias. O sistema de cultivo produziu uma média de 28.000 indivíduos/l/dia. A população de copépodos se recuperou 4 dias após a retirada da prole. A substituição da *Artemia* pelo *T. biminiensis* não foi favorável a *M. rosenbergii*, porém as altas mortalidades observadas no controle indicam algum tipo de problema no sistema de cultivo que pode ter influenciado os resultados.

ABSTRACT

The aim of this study was to develop the mass culture of the copepod *Tisbe biminiensis* in volumes of 5 liters and to evaluate its performance as total or partial substitute of *Artemia* in culture of the prawn *Macrobrachium rosenbergii* larvae. The copepods culture was accomplished in plastic boxes (32 x 47 x 14,5 cm) with 5 liters of filtered and aerated seawater, at natural temperature and salinity of 35‰. Daily the copepods were fed with ration for aquarium fish and every other day, during total water change, with 500ml of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* or *Thalassiosira fluviatilis*. In all experiments the number of copepods was estimated by sub-sampling. The performance test of copepod as food for *M. rosenbergii* larvae was designed with five diet treatments (0, 25, 50, 75 and 100% of copepod introduction), each one with four replicates. The results demonstrated that the offspring harvest once a week and the presence of sediment in the boxes did not affect copepods' population growth. The copepod *Tisbe biminiensis* grew well reaching high abundance during a 130 days period with relatively simple culture techniques. The culture system produced an average of 28.000 ind/l/day. The population reestablished 4 days after the offspring harvest. The *Artemia* substitution by *Tisbe biminiensis* was not favorable for *M. rosenbergii* larvae, but high mortality in controls indicate some problems in the culture system which could have influenced the results.

SUMÁRIO	pág.
AGRADECIMENTOS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1 – Cultivo em Massa do Copépodo Bentônico <i>Tisbe biminiensis</i> (Harpacticoida) em volumes de 5 litros.....	4
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVO.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
4. RESULTADOS.....	13
5. DISCUSSÃO.....	22
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
CAPÍTULO 2 – Utilização do Copépodo Bentônico <i>Tisbe biminiensis</i> (Harpacticoida) na Larvicultura do Camarão <i>Macrobrachium rosenbergii</i> (Palaemonidae).....	29
1. INTRODUÇÃO.	30
2. OBJETIVOS.....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4. RESULTADOS.....	38
5. DISCUSSÃO.....	42
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

Introdução Geral

Considerado o maior dos camarões de água doce, podendo atingir 32 cm de comprimento total e 500 gramas de peso (VALENTI, 1990), o *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) ocorre no fundo dos rios, lagos e reservatórios, que se comunicam com a água salobra, e em áreas estuarinas das regiões tropicais e subtropicais do Indo-Pacífico (PINHEIRO & HEBLING, 1998).

Na natureza, durante a época reprodutiva, as fêmeas ovígeras de *M. rosenbergii* migram para regiões estuarinas, onde ocorre a incubação dos ovos e a liberação de larvas no estágio denominado zoea. Estas larvas são carnívoras e dependem de água salobra para seu desenvolvimento, passando por 11 estágios de zoea antes de alcançarem o estágio de pós-larva. Como pós-larva, elas mudam seus hábitos planctônicos para bentônicos (PINHEIRO & HEBLING, 1998).

A introdução deste camarão no Brasil ocorreu no ano de 1977 por intermédio do Departamento de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco. A espécie demonstrou ótima capacidade de adaptação às condições climáticas locais e devido ao grande interesse que começou a despertar, o governo do Estado de Pernambuco, por intermédio da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, instalou em 1982, na praia de Porto de Galinhas, um laboratório com capacidade para produzir 20 milhões de pós-larvas por ano (CAVALCANTI, 1998).

O trabalho pioneiro desenvolvido pelo IPA, referente à produção de pós-larvas, realização de pesquisa, formação de pessoal e prestação de assistência técnica, tornou possível a propagação da carcinocultura de água doce por quase todo o território nacional (CAVALCANTI, 1998). Atualmente existem cerca de 350 fazendas de engorda instaladas em 16 estados do Brasil, estas fazendas dependem de pós-larvas fornecidas por apenas cinco larviculturas que se encontram em funcionamento regular em todo Brasil (MORAES-RIODADES, 2004). Desta forma a disponibilidade de pós-larvas é um dos elos mais fracos da cadeia produtiva e tem sido responsável pelo abandono da atividade por centenas de produtores (VALENTI, 2004).

De uma maneira geral, as altas mortalidades ocorrentes em larviculturas de peixes e crustáceos estão relacionadas, entre outros fatores, às deficiências nutricionais (BARRETO & CAVALCANTI, 1997). Uma alimentação adequada é um dos fatores de fundamental importância para o sucesso da larvicultura de *M. rosenbergii*. Atualmente,

a maioria das larviculturas comerciais de *M. rosenbergii* utiliza náuplios de *Artemia* recém eclodidos durante o ciclo larval inteiro além de uma dieta úmida (BARROS & VALENTI, 2003a). As larvas dependem durante os 10 primeiros dias de cultivo (até estágio zoea VI) exclusivamente de *Artemia* passando a partir daí a usar ração como complemento durante o período diurno (VALENTI *et al.*, 1998).

A *Artemia* é um microcrustáceo branquiópodo próprio de ambientes aquáticos de elevada salinidade que se encontra distribuído em todo o mundo. Este animal vem desempenhando um papel fundamental no desenvolvimento da aqüicultura, como alimento vivo para estágios iniciais do desenvolvimento de peixes e crustáceos. Este fato se deve à grande facilidade de estocagem dos seus cistos de resistência (LAVENS & SORGELOOS, 1998).

No Brasil, a *Artemia* é encontrada nas salinas do Rio Grande do Norte em consequência de inoculações feitas em 1977 com cistos provenientes da baía de São Francisco (Califórnia, EUA). Ao longo dos anos ela se dispersou por toda a região salineira do Rio Grande do Norte e exerceu papel importante no desenvolvimento e consolidação da carcinocultura do nordeste do Brasil, especialmente em relação à provisão de cistos e biomassa utilizados nas larviculturas e nos laboratórios de maturação (CÂMARA, 2004).

Mais de 90% da produção de cistos de *Artemia*, que se encontram disponíveis no mercado internacional, provém de Great Salt Lake (Utah, EUA) como resultado das atividades de extração a partir das populações naturais (LAVENS & SORGELOOS, 1998). A produção brasileira de cistos é da ordem de duas toneladas anuais, ficando muito aquém da demanda nacional que é de 16,4 toneladas anuais. Esta produção não apresenta perspectivas de aumento em curto prazo, uma vez que depende unicamente da produtividade natural das salinas do Rio Grande do Norte (CÂMARA, 2004).

O equilíbrio das populações de *Artemia* está sujeito a variações ambientais, sobretudo de origem climática, podendo assim, em certas épocas do ano, a oferta de cistos diminuir bastante. Este tipo de eventualidade, somado ao aumento da demanda, pode se tornar bastante prejudicial para o bom desenvolvimento da aqüicultura (LAVENS & SORGELOOS, 1998).

Por outro lado, a proliferação de vários tipos de vírus que atacam principalmente camarões peneídeos, tem levado o governo brasileiro a restringir as importações de cistos de *Artemia* provindos de países nos quais já se tenha detectado infecções virais (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO, 1999). Este tipo de

medida, se por um lado protege o país da entrada de patógenos que poriam em risco a carcinocultura nacional, pode no futuro inviabilizar a produção de pós-larvas que dependem destes cistos.

Desta forma, torna-se importante procurar um alimento vivo alternativo que possa substituir total ou parcialmente os náuplios de *Artemia*. Outros alimentos vivos vêm sendo testados como substitutos dos náuplios de *Artemia* em larviculturas como: rotíferos, nematódeos, copépodos e cladóceros, entre outros (LAVENS & SORGELOOS, 1998). Nas últimas décadas, houve um grande interesse pela produção de copépodos harpacticóides como alimento vivo para larvas de peixes e crustáceos (KAHAN, 1981; KAHAN *et al.*, 1981/1982; TSENG & HSU, 1984).

Alvarez-Lajonchere & Molejon (1998) citam várias vantagens no uso de copépodos no cultivo de peixes marinhos: grande variedade de tamanhos corporais entre o náuplio (50µm) e o adulto (1mm); seus movimentos em zig-zag constituem um estímulo visual para as larvas; alto conteúdo energético; predomínio de fosfolípidos sobre os triglicerídeos; alto conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) e outros compostos essenciais como carotenos; possuem antioxidantes naturais para a proteção e disponibilidade dos PUFA; e níveis enzimáticos altos que ajudariam a digestão larval.

O copépodo harpacticóide *Tisbe biminiensis* Volkmann-Rocco, 1973 vem sendo cultivado em laboratório desde 1998, pela equipe da Dra. L. P. Souza-Santos, no Departamento de Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco. Esta espécie foi estudada em experimentos que avaliavam a influência da dieta alimentar no crescimento e fecundidade (PINTO *et al.*, 2001; ARAÚJO-CASTRO, 2002). O efeito da redução da salinidade na sobrevivência e fecundidade foi avaliado por Ferreira (2003). Pastor (2003) desenvolveu técnicas de cultivo desta espécie em volumes de 500 ml.

Diante do quadro atual da produção e demanda por cistos de *Artemia* e as possíveis restrições do seu uso, este trabalho tem como objetivo desenvolver técnicas de cultivo em massa do copépodo harpacticóide bentônico *Tisbe biminiensis* em volumes de 5 litros e testá-lo como substituto total ou parcial da *Artemia* na larvicultura do camarão *Macrobrachium rosenbergii*.

Capítulo 1

Cultivo em Massa do Copépodo Bentônico *Tisbe biminiensis* (Harpacticoida) em Volumes de 5 Litros.

1. Introdução

O cultivo de organismos aquáticos para serem utilizados como alimento para larvas de peixes e crustáceos é de grande interesse para as larviculturas (HERNÁNDEZ MOLEJÓN & ALVAREZ-LAJONCHERE, 1998). Sendo, de fundamental importância a disponibilidade de um alimento vivo que possua alto valor nutricional, para promover melhor crescimento e sobrevivência de larvas de peixes e crustáceos (TESHIMA *et al.*, 1983; SARGENT *et al.*, 1997).

Segundo Lavens & Sorgeloos (1996), entre os copépodos, os harpacticóides bentônicos, principalmente os gêneros *Tisbe* e *Tigriopus*, possuem características que facilitam o seu cultivo, tais como: alta fecundidade e curto tempo de geração; limites extremos de tolerância às mudanças ambientais (salinidades 15-70‰ e temperaturas de 17-30 °C); usam uma grande variedade de alimento, como microalgas, fermento, rações secas; e chegam a alcançar altas densidades populacionais.

O cultivo em massa de copépodos harpacticóides já foi estudado para diversas espécies, entre elas: *Tigriopus japonicus* (FUKUSHO, 1980; TSENG & HSU, 1984), *Tigriopus brevicornis* (VILELA, 1984), *Amphiascoides atopus* (SUN & FLEEGER, 1995), *Schizopera elantensis* (KAHAN, 1981), *Cletocamptus deitersi* (FERREIRA, 2003; ARAÚJO, 2004), *Tisbe holothuriae* (KAHAN *et al.*, 1981/1982; GAUDY & GUERIN, 1982; STOTTRUP & NORSKER, 1997), *Tisbe* sp. (KAHAN *et al.*, 1981/1982) e *Tisbe biminiensis* (PASTOR, 2003). Os resultados alcançados demonstram que os harpacticóides podem atingir densidades populacionais de até 412 ind/ml, com a utilização de uma grande variedade de alimentos e as mais variáveis técnicas de cultivo, desde as consideradas simples, com trocas de água e coleta de indivíduos realizadas manualmente, até as mais avançadas, com sistema de recirculação de água.

O cultivo intensivo de copépodos pode representar uma alternativa aos alimentos vivos já utilizados nas larviculturas, podendo gerar futuramente uma independência, mesmo que parcial, do fornecimento de cistos de *Artemia*. Este trabalho se propõe a realizar o cultivo em massa do copépodo *Tisbe biminiensis* (Figura 1) desenvolvendo técnicas que promovam o crescimento populacional e a produção de prole em volumes de 5 litros.



Figura 1 – Copépodo Harpacticoida bentônico *Tisbe biminiensis* Volkmann-Rocco, 1973.

2. Objetivos

2.1. Geral

- ✓ Desenvolver técnicas de cultivo em massa do copépodo *Tisbe biminiensis* em volumes de 5 litros.

2.2. Específicos

- ✓ Testar se a coleta de prole afeta significativamente o crescimento populacional dos copépodos em volumes de 5 litros;
- ✓ Avaliar se a presença do sedimento arenoso aumenta o número de copépodos produzidos;
- ✓ Saber em quanto tempo a população de copépodos se recupera após a retirada da prole;
- ✓ Acompanhar se a população de copépodos em volume de 5 litros pode ser mantida em altas densidades e com alta produção de prole por períodos superiores a um mês.

3. Material e Métodos

Este trabalho foi realizado no Departamento de Oceanografia (DOCEAN) da UFPE, onde foi iniciado o cultivo do copépodo *Tisbe biminiensis* em volumes de 5 litros e foram desenvolvidos os experimentos que avaliaram o efeito de coleta semanal de prole e o efeito da presença de sedimento arenoso nas caixas de cultivo. Posteriormente, na Estação de Aqüicultura da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA/ Ipojuca – PE, foram realizados os experimentos que determinaram o tempo de recuperação dos cultivos após a coleta de prole e de sustentabilidade dos cultivos (Etapas 1 e 2).

Cultivo em massa do copépodo *Tisbe biminiensis* em volumes de 5 litros.

Para a produção dos copépodos, em volumes de 5 litros, parte da população mantida no Laboratório de Cultivo de Invertebrados Marinhos - DOCEAN/UFPE, em volumes de 500ml, foi concentrada e submetida a uma amostragem.

Após a amostragem os animais foram transferidos para um balde graduado e o volume elevado a 6 litros. O conteúdo do balde foi homogeneizado e cada litro foi utilizado para iniciar um novo cultivo. Este cultivo foi realizado em caixas plásticas transparentes de 32 cm de largura, 47 cm de comprimento e 14,5 cm de altura, perfazendo uma superfície 0,15 m² e capacidade para 20 litros, preenchidas com 4,5 litros com água do mar filtrada por filtro cunho de 3 µm, na salinidade de 30 a 35‰ (figura 2). Em cada caixa foram adicionados 200g de sedimento arenoso, esterilizado por aquecimento a 200°C após a retirada do sal. A partir do segundo experimento não houve mais a introdução de sedimento arenoso nas caixas de cultivo. As caixas foram mantidas tampadas, sob condições naturais em ambiente sombreado e cada uma recebeu duas mangueiras de ar com pedras porosas. A alimentação consistiu de ração para peixe de aquário em quantidade de 0,3 a 1g que foi acrescentada diariamente, conforme o crescimento da população, e da diatomácea *Phaeodactylum tricornutum* ou *Thalassiosira fluviatilis*, adicionada a cada troca de água em quantidade de 500ml na concentração aproximada de 1,10x10⁶ células/ml.



Figura 2 – Caixas utilizadas no cultivo do copépodo *Tisbe biminiensis*.

As microalgas foram cultivadas no mesmo laboratório através das técnicas padrões de preparação de meios de cultura consistindo de água do mar filtrada enriquecida com nutrientes do meio f/2 de Guillard (GOMES, 1986); autoclavagem de todo material e repicagem periódica dos inóculos. A densidade algal foi estimada por contagem em câmara de Malassez.

Trocas de água foram realizadas a cada dois dias vertendo-se o conteúdo da caixa de cultivo em uma peneira de 63 μ m, que não permite a passagem de copépodos em nenhum estágio de desenvolvimento. Em seguida o material retido na peneira foi devolvido para a caixa de cultivo onde ocorreu a adição de água limpa e alimento (figura 3).



Figura 3 – Procedimento de troca da água dos cultivos de *Tisbe biminiensis*.

Na realização do processo de amostragem, técnica utilizada para estimativa do número de copépodos existentes no cultivo, o conteúdo da caixa foi vertido em uma peneira de 63µm. O conteúdo retido na peneira foi depositado em um balde graduado, com uma quantidade de água do mar determinada de acordo com a evolução dos cultivos. Uma forte aeração foi empregada no fundo do balde com a realização de movimentos irregulares. Quando os organismos encontravam-se distribuídos homogeneamente as sub-amostras foram retiradas utilizando-se um amostrador com capacidade de 10ml, composto por uma haste presa a um pequeno copo. Nos experimentos que utilizaram sedimento arenoso no fundo das caixas a retirada dos copépodos deste era feita por dez lavagens ou elutriagens do sedimento usando a água do próprio cultivo após passar pela peneira de 63µm.

A taxa intrínseca de crescimento (r em dias⁻¹) foi calculada segundo Odum (1988), utilizando os dados de número total médio de indivíduos existentes no início dos cultivos (N_i) e o número total médio de indivíduos existentes no primeiro pico populacional (N_{max}): $r = (\ln N_{max} - \ln N_i) / \text{Tempo em dias}$.

A Análise de Variância foi utilizada para determinar as possíveis diferenças entre os tratamentos, após ser testada a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. O teste de Tukey foi usado posteriormente para comparar as médias duas a duas (ZAR, 1999).

O trabalho constou de cinco experimentos.

Experimento 1 - Efeito da coleta semanal de prole

Este experimento teve como objetivo testar se a coleta semanal de prole, constituída de náuplios e copepoditos, afeta significativamente o crescimento populacional dos copépodos.

A coleta de prole foi realizada com auxílio de peneiras granulométricas de 250 e 63µm de abertura de malha, acopladas a um balde vazado. O conteúdo da caixa de cultivo de copépodos foi vertido na peneira de 250µm, que proporciona a passagem dos náuplios e copepoditos para a peneira de 63µm. Assim tivemos a maioria dos copépodos adultos retidos na peneira de 250µm e a maioria da prole retida na peneira de 63µm.

Das seis caixas de cultivo apenas três foram submetidas à coleta semanal de prole. O número de copépodos foi estimado semanalmente, ao longo de quatro semanas, através de três sub-amostras por caixa. A proporção das sub-amostras foi inicialmente de 10/600ml e com o crescimento da população passou a ser de 10/3000ml.

Experimento 2 - Efeito da presença de sedimento arenoso nas caixas de cultivo

O objetivo deste experimento foi testar se a presença de sedimento arenoso afeta significativamente o crescimento populacional dos copépodos.

Ao final do experimento anterior, o sedimento foi retirado de três das seis caixas de cultivo, escolhidas aleatoriamente. A prole das seis caixas foi coletada e os copépodos retidos em 250 µm usados para mais uma semana em cultivo, seguindo a mesma metodologia anteriormente descrita.

Experimento 3 - Sustentabilidade dos cultivos - Primeira etapa realizada entre 29 de junho a 05 de novembro de 2003

Este experimento teve como objetivo acompanhar se a produção de copépodos poderia se manter em altas densidades e com alta produção de prole por períodos superiores a um mês.

Os copépodos produzidos nos experimentos anteriores foram concentrados e levados para a Estação de Aqüicultura do IPA. Após serem colocados em 20 litros de água do mar foi realizada uma amostragem inicial, com a retirada de três sub-amostras na proporção de 10/20000ml. Em seguida, cada litro foi usado para iniciar um novo cultivo de 5 litros, que foi mantido por um período de 130 dias.

A evolução dos cultivos foi acompanhada através de amostragens realizadas semanalmente e nos dias de coleta de prole. Devido ao grande número de réplicas (20) só foi realizada uma sub-amostra de 10ml por caixa na proporção de 10/4000ml.

A produção de prole foi plotada diariamente e na maioria dos casos apenas uma caixa era usada para esta coleta, o que impede a plotagem de desvio padrão para esta variável para cada dia de coleta. O número total de copépodos no cultivo foi plotado semanalmente ou em intervalos menores agrupando estimativas feitas com no máximo três dias de intervalo. Algumas vezes o número total de uma caixa era usado antes e depois da coleta de prole para estimativa do número médio em determinado dia o que tende a aumentar os intervalos de confiança estimados.

Experimento 4 - Sustentabilidade dos cultivos - Segunda etapa realizada de 14 de janeiro a 20 de março de 2004

O objetivo foi avaliar o crescimento da população de copépodos e a produção de prole, comparando-os aos do experimento anterior.

Dez caixas de cultivo de copépodos foram mantidas por um período aproximado de dois meses. A evolução dos cultivos foi acompanhada através de amostragens realizadas a cada seis dias e nos dias de coleta de prole. Devido ao grande número de réplicas (10) só foi realizada uma sub-amostra de 10ml por caixa na proporção de 10/4000ml.

Experimento 5 - Tempo de recuperação do cultivo após a coleta de prole

Cinco caixas de cultivo de copépodos foram submetidas à coleta de prole. Os copépodos retidos na peneira de 250µm foram devolvidos para as caixas e submetidos a uma amostragem diária, na proporção de 10/4000ml, por um período de uma semana com o objetivo de avaliar o tempo de recuperação da população de copépodos após a retirada da prole.

4. Resultados

Experimento 1 - Efeito da coleta semanal de prole

Nas Figuras 4 e 5 podem ser observados os resultados do número total de indivíduos e do número de náuplios do experimento que testou o efeito da coleta semanal de prole em cultivos de 5 litros.

O resultado da Análise de Variância demonstra não haver diferença significativa entre as médias finais do número total de copépodos e do número total de náuplios ($p = 0,6389$ e $0,6749$, respectivamente) com ou sem coleta de prole. Indicando que a coleta semanal de prole nas caixas de cultivo não afeta o crescimento da população de *T. biminiensis*.

O maior número total obtido por caixa foi de 250.000 indivíduos e a maior densidade alcançada neste experimento foi 50 ind/ml com 21 dias de cultivo.

A produção de prole total (náuplios e copepoditos) chegou a 70% da população total no 21º dia de cultivo e a retirada de náuplios alcançou 82% do número total de náuplios no mesmo dia.

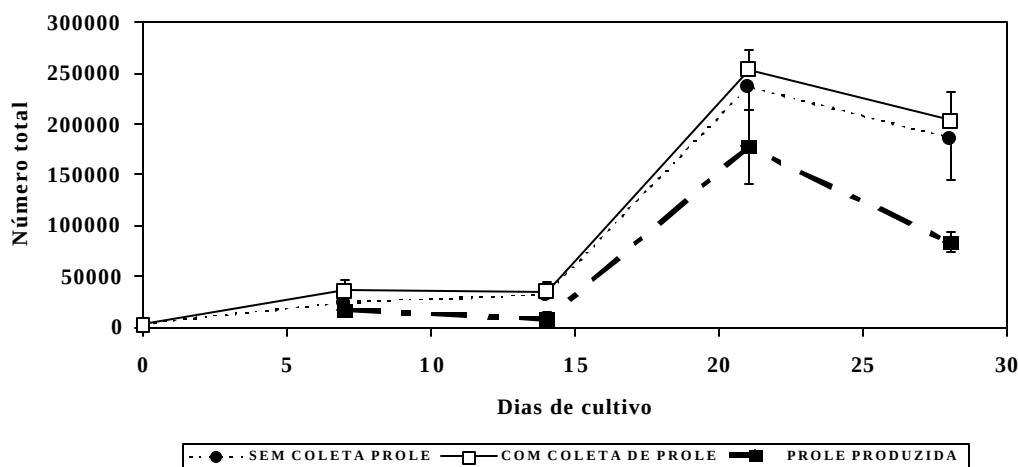


Figura 4- Médias e desvios padrões do número total de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros nos tratamentos com coleta de prole e sem coleta de prole e produção de prole ao longo de 28 dias de cultivo.

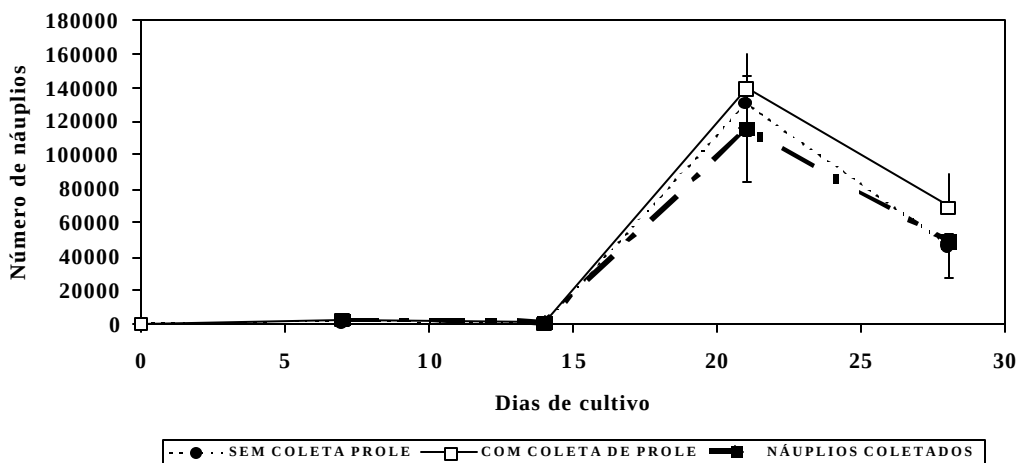


Figura 5 - Médias e desvios padrões do número de náuplios de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros nos tratamentos com coleta de prole e sem coleta de prole e náuplios coletados na prole ao longo de 28 dias de cultivo.

Experimento 2 - Efeito da presença de sedimento arenoso nas caixas de cultivo

Na Figura 6 podem ser observados os resultados do experimento que testou o efeito da presença de sedimento nos cultivos de 5 litros.

O resultado da Análise de Variância mostrou não haver diferenças significativas entre as médias iniciais de náuplios, copépodos, fêmeas portando saco de ovos e número total de copépodos ($p = 0,4690$, $p = 0,0634$, $p = 0,8376$ e $p = 0,1950$), o que indica que os cultivos realizados com e sem sedimento arenoso foram iniciados com um número estatisticamente igual de indivíduos. O resultado da Análise de Variância comparando as médias finais não constatou diferenças significativas no número de náuplios, copépodos, fêmeas ovígeras e total de copépodos ($p = 0,6011$, $p = 0,2185$, $p = 0,9086$ e $p = 0,7049$) nas caixas com e sem o sedimento arenoso, sugerindo que a presença de sedimento nos recipientes não afeta o crescimento da população. O número de náuplios, copépodos, fêmeas ovígeras e total de copépodos existentes na prole produzida nos cultivos com e sem sedimento arenoso também foi considerado estatisticamente igual pela Análise de Variância ($p = 0,6486$, $p = 0,0503$, $p = 0,4852$, $p = 0,8908$), indicando que a presença do sedimento arenoso não altera a produção de prole.

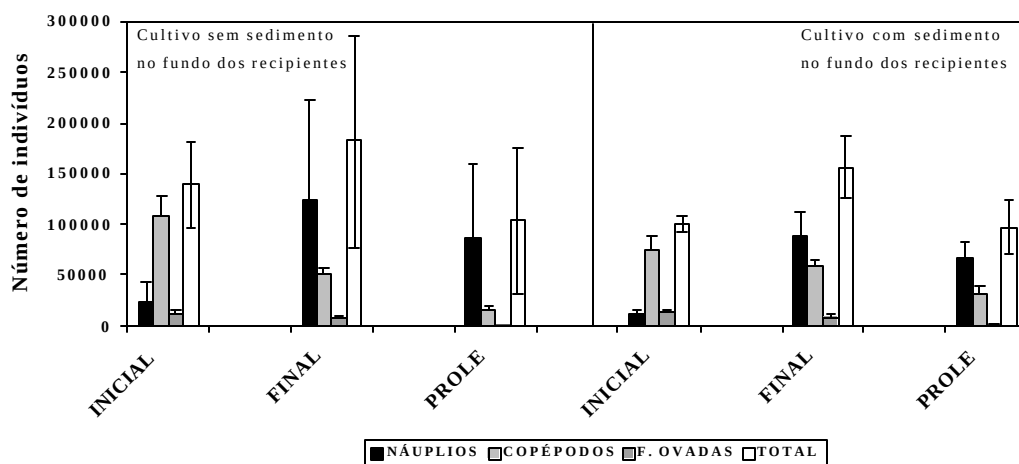


Figura 6 - Médias e desvios padrões do número de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros e prole coletada nos tratamentos com sedimento e sem sedimento após uma semana.

Experimento 3 - Sustentabilidade dos cultivos - Primeira etapa realizada entre 29 de junho a 05 de novembro de 2003

Nas Figuras 7 e 8 estão expressos os resultados obtidos durante a primeira etapa do experimento de sustentabilidade dos cultivos. A população alcançou o número de 432.550 indivíduos no 22º dia de cultivo, mas este valor caiu para aproximadamente $150.000 \pm 28.888,19$ (média $\pm$ desvio padrão) indivíduos no 48º dia e se manteve neste patamar até o final do experimento. Os náuplios representaram a maior parte da população (média de 55%), enquanto a proporção de fêmeas portando ovos teve média de 5% da população.

No período entre os dias 54 e 90 de cultivo observou-se que os intervalos de confiança foram menores. Neste período não houve coleta de prole para ser usada na larvicultura de *M. rosenbergii*, experimento descrito no capítulo 2 deste trabalho.

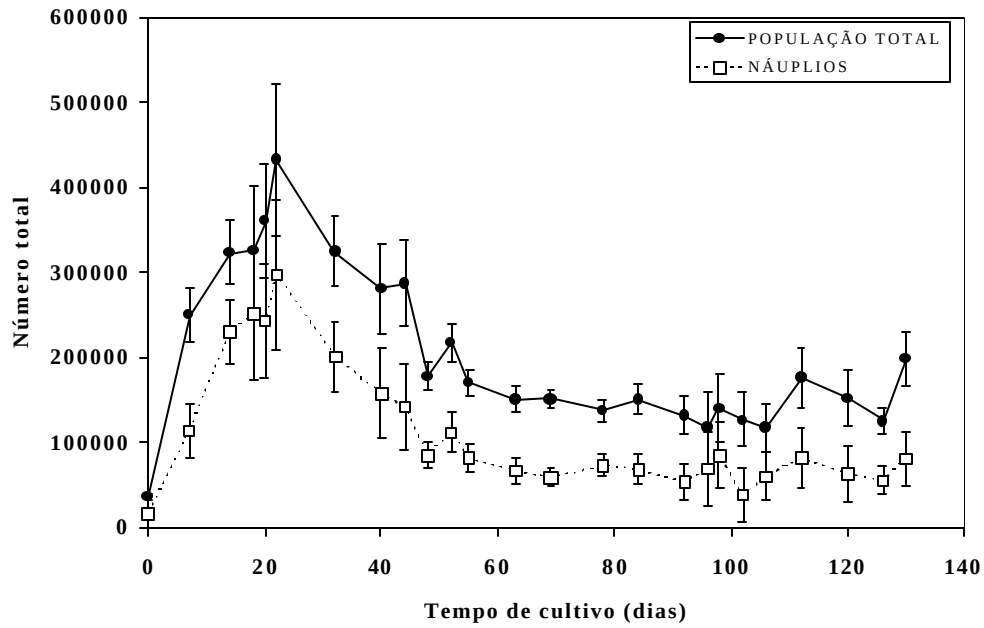


Figura 7 - Médias e intervalos de confiança da população total e náuplios de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a primeira etapa de 130 dias.

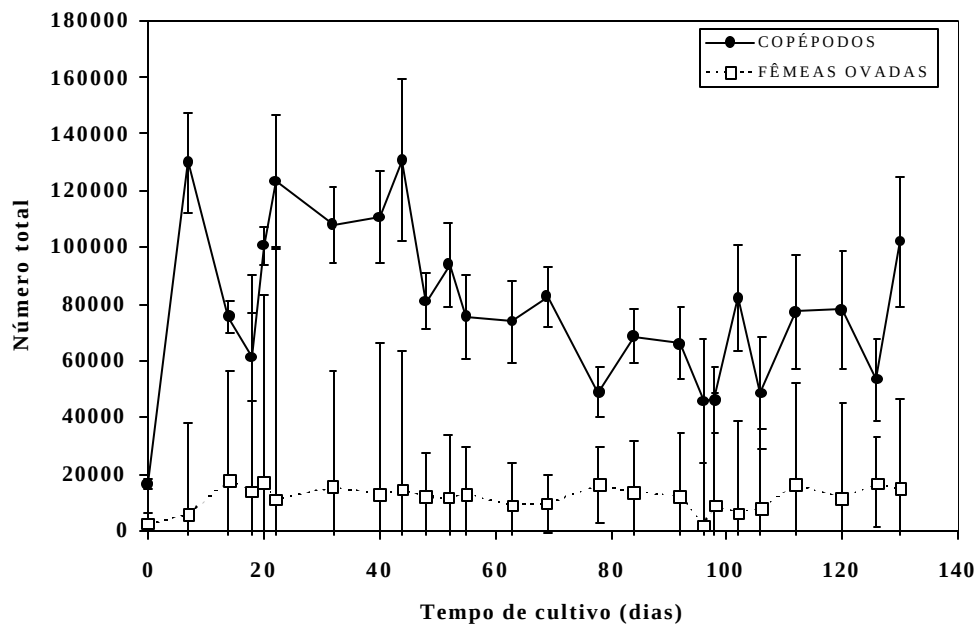


Figura 8 - Médias e intervalos de confiança do número de copépodos e fêmeas ovadas de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a primeira etapa de 130 dias.

A produção diária de prole está representada na Figura 9. Observa-se que a produção foi relativamente constante e teve média geral de $123.914,7 \pm 37.214,14$, o que representa uma coleta média de 59% da população. Esta proporção foi estabelecida com base nos dados médios do número total de copépodos produzidos no mesmo período, que foi de $208.093,85 \pm 93.308,92$.

Neste experimento, a partir de uma população inicial de 36.600 indivíduos obteve-se 432.550 em 22 dias, o que resulta numa taxa intrínseca de crescimento (r) de 0,11.

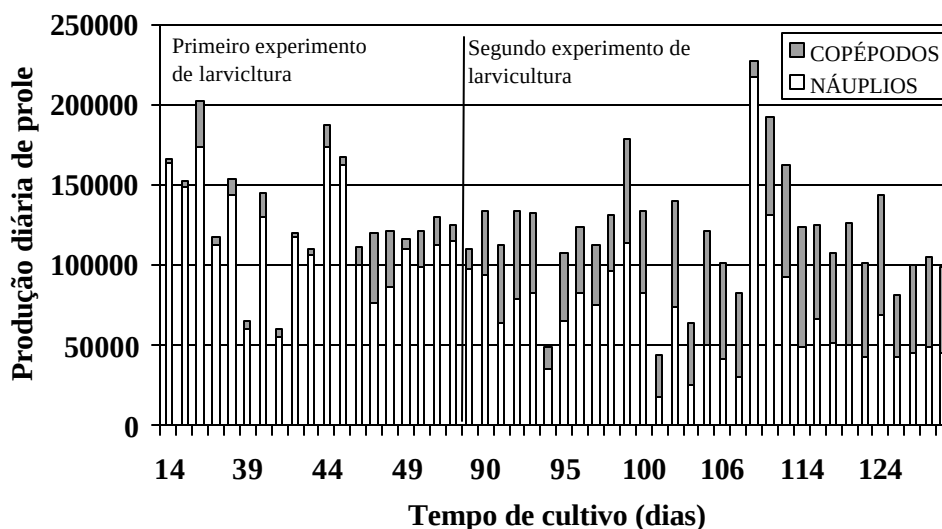


Figura 9 - Produção de prole de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante o cultivo em massa realizado na primeira etapa de 130 dias.

A partir do 96º dia de cultivo, do primeiro experimento de sustentabilidade dos cultivos, foi detectada a contaminação por parte de turbelários nas caixas de cultivo de copépodos. O aspecto geral dos cultivos se modificou quando esta contaminação aumentou. Para solucionar o problema novo cultivo de copépodos deveria ter sido iniciado, mas como a contaminação foi detectada quando o experimento de larvicultura (capítulo 2) já se encontrava em andamento, outras medidas tiveram que ser tomadas. A partir da detecção desta contaminação a água dos cultivos, que anteriormente só era filtrada em filtro cunco de 3 µm, passou a ser clorada e posteriormente declorada com tiosulfato de sódio. Para minimizar o problema, as proles de algumas caixas mais contaminadas foram desprezadas uma vez que a maior parte dos turbelários passava pela peneira de 250 µm.

Experimento 4 - Sustentabilidade dos cultivos - Segunda etapa realizada de 14 de janeiro a 20 de março de 2004

As Figuras 10 e 11 representam os resultados obtidos na segunda etapa do experimento de sustentabilidade dos cultivos. Após um rápido aumento no número de indivíduos entre o 32º e 34º dia de cultivo a população se manteve estável com média de $256.440,14 \pm 42.684,5$. Os náuplios e as fêmeas portando saco de ovos tiveram uma representatividade média de 56 e 6%, respectivamente, da população total. Os intervalos de confiança foram menores até o 30º dia de cultivo, pois nesse período ainda não tinha sido iniciada a coleta de prole para a alimentação de larvas de *M. rosenbergii* (capítulo 2).

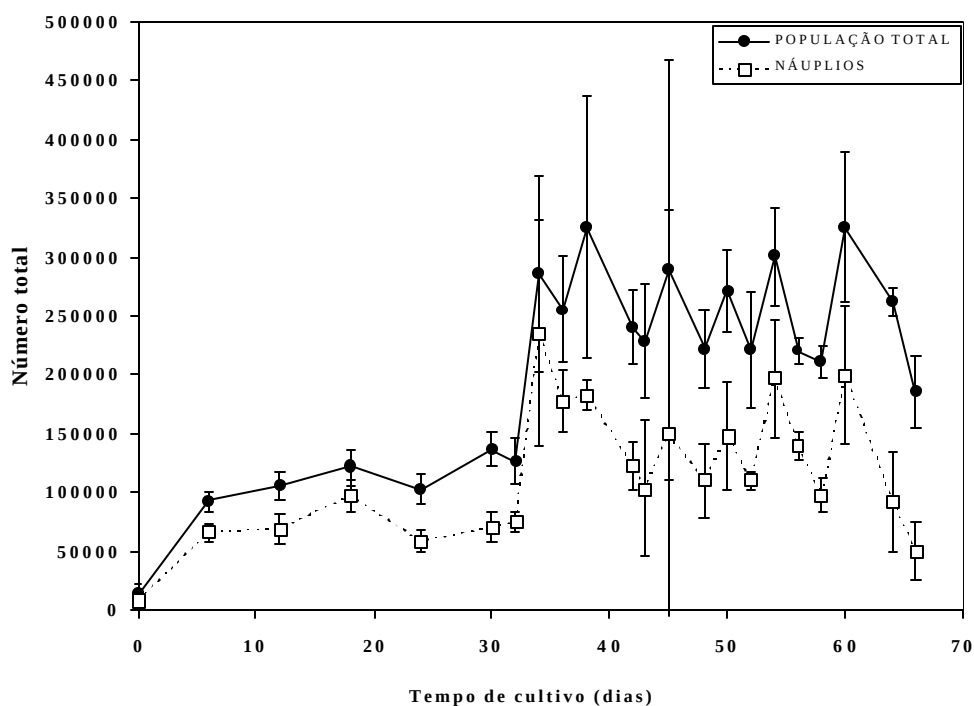


Figura 10 - Médias e intervalos de confiança da população total e náuplios de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a segunda etapa de 70 dias.

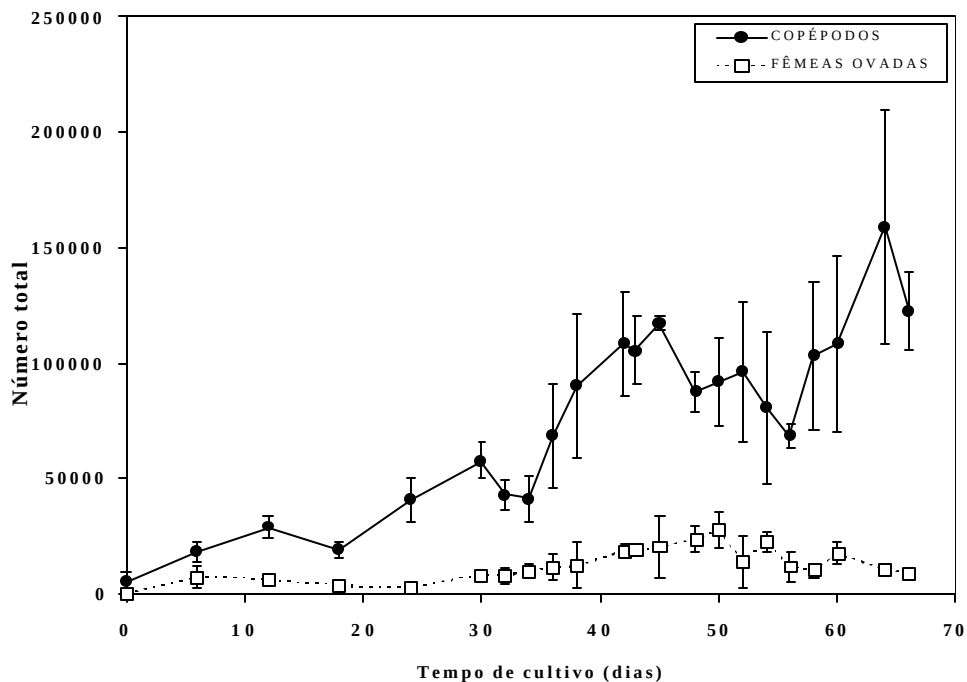


Figura 11 - Médias e intervalos de confiança do número de copépodos e fêmeas ovadas de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros realizados na Estação de Aqüicultura do IPA durante a segunda etapa de 70 dias.

A Figura 12 representa a produção diária de prole. Observa-se que a produção foi relativamente constante e teve média geral de $143.338,75 \pm 55.844,4$ indivíduos, o que representa uma coleta média de 59% da população.

Nesta segunda etapa obteve-se, a partir de uma média inicial de 14.433,33 indivíduos, no 34º dia de cultivo um total de 286.400. A taxa intrínseca de crescimento estimada (r) com estes valores foi de 0,08.

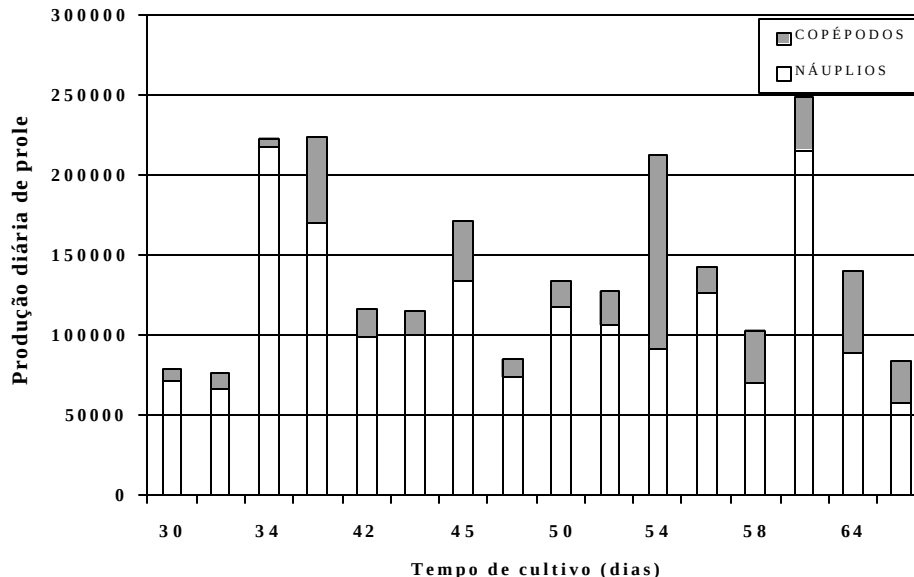


Figura 12 - Produção de prole de *Tisbe biminiensis* em cultivos de 5 litros realizados na estação de aquíicultura do IPA durante o cultivo em massa realizado na segunda etapa de 70 dias.

Experimento 5 - Tempo de recuperação do cultivo após a coleta de prole

Na Figura 13 encontram-se representados os resultados do experimento que avaliou o tempo que os cultivos levam para se restabelecer após a retirada da prole.

A Análise de Variância demonstrou haver diferença significativa no número total de copépodos produzidos ao longo do período de sete dias ($p < 0,001$). O teste de Tukey demonstrou que a média do número total de copépodos existentes antes da retirada da prole é estatisticamente diferente das médias até o terceiro dia de cultivo. A partir do quarto dia a população já se encontra restabelecida apresentando média total de indivíduos estatisticamente igual ao valor antes da retirada da prole. A proporção média de náuplios existentes nos cultivos a partir do quarto dia após a retirada da prole, foi de 60% em relação ao número total de indivíduos. Antes da retirada da prole esta proporção era de 55%.

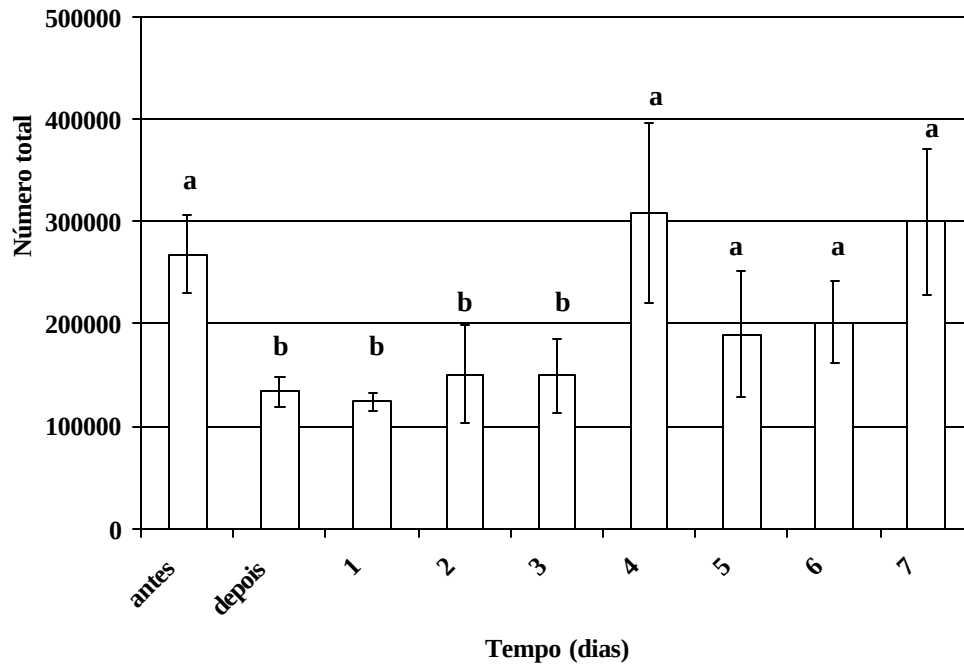


Figura 13 – Médias e desvios padrões do número total de copépodos existentes em 5 caixas de cultivo antes e depois da retirada da prole e a evolução da recuperação dos cultivos durante sete dias. Letras iguais representam médias não estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey.

5. Discussão

O experimento que testou o efeito da coleta semanal da prole sobre o crescimento populacional dos copépodos mostrou que a população de *Tisbe biminiensis* não foi afetada pela retirada semanal da prole. Isto confirma o alto potencial reprodutivo para esta espécie já relatado anteriormente por Pinto *et al.* (2001), que registraram taxa exponencial máxima de crescimento de 0,49.

A semelhança entre as densidades observada nos cultivos em que não houve a coleta semanal da prole pode ser explicada por algum tipo de controle populacional. Fava & Crotti (1979) verificaram, para duas espécies do gênero *Tisbe*, que com o aumento da densidade a produção de náuplios por fêmeas decresce. Os autores sugeriram que a liberação de compostos químicos complexos específicos ou resíduos tóxicos não-específicos (como amônia ou dióxido de carbono) pelos animais na água do cultivo modifica a fisiologia dos animais, resultando na diminuição da fertilidade. Esta sugestão também é reportada por Gaudy & Guerin (1982), quando, num estudo sobre a dinâmica populacional do *Tisbe holothuriae*, observaram que a taxa de mortalidade diminuiu após a renovação total da água aliada à coleta de animais, e que esta voltou a aumentar, após 18 dias sem renovação de água e coleta de animais. Sugere-se então, que a retirada da prole contribui para manter a taxa de crescimento populacional dos copépodos mais próxima de seus valores máximos.

Segundo Hicks & Coull (1983), Harpacticoida é uma ordem primariamente bêmica de vida livre, podendo apresentar três tipos de hábitos relacionados ao sedimento: intersticial, escavador ou epibentônico (vivendo na superfície). De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, a presença de sedimento arenoso nos recipientes de cultivo não foi importante para promover um maior crescimento populacional dos copépodos. Outras espécies de harpacticóides bentônicos, como *Cletocamptus deitersi*, são mais dependentes do sedimento (FERREIRA, 2003). Esta diferença pode estar relacionada ao hábito epibentônico da espécie *Tisbe biminiensis*.

Comparando os valores da taxa intrínseca de crescimento (r) obtidos neste estudo (0,08 e 0,11) com os de outras espécies de copépodos harpacticóides já cultivadas, observa-se uma grande semelhança de valores. Fukusho (1980) cultivando *Tigriopus japonicus* em combinação com o rotífero *Brachionus plicatilis*, a partir de 15 ind./l em tanques com 210.000 litros ao final de 35 dias obteve 22.048 ind./l,

apresentando r de 0,21. Kahan (1981) cultivou *Schizopera elantensis*, em vários volumes de água em aquário de vidro retangular (30x16x20cm), inicialmente com 37 ind./ml atingiu 412 ind./ml em 500ml e 66 ind./ml em 6 litros em 55 dias, com r de 0,04 a 0,01, respectivamente. Kahan *et al* (1981/1982) cultivou *Tisbe* sp. em aquários com 1,5 litros e área de 200cm² de um total de 55.069 indivíduos atingiu em 21 dias um total de 173.700 ou 115,8 ind./ml, apresentando r de 0,05. Gaudy & Guerin (1982) observaram para a espécie *Tisbe holothuriae*, cultivada em 10 litros, um valor máximo de r igual a 0,2 embora este valor caia para muito próximo a zero, levando estes autores a atribuírem este baixo valor ao longo período que a população passou sem renovação da água e coleta de indivíduos. Vilela (1984) a partir de 20 fêmeas de *Tigriopus brevicornis* em recipientes com um volume de 100ml obteve, ao final de 21 dias, 5.000 indivíduos e r de 0,26. Tseng & Hsu (1984) cultivaram *Tigriopus japonicus* em béqueres com 300ml de água do mar, 10 fêmeas ovígeras produziram em 21 dias 27600 indivíduos ou 92 ind/ml com um r de 0,38. Ferreira (2003), a partir 10 fêmeas ovígeras de *Cletocamptus deitersi* cultivadas em recipientes plásticos contendo 500ml de água do mar e sedimento, atingiu ao final de 57 dias 10.000 indivíduos em 500ml, resultando em r de 0,121. Araújo (2004) testou a influência da salinidade no crescimento populacional de *Cletocamptus deitersi* e obteve valor de r igual a 0,378. Conclui-se que embora algumas espécies de harpacticóides tenham superado *T. biminiensis* em termos de densidade, principalmente espécies de menor porte, os valores de taxa intrínseca de crescimento obtidos neste trabalho encontram-se dentro da média para as espécies pertencentes à mesma ordem.

Em outros estudos realizados com *Tisbe biminiensis*, Pinto *et al.* (2001) estimou a partir da tabela de vida a taxa máxima de crescimento em 0,49 quando a espécie se alimentou da diatomácea *Nitzschia closterium*. Pastor (2003), a partir de 10 fêmeas portando sacos de ovos, obteve ao final de 24 dias um total de 43.544 indivíduos o que representa um r de 0,35 e densidade de 87 ind./ml. Esta última autora determinou o valor de r partindo de um número inicial de copépodos muito inferior aos utilizados no presente trabalho, os quais devem se aproximar mais da capacidade de suporte da população, e por isto resultando num valor de r menor. Já a densidade aqui obtida, no pico populacional, foi de 86,5 ind./ml, ou seja, a mesma obtida em 500 ml por Pastor (2003). Kahan (1981) cultivando *Schizopera elantensis* em 500 ml atingiu 412 ind./ml e r de 0,04 enquanto que em 6 litros obteve 66 ind./ml e r de 0,01, ou seja, encontrou o mesmo decréscimo de r com o aumento de volume que foi obtido neste estudo.

A produção contínua de copépodos para fornecimento como alimento de larvas foi bem menos estudada que o crescimento populacional em laboratório. Na Tabela 1 podem ser observados os resultados de produção de copépodos obtidos por alguns autores que utilizaram diferentes métodos para cultivo em massa.

Tabela 1 - Produção obtida para algumas espécies de copépodos cultivados com diferentes métodos.

Espécie cultivada	Tamanho do cultivo	Produção	Fonte
<i>Tisbe holothuriae</i>	10 litros	7.140 ind/l/dia	Gaudy & Guerin (1982)
<i>Amphiascoides atopus</i>	4m ² e 1440 litros	2.000 ind/l/dia 720.000 ind/m ² /dia	Sun & Fleeger (1995)
<i>Tisbe holothuriae</i>	0,24m ² e 3 litros	100.000 náuplios/l/dia 1.250.000 náuplios/m ² /dia	Stottrup & Norsker (1997)
<i>Gladioferens imparipes</i>	500 l	878 náuplios/l/dia	Payne & Rippingale (2001)
<i>Tisbe biminiensis</i>	0,15m ² e 5 litros	28.000 náuplios e copepoditos/l/dia 932.400 náuplios e copepoditos/m ² /dia	Presente estudo

Gaudy & Guerin (1982) cultivaram *Tisbe holothuriae* em volumes de 10 litros, com alimentação à base de uma dieta composta (Tetramin), taxa de coleta igual a 50% e renovação de água uma vez por semana ou intervalos de 10 a 12 dias. Os autores conseguiram uma boa produção diária, mas que não se manteve por muitos dias, sugerindo que a maior taxa de renovação de água e coleta de copépodos proporciona o aumento da população e produção.

Sun & Fleeger (1995) desenvolveram o cultivo em massa de *Amphiascoides atopus* em tanques de 120x60x70 cm ou 120x60x30 cm, totalizando 4 m² de área e 1440 litros, utilizando o sistema de recirculação com fluxo contínuo. Os copépodos eram alimentados diariamente com a alga *Chaetoceros muelleri* e com ração para peixe, fornecida de dois em dois dias. Através da circulação da água, os copépodos eram depositados em sacos coletores de abertura de malha de 120µm que eram removidos a cada dois dias. A produção diária aumentou durante o experimento e se manteve alta até o fim do experimento.

Stottrup & Norsker (1997) obtiveram como técnica mais eficiente o cultivo de *Tisbe holothuriae* em bandejas rasas de área $0,24\text{m}^2$ contendo 3 litros de água do mar, onde os copépodos eram alimentados com 400ml da alga *Rhodomonas baltica*. Diariamente o conteúdo das bandejas era filtrado por um filtro de $220\mu\text{m}$, que retinha quase que somente as fêmeas ovadas que posteriormente eram repostas nos cultivos. Um filtro de $40\mu\text{m}$ retinha os náuplios que eram coletados diariamente. A produção obtida, $100.000\text{náuplios/l/dia}$ ou $1.250.000\text{ náuplios/m}^2/\text{dia}$, foi a maior já descrita para copépodos.

Payne & Rippingale (2001) compararam a produção de náuplios em cultivo automatizado em batelada com o semi-contínuo para o copépodo calanóide planctônico *Gladioferens imparipes*. A técnica mais eficiente foi o cultivo em batelada de 500 litros. Nesta técnica os copépodos eram alimentados com *Isochrysis galbana*, os náuplios eram atraídos pela luz e posteriormente retidos em uma tela de $150\mu\text{m}$ onde diariamente eram coletados. A produção alcançada foi de $878\text{ náuplios/l/dia}$.

No presente trabalho os copépodos foram produzidos em caixas plásticas de $0,15\text{m}^2$ de superfície contendo 5 litros de água do mar, com renovação da total da água a cada dois dias. A alimentação foi com diatomáceas a cada dois dias e ração para peixe todos os dias. Tanto o procedimento de troca de água como de coleta de prole foi realizado manualmente. A prole produzida (náuplios e copepoditos) foi removida após o conteúdo da caixa de cultivo ser vertido em uma peneira granulométrica de $250\mu\text{m}$ que permite apenas a passagem de copépodos no estágio de náuplio e fases iniciais de copepodito. A produção de prole de *T. biminiensis* obtida no segundo experimento de longa duração, teve média de $28.000\text{ náuplios e copepoditos/l/dia}$ ou $932.400\text{ náuplios e copepoditos/m}^2/\text{dia}$. Esta produção é inferior apenas aos resultados obtidos para *T. holothuriae* por Stottrup & Norsker (1997), que utilizou uma técnica de cultivo semelhante.

Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com os obtidos por Stottrup & Norsker (1997) no cultivo do *T. holothuriae*, observa-se que superfície de cultivo utilizada por estes autores é um pouco superior à utilizada no presente trabalho. Considerando que as espécies em questão apresentam hábitos bentônicos, a superfície de cultivo é um fator de grande importância, assim um aumento na superfície de cultivo tenderia a promover um acréscimo no número de indivíduos devido à maior oferta de espaço, embora o estudo de Sun & Fleeger (1995) realizado em área bem maior não corrobore esta hipótese. Outra diferença metodológica utilizada por estes autores foi a

renovação diária da água de cultivo. Pastor (2003) observou que uma maior frequência de trocas de água nos cultivos de *T. biminiensis* foram responsáveis por um maior crescimento da população. A partir destes registros, sugere-se um aumento na área de cultivo e renovações diárias da água propiciarão um aumento na produção de indivíduos.

Na Tabela 2 pode-se observar um resumo dos resultados obtidos durante os dois momentos em que a sustentabilidade dos cultivos por longos períodos foi avaliada.

Tabela 2 – Resumo dos resultados obtidos nos dois experimentos de sustentabilidade dos cultivos de *Tisbe biminiensis* (média $\pm$ desvio padrão).

Período	$\bar{X}$ do total de indivíduos a partir da estabilização da população	$\bar{X}$ prole produzida ao longo do período	r (início até o primeiro pico populacional)	$\bar{X}$ densidade (ml)
1º etapa	150.000 $\pm$ 28.888	123.914 $\pm$ 37.214	0,11	30 ind/ml
2º etapa	256.440 $\pm$ 42.686	143.338 $\pm$ 55.844	0,08	51 ind/ml

A produção de prole ao longo dos dois períodos pode ser considerada igual, uma vez que os desvios das médias se tocam, porém a média de indivíduos produzidos, a partir do momento que se observou uma estabilização da população, é inferior para o primeiro período em que o experimento foi realizado. A contaminação por turbelários, detectada durante a realização do primeiro experimento, pode ter tido influência sobre os resultados obtidos neste período, uma vez que estes animais podiam competir com os copépodos por espaço, oxigênio e alimento, podendo mesmo agir como predadores de copépodos. Os maiores cuidados com relação ao tratamento da água de cultivo, adotados desde o início da realização do segundo experimento, provavelmente vieram a contribuir com os melhores resultados obtidos.

Com a realização do teste de recuperação dos cultivos após a retirada da prole, pode-se concluir que o restabelecimento destes foi satisfatório, uma vez que em menos de uma semana a população volta a atingir a mesma densidade registrada anteriormente. Outro ponto importante observado com a realização deste experimento foi que o restabelecimento dos cultivos não se deu apenas em relação aos números totais de indivíduos, mas também em relação ao número de náuplios. Este fato é de grande importância já que foi observado, tanto nos resultados de coleta semanal como nos de coleta diária, como sendo este o estágio de desenvolvimento de presença dominante no

conteúdo da prole. Estes resultados indicam que se pode coletar a prole de cada caixa a cada quatro dias.

Stottrup (2000), fazendo uma revisão sobre os sistemas de produção de copépodos, seu valor nutricional e seu potencial para uso como alimento vivo na aquicultura, já discutia sobre o reduzido número de estudos enfocando técnicas de cultivo em massa em grandes volumes, afirmando que um conhecimento básico sobre a fisiologia e dinâmica populacional de uma espécie é uma condição prévia para o desenvolvimento de técnicas de cultivo. A espécie *Tisbe biminiensis* já dispõe de um grande número de informações sobre sua dinâmica populacional e técnicas de cultivo em volumes de 500ml (PINTO *et al.*, 2001; ARAÚJO-CASTRO, 2002; FERREIRA, 2003 e PASTOR, 2003).

Com o desenvolvimento do cultivo em massa em volumes de cinco litros pôde-se observar que esta espécie cresce bem com técnicas de cultivo relativamente simples. Como consequência do aprimoramento destas técnicas a tendência é a obtenção de resultados ainda mais satisfatórios, que virão reforçar ainda mais a possibilidade do uso do copépodo *Tisbe biminiensis* como uma alternativa de alimento vivo em larviculturas de peixes e crustáceos.

6. Considerações finais

A partir dos resultados obtidos, foi possível estabelecer uma técnica de cultivo que permitiu um aumento importante na população do copépodo *Tisbe biminiensis* em volumes de 5 litros.

A estabilidade da população e da produção de prole nos cultivos de longa duração comprovam a sustentabilidade da técnica desenvolvida embora tanto a densidade quanto a produção de prole ainda possam ser ampliadas.

O tempo de recuperação dos cultivos após a retirada da prole, quatro dias, foi satisfatório se considerarmos a grande demanda de alimento exigida pelas larviculturas que futuramente possam vir a utilizar essa espécie de copépodo como fonte de alimento.

Capítulo 2

**Utilização do Copépodo Bentônico *Tisbe biminiensis*
(Harpacticoida) na Larvicultura do Camarão *Macrobrachium
rosenbergii* (Palaemonidae).**

1. Introdução

A produção mundial de camarões de água doce do gênero *Macrobrachium* é um dos setores da aquicultura que mais cresce no mundo, tendo aumentado mais de 1300% na última década (VALENTI, 2004).

O sucesso na produção comercial de pós-larvas de *Macrobrachium rosenbergii* e de outros crustáceos decápodes depende do uso de uma alimentação eficaz e disponível (BARROS & VALENTI, 2003a). Atualmente náuplios recém eclodidos de *Artemia* constituem a principal alimentação viva usada na larvicultura de crustáceos de valor comercial. Apesar das inúmeras vantagens apresentadas por este microcrustáceo, o número limitado de locais de produção e a relação direta entre a produtividade e o clima causou problemas com a disponibilidade de cistos. A vulnerabilidade dos estoques, grandes diferenças na qualidade, em termos de taxa de eclosão e composição nutricional, além da intensa produção industrial de camarões e peixes, acrescentaram uma alta considerável aos preços dos cistos (LAVENS & SORGELOOS, 1998), o que transformou a alimentação em um dos itens mais caros para a produção de pós-larvas.

Sendo um recurso natural limitado e de disponibilidade variável, é de grande interesse para a expansão futura da aquicultura que sejam encontradas maneiras de minimizar o uso dos cistos de *Artemia* nos sistemas de produção intensiva de larvas e pós-larvas.

Vários autores realizaram estudos para avaliar os efeitos da redução da oferta de *Artemia* nos cultivos de peixes e crustáceos. Heath e Moore (1997) compararam as taxas de crescimento e desenvolvimento larval e de juvenis de linguado (*Solea solea*) alimentados com o copépodo *Tisbe holothuriae* e com náuplios de *Artemia*, constatando não haver diferença significativa entre os tratamentos. Payne e Rippingale (2000), alimentaram juvenis do cavalo marinho *Hippocampus subelongatus*, com náuplios de copépodo *Gladioferens imparipes* e com náuplios de *Artemia* enriquecida e observaram que o crescimento e a sobrevivência foram significativamente maiores entre peixes alimentados com os náuplios de copépodo. Domingues *et al.* (2000) observaram que uma substituição de 66% dos náuplios de *Artemia* pelo rotífero *Brachionus plicatilis* não ocasiona diferença significativa na sobrevivência e no crescimento de *Leptomysis* sp., um microcrustáceo utilizado em testes ambientais. Callan *et al.* (2003) obtiveram

sobrevivência estatisticamente igual para as larvas do peixe *Gadus morhua* quando testaram diferentes níveis de substituição de *Artemia* por uma dieta microparticulada.

A redução da *Artemia* usada na larvicultura do *M. rosenbergii* foi mais recentemente estudada por Silva (1994) que ao avaliar o efeito da substituição da *Artemia* sp. pelo nematóide *Panagrellus redivivus* sobre o crescimento e sobrevivência larval, constatou haver uma superioridade estatística do tratamento controle sobre os demais tratamentos. Thomaz (2002) testou a substituição dos náuplios de *Artemia* pelo rotífero *Brachionus plicatilis*, obtendo resultados de sobrevivência final em pós-larvas estatisticamente iguais, para os tratamentos que substituíram parcialmente a *Artemia*. Kovalenko *et al.* (2002) acompanharam o desenvolvimento, do 5º estágio até a metamorfose, de larvas alimentadas com *Artemia* e uma dieta microparticulada úmida, obtendo sobrevivência estatisticamente igual em todos os tratamentos.

Diante deste contexto, este estudo teve como objetivo testar o copépodo bentônico *Tisbe biminiensis* como substituto parcial ou total dos náuplios de *Artemia* na alimentação das larvas do camarão *Macrobrachium rosenbergii*.

2. Objetivos

2.1. Geral

- ✓ Avaliar o desempenho do copépodo *Tisbe biminiensis* como substituto total ou parcial da *Artemia* na alimentação das larvas de *Macrobrachium rosenbergii*.

2.2. Específico

- ✓ Comparar a sobrevivência das larvas e pós-larvas de *M. rosenbergii* alimentadas com o copépodo *Tisbe biminiensis* em diferentes níveis de substituição de náuplios de *Artemia*: 0, 25, 50, 75 e 100%.

3. Material e Métodos

Os testes de avaliação do copépodo *Tisbe biminiensis* como substituto da *Artemia* na larvicultura do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* foram realizados no Laboratório de Larvicultura da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA – Estação Experimental de Ipojuca/PE, nos períodos de 25 de setembro a 13 de novembro de 2003 e de 13 de fevereiro a 23 de março de 2004.

A metodologia de cultivo utilizada, para ambos os períodos, foi a mesma empregada no laboratório do IPA, que utiliza o sistema aberto de produção descrito por Correia e Castro (1998). Foram utilizadas larvas no estágio Zoea I, obtidas a partir de desovas realizadas no próprio laboratório do IPA. O experimento foi conduzido através um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro réplicas, onde cada tratamento representou a introdução do copépodo *T. biminiensis* na alimentação das larvas de *M. rosenbergii* em diferentes níveis de substituição da *Artemia*: 0, 25, 50, 75 e 100%.

As larvas foram transferidas do tanque de eclosão por meio de sifonamento para baldes coletores e a estocagem foi feita em 20 tanques de cultivo cônicos de cor preta confeccionados em fibra de vidro com capacidade para 50 litros, os quais foram acondicionados quatro a quatro dentro de cinco tanques de amianto, usando como suporte baldes plásticos de 80 litros com o fundo preenchido com areia (Figura 14). Em cada tanque foram estocadas 2.000 larvas, contadas individualmente, em 40 litros de água salobra, conferindo ao experimento uma densidade de cultivo de 50 larvas/litro.



Figura 14 – Tanques de cultivo experimentais utilizados na larvicultura do *Macrobrachium rosenbergii*.

Os tanques de cultivo foram numerados de 1 a 20 e através de sorteio foi estabelecido o tratamento que cada tanque comportaria ficando definido que os tanques 5, 12, 13 e 16 receberiam o tratamento 1 - 0% de substituição de *Artemia* (controle); os tanques 1, 6, 8 e 9 comportariam o tratamento 2 - 25% de substituição de *Artemia*; os tanques 4, 7, 18 e 20 armazenariam o tratamento 3 - 50% de substituição de *Artemia*; os tanques 10, 14, 15 e 17 comportariam o tratamento 4 - 75% de substituição de *Artemia* e por fim que os tanques 2, 3, 11 e 19 receberiam o tratamento 5 - 100% de substituição de *Artemia*.

A salinidade, medida com refratômetro, foi de 12‰ durante todo o cultivo. Para manter a temperatura dentro dos padrões recomendados (de 28 a 30° C) foram utilizados aquecedores elétricos com capacidade de 80 Watts cada. Estes aquecedores foram ligados somente após a circulação da água e por um período suficiente para que a temperatura da água atingisse novamente os valores recomendados. Diariamente, de manhã e à tarde, a temperatura dos cultivos era aferida por meio de termômetro de álcool. A aeração foi mantida forte e constante de modo que permitisse boas condições de vida às larvas, e suspensão adequada das partículas alimentares.

Diariamente, por volta das 14:30 h, após a interrupção da aeração, os tanques foram sifonados, utilizando-se uma mangueira que aspirava o fundo e as paredes destes, visando a retirada de dejetos e restos alimentares. Em seguida tiveram sua água totalmente renovada por meio de circulação, evitando dessa forma a concentração de nitrito e amônia mantendo assim, a qualidade da água de cultivo. O processo de circulação se deu através da entrada de água, por meio de mangueiras conectadas a terminais de água salobra, simultânea à saída. A passagem das larvas era interrompida pelo uso de dois drenos cilíndricos de PVC telados, um para os cultivos alimentados com copépodos e o outro para os alimentados exclusivamente com *Artemia*, visando evitar possíveis contaminações, no cultivo controle, por microorganismos que poderiam estar presentes nos cultivos de copépodos.

Os horários das alimentações variaram de acordo com a observação de sobras sendo, na maioria das vezes, o alimento vivo fornecido às 8:00 e 16:00 h. A quantidade de náuplios de *Artemia* e copépodos fornecidos no primeiro experimento foi sempre 5 náuplios/larva/dia. No segundo experimento a quantidade foi inicialmente de 5 náuplios/larva/dia passando para 10 náuplios/larva/dia a partir do 10º dia de cultivo.

Os náuplios de *Artemia* utilizados nos experimentos foram obtidos de cistos provenientes da região de Grossos – RN, com uma eficiência de eclosão de 270.000 náuplios/g. Os cistos passaram por um processo de hidratação em água doce e de desinfecção com hipoclorito de sódio comercial adicionado à água de hidratação e posteriormente postos para eclodir em carboys com água a uma salinidade de 12 ‰, munidos de fonte de luz artificial e aeração constante.

No processo de coleta dos náuplios de *Artemia*, a aeração do carboy foi interrompida por um período aproximado de 10 minutos, para que as cascas dos cistos eclodidos flutuassem. Na parte inferior do carboy foi colocada uma fonte de luz que atraía os náuplios causando a sua migração para o fundo do carboy. Através de uma torneira os náuplios foram coletados com o auxílio de um puçá de malha fina.

Para a contagem dos náuplios de *Artemia* utilizou-se um balde graduado com 10 litros de água salobra, onde os náuplios foram homogeneizados e retirada uma amostra de 10ml, a qual foi fixada em formol a 4% e observada em microscópio estereoscópico. Estimada a quantidade total de náuplios de *Artemia* contidos no balde, o volume necessário para a alimentação das larvas era retirado e novamente elevado a 10 litros para posteriormente ser distribuído de acordo com a Tabela 3.

O cultivo em massa dos copépodos *Tisbe biminiensis* está descrito no capítulo 1 deste trabalho.

A coleta dos copépodos se deu com auxílio de peneiras granulométricas de 250 e 63µm de abertura de malha acopladas a um balde vazado. O conteúdo da caixa de cultivo de copépodos era vertido na peneira de 250µm, que proporciona a passagem dos náuplios e copepoditos para a peneira de 63µm, que não permite passagem de copépodos em nenhum estágio de desenvolvimento. Os copépodos retidos na peneira de 250µm foram devolvidos para a caixa de cultivo e os que ficaram na de 63µm foram colocados em um balde graduado preenchido com 4 litros de água a 35‰. Após a homogeneização do conteúdo, uma amostra de 10ml era retirada, fixada com formol a 4%, corada com Rosa de Bengala e contada em microscópio estereoscópico. O número de copépodos contidos no balde era estimado, o volume necessário para alimentar as larvas retirado e elevado para 10 litros com água salobra. Neste momento a água salgada dos copépodos era substituída por água salobra, para que não ocorresse aumento na salinidade da larvicultura após a introdução do alimento.

A distribuição do alimento vivo foi feita adicionando-se em cada tanque de cultivo um determinado volume em mililitros de suspensão de *Artemia* ou *T. biminiensis* de acordo com o tratamento que cada balde comportava (Tabela 3).

Tabela 3 - Esquema distribuição do alimento vivo nos experimentos testando a substituição total e parcial de náuplios de *Artemia* pela prole do copépodo *Tisbe biminiensis* na larvicultura de *Macrobrachium rosenbergii*.

Tratamento (% de substituição de <i>Artemia</i>)	Número do tanque de cultivo	Volume de suspensão de <i>Artemia</i> /tanque (ml)	Volume de suspensão de <i>T. biminiensis</i> /tanque (ml)
1 (0%)	5, 12, 13 e 16	1000	0
2 (25%)	1, 6, 8 e 9	750	250
3 (50%)	4, 7, 18 e 20	500	500
4 (75%)	10, 14, 15 e 17	250	750
5 (100%)	2, 3, 11 e 19	0	1000
TOTAL	-	10000	10000

O alimento inerte, ministrado a partir do 12º dia de cultivo, foi o mesmo utilizado na estação conhecido como Partículas Micro Encapsuladas (PME), cuja formulação está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Ingredientes utilizados na formulação do alimento inerte (PME) produzido no Laboratório de Larvicultura da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA – Estação Experimental de Ipojuca/PE.

Ingredientes	Quantidades
Vitamina A, B, C, D e E	1 drágea
Lula	800 g
Ovos de galinha	02
Sais minerais (Vionat C)	1 colher de chá
Alginato de sódio	1 colher de chá
Cloreto de sódio	0,5 g
Óleo de fígado de bacalhau	10 ml
Água salobra (12 ‰)	1 litro

No preparo do PME os ingredientes, com exceção do cloreto de sódio, foram misturados no liquidificador até se obter uma massa homogênea que foi cozida por 20 minutos em “banho-maria”. Após o resfriamento o cloreto de sódio foi adicionado à massa, ficando essa repouso por 10 minutos. O excesso de água foi retirado

comprimindo a mistura em um pano de malha fina e esta foi então passada por peneiras granulométricas, com abertura de malha variando entre 0,2 e 1,0 mm, a fim de se obter partículas de tamanhos diferentes para serem fornecidas de acordo com o desenvolvimento larval. O PME foi armazenado em freezer e fornecido as larvas sempre as 08:00 e 12:00h, misturado-o a um pouco de água salobra e sendo distribuído em quantidade de 5ml para cada balde de cultivo. O fornecimento do alimento vivo se manteve às 16:00 h.

No momento em que se observou que a maioria das larvas haviam sofrido metamorfose, ou seja passaram para o estágio de pós-larva, água doce começou a ser introduzida de forma gradativa nos tanques de cultivo de modo que num período de dois dias a salinidade dos cultivos chegasse a 0‰. Neste momento os cultivos foram encerrados. Com o auxílio de um puçá as pós-larvas foram recolhidas dos tanques e acondicionadas em potes plásticos com formol a 4% devidamente etiquetados com o número do tanque para posterior contagem.

A eficiência das dietas foi avaliada com base na comparação da sobrevivência de *M. rosenbergii* alimentados com o copépodo *T. biminiensis* em relação às alimentadas com a *Artemia*. A Análise de Variância foi usada para a comparação das médias finais de sobrevivência em cada tratamento após ser testada a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. O teste de Tukey foi usado posteriormente para comparar as médias duas a duas (ZAR, 1999).

4. Resultados

4.1. Primeiro experimento (25/09 a 13/11/2003)

Os cultivos foram encerrados em um período de 50 dias, tempo necessário para que a maioria das larvas sofressem metamorfose. O cultivo do tanque número 13 (T1) foi eliminado no 10º dia, após ser observada a presença de uma pós-larva em estágio de desenvolvimento avançado. Esta provavelmente foi introduzida no cultivo por meio do termômetro que, até o momento, era compartilhado com os tanques de cultivo comerciais do laboratório do IPA. A quantidade de larvas existentes no tanque estava bastante reduzida, sugerindo que estas foram predadas pela pós-larva.

No 22º dia de cultivo foi constatada uma alta mortalidade em todas as réplicas do tratamento alimentado com 100% de copépodo. As larvas que ainda estavam vivas, se encontravam no 5º estágio larval e apresentando uma pigmentação azul. Neste momento, estes cultivos foram encerrados.

A ocorrência das primeiras pós-larvas foi registrada no 33º dia de cultivo no tratamento controle. Nos tratamentos que testavam a substituição da *Artemia* pelo copépodo as primeiras pós-larvas surgiram no 41º dia nos tratamentos T2, T3 e T4.

Na Tabela 5 podem ser observados os resultados de sobrevivência de larvas e pós-larvas de *M. rosenbergii* após a realização do primeiro teste de desempenho do copépodo, assim como a média de comprimento total das pós-larvas para cada tratamento testado.

Tabela 5 – Resultados do primeiro teste de desempenho do copépodo *Tisbe biminiensis* na larvicultura de *Macrobrachium rosenbergii*.

Tratamento	Larvas sobreviventes		Pós-larvas sobreviventes		Total de sobreviventes		Comprimento de pós-larvas (mm)	
	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
T1 (controle)	20,3	21,3	22	15,6	42,3	36,6	7,7	0,32
T2 (25%copépodo)	1	0,81	2,5	2,38	4,75	2,62	7,8	0,40
T3 (50%copépodo)	1,25	0,95	1,5	0,57	2,75	1,25	7,7	0,62
T4 (75%copépodo)	1	0,81	1,75	1,50	2,75	1,70	7,75	0,31
T5 (100%copépodo)	0	0	0	0	0	0	0	0

Na Figura 15 podem ser observadas as médias e os desvios padrão de sobrevivência larval para cada tratamento. A Análise de Variância destes dados logaritmizados (para a distribuição normal ser alcançada) mostrou que existe diferença significativa entre as médias dos tratamentos 1 a 4 ($p = 0,0018$). O teste de Tukey demonstrou que a média do controle (T1) foi significativamente maior que as dos tratamentos T2, T3 e T4. A média de T5 (100% de substituição de *Artemia*) foi obviamente diferente das demais.

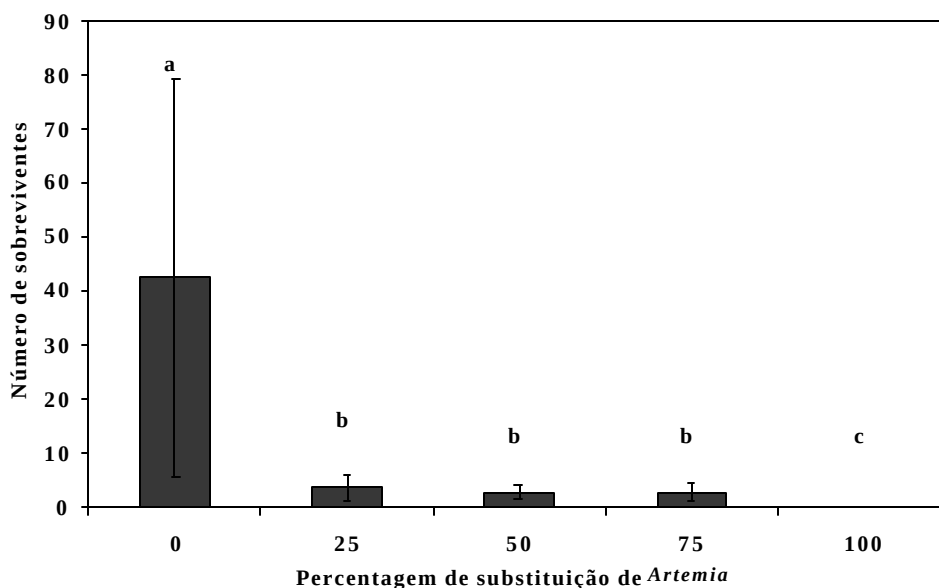


Figura 15 – Médias e desvios padrão do número total de *M. rosenbergii* sobreviventes após o primeiro teste de avaliação do *T. biminiensis* como substituto da *Artemia*. Letras iguais representam médias não estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey.

4.2. Segundo experimento (13/02 a 23/03/2004)

No segundo teste de desempenho do *T. biminiensis* como substituto da *Artemia* na larvicultura do *M. rosenbergii*, o tempo observado para que o número de pós-larvas nos cultivos fosse superior ao de larvas, foi de 40 dias.

Devido à constatação de uma alta mortalidade larval, todas as réplicas do tratamento 100% de substituição de *Artemia* foram encerradas no 16º dia de cultivo.

A ocorrência das primeiras metamorfoses para pós-larvas ocorreu no 27º dia de cultivo para o tratamento controle e no 32º dia para os tratamentos T2, T3 e T4.

Na Tabela 6 encontra-se representados os resultados do segundo teste de desempenho em número de sobreviventes e comprimento das pós-larvas obtidas em cada unidade experimental.

Tabela 6 – Resultados do segundo teste de desempenho do copépodo *Tisbe biminiensis* na larvicultura de *Macrobrachium rosenbergii*.

Tratamento	Larvas sobreviventes		Pós-larvas sobreviventes		Total de sobreviventes		Comprimento de pós-larvas (mm)	
	média	desvio	média	desvio	média	desvio	média	desvio
T1 (controle)	0	0	148,25	86,01	148,25	86,01	7,95	0,68
T2 (25%copépodo)	5,25	3,3	16	12,7	21,25	10,37	7,7	0,89
T3 (50%copépodo)	4,	2,9	8	2,70	12	4,39	7,7	1,05
T4 (75%copépodo)	1,5	2,38	3,75	2,21	5,25	3,59	7,8	0,43
T5 (100%copépodo)	0	0	0	0	0	0	0	0

As médias e os desvios padrão da sobrevivência larval do *M. rosenbergii* em cada tratamento estão representadas na Figura 16 apresenta. A Análise de Variância mostrou que há diferença significativa entre os tratamentos 1 a 4 ($p = 0,0015$). O teste de Tukey mostrou que a média do cultivo controle (T1) foi significativamente maior que a média dos tratamentos T2, T3 e T4, porém, estas últimas não são estatisticamente diferentes.

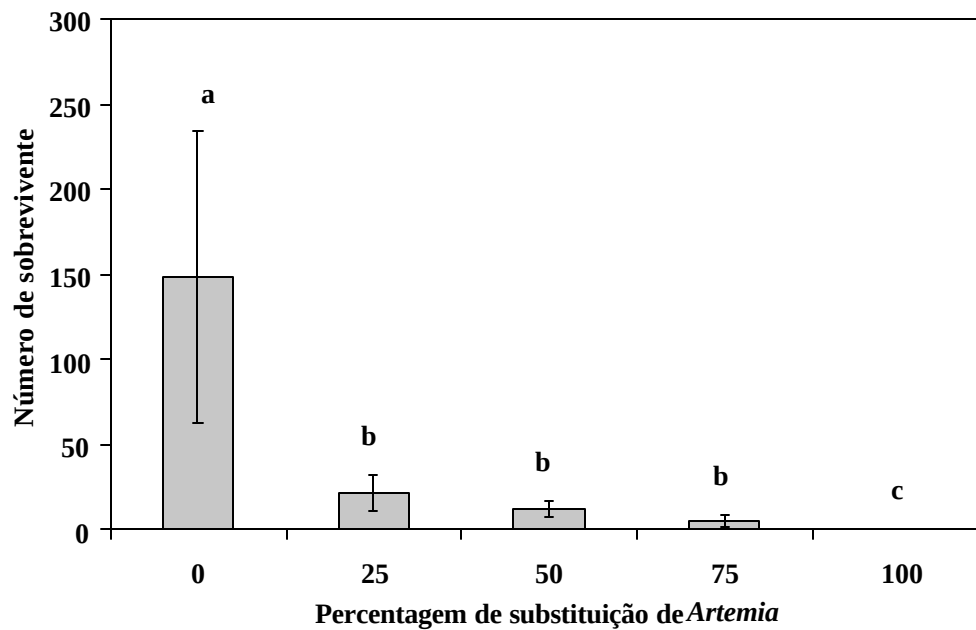


Figura 16 – Médias e desvios padrões do número total de *M. rosenbergii* sobreviventes após o segundo teste de avaliação do *T. biminiensis* como substituto da *Artemia*. Letras iguais representam médias não estatisticamente diferentes pelo Teste de Tukey.

5. Discussão

De acordo com Cavalcanti *et al.* (1986), a carência de uma alimentação adequada para as larvas de *Macrobrachium rosenbergii* estimula o canibalismo, o que justificaria a grande redução no número de larvas do tanque de cultivo número 13 (T1), no qual foi detectada a presença de uma pós-larva no 10º dia de cultivo do primeiro experimento. A pós-larva se encontrava em estágio de desenvolvimento bem avançado e, provavelmente devido à escassez de alimento que suprisse o seu requerimento nutricional, predou as larvas estocadas neste tanque.

Os comprimentos médios das pós-larvas sobreviventes, em todos os tratamentos, ao final dos dois períodos em que o teste de desempenho do copépodo foi realizado encontram-se conforme a média estabelecida por Cavalcanti *et al.* (1986) que é 7,69.

Não foram encontrados na literatura trabalhos com a utilização de copépodos na larvicultura de *M. rosenbergii*. Por isso, os resultados foram comparados com outros tipos de alimentos utilizados na larvicultura deste camarão e com trabalhos que tivessem por objetivo a substituição da *Artemia* no cultivo de peixes e de outras espécies de camarão.

Os resultados obtidos demonstram que o copépodo *Tisbe biminiensis* não pode substituir totalmente os náuplios de *Artemia* sp. na larvicultura de *M. rosenbergii*. Silva (1994) e Thomaz (2002) também verificaram mortalidade total das larvas quando testaram a substituição total dos náuplios de *Artemia* pelo nematóide *Panagrellus redivivus* e pelo rotífero *Brachionus plicatilis*, respectivamente, na larvicultura de *M. rosenbergii*.

No experimento realizado por Kovalenko *et al.* (2002) a sobrevivência alcançada no tratamento controle não diferiu estatisticamente da sobrevivência alcançada no tratamento que substituiu totalmente os náuplios de *Artemia* por uma ração micro particulada. Porém, neste trabalho as larvas de *M. rosenbergii* só foram submetidas ao novo regime alimentar quando se encontravam no 5º estágio de desenvolvimento larval. Nesta fase as larvas deste camarão já se encontram menos dependentes de *Artemia*. De acordo com Barros e Valenti (2003a), entre o II e VI estágio de desenvolvimento, até 50% das larvas de *M. rosenbergii* já são capazes de capturar e satisfazer suas necessidades nutricionais com a ração.

Heath e Moore (1997) e Callan *et al.* (2002) ao testarem a substituição dos náuplios de *Artemia* na larvicultura das espécies de peixe *Solea solea* e *Gadus morhua* pelo copépodo *Tisbe holothuriae* e por uma dieta micro particulada, respectivamente, não encontraram diferença significativa entre os tratamentos que testavam a substituição parcial e total da *Artemia* em relação ao tratamento controle. Porém, nesse trabalho os alevinos foram alimentados durante um determinado tempo com náuplios de *Artemia* e só posteriormente foram submetidos ao teste. Estas larvas poderiam estar menos dependentes da *Artemia*, em termos nutricionais, e o alimento oferecido nos testes ter suprido as necessidades alimentares exigidas pelo estágio de desenvolvimento que elas se encontravam.

A diferença estatística, em termos de sobrevivência larval, obtidas entre o tratamento controle e os tratamentos que testaram a substituição parcial da *Artemia* também foram verificadas por Silva (1994), porém este autor obteve uma taxa de sobrevivência relativamente alta no tratamento que substituiu em 34% a *Artemia* pelo nematóide *Penagrellus redivivus* (31,2% contra 46,7% do tratamento controle). Thomaz (2002) não constatou diferença significativa entre o tratamento controle (68,3%) e os tratamentos que substituíam a *Artemia* pelo rotífero *B. plicatilis* nos níveis de 40 (68,86%) e 60% (64,60%) alcançando taxas de sobrevivência altas em todos os tratamentos.

Quando a prole de copépodo é fornecida para larvas vai acompanhada de restos de ração e várias pelotas fecais de copépodos, pois estes possuem dimensões semelhantes as dos náuplios de copépodo e não conseguem ser separados por peneiras. Estas pelotas podem representar fonte alimentar para as larvas pois, carregam microalgas e restos de ração em seu interior. Porém, a presença de bactérias que encontraram junto aos detritos dos copépodos um ambiente propício para o seu desenvolvimento não é descartada. Uma vez introduzida na larvicultura, estas bactérias podem atingir as larvas de forma prejudicial, fato que também pode explicar a alta mortalidade larval ocorrente nos cultivos com de introdução de copépodos. A grande diferença no número médio de pós-larvas sobreviventes entre os cultivos controle e o tratamento com 25% de introdução de copépodos, superior aos 25% esperados, caso não houvesse ingestão de copépodos por parte das larvas, também pode ser explicada por uma possível contaminação bacteriana.

De uma maneira geral as taxas de sobrevivência larval de *M. rosenbergii* obtidas neste trabalho foram muito inferiores aos resultados esperados, inclusive nos cultivos controle (média de 2% para o primeiro experimento e 7% para o segundo). Segundo Correia e Castro (1998) as taxas médias de sobrevivência nos laboratórios que operam com o sistema de cultivo aberto em escala comercial ficam entre 40 e 60%.

Os resultados alcançados no laboratório de larvicultura do IPA para o VI ciclo do ano de 2003, período em que foi realizado o primeiro experimento, mostram uma taxa de sobrevivência em torno de 7% (Relatórios Internos do IPA, dados não publicados). Esta baixa sobrevivência tanto no experimento quanto na larvicultura comercial poderia ser explicada por uma qualidade larval inferior ou por problemas na qualidade da água usada para ambos. Contudo, no período em que foi realizado o segundo teste de desempenho do copépodo na larvicultura do *M. rosenbergii*, a sobrevivência obtida no cultivo comercial do IPA chegou a 80% (Relatórios Internos do IPA, dados não publicados).

As quantidades mínimas de náuplios de *Artemia* fornecidos para larvas de *M. rosenbergii* com as respectivas médias de sobrevivência obtidas por diversos autores e no laboratório de larvicultura do IPA estão representadas na Tabela 7.

A quantidade de alimento fornecido às larvas no presente trabalho, 5náuplios/larva durante todo o período de realização do primeiro experimento de larvicultura e de 10 náuplios/larva a partir do 10º dia do segundo experimento, quando são convertidas para a proporção náuplios/mililitro, estão abaixo do estabelecido por Barros & Valenti (2003b) que é um mínimo de 2 larvas/ml. Porém, analisando a tabela 7 podemos observar controvérsias em relação à densidade de náuplios de *Artemia* fornecidos e as respectivas taxas de sobrevivência alcançadas por diversos autores.

Tabela 7 – Densidades mínimas de náuplios de *Artemia* fornecidas para larvas de *M. rosenbergii* e respectivas médias de sobrevivência obtidas.

Fonte	Densidade de náuplios	Média de sobrevivência
Laboratório do IPA	0,5 náuplios/ml	7-80%
Cavalcanti <i>et al.</i> (1986)	3 náuplios/ml	40-60%
Silva (1994)	3 náuplios/ml	47,7%
Valenti <i>et al.</i> (1998)	5náuplios/ml	50%
Correia & Castro (1998)	>1 náuplios/ml	40-60%
Thomaz (2002)	5 náuplios/ml	68,3%
Barros e Valenti (2003b)	2náuplios/ml	-

Segundo Correia e Castro (1998) o surgimento das primeiras pós-larvas na larvicultura de *M. rosenbergii* tem início a partir do 20º dia de cultivo. Neste trabalho o tempo requerido pelas larvas para realização da metamorfose no cultivo controle (33 dias no primeiro experimento e 27 dias no segundo) foi superior ao registrado por estes autores. Silva (1994) observou as primeiras pós-larvas no tratamento controle a partir do 21º dia de cultivo e sugere que a substituição da *Artemia* pelo nematóide *Panagrellus redivivus* retardou o aparecimento das pós-larvas nos tratamentos T2 (23º dia) e T3 (29º dia). Thomaz (2002) a partir do 21º dia ciclo larval, observou a presença de pós-larvas no tratamento controle e nos demais tratamentos que testavam a substituição da *Artemia* pelo rotífero *Brachionus plicatilis*.

A partir do 10º dia de cultivo do segundo experimento o número de náuplios/ml de *Artemia* ou copépodo fornecido diariamente às larvas foi elevado de 0,25 para 0,50. Quando observou-se que o tempo para surgimento das primeiras pós-larvas foi menor no segundo experimento (27 dias comparado aos 33 dias do primeiro), pode-se deduzir que a maior oferta de alimento acelerou a metamorfose larval.

Apesar da quantidade de alimento por mililitro fornecido às larvas ser inferior ao utilizado e recomendado por alguns autores, observações realizadas diariamente em todos os tanques de cultivo indicavam a constante presença de sobras de alimento. Alguns autores sugerem que estas observações sejam realizadas no intuito de se ajustar a quantidade de alimento a ser fornecido subsequente (CAVALCANTI *et al.*, 1986; CORREIA & CASTRO, 1998; VALENTI *et al.*, 1998). Barros & Valenti (1997), analisando o comportamento alimentar das larvas *M. rosenbergii*, relatam que geralmente a captura do alimento se dava quando este se encostava aos apêndices torácicos das larvas. Entretanto, verificaram casos de direcionamento e locomoção destes animais em busca do alimento. Esta observação quando aliada à grande quantidade de sobra de alimento, constatada diariamente, vem fortalecer a hipótese de que a quantidade de alimento fornecido as larvas foi suficiente para que elas o percebessem e se alimentassem.

Observações em lupa demonstraram que as larvas são capazes de capturar e se alimentar dos copépodos. A manutenção do fornecimento de alimento para as larvas estabelecido pela proporção náuplios/larva consiste num fator que pode ter influenciado os resultados não só de mortalidade total, do tratamento que substituiu em 100% os náuplios de *Artemia*, mas também ter afetado a taxas de sobrevivência obtidas nos demais tratamentos inclusive no tratamento controle.

Vale ressaltar que presente trabalho testou a substituição numérica dos náuplios de *Artemia* pela prole copépodo *T. biminiensis*, e que a prole de copépodo é, em sua grande maioria, composta por indivíduos no estágio de náuplio e que este possui tamanho inferior relação ao náuplio de *Artemia*. Estudos futuros deverão estabelecer a quantidade de copépodos que equivalha a um náuplio de *Artemia*, trazendo assim mais confiabilidade aos experimentos de substituição.

Os tanques de cultivo utilizados na realização deste trabalho podem ser apontado como outra possível causa para os resultados de baixa sobrevivência. O fato de estes terem sido confeccionados na época de realização dos experimentos levanta a possibilidade de liberação de substâncias tóxicas para a água de cultivo, uma vez que os elementos utilizados na confecção destes tanques ainda não tinham passado por um longo período de “maturação”. Cuidados foram tomados para evitar estes possíveis danos (realização de várias lavagens e secagens ao sol), porém, estes podem ter sido insuficientes.

Futuramente novos experimentos deverão ser realizados com o intuito de se sanar possíveis dúvidas em relação à quantidade ideal de alimento a ser fornecido para larvas de *Macrobrachium rosenbergii*. Testes realizados em aquários de vidro podem ser realizados na tentativa de verificar a toxicidade dos tanques de cultivo confeccionados em fibra de vidro.

6. Considerações finais

As baixas taxas de sobrevivência larval obtidas neste trabalho, sobretudo nos cultivos controle, e o maior tempo requerido pelas larvas de *M. rosenbergii* para realização da metamorfose sugerem que a quantidade de alimento fornecido pode ter influenciado os resultados obtidos.

A recente confecção dos tanques de cultivo é outro fator que pode ser apontado como possível causa dos resultados de baixa sobrevivência obtidos neste trabalho.

Sugere-se então que a substituição total ou parcial dos náuplios de *Artemia* pelo copépodo *Tisbe biminiensis* não seja descartada, mas sim reavaliada num futuro estudo que adote uma nova metodologia de cultivo estabelecendo o fornecimento de alimento para as larvas na proporção de náuplios/mililitro e que a realização do cultivo experimental se de em recipientes de vidro, visando minimizar problemas referentes à toxicidade, mesmo que para isso seja necessário que o experimento seja realizado em escala inferior à comercial.

Referências Bibliográficas

- ALVAREZ-LAJONCHERE, L. & MOLEJÓN, O. G. H. (1998). Reproducción y larvicultura de peces marinos. I Congreso Sul-Americano de Aqüicultura. X Simpósio Brasileiro sobre Cultivo de Camarões. II Feira de Tecnologia e Produtos para Aqüicultura. Recife – PE, Brasil. 105 pp.
- ARAÚJO, R. J. V. (2004). Efeito da salinidade no crescimento populacional do Copepoda Harpacticoida *Cletocamptus deitersi* em laboratório. Monografia (Curso de Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE. 29pp.
- ARAÚJO-CASTRO, C. M. V. (2002). Comparação do desenvolvimento e fecundidade de *Tisbe biminiensis* (COPEPODA, HARPACTICOIDA) cultivados em duas diferentes dietas de diatomáceas *Thalassiosira fluviatilis* e *Navicula* sp. Dissertação de Mestrado em Oceanografia UFPE. 44 pp.
- BARRETO, O. J. S. & CAVALCANTI, D. G. (1997). Enriquecimento de alimentos vivos para a alimentação de larvas de organismos aquáticos: uma breve revisão. Bol. Inst. Pesca. 24: 139-159.
- BARROS, H. P. & VALENTI, W. C. (1997). Comportamento alimentar do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Crustacea Palaemonidae) durante a fase larval: Análise qualitativa. Revista Brasileira de Zoologia 14 (4): 785-793.
- BARROS, H. P. & VALENTI, W. C. (2003a). Food intake of *Macrobrachium rosenbergii* during larval development. Aquaculture. 216: 165–176.
- BARROS, H. P. & VALENTI, W. C. (2003b). Ingestion rates of *Artemia* nauplii for different larval stages of *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture. 217: 223–233.
- CALLAN, C.; JORDAAN, A. & KLING, L. J. (2003). Reducing *Artemia* use in the culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*). Aquaculture 219: 585–595.
- CÂMARA, M. R. (2004). Biomassa de *Artemia* na carcinicultura: Repercussões ambientais, econômicas e sociais. Panorama da Aqüicultura. p 40-45.
- CAVALCANTI, L. B. (1998). Histórico. In: VALENTI, W. C. (ed.) Carcinocultura de água doce. Brasília, P. 5-9.

- CAVALCANTI, L. B.; CORREIA, E. S. & CORDEIRO, E. A. (1986). Camarão: Manual de cultivo do *Macrobrachium rosenbergii* (pitu havaiano – gigante da Malásia). Recife, Aquaconsli. 143 pp.
- CORREIA, E. S. & CASTRO, P. F. (1998). Larvicultura em sistema aberto. In: VALENTI, W. C. (ed.) Carcinocultura de água doce. Brasília, P. 77-94.
- DOMINGUES, P. M.; FORES, R.; TURK, P. E.; LEE, P. G. & ANDRADE, J. P. (2000). Mysid culture: lowering costs with alternative diets. *Aquaculture Research* 31 (8-9): 719-728.
- FAVA, G. & CROTTI, E. (1979). Effect of crowding on nauplii production during mating time in *Tisbe clodiensis* and *T. holothuriae* (Copepoda, Harpacticoida). *Helgolander wiss. Meeresunters.* 32: 466-475.
- FERREIRA, N. G. (2003). Efeito da redução de salinidade nos copépodos harpacticóides *Cletocamptus deitersi* e *Tisbe biminiensis* e crescimento populacional de *C. deitersi* em laboratório. Monografia (Curso de Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE. 45pp.
- FUKUSHO, K. (1980). Mass production of a copepod, *Tigriopus japonicus* in Combination Culture with a Rotifer *Brachionus plicatilis*, Fed à-Yeast as a Food Source. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 46(5): 625-629.
- GAUDY, R. & GUERIN, J. P. (1982). Population dynamics of *Tisbe holothuriae* (Copepoda: Harpacticoida) in exploited mass culture. *Netherlands Journal of sea Research* 16: 208-216.
- GOMES, L. A. O. (1986) Cultivo de Crustáceos e Moluscos. São Paulo, Ed. Nobel, 226 pp.
- HEATH, P. L. & MOORE, C. G. (1997). Rearing Dover sole larvae on *Tisbe* and *Artemia* diets. *Aquaculture International*. 5 (1): 29-39.
- HERNÁNDEZ MOLEJÓN, O. G & ALVAREZ-LAJONCHERE, L. (1998). Sistema de policultivo de zooplankton para alimentar larvas de pees marinos en Cuba. In: *Anais do Aquicultura Brasil'98*. Recife, Volume II, p 141-150.
- HICKS, G. R. F. & COULL, B. (1983). The ecology of marine meiobenthic harpacticoid copepods. *Oceanogr.Mar.Biol. Ann. Rev.* 21: 67-175.
- KAHAN, D. (1981). Effect of some ecological factors on the growth of the copepod *Schizopera elantensis* – a potencial food organism for hatcheries. *Kieler Meeresforsch, Sonderh.* 5: 544-553.

- KAHAN, D.; UHLIG, G.; SCHWENZER, D.; HOROWITZ, L. (1981/1982). A simple method for cultivating harpacticoid copepods and offering them to fish larvae. *Aquaculture*. 26: 303-310.
- KOVALENKO, E. E.; D'ABRAMO, L. R.; OHS, C. L. & BUDDINGTON, R. K. (2002). A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 21: 385-395.
- LAVENS, P. & SORGELOOS, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Papers 361. Rome, FAO. 295 pp.
- LAVENS, P. & SORGELOOS, P. (1998). Present status and prospects of the use of *Artemia* cysts and biomass in shrimp farming. In: Anais do Aquicultura Brasil'98. Recife, Volume I, p 147-162.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO (1999) Instrução Normativa No. 39 de 4 de Novembro de 1999. Diário Oficial da União 213 Seção I: p. 43.
- MORAES-RIODEADES, P. M. C. (2004). Situação atual da criação de *Macrobrachium* no Brasil. I Congresso da Aquabio. Vitória – ES, Brasil. p. 61.
- ODUM, E. P. (1988). Ecologia. Rio de Janeiro, Guanabara. 434pp.
- PASTOR, J. M. (2003). Técnicas de cultivo do copépodo harpacticóide *Tisbe biminiensis* Volkmann-Rocco, 1973. Monografia (Curso de Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE. 35pp.
- PAYNE, M. F. & RIPPINGALE, R. J. (2000). Rearing West Australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched *Artemia*. *Aquaculture*. 188 (3-4): 353-361.
- PAYNE, M. F. & RIPPINGALE, R. J. (2001). Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. *Aquaculture*. 201 (3-4): 329-342.
- PINHEIRO, M. A. A. & HEBLING, N. J. (1998). Biologia do *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). In: VALENTI, W. C. (ed.) Carcinocultura de água doce. Brasília, p. 21-46.
- PINTO, C. S. C.; SOUZA-SANTOS, L. P. & SANTOS, P. J. P. (2001) Development and population dynamics of *Tisbe biminiensis* (COPEPODA- HARPACTICOIDA) reared on different diets. *Aquaculture* 198: 253-267.
- SARGENT, J. R.; MCEVOY, L. A. & BELL, J. G. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeders. *Aquaculture* 155: 117 – 127.

- SILVA, F. M. (1994). Efeito da substituição de *Artemia* sp. pelo nematóide *Panagrellus redivivus* sobre o crescimento e sobrevivência larval do camarão *Macrobrachium rosenbergii*. Dissertação de Mestrado em Aquicultura da UFSC. 47pp.
- STOTTRUP, J. G. (2000). The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquaculture Research* 31: 703-711.
- STOTTRUP, J. G. & NORSKER, N. H. (1997). Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture* 155: 231-247.
- SUN, B. & FLEEGER, J. W. (1995). Sustained mass culture of *Amphiascoides atopus* a marine harpacticoid copepod in a recirculating system. *Aquaculture* 136: 313-321.
- TESHIMA, S. I.; KANAZAWA, A. & SASADA, H. (1983). Nutritional value of dietary cholesterol and other sterols to larval prawn, *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* 31: 159-167.
- THOMAZ, L. A. (2002). Efeito da utilização do rotífero enriquecido e congelado *Brachionus plicatilis* (O. F. Muller, 1786) na alimentação de larvas do camarão de água doce, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) Dissertação de Mestrado em Zootecnia UFRRJ. 58pp.
- TSENG, W-Y & HSU, C-K. (1984). Studies on the culture of the marine copepod *Tigriopus japonicus* Mori and its value as a food for juveniles of the yellow-fin sea bream *Acanthopagrus Latus* (HOUTTUYN). *Crustaceana*. (Suppl.) 7: 381-388.
- VALENTI, W. C. (1990). Criação de Camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*). In: Reunião anual da sociedade de zootecnia, 27 / Reunião da associação Latino-Americana de Produção animal, 12, Campinas. p 757-785.
- VALENTI, W. C. (2004) Carcinocultura de água doce como agronegócio. I congresso da Aquabio. Vitória – ES, Brasil. p. 52.
- VALENTI, W. C.; MALLASEN, M. & SILVA, C. A. (1998). Larvicultura em sistema fechado dinâmico. Tecnologia para produção de camarões. In: VALENTI, W.C. (ed.) Carcinocultura de água doce. Brasília: p115-143.
- VILELA, M. H. (1984). Production experiments of the marine harpacticoid copepod *Tigriopus brevicornis* Muller, reared on various feeding regimes. *Bol.Inst.Nac.Invest.Pescas*. (11): 83-115.
- ZAR, J. H. (1999). Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, New Jersey: 663pp.