

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Aqüicultura e Pesca

A pesca e a aqüicultura são atividades humanas milenares. Existem registros do aprisionamento de organismos aquáticos em escavações costeiras abastecidas pelas marés há, no mínimo, 4000 anos (Arana, 1999). Naquele momento, o principal objetivo era provavelmente o confinamento e engorda de organismos capturados na natureza. Esta atividade é considerada como o marco inicial, muito simplificado, do que hoje é a aqüicultura. Atualmente não basta somente engordar os organismos capturados no ambiente, é preciso mantê-los em cativeiro, procriá-los, cultivar sua prole para posteriormente realizar a engorda e comercializar o pescado produzido.

A exemplo de outras atividades antrópicas, a aqüicultura gera impactos ambientais, que podem ser pequenos e controláveis ou de maior porte e deletérios ao meio ambiente. O aqüicultor deve prezar pelo uso de métodos sustentáveis e ecologicamente corretos, assegurando longa vida ao empreendimento e ao ambiente que sustenta todos nós.

A pesca e a aqüicultura são importantes fontes de alimentos, empregos e impostos em muitas comunidades de diversos países. Atualmente a produção mundial de pescado é recorde, contribuindo com mais de 15% do suprimento global de proteína animal. Entretanto, estima-se que 75% dos maiores estoques pesqueiros marinhos estão sobre explotados. Isto demonstra a insustentabilidade do aumento da produção pesqueira caso não sejam identificadas novas pescarias e recuperados os estoques sobre explotados (FAO, 2002).

A contribuição da aqüicultura para o suprimento global de peixes, crustáceos e moluscos aumentou de 3,9% da produção total de pescado em 1970 para 27,3% em 2000. Esta atividade vem crescendo mais rapidamente do que qualquer outro setor produtor de proteína animal, pois sua taxa de crescimento é de 9,2% por ano desde 1970, comparado com 1,4% para a pesca e 2,8% para os sistemas de produção de proteína animal de origem terrestre (FAO, 2002).

1.2 - Piscicultura

A produção de peixes, um dos principais organismos cultivados na aqüicultura mundial, atingiu 24,4 milhões de toneladas em 2001, seguido pelos

moluscos com 11,2 milhões de toneladas e crustáceos com 1,9 milhões de toneladas (FAO, 2002).

Os peixes mais produzidos são de água doce. Os ciprinídeos *Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis* e *Carassius carassius* responderam, em 2001, por 16,4 milhões de toneladas (mt) e os ciclídeos por 1,4 mt. Os salmonídeos contribuíram com 1,77 mt e os peixes marinhos responderam por 1 mt (FAO, 2002).

A piscicultura marinha no Brasil ainda vem sendo realizada em nível experimental, não havendo qualquer registro de produção comercial de peixes marinhos (Cerqueira, 2002).

Analisando a produção dos peixes cultivados em função do seu hábito alimentar verifica-se que 62% da produção são de espécies onívoras e herbívoras; 25% são de espécies filtradoras e 13% são de espécies carnívoras. Apesar de representarem somente 13% da produção em peso, o valor das espécies carnívoras atinge 34,3% do valor total, pois os peixes carnívoros alcançam valores unitários de mercado mais altos do que as espécies com hábitos alimentares mais próximos ao início da cadeia trófica (FAO, 2003).

A busca do equilíbrio entre qualidade ambiental e lucro são necessários e integram o desenvolvimento sustentável. Neste ponto, surgem alguns questionamentos em relação à capacidade suporte do ambiente na geração de insumos necessários para a manutenção do crescente número de espécies carnívoras cultivadas no mundo (Naylor *et al.*, 2000).

1.3 - O linguado *Paralichthys orbignyanus*

A pesca industrial dirigida ao linguado começou em torno de 1985, com a utilização de barcos do tipo tangoneiro, desde então, sua captura vem diminuindo na plataforma continental do Rio Grande do Sul. Levantamentos de pesca exploratória demonstram que a abundância destas espécies é baixa na região e dificilmente os linguados suportarão um aumento na sua captura (Haimovici e Mendonça, 1996; Haimovici, 1997).

Duas espécies de linguado com interesse comercial são capturados no litoral gaúcho: *Paralichthys patagonicus* conhecido por “linguado branco” e *Paralichthys orbignyanus* conhecido como “linguado vermelho” (Figueiredo e Menezes, 2000). A pesca de *P. patagonicus* é feita principalmente pela frota de

arrasteiros da pesca industrial que atuam sobre a plataforma continental, enquanto *P. orbignyanus* também é capturado por pescadores artesanais que operam com redes de espera na região estuarina da Lagoa dos Patos e com barcos arrasteiros de pequeno porte na região costeira adjacente (Carneiro, 1995).

P. orbignyanus é uma espécie costeira e estuarina, suas larvas e juvenis utilizam o estuário e as baías rasas como berçários naturais (Haimovici e Mendonça, 1996; Sinque e Muelbert, 1998). Busoli e Muelbert (1999), estudando a composição taxonômica e distribuição do ictioplâncton na zona de arrebentação da praia do Cassino, verificaram que ovos e larvas dos Pleuronectiformes contribuíram respectivamente com 0,007 e 1,6% do total entre 15 famílias e 14 espécies identificadas. Os ovos de linguado só foram encontrados em novembro, enquanto suas larvas foram encontradas entre os meses de outubro a março.

Os linguados passam por profundas transformações durante as primeiras semanas de vida. Durante o período de assentamento as larvas crescem mais em comprimento e altura do que em espessura, concomitantemente, um dos olhos migra para o lado oposto do corpo. Ao completar a metamorfose o corpo do linguado torna-se achatado dorso-ventralmente e os indivíduos tornam-se cegos do lado inferior do corpo. Desse modo, as larvas planctônicas e com simetria bilateral transformam-se em juvenis assimétricos e com hábitos demersais (Fukuhara, 1986; Figueiredo e Menezes, 2000).

No período de vida juvenil e adulto, os linguados vivem junto ao fundo, geralmente enterrados ou mimetizados de acordo com o ambiente. Os linguados juvenis ou adultos possuem estratégia de alimentação no ambiente natural caracterizada pela “emboscada” assim, utilizam a visão como principal órgão de detecção (Figueiredo e Menezes, 2000).

A distribuição de *P. orbignyanus* se estende deste o estado do Rio de Janeiro até o golfo de San Matías na Argentina (Figueiredo e Menezes, 2000), sendo encontrado em profundidades menores que 1 até 45 metros, com maior abundância ocorrendo em torno dos 20 metros (Díaz de Astarloa *et al.*, 1998).

Uma série de estudos, visando elucidar a resistência dos linguados aos fatores ambientais foram realizados. Wasielesky *et al.* (1995) demonstraram que *P. orbignyanus* suporta stress hiper e hipo osmótico, sobrevivendo por longos

períodos em águas de baixa salinidade. Bianchini *et al.* (1996) concluíram que juvenis de *P. orbignyana* são altamente tolerantes à amônia e nitrito tanto em água doce como em água marinha. Wasielesky (1997) mostrou que juvenis de *P. orbignyana* são relativamente tolerantes ao stress ácido. Com relação a temperatura, Wasielesky *et al.* (1998) determinaram que as temperaturas letais médias superior e inferior para juvenis de *P. orbignyana* são respectivamente iguais a 30 e 9 °C.

O crescimento de juvenis de *P. orbignyana* é significativamente maior em salinidade 30 quando comparado com salinidade 2, mas nenhuma diferença foi encontrada para os linguados mantidos em salinidade 11 (Sampaio *et al.*, 2001). O ponto isosmótico de *P. orbignyana* foi estimado em 328,6 mOsm Kg⁻¹ H₂O, que corresponde a salinidade 11. A sobrevivência é similar em água doce e em água marinha, entretanto a íono e a osmorregulação são significativamente afetadas pela água doce e os linguados mantidos nesse meio apresentam uma menor taxa de crescimento do que os mantidos em água marinha (Sampaio e Bianchini, 2002).

Estudos sobre a reprodução com descrição histológica da estrutura gonadal e desenvolvimento ontogenético das larvas foram realizados por Mellito da Silveira (1999), Mellito da Silveira *et al.* (1995) e Robaldo (2003). Alguns experimentos relacionados principalmente com a reprodução (Cerqueira *et al.*, 1997; Robaldo *et al.*, 2003 e Robaldo, 2003) e larvicultura (Cerqueira, 1997 e Sampaio *et al.*, 2003) vêm sendo realizados em laboratório.

1.4 - Algumas interações na primeira alimentação

Reproduzir em laboratório, o equilíbrio ecológico dinâmico do meio ambiente marinho é complicado. Oferecer condições físico-químicas e biológicas adequadas durante a incubação, eclosão e primeira alimentação é importante para a produção de juvenis, pois quaisquer possíveis interações físicas, químicas e biológicas são de suma importância para o que acontece em um ambiente de confinamento.

Fatores ecologicamente importantes como a temperatura, salinidade, luz e oxigênio dissolvido são estudados corriqueiramente, e seus efeitos sobre os organismos já são mais conhecidos. Interações ecológicas, como a utilização do

sistema de água verde, comunidades microbianas e fatores nutricionais também são extremamente importantes para uma boa produção de juvenis.

As larvas de *P. orbignyanus* eclodem com tamanho médio de 1,9 mm, nesse momento elas são cegas e não apresentam orifícios oral e anal. As estruturas relacionadas à visão e a digestão começam a ser funcionais em torno de 3-4 dias após a eclosão (dae). O início e o sucesso do comportamento de procura, captura e ingestão de presas, comumente chamado de primeira alimentação, passa a ser fundamental para o bom desenvolvimento e sobrevivência das larvas.

As larvas, dependendo da temperatura, possuem reservas nutritivas até aproximadamente 6 dae. Entretanto, quando mantidas em inanição as mortalidades começam a ocorrer com 5 dae, sendo total com 9 dae (Mellito da Silveira, 1999).

Neste pequeno intervalo de 3 a 5 dias, as larvas com sistema de natação e visão ainda pouco eficientes e boca com abertura pequena, precisam localizar presas de tamanho adequado, aprender a persegui-las, capturá-las e ingeri-las. Fielder *et al.* (2002) comentam que a alimentação em peixes marinhos é um processo de aprendizagem, que pode levar apenas 1 dia para o “black sea bass” *Centropistis striata* e de 2 a 3 dias para o “gilthead sea bream” *Sparus aurata*.

A utilização de microalgas (sistema de água verde) é parte comum das técnicas utilizadas para a larvicultura de peixes marinhos. Acredita-se que elas auxiliem na manutenção da qualidade da água dos tanques de cultivo, podendo ser uma fonte direta de alimento ou indireta de nutrientes para as larvas através do alimento vivo, aumentam a incidência de predação melhorando o contraste visual e dispersão da luz, além de atuar no controle da flora microbiana da água dos tanques e intestino das larvas (Lavens e Sorgeloos, 1996).

Cahu & Zambonino-Infante (1998) demonstraram que larvas do robalo *Dicentrarchus labrax* aumentam a secreção de enzimas digestivas na presença de microalgas. Amjad & Jones (1994) observaram que a microalga *Chlorella japonica* tem capacidade para funcionar como “filtro biológico” e pode eficientemente reduzir os metabólitos tóxicos acumulados em um ambiente de cultivo estático.

Reitan *et al.* (1991) verificaram a ingestão e assimilação da microalga *Tetraselmis sp.* (8-10 µm de diâmetro) pelas larvas do “halibut” *Hippoglossus*

hippoglossus. Reitan *et al.* (1997) comentam que o uso estratégico das microalgas no processo da primeira alimentação aumenta o sucesso na larvicultura, incluindo a sobrevivência, crescimento e qualidade das larvas.

Naas *et al.* (1991) observaram que a adição de microalgas durante a primeira alimentação de *H. hippoglossus* aumentou substancialmente a sobrevivência e crescimento das larvas, comparado com água filtrada. Tamaru *et al.* (1994) observaram melhora significativa na sobrevivência e crescimento das larvas de tainha *Mugil cephalus* quando estas foram mantidas na presença de microalgas.

Harboe *et al.* (1994) demonstraram que a desinfecção dos ovos do “halibut” *H. hippoglossus* tem um efeito positivo na primeira alimentação das larvas. Provavelmente, porque as larvas de peixes são microbiologicamente estéreis no momento da eclosão e, durante o desenvolvimento ontogenético, ocorre a colonização do trato digestório por diferentes microorganismos, até que a flora se estabilize. Os tipos de bactérias que colonizam o trato digestório das larvas, refletem as bactérias associadas ao alimento vivo, a que as larvas estão continuamente expostas (Birkbeck *et al.*, 2002).

Fatores nutricionais, como a quantidade de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) na dieta (Watanabe, 1983), principalmente o ácido docosahexaenóico (DHA), desempenham importante função na resistência ao estresse conferindo maior vitalidade às larvas, conforme foi demonstrado para as larvas do “mahimahi” *Coryphaena hippurus* (Kraul *et al.*, 1993), da tainha *Mugil cephalus* (Ako *et al.*, 1994) e do linguado japonês *Paralichthys olivaceus* (Furuita *et al.*, 1999).

1.5 - A luz

A luz, junto com a temperatura e a salinidade, são os fatores do meio ambiente ecologicamente importantes no mar (Odum, 2001), pois são altamente influenciados pela sazonalidade. Os principais mananciais naturais de luz são o Sol, a Lua, as estrelas e a luz produzida por organismos bioluminescentes. Praticamente toda a energia importante para os organismos na natureza é oriunda direta ou indiretamente do Sol (Clarke, 1965).

Paradoxalmente, os organismos enfrentam algumas incoerências no que se refere à luz, não há como sobreviver sem ela (com exceção de alguns

organismos cavernícolas e de regiões oceânicas afóticas), mas a exposição direta do protoplasma à luz provoca a desestruturação das moléculas biológicas e em casos mais graves leva a morte. Portanto, grande parte das características comportamentais e estruturais dos organismos estão adaptadas, possibilitando a eles usufruírem os componentes úteis da energia da radiação solar que chega à biosfera (Odum, 2001).

A luz solar penetra na água procedendo da atmosfera. No caminho percorrido pela luz, esta se submete a todas as mudanças determinadas pelas condições físicas existentes acima da interface ar-água. O ar e a água possuem densidades diferentes assim, 10% ou mais da luz se perde por reflexão durante a transição do meio aéreo para o aquático. No ambiente aquático a luz esta submetida a uma série de influências variáveis que a modificam profundamente. No seu caminho, as modificações se referem à intensidade, composição espectral, distribuição angular e distribuição espectral (Clarke, 1965).

1.6 - O fotoperíodo

Considerando a Terra como uma partícula do sistema solar, ela deve ter uma certa velocidade e ocupar uma órbita de acordo com sua massa, caracterizando um movimento de translação. Este movimento em torno do Sol somado a inclinação do planeta é responsável pela sazonalidade sentida pelos habitantes do planeta.

É conhecido que todas as partículas possuem uma propriedade denominada spin, relacionada a sua aparência em diferentes direções. Quanto maior o spin, menor a fração de uma rotação completa para a partícula ter a aparência inicial. O spin ou movimento de rotação da Terra é responsável pelos ciclos diários de claro e escuro.

Os movimentos de translação e rotação estão intimamente correlacionados, favorecendo a repetição de condições físicas semelhantes ao longo do tempo.

Desde o início do surgimento da vida na Terra, a mais ou menos 5 bilhões de anos, os organismos já estavam sujeitos aos ciclos diários de claro e escuro. Até o presente, aproximadamente 10^{14} ciclos de claro e escuro ocorreram, o que provavelmente influenciou e continua influenciando a evolução das espécies.

A fotoperiodicidade está associada ao que hoje se conhece de um modo muito generalizado por relógio biológico dos organismos, um mecanismo fisiológico de medição do tempo. A vantagem ecológica do relógio biológico é indiscutível uma vez que conecta os ritmos ambientais e fisiológicos e torna os organismos capazes de antecipar as periodicidades diárias, estacionais e outras (Odum, 2001).

O fotoperíodo é um fator ecológico facilmente manipulado em laboratório e fornece respostas interessantes em termos biológicos, geralmente expressos em desovas fora da estação normal de reprodução das espécies e como diferenças no crescimento dos peixes. Em salmonídeos, a mudança sazonal do fotoperíodo tem sido apontada como o principal fator ambiental responsável pela regulação endógena da transformação do “parr” em “smolt” (Porter *et al.*, 1998). O fotoperíodo é o principal determinante da maturação em salmonídeos, pargos, tainhas, linguados, Scianídeos e Serranídeos, que coletivamente compreendem as espécies marinhas mais cultivadas (Bromage *et al.*, 1997).

Smith *et al.* (1999) trabalhando com o linguado *Paralichthys lethostigma*, obtiveram desovas artificiais controlando o fotoperíodo, temperatura e utilizando implantes do hormônio GnRHa. Segundo estes autores é possível obter desovas durante o ano todo, através do controle fototermal somado à utilização do hormônio. Bengtson (1999) já realizou desovas do linguado *Paralichthys dentatus* em todos os meses do ano, utilizando para tal o controle do fotoperíodo, temperatura e indução hormonal. Robaldo (2003) obteve desovas artificiais do linguado *P. orbignyanus* somente através do controle do fotoperíodo e temperatura.

Em relação ao crescimento dos peixes, Fuchs (1978) não observou diferenças na taxa de sobrevivência das larvas do linguado *Solea solea*, mas o melhor crescimento foi obtido nos fotoperíodos de 18 e 24 hL. Hart *et al.* (1996) concluíram que o fotoperíodo ótimo para o crescimento do linguado *Rhombosolea tapirina* está entre 18 e 24 hL, mas sem efeitos significativos na sobrevivência. Purchase *et al.* (2000) não encontraram diferenças no crescimento e sobrevivência em juvenis do linguado *Pleuronectes ferrugineus* nos fotoperíodos de 24, 18 e 12 hL. Simensen *et al.* (2000) observou um crescimento mais rápido de juvenis do linguado *Hippoglossus hippoglossus* em iluminação contínua (24 hL) do que no fotoperíodo natural de inverno e primavera. Moustakas *et al.* (2004)

encontrou diferenças significativas no crescimento das larvas do linguado *Paralichthys lethostigma* com os melhores resultados em 18 e 24 hL comparado com 12 e 6 hL.

Fotoperíodos maiores (18 – 24 hL) favorecem principalmente o crescimento das larvas e juvenis de peixes, entretanto parece uma incoerência manter um organismo “ligado” 24 horas por dia. Incoerência porque os mecanismos fisiológicos de medição do tempo, como o hormônio produzido pela glândula pineal, a melatonina, vão ser afetados. A melatonina interage em vários aspectos bioquímicos dos organismos. É sabido que a melatonina é produzida em níveis basais durante a fase clara e durante a fase escura a sua produção aumenta significativamente (Randall *et al.*, 1995). Suprimindo a fase escura na larvicultura, também estaremos interferindo no ritmo endógeno natural da melatonina.

1.7 - A visão

Todos os sistemas sensoriais servem ao propósito de tradução dos sinais físicos em representações neurais, que por sua vez fornecem as informações cruciais para a sobrevivência de um organismo. A visão é um sentido amplamente utilizado, entretanto há uma tremenda diversidade na organização e capacidade funcional do sistema visual dos peixes. Essas adaptações nas funções visuais são expressões da seleção física e biológica prevalentes no habitat das espécies (Hawryshyn, 1997).

É conhecido que a alimentação em larvas de peixes marinhos depende da visão (Blaxter, 1969; Barahona-Fernandes, 1979), como em muitos outros organismos que têm este sentido como principal órgão sensorial, pois ela pode fornecer informações mais detalhadas que qualquer outro sentido (Schmidt-Nielsen, 1996). As informações obtidas com o auxílio da luz dependem de diferenças de intensidade, pois um meio iluminado uniformemente não transmite informações de interesse. Informações adicionais estão contidas nas diferenças de comprimento de onda ou cor.

Para cada espécie, em função da adaptação ao meio ambiente, existe um limiar de intensidade luminosa mínima, abaixo do qual o contraste visual entre a presa e o meio deixa de existir. Desta forma, o fornecimento de iluminação de boa qualidade, condizente com as características da espécie é de fundamental importância.

Os olhos dos peixes são construídos ao longo do plano geral dos vertebrados. Pouca refração ocorre na superfície da córnea, que possui índice de refração aproximadamente igual ao da água, o que gera a miopia nos peixes se estes forem retirados da água. As lentes (cristalino) são usualmente esféricas e protuberam através da pupila, o que assegura um amplo campo de visão. Os olhos acomodam-se por pequenos movimentos das lentes, sendo estes, uma mudança na distância entre a lente e a retina (Munz, 1971).

Nas larvas de *P. orbignyanus*, 12 horas após a eclosão observam-se o crescimento do olho e o início da diferenciação do cristalino, na região central da estrutura celular e circular que caracteriza o órgão. Aos 3 dae, o cristalino já está mais desenvolvido e as células estão reduzidas à capa externa deste e são visíveis, na retina, cinco camadas distintas de células, na mais externa os cones já possuem uma camada bem marcada. Com 4 dae na região da cabeça observa-se aumento no número de fibras nervosas, que se torna significativo com 6 dae e inicia-se a segmentação do encéfalo. Com 30 dae o olho do animal está com sua estrutura completa, sendo composto pelo cristalino, humor vítreo e a retina subdividida em diversas camadas (Mellito da Silveira, 1999).

Os bastonetes são células da retina responsáveis pela visão com luz de baixa intensidade e os cones estão envolvidos na visão no claro e na percepção de cores (Schmidt-Nielsen, 1996).

Conforme o descrito acima, nota-se que o desenvolvimento dos olhos e do cérebro para interpretação das informações captadas é lento e gradual em relação ao esgotamento das reservas endógenas. Assim, o provimento de condições físicas que facilitem e encorajem a detecção de presas pelas larvas, entre 3-6 dae, é fundamental para o sucesso na primeira alimentação e para uma boa produção de juvenis. Devem ser fornecidas às larvas e juvenis de *P. orbignyanus* luz em quantidade e qualidade que favoreça a detecção de presas por esta espécie.

2 - OBJETIVO GERAL

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito que o fotoperíodo exerce sobre as larvas e juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*.

2.1 - Objetivos específicos:

- Avaliar o efeito do fotoperíodo na sobrevivência e crescimento das larvas do linguado *Paralichthys orbignyanus* durante a larvicultura;
- Avaliar o efeito do fotoperíodo na sobrevivência e crescimento dos juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* após a metamorfose.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Coleta de reprodutores e desova artificial

Linguados adultos foram capturados por pescadores artesanais na zona de arrebentação da Praia do Cassino (Rio Grande – Brasil, 32°S – 52°W) com redes de arrasto e levados para o Laboratório de Maricultura da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Os linguados foram separados por sexo e para isso eles foram anestesiados com benzocaína (50ppm). As fêmeas foram identificadas com o auxílio de um fecho de luz, pois graças ao corpo achatado dos linguados é possível visualizar as gônadas das fêmeas por transparência. Os machos foram identificados pela liberação de esperma, através de pressão exercida na região das gônadas.

Enquanto as fêmeas ainda estavam anestesiadas elas foram pesadas e amostras de folículos ovarianos foram coletadas através de punção dos ovários com seringa e agulha hipodérmica 16G. O diâmetro dos maiores folículos foi medido sob lupa e as fêmeas cujos folículos eram maiores do que 400µm foram selecionadas para indução hormonal.

A indução da ovulação foi feita com uma injeção intramuscular de extrato de hipófise de carpa (3mg/Kg) macerada em solução de Cloreto de Sódio (0,9%).

Logo após serem observados sinais da ovulação (dilatação pronunciada da gônada no abdômen e da sua inserção no tecido muscular) as fêmeas e os machos foram anestesiados para coleta dos gametas. O esperma foi coletado com seringa (3mL) após pressão na região das gônadas e a mobilidade dos espermatozoides foi comprovada através da observação de uma amostra de esperma ativada com água do mar sob microscópio (100x). Os óvulos foram obtidos por pressão na região das gônadas, eles foram coletados em uma bacia e imediatamente fertilizados com esperma diluído em água do mar (1:5 v/v).

Após 1-2 minutos de contato dos óvulos com os espermatozoides foi adicionada água do mar e os ovos permaneceram em descanso durante 10-15 minutos. Os ovos foram lavados com água do mar para retirar o excesso de esperma e fluídos ovarianos e transferidos para uma proveta. Os ovos flutuantes (fertilizados) foram transferidos para incubadoras cilíndrico-cônicas (35L) e os ovos sedimentados (não fertilizados) foram desprezados.

3.2 - Produção de alimento vivo

As microalgas *Tetraselmis tetrathele* e *Nannochloropsis oculata* foram cultivadas em laboratório em meio Guillard F/2. O cultivo foi realizado no sistema “batch” em sala asséptica com iluminação e temperatura controlada, utilizando aumento gradual de volume de meio de cultura até chegar a “carboys” de 20 litros.

Rotíferos *Brachionus plicatilis* foram cultivados, no sistema de coleta parcial, em um tanque ao ar livre, e alimentados com microalgas (*N. oculata* e *T. tetrathele*) e fermento de pão *Saccharomyces cerevisiae*. Antes de serem oferecidos às larvas, os rotíferos foram lavados, concentrados e sua densidade estimada.

Cistos de *Artemia franciscana* (Grande Lago Salgado, INVE) foram colocados em incubadoras cilindro-cônicas com iluminação constante e após 24h foram coletados os náuplios (ART). Após ser feita uma estimativa da densidade de náuplios eles foram oferecidos para as larvas de acordo com a necessidade de cada tanque.

Os náuplios de *Artemia* foram também cultivados em laboratório por dois dias, até atingirem o estágio de metanáuplio (MART), eles foram alimentados com a microalga *N. oculata*. Os MART foram oferecidos aos juvenis de acordo com a necessidade de cada tanque.

3.3 - Experimentos de fotoperíodo e condições de cultivo das larvas de linguado.

Para avaliar o efeito do fotoperíodo sobre as larvas de linguado foi realizado um experimento preliminar (EXP1), onde foram testados três fotoperíodos: 0, 12 e 24 horas de luz por dia (hL) com duas repetições cada e duração de 5 dias. Baseado nos resultados desta primeira avaliação foi efetuado um novo experimento (EXP2), onde foram testados 2 fotoperíodos: 18 e 24 hL com três repetições cada e duração de 30 dias. Com exceção dos fotoperíodos testados e do tempo de duração, a metodologia utilizada nos dois experimentos foi semelhante.

O laboratório foi iluminado 24 h por dia e os tanques foram cobertos com lona preta pelo tempo necessário para manter os fotoperíodos estipulados.

Os experimentos foram realizados em tanques cilíndricos de fundo plano, confeccionados em fibra de vidro e com paredes pintadas de preto e o fundo de branco. Foi utilizado um volume de 10 L de água do mar, previamente filtrada em filtro de areia ($\pm 100 \mu\text{m}$) e de cartucho com porosidade de $5 \mu\text{m}$. Os tanques de larvicultura foram mantidos em um banho termostaticado equipado com dois aquecedores submersíveis (300 W) para evitar oscilações de temperatura.

As larvas eclodiram no tanque de incubação e 1 dia após a eclosão (dae), foram transferidas com auxílio de uma pipeta para os tanques de larvicultura (EXP1 e EXP2). O comprimento da notocorda de um lote destas larvas ($n=30$) foi medido sob lupa com uma ocular graduada. No EXP1 e EXP2, as aferições de comprimento foram realizadas a cada 5 dias ($n=15$). As larvas foram contadas individualmente e a densidade inicial nos tanques foi de 50 larvas/L para o EXP1 e EXP2.

Nos dois experimentos as larvas foram cultivadas no sistema de água verde, para isso no EXP1 a microalga *T. tetrathele* foi adicionada uma vez por dia (5×10^4 céls/mL) nos tanques de larvicultura e no EXP2 a microalga utilizada foi *N. oculata* (50×10^4 cél/mL).

Rotíferos foram oferecidos como primeiro alimento, no EXP1 a densidade inicial foi de 10 indivíduos por mL (ind/mL) e no EXP2 a densidade foi de 25 ind/mL. Aos 15 dae passou-se a oferecer náuplios de *Artemia* para as larvas, a densidade inicial foi de 0,5 ART/mL, chegando ao final da larvicultura com 3-4 ART/mL.

Com 4 dae foram retiradas, aleatoriamente, dos tanques do tratamento de 12 e 24 hL (EXP1) larvas com alimento no trato digestório, confirmando a ingestão das presas pelas larvas.

No EXP1 a temperatura foi de $23,3 \pm 0,5$ °C e a salinidade foi de $31,4 \pm 0,8$. No EXP2 a temperatura foi de $24,2 \pm 0,7$ °C enquanto a salinidade permaneceu em $33 \pm 0,8$.

3.4 - Experimento de fotoperíodo e condições de cultivo dos juvenis de linguado.

A larvicultura foi realizada em incubadoras cilíndrico-cônicas confeccionadas em fibra de vidro semi-transparente. As incubadoras com

capacidade para 35 litros foram preenchidas com volume útil de 30 litros de água filtrada (filtro CUNO® com cartucho de 1 µm). Cada uma das 5 incubadoras recebeu uma mangueira transparente de aeração e uma pedra porosa em sua extremidade, mantida com aeração suave o suficiente para não proporcionar turbulência excessiva.

Após o nascimento das larvas, purgou-se 2 a 5 litros de meio com material biológico sedimentado no fundo da incubadora. O volume purgado foi repostado com água salgada filtrada mais a microalga *Nannochloropsis oculata*, ajustada para ficar na densidade média de 50×10^4 céls/ml. O fotoperíodo foi mantido em 24 hL durante toda a larvicultura.

A renovação do meio das incubadoras iniciou com taxa média de 10% chegando ao final da larvicultura (30-35 dae) com taxas superiores a 80%/dia.

Foram oferecidos como primeiro alimento rotíferos *B. plicatilis*. Os rotíferos foram oferecidos às larvas em densidade média de 25 ind/mL.

Aos 15 dae, iniciou-se o oferecimento de náuplios de *Artemia* às larvas. A densidade inicial foi de 0,5 náuplio/mL chegando a 4-5 náuplios/mL no final da larvicultura. Concomitante ao oferecimento dos náuplios, cessou-se o oferecimento de rotíferos a partir do segundo dia de alimentação conjunta, mesmo assim, os rotíferos permaneceram nos tanques em média mais cinco dias.

As larvas foram mantidas nas incubadoras até completarem a metamorfose (35 dae). Foram alimentadas neste período somente com náuplios de *Artemia*. Com 35 dae, os juvenis foram transferidos para os tanques experimentais.

O experimento com juvenis (EXP3) foi montado em dois sistemas de banho termostático, cada um com oito tanques cilíndricos com paredes de cor preta, fundo plano branco e 50 litros de volume útil. Cada um dos tanques recebeu uma mangueira transparente e uma pedra porosa em sua extremidade para a aeração.

Os tanques foram mantidos com fluxo contínuo (100 ± 25 L/dia). O sistema de escoamento de água foi montado no centro de cada tanque com dois canos de PVC, um interno de 25 DN para manter o nível em 50 litros e outro externo de 50 DN. O cano externo foi perfurado em sua base e coberto com uma malha proporcionando desta maneira a renovação primeiramente pela água contida no fundo dos tanques e ao mesmo tempo impedir a perda de metanúplios de *Artemia*.

O desenho experimental consistiu de 4 tratamentos: 0, 12, 18 e 24 hL com 4 repetições para cada tratamento. O fotoperíodo foi atribuído aos tanques através da utilização de uma lona preta que no horário oportuno foi colocada sobre os tanques, impedindo a entrada de luz e não atrapalhando o fluxo de água.

Os juvenis com 35 dae ($10,1 \pm 1,54$ mm e $21,13 \pm 8,8$ mg, $n=30$) foram estocados aleatoriamente nos 16 tanques experimentais na densidade de 2 juvenis/L. Os MART foram oferecidos às larvas 2 a 3 vezes por dia na densidade de 2/mL.

Foram realizadas avaliações de comprimento e peso a cada sete dias, para tal, 15 juvenis foram retirados aleatoriamente de cada tanque com o auxílio de um puçá e anestesiados com benzocaína (30-40ppm). O comprimento total foi medido sobre um cartão plastificado de papel milimetrado. O peso úmido foi tomado utilizando-se uma balança Sartorius® modelo "Analytic AC210S", para tal, o excesso de umidade das larvas foi retirado utilizando-se um absorvente íntimo feminino com gel.

A taxa de crescimento específico (SGR) foi calculada utilizando-se a fórmula:

$$SGR = \frac{\ln W_f - \ln W_0}{t} \times 100,$$

onde W_f é o peso médio final (mg), W_0 é o peso médio inicial (mg) e t é o tempo em dias.

O fator de condição de Fulton (K) foi calculado utilizando-se a fórmula:

$$K = \frac{P}{C^3},$$

onde P é o peso (mg) e C é o comprimento (mm).

No EXP3, a temperatura foi de 24 ± 1 °C, a salinidade ficou em 26 ± 1 , o oxigênio dissolvido permaneceu em $8,14 \pm 0,13$ mg/L e a intensidade luminosa foi de 486 ± 48 lux no período claro.

3.5 - TRATAMENTO DOS DADOS

Verificando-se as premissas necessárias, os resultados obtidos foram estudados através da Análise de Variância (uma via) e encontrando-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos foi aplicado o teste de Tukey para

separar as médias. Os dados de sobrevivência em porcentagem foram transformados em Arco-seno.

4 - RESULTADOS

4.1 - Efeito do fotoperíodo sobre as larvas de linguado

A sobrevivência final foi estimada através da contagem de larvas remanescentes no 5º dia experimental. A sobrevivência no tratamento 0 hL foi zero. Os dados indicam proporcionalidade direta da sobrevivência com o fotoperíodo, alcançando 0, 1,6 e 4,5%, respectivamente para os tratamentos de 0, 12 e 24 hL (figura 1).

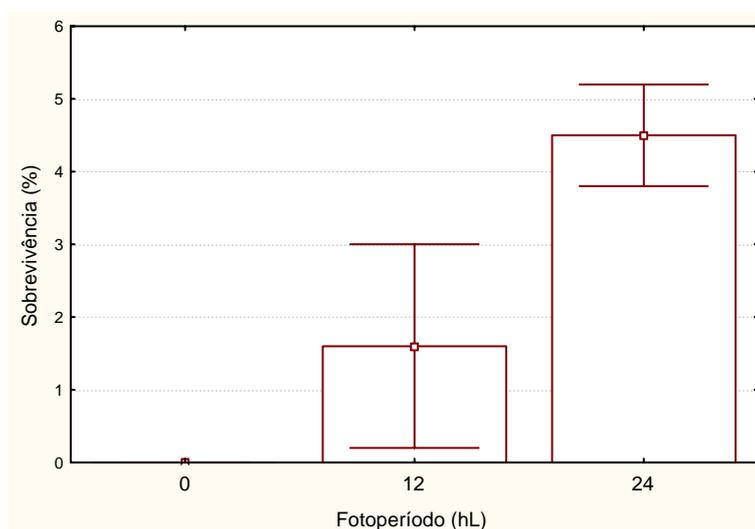


Fig. 1 Sobrevivência final das larvas de *Paralichthys orbignyanus* cultivadas durante 5 dias em diferentes fotoperíodos, as barras verticais indicam o erro padrão.

O crescimento das larvas durante os 5 dias foi diretamente proporcional ao fotoperíodo (figura 2). O comprimento das larvas foi de $3,44 \pm 0,4$ e $3,75 \pm 0,26$ mm, respectivamente para os tratamentos de 12 e 24 hL, sendo estas diferenças significativas ($p < 0,05$).

No EXP2, a sobrevivência final observada foi de 4 e 13%, respectivamente para os tratamentos de 18 e 24 hL.

O crescimento das larvas durante os 30 dias de experimento sofreu modificações em relação aos 2 fotoperíodos avaliados (figura 3). Durante os primeiros 20 dias, as larvas mantidas em 24 hL obtiveram crescimento

significativamente superior ($p < 0,05$) às larvas mantidas em 18 hL. Entretanto, após o 20º dia este quadro começou a se inverter e no 30º dia as maiores larvas foram aquelas mantidas em 18 hL. O comprimento médio final das larvas, para os tratamentos de 18 e 24 hL foi respectivamente de $12,7 \pm 1,9$ e $11,6 \pm 1,4$ mm ($p < 0,05$).

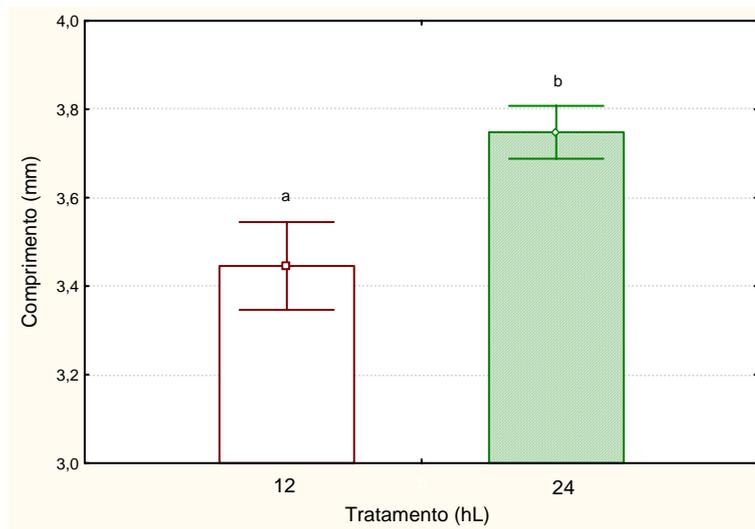


Fig. 2 Crescimento em comprimento das larvas de *Paralichthys orbignyanus* cultivadas em diferentes fotoperíodos, as barras verticais indicam o erro padrão.

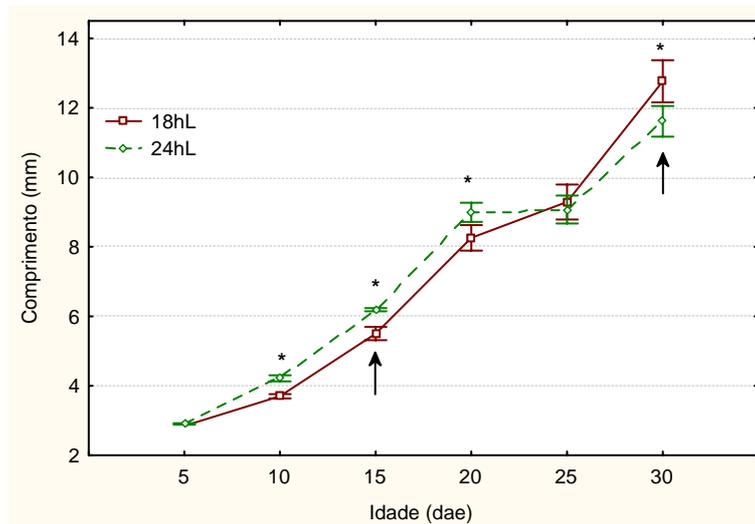


Fig 3. Crescimento das larvas de *Paralichthys orbignyanus* ao longo dos 30 dias de experimento nos fotoperíodos de 18 e 24 hL. Asteriscos indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) e as setas indicam o início e o final do período de assentamento.

4.2 - Efeito do fotoperíodo sobre os juvenis de linguado

A sobrevivência final foi de $38,2\pm 14$; $69,2\pm 11$; $69,3\pm 5,5$ e $81\pm 9\%$ respectivamente para 0, 12, 18 e 24 hL (figura 4). Foram detectadas diferenças significativas ($p<0,05$) entre o tratamento de 0 hL e os demais. De acordo com os resultados, fotoperíodos maiores favorecem a sobrevivência.

O crescimento em comprimento e peso dos juvenis de *P. orbignyanus*, apresentou diferenças significativas ($p<0,05$) para os dois fatores analisados já no final da primeira semana, entre o tratamento de 0 hL e os demais (figuras 5 e 6). Esta diferença manteve-se durante todo o período experimental.

As diferenças estatísticas ($p<0,05$) entre os tratamentos de 12, 18 e 24hL começaram a aparecer no 63º dae para o comprimento (figura 5). Ao final do EXP3 (70 dae), os linguados do tratamento com 18hL foram significativamente superiores aos demais ($p<0,05$).

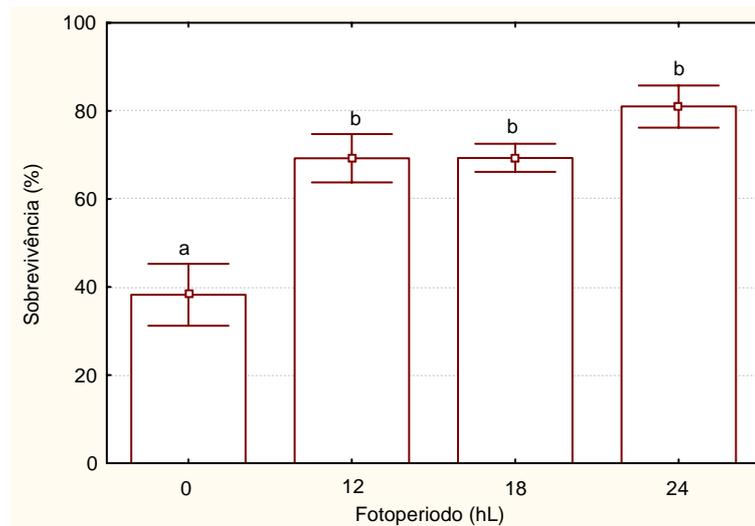


Fig 4. Sobrevivência dos juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus* cultivado em diferentes fotoperíodos ao longo de 35 dias de experimento. As barras verticais indicam o erro padrão e as letras as diferenças estatísticas ($p<0,05$).

Os dados finais de crescimento em comprimento para os tratamentos de 0, 12, 18 e 24 hL foram respectivamente $10,85\pm 0,78$, $18,54\pm 2,2$, $19,43\pm 1,94$ e $17,84\pm 2,1$ mm, onde estatisticamente ($p<0,05$) $0<12=24<18$ hL.

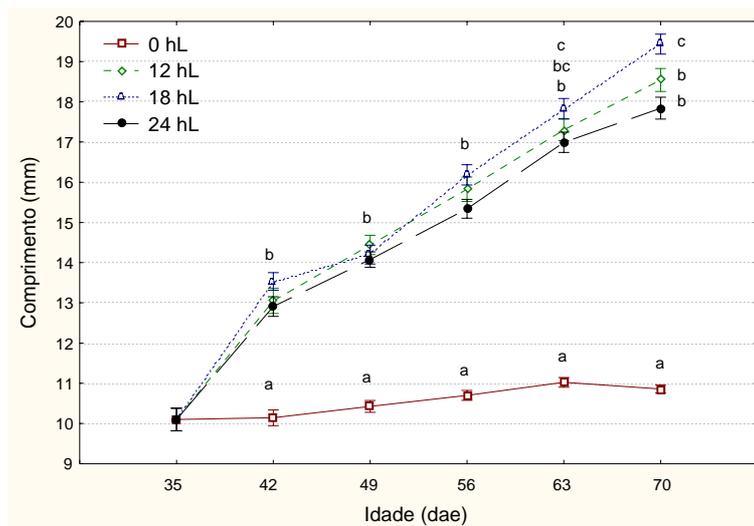


Fig 5. Crescimento em comprimento dos juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus* durante os 35 dias de experimento. Letras diferentes denotam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) e as barras verticais indicam o erro padrão.

Os mesmos padrões foram observados em relação às aferições de peso. Com 70 dae o tratamento de 18 hL foi significativamente superior aos demais ($p < 0,01$), entretanto os tratamentos de 12 e 24 hL não apresentaram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$). Os dados finais de crescimento em peso para os tratamentos de 0, 12, 18 e 24 hL foram respectivamente $21,8 \pm 4,5$, $114 \pm 3,7$, $132,7 \pm 3,8$ e $105 \pm 3,5$ mg, onde estatisticamente ($p < 0,05$) $0 < 12 = 24 < 18$ hL.

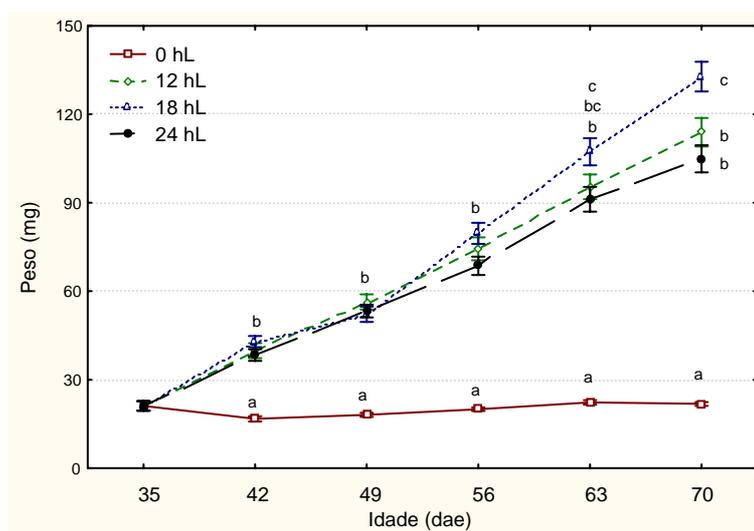


Fig 6. Crescimento em peso dos juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus* durante os 35 dias de experimento. Letras diferentes denotam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) e as barras verticais indicam o erro padrão.

A taxa de crescimento específico em peso (figura 7) e o fator de condição (figura 8) dos juvenis ao final do experimento foram respectivamente de $-0,36 \pm 0,59$, $2,9 \pm 3$, $2,95 \pm 0,88$ e $2 \pm 0,63$ $\%d^{-1}$ e $1,68 \pm 0,14$, $1,71 \pm 0,11$, $1,75 \pm 0,12$ e $1,77 \pm 0,11$ para os tratamentos de 0, 12, 18 e 24 hL.

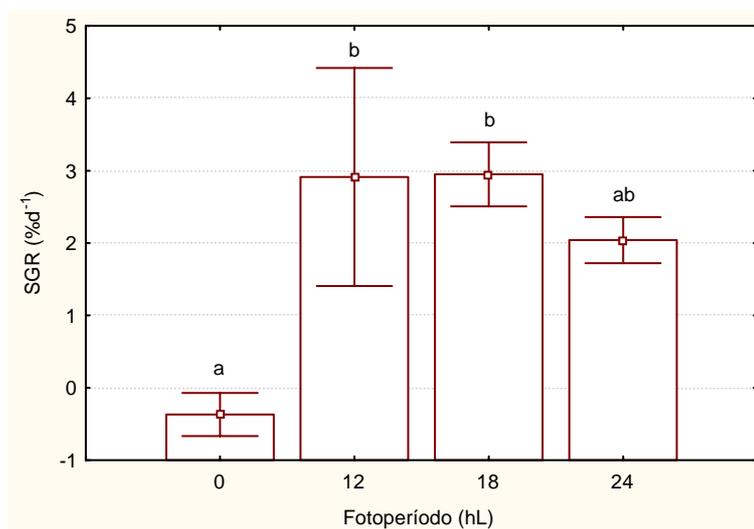


Fig 7. Taxa de crescimento específico (SGR) final em peso dos juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus*. As barras verticais indicam o erro padrão e letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

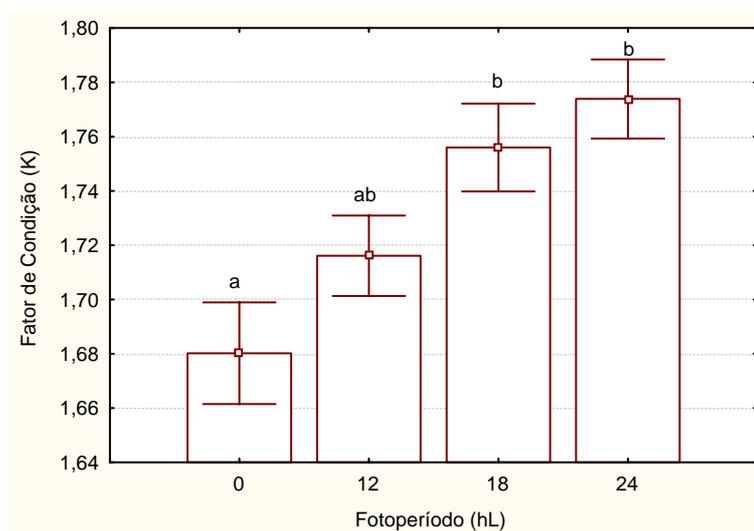


Fig 8. Fator de condição (K) final dos juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus*, cultivados em diferentes fotoperíodos. As barras verticais indicam o erro padrão e letras diferentes indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$).

5 - DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o efeito exercido pelo fotoperíodo sobre a sobrevivência e crescimento das larvas e juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus*, é suscetível a mudanças durante as fases do desenvolvimento ontogenético.

Ao submeter as larvas de linguado à iluminação constante, observou-se um maior crescimento e sobrevivência durante as três primeiras semanas de vida. O mesmo foi demonstrado para outras espécies de linguado como *Rhombosolea tapirina* (Hart, 1996), *Paralichthys lethostigma* (Moustakas *et al.*, 2004) e outros teleósteos como *Dicentrarchus labrax* (Cerqueira e Chatain, 1991), *Sparus aurata* (Chatain e Ounais-Guschemann, 1991), *Lates calcarifer* (Barlow *et al.*, 1995), *Sciaenops ocellatus* (Leiner e MacKenzie, 2001) e *Pagrus auratus* (Fielder *et al.*, 2002).

No geral, para peixes marinhos com larvas pelágicas, fotoperíodos maiores aumentam a performance das larvas, provavelmente pela maior probabilidade de encontro entre elas com suas presas (Boef e Le Bail, 1999; Fielder *et al.* 2002; Moustakas *et al.*, 2004), o que aumenta as oportunidades para as larvas desenvolverem suas habilidades na visualização, perseguição, captura e ingestão.

Dowd e Houde (1980) observaram uma interação entre a densidade de presas e o fotoperíodo na larvicultura de *Archosargus rhomboidalis*, pois para uma menor densidade de presas foi necessário um fotoperíodo mais longo para propiciar um melhor crescimento, corroborando a hipótese de que um maior número de horas por dia aumenta a probabilidade de encontro das presas. Entretanto, no trabalho de Dowd e Houde (1980) a sobrevivência não foi aumentada com fotoperíodos maiores do que o natural.

Por outro lado, na fase de alimentação endógena de *Gadus morhua*, as larvas alcançam maior comprimento quando mantidas no escuro do que sob iluminação contínua. Provavelmente porque nesta espécie a luz aumenta a atividade natatória de 6 a 10 vezes comparado com o escuro, o que inibe o melhor aproveitamento do vitelo para a transformação em tecidos do corpo (Solberg e Tilseth, 1987). No caso de peixes de água doce, de fundo, como o

jundiá *Rhamdia quelen* também foi observado melhor crescimento quando eles foram cultivados no escuro, em comparação com o fotoperíodo natural ou iluminação contínua (Piaia *et al.*, 1999). Este comportamento é observado em muitas espécies de bagres (Bruton, 1996 *in*: Piaia *et al.*, 1999), pois seus olhos são menores do que em outras espécies de peixes, sendo assim, eles não utilizam somente a visão, mas outros sentidos como o olfato e o tato para localizar o alimento (Lee, 1981).

Fielder *et al.* (2002) sugerem que o fotoperíodo ótimo para o desenvolvimento e crescimento das larvas pode variar de acordo com o estágio de desenvolvimento ontogenético. Isso foi observado quando as larvas de linguado iniciaram o processo de assentamento, pois durante uma semana foi observado uma recuperação no ganho de peso das larvas cultivadas sob 18 hL e após duas semanas elas já haviam crescido mais do que aquelas mantidas sob iluminação constante.

As mudanças de preferência da iluminação constante por fotoperíodos um pouco mais curtos (18 hL), podem ter explicação na mudança de hábito de pelágico para demersal. Nesse caso, os linguados deixam um ambiente mais claro para viver em outro, onde a penetração de luz é menor. Em um estudo com *Halichoeres tenuispinnis*, Iigo *et al.* (2003) demonstraram que este teleósteo quando mantido sob iluminação constante se enterra durante a noite subjetiva para prevenir a recepção de luz. Por outro lado, a estratégia de captura de presas pelos juvenis e adultos de linguado, justificada pela conformação da musculatura, nadadeiras modificadas e tipo de nado, é provavelmente mais eficiente em ambientes com baixa intensidade luminosa em decorrência da menor distância de reação das presas.

A taxa de crescimento e o fator de condição dos juvenis que foram expostos a luz foram maiores do que aqueles mantidos no escuro, sustentando que os juvenis de linguado continuam sendo predadores visuais. Entretanto já parece haver um efeito deletério do excesso de luz constante sobre os linguados visto que aqueles que foram mantidos com algumas horas de escuro por dia atingiram uma melhor performance.

O desenvolvimento do olho também pode auxiliar a elucidar a preferência pelo fotoperíodo mais curto. Mellito da Silveira (1999) observou a presença de cones nos primeiros dias de vida de *P. orbignyanus*, assim como Kawamura e

Ishida (1985) relatam que as larvas do linguado japonês *P. olivaceus* possuem somente cones simples nos estágios iniciais de desenvolvimento e apenas mais tarde, momentos antes da mudança do habitat pelágico para o demersal, é que os bastonetes e os cones gêmeos desenvolvem-se. Kitamura (1990) gravando eletroretinogramas nos olhos de larvas e juvenis do linguado *P. olivaceus* em vários estágios de desenvolvimento, verificou que a intensidade luminosa mínima capaz de ser percebida em juvenis após a metamorfose (estágio I) é 1/100 menor do que para larvas, isto significa que a resposta relativa a intensidades luminosas baixas aumenta durante a ontogenia.

A ausência da fase escura do fotoperíodo pode estar agindo como um fator físico e bioquimicamente estressante aos peixes. Alguns processos fisiológicos, como a liberação do hormônio melatonina, estão relacionados com a fase escura do fotoperíodo. É conhecido que a melatonina é produzida em níveis basais durante a fase clara e durante a fase escura a sua produção aumenta significativamente (Randall *et al.*, 1995). Os altos níveis de melatonina representam fielmente o comprimento da noite durante as estações do ano, refletindo as mudanças sazonais do fotoperíodo (Randall *et al.*, 1995; Bromage *et al.*, 2001).

As duas fontes principais deste hormônio são a glândula pineal e a retina, mas também ocorre produção no trato digestório (Bayarri *et al.*, 2003). Mayo *et al.* (2002) ainda cita a glândula de Harderian, a medula óssea, os testículos, ovários e o cristalino como locais de produção da melatonina. Nos vertebrados, a melatonina age como um relógio e um calendário, fornecendo informações sobre a hora do dia e a estação do ano (Bayarri *et al.*, 2003).

Atualmente alguns trabalhos estão avaliando a atividade da melatonina como um antioxidante (Antunes *et al.*, 1999; Mayo *et al.*, 2002; Reiter *et al.*, 2002; Sariahmetoglu *et al.*, 2003). Como consequência da vida aeróbica, um organismo precisa conviver com a geração contínua de espécies reativas de oxigênio (O_2^- , H_2O_2 , $\bullet OH$), sub-produtos do metabolismo, e defender-se do dano que estas podem ocasionar as macromoléculas celulares. Os organismos se protegem deste dano com defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas (Storey, 1996). A acumulação de moléculas danificadas pode, eventualmente, comprometer seriamente as funções essenciais da célula, ocasionando

deterioração das funções do órgão e inevitavelmente levando o organismo à morte (Reiter *et al.*, 2002), caracterizando o processo de senescência. Condições ambientais que propiciem maior produção de antioxidantes endógenos podem melhorar a performance do cultivo de uma espécie, portanto seria interessante avaliar a interação entre o fotoperíodo com a produção de melatonina e sua influência na proteção contra os radicais livres em larvas e juvenis de linguado.

A estratégia de vida do linguado *P. orbignyana* inclui a modificação do comportamento e do habitat durante o desenvolvimento ontogenético. As larvas pelágicas, no ambiente natural, alimentam-se de organismos zooplanctônicos em um meio com alta incidência luminosa, baixa densidade de presas e em uma fase que o organismo não dispõe de órgãos sensoriais totalmente desenvolvidos. O aumento artificial da fase clara do fotoperíodo durante este momento proporciona uma maior atividade predatória das larvas e aumenta sua performance em cultivo. Num segundo momento, quando as larvas estão em processo de assentamento, os órgãos sensoriais e as nadadeiras estão mais desenvolvidos e conferem uma maior eficiência predatória, diminuindo assim o período de luz necessário para haver a captura e ingestão de presas que supram as necessidades nutricionais das larvas. Nos juvenis demersais, a conformação do corpo, nadadeiras e os dois olhos de um só lado, proporcionam uma alta eficiência predatória e assim, o tempo necessário para os juvenis se alimentarem é menor em relação as larvas em início de desenvolvimento ou em processo de assentamento.

6 - CONCLUSÕES

- As larvas de linguado *Paralichthys orbignyana*, devem ser cultivadas no fotoperíodo de 24 hL até os 15-20 dae.
- Após 20 dae, as larvas devem ser cultivadas em 18hL.
- Os juvenis devem ser cultivados em 18 hL.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ako, H., Tamaru, C. S., Bass, P. e Lee, C-S. 1994. Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding on enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 122: 81-90.
- Amano, M., Iigo, M., Ikuta, K., Kitamura, S. e Yamamori, K. 2003. Daily variations in melatonin binding sites in the masu salmon brain. *Neuroscience Letters*, 350: 9-12.
- Amjad, S. e Jones, D. A., 1994. Role of microalgae in conditioning water in penaeid larval culture. *Pakistan Journal of Marine Sciences*, 3 (1): 41-51.
- Antunes, F., Barclay, L.R.C., Ingold, K.U., King, M., Norris, J.Q., Scaiano, J.C. e Xi, F. 1999. On the antioxidant activity of melatonin. *Free Radical Biology & Medicine*, 26 (1/2): 117–128.
- Arana, L.A.V. 1999. Aqüicultura e desenvolvimento sustentável: subsídios para a formulação de políticas de desenvolvimento da aqüicultura brasileira. Ed. UFSC, Florianópolis. 310p.
- Barahona-Fernandes, M.H., 1979. Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax* (L.)) reared at the Centre Oceanologique de Bretagne. *Aquaculture*, 17: 311 – 321.
- Barlow, C., G., Pearce, M., G., Rodgers, L., J. e Clayton, P. 1995. Effects of photoperiod on growth, survival and feeding periodicity of larval and juvenile barramundi *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture*, 138: 159-168.
- Bayarri, M.J., Rol de Lama, M.A., Madrid, J.A. e Sánchez-Vázquez, F.J. 2003. Both pineal and lateral eyes are needed to sustain daily circulating melatonin rhythms in sea bass. *Brain Research*, 969: 175-182.
- Bengtson, D. A. 1999. Aquaculture of summer flounder *Paralichthys dentatus*: status of knowledge, current research and future research priorities. *Aquaculture*, 176: 39-49.
- Bianchini, A., Wasielesky, W. e Miranda Filho, K. C. 1996. Toxicity of nitrogenous compounds to juveniles of flatfish *Paralichthys orbignyanus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 453-459.
- Birkbeck, T. H. e Verner-Jeffreys, D. W. 2002. Development of intestinal microflora in early life stages of flatfish. *In: Microbial approaches to aquatic nutrition*

- within environmentally sound aquaculture production sounds systems. Lee, C. S. e O'Bryen (eds.). The World Aquaculture Society., 149-160.
- Blaxter, J.H.S., 1969. Visual thresholds and spectral sensitivity of flatfish larvae. J. Exp. Biol., 51: 221–230.
- Boeuf, G. e Le Bail, P., Y. 1999. Does light have an influence on fish growth? Aquaculture, 177: 129-152.
- Bromage, N., Porter, M. & Randall, C. 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. Aquaculture, 197: 63-98.
- Busoli, R. O. e Muelbert, J. H. 1999. Composição taxonômica e distribuição do ictioplâncton na zona de arrebentação da praia do Cassino (32°10'S, 52°20'W). Atlântica, 21: 19-35.
- Cahu, C.L. e Zambonino-Infante, J.L. 1998. Algal addition in sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae rearing: effect on digestive enzymes. Aquaculture, 161: 479–489.
- Carneiro, M. H. 1995. Reprodução e Alimentação dos Linguados *Paralichthys patagonicus* e *Paralichthys orbignyanus* (Pleuronectiformes: Bothidae), no Rio Grande do Sul, Brasil. Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande – Brasil. 80p. Tese de Mestrado.
- Cerqueira, V.R. e Chatain, B. 1991. Photoperiodic effects on the growth and feed rhythm of european seabass, *Dicentrarchus labrax*, larvae in intensive rearing. LARVI'91 – Fish & Crustacean Larviculture Symposium. Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. e Ollevier, F. (Eds.). European Aquaculture Society, Special publication nº.15, Gent, Belgium.
- Cerqueira, V.R., Mioso, R., Macchiavello, J.A.C. e Brugger, A. M. 1997. Ensaios de indução de desova do linguado (*Paralichthys orbignyanus* Valenciennes, 1839). B. Inst. Pesca, 24 (especial): 247-254.
- Cerqueira, V. R. 1997. Desenvolvimento do Ovo e da Larva do Linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) em Cultivo. Manuscrito, 32p.
- Chatain, B. e Ounais-Guschemann, N. 1991. The relations between light and larvae of *Sparus aurata*. LARVI'91 – Fish & Crustacean Larviculture Symposium. Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. e Ollevier, F. (Eds.). European Aquaculture Society, Special publication nº.15, Gent, Belgium.

- Clarke, G.L. 1965. Light. *In*: Elements of Ecology. Wiley, New York, pp. 185–242.
- Cuvier-Péres, A., Jourdan, S., Fontaine, P. e Kestemont, P. 2001. Effects of light intensity on animal husbandry and digestive enzyme activities in sea bass *Dicentrarchus labrax* post-larvae. *Aquaculture*, 202: 317–328.
- Díaz de astarloa, J. M. e Munroe, T. A., 1998. Systematics, distribution and ecology of commercially important paralichthyid flounders occurring in Argentinean – Uruguayan waters (*Paralichthys*, Paralichthyidae): an overview. *Journal of Sea Research*, 39: 1-9.
- Dowd, C. E. e Houde, E. D. 1980. Combined effects of prey concentration an photoperiod on survival and growth of larval sea bream, *Archosargus rhomboidalis* (Sparidae). *Marine Ecology-Progress Series*, 3: 181-185.
- FAO. 2002. The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries Department. Rome. 150p.
- FAO. 2003. Review of the state of world aquaculture. *FAO Fisheries Circular*. No. 886, Rev. 2. Rome. 95p.
- Fielder, D., S., Bardsley, W., J., Allan, G., L., e Pankhurst, P., M. 2002. Effect of photoperiod on growth and survival of snapper *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture*, 211: 135-150.
- Figueiredo, J.L. e Menezes, N.A. 2000. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo. São Paulo. 116p.
- Fuchs, J. 1978. Effect of photoperiod on growth and survival during rearing of larvae and juveniles of sole (*Solea solea*). *Aquaculture*, 15: 63-74.
- Fukuhara, O. 1986. Morphological and functional development of japanese flounder in early life stage. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52 (1): 81-91.
- Furuita, H., Konishi, K. e Takeuchi, T. 1999. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 170: 59-69.
- Harboe, T., Huse, I. e Øie, G. 1994. Effects of egg disinfection on yolk sac and first feeding stages of halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture*, 119: 157-165.
- Haimovici, M. e Mendonça, J.T. 1996. Análise da pesca de tangones de peixes e camarões no sul do Brasil. *Atlântica*, 18: 143-160.

- Haimovici, M. 1997. Recursos pesqueiros demersais da Região Sul. Rio de Janeiro. FEMAR. 80p.
- Hart, P.R., Hutchinson, W.G., e Purser, G.J., 1996. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). *Aquaculture*, 144: 303–311.
- Hawryshyn, C., W., 1997. Vision. In; *The Physiology of Fishes*. Ed. Evans, D.H. Marine Science Series, 2nd ed. 519p.
- Hoar, W.C., 1988. The physiology of smolting salmonids. In: Hoar, W.S., Randall, D. (Eds.), *Fish Physiology*, vol. XIB. Academic Press, New York, 275–343.
- Iigo, M., Sato, M., Ikeda, E., Kawasaki, S., Noguchi, F. e Nishi, G. 2003. Effects of photic environment on ocular melatonin contents in a labrid teleost, the wrasse *Halichoeres tenuispinnis*. *General and Comparative Endocrinology*, 133: 252–259.
- Jobling, M. 1994. *Fish bioenergetics*. Editora Chapman & Hall. 309p.
- Kawamura, G. e Ishida, K. 1985. Changes in sense organ morphology and behaviour with growth in flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 51: 155-165.
- Kitamura, S. 1990. Changes in the retinal photosensitivity of flounder *Paralichthys olivaceus* during metamorfosis. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(6): 1007.
- Kraul, S., Brittain, K., Cantrell, R. e Nagao, T. 1993. Nutritional factors affecting stress resistance in larval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *Journal of the world aquaculture society*, 24 (2): 186-193.
- Ku, H-H., Brunk, U.T. e Sohal, R.J. 1993. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biology & Medicine*, 11: 621-627.
- Lavens, P. e Sorgeloos, P. (eds.), 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical paper*. Nº 361. Rome, FAO. 295p.
- Lee, J. S. 1981. *Commercial catfish farming*. Second edition by The Interstate Printers & Publishers, 310p.
- Leiner, K., A. e MacKenzie, D., S. 2001. The effects of photoperiod on growth rate and circulating thyroid hormone levels in the red drum, *Sciaenops*

- ocellatus*: evidence for a free-running circadian rhythm of T₄ secretion. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 130 (Part A): 141-149.
- Loew E. R. e MacFarland, W. N. 1990. The underwater visual environment. *In*: The visual system of fish. Edited by Douglas, R. H. e Djamgoz, M. B. A. Chapman and Hall.
- Mayo, J.C., Tan, D.X., Sainz, R.M., Natarajan, M., Lopez-Burilo, S. e Reiter, R.J. 2002. Protection against oxidative protein damage induced by metal-catalyzed reaction or alkylperoxyl radicals: comparative effects of melatonin and other antioxidants. *Biochimica e Biophysica Acta*, 25491: 1 – 12.
- Mellito da Silveira, M.P., Cousin, J.C. e Haimovici, M. 1995. Estrutura ovárica e testicular do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839). *Atlântica*, 17: 137-152.
- Mellito da Silveira, M.P. 1999. Ciclo reprodutivo e desenvolvimento ontogenético do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Teleostei: Paralichthyidae) do sul do Brasil. Rio Grande, FURG. 122p. (Tese de Doutorado).
- Mobin, S. M. A., Kanai, K, e Yoshikoshi, K. 2000. Histopathological alterations in the digestive system of larval and juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus* reared on four feeding levels. *Journal of Aquatic Animal Health*, 12: 196-206.
- Moustakas, C., Th., Watanabe, W., O. e Copeland, K., A. 2004. Combined effects of photoperiod and salinity on growth, survival, and osmoregulatory ability of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *Aquaculture*, 229: 159-179.
- Munz, F. W. 1971. Vision: visual pigments. *In*: Fish Physiology. Edited by Hoar, W. S. e Randall, D. J. Volume V. Academic Press.
- Naas, K.E., Naess, T. e Harboe, T. 1991. Enhanced first feeding of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) in green water. Larvi'91 – Fish & Crustacean larvicultura Symposium. P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jaspers and F. Ollevier (Eds.). European Aquaculture Society, Special Publication No. 15, Gent, Belgium.
- Navarro, N. e Yúfera M. 1998. Population dynamics of rotifers (*Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*) in semicontinuous culture fed freeze-dried microalgae: influence of dilution rate. *Aquaculture*, 166: 297-309.

- Naylor, R., L., Goldberg, R., J., Primavera, J., H., Kautsky, N., Beveridge, M., C., M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. e Troell, M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405: 1017-1024.
- Odum, E. P. 2001. *Fundamentos de Ecologia*. Tradução Gomes, A. M. A. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa. 927p.
- Piaia, R., Townsend, C.R. e Baldisseroto, B. 1999. Growth and survival of fingerlings of a catfish exposed to different photoperiods. *Aquaculture International*, 7: 201-205.
- Porter, M.J.R., Randall, C.F., Bromage, N.R. e Thorpe, J.E. 1998. The role of melatonin and the pineal gland on development and smoltification of Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquaculture*, 168: 139-135.
- Porter, S., M. e Theilacker, G., H. 1999. The development of the digestive tract and eye in larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*. *Fish. Bull.*, 97: 722-729.
- Purchase, C.F., Boyce, D.L. e Brown, J.A. 2000. Growth and survival of juvenile yellowtail flounder *Pleuronectes ferrugineus* (Storer) under different photoperiods. *Aquaculture Research*, 31: 547-552.
- Puvanendram, V. e Brown, J. A. 2002. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. *Aquaculture*, 214: 131-151.
- Randall, C.F., Bromage, N., Thorpe, J., Miles, M., Muir, J. 1995. Melatonin rhythms in Atlantic salmon *Salmo salar* maintained under natural and out-of-phase seasonal photoperiods. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 98: 73–87.
- Reitan, K. I., Bolla, S. e Olsen, Y. 1991. Ingestion and assimilation of microalgae in yolk sac larvae of halibut *Hippoglossus hippoglossus* (L.). Larvi'91 – Fish & Crustacean larviculture Symposium. P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jaspers and F. Ollevier (Eds.). European Aquaculture Society, Special Publication No. 15, Gent, Belgium.
- Reitan, K. J., Rainuzzo, J. R., Øie, G. e Olsen, Y. 1997. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. *Aquaculture*, 155: 207-221.
- Reiter, R.J., Tan, D-x. e Burkhardt, S. 2002. Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123: 1007–1019.

- Robaldo, R.B. 2003. Estudo comparativo da reprodução do linguado *Paralichthys orbignyanus* (VALENCIENNES, 1839) no ambiente e em cativeiro. Rio Grande, FURG. 200p. (Tese de Doutorado).
- Robaldo, R.B., Sampaio, L.A. e Bianchini, A. 2003. Induced spawning of brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* using human chorionic gonadotropin – HCG. World Aquaculture 2003 Salvador, Brazil. Book of Abstracts vol.2 p.634.
- Sampaio, L. A., Bianchini, A. e Ronzani Cerqueira, V. 2001. Growth of juvenile brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, cultured at different salinities. Journal of Applied Aquaculture, 11(1/2): 67-75.
- Sampaio, L. A. e Bianchini, A. 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 269: 187-196.
- Sampaio, L.A., Robaldo, R.B., Louzada, L.R. e Bianchini, A. 2003. Natural spawning and larviculture of brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. World Aquaculture 2003 Salvador, Brazil. Book of Abstracts vol.2 p.675.
- Sariahmetoglu, M., Wheatley, R.A., Çakýcý, Ý. e Townshend, A. 2003. Evaluation of the antioxidant effect of melatonin by flow injection analysis-luminol chemiluminescence. Pharmacological Research, 48: 361-367.
- Schmidt-Nielsen, K. 1996. Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente. Editora Santos, São Paulo. 600p.
- Simensen, L. M., Jonassen, T. M., Imstrand, A.K e Stefansson, S. O. 2000. Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 190: 119-128.
- Sinque, C. e Muelbert, J. H. 1998. O ambiente e a biota do estuário da Lagoa dos Patos – Ictioplâncton. In: Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil / Editado por Seeliger, U., Odebrecht, C., Castello, J. P. – Rio Grande: Ecocientia, 341p.
- Smith, T. I. J., McVey, D. C., Jenkins, W. E., Denson, M. R., Heyward, L. D., Sullivan, C. V., Berlinsky, D. L. 1999. Broodstock management and spawning of southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. Aquaculture, 176: 87-99.
- Solbakken, V.A., Hansen, T. e Stefansson, S.O. 1994. Effects of photoperiod and temperature on growth and parr–smolt transformation in Atlantic salmon

- (*Salmo salar* L.) and subsequent performance in seawater. *Aquaculture* 121, 13–27.
- Solberg, T. S. e Tilseth, S. 1987. Variations in growth pattern among yolk-sac larvae of cod (*Gadus morhua* L.) due to differences in rearing temperature and light regime. *Sarsia* 72, 347-349.
- Storey, K.B. 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 29, 1715-1733.
- Suantika, G., Dhert, P., Nurhudah, M. e Sorgeloos, P. 2000. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system: consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. *Aquacultural Engineering* 21, 201-214.
- Tamaru, C. S., Murashige, R. e Lee, C-S. 1994. The paradox of using background phytoplankton during the larval culture of striped mullet, *Mugil cephalus* L. *Aquaculture* 119, 167-174.
- Yamashita, Y., Tanaka, M. e Miller, J.M. 2001. Ecophysiology of juvenile flatfish in nursery grounds. *Journal of Sea Research*, 45: 205-218.
- Yan, L-J. e Sohal, R.J. 2000. Prevention of flight activity prolongs the life span of the housefly, *Musca domestica*, and attenuates the age-associated oxidative damage to specific mitochondrial proteins. *Free Radical Biology & Medicine*, 29:143-1150.
- Wasielesky, W., Miranda Filho, K. e Bianchini, A. 1995. The tolerance of the flatfish *Paralichthys orbignyanus* to salinity. *Arq. Biol. Tecnol.*, 38: 385-395.
- Wasielesky, W. 1997. Tolerance of juvenile flatfish *Paralichthys orbignyanus* to acid stress. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(2): 202-204.
- Wasielesky, W., Bianchini, A. e Miranda Filho, K. 1998. Tolerancia a la temperatura de juveniles de lenguado *Paralichthys orbignyanus*. *Frente Maritimo*, 17: 43-48.
- Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *Journal of the world aquaculture society*, 24:152-161.