

Fundação Universidade Federal do Rio Grande
Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura

Efeitos da densidade de estocagem na produção de ovos,
sobrevivência e crescimento do copépode planctônico *Acartia
tonsa* (Dana).

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
a obtenção do grau de Mestre em Aqüicultura no
Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura da
Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

Orientador: Prof. Dr. José Guilherme Bersano Filho.

Tagor Carlos Lehnen

Rio Grande- RS

2006

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial a minha mãe que sempre esteve presente me incentivando emocionalmente nos momentos mais difíceis, e ao meu pai que apesar de não poder estar presente, sempre me apoiou.

Ao professor José Guilherme Bersano Filho, por ter aceitado em me orientar e pela amizade e paciência que teve comigo durante todo mestrado.

Ao meu amigo Charles Gorri, sua ajuda foi fundamental para realização deste mestrado.

A todo pessoal do laboratório de zooplâncton da FURG, em especial a Sônia Kaminski e ao Waldemar, a experiência e a ajuda destes foram indispensáveis para realização dos experimentos.

Aos professores e alunos do curso de Pós-Graduação em Aqüicultura, pelo incentivo e ajuda durante a realização do curso.

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite e pelas críticas construtivas.

Ao CNPQ pela bolsa estudos concedida.

Índice

Resumo.....	v
Abstract.....	vi
1.Introdução.....	1
2.Objetivos.....	6
2.1.Objetivos específicos.....	6
3.Material e métodos.....	7
3.1.Cultivo de fitoplâncton.....	7
3.2.Obtenção do copépode <i>A. tonsa</i>	7
3.3.Delineamento experimental.....	7
3.3.1.Produção de ovos.....	7
3.3.2.Crescimento e sobrevivência.....	8
4.Análise estatística.....	10
5.Resultados.....	10
5.1.Qualidade de água.....	10
5.2.Produção de ovos.....	12
5.3.Sobrevivência.....	12
5.4.Estágio de desenvolvimento.....	13
5.5.Crescimento.....	15
6.Discussão.....	15
6.1.Produção de ovos.....	16
6.2.Sobrevivência e crescimento.....	19
7.Conclusões.....	23
8.Referências bibliográficas.....	23

Resumo

A utilização de copépodes na larvicultura de peixes e crustáceos tem sido apontada como uma solução alternativa ao uso de *Artemia*, devido principalmente ao seu elevado valor nutricional. No entanto, a inexistência de métodos de cultivo que permitam sua produção em grande escala, ainda limita sua aplicação na aquicultura. Neste estudo, os efeitos da densidade de estocagem na produção de náuplios, sobrevivência e no crescimento do copépode planctônico *Acartia tonsa* foram avaliados com o objetivo de se otimizar cultivos em grande escala. Para a produção de ovos, foram avaliadas as densidades de 50, 100, 200, 400 e 800 copépodes L⁻¹. Os copépodes foram cultivados em frascos de 250 mL, com S = 33 ups, T = 25 °C, alimentados com *Thalassiosira fluviatillis* e aclimatados a um fotoperíodo de 12C:12E. Para se testar os possíveis efeitos da estocagem sobre a sobrevivência e crescimento de náuplios e copepoditos de *A. tonsa*, foram usadas as densidades de 1.000, 2.500, 5.000, 10.000 e 20.000 copépodes L⁻¹. Durante o experimento os copépodes foram mantidos em frascos de 2,5 L, com S = 34 ups, T = 25 °C, e alimentados em excesso com as microalgas *Isochrysis galbana* e *T. fluviatillis*. Com relação à produção de náuplios, pode-se observar que o potencial reprodutivo de *A. tonsa* foi afetado na densidade de 800 copépodes L⁻¹, pois houve uma redução significativa na produção de ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹. A sobrevivência entre os diferentes tratamentos, não foi significativamente afetada pela densidade de estocagem, entretanto copépodes cultivados nas densidades de 10.000 e 20.000 copépodes L⁻¹, cresceram menos, ficando constatado um retardo na mudança de fase de náuplio para copepodito. A redução no potencial reprodutivo, crescimento e desenvolvimento dos copépodes cultivados em altas densidades pode estar relacionada a fatores dependentes da densidade de estocagem, como qualidade de água, estresse físico e alimento disponível. Nos sistemas intensivos de cultivo, a densidade de estocagem de 400 copépodes L⁻¹ permitiria a produção de quantidades relativamente elevadas de *A. tonsa*, sem afetar o potencial reprodutivo dos copépodes. A utilização de uma densidade de estocagem de 5.000 copépodes L⁻¹, nos tanques de crescimento de *A. tonsa*, permitiria a obtenção de alimento vivo em elevada quantidade e de tamanho adequado para o uso na larvicultura de camarões e peixes marinhos.

Abstract

The utilization of copepods in fish and crustacean hatchery has been pointed out as an alternative solution for the use of *Artemia* mainly due to their high nutritional value. Nevertheless, the lack of rearing methods that allow high scale production still limits their application in aquaculture. In this study, the effects of stocking density, in the production of nauplii, survival and growth of the planktonic copepod *Acartia tonsa* were investigated with the purpose of optimising large-scale production. In order to assess possible effects on egg production, the stocking densities of 50, 100, 200, 400, and 800 copepods L⁻¹ were tested. The copepods were reared in experimental bottles of 250 mL with S = 33 ups, T = 25 °C, feed with *Thalassiosira fluviatillis* and maintained in a photoperiod of 12L: 12D. For the evaluation of effects on the survival and growth of the nauplii and copepodites of *A. tonsa*, five stocking densities were used: 1.000, 2.500, 5.000, 10.000 and 20.000 copepods L⁻¹. During the experiment, the copepods were maintained in experimental bottles of 2,5 L, with S = 34 ups, T = 25 °C, and feed in excess with the microalgae *Isochrysis galbana* and *T. fluviatillis*. Regarding nauplii production, it was observed that the reproductive potential of *A. tonsa* was significantly affected in the density of 800 copepods L⁻¹, because there was a significant reduction in the production of egg female⁻¹ day⁻¹. The survival among the different treatments was not significantly affected by stocking density, nevertheless copepods reared in the densities of 10.000 and 20.000 copepods L⁻¹, were smaller, having a delay in the metamorphosis from nauplius stage to copepodite stage. The reduction in the reproductive potential, growth and development of the copepods reared in high stocking densities could be related to stocking density intrinsic factors, such as water quality, physical stress and food availability. In intensive culture systems, the stocking density of 400 copepods L⁻¹ would allow the production of relatively elevated amounts of *A. tonsa*, without affecting the reproductive potential of the copepods. The employment of a stocking density of 5.000 copepods L⁻¹, in the growing tanks of *A. tonsa* would allow the production of live food in elevated quantity and appropriate size range for their use as live feed in shrimp and fish larviculture.

1.Introdução

A fase larval de peixes e crustáceos marinhos é caracterizada pela fragilidade dos organismos em relação aos fatores ambientais, resultando em elevadas mortalidades (Sargent *et al.* 1997). Assim, a quantidade e tipo de alimentos disponíveis durante esta fase são essenciais para o desenvolvimento e sobrevivência destas larvas. Os copépodes são, geralmente, dominantes no plâncton marinho, desta forma é provável que no ambiente, sejam o principal alimento natural não só das larvas de peixes (Hunter 1980) como, provavelmente, também de camarões.

Normalmente na larvicultura de peixes marinhos, a primeira alimentação, fase na qual a larva completa o desenvolvimento do tubo digestivo, e passa da alimentação endógena (saco vitelínico e gota de óleo) para a alimentação exógena, é feita com o rotífero *Brachionus plicatilis*. Posteriormente, na segunda alimentação, quando a larva atinge tamanho suficiente para ingerir organismos maiores, o crustáceo *Artemia* é utilizado como alimento vivo. A disponibilidade de elevadas quantidades de alimento vivo, em curto espaço de tempo, proporcionada por estes organismos, tem viabilizado a larvicultura de várias espécies de peixes e camarões. Entretanto, náuplios de *Artemia* e rotíferos possuem uma baixa qualidade nutricional, principalmente em relação aos níveis de ácidos graxos essenciais altamente insaturados (HUFA) da família n-3 (docosaheptaenoico; DHA 22:6n-3 e eicosapentaenoico; EPA 20:5n-3) (Sorgeloos *et al.* 2001, Bell *et al.* 2003, Evjemo *et al.* 2003).

Além disso, a disponibilidade no mercado, qualidade nutricional e custo dos cistos de *Artemia* é influenciada por fatores ambientais, como variações interanuais nas taxas de precipitação pluviométrica, o que torna os preços muito elevados (Sorgeloos *et al.* 2001). Entre os anos de 1999 e 2000, o fenômeno climático El Niño causou uma diminuição significativa na salinidade do Great Salt Lake (USA), que é o maior fornecedor de cistos de *Artemia* para a aqüicultura mundial, fato que levou a uma baixíssima produção de cistos no período, atendendo a menos de 20% da demanda mundial (Sorgeloos *et al.* 2001).

Ácidos graxos essenciais estão relacionados com funções fisiológicas importantes, como a manutenção da integridade da membrana celular, transporte de lipídeos e precursores de hormônios (Tacon 1990). Em peixes e camarões marinhos, os ácidos graxos

do tipo linolênico (n-3), devem ser fornecidos na dieta, uma vez que estes ácidos graxos são essenciais e não são sintetizados pelos mesmos. (Tacon 1990).

O enriquecimento da *Artemia* com emulsões ricas em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) pode levar a melhores resultados na larvicultura e fases juvenis de camarões marinhos, como foi constatado experimentalmente com a espécie nativa *Farfantepenaeus paulensis* (Martins *et al.* 2006).

Contudo, estudos realizados por Bell *et al.* (2003) e Evjemo *et al.* (2003) indicam que copépodes apresentam maior quantidade de HUFA em relação aos náuplios de *Artemia*, até mesmo após esta ser enriquecida. O enriquecimento da *Artemia* com DHA é difícil devido ao catabolismo do mesmo após o enriquecimento (Sorgeloos *et al.* 2001).

Experimentos realizados com larvas de peixe *Hippoglossus hippoglossus* por McEvoy *et al.* (1998) e Evjemo *et al.* (2003) comprovaram que os altos níveis de DHA dos copépodes são incorporados pelas larvas de *H. hippoglossus* alimentadas com os mesmos.

O conteúdo de proteínas (Evjemo *et al.* 2003, Helland *et al.* 2003) e aminoácidos livres (Helland *et al.* 2003), que são de fácil absorção, dos copépodes, pode ser mais elevado quando comparado ao da *Artemia*, principalmente após esta ser enriquecida.

Tendo em vista a baixa qualidade nutricional dos alimentos vivos tradicionais, e o alto custo dos cistos de *Artemia*, pesquisadores de várias partes do mundo, têm buscado fontes alternativas de alimento vivo tanto para a larvicultura de peixes como crustáceos marinhos. Dentre os vários organismos avaliados, os copépodes estão entre os mais fortes candidatos, devido principalmente a seu alto valor nutricional. Estes organismos são ricos em fosfolipídeos, ácidos graxos altamente insaturados e antioxidantes naturais, tornando-os superiores em termos nutricionais aos alimentos vivos tradicionalmente usados na larvicultura, como os náuplios de *Artemia* e rotíferos (Watanabe *et al.* 1983, Sargent *et al.* 1997, Stottrup & Nosker 1997).

Estudos prévios realizados por Schipp *et al.* (1998) e Payne & Rippingale (2000) indicam que o uso de copépodes como alimento vivo na larvicultura de peixes aumenta a sobrevivência e o crescimento das larvas, devido não só ao alto valor nutricional, mas também a predação preferencial das larvas de peixe sobre os copépodes. Também foi demonstrado experimentalmente que larvas de peixes alimentados com copépodes

apresentam maiores taxas de pigmentação do que aquelas alimentadas com náuplios de *Artemia* enriquecida (MacEvoy *et al.* 1998).

Na Noruega, sistemas semi-intensivos de produção de zooplâncton têm sido utilizados com sucesso para a produção de larvas de peixes (Stottrup 2000). Entretanto, devido à falta de controle ambiental, estes sistemas são pouco confiáveis.

Mesmo com o sucesso observado nos experimentos realizados em laboratório, utilizando copépodes calanóides na larvicultura de algumas espécies de peixes, a produção intensiva, ainda não atingiu a escala comercial, devido à inexistência de métodos que permitam a produção em grande escala e em curto espaço de tempo. Portanto, muitos estudos ainda são necessários, para que se possa otimizar a produção nos métodos existentes. Um dos aspectos que deve ser considerado é quanto à densidade de estocagem dos copépodes em sistemas intensivos.

Na aquicultura o termo densidade de estocagem se refere à quantidade de organismos que são cultivados em uma determinada área ou volume, este é um dos principais fatores que determinam a capacidade de produção de um sistema de cultivo. Atualmente, a necessidade do aumento da produção de peixes e camarões marinhos têm levado ao emprego de sistemas de cultivo intensivo, nestes as densidades de estocagem são mais elevadas possibilitando a produção de maiores quantidades de organismos por metro cúbico.

Copépodes pertencentes à ordem harpaticóida possuem hábito de vida bentônico. Desta forma, a densidade de estocagem destes copépodes é dependente da quantidade de superfície disponível, a qual pode ser aumentada com a adição de substrato no cultivo. Por outro lado, para copépodes calanóides, que são organismos pelágicos, a densidade de estocagem é dependente do volume do cultivo. Grandes volumes requerem disponibilidade de áreas maiores, fato que pode limitar sua produção.

Copépodes harpaticóides, suportam altas densidades de cultivo (acima de 8000 L⁻¹), o que permite uma alta produtividade (Sun & Fleeger 1995, Stottrup & Nosker 1997). Entretanto, estes copépodes são pequenos e possuem hábito bentônico, fatores que limitam sua utilização na aquicultura.

Em função de suas características biológicas, os copépodes calanóides parecem, de maneira geral, se ajustar melhor as necessidades da larvicultura da maioria dos organismos cultivados, uma vez que, são holoplanctônicos, e apresentam uma amplitude de tamanho maior em relação aos náuplios de *Artemia* e rotíferos, durante seu ciclo de vida, de náuplios, copepoditos e adultos. O tamanho que estes copépodes apresentam durante estas fases compreendem os tamanhos dos rotíferos e náuplios de *Artemia*, desta forma um náuplio recém eclodido do copépode *A. tonsa* possui tamanho semelhante ao rotífero *B. plicatilis* (~100µm) e o seu copepodito possui tamanho equivalente ao náuplio recém eclodido de *Artemia* (~500 µm). Este fato possibilita a utilização de apenas uma espécie de alimento vivo durante toda a larvicultura (primeira e segunda fase de alimentação). O pequeno tamanho dos náuplios de copépodes calanóides permitiu a utilização destes, com sucesso, na larvicultura de várias espécies de peixes de valor comercial como *Glaucosoma hebraicum*, *Pagrus auratus* e *Lutjanus johnii*, que apresentavam altas mortalidades quando eram alimentadas com rotíferos. Apesar destas vantagens em relação aos rotíferos e *Artemia*, a produção de copépodes calanóides pode ser limitada pela menor tolerância a altas densidades (Stottrup 2000).

O copépode calanóide *A. tonsa* é distribuído verticalmente na zona epipelágica dos oceanos, em águas tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico (Grieve *et al* 1999). Este copépode é encontrado na zona costeira, oceânica e em estuários, podendo ser a espécie de zooplâncton dominante em locais com alta disponibilidade de alimento como estuários (Paffenhöfer & Stearns 1988). *A. tonsa* ocorre praticamente durante todo o ano na zona costeira de Rio Grande - RS, sendo desta forma, uma das principais espécies representativas do zooplâncton da região, tanto na zona de arrebentação (Bersano 1994) como no estuário da Lagoa dos Patos, onde é encontrada com frequência (Montú 1980) em todas condições de maré (Muxagata 1995).

Esta espécie possui características biológicas favoráveis ao cultivo, pois libera uma grande quantidade de ovos no ambiente, possuindo um alto potencial reprodutivo, é uma espécie euritérmica e eurihalina (Montú 1980) e, assim como os demais copépodes, possui uma alta qualidade nutricional. Estes fatores tornam *A. tonsa* uma espécie interessante para

utilização como alimento vivo alternativo durante fases larvais de peixes, e provavelmente de camarões.

Nas últimas décadas os estudos realizados, com o cultivo intensivo de *A. tonsa* demonstraram variações na capacidade de produção deste copépode, de acordo com os diferentes sistemas utilizados. Os sistemas intensivos empregados por Stottrup *et al.* (1986) e Schipp *et al.* (1998) para o cultivo de *Acartia sp*, produziram uma média de 215 e 250 náuplios L⁻¹ dia⁻¹, respectivamente. Nestes estudos, a produção de náuplios não foi só limitada pelas baixas densidades utilizadas (50 a 100 copépodes L⁻¹), mas também por falhas no sistema de coleta de ovos e contaminação dos cultivos por outros organismos.

O método mais eficaz observado foi o proposto por Bersano (2003), o qual, utilizando um sistema relativamente simples, mas que reduziu as perdas por manuseio, canibalismo e contaminação, permitindo uma produção média de 1.780 náuplios L⁻¹ dia⁻¹. Entretanto, esta produção poderia ter sido bem superior, tendo em vista que no experimento foi utilizada uma baixa densidade de estocagem (~50 copépodes L⁻¹). Desta forma, a produção de *A. tonsa*, é dependente do sistema e das técnicas de cultivo utilizadas. Assim, elevadas produções podem ser alcançadas com sistemas de produção eficientes e densidades de estocagem mais elevadas.

A alimentação das larvas de camarões marinhos a partir de mýsis, fase na qual a larva deixa de ter um hábito alimentar fitoplancônico e passa a se alimentar basicamente de zooplâncton, é feita geralmente com o microcrustáceo *Artemia spp.* (Marchiori 1996). Este por sua vez, pode apresentar problemas em relação aos custos e valor nutricional. Ao contrário de peixes, estudos relacionados ao uso de copépodes na larvicultura de camarões são inexistentes, mas as informações disponíveis sugerem que estes poderiam ser utilizados como alimento vivo alternativo.

Estudos realizados por Chen & Chen (1992), com a espécie marinha *Penaeus monodon*, demonstraram que existe predação de juvenis desta espécie sobre zooplâncton cultivado em sistema extensivo e constituído principalmente por copépodes (*Acartia sp*, *Oithona sp* e *Pseudodiaptomus sp*), tanto nos viveiros, onde existe disponibilidade de outras fontes de alimento, como ração e detritos, como em condições controladas, onde não há disponibilidade de outras fontes de alimento. Da mesma forma, Coman *et al.* (2003)

também verificaram rápido decréscimo de zooplâncton dos viveiros após a estocagem do camarão *Penaeus japonicus*.

Marinez-Cordova *et al.* (1997) constataram um maior crescimento e sobrevivência de pós-larvas de *Litopenaeus vannamei* cultivadas em viveiros com maior disponibilidade de zooplâncton. Análises estomacais realizados nestes camarões revelaram a presença de grande quantidade de copépodes.

Os náuplios recém eclodidos de *A. tonsa* possuem em média comprimento de 100 µm, sendo este tamanho bastante inferior ao do náuplio de *Artemia* (400 a 500 µm) utilizado tradicionalmente na larvicultura de camarões. Os náuplios de *A. tonsa* são, desta forma, provavelmente pequenos demais para serem predados pelas larvas de camarões. Para atingir tamanho semelhante ao da *Artemia*, e assim facilitar a predação pelas larvas de camarão, os náuplios de *A. tonsa* precisam ser cultivados por cinco dias, período no qual a maior parte da população atinge a fase de copepodito, com comprimento aproximado de 600 µm (Kaminski 2004).

A produção de copepoditos, em cinco dias de cultivo, é uma forma de se obter organismos com tamanho similar ao da *Artemia*, favorecendo desta forma o uso dos mesmos, tanto no cultivo de camarões como de algumas espécies de peixes que, ao eclodirem, possuem tamanho suficiente para ingerir *Artemia* ou copepoditos.

2.Objetivo geral

- Contribuir para a otimização do método de Bersano 2003, para o cultivo de *A. tonsa*, utilizando o controle da densidade de estocagem para maximizar a produção de ovos.

2.1.Objetivos específicos

- Determinar a influência da densidade de estocagem no potencial reprodutivo de *A. tonsa*.

- Verificar o efeito da densidade de estocagem, na sobrevivência e no crescimento dos copepoditos de *A. tonsa*, usados como provável alternativa para *Artêmia* na larvicultura de camarões e peixes marinhos.

3. Material e Métodos

3.1. Cultivo de fitoplâncton

As Algas utilizadas na alimentação dos copépodes foram *Thalassiosira fluviatillis* e *Isochrysis galbana*. Estas foram cultivadas segundo o método de diluições sucessivas, onde cepas unialgais (frascos de 250 mL), serviram como culturas estoque e cultivos iniciais. Estes, ao atingir fase de crescimento exponencial, foram repicados para meios de cultura com volumes crescentes de 1.5 L, 20 L e finalmente para tanques de 500 L. O meio de cultivo utilizado foi Guillard (Guillard & Ryther. 1962).

3.2. Obtenção do copépode *A. tonsa*

Os copépodos utilizados nos experimentos foram obtidos através de cultivos intensivos (500 L) realizados rotineiramente na EMA (Estação Marinha de Aqüicultura), seguindo o método proposto por Bersano (2003). Neste sistema, os cultivos foram iniciados com copépodes coletados no ambiente, estes foram separados individualmente e cultivados em tanques cilíndrico cônicos pretos de fibra de vidro com volume de 500 L, estes tanques foram equipados com aeradores e um sistema coletor que permitiu a retirada de ovos diariamente. Os copépodes cultivados neste sistema foram alimentados com um mistura de microalgas das espécies *T. fluviatillis* e *I. galbana* nas concentrações de 2×10^4 cél mL⁻¹ e 10×10^4 cél mL⁻¹ respectivamente.

3.3. Delineamento experimental

3.3.1. Produção de ovos

A produção de ovos foi testada em cinco densidades de estocagem: 50, 100, 200, 400, 800 copépodes L⁻¹. Para cada tratamento foram realizadas três repetições.

As unidades experimentais foram constituídas de recipientes de vidro, com volume de 300 mL, preenchidos com 250 mL de água do mar filtrada (filtro cuno de 1µm), com salinidade de 33 ups. Os copépodes utilizados no experimento foram aclimatados, por 24 horas, nas diferentes densidades testadas, na temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz. As densidades de aclimação foram estimadas por meio de alíquotas da

produção total de náuplios dos tanques de reprodutores. O controle da temperatura e do fotoperíodo foi feito utilizando-se uma câmara de germinação (Fig. 1).

Após as 24 horas de aclimatação, os ovos e náuplios produzidos durante este período foram retirados das unidades de cultivo. Os copépodes adultos foram então contados, separados individualmente e colocados nas respectivas densidades de estocagem na proporção de 60 % de fêmeas e 40 % machos.

Os copépodes dos diferentes tratamentos foram alimentados uma vez ao dia com 4×10^4 cél mL⁻¹ de *T. fluviatillis*.

A cada três horas, os recipientes de cultivo foram agitados para ressuspender o fitoplâncton sedimentado e assim disponibilizar o alimento para os organismos.

Após 24 horas todo o material foi fixado em solução de formolaldeído a 4 %, neutralizado com bórax. Posteriormente os ovos e nauplios produzidos foram contados sob um microscópio estereoscópico em aumentos de 4 a 40 vezes.



Fig. 1) Câmara de germinação com unidades experimentais.

3.3.2. Crescimento e sobrevivência

Os náuplios de copépodes foram cultivados por cinco dias nas densidades de 1.000, 2.500, 5.000, 10.000 e 20.000 copépodes L⁻¹. Cada tratamento foi composto de três repetições.

A estocagem dos copépodes nas unidades experimentais foi realizada através de uma estimativa do volume total de ovos e náuplios coletados dos tanques de reprodutores. Esta estimativa foi feita através da contagem de três alíquotas de 20 mL. A média destas alíquotas foi então extrapolada para o volume total. Desta forma, do total de náuplios e ovos coletados retirou-se o volume estimado para as diferentes densidades de estocagem.

Os copépodes foram cultivados em recipientes de vidro de 3 litros preenchidos com 2,5 litros de água do mar filtrada (1 μ m). O oxigênio foi fornecido através de aeração individual. O fotoperíodo foi controlado em 12 horas de luz por dia, e para manter a temperatura em 25 °C, foram utilizados aquecedores em um sistema de banho termostaticado (Fig. 2).

Os copépodes de todos tratamentos foram alimentados com a mesma quantidade de fitoplâncton. A microalga *I. galbana* foi fornecida durante todo experimento na concentração de 20×10^4 cél mL⁻¹. A partir do terceiro dia de experimento, *T. fluviatillis* foi fornecida simultaneamente, na concentração de 4×10^4 cél mL⁻¹.

A quantidade de fitoplâncton fornecida diariamente foi calculada em função da quantidade residual de fitoplâncton medida nas unidades experimentais. Mantendo-se desta forma as concentrações desejadas em todas repetições.

Diariamente, para análise do desenvolvimento dos organismos, alíquotas de 25 mL foram retiradas e fixadas em formolaldeído 4 %. A água retirada era repostada posteriormente. A temperatura, pH, salinidade e oxigênio dissolvido foram medidos diariamente através de medidor multiparâmetro da marca YSI e modelo 556 MPS, e a cada dois dias foram retiradas amostras para análise de amônia e nitrito, realizada através do método de análise da UNESCO (1983).

No final dos cinco dias de cultivo, os indivíduos de todos tratamentos foram fixados em formolaldeído 4 %. Para a análise de sobrevivência, foi feita a contagem na lupa dos indivíduos restantes nas unidades experimentais. As medidas de crescimento foram realizadas com um microscópio estereoscópico equipado com câmera de captura de imagens (Image-Pro®-Plus versão 4.1 para Windows).

Para cada repetição, foram feitas medidas de 30 copépodes escolhidos aleatoriamente, nos copepoditos foram medidos o prossoma, urossoma e a largura. Para os náuplios foram feitas medidas da largura e do comprimento total.



Fig. 2) Sistema de banho-maria utilizado no experimento.

4. Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias pelo teste de Tukey (programa Bioestatística) com nível de significância de 5 %. Os percentuais de sobrevivência foram normalizados através da função do arco-seno. Foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, com nível de significância de 5 %, para os dados que não apresentaram normalidade, mesmo após a transformação.

5. Resultados

5.1. Qualidade de água.

A temperatura durante os cinco dias de cultivo manteve-se em 25 °C, em todas unidades experimentais. A salinidade durante o experimento variou de 33,4 a 36 ups, com valor médio de 34,5 ups ($\pm 0,4$).

Altos níveis de oxigênio dissolvido foram registrados durante todo o experimento, sendo o menor valor observado de 8,43 mg L⁻¹. O pH médio e DP para todos tratamentos foi de 8,2 ($\pm 0,01$), este valor está dentro do intervalo proposto para o cultivo de organismos aquáticos (Vinatea 2004).

Os valores médios de amônia total das diferentes densidades de estocagem testadas são resultado da média de dois dias de amostragem (segundo e quarto dias de cultivo) em todas unidades experimentais. As concentrações médias de amônia encontradas foram de 0,01 mg L⁻¹ para as densidades de 1.000, 2.500, 5.000, e 10.000 copépodes L⁻¹, e 0,08 mg L⁻¹ para a densidade de 20.000 copépodes L⁻¹ (Tabela 1). A maior concentração de amônia total registrada foi 0,17 mg L⁻¹, valor este observado no quarto dia de cultivo na densidade de estocagem mais elevada. (20000 copépodes L⁻¹).

No segundo dia de cultivo, as concentrações de nitrito encontradas foram semelhantes aos da amônia, indicando o rápido processo de nitrificação da mesma. Entretanto, foi observada uma maior proporção de amônia em relação ao nitrito na segunda amostra. Os valores médios de NO₂ foram de 0,01 mg L⁻¹ para as densidades de 1.000, 2.500, 5.000 e 10.000 copépodes L⁻¹, e 0,02 mg L⁻¹ para a densidade de 20.000 copépodes L⁻¹ (Tabela 1). Nesta densidade também foi observado o valor mais elevado de nitrito, 0,03 mg L⁻¹, no quarto dia de cultivo.

Tabela 1. Valores médios (\pm DP) dos parâmetros químicos de qualidade de água, conforme as diferentes densidades de estocagem (copépodes L⁻¹) de *A. tonsa*.

Densidade	pH	O ₂ (mg L ⁻¹)	N-NH ₄ + N-NH ₃ (mg L ⁻¹)	NO ₂ (mg L ⁻¹)
1.000	8,2 \pm 0,04	9,35 \pm 0,4	0,016 \pm 0,005	0,01 \pm 0,005
2.500	8,2 \pm 0,01	9,36 \pm 0,3	0,015 \pm 0,005	0,01 \pm 0,005
5.000	8,2 \pm 0,01	9,43 \pm 0,2	0,011 \pm 0,004	0,01
10.000	8,2 \pm 0,01	9,41 \pm 0,3	0,018 \pm 0,004	0,01 \pm 0,005
20.000	8,2 \pm 0,01	9,40 \pm 0,3	0,088 \pm 0,008	0,02 \pm 0,005

5.2. Produção de ovos

Uma elevada produção de ovos foi observada em todos tratamentos. As fêmeas cultivadas nas densidades de 50, 100 e 200 copéodes L⁻¹, produziram médias de 71 (± 7), 65 (± 7) e 71 (± 4) ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹, respectivamente (Fig. 3). Não foi verificada diferença significativa entre estes tratamentos. Por outro lado, as fêmeas cultivadas na densidade de 800 copéodes L⁻¹ produziram significativamente menos ovos (48 ± 7), sendo que nesta densidade também foi registrada a menor produção de ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹ (44). Fêmeas cultivadas na densidade de 400 copéodes L⁻¹ produziram quantidades intermediárias de ovos (63 ± 7).

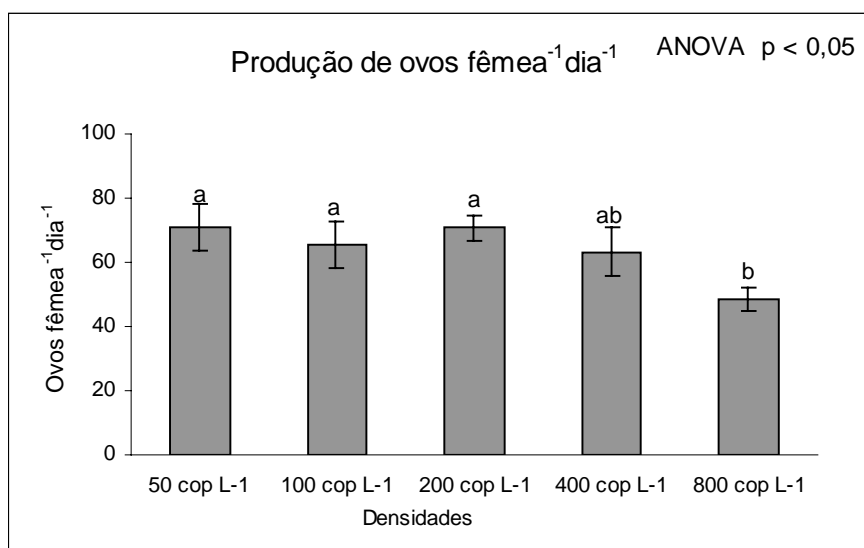


Fig.3) Produção média (n = 3) (± DP) de ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹ de *A. tonsa* nas diferentes densidades de estocagem. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas.

5.3. Sobrevivência

Após cinco dias de cultivo, a sobrevivência média dos copéodes dos diferentes tratamentos variou de 49 % (2.500 cop L⁻¹) a 59 % (1.000 cop L⁻¹). Não foram observadas diferenças significativas em relação à sobrevivência entre as diferentes densidades de

estocagem (Fig. 4). A sobrevivência média (\pm DP) foi de 58 % (± 10), 48 % (± 6), 51 % (± 17), 57 % (± 6) e 50 % (± 10) para as densidades de 1.000, 2.500, 5.000, 10.000 e 20.000 copéodes L⁻¹, respectivamente (Fig. 4).

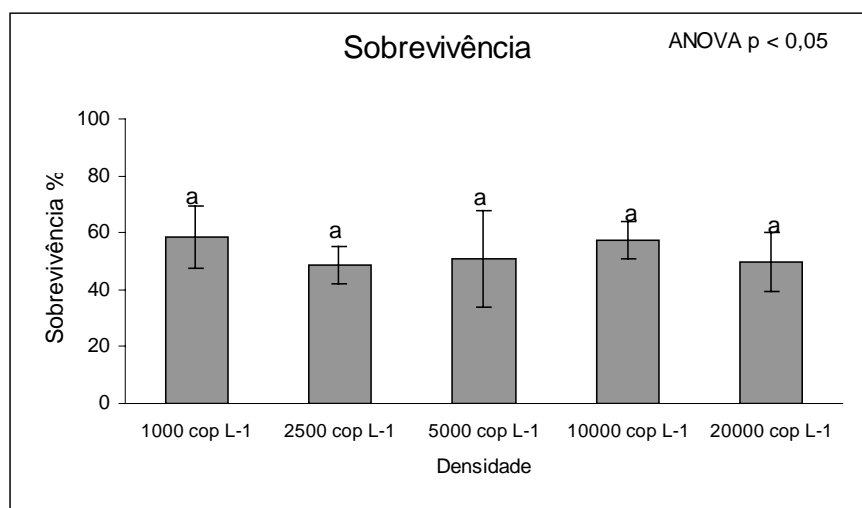


Fig. 4) Sobrevivência final média (%) e (\pm DP) de 3 repetições das cinco diferentes densidades de estocagem.

5.4. Estágio de desenvolvimento

Nos três primeiros dias de experimento, a população de copéodes de todos tratamentos era composta somente por náuplios (Fig. 5). Contudo, no quarto dia de cultivo, na densidade de 1.000 copéodes L⁻¹, 90 % da população já se encontrava na fase de copepodito. Este valor diminuiu gradativamente para as densidades de 2.500, 5.000 e 10.000 copéodes L⁻¹, com percentuais de copepoditos para o mesmo período de 62 %, 46 % e 35 % respectivamente (Fig. 5. A. B. C). Porém, na densidade de 20.000 copéodes L⁻¹, apenas 2 % do total de copéodes eram copepoditos no quarto dia de cultivo. No quinto dia de experimento, o total de náuplios presentes na população foi inferior a 3 % em todos

tratamentos, com exceção da densidade de estocagem de 20.000 copéodes L^{-1} , onde foi registrado um alto percentual de náuplios na população (40 %) (Fig. 5E).

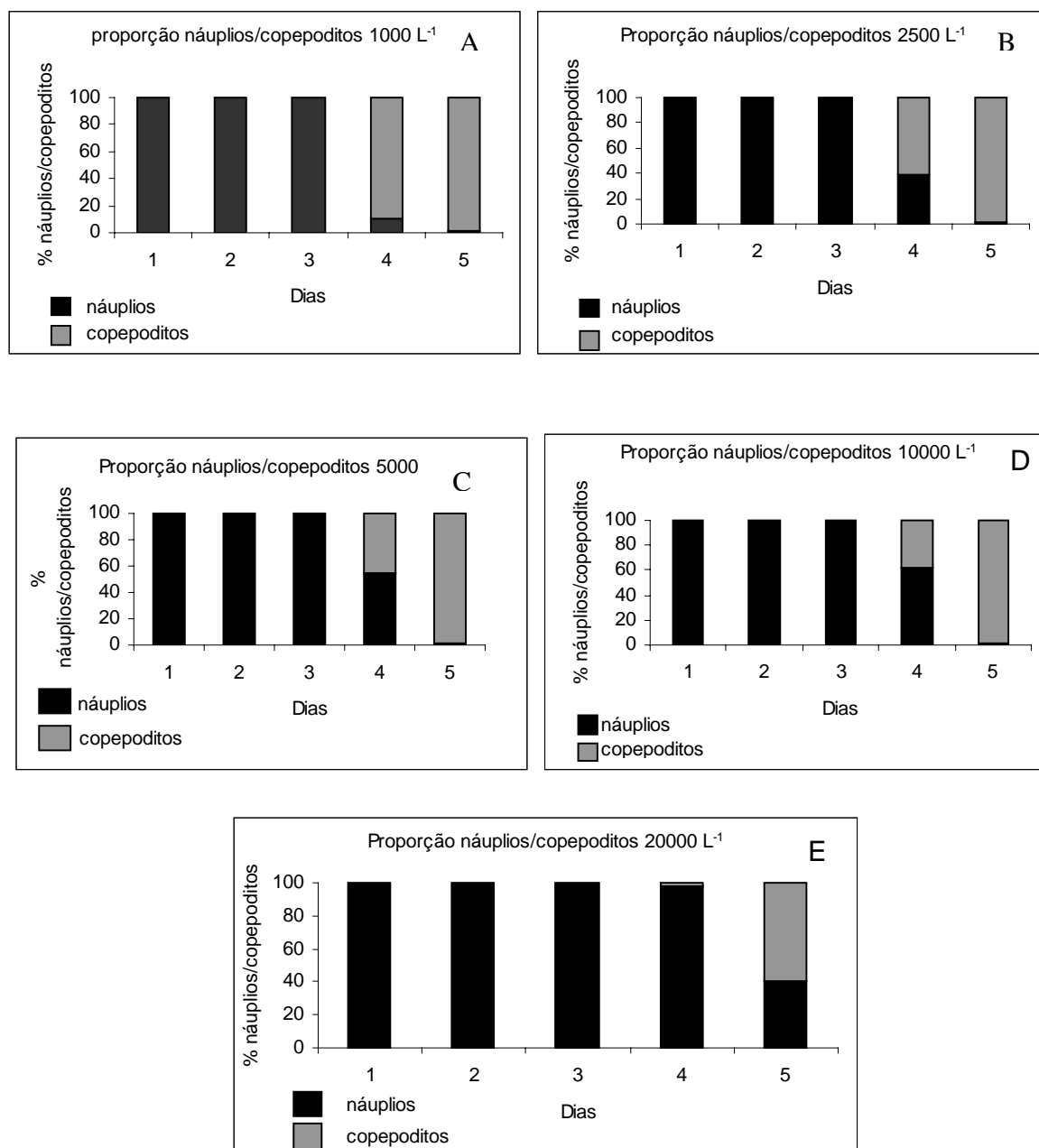


Fig.5) Percentual de náuplios e copepoditos em relação ao total de copéodes da população em diferentes densidades de estocagem. Onde A= 1.000 cop L^{-1} , B= 2.500 cop L^{-1} , C= 5.000 cop L^{-1} , D= 10.000 cop L^{-1} e E = 20.000 cop L^{-1} .

5.5. Crescimento

Os copépodes cultivados nas densidades de 1.000, 2.500 e 5.000 copépodes L^{-1} apresentaram valores médios de comprimento semelhantes ao final de cinco dias. Os indivíduos destas densidades apresentaram as maiores medidas de comprimento, com respectivos valores médios ($\pm DP$) de 601 μm (± 77), 582 μm (± 66) e 535 μm (± 91) (Fig. 4). A maior medida observada foi de 784 μm , na densidade de estocagem mais baixa.

A densidade de 10.000 copépodes L^{-1} apresentou comprimentos intermediários, com copepoditos medindo em média 444 μm (± 71).

As menores medidas de comprimento médio (309 $\mu m \pm 102$) foram registradas na densidade de cultivo de 20.000 copépodes L^{-1} . Este tratamento apresentou uma elevada quantidade de náuplios, com comprimentos entre 106 μm e 239 μm . A acentuada variância nas medidas de comprimento deste tratamento foi resultado do alto percentual de copépodes na fase de náuplio presentes na população no final do experimento.

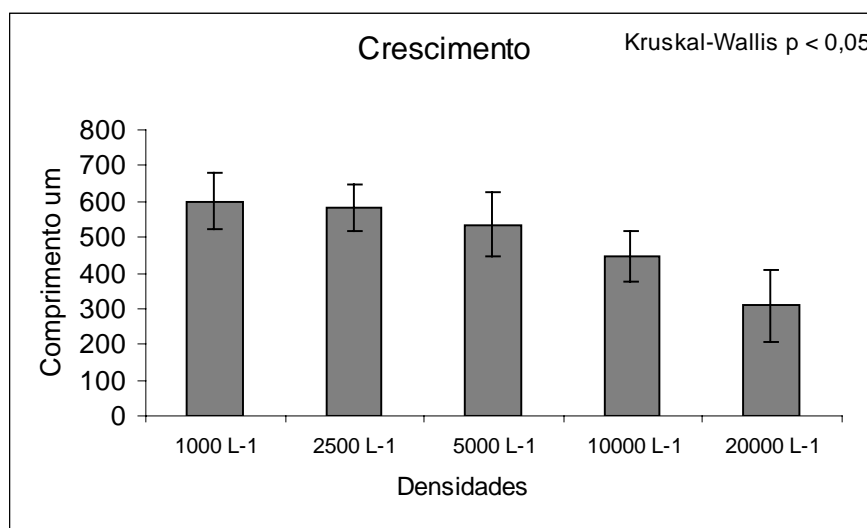


Fig.4. Comprimento médio final em μm ($\pm DP$) após cinco dias de cultivo conforme as diferentes densidades de estocagem.

6. Discussão

6.1. Produção de ovos

Como uma constatação geral, foi observado que utilizando como alimento 4×10^4 cél mL⁻¹ de *T. fluviatillis* foram obtidos elevados valores de produção de ovos em todos os tratamentos (48 a 71 ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹). Isto provavelmente é um reflexo da boa qualidade nutricional desta microalga, principalmente em relação aos ácidos graxos altamente insaturados. Em cultivos foi verificado que além da quantidade, a espécie de microalga utilizada como alimento também influi na produção de ovos (Payne & Rippingale 1999, Kaminski 2004).

Além do alimento, outros fatores ambientais controlam a produção de ovos, Castro-Longoria (2003) registrou melhores resultados de produção de ovos para *A. tonsa* em temperaturas mais elevadas e salinidade de 25 ups. A temperatura e salinidade utilizadas no presente estudo foram de 25 °C e 33 ups, respectivamente.

Nos experimentos de produção de ovos, geralmente são utilizadas densidades de estocagem relativamente baixas, em torno de 10 a 15 fêmeas L⁻¹. Utilizando como alimento a metade das concentrações de *T. fluviatillis* utilizadas no presente estudo, Kaminski (2004) verificou uma produção média de 27 ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹ do copépode *A. tonsa*.

Payne & Rippingale (2001), cultivando o copépode calanoide *Gladioferens imparipes* em sistema intensivo, e utilizando densidade de estocagem de 1000 copépodas L⁻¹, produziram uma média de 878 náuplios L⁻¹ dia⁻¹. Este copépode, ao contrário de *A. tonsa*, possui características comuns aos copépodas harpaticoides (Rippingale & Payne 2005), que permitem densidades de estocagem mais elevadas, contudo a produção obtida foi relativamente baixa, tendo em vista a elevada densidade de estocagem utilizada.

Neste estudo, na densidade de estocagem mais baixa, 50 copépodas L⁻¹, as fêmeas geraram uma média de 70 ovos dia⁻¹, produzindo assim, cerca de 2.100 náuplios L⁻¹ dia⁻¹. Esta produção excede aquelas verificadas nos sistemas de cultivo intensivo propostos para *Acartia* por Stottrup *et al* (1986) e Schipp *et al* (1998), que utilizaram baixas densidades de cultivo de até 100 copépodas L⁻¹. A produção máxima obtida por Bersano (2003), trabalhando com densidade de estocagem de aproximadamente 60 copépodas L⁻¹, foi de 2.320 náuplios L⁻¹ dia⁻¹, sendo que esta produção é similar a produção média verificada no presente estudo, e demonstra a elevada capacidade de produção deste método de cultivo.

No presente experimento, apenas na densidade de cultivo de 800 copépodes L⁻¹ foi registrada uma significativa redução na produção de ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹, a qual aumentou na medida que a densidade de estocagem aumentou, até 400 copépodes L⁻¹. Contudo, nos cultivos em tanques maiores, a taxa de canibalismo pode ser mais elevada quando comparada a recipientes de pequeno volume, como os usados no experimento. Em tanques maiores de cultivo, a altura da coluna de água e a aeração fazem com que os ovos produzidos pelos copépodes, permaneçam por mais tempo na coluna de água, podendo facilitar assim a predação dos mesmos.

Em cultivos onde os náuplios não são separados dos adultos diariamente, elevadas mortalidades podem ocorrer durante a fase de náuplio. No sistema de cultivo proposto para *Acartia spp* por Schipp *et al.* (1998), foi verificado que apenas 37 % dos náuplios produzidos semanalmente atingiram a fase de copepodito. Mesmo coletando diariamente os ovos de *A. tonsa*, Stottrup *et al.* (1986) constataram uma baixa produção de náuplios. A elevada mortalidade durante esta fase foi resultante, provavelmente, da baixa eficiência do sistema coletor de ovos.

Medina & Barata (2003), cultivando *A. tonsa* com uma dieta de alimento inerte (extrato de algas), em 20 °C e salinidade de 30 ups, verificaram, no 12° dia de cultivo, uma produção de 15, 2 e 0,4 ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹ nas densidades de estocagem de 500, 1.000, 2.000 copépodes L⁻¹, respectivamente. Esta produção relativamente pequena de ovos nas densidades mais elevadas pode ter sido intensificada pela presença de fêmeas não maduras nestes tratamentos, uma vez que, durante o experimento, foi constatado um atraso no desenvolvimento dos copépodes cultivados nas densidades mais elevadas. No presente estudo, utilizando-se fêmeas com aproximadamente 20 dias de idade, nas densidades de estocagem de 400 e 800 copépodes L⁻¹, a produção média foi de 63 e 48 ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹, respectivamente. Estes elevados valores podem ser um reflexo tanto do tempo de desenvolvimento destes indivíduos, como das condições controladas de temperatura, salinidade e alimentação utilizados no presente experimento. Entretanto, assim como no estudo anterior, verifica-se um significativo decréscimo na produção de ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹ nas densidades de estocagem mais elevadas. Estes resultados estão de acordo com as observações de Stottrup *et al.* (1986) e mais recentemente de Peck & Holste (2005), que

também constataram uma redução significativa do número de ovos⁻¹ fêmea⁻¹ de *A. tonsa* em função do aumento da densidade de estocagem.

No meio ambiente, a produção de ovos dos copépodes é limitada pela disponibilidade de alimento (Peterson & Kimmerer, 1994). Dessa forma, baixas concentrações de alimento podem influenciar diretamente a produção de ovos, por limitação de alimento e conseqüente redução na fecundidade. Além disso, a falta de alimento adequado pode levar ao aumento na taxa de predação dos copépodes adultos sobre os ovos e náuplios. Ara (2001) constatou que na ausência de alimento, pode ocorrer um percentual de canibalismo de até 52 % sobre a produção de ovos fêmea⁻¹ dia⁻¹ para o copépode *Acartia lilljeborgi*.

A sobrevivência dos náuplios até a fase de copepodito pode ser controlada pela quantidade de indivíduos adultos presentes na população (Ohno & Okamura 1987). Desta forma, quando a população é dominada por copépodes adultos, uma alta mortalidade de náuplios pode ocorrer pelo processo de canibalismo. No presente estudo, a elevada concentração de fitoplâncton usada na alimentação parece ter aumentado o potencial reprodutivo de *A. tonsa* e diminuído a taxa de canibalismo dos adultos sobre os náuplios, uma vez que uma elevada produção de ovos foi verificada em todos tratamentos.

Conforme os resultados do presente estudo, pode-se estimar que em tanques com volumes de 500 L, como proposto por Bersano (2003), e utilizando densidades de estocagem de 400 copépodes L⁻¹, com 60 % de fêmeas na população, seria possível produzir cerca de 7.600.000 náuplios L⁻¹ dia⁻¹. Por outro lado, na maior densidade testada (800 copépodes L⁻¹), mesmo com uma significativa redução na quantidade de ovos por fêmea, a produção seria de 11.600.000 náuplios por dia, representando um aumento na produção total de ovos de aproximadamente 35 %. Isto sugere que, em altas densidades, a maior quantidade de fêmeas pode compensar o decréscimo na fecundidade. No entanto, como o canibalismo pode ser mais acentuado em tanques de cultivo, como discutido anteriormente, estas estimativas devem ser tomadas com cautela até que estudos futuros tenham testado esta possibilidade. No futuro, porém, densidades ainda mais altas deveriam ser testadas com a intenção de verificar até qual ponto é viável o aumento na densidade de estocagem, sem que se comprometa a produção total de ovos do cultivo.

Para que copépodes calanóides, e em particular *A. tonsa*, possam futuramente ser empregados nas larviculturas comerciais de peixes e camarões, substituindo total ou parcialmente os alimentos vivos tradicionais, a produção de ovos e náuplios nos sistemas intensivos de cultivo de *Acartia* deve ser maximizada. Para atingir este objetivo, além da utilização de um sistema de cultivo confiável e de baixa manutenção, como o apresentado por Bersano (2003), seria fundamental o emprego de densidades de estocagem mais elevadas, do que aquelas normalmente utilizadas nos sistemas intensivos de produção de *Acartia*.

6.2.Sobrevivência e crescimento

Os resultados deste estudo mostraram também que *A. tonsa* possui uma forte tolerância a altas densidades de cultivo, uma vez que a sobrevivência foi semelhante nas diferentes densidades de estocagem. Porém, os copépodes cultivados na densidade de 20.000 copépodes L⁻¹ apresentaram crescimento menor e também um acentuado retardo na metamorfose da fase naupliar para copepodito. Desta forma, no quinto dia de cultivo, 40 % da população ainda era composta por náuplios, na densidade de estocagem mais elevada.

Taxas de sobrevivência similares, e redução do desenvolvimento de indivíduos cultivados em densidades mais elevadas também foram observados por Medina & Barata (2003), porém em densidades bem menores do que as avaliadas neste estudo. Estes autores verificaram, em cinco dias de cultivo, uma mortalidade de 6 a 8 % ao dia, para densidades de estocagem de 500, 1.000 e 2.000 copépodes L⁻¹. Stottrup *et al.* (1986), com objetivo de produzir copépodes adultos para a larvicultura de peixes marinhos, verificaram uma mortalidade relativamente baixa, de 5 % ao dia, nos tanques de crescimento de *A. tonsa*. Contudo, nestes tanques a densidade de estocagem era mantida abaixo de 100 copépodes L⁻¹. No presente estudo, os percentuais de mortalidade foram mais elevados, variaram de 8 a 10 % ao dia, porém as densidades testadas foram muito superiores aos estudos anteriores, sugerindo que, em intervalos de densidades maiores, a sobrevivência dos náuplios pode ser afetada pela densidade de estocagem.

Neste trabalho, em uma temperatura de 25 °C, o desenvolvimento de *A. tonsa* até a fase copepodito, nas densidades de até 5.000 copépodes L⁻¹, ocorreu em cinco dias de cultivo, com indivíduos apresentando comprimentos médios variando de 500 a 600 µm.

Em estudo comparativo, Mckinon *et al.* (2003), verificaram que náuplios do copépole *Acartia sinjiensis*, cultivados em densidades de aproximadamente 2.000 copépodes L⁻¹, na temperatura de 27 °C, apresentaram um desenvolvimento larval mais acelerado e atingiram tamanho maior do que copépodes calanóides da família *Paracalanidae* (*Bestiolina similis* e *Parvocalanus crassirostris*), cultivados nas mesmas condições. Copepoditos de *Acartia sinjiensis* com comprimento de 400 a 500 µm, ocorreram entre três e quatro dias de cultivo, enquanto que os copepoditos do gênero *Paracalanus* atingiram este tamanho em aproximadamente 6 dias e 7 dias.

Medina & Barata (2003) cultivando *A. tonsa* em uma temperatura de 20 °C, verificaram que, nas densidades de cultivo de até 1.000 copépodes L⁻¹, mais de 90 % dos náuplios apresentavam desenvolvimento completo, no sexto dia de cultivo. Porém, para a densidade de 2.000 copépodes L⁻¹, estes autores registraram uma significativa redução no desenvolvimento, sendo que 26 % da população deste tratamento, ainda era composta por náuplios, após seis dias de cultivo. No presente estudo, também foi observada redução no desenvolvimento, porém, em densidades de cultivo de 20.000 copépodes L⁻¹. Ao contrário das densidades de estocagem mais baixas, onde no quinto dia praticamente toda a população era composta por copepoditos, na densidade de cultivo de 20.000 copépodes L⁻¹, o percentual de copepoditos era de apenas 60 %.

As concentrações médias de amônia no segundo dia de cultivo foram baixas, mas no quarto dia de cultivo a concentração média de amônia foi de 0,16 mg L⁻¹ na densidade de estocagem de 20.000 copépodes L⁻¹. Esta concentração foi muito superior a média de 0,01 mg L⁻¹ observado para os demais tratamentos no mesmo período de cultivo. O aumento dos níveis de amônia, ao longo do experimento, sugerem que, no quinto dia, as concentrações de amônia, podem ter alcançado um nível crítico para o desenvolvimento dos copépodes.

O aumento na densidade de estocagem leva a um conseqüente aumento da concentração de produtos nitrogenados excretados, que podem ser tóxicos para os organismos aquáticos (Arana 1997). O crescimento dos organismos aquáticos pode ser

influenciado pela amônia, sendo que, o aumento da concentração de amônia no meio faz com que diminua a excreção da mesma pelos organismos. Desta forma os animais diminuem a alimentação, para que seja reduzida a produção de amônia pelo metabolismo, refletindo assim num menor crescimento. Além disso, a amônia acumulada nas células do sangue e tecidos pode bloquear o processo de fosforilação oxidativa, impedindo a conversão da energia armazenada no alimento em energia química. (Arana 1997).

Cabe ressaltar, que a toxicidade da amônia pode ter sido intensificada pelo pH alcalino registrado no cultivo, uma vez que em valores mais altos de pH, a maior parte da amônia encontra-se na forma não ionizada (NH_3), que é mais tóxica (Arana 2004).

Sabe-se que para *Artemia* a amônia não é limitante e para rotíferos o valor máximo de amônia gasosa permitida é 1 mg L^{-1} (Barbieri & Ostrensky 2001). Chen *et al.* (1989), determinaram a LC_{50} para náuplios de *Artemia*, na concentração de $14,17 \text{ mg L}^{-1}$ de amônia não ionizada. Entretanto para copépodes, as informações sobre os efeitos letais e sub letais da amônia são ainda muito restritas, num estudo realizado por Sullivan & Ritacco (1985) foi verificada para náuplios de *A. tonsa* uma LC_{50} de aproximadamente $0,17 \text{ mg L}^{-1}$ de NH_3 em um pH em torno de 8,5. Neste estudo, os níveis mais elevados de amônia não ionizada ($0,01 \text{ mg L}^{-1}$) observados na densidade de cultivo mais alta foram muito menores em relação ao valor da LC_{50} registrado para esta espécie. Desta forma, os níveis de amônia verificados neste estudo devem ter tido um efeito apenas sub letal nos copépodes, visto que apesar da redução no desenvolvimento a sobrevivência neste tratamento foi similar aos demais.

Vale ressaltar que durante este experimento, a água das unidades experimentais não foi renovada, o que explica as concentrações relativamente mais altas de amônia. Como forma de contornar este problema em sistemas de cultivo de escalas maiores, a renovação periódica da água poderia ser utilizada para retirar estes produtos nitrogenados.

O desenvolvimento dos copépodes é influenciado pela concentração e qualidade nutricional do alimento disponível. Pinto *et al* (2001), verificaram que para o copépode harpaticóide *Tisbe biminiensis*, a produção de pellets fecais aumenta conforme o incremento na quantidade de fitoplâncton oferecido. Entretanto, a partir de uma determinada concentração de alimento, a taxa de ingestão, e conseqüente produção de

pellets se estabiliza. Isto sugere que esta concentração de fitoplâncton (73 ng Chl-a ml⁻¹ de *Nitzschia closterium* e 185 ng Chl-a ml⁻¹ de *Tetraselmis gracilis*) seria a ideal para se utilizar na alimentação deste copépode. Knuckey *et al.* (2005) constataram que a concentração mínima de fitoplâncton necessária para suportar o máximo desenvolvimento do copépode *A. sinjiensis* varia de acordo com a espécie de fitoplâncton utilizada como alimento.

Durante o desenvolvimento deste experimento, de maneira geral, foi constatada uma redução nas quantidades residuais médias de *I. galbana* e *T. fluviatillis*, sendo que o aumento do consumo de alimento com o desenvolvimento dos organismos, era esperado. As quantidades de fitoplâncton oferecidas no experimento, tanto de *I. galbana* como de *T. fluviatillis*, foram o dobro das quantidades de fitoplâncton normalmente usadas nos tanques de cultivo intensivo de *A. tonsa* (10×10⁴ cél mL⁻¹ e 2×10⁴ cél mL⁻¹ de *I. galbana* e *T. fluviatillis* respectivamente), segundo o método proposto por Bersano (2003). Desta forma, a quantidade de alimento, não deve ter influenciado acentuadamente o desenvolvimento dos copépodos cultivados nas densidades de estocagem mais elevadas. Porém, estudos futuros poderiam definir melhor, as concentrações ideais de *I. galbana* e *T. fluviatillis* para as diferentes densidades e fases de desenvolvimento de *A. tonsa*.

Utilizando as mesmas espécies de microalgas, porém trabalhando com 800 copépodos L⁻¹, Kaminski (2004) obteve resultados semelhantes aos deste estudo. Da mesma maneira esta autora também verificou um desenvolvimento naupliar completo de praticamente toda população do copépode *A. tonsa* no quinto dia de cultivo. Contudo nesta densidade de estocagem, no terceiro dia de cultivo mais de 40 % da população já era composta por copepoditos. Neste estudo, por outro lado, em densidades de estocagem superiores, copepoditos foram verificados somente a partir do quarto dia de cultivo.

Nas elevadas densidades de estocagem, o confinamento de grandes quantidades de indivíduos em pequenos volumes pode ter causado estresse físico nos copépodos, o que associado com outros fatores dependentes da densidade de estocagem (quantidade de alimento disponível e produtos nitrogenados), pode ter prejudicado o desenvolvimento dos mesmos. Não há resultados disponíveis na literatura que permitam maiores conclusões sobre o tema em relação a copépodos, porém em pós-larvas do camarão *Penaeus monodon*,

Nga *et al.* (2005) verificaram que a baixa qualidade de água nas densidades de estocagem mais elevadas teve uma maior influência na sobrevivência e crescimento das pós-larvas, do que possíveis efeitos físicos provocados pela densidade de estocagem.

7. Conclusões

Este experimento demonstrou que aspectos biológicos importantes para o cultivo intensivo de *A. tonsa*, como o desenvolvimento (crescimento e mudança de fase) e potencial reprodutivo, são afetados pelo aumento da densidade de estocagem.

Para produção de náuplios de *A. tonsa* em sistemas intensivos, a densidade de estocagem sugerida seria de 400 copépodes⁻¹ L, porém densidades de cultivo de até 800 copépodes L⁻¹ poderiam ser utilizadas sem que se tivesse uma redução na quantidade total de náuplios produzidos.

Para atender as exigências da larvicultura de camarões e marinhos que é dependente de grandes quantidades de alimento vivo, e de organismos de tamanho relativamente grande (500µm), a densidade de cultivo sugerida para o crescimento de *A. tonsa* seria de 5.000 copépodes L⁻¹. Esta densidade de cultivo permitiria em volumes relativamente pequenos, a produção de grandes quantidades de copepoditos, sem que houvesse redução significativa na sobrevivência ou no desenvolvimento dos mesmos. Assim, em cinco dias de cultivo, praticamente toda população se encontraria na fase de copepodito, com tamanho médio de 600µm, que é semelhante ao dos náuplios recém eclodidos de *Artemia*.

Contudo para larvicultura de peixes, que geralmente é feita com organismos menores como rotíferos, e mais recentemente com copépodes (Stottrup *et al.* 1985, Schipp *et al.* 1998, Payne *et al.* 2001), densidades de estocagem mais altas, como 10.000 e 20.000 copépodes L⁻¹, poderiam ser utilizadas para *A. tonsa*, uma vez que estas densidades não afetaram a sobrevivência dos copépodes. O retardo no desenvolvimento provocado pela alta densidade de estocagem poderia até ser interessante para a larvicultura de algumas espécies, pois permitiria a disponibilidade de náuplios por um período de tempo maior.

8. Referências Bibliográficas

- ARA, K. 2001. Daily egg production rate of the planktonic calanoid copepod *Acartia lilljeborgi* Giesbrecht in the Cananéia lagoon estuarine system, São Paulo, Brasil. *Hydrobiologia* 445: 205-215.
- ARANA, LV. 1997. Princípios químicos da qualidade da água em aqüicultura. Editora da UFSC. 166p
- ARANA, LV. 2004. Fundamentos de Aqüicultura. Editora da UFSC. 348p.
- BARBIERI, RC, A OSTRENSKY. 2001. Camarões marinhos, reprodução, maturação e larvicultura. Aprenda fácil Editora, Viçosa MG. 255p
- BELL, JG, LA MCEVOY, A ESTÉVEZ, RJ SHIELDS, JR SARGENT. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture* 227: 211-220.
- BERSANO, JG. 1994. Zooplâncton da zona de arrebentação de praias arenosas, situadas ao sul de Rio Grande RS, Primavera de 1990, verão de 1991. Dissertação de mestrado em Ocenografia Biológica. FURG. 163p.
- BERSANO, JG. 2003. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Acartia tonsa*. A potential source of live food for aquaculture, Book abstracts volume 1, *World aquaculture* 2003. P: 95.
- GRIEVE JMB, EL MARKHASEVA, CEF ROCHA, B ABIAHY. 1999. Copepoda. In: BOLTOVSKOY D. South Atlantic Zooplâncton. Backhuys Publishers. Vol 2. P: 866-1098.
- CASTRO-LONGORIA, E. 2003. Egg production and hatching success of four *Acartia* species under different temperature and salinity regimes. *Journal of Crustacean Biology*: 289-299.
- COMAN, FE, RM CONNOLLY, N PRESTON. 2003. Zooplankton and epibenthic fauna in shrimp ponds: factors influencing assemblage dynamics. *Aquaculture Research* 34: 359-371.
- CHEN, JC, KJ CHEN, JM LIAO. 1989. Joint action of ammonia and nitrite on *Artemia*. *Aquaculture* 77: 329-336.
- CHEN, YL & HY CHEN, 1992. Juvenile *Penaeus monodon* as effective zooplankton predators. *Aquaculture* 103: 35-44.

- EVJEMO, JO, KI REITAN, Y OLSEN. 2003. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) with special emphasis on the nutrition value. *Aquaculture* 227: 191-210.
- GUILLARD, RRL & RYTHER. 1962. Studies of marine diatoms. I. *Cyclotella nana* Husted, and *Detonula confervacea* (Cleve). *Gran. Can J. Microbiol*, 8: 229-239.
- HELLAND, S, BF TERJESEN, LEIF BERG. 2003. Free amino acid and protein content in the planktonic copepod *Temora longicornis* compared to *Artemia franciscana*. *Aquaculture* 215: 213-228.
- HUNTER, JR. 1980. The feeding behavior and ecology of marine fish larvae, in: fish behavior and its use in the capture and culture of fishes. Bardach J. E. et alli (eds). ICLARM, Manila Philippines.
- KAMINSKI, SM. 2004. Influência da alimentação sobre a reprodução e o desenvolvimento do copépode calanóide *Acartia Tonsa* dana 1849, em cultivo intensivo. Dissertação de mestrado em Aqüicultura. UFSC. 55p.
- KNUCKEY, RM, GL SEMMENS, RJ MAYER, MA RIMMER. 2005. Development of an optimal microalgal diet for the culture of the calanoid copepod *Acartia sinjiensis*: effect of algal species and feed concentration on copepod development. *Aquaculture* 249: 339-351.
- MARTINS, GM, RO CAVALLI, RC MARTINO, CEM RESENDE, W WASIELESKY JR. 2006. Larviculture output and stress tolerance of *Farfantepenaeus paulensis* post larvae fed *Artemia* containing different fatty acids. *Aquaculture* 22: 525-533.
- MCKINNON, AD, S DUGGAN, PD NICHOLS, MA RIMMER, G SEMMENS, B ROBINO. 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feed in aquaculture. *Aquaculture* 223: 89-106.
- MARCHIORI, MA. 1996. Guia ilustrado de maturação e larvicultura do camarão-rosa *Penaeus paulensis*. Editora da FURG. 79p.
- MARTINEZ-CORDOVA, LR, MA PORCHAS-CORNEJO, H VILLARREAL-COLEMNARES, A CALDERON-PEREZ, J NARANJO-PARAMO. 1997. Evaluation of three feeding strategies on the culture of white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931 in low water exchange ponds. *Aquacultural Engineering* 17: 21-28.

- MCEVOY, LA, T NAESS, JG BELL, O LIE. 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture* 163: 237-250.
- MEDINA, M & C BARATA. 2003. Static-renewal culture of *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) for ecotoxicological testing. *Aquaculture* 229: 203-213
- MONTÚ, M. 1980. Zooplâncton do Estuário da Lagoa dos Patos. I. Estrutura e variações temporais e espaciais da comunidade. *Atlântica*, Rio Grande, 4: 53-72.
- MUXAGATA, E. 1995. Influência da dinâmica na composição, distribuição e abundância do holo e meroplâncton no canal de Rio Grande (Lagoa dos Patos- RS, Brasil). Monografia em Oceanografia. FURG. 72p.
- NANTON, DA & JD CASTELL. 1999. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as live food for marine fish larvae. *Aquaculture* 175: 167-181.
- NGA, BT, M LÜRLING, ETHM PEETERS, R ROIJACKERS, SCEFFER M, TT NGHIA 2005. Chemical and physical effects of crowding on growth and survival of *Penaeus monodon* Fabricius post larvae. *Aquaculture* 246: 455-465.
- OHNO, A & Y OKAMURA. 1987. Propagation of the calanoid copepod, *Acartia tsuensis*, in outdoor tanks. *Aquaculture* 70: 39-51.
- PAFFENHÖFER, GA & DE STEARNS 1988. Why is *Acartia tonsa* (copepoda: Calanoida) restricted to nearshore environments? *Marine Ecology*. 42: 33-38.
- PAYNE, MF & RJ RIPPINGALE. 2001. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Glabidocera imparipes*. *Aquaculture* 201: 329-342.
- PECK, MA & L HOLSTE. 2005. Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida Copepoda): Optimizing intensive cultures. *Aquaculture*.
- PETERSON, WT & WJ KIMMERER. 1994. Processes controlling recruitment of the marine calanoid copepod *Temora longicornis* in Long Island sound : Egg production, egg mortality, and cohort survival rates. *American Society of Limnology and Oceanography* 39: 1594-1605.

- PINTO, CSC, LP SOUZA-SANTOS, PJP SANTOS. 2001. Development and population dynamics of *Tisbe biminiensis* (Copepoda: Harpacticoida) reared on different diets. *Aquaculture* 198: 253-267.
- RIPPINGALE, JR & MF PAYNE. 2005. copepods in Aquaculture. Suitability of the copepod *Gladioferens imparipes* for intensive cultivation for aquaculture. Edited by Cheng Sheng Lee, Patricia J. O. bryen and Nancy H. Marcus. Blackwell publishing. Chap. 9: 107-117.
- SARGENT, JR, LA McEVOY, JG BELL. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine larval feeds. *Aquaculture*, 155: 117-127
- SCHIPP, GR, JMP BOSMANS, AJ MARSHALL. 1998. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia tonsa* spp. *Aquaculture* 174: 81-88.
- SORGELOOS, P, P DHERT, P CANDREVA. 2001, Use of the brine shrimp, *Artemia* spp, in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200: 147-159.
- STOTTRUP, JG. 2000. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquaculture Research* 31: 703-711.
- STOTTRUP, JG & NH NOSKER. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 155: 231-247.
- STOTTRUP, JG, K RICHARDSON, E KIRKEGAARD, NJ PIHL. 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. *Aquaculture* 52: 87-96.
- SULLIVAN, BK & PJ RITACCO. 1985. Ammonia toxicity to larval copepods in eutrophic marine ecosystems: a comparison of results from bioassays and enclosed experimental ecosystems. *Aquatic toxicology*. 7: 205-217.
- SUN, B & JW FLEEGER. 1995. Sustained mass culture of *Amphiascoides atopus*, a marine harpacticoid copepod in a recirculating system. *Aquaculture* 136: 313-321.
- TACON, AGJ. 1990. Standard Methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Argent laboratories press. 208p.
- UNESCO. 1983. Chemical methods for the use in marine environmental monitoring. Manual and Guides, Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris, France.

WATANABE, T, C KATAJIMA, S FUJITA. 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, 34: 115-143.