

## INTRODUÇÃO GERAL

A produção de juvenis de peixes marinhos em escala comercial ainda depende do fornecimento de presas vivas durante a primeira alimentação, principalmente de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) e de *Artemia* (Hart & Purser 1996; Cahu & Zambonino Infante 2001). A produção destas duas espécies exige um grande esforço de mão de obra, tempo e energia, o que não assegura o suprimento e a qualidade do alimento vivo, pois eles podem variar com o tempo. Desse modo podem ser nutricionalmente deficientes (Jones *et al.* 1993; Roselund *et al.* 1997), além de representar uma despesa significativa, que corresponde a quase 80% do custo total de produção (Person Le Ruyet *et al.* 1993). Portanto, a substituição do alimento vivo pelo alimento inerte, denominado “weaning”, deve ser feita o quanto antes possível para reduzir os custos e riscos associados à produção do alimento vivo (Holt 1993; Hamlin & Kling 2001) e para a expansão da aquacultura marinha (Callan *et al.* 2003).

As informações sobre o momento ideal para a realização do “weaning” podem diferir entre vários estudos para a mesma espécie. O “weaning” tardio, realizado em juvenis com trato digestório completamente desenvolvido, parece ter maior sucesso em algumas espécies de peixes marinhos. O “weaning” dos linguados parece resultar em um maior sucesso quando iniciado após a metamorfose ser completada (Gavlik & Specker 2004). Dinis *et al.* (1999) enfatizam que quanto maior o período em que forem alimentados com *Artemia*, melhor será o crescimento e a sobrevivência dos linguados, mas por outro lado lembram que a dificuldade em realizar o “weaning” pode aumentar à medida que o peixe cresce. Isto foi confirmado por Jenkins & Smith (1999), que concluíram que seria mais fácil condicionar juvenis mais jovens (78 dae) a aceitar dietas secas em um período menor em comparação aos juvenis maiores, de 220 dae.

Para que a transição do alimento vivo para dieta seca aconteça de forma bem-sucedida, deve-se levar em consideração o desenvolvimento ontogenético da espécie alvo. A fase inicial do “weaning” é frequentemente lenta, podendo levar alguns dias até que larvas ou juvenis aceitem o alimento inerte oferecido, necessitando, em algumas espécies, de um período de co-alimentação, onde o alimento inerte é oferecido preferencialmente de forma gradativa juntamente com o alimento vivo. Além da dificuldade do “treinamento alimentar”, que compreende os processos de visualização, atratividade e captura do alimento inerte pela larva ou juvenil, processos naturais, como a ausência de certas enzimas que permitiriam que larvas e juvenis digerissem o alimento inerte, estão intimamente relacionados à mortalidade, e, portanto, ao momento em que a troca de alimento pode ser realizada (Benetti *et al.* 2001).

Poucas espécies de peixes conseguem, ainda hoje, ser produzidas com sucesso recebendo exclusivamente dietas artificiais desde a primeira alimentação, principalmente em se tratando de peixes marinhos, e na maioria dos casos isto se dá a nível experimental, necessitando ainda ser reproduzido em escala comercial (Jones *et al.* 1993; Person Le Ruyet *et al.* 1993; Cahu & Zambonino Infante 2001). Por outro lado, pesquisas demonstram que o “weaning” pode ser também realizado precocemente em algumas espécies, como ocorre com o bacalhau *Gadus morhua*, que pode completar a transição do alimento vivo para o alimento inerte aos 22 dae, após um período de co-alimentação de 14 dias (Baskerville - Bridges & Kling 2000).

García-Ortega *et al.* (2003) concluíram que é possível realizar o “weaning” de *Sphoeroides annulatus*, aos 29 dae, após 5 dias de co-alimentação. Na produção de *Dicentrarchus labrax*, o início do “weaning” que era realizado aos 90 dae pôde ser antecipado para 20 e 40 dae (Person Le Ruyet *et al.* 1993), posteriormente passou a ser realizado de forma gradual, entre 37 e 48 dae (Roselund *et al.* 1997) e estudos

mostraram que é possível realizar o “weaning” aos 10 dae (Gatesoupe *et al.* 1997) e até mesmo produzir larvas deste peixe com dietas secas formuladas a partir da primeira alimentação (Cahu *et al.* 1998). Na criação do linguado *Paralichthys woolmani* o “weaning” é iniciado no período pré-assentamento, quando as larvas têm 22 dae, e já são capazes de aceitar alimento artificial (Guartatanga 1997). O linguado *Rhombosolea tapirina* é uma espécie que costumava apresentar baixa sobrevivência no momento do “weaning”, e após experimentos realizados por Hart & Purser (1996) foi possível realizar o “weaning” a partir de 23 dae, com 82% de sobrevivência após 10 dias de co-alimentação, aumentando a economia com *Artemia* e com prejuízos mínimos sobre o desenvolvimento.

Técnicas de “weaning” para diferentes espécies de linguado no período pré-assentamento vem sendo testadas, mas poucas obtiveram sucesso. Como resultado, a maioria dos estudos sugere que o início da troca do alimento vivo aconteça após o assentamento, em uma idade média de 50 -55 dias após a eclosão. Muitos protocolos comerciais de “weaning” empregam uma redução gradual do alimento vivo até que o alimento inerte seja a única fonte de alimento, o que dura em média 2 a 3 semanas e, ainda assim, a mortalidade de peixes que recusam o alimento seco ou por canibalismo pode atingir 20 - 30% (Daniels & Gallagher 2002).

No linguado *Hippoglossus hippoglossus* a substituição do alimento vivo pelo alimento inerte no cultivo era realizada, convencionalmente, após os peixes completarem a metamorfose. Entretanto, outros estudos demonstraram que o “weaning” pôde ser realizado antes desse período, mas com resultados insatisfatórios em termos de crescimento, sobrevivência e aceitação do alimento inerte (Shields *et al.* 1999). Benetti *et al.* (2001) conseguiram completar o “weaning” do linguado *Paralichthys lethostigma*

aos 49 dae, com a introdução precoce de uma dieta artificial úmida aos 15 dae, quando anteriormente costumava iniciar entre 21 e 28 dae.

Em *Paralichthys adspersus*, a substituição progressiva de presas vivas por alimento inerte pôde ser iniciada antes das larvas completarem a metamorfose, embora os melhores resultados em desenvolvimento tenham sido obtidos com juvenis bentônicos com mais de 60 dias de idade. Também foi observado que o sistema de co-alimentação iniciado aos 20 dae teve efeito limitado, pois as larvas demonstraram uma preferência acentuada pelo alimento vivo (Silva 2001).

A idade ideal para o início do “weaning” tende a ser cada vez menor, no linguado *Scophthalmus maximus* os primeiros estudos com substituição alimentar foram realizados com peixes de 1 ano de vida, posteriormente com juvenis de 3 e 2 meses de vida, e hoje em dia alguns dados apontam para o “weaning” aos 24 dae, momento que coincide com o período de assentamento das larvas desta espécie (Lee & Litvak 1996).

Muitos fatores estão envolvidos no sucesso do “weaning”, como o desenvolvimento do sistema digestório, o comportamento alimentar, a duração do período de transição alimentar e as propriedades físicas da dieta (Person Le Ruyet *et al.* 1993), que devem ser levados em consideração antes da escolha de um protocolo adequado de alimentação.

O linguado *Paralichthys orbignyanus* é uma das espécies consideradas para desenvolvimento da piscicultura marinha no Brasil, e estudos sobre sua reprodução e seu desenvolvimento inicial têm sido realizados (Cerqueira 1997; Robaldo 2003; Louzada 2004; Okamoto 2004; Freitas 2005; Bianchini *et al.* 2005) com a finalidade de obter juvenis de alta qualidade.

O protocolo ideal para o seu “weaning” ainda não foi determinado, portanto este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do estágio de desenvolvimento e do tempo de co-alimentação sobre o sucesso do seu “weaning”.

## OBJETIVO GERAL

Estudar a substituição do alimento vivo pelo alimento inerte no desenvolvimento de larvas e juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar os efeitos do estágio de desenvolvimento no momento do “weaning” sobre a sobrevivência e o crescimento de larvas e juvenis de *P. orbignyanus*.
- Avaliar os efeitos do período de co-alimentação sobre a sobrevivência e o crescimento de juvenis de *P. orbignyanus*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASKERVILLE-BRIDGES, B & LJ KLING. 2000. Early weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae onto a microparticulate diet. *Aquaculture*, 189: 109-117.
- BENETTI, DD, SW GRABE, MW FEELEY, OM STEVENS, TM POWELL, AJ LEINGANG & KL MAIN. 2001. Development of aquaculture methods for Southern flounder, *Paralichthys lethostigma*: I. Spawning and larval culture. *Journal of Applied Aquaculture*, 11:113-133.
- BIANCHINI, A, RB ROBALDO & LA SAMPAIO. 2005. Cultivo do linguado, *Paralichthys orbignyanus*. In: BALDISSEROTTO, B & LC GOMES, Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria, Editora UFSM, p.445-470.
- CAHU, C & J ZAMBONINO INFANTE. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200:161-180.
- CAHU, CL, JL ZAMBONINO INFANTE, AM ESCAFFRE, P BERGOT & S KAUSHIK. 1998. Preliminary results on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing with compound diet from first feeding. Comparison with carp (*Cyprinus carpio*) larvae. *Aquaculture*, 169: 1-7.
- CALLAN, C, A JORDAAN & LJ KLING. 2003. Reducing *Artemia* use in the culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 219: 585-595.
- CERQUEIRA, VR. 1997. Desenvolvimento do ovo e da larva do linguado *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839) em cultivo. Manuscrito, 32p.
- DANIELS, HV & ML GALLAGHER. 2002. North Americans flouders. In: WEBSTER, CD & C LIM. (Eds). Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing, p. 121 - 130.

- DINIS, MT, L RIBEIRO, F SOARES & C SARASQUETE. 1999. A review on the cultivation potential of *Solea senegalensis* in Spain and in Portugal. *Aquaculture*, 176:27-38.
- FREITAS, LS. 2005. Efeitos da salinidade sobre ovos, larvas e juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*. Rio Grande, FURG. (Dissertação de Mestrado).
- GARCÍA-ORTEGA, A, I ABDO & C HERNANDEZ. 2003. Weaning of Bullseye Puffer (*Sphoeroides annulatus*) from Live Food to Microparticulate Diets Made With Decapsulated Cysts of *Artemia* and Fishmeal. *Aquaculture International*, 11:183-194.
- GATESOUBE, FJ, JL ZAMBONINO INFANTE, C CAHU & P QUAZUGUEL. 1997. Early weaning of seabass larvae, *Dicentrarchus labrax*: the effect on microbiota, with particular attention to iron supply and exoenzymes. *Aquaculture*, 158: 117-127.
- GAVLIK, S & JL SPECKER. 2004. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of rearing salinity to synchronize settling behavior, growth and development. *Aquaculture*, 240: 543-559.
- GUARTATANGA, IM. 1997. Manual sobre la reproducción del linguado *Paralichthys woolmani*. Proyecto JICA-CENAIM. 31p.
- HAMLIN, HJ & LJ KLING. 2001. The culture and early weaning of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) using a microparticulate diet. *Aquaculture*, 201: 61-72.
- HART, PR & GJ PURSER. 1996. Weaning of hatchery-reared greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günter) from live to artificial diets: Effects of age and duration of the changeover period. *Aquaculture*, 145: 171-181.
- HOLT, JG. 1993. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 225-230.

- JENKINS, WE & TIJ SMITH, 1999. Pond nursery production of "southern flounder" (*Paralichthys lethostigma*) and weaning to commercial diets. *Aquaculture*, 176: 173-180.
- JONES, DA, MS KAMARUDIN & L LE VAY. 1993. The Potential for Replacement of Live Feeds in Larval Culture. *J. World Aquacult. Soc.*, 24:199-210.
- LEE, GWY & MK LITVAK. 1996. Weaning of metamorphosed winter flounder (*Pleuronectes americanus*) reared in the laboratory: comparison of two commercial artificial diets on growth, survival and conversion efficiency. *Aquaculture*, 144: 251-263.
- LOUZADA, LR. 2004. Efeito do fotoperíodo na sobrevivência e crescimento de larvas e juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*. Rio Grande, FURG. 35p. (Dissertação de Mestrado).
- OKAMOTO, MH. 2004. Efeitos da temperatura sobre ovos e larvas do linguado *Paralichthys orbignyanus*. Rio Grande, FURG. 27p. (Dissertação de Mestrado).
- PERSON LE RUYET, J, JC ALEXANDRE, L THEBAUD & C MUGNIER. 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 211-224.
- ROBALDO, RB. 2003. Estudo Comparativo da reprodução do linguado *Paralichthys orbignyanus* (VALENCIENNES, 1839) no ambiente e em cativeiro. Rio Grande, FURG, 200p. (Tese de doutorado).
- ROSELUND, G, J STOSS & C TALBOT. 1997. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture*, 155:183-191.
- SHIELDS, RJ, B GARA & MJS GILLESPIE. 1999. A UK Perspective on Intensive Hatchery Rearing Methods for Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 176:15-25.

SILVA, A. 2001. Advance in the culture research of small-eye flounder, *Paralichthys microps*, and Chilean flounder, *P. adspersus*, in Chile. *J. Appl. Aquaculture*, 11:147-164.

## **CAPÍTULO 1**

# **SUBSTITUIÇÃO DO ALIMENTO VIVO POR DIETA INERTE NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DO LINGUADO *Paralichthys orbignyanus*: EFEITO DA IDADE E DO ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO**

ANDRÉA FERRETTO DA ROCHA E LUÍS ANDRÉ SAMPAIO

## RESUMO

O uso de dietas secas na larvicultura de peixes marinhos ainda é um desafio, sendo o período do “weaning” uma etapa crítica da produção. Este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito do estágio de desenvolvimento em que juvenis de *Paralichthys orbignyanus* passaram a comer ração sobre sua sobrevivência e crescimento. Foram testadas três idades que correspondiam aos períodos pré (D23), durante (D26) e pós (D29) assentamento das larvas, após um período de co-alimentação de cinco dias, quando as larvas receberam náuplios de *Artemia* e ração (INVE, 58% de proteína, 150-300 µm). Um grupo controle permaneceu alimentado com náuplios de *Artemia*. Os tratamentos foram feitos com quatro repetições com 200 indivíduos em cada tanque. Os tanques permaneceram em banho termostático ( $25,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ), com salinidade entre 30 e 34‰ e 24 horas de luz. Aos 40 dias de vida, a sobrevivência foi afetada significativamente pelos tratamentos. A sobrevivência dos juvenis do tratamento D29 ( $54 \pm 13\%$ ) foi igual à sobrevivência dos tratamentos D26 ( $35 \pm 17$ ) e D23 ( $39 \pm 14$ ), e ao grupo controle ( $82 \pm 15\%$ ), que foi diferente dos demais. Os juvenis do grupo controle foram significativamente maiores em peso e comprimento ( $70 \pm 30\text{mg}$  e  $18 \pm 3\text{mm}$ ) que os juvenis dos demais tratamentos. Apesar da maior sobrevivência e crescimento dos linguados alimentados com *Artemia*, foi demonstrado que as larvas de *P. orbignyanus* aceitam o alimento inerte antes do assentamento, entre 18 e 23 dae. Entre os grupos que efetivaram o “weaning”, os melhores resultados foram encontrados nos indivíduos que iniciaram o “weaning” após o assentamento.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, a atividade de maricultura tem aumentado nos últimos anos e as pesquisas sobre espécies marinhas consideradas para cultivo têm sido intensificadas. Entre elas, o linguado *Paralichthys orbignyanus* aparece como um grande potencial para a aquicultura, devido ao seu alto valor de mercado e tolerância à variação aos parâmetros ambientais (Sampaio *et al.* 2001). No entanto, estudos sobre sua alimentação ainda são escassos.

O “weaning” de várias espécies tem sido feito cada vez mais precocemente (Hart & Purser, 1996; Cahu & Zambonino Infante 2001). Para tanto, vários estudos vêm sendo realizados com o objetivo de encontrar uma idade adequada para a realização do “weaning”, que reduza a utilização do alimento vivo na larvicultura, diminuindo desta forma os custos de produção.

Muitas espécies de peixes já conseguem ser produzidas com uma porção reduzida de alimento vivo, principalmente *Artemia*. Hart & Purser (1996) concluíram que era possível realizar o “weaning” de *Rhombosolea tapirina* precocemente, a partir de 23 dias após eclosão (dae). O mesmo ocorre no cultivo de *Sphoeroides annulatus*, onde García-Ortega *et al.* (2003) após testarem diferentes idades, concluíram que o “weaning” pode ser efetivado aos 29 dae, sem prejuízos para a qualidade dos juvenis.

Assim como outras espécies de peixes planos, o linguado *Paralichthys orbignyanus* sofre mudanças morfológicas drásticas como a migração ocular e rotação no posicionamento do corpo durante a metamorfose. A transição da forma de vida pelágica para a bentônica marca uma mudança crítica de comportamento, habitat e condições alimentares (Dou *et al.* 2003). Por este motivo, a transição do alimento vivo para o alimento inerte tem maior sucesso quando realizada depois de completado o

assentamento dos juvenis (Gavlik & Specker 2004). Entretanto, cada vez mais estudos têm sido feitos para avaliar o “weaning” precoce em juvenis recém-metamorfoseados ou mesmo antes de completar a metamorfose. O “weaning” do linguado *Pseudopleuronectes americanus* pode ser realizado aos 28 dae, antes da metamorfose (Ben Khemis *et al.* 2003). Assim como ocorre com *Paralichthys adspersus*, em que a substituição progressiva de presas vivas por alimento inerte pode ser iniciada antes das larvas completarem a metamorfose. Entretanto, os melhores resultados em termos de sobrevivência e crescimento têm sido obtidos com juvenis bentônicos com mais de 60 dias de idade (Silva 2001).

Este trabalho buscou determinar uma idade adequada para o início do “weaning” de *P. orbignyanus*, investigando os efeitos de diferentes idades, equivalentes aos períodos de pré-assentamento, assentamento, e pós-assentamento, sobre a sobrevivência e o crescimento, assim como estimar os custos com alimentação durante a produção.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local do experimento**

O experimento foi realizado no Laboratório de Maricultura da Estação Marinha de Aquacultura, Departamento de Oceanografia da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), entre março e abril de 2004.

### **Desova, incubação e larvicultura**

Os reprodutores de linguado (uma fêmea e três machos) foram capturados na Praia do Cassino (32°S-52°W). Uma fêmea foi induzida à desova com dose única de HCG (250 UI/Kg). Os ovos foram mantidos em incubadoras cilíndrico-cônicas, brancas,

com 30 L de água do mar filtrada, salinidade entre 30 e 34 ‰, temperatura de 21° C e aeração suave. O fotoperíodo foi mantido em 24 horas de luz.

As larvas eclodiram 30 horas após a fertilização, permanecendo sob as mesmas condições, com exceção do início do fornecimento de fitoplâncton (*Nannochloropsis oculata*) a uma densidade de  $0,5 \times 10^6$  células/ml nos tanques de larvicultura a partir do segundo dia, assim como a adição do rotífero *Brachionus plicatilis* a uma densidade inicial de 20 rotíferos/ml.

Aos dezesseis dias após a eclosão (dae), as larvas foram contadas e transferidas para tanques de larvicultura de 50 L, a uma densidade de 4 larvas por litro, permanecendo ainda por mais dois dias alimentadas com rotíferos. Os tanques permaneceram imersos em um banho termostaticado com temperatura média de  $25,5 \pm 0,5$  °C e salinidade entre 30 e 34 ‰. Durante toda a larvicultura e período experimental, as larvas permaneceram expostas a um fotoperíodo de 24 horas de luz e intensidade luminosa de aproximadamente 200 lux. Para manutenção da qualidade da água, os tanques foram renovados em 50% do seu volume pela manhã, sifonados para a retirada do material depositado no fundo e permanecendo em sistema de fluxo-contínuo (10 L/hora) das 08:00 da manhã às 22:00 da noite.

### **Desenho experimental**

Foi utilizada a ração PROTON 2 (INVE), com 58% de proteína, 14% de lipídio, 9% de cinzas, 7% de umidade, e tamanho de partícula entre 150 - 300 µm de diâmetro (dados segundo o fabricante), e também náuplios de *Artemia* (INVE).

Foram avaliados três tratamentos mais um controle onde as larvas foram alimentadas exclusivamente com *Artemia*, com quatro repetições cada. Os linguados começaram a ser alimentados com ração aos 18, 21 e 24 dae, o período de co-

alimentação foi de cinco dias para todos os tratamentos, resultando no final do “weaning” 23, 26 e 29 dae. Os tratamentos foram chamados de D23, D26, D29 e ART (Figura 1).

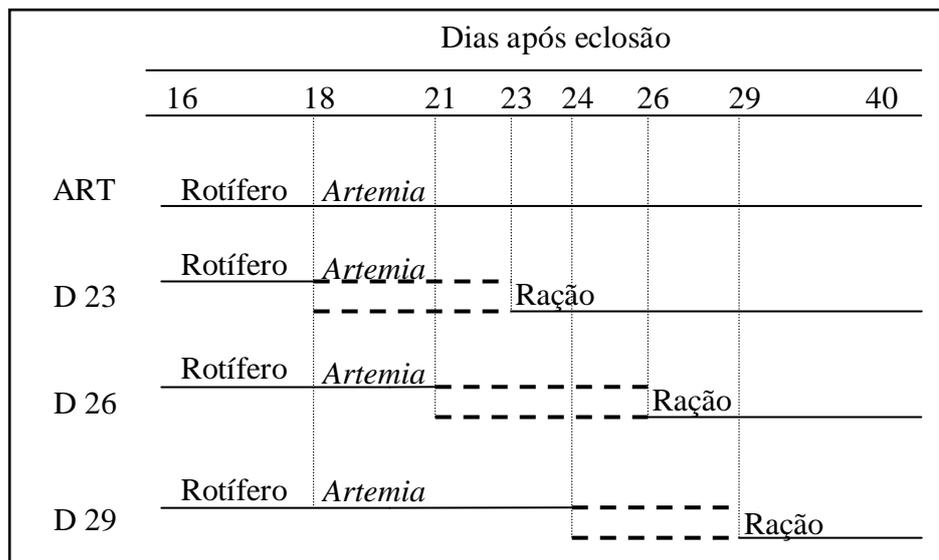


FIGURA 1. Protocolo de alimentação utilizado no “weaning” do linguado *Paralichthys orbignyana*. Linhas sobrepostas (-----) indicam período de co-alimentação (5 dias).

A substituição do rotífero por náuplios de *Artemia* foi feita aos 18 dae, com uma densidade de 0,5 a 1 náuplios/ml, que foi ajustada de acordo com a densidade residual. Para o tratamento que permaneceu alimentado exclusivamente com *Artemia* essa densidade alcançou 7 náuplios/ml ao fim do experimento. Durante a rotina da alimentação diária a ração foi o primeiro alimento oferecido, sendo distribuído nos tanques no mínimo oito vezes entre o dia e a noite, sempre com sobras. A oferta do alimento vivo foi realizada no fim da manhã, após contagem da densidade residual e limpeza dos tanques para a retirada das sobras de *Artemia*.

Uma biometria inicial (comprimento padrão) foi realizada com 32 larvas de 16 dias de vida, no primeiro dia do experimento, e o comprimento médio  $\pm$  o desvio

padrão foi  $5,15 \pm 0,6$  mm. Durante o experimento foram realizadas mais quatro biometrias, aos 20, 25 dae (n=40) e aos 32 e 40 dae (n=60), quando os indivíduos foram anestesiados com benzocaína (50 ppm) e medidos com o auxílio de lupa e placa milimetrada. No último dia do experimento, com 40 dias de vida, os juvenis também foram anestesiados, secos em papel absorvente e pesados em uma balança de precisão (0,1mg).

A sobrevivência foi analisada pelo número de juvenis restantes ao final do experimento:  $S = (Ni - Nf)/Ni \times 100$ . Onde:  $Ni$  é o número inicial e  $Nf$  é o número final.

A taxa de crescimento específico (%/dia) em comprimento foi calculada a partir da equação:  $TCE = (\ln Cf - \ln Ci) / (tf - ti) \times 100$ . Onde:  $Cf$  é o comprimento final,  $Ci$  é o comprimento inicial e  $(tf - ti)$  é o período experimental.

Para avaliar a condição das larvas em cada tratamento, foi utilizado o Fator de Condição de Fulton ao final do experimento, onde  $K = \text{Peso} / \text{Comprimento}^3 \times 100$ .

O cálculo dos custos com alimentação foi feito a partir da quantidade de alimento oferecido (*Artemia* e ração) durante o experimento. Foi considerada a eclosão de 150.000 náuplios de *Artemia*/grama de cisto.

O experimento teve a duração de 24 dias, e os resultados são apresentados na forma de média  $\pm$  desvio padrão. A normalidade dos dados e homocedasticidade da variância foram testadas respectivamente com os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene. Os dados de sobrevivência e taxa de crescimento específico foram transformados (arccoseno) antes da análise de variância. Também os resultados de comprimento e peso foram analisados com ANOVA (uma via), e quando encontradas diferenças significativas entre os tratamentos foi utilizado o teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com um nível de significância de 95% para o contraste das médias (Sokal & Rohlf 1995).

## RESULTADOS

### Sobrevivência

Após 24 dias de experimento, não foram observadas diferenças significativas na sobrevivência dos juvenis de linguado que passaram a comer ração, independente do período de seu início ( $P>0,05$ ). Entretanto, a sobrevivência dos juvenis que foram alimentados exclusivamente com *Artemia* durante o período experimental foi significativamente maior que a dos juvenis dos tratamentos D23 e D26 ( $P<0,05$ ), e igual ao tratamento D29 ( $P>0,05$ ) (Tabela 1).

### Crescimento

Ao final do experimento (40 dias de vida), os juvenis de linguado submetidos aos diferentes regimes alimentares apresentaram diferença significativa ( $P<0,05$ ) quanto ao crescimento em peso (Tabela 1) e comprimento (Figura 2). O tratamento D23 apresentou os menores valores em peso úmido e comprimento total ( $33\pm 23$  mg e  $14\pm 2$  mm). Os tratamentos D26 ( $46\pm 20$  mg e  $16\pm 3$  mm) e D29 ( $55\pm 35$  mg e  $16\pm 2$  mm) não apresentaram diferença significativa entre si ( $P>0,05$ ); entretanto, foram significativamente menores ( $P<0,05$ ) do que o grupo alimentado exclusivamente com *Artemia* ( $70\pm 30$  mg e  $18\pm 3$  mm) ao longo do experimento.

O fator de condição mostrou que, ao final do experimento, o tratamento D29 apresentou uma condição significativamente melhor do que os demais ( $P<0,05$ ), enquanto que os outros tratamentos e o grupo controle não apresentaram diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre eles.

A maior taxa de crescimento específico em comprimento ao final do experimento (n=60) foi observada nos juvenis alimentados exclusivamente com *Artemia* (5,2%), e foi significativamente superior ( $P<0,05$ ) aos demais, que não diferiram entre si ( $P>0,05$ ), oscilando entre 4,2% a 4,7% ao dia (Tabela 1).

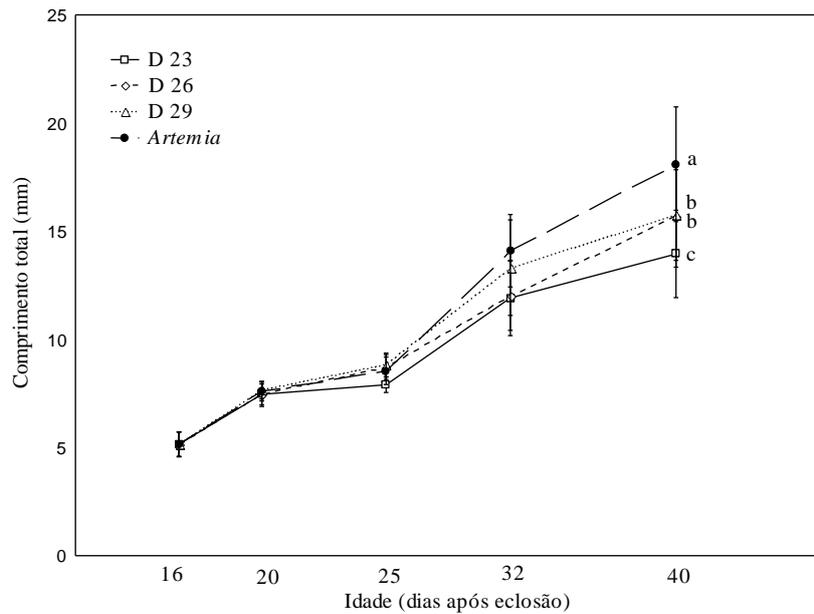


FIGURA 2. Comprimento total de *Paralichthys orbignyanus* expostos a quatro diferentes regimes alimentares ao longo do experimento. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P<0,05$ ) após teste de Tukey.

TABELA 1. Sobrevivência (%), peso úmido (mg), fator de condição e taxa de crescimento específico em comprimento (%/dia) de juvenis de *P. orbignyana* produzidos durante 24 dias sob quatro regimes alimentares.

Parâmetro analisado	Tratamento			
	<i>Artemia</i>	D 29	D 26	D 23
Sobrevivência	82±15 <sup>a</sup>	54± 13 <sup>ab</sup>	35±17 <sup>b</sup>	39±14 <sup>b</sup>
Peso úmido	70±30 <sup>a</sup>	55±35 <sup>b</sup>	46±20 <sup>bc</sup>	33±23 <sup>c</sup>
Fator de condição	11±0,014 <sup>b</sup>	13±0,059 <sup>a</sup>	11±0,014 <sup>b</sup>	12±0,024 <sup>b</sup>
TCE	5,22±0,22 <sup>a</sup>	4,65±0,23 <sup>b</sup>	4,62±0,36 <sup>b</sup>	4,15±0,17 <sup>b</sup>

\* Letras diferentes indicam diferença estatística (P<0,05) entre as médias.

### Custos com alimentação

A análise dos custos com alimentação durante a produção mostra que os gastos com *Artemia* foram muito superiores aos gastos com ração (Tabela 2).

TABELA 2. Custos com alimentação de juvenis de *P. orbignyana* durante os 24 dias de experimento (*Artemia* e ração) e custo total para produzir 1.000 juvenis com dieta seca e/ou náuplios de *Artemia*. Os valores são apresentados em dólar americano.

Tratamento	% Sobrevivência	<i>Artemia</i> <sup>1</sup>	Ração <sup>2</sup>	Total
D 23	39	0,83	6,87	7,7
D 26	35	1,70	7,10	8,8
D 29	54	1,80	3,90	5,7
ART	82	12,00	---	12,0

<sup>1</sup> = US\$ 80,00/Kg; <sup>2</sup> = US\$ 15,00/Kg

## DISCUSSÃO

A introdução do alimento inerte o mais cedo possível nos protocolos de larvicultura marinha tem sido o meio mais eficiente de proceder ao “weaning” (Hart & Purser 1996, Cañavate & Fernández-Díaz 1999, Baskerville-Bridges & Kling 2000).

Neste experimento, o “weaning” do linguado *Paralichthys orbignyanus* foi testado em três momentos, antes (23dae), durante (26 dae) e após (29 dae) a metamorfose, e ao final do experimento (40 dae) nenhum dos tratamentos alcançou sobrevivência ou crescimento similares ao grupo que permaneceu alimentado exclusivamente com *Artemia*. O oposto foi observado por Hart e Purser (1996), que verificaram uma sobrevivência significativamente maior (82%) do linguado *Rhombosolea tapirina* realizando o “weaning” antes da metamorfose (23 dae) em comparação ao “weaning” após a metamorfose (42, 50 e 58 dae), ou seja, a sobrevivência apresentou uma tendência à diminuição em função do tempo que se levou para iniciar o “weaning” de *R. tapirina*.

Person Le Ruyet *et al.* (1993) conseguiram realizar o “weaning” de *Dicentrarchus labrax* aos 40 dae com uma dieta formulada adequada para garantir bom crescimento e sobrevivência, enquanto anteriormente o “weaning” era realizado aos 55 dae. Em outro experimento realizado por Zambonino Infante *et al.* (1997) foram obtidas boas taxas de crescimento e sobrevivência quando o “weaning” foi realizado aos 20 dae. No mesmo ano, Gatesoupe *et al.* (1997) completaram o “weaning” aos 10 dae. Posteriormente (Cahu & Zambonino Infante, 2001) registraram uma sobrevivência de 35% em larvas alimentadas exclusivamente com alimento inerte desde a abertura da boca até 28 dae.

A mesma tendência de realizar o “weaning” com indivíduos mais jovens foi observada para *Solea solea*. Dinis *et al.* (1999) revisaram o assunto e encontraram na literatura referências ao “weaning” desta espécie inicialmente aos 25 dae e aos 30-40 dae e posteriormente registros de “weaning” bem sucedido aos 10 dae.

Baskerville-Bridges & Kling (2000) determinaram que a introdução do alimento inerte na larvicultura de *Gadus morhua* aos 8 dae seguido de um período de co-alimentação (rotíferos e ração) de 14 dias é melhor para o crescimento desta espécie do que sua introdução aos 15 dae seguido de 7 dias de co-alimentação. Estes resultados são baseados na hipótese de que a presença do alimento inerte na coluna d’água logo após a eclosão pode levar as larvas a identificarem-no mais facilmente como um item alimentar (Roselund *et al.* 1997).

Ainda é difícil formular um protocolo de alimentação que dispense o alimento vivo na larvicultura de peixes marinhos durante a alimentação inicial (Holt 1993; Person Le Ruyet *et al.* 1993), o que torna mais complexa e onerosa a produção de juvenis. O uso de dietas manufaturadas poderia resolver esse problema, entretanto, um baixo desempenho é geralmente observado quando larvas se alimentam com dietas inertes desde a primeira alimentação. Isto pode ocorrer devido a fatores como a composição, palatabilidade, ou características físicas da dieta (Person Le Ruyet *et al.* 1993) ou mesmo uma deficiência na capacidade de digerir adequadamente o alimento (Holt 1993; Kolkovski 2001; Kolkovski *et al.* 1997).

Appelbaum (1985) observou que larvas de *Solea solea* aceitaram mais facilmente partículas inertes nos primeiros estádios de desenvolvimento do que em estádios mais avançados, visto que puderam ser criadas desde a primeira alimentação até a metamorfose exclusivamente com dieta inerte. Entretanto, as larvas que permaneceram um período maior alimentadas com *Artemia* alcançaram maiores taxas

de crescimento e desenvolvimento, mas sua mortalidade durante o “weaning” para a dieta formulada também foi maior. Ou seja, longos períodos de alimentação com *Artemia* podem aumentar a dificuldade de realizar o “weaning” (Cañavate & Fernández-Díaz 1999). Por outro lado, Ben Khemis *et al.* (2000) observaram que larvas mais velhas de *Pseudopleuronectes americanus* têm maior capacidade de utilizar-se do alimento inerte que larvas mais jovens. Na tentativa de desempenhar o “weaning” precocemente, a partir dos 28 dae, Ben Khemis *et al.* (2003) concluíram que as larvas que se alimentaram exclusivamente de dieta inerte a partir dos 32 dae apresentavam-se significativamente menores que as larvas que permaneciam alimentadas apenas com presas vivas ou em co-alimentação até a metamorfose. Na produção do linguado *Platichthys flesus* o “weaning” é geralmente feito com juvenis (Engell-Sorensen *et al.* 2004).

Situações de comportamento agressivo e canibalismo foram observadas diversas vezes entre larvas e juvenis de *P. orbignyanus* durante o experimento, e, embora não tenham sido quantificadas, podem ter exercido alguma influência na baixa taxa de sobrevivência, pois aparentemente estas situações ocorreram com maior frequência após a retirada completa do alimento vivo dos tanques. Dou *et al.* (2000) observaram que variações de tamanho em juvenis de *Paralichthys olivaceus* em um mesmo tanque e sinais de inanição são fatores que favorecem o canibalismo nesta espécie. Hamlin & Kling (2001) verificaram que sinais de agressão entre juvenis de *Melanogrammus aeglefinus* foram mais pronunciados nos tanques que recebiam exclusivamente dieta formulada do que nos tanques abastecidos com presas vivas, embora os peixes mortos não apresentassem sinais de inanição.

Embora tenha sido observada a ingestão da dieta inerte pelos juvenis de *P. orbignyanus*, os resultados mostraram que ainda é necessário o uso de *Artemia* em sua

larvicultura. Isto pode ser resultado da dificuldade na digestão e/ou assimilação dos nutrientes presentes na ração, pois Appelbaum (1985) relata que a *Artemia* exerce dupla-função no organismo dos peixes marinhos: como alimento e na provisão de enzimas digestivas, enfatizando que um período maior de oferta de *Artemia* garante um melhor crescimento e sobrevivência em *Solea solea*. O insucesso na alimentação com dietas secas pode ser consequência de uma deficiência de enzimas digestivas em larvas muito jovens. Entretanto, estudos feitos com *Dicentrarchus labrax* e com *Solea senegalensis* mostraram que o processo de síntese de enzimas pancreáticas, por exemplo, está mais relacionado à fase de desenvolvimento do que à ingestão de alimento (Cahu & Zambonino Infante 2001).

Embora os grupos alimentados com dieta seca não tenham apresentado sobrevivência e crescimento semelhantes ao grupo controle, cabe ressaltar que o grupo que completou o “weaning” aos 29 dae apresentou o melhor fator de condição ao final do experimento, e ainda, que os custos com alimentação deste grupo durante os 24 dias de cultivo equivalem à metade dos custos com o grupo alimentado exclusivamente com *Artemia* (US\$12 por milheiro), o que pode compensar as perdas pela sobrevivência de 54%. Na produção de *Pseudopleuronectes americanus* as melhores taxas de crescimento são alcançadas com a suplementação de *Artemia* na dieta, mas o seu custo com alimentação também é maior, alcançando US\$8 por milheiro produzido durante 25 dias. Em contraste, o uso de uma dieta seca para salmonídeos faz o custo com alimentação diminuir consideravelmente, gastando-se aproximadamente US\$1 por milheiro produzido durante o mesmo período (Lee & Litvak 1996).

Neste estudo, foi observado que larvas de *P. orbignyanus* aceitam o alimento inerte entre 18 e 23 dae, embora as idades testadas no “weaning” não tenham apresentado resultados similares em sobrevivência e crescimento dos juvenis que

permaneceram alimentados com *Artemia*. Sugere-se que outras estratégias alimentares sejam testadas com o objetivo de garantir melhores resultados em crescimento e sobrevivência no “weaning” a custos reduzidos.

## CONCLUSÃO

Larvas de *P. orbignyanus* aceitam o alimento inerte antes do assentamento, entre 18 e 23 dae. Entretanto, a melhor performance para o “weaning” foi observada quando a ração passou a ser oferecida após o assentamento dos juvenis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPELBAUM, S. 1985. Rearing of dove sole *Solea solea* L., through its larval stages using artificial diets. *Aquaculture*, 49:209-221.
- BASKERVILLE-BRIDGES, B & LJ KLING. 2000. Early weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae onto a microparticulate diet. *Aquaculture*, 189: 109-117.
- BEN KHEMIS, I, J DE LA NOÛE & C AUDET. 2000. Feeding larvae of winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum) with live prey or microencapsulated diet: Linear growth and protein, RNA and DNA content. *Aquaculture Research*, 31: 377-386.
- BEN KHEMIS, I, C AUDET, R FOURNIER & J DE LA NOÛE. 2003. Early weaning of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus* Walbaum) larvae on a commercial microencapsulated diet. *Aquaculture Research*, 34: 445-452.
- CAHU, C & J ZAMBONINO INFANTE. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200: 161-180.

- CAÑAVATE, JP & C FERNÁNDEZ-DÍAZ. 1999. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture*, 174: 255-263.
- DINIS, MT, L RIBEIRO, F SOARES & C SARASQUETE. 1999. A review on the cultivation potential of *Solea senegalensis* in Spain and in Portugal. *Aquaculture*, 176:27-38.
- DOU, S, T SEIKAI, K TSUKAMOTO. 2000. Cannibalism in Japanese flounder juveniles, *Paralichthys olivaceus*, reared under controlled conditions. *Aquaculture*, 182: 149–159.
- DOU, S, R MASUDA, M TANAKA & K TSUKAMOTO. 2003. Identification of factors affecting the growth and survival of the settling Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 218: 309-327.
- ENGELL-SORENSEN, K, JG STOTTRUP & M HOLMSTRUP. 2004. Rearing of flounder (*Platichthys flesus*) juveniles in semiextensive systems. *Aquaculture*, 230: 475-491.
- GATESOUBE, FJ, JL ZAMBONINO INFANTE, CC CAHU & P QUAZUGUEL. 1997. Early weaning of seabass larvae, *Dicentrarchus labrax*: the effect on microbiota, with particular attention to iron supply and exoenzymes. *Aquaculture*, 158:117-127.
- GARCÍA-ORTEGA, A, I ABDO. & C HERNANDEZ. 2003. Weaning of bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*) from live food to microparticulate diets made with decapsulated cysts of *Artemia* and fishmeal. *Aquaculture International*, 11:183-194.
- GAVLIK, S & JL SPECKER. 2004. Metamorphosis in summer flounder: manipulation of rearing salinity to synchronize settling behavior, growth and development. *Aquaculture*, 240: 543-559.

- HAMLIN, HJ & LJ KLING. 2001. The culture and early weaning of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) using a microparticulate diet. *Aquaculture*, 201:61-72.
- HART, PR & GJ PURSER. 1996. Weaning of hatchery-reared greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther) from live to artificial diets: Effects of age and duration of the changeover period. *Aquaculture*, 145: 171-181.
- HOLT, JG. 1993. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 225-230.
- KOLKOVSKI, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles – implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*, 200: 181-201.
- KOLKOVSKI, S, W KOVEN & A TANDLER. 1997. The mode of action of *Artemia* in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, 155: 193-205.
- LEE, GWY & MK LITVAK. 1996. Weaning of metamorphosed winter flounder (*Pleuronectes americanus*) reared in the laboratory: comparison of two commercial artificial diets on growth, survival and conversion efficiency. *Aquaculture*, 144: 251-263.
- PERSON LE RUYET, J, JC ALEXANDRE, L THEBAUD & C MUGNIER. 1993. Marine Fish Larvae Feeding: Formulated Diets or Live Prey? *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 211-224.
- ROSELUND, G, J STOSS & C TALBOT. 1997. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture*, 155:183-191.
- SAMPAIO, LA, A BIANCHINI & VR CERQUEIRA. 2001. Growth of juvenile Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, cultured at different salinities. *J. Appl. Aquaculture*, 11: 67-75.

SILVA, A. 2001. Advance in the culture research of small-eye flounder, *Paralichthys microps*, and Chilean flounder, *P. adspersus*, in Chile. *J. Appl. Aquaculture*, 11: 147-164.

SOKAL, R.R. & RHOLF, J. 1995. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. Third edition. State University of New York at Stony Brook.

ZAMBONINO INFANTE, JL, CL CAHU & A PÉRES. 1997. Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development. *J. Nutr.*, 127: 608-614.

## **CAPÍTULO 2**

### **SUBSTITUIÇÃO DO ALIMENTO VIVO POR DIETA INERTE NA PRODUÇÃO DE JUVENIS DO LINGUADO *Paralichthys orbignyanus*: EFEITO DA DURAÇÃO DO PERÍODO DE CO-ALIMENTAÇÃO**

ANDRÉA FERRETTO DA ROCHA E LUÍS ANDRÉ SAMPAIO

## RESUMO

A substituição do alimento vivo por alimento inerte é uma etapa crítica para a larvicultura de peixes marinhos. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do período de co-alimentação (alimento vivo e inerte) sobre a sobrevivência, o crescimento e os custos de produção de juvenis do linguado (idade inicial 32 dias). Durante o período de co-alimentação os juvenis receberam *Artemia* enriquecida (DHA Selco, INVE) juntamente com ração (INVE, 58% proteína). Foram testados três períodos de co-alimentação, 15, 20 e 25 dias. Um grupo controle permaneceu alimentado com *Artemia* enriquecida. Os tanques permaneceram em fluxo contínuo, salinidade 34 e temperatura de 24°C. Os valores de comprimento, peso úmido e sobrevivência foram submetidos a ANOVA (uma-via) seguida do teste de Tukey com 95% de significância. Ao final do experimento (76 dias), os juvenis alimentados exclusivamente com *Artemia* enriquecida apresentaram sobrevivência (82%), peso e comprimento ( $480 \pm 157$  mg e  $35,5 \pm 5$  mm) significativamente maiores ( $P < 0,05$ ) que os juvenis alimentados com ração. Os resultados mostram que um período maior de co-alimentação favorece a sobrevivência e o crescimento dos linguados submetidos ao “weaning”, embora os melhores resultados tenham sido obtidos nos indivíduos alimentados exclusivamente com *Artemia*.

## INTRODUÇÃO

Para a maioria das espécies de peixes marinhos pesquisadas, os resultados encontrados nos estudos que avaliam a substituição do alimento vivo pelo alimento inerte mostram uma menor eficiência das dietas formuladas em comparação com o alimento vivo quando utilizado como única fonte alimentar (Person Le Ruyet *et al.* 1993).

Os resultados do “weaning” são melhores quando a dieta artificial é oferecida após um período prévio de alimentação com presas vivas e/ou em combinação com presas vivas desde a primeira alimentação. Quando o alimento inerte é utilizado juntamente com o alimento vivo (co-alimentação), taxas de crescimento similares ou melhores às alcançadas com o fornecimento exclusivo de *Artemia* podem ser obtidas (Person Le Ruyet *et al.* 1993).

O sistema de co-alimentação melhora a nutrição larval e pode auxiliar as larvas e juvenis a aceitarem o alimento inerte. De uma forma geral, este regime alimentar pode resolver o problema do fornecimento inadequado de nutrientes, devido a uma maior diversidade de alimento disponível (Roselund *et al.* 1997) e reduzir a dependência do alimento vivo, diminuindo, conseqüentemente, os custos de produção de juvenis (Callan *et al.* 2003).

Vários autores têm observado melhores taxas de crescimento e sobrevivência utilizando a estratégia de co-alimentação. É o caso de Holt (1993), que conseguiu 60% de sobrevivência em *Sciaenops ocelatus* desde a eclosão até a metamorfose com dieta comercial fornecida em combinação com alimento vivo nos primeiros cinco dias de alimentação. Hart & Purser (1996) alcançaram sobrevivência significativamente maior

no “weaning” do linguado *Rhombosolea tapirina* aos 23 dae, antes da metamorfose, utilizando um período de co-alimentação de 10 dias.

Resultados positivos em sobrevivência e crescimento foram observados no uso de co-alimentação para o “weaning” de *Hippoglossus hippoglossus*, quando realizado em 10 dias de co-alimentação com mais 10 dias de substituição gradual de *Artemia*, assim como em *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata*, que completaram o “weaning” após 10 dias de co-alimentação seguido de 7 dias de redução de *Artemia* (Roselund *et al.* 1997).

Este estudo foi realizado para determinar o tempo mínimo necessário de co-alimentação antes de completar o “weaning” em juvenis de *Paralichthys orbignyanus*, pois juvenis metamorfoseados estão mais aptos a aceitar o alimento inerte do que larvas (ver capítulo 1 nesta dissertação).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local do experimento**

O experimento foi realizado no Laboratório de Maricultura da Estação Marinha de Aquacultura, Departamento de Oceanografia da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), entre maio e julho de 2005.

### **Desova, incubação e larvicultura**

Os juvenis foram obtidos a partir da reprodução em laboratório de linguados (uma fêmea e três machos) capturados no ambiente. Os reprodutores foram induzidos hormonalmente à desova em laboratório utilizando-se extrato de hipófise de carpa na dose única de 3 mg/Kg. Os ovos foram mantidos em incubadoras cilíndricas pretas, com

160L de água do mar filtrada, salinidade entre 30 a 34 ‰, temperatura de  $23,2 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$  e aeração suave e constante. O fotoperíodo foi mantido em 24 horas de luz, com intensidade luminosa de aproximadamente 200 lux na superfície da água.

As larvas eclodiram após 30 horas de incubação, permanecendo sob as mesmas condições, com exceção do início do fornecimento de fitoplâncton (*Nannochloropsis oculata*) a uma densidade de  $0,5 \times 10^6$  células/ml nos tanques de cultivo a partir do segundo dia, assim como a adição do rotífero *Brachionus plicatilis* a uma densidade inicial de 20 rotíferos/ml. A partir de 9 dae (dias após eclosão) foi iniciado o fornecimento de *Artemia* enriquecida (1 – 5 *Artemia*/ml) juntamente com o rotífero até completarem 32 dias de vida.

### **Produção de alimento vivo**

Durante a primeira alimentação das larvas foi fornecido o rotífero *Brachionus plicatilis* que era alimentado com a microalga *Nannochloropsis oculata* (nos tanques de larvicultura) e Culture Selco 3000 (INVE). Os cistos de *Artemia* (INVE) eram colocados para eclodir durante 24 horas e os náuplios enriquecidos durante 24 horas com DHA Selco (INVE), conforme instruções do fabricante. Após esse período, a *Artemia* enriquecida era coletada e fornecida às larvas e juvenis durante o dia, permanecendo em geladeira com aeração nos intervalos da alimentação.

### **Condições experimentais**

Ao completarem 32 dias de vida, os juvenis foram contados e transferidos para tanques de 50 litros, a uma densidade de 3,2 indivíduos por litro, ou 160 juvenis em cada tanque. Os tanques permaneceram imersos em banho termostático com temperatura média de  $23,8 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e salinidade entre 30 e 34‰ em sistema de fluxo-

contínuo durante todo o período experimental, com uma taxa de renovação de aproximadamente 10 litros/hora, e sifonados para a retirada do material depositado no fundo. Para manter um fluxo de água contínuo e uniforme em todos os 12 tanques experimentais, tanques de 1000 litros foram utilizados como reservatório, onde a água passava por um sistema de filtros cunco (1µm) e ultravioleta. Durante o período experimental, o fotoperíodo foi alterado para 18 horas de luz e 6 horas de escuro, com intensidade luminosa de aproximadamente 200 lux na superfície da água dos tanques.

### **Desenho experimental**

Foi utilizada no início do experimento a ração comercial PROTON 2 (INVE), com 58% de proteína, 14% de lipídio, 9% de cinzas e tamanho de partícula entre 150 - 300 µm de diâmetro, juntamente com a ração Lansy NRD (INVE), com 60% de proteína, 14,5% de lipídio, 11,5% de cinzas e tamanho de partícula entre 200 – 800 µm de diâmetro, substituídas posteriormente pela ração Epac ALFA (INVE), com 56% de proteína, 15% de lipídio, 12% de cinzas e tamanho de partícula entre 1200 – 2000 µm de diâmetro, conforme os dados do fabricante. Também foi oferecida *Artemia* enriquecida com DHA Selco (INVE) para todos os tratamentos.

Foram avaliados quatro tratamentos com três repetições, sendo três períodos de co-alimentação e um grupo controle onde as larvas foram alimentadas exclusivamente com *Artemia*. O protocolo experimental pode ser observado na Figura 1 e descrito como:

ART: os grupos controle foram alimentados exclusivamente com *Artemia* ao longo do experimento.

CO-15: ao completarem 33 dias de vida, os juvenis deste grupo foram co-alimentados (*Artemia* e ração) durante 10 dias, e mais 5 dias com redução da oferta de *Artemia* e aumento da oferta de ração, efetivando o “weaning” aos 48 dae.

CO-20: ao completarem 33 dias de vida os juvenis deste grupo foram co-alimentados (*Artemia* e ração) durante 15 dias, e mais 5 dias com redução da oferta de *Artemia* e aumento da oferta de ração, efetivando o “weaning” aos 53 dae.

CO-25: ao completarem 33 dias de vida os juvenis deste grupo foram co-alimentados (*Artemia* e ração) durante 20 dias, e mais 5 dias com redução da oferta de *Artemia* e aumento da oferta de ração, efetivando o “weaning” aos 58 dae.

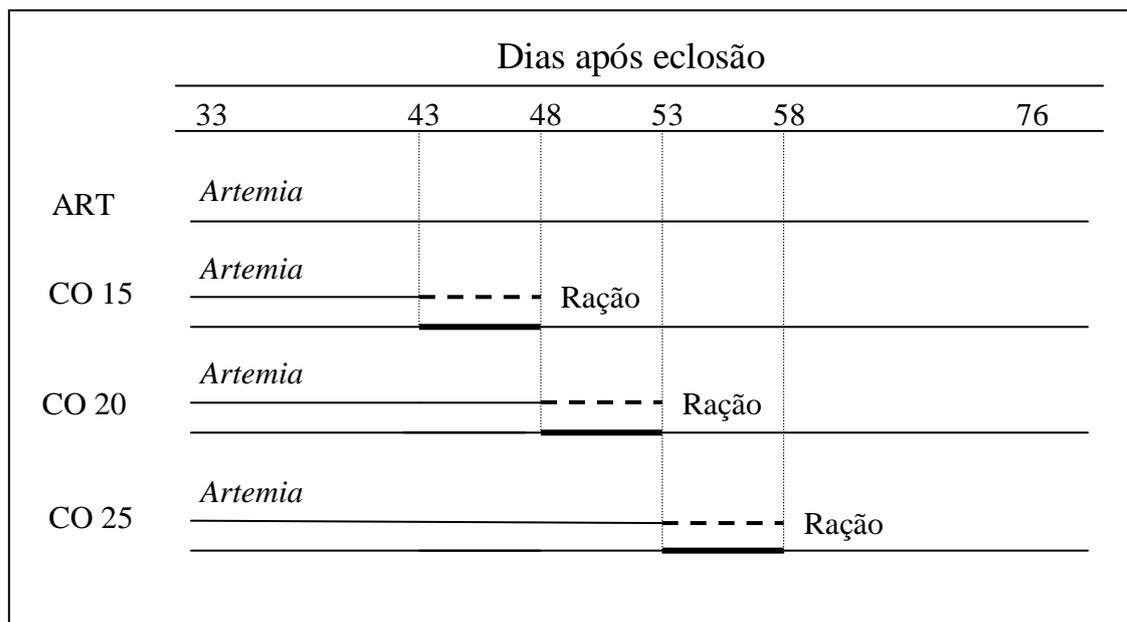


FIGURA 1. Protocolo de alimentação utilizado no “weaning” de *Paralichthys orbignyanus*. Linhas sobrepostas indicam período de co-alimentação, sendo que (----) indica redução na oferta de *Artemia* e (—) indica aumento na oferta de ração.

A oferta do alimento vivo era realizada três vezes ao dia (manhã, tarde e noite), permanecendo em geladeira após a coleta, enquanto que o alimento inerte era pesado

uma vez ao dia e oferecido no mínimo duas vezes pela manhã, três vezes pela tarde e duas vezes pela noite, sempre com sobras.

Para análise do crescimento, foram realizadas cinco biometrias ao longo do experimento, sendo uma biometria inicial com 35 juvenis de 32 dias de vida, onde foi registrado somente o comprimento total ( $9,5 \pm 1,2$  mm), e as próximas onde os juvenis, após anestesia em gelo e secagem em papel absorvente eram medidos (comprimento total) com o auxílio de lupa e placa milimetrada e pesados (peso úmido) em uma balança de precisão (0,1 mg) aos 43 (n=15), 47 (n=15), 66 (n=30) e aos 76 dias de vida (n=30).

A sobrevivência foi analisada pelo número de juvenis no final do experimento:  $S = (N_i - N_f) / N_i \times 100$ . Onde:  $N_i$  é o número inicial e  $N_f$  é o número final.

A taxa de crescimento específico (%/dia) em comprimento foi calculada a partir da equação:  $TCE = (\ln C_f - \ln C_i) / (t_f - t_i) \times 100$ . Onde:  $C_f$  é o comprimento final,  $C_i$  é o comprimento inicial e  $(t_f - t_i)$  é o período experimental.

Para avaliar a condição das larvas em cada tratamento, foi utilizado o Fator de Condição de Fulton ao final do experimento, onde  $K = \text{Peso} / \text{Comprimento}^3 \times 100$ .

O cálculo dos custos com alimentação foi feito baseado no consumo aparente de *Artemia*, DHA Selco (INVE) e ração (INVE) durante o experimento, através da quantidade diária de ração e náuplios de *Artemia* oferecidos por tratamento. Foi considerada a eclosão de 150.000 náuplios de *Artemia*/grama de cisto.

O experimento teve a duração de 44 dias, e os resultados são apresentados na forma de média  $\pm$  desvio padrão. A normalidade dos dados e homocedasticidade da variância foram testadas respectivamente com os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene. Os dados de sobrevivência e taxa de crescimento específico foram transformados (arcoseno) antes da ANOVA. Também os resultados de comprimento e

peso foram analisados com ANOVA (uma via), e quando encontradas diferenças significativas entre os tratamentos foi utilizado o teste de Tukey. Durante os últimos cinco dias de co-alimentação foi utilizado o teste “t” de Student para comparar o peso dos linguados alimentados com *Artemia* e ração e exclusivamente com *Artemia*. Todas as análises foram realizadas com um nível de significância de 95% (Sokal & Rohlf 1995).

## **RESULTADOS**

### **Sobrevivência**

Ao final do experimento (76 dae), o grupo alimentado exclusivamente com *Artemia* alcançou sobrevivência significativamente maior ( $P < 0,05$ ) que os grupos que passaram pelo processo de transição alimentar (Tabela 1). A sobrevivência do tratamento CO 15 também foi significativamente menor do que CO 25 ( $P < 0,05$ ).

### **Crescimento**

Ao final do experimento os períodos de co-alimentação não levaram à diferenças significativas ( $P > 0,05$ ), tanto em peso úmido ( $n=15$ ) como em comprimento total ( $n=30$ ). Contudo, o grupo alimentado exclusivamente com *Artemia* foi significativamente maior ( $P < 0,05$ ) em peso (Tabela 1), comprimento (Figura 2) e taxa de crescimento específico em comprimento (%/dia;  $n=30$ ). O grupo controle apresentou maior fator de condição ( $P < 0,05$ ;  $n=30$ ) ao final do experimento, similar ao grupo CO 15. A maior taxa de crescimento específico em comprimento (%/dia) foi observada nos juvenis alimentados exclusivamente com *Artemia* durante o experimento e foi significativamente diferente ( $P < 0,05$ ) dos demais tratamentos (Tabela 1).

TABELA 1. Sobrevivência (%), peso úmido (mg), comprimento (mm), fator de condição e taxa de crescimento específico em comprimento (%/dia) final de *Paralichthys orbignyanus* produzidos em diferentes regimes alimentares.

Parâmetro analisado	Tratamento			
	<i>Artemia</i>	CO 25	CO 20	CO 15
Sobrevivência	82±3 <sup>a</sup>	22,5±3 <sup>b</sup>	13,3±5 <sup>bc</sup>	9,4±6 <sup>c</sup>
Peso úmido	480±157 <sup>a</sup>	192±161 <sup>b</sup>	243±207 <sup>b</sup>	184±10 <sup>b</sup>
Comprimento	35,5±5 <sup>a</sup>	26,5±5 <sup>b</sup>	27,4±6 <sup>b</sup>	24,6±6 <sup>b</sup>
Fator de condição	11±0,044 <sup>a</sup>	9±0,023 <sup>b</sup>	9±0,026 <sup>b</sup>	10±0,019 <sup>ab</sup>
TCE	3,0±0,32 <sup>a</sup>	2,3±0,46 <sup>b</sup>	2,4±0,47 <sup>b</sup>	2,1±0,55 <sup>b</sup>

\* Letras diferentes indicam diferença estatística ( $P<0,05$ ) após teste de Tukey.

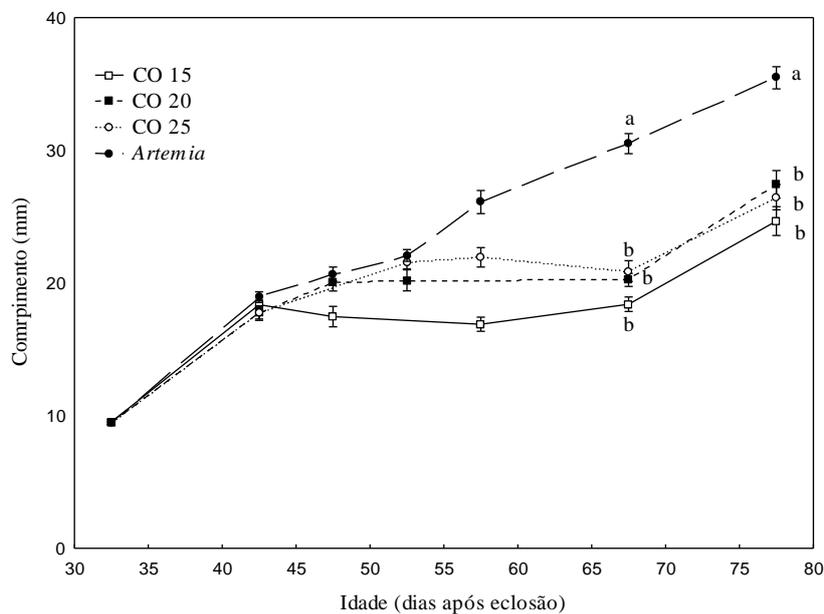


FIGURA 2. Comprimento total de juvenis de *P. orbignyanus* co-alimentados por 15, 20 e 25 dias (CO 15, CO 20 e CO 25) e grupo controle ao longo do tempo. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P<0,05$ ) após teste de Tukey.

### Tempo de redução de *Artemia*

O efeito do tempo de redução de *Artemia* sobre o peso dos juvenis em cada tratamento está representado na Figura 3. A redução da *Artemia* teve efeito negativo significativo ( $P < 0,05$ ) sobre o tratamento CO 15 em comparação ao grupo controle, diminuindo o peso em função do tempo. Quanto ao tratamento CO 20 e o grupo controle, nenhuma diferença significativa foi observada ( $P > 0,05$ ). No tratamento CO 25, o efeito significativo ( $P < 0,05$ ) foi observado após o 3º dia de redução de *Artemia*, com diminuição do peso do tratamento CO 25 e aumento de peso do grupo controle.

### Custos com alimentação

A análise dos custos com alimentação durante o período experimental mostra que os gastos com *Artemia* foram muito superiores aos gastos com ração (Tabela 2).

TABELA 2. Custos com alimentação de juvenis de *P. orbignyana* durante os 44 de experimento (*Artemia* e ração) e custo total para produzir 1.000 juvenis com dieta seca e/ou náuplios de *Artemia*. Os valores são apresentados em dólar americano.

Tratamento	% Sobrevivência	<i>Artemia</i> <sup>1</sup>	Ração <sup>2</sup>	DHA <sup>3</sup>	Total
ART	82	141	---	32	173
CO 15	9,4	88	61	20	169
CO 20	13	104	41	23	168
CO 25	22,5	95	22	21	138

<sup>1</sup> (INVE) = US\$ 80,00/Kg; <sup>2</sup> (INVE) = US\$ 15,00/Kg; <sup>3</sup> (INVE) = US\$ 48,00/L (R\$110,00)

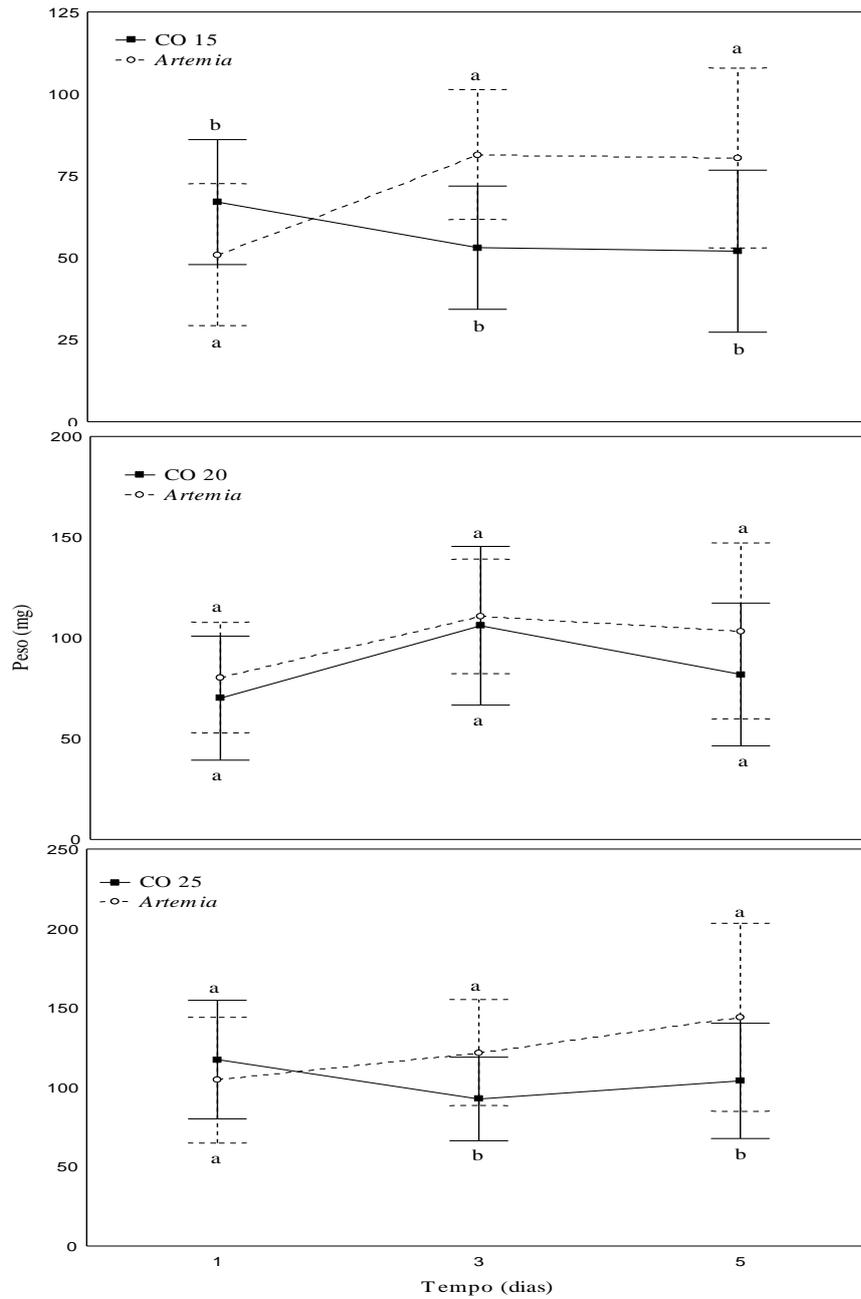


FIGURA 3. Efeito do tempo de redução de *Artemia* sobre o peso dos juvenis de *P. orbignyana* cultivados sob diferentes regimes alimentares. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) após teste “t”.

## DISCUSSÃO

Para que o sistema de co-alimentação seja bem-sucedido, é importante que a larva se alimente da dieta seca enquanto o alimento vivo se encontra presente no tanque (Roselund *et al.* 1997). Larvas de sea bream (*Sparus aurata*) previamente alimentadas com presas vivas selecionam preferencialmente o alimento vivo durante a co-alimentação, o que pode refletir um comportamento de pré-condicionamento em favor do alimento vivo. Esses resultados sugerem que um regime de co-alimentação precoce irá favorecer a aceitação do alimento inerte, acelerando o processo de substituição do alimento vivo (Roselund *et al.* 1997; Cañavate & Fernández-Díaz 1999), facilitando o processo de digestão e assimilação de nutrientes (Holt, 1993; Person Le-Ruyet *et al.* 1993) e garantindo uma significativa economia no custo de produção com alimento vivo (Kolkovski *et al.* 1997).

Os resultados encontrados neste experimento demonstram que após um período de 44 dias, os protocolos de co-alimentação empregados não obtiveram rendimento em sobrevivência e crescimento similares ao sistema baseado exclusivamente na alimentação com *Artemia* enriquecida. Os resultados do experimento 1 mostraram uma tendência de maior sucesso no “weaning” de *P. orbignyanus* após o assentamento dos juvenis. Entretanto, esta observação pode ter sido mascarada pelo período de co-alimentação empregado (5 dias), sendo possível que um período de co-alimentação mais prolongado pudesse proporcionar uma melhor performance, mesmo durante a fase larval, como foi observado por Hart & Purser (1996).

Durante o período em que o alimento vivo foi gradualmente substituído pelo alimento inerte foi observada uma redução significativa no peso nos juvenis co-alimentados durante 15 e 25 dias, em comparação ao grupo controle. Essa redução

imediate de peso deve estar relacionada à menor quantidade de alimento inerte ingerido pelos juvenis ou ao fato de ser retirado um item alimentar da dieta, comprovando que os linguados apresentavam-se melhor nutricionalmente enquanto permaneciam em sistema de co-alimentação.

A alta mortalidade que ocorreu nos tratamentos de co-alimentação deste experimento pode ser atribuída ao fato dos juvenis não aceitarem a dieta inerte e morrerem por inanição, pois foi observado que grandes mortalidades ocorriam após a retirada completa do alimento vivo. Alta mortalidade de juvenis que receberam somente ração foi observada por Ehrlich *et al.* (1989), após 21 dias de experimento com *Micropterus dolomieu*. Neste mesmo experimento, os melhores resultados em crescimento e sobrevivência foram alcançados com a oferta de ração e *Artemia*.

O “weaning” de *Solea solea* também foi favorecido pela co-alimentação precoce. Appelbaum (1985) observou que larvas de *Solea solea* aceitaram mais facilmente partículas inertes nos primeiros estádios de desenvolvimento do que em estádios mais avançados e Cañavate & Fernández-Díaz (1999) encontraram que o oferecimento de *Artemia* e ração na proporção de 1:1 desde a primeira alimentação possibilitou que um maior número de larvas tenha se alimentado de ração mais cedo, resultando em juvenis melhor condicionados a aceitar e digerir dietas secas. Entretanto, uma densidade elevada de *Artemia* pode exercer um efeito negativo no sucesso do “weaning”, pois a atratividade do alimento vivo pode “encobrir” a do alimento inerte (Kolkovski *et al.* 1997). A presença do alimento inerte na coluna d’água tão cedo quanto possível pode levar as larvas a identificarem-no melhor como um item alimentar (Callan *et al.* 2003; Roselund *et al.* 1997).

Baskerville-Bridges & Kling (2000) procederam ao “weaning” precoce em larvas de bacalhau (*Gadus morhua*) introduzindo uma dieta microparticulada aos 8 dae

em sistema de co-alimentação com rotíferos durante 14 dias, resultando em melhor crescimento do que a introdução posterior do alimento inerte, aos 15 dae, com apenas 7 dias de co-alimentação, e, o mais importante, sem o uso de *Artemia* no cultivo.

Outro exemplo disso ocorreu quando larvas (30 dae) de robalo (*Centropomus parallelus*) foram expostas a três diferentes períodos de co-alimentação (5, 10 e 15 dias), resultando ao final do experimento em larvas significativamente menores e com menores taxa de crescimento com apenas 5 dias de co-alimentação, embora a sobrevivência não tenha sido afetada por nenhum dos tratamentos (Alves *et al.* 2005).

Um protocolo que emprega o “weaning” gradual, feito em sistema de co-alimentação, alcançou alta sobrevivência (aproximadamente 90%) ao fim do “weaning” de *Pseudopleuronectes americanus*, mesmo sendo iniciado logo após a metamorfose e concluído aos 47 dae (12,5 mm e 42 mg), o que pode ser considerado um grande avanço, já que anteriormente o “weaning” era iniciado com juvenis de 39 mm e até em um ano após eclosão (Lee & Litvak 1996).

Entretanto, as observações comportamentais também devem ser levadas em consideração, já que podem ajudar a explicar os dados de crescimento e sobrevivência. Durante o período experimental, muitas vezes foram observadas situações de canibalismo entre os juvenis de *P. orbignyanus*, que ocorriam principalmente após a completa substituição do alimento vivo pelo inerte. Benetti (1997) sugere estocar os alevinos de *Paralichthys woolmani* em baixas densidades (5 indivíduos/l) e fazer um constante gradeamento para reduzir o canibalismo. A densidade de estocagem utilizada neste experimento (3 indivíduos/L) não deveria ter sido problema para *P. orbignyanus*, pois é uma densidade usualmente empregada em estudos com outras espécies de linguado (Lee & Litvak 1996). Entretanto, o gradeamento não foi realizado.

Hart & Purser (1996) observaram que larvas do linguado *Rhombosolea tapirina* alcançavam sobrevivência similar em diferentes períodos de co-alimentação e que o tempo para concluir o “weaning” tem efeito significativo sobre o crescimento, pois períodos maiores (10-20 dias) são mais eficientes que períodos menores (5 dias). Isto tem reflexo nos custos de produção, pois embora um período de co-alimentação de 20 dias tenha favorecido a sobrevivência e o crescimento, um período de co-alimentação de 10 dias reduz os custos com *Artemia* com mínimo efeito sobre o desenvolvimento dos juvenis.

Person Le Ruyet *et al.* (1993) estimaram que o alimento vivo pode representar 80% do custo total em 45 dias de produção de sea bass (*Dicentrarchus labrax*), sendo que o uso de *Artemia* participa significativamente (80%) do total de despesas com alimento vivo. Na tentativa de reduzir o uso de *Artemia* e diminuir os custos de produção do bacalhau *Gadus morhua*, Callan *et al.* (2003) tiveram resultados positivos em sobrevivência e crescimento utilizando um sistema de co-alimentação que conseguiu reduzir cerca de 75% a quantidade de *Artemia* necessária. Ehrlich *et al.* (1989) conseguiram reduzir o custo de produção de *Micropterus dolomieu* pela metade realizando o “weaning” mais cedo.

Os resultados levam a crer que ao realizar o “weaning” de *P. orbignyana*, um período mais prolongado de co-alimentação parece ser a melhor estratégia.

## CONCLUSÕES

Os resultados deste experimento ainda não permitem estabelecer um protocolo ideal para o “weaning” do linguado, mas foi comprovado que um maior período de co-alimentação favorece a sobrevivência dos juvenis.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A continuidade dos estudos sobre “weaning” deve enfatizar aspectos da fisiologia da digestão, comportamento alimentar e manejo dos linguados de modo que seja obtida viabilidade econômica na produção de juvenis de linguado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, TT, VR CERQUEIRA. & JA BROWN. 2005. Early weaning of fat snook (*Centropomus parallelus* Poey 1864) larvae. *Aquaculture*, no prelo.
- APPELBAUM, S. 1985. Rearing of Dove sole *Solea solea* L., through its larval stages using artificial diets. *Aquaculture*, 49:209-221.
- BASKERVILLE-BRIDGES, B & LJ KLING. 2000. Early weaning of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae onto a microparticulate diet. *Aquaculture*, 189: 109-117.
- BENETTI, DD. 1997. Spawning and larval husbandry of flounder (*Paralichthys woolmani*) and Pacific yellowtail (*Seriola mazatlanica*), new candidate species for aquaculture. *Aquaculture*, 155:307-318.
- CALLAN, C, A JORDAAN & LJ KLING. 2003. Reducing *Artemia* use in the culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 219: 585-595.

- CAÑAVATE, JP & C FERNÁNDEZ-DÍAZ. 1999. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture*, 174: 255-263.
- EHRlich, K F, M-C CANTIN & M B RUST. 1989. Growth and survival of larval and postlarval Smallmouth bass fed a commercially prepared dry feed and/or *Artemia* nauplii. *J. World Aquacult. Soc.*, 20:1-6.
- HART, PR & GJ PURSER. 1996. Weaning of hatchery-reared greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther) from live to artificial diets: Effects of age and duration of the changeover period. *Aquaculture*, 145: 171-181.
- HOLT, JG. 1993. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 225-230.
- KOLKOVSKI, S, W KOVEN & A TANDLER. 1997. The mode of action of *Artemia* in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, 155: 193-205.
- LEE, GWY & MK LITVAK. 1996. Weaning of metamorphosed winter flounder (*Pleuronectes americanus*) reared in the laboratory: comparison of two commercial artificial diets on growth, survival and conversion efficiency. *Aquaculture*, 144: 251-263.
- PERSON LE RUYET, J, JC ALEXANDRE, L THEBAUD & C MUGNIER. 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *J. World Aquacult. Soc.*, 24: 211-224.
- ROSELUND, G, J STOSS & C TALBOT. 1997. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture*, 155:183-191.
- SOKAL, RR & J RHOLF. 1995. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. Third edition. State University of New York at Stony Brook.