

# INFLUÊNCIA DA DIETA NO CULTIVO DE *Mysidopsis juniae* (SILVA, 1979) (CRUSTACEA: MISIDA) EM LABORATÓRIO

Telma ALVES FERREIRA<sup>1</sup> e Charrid RESGALLA Jr.<sup>1</sup>

## RESUMO

*Mysidopsis juniae* é a espécie de misidáceo protocolada pela ABNT para uso em ensaios agudos marinhos no Brasil. Entretanto, como organismo teste, existe a necessidade de seu cultivo em laboratório para a obtenção de juvenis a qualquer momento. Neste trabalho foi avaliada a influência da dieta em base de náuplios de *Artemia* sp. bioencapsulados com oito formulações diferentes sobre o crescimento, sobrevivência, número de embriões por fêmea e tempo de liberação de juvenis. Os experimentos demonstraram que óleo de fígado de bacalhau é de fundamental importância no enriquecimento de náuplios de *Artemia* e que resultam em misidáceos de maior tamanho e com maior sobrevivência. Entretanto, o seu uso conjugado com vitaminas (complexo vitamínico B1 e B12) pode otimizar estes parâmetros, sendo tão eficiente ou melhor quando comparado com misturas entre diferentes tipos de óleos, apresentando, inclusive, liberação de juvenis em menor tempo de cultivo.

**Palavras chave:** alimento; reprodução; crescimento; sobrevivência; Misidáceo

# INFLUENCE OF DIET ON THE CULTIVATION OF *Mysidopsis juniae* (SILVA, 1979) (CRUSTACEA: MISIDA) IN LABORATORY

## ABSTRACT

*Mysidopsis juniae* is the specie of mysid used in acute marine assays in Brazil. However, as a test organism, it has to be cultivated in the laboratory to obtain the juveniles whenever needed. This work evaluates the influence of a diet based on nauplii of *Artemia* sp., bioencapsulated with eight different formulations, on growth, survival, number of embryos per female and time to release of the juveniles. Experiments showed that cod liver oil is of fundamental importance in the enrichment of nauplii of *Artemia*, and that result in larger organisms from the cultivations, with longer survival. Meanwhile, its use in conjunction with vitamins (vitamin complex of B1 and B12) can optimize these parameters, as it is just as efficient, if not more so, than a mixture of different types of oils, presenting release of the juveniles after shorter cultivation times.

**Keywords:** food; reproduction; growth; survival; Mysid

---

**Nota Científica:** Recebida em 27/12/2013 – Aprovada em 23/07/2014

<sup>1</sup> Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar (CTTMar), Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI) – Caixa Postal 360 – CEP: 88302-202 – Itajaí – SC – Brasil. e-mail: cresgalla@univali.br (autor correspondente)

## INTRODUÇÃO

O cultivo de misidáceos é amplamente difundido, pois atende a demanda desde a sua utilização em testes de toxicidade, assim como alimento vivo na aquarioria marinha e cultivos de organismos nectônicos (IGARASHI, 2010). Apesar de serem omnívoros em ambiente natural (BOND-BUCKUP e BUCKUP, 1995), em laboratório, os misidáceos são alimentados com náuplios de *Artemia* recém-eclodidos, sendo estes, por sua vez, o alimento vivo mais utilizado na aquicultura (SORGELOOS e LÉGER, 1992; STOTTRUP e MCEVOY, 2003).

A popularidade do uso de *Artemia* em cultivos se dá em função da facilidade de obtenção, a partir de cistos inativos que podem ser armazenados durante anos, os quais, quando incubados por períodos que variam entre 24 e 48 horas, eclodem dando origem a náuplios com alta atividade natatória e qualidade nutricional (SORGELOOS e PERSONE, 1975; LAVENS e SORGELOOS, 1996).

Todas as espécies de *Artemia* possuem, no vitelo, cadeias com ácidos graxos altamente insaturados (HUFA n-3), o que as torna atraentes aos cultivos de organismos marinhos. Entretanto, aproximadamente oito horas após a eclosão, os náuplios consomem toda sua reserva vitelínica, passando para o segundo estágio larval. A partir daí, seu valor nutricional cai drasticamente, consequência da redução de HUFA. Para elevar a qualidade do alimento e minimizar as diferenças entre os lotes de cistos, uma série de metodologias foram desenvolvidas, sendo hoje conhecidas como bioencapsulação ou enriquecimento (LÉGER *et al.*, 1986). A incorporação de compostos pela *Artemia* é possível, pois durante o segundo estágio larval, esses organismos iniciam a filtração de partículas presentes na água.

Procedimentos de bioencapsulação são comuns na aquicultura marinha e podem ser realizados utilizando compostos caseiros ou industriais (TAMARU *et al.*, 1999), no intuito de aumentar o valor energético da dieta, oferecendo aos organismos de interesse no cultivo vias de fácil obtenção de compostos essenciais ao seu metabolismo (PONTES e ANDREATTA, 2003). Apesar de terem sido desenvolvidos inicialmente

com o objetivo de suprir a deficiência de ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), o enriquecimento pode incorporar uma infinidade de componentes aos náuplios. Podem ser utilizados diversos tipos de vitaminas (C, B1, B6, B12), aminoácidos, fosfolípidos e até mesmo profiláticos com objetivo de controlar doenças que eventualmente se instalam nos cultivos (LÉGER *et al.*, 1986; SORGELOOS e LÉGER, 1992). No Brasil, estudos envolvendo a bioencapsulação de náuplios de *Artemia* sp. para a alimentação de *Mysidopsis juniae* foram inicialmente estudados por PRÓSPERI *et al.* (1994) e atualmente fazem parte da Norma da ABNT/NBR (2011).

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da qualidade de náuplios de *Artemia* enriquecidos com compostos bioquimicamente distintos e suas respostas nos organismos da espécie *M. juniae* cultivados em laboratório para utilização em ensaios ecotoxicológicos. Para isto, foram analisados dados de crescimento, sobrevivência, tempo de maturação, produção de embriões e primeira liberação de juvenis do misidáceo de modo a escolher o método de enriquecimento mais indicado para esse tipo de cultivo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Cultivo estoque de misidáceo*

Os organismos da espécie *Mysidopsis juniae*, obtidos originalmente da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE, SC), foram cultivados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar (CTTMar) da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), onde foram mantidos em aquários de 15 L com água do mar filtrada, coletada semanalmente no município de Penha, litoral norte de Santa Catarina. A salinidade foi mantida em torno de 35, sendo corrigida com sal marinho ("Red Sea Salt<sup>®</sup>"), quando necessário. A temperatura de cultivo variou entre 21°C a 23°C; com a manutenção de aeração branda e constante e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro. A dieta do cultivo seguiu os padrões recomendados na literatura, sendo constituída por náuplios de *Artemia* sp. bioencapsulados com óleo de peixe e óleo de fígado de bacalhau

(PRÓSPERI, 1993; GAMA e ZAMBONI, 1999; PONTES e ANDREATTA, 2003).

Nos aquários, foi mantida a proporção sexual de 40 fêmeas para 10 machos com o objetivo de otimizar as taxas de fecundação. Uma vez por semana foi realizada a manutenção dos aquários de cultivo com a separação de juvenis e adultos, limpeza e renovação da água. Os juvenis obtidos foram transferidos para um aquário de 30 L até que atingissem a maturação sexual e fossem utilizados para a reposição dos reprodutores.

#### Experimentos

Para a obtenção dos dados de taxa de crescimento, sobrevivência e produção de embriões submetidos a diferentes dietas, foi conduzido um total de oito experimentos distintos.

Para o início de cada experimento (T0) foram obtidos juvenis a partir do cultivo estoque, sendo esses retirados três dias após a manutenção dos aquários de reprodutores. O intervalo entre o dia da manutenção e o início do experimento foi estabelecido para que houvesse disponibilidade de um número de juvenis suficiente para a montagem de, no mínimo, um tratamento. Destes, 10 indivíduos foram imediatamente fixados em formol 4% para posterior biometria, correspondendo, então, ao T0, representando o início do desenvolvimento dos *M. juniae*. Os demais juvenis do lote foram separados em diferentes tratamentos sendo que cada um foi constituído de oito grupos de 10 organismos cada. Cada grupo de juvenis foi transferido para béqueres de 1 L, com 800 mL de água do mar filtrada, salinidade de 35. Os béqueres foram mantidos à temperatura entre 21°C a 23°C, aeração branda e constante e fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro.

Cada tratamento foi mantido por 32 dias (compreendendo desde o estágio juvenil ao adulto) e alimentados com dietas à base de *Artemia* enriquecida em abundância (de 100 a 150 náuplios por misidáceo por dia), segundo GAMA e ZAMBONI (1999). Os compostos utilizados para enriquecimento foram: (1) óleo de fígado de bacalhau (OFB), rico em DHA e EPA; (2) óleo de peixe (OP), rico em EPA; (3) complexo vitamínico

do meio Conway (CV), constituído por vitamina B1 (tiamina) e B12 (cianocobalamina); (4) microalga *Isochrysis galbana* (IG) rica em aminoácidos e DHA; (5) mistura de óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico (OFB+CV); (6) mistura de óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe (OFB+OP); (7) vitamina C (VC) rica em ácido ascórbico. Além desses, foi utilizado como (8) controle náuplios de *Artemia* recém-eclodidos (AR), sem qualquer tipo de enriquecimento.

Em intervalos de quatro dias ao longo do experimento (T4, T8, T12, T16, T20, T24, T28, T32), a contar a partir da data do início (T0), foi realizada a manutenção dos béqueres onde foram cultivados os misidáceos. Durante esse procedimento, um béquer tinha seus indivíduos contabilizados e fixados com formol 4% para posterior biometria, avaliação de tamanho e produção de embriões. Nos demais béqueres foi realizada a troca de água de manutenção e contabilizado os exemplares mortos. As manutenções foram repetidas até que todos os organismos estivessem fixados.

Devido à necessidade de um grande número de juvenis na mesma faixa de idade, os experimentos foram executados com, no máximo, dois tratamentos ao mesmo tempo e sem repetições.

#### Cultura de *Isochrysis galbana*

A cepa inicial da microalga *I. galbana* foi obtida no Laboratório de Microbiologia Aplicada (LAMA/CTTMar UNIVALI), e mantida no Laboratório de Ecotoxicologia (LETOX/CTTMar UNIVALI). Sua cultura foi realizada em meio Conway.

#### Eclusão dos cistos de *Artemia*

Os cistos de *Artemia* da marca INVE (USA) foram eclodidos em garrafas tipo funil de 2 L. Em cada funil foram acondicionados 1g de cisto para cada 1L de água do mar, com salinidade variando entre 28 e 32. Os recipientes onde os cistos foram incubados foram mantidos sob forte aeração e com fotoperíodo de 12 horas claro/12 horas escuro. Sob essas condições, o tempo de eclusão foi de 48 horas, com uma taxa de 80%. Após a

eclosão, os organismos foram transferidos para béqueres de 600 mL com 500 mL de água do mar, sob aeração constante, e aguardado 8 horas para que os náuplios passassem para o estágio com alimentação exógena, o que possibilita o seu enriquecimento.

#### *Bioencapsulação*

Uma vez obtidos os náuplios no estágio II, os compostos utilizados no enriquecimento (tratamentos) foram adicionados à água do mar nas seguintes proporções:

- Óleo de fígado de bacalhau (OFB): 1 mg de óleo de fígado de bacalhau para 500 mL de água do mar.
- Óleo de peixe (OP): 1 mg de óleo de peixe para 500 mL de água do mar.
- Complexo vitamínico (CV): solução descrita no meio Conway, com 10 mg de vitamina B12 e 200 mg de vitamina B1 para 200 mL de água destilada. Foi adicionado 200 µL da solução em 500 mL de água do mar com náuplios de *Artemia*.
- *Isochrysis galbana* (IG): náuplios alimentados com *I. galbana* na proporção aproximada de  $7,5 \times 10^5$  células de microalga por mL de água do mar.
- OFB+VC: 1 mg de óleo de fígado de bacalhau para 500 mL de água do mar, misturado a 200 µL do complexo vitamínico.
- OFB+OP: 1 mg de óleo de fígado de bacalhau misturados a 1 mg de óleo de peixe para 500 mL de água do mar.
- Vitamina C (VC): adição de 200 µL de solução de vitamina C (solução de ácido ascórbico a 5% w/w) em 500 mL de água do mar segundo as recomendações de LAVENS e SORGELOOS (1996).
- Controle (AR): náuplios de *Artemia* sem enriquecimento e recém-eclodidos.

Realizadas as misturas, os béqueres com os náuplios enriquecidos com os compostos acima foram mantidos sob aeração vigorosa e constante por um período de até 24 horas (TAMARU *et al.*, 1999), antes de serem oferecidos como alimento para os misidáceos.

#### *Biometria e avaliação do crescimento*

Após o término dos experimentos, os organismos previamente fixados em formol 4%, para cada período avaliado (quatro dias) e tratamento foram medidos para a obtenção do comprimento total (CT), com o auxílio de microscópio estereoscópico equipado com ocular micrométrica. Para a obtenção dos dados de CT foi observada a distância longitudinal entre as extremidades do rostro e do télson.

#### *Estimativa de sobrevivência*

Para as estimativas de sobrevivência, foram contabilizados os organismos vivos a cada quatro dias. Os dados de mortalidade acumulada foram utilizados para as estimativas da porcentagem de sobrevivência para cada tratamento durante o experimento.

Foi estabelecida uma taxa mínima aceitável de sobrevivência ao final do período experimental, sendo esta determinada de acordo com os valores mínimos permitidos no controle dos ensaios ecotoxicológicos (80%) (ABNT/NBR, 2011 e USEPA, 2002), equivalendo, ainda, à média observada na maioria dos cultivos de misidáceos. Dessa forma, tratamentos que apresentaram sobrevivência inferior a 80% no final do experimento não se mostraram eficientes para essa prática, pois não atenderam a um dos requerimentos para o cultivo desses organismos para uso em ensaios ecotoxicológicos.

#### *Avaliação do estado de maturação sexual e número de embriões*

Paralelamente à biometria, sob microscópio estereoscópico, foi realizada a análise do estágio de maturação sexual de todos os organismos, sendo este definido pelo momento de aparecimento dos primeiros embriões fecundados no marsúpio das fêmeas.

Dessa forma, quando as fêmeas apresentavam embriões no marsúpio, esses foram contabilizados para posterior cálculo da média de embriões por fêmea, o que permitiu identificar o tratamento mais eficiente em relação à produção de descendentes. Essa análise permitiu confrontar dados de maturação e liberação de juvenis, de

modo a compreender melhor o intervalo de tempo entre esses dois eventos.

#### *Liberção de juvenis*

Os dados referentes a esse parâmetro foram comparados levando-se em consideração o menor intervalo de tempo entre a maturação e a primeira liberaçõ de juvenis.

#### *Parâmetros físico-químicos*

Durante os experimentos, a salinidade, pH e temperatura foram constantemente monitorados, sendo a salinidade aferida utilizando condutivímetro ThermoOrion (modelo 162A) e mantida em 33 com a adiçõ de sal marinho da marca "Red Sea Salt®" em água do mar, quando necessário. O pH foi aferido por meio de um pHmetro ThermoOrion PerpHect LogR Meter (modelo 370) e a temperatura foi mantida a 22°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) em laboratório aclimatizado. O oxigênio dissolvido não foi monitorado devido a aeraçõ constante a qual os béqueres com os organismos foram submetidos, e que proporcionava saturaçõ de oxigênio.

#### *Tratamento dos dados*

Comparações entre os tratamentos para os comprimentos totais (CT) com 32 dias de cultivo foram realizados utilizando-se a análise de

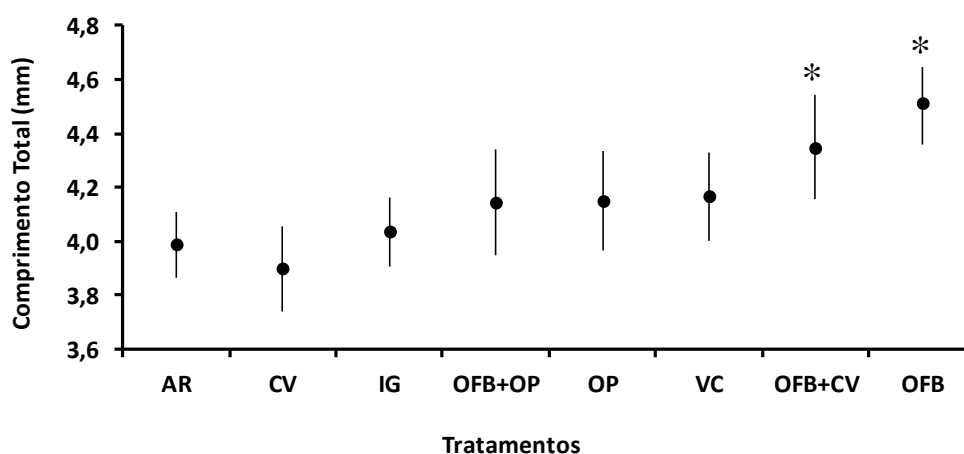
Kruskall-Wallis (ZAR, 1996) após a confirmaçõ de ausência de normalidade mediante o uso do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para análise *a posteriori* foi empregado o teste de Mann-Whitney quando observado diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos.

## RESULTADOS

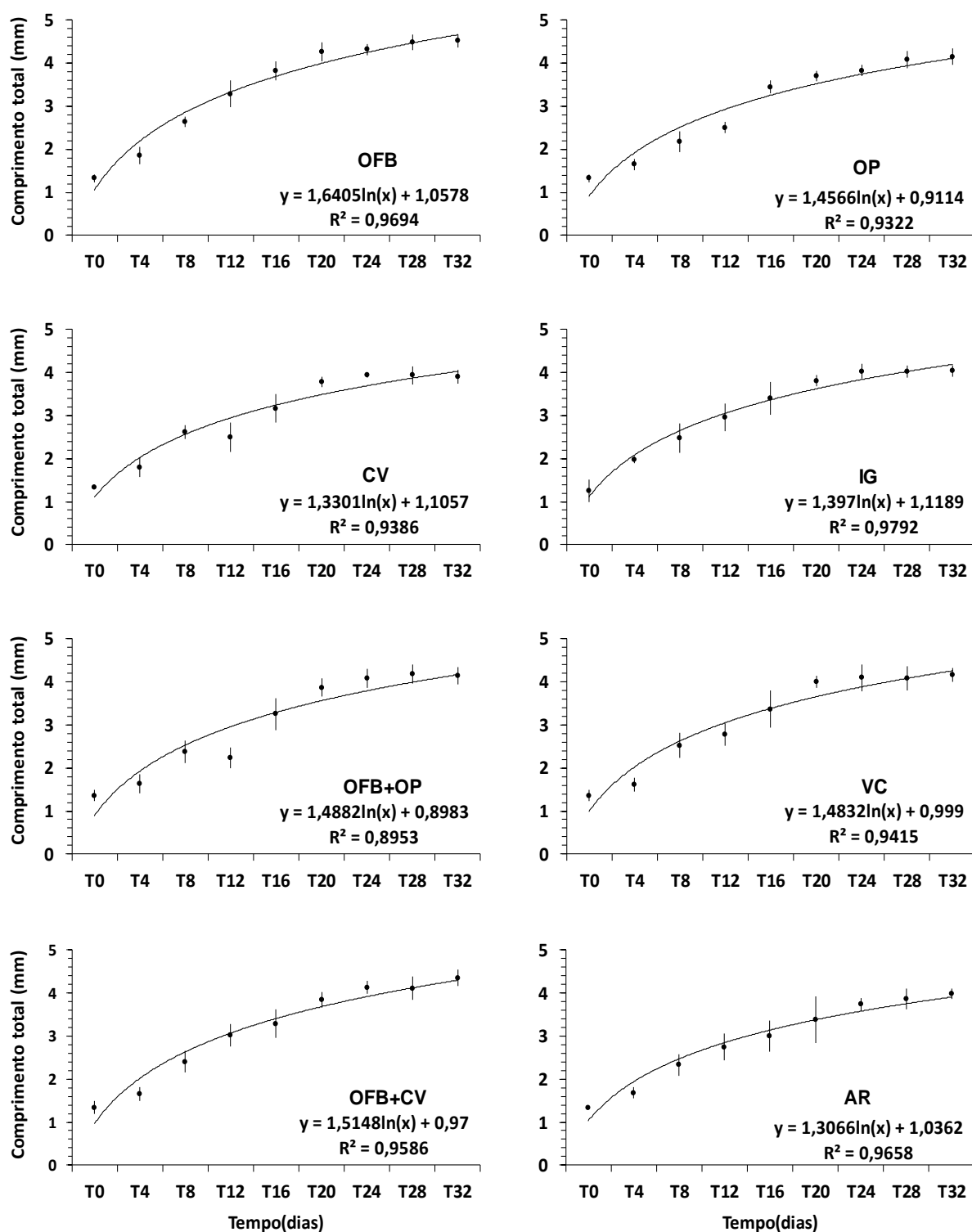
Os resultados indicaram a existênci de diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para o crescimento e comportamento diferenciado para a sobrevivência, tempo de reproduçõ, número de embriões produzidos por fêmea e idade de primeira liberaçõ de juvenis entre os diferentes tratamentos.

#### *Crescimento*

Não foi observada a normalidade dos dados de comprimento total (CT) segundo o teste de Kolmogorov-Smirnov ( $d = 0,15286$ ;  $P < 0,01$ ). Em funçõ disto, o teste não-paramétrico de Kruskall-Wallis indicou diferenças significativas para CT ( $H = 37,73$  e  $P = 0,0000$ ;  $\alpha = 0,05$ ) em pelo menos dois tratamentos. Comparando-se os tratamentos com o controle (AR), foi detectada diferença para os tratamentos de óleo de fígado de bacalhau (OFB) e óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico (OFB+CV) (Figuras 1 e 2, Tabela 1).



**Figura 1.** Medianas (pontos) e desvio padrão (barras) do comprimento total (CT) de *Mysidopsis juniae*, após 32 dias de cultivo, e alimentadas com diferentes dietas com náuplios de *Artemia* enriquecidas com OFB – óleo de fígado de bacalhau; OP – óleo de peixe; CV – complexo vitamínico; IG – *Isochrysis galbana*; OFB+OP – óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe; VC – vitamina C; OFB+CV – óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico; AR – náuplios sem enriquecimento (controle). \*Tratamentos significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ) em relação ao controle (AR).



**Figura 2.** Média e desvio padrão dos comprimentos total (CT - mm) de *Mysidopsis juniae* nos diferentes tempos de cultivo e em diferentes tratamentos de dieta enriquecida, sendo OFB - óleo de fígado de bacalhau; OP - óleo de peixe; CV - complexo vitamínico; IG - *Isochrysis galbana*; OFB+OP - óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe; VC - vitamina C; OFB+CV - óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico; AR - náuplios sem enriquecimento (controle) (n de 90 organismos por tratamento).

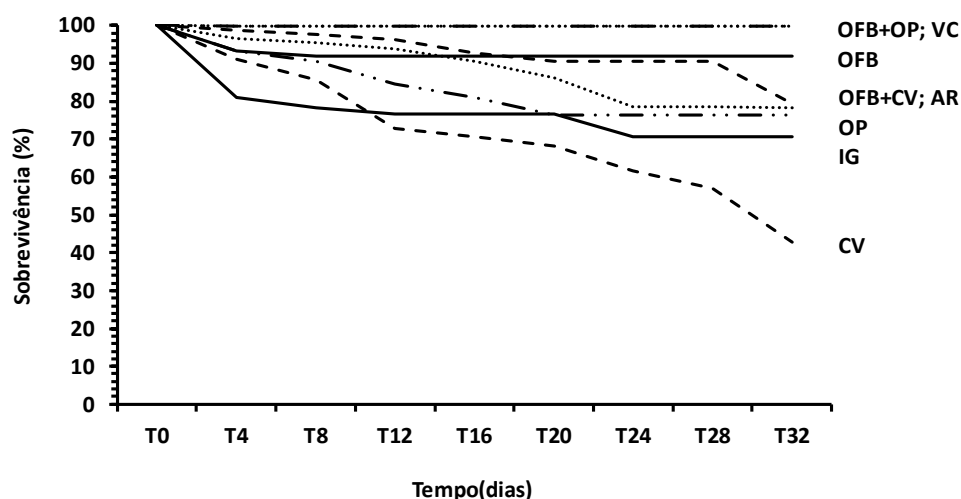
**Tabela 1.** Valores de *P* (bicaudal) da comparação múltipla do Teste de Kruskal-Wallis (7, N = 67, H = 37,73035; *P* = 0,0000) do comprimento total de *Mysidopsis juniae* com 32 dias de cultivo entre o controle e os tratamentos.

Tratamentos	<i>P</i> entre controle ( <i>Artemia</i> - AR) e tratamentos
Óleo de fígado de bacalhau (OFB)	0,000226
Óleo de peixe (OP)	1,000000
Complexo vitamínico (CV)	1,000000
<i>Isochrysis galbana</i> (IG)	1,000000
Óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico (OFB+CV)	0,035047
Óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe (OFB+OP)	1,000000
Vitamina C (VC)	1,000000

### Sobrevivência

Baixos percentuais de sobrevivência foram observados para dietas enriquecidas com óleo de peixe (OP), *I. galbana* (IG) e complexo vitamínico

(CV), entretanto, os resultados apontaram maiores taxas de mortalidade para juvenis, apresentando uma tendência de estabilização da sobrevivência a partir de 20 dias de idade (Figura 3).



**Figura 3.** Sobrevivência (%) de *Mysidopsis juniae* em diferentes tempos de cultivo e sob diferentes dietas. OFB+OP - Óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe; VC - Vitamina C; OFB - Óleo de fígado de bacalhau; OFB+CV - Óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico; AR - Sem enriquecimento; OP - Óleo de peixe; IG - *Isochrysis galbana* e CV - Complexo vitamínico.

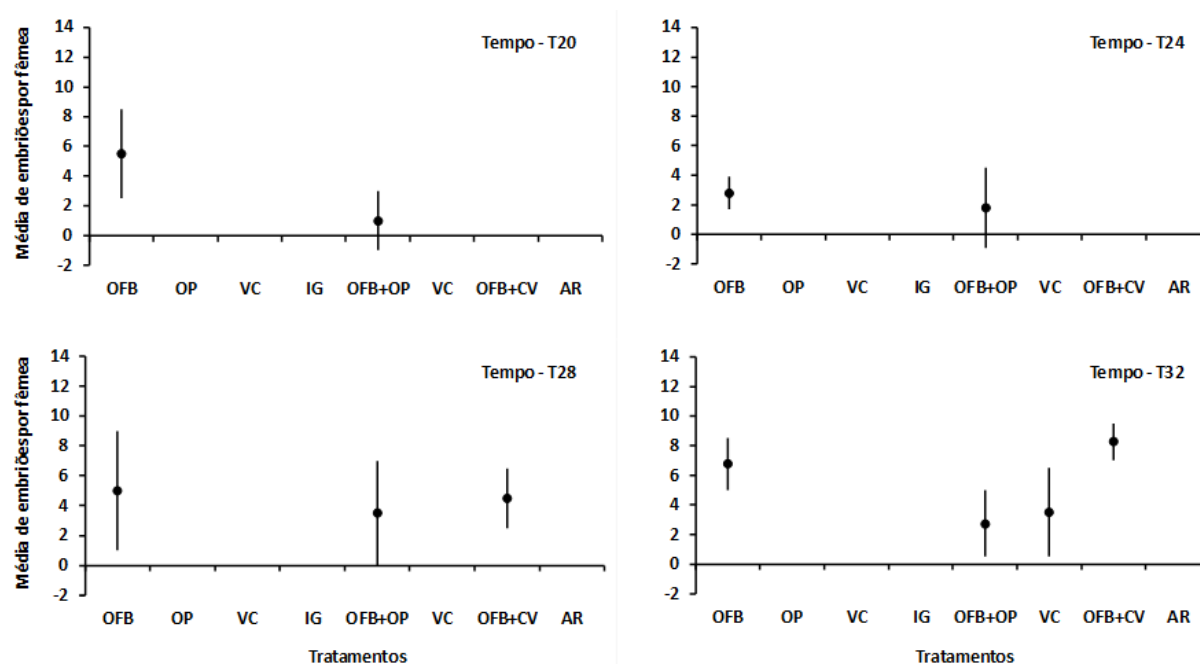
### Produção de embriões

Para esta avaliação foi considerado apenas o aparecimento de embriões fertilizados no marsúpio das fêmeas. Apenas quatro (óleo de fígado de bacalhau - OFB - Tempo 20 dias, óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe - OFB+OP - Tempo 20 dias, óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico - OFB+CV - Tempo < 24 dias e vitamina C - VC - Tempo 28 dias) do total de oito tratamentos apresentaram fêmeas com

embriões antes do término do experimento (Figura 4).

### Liberação de juvenis

Dois tratamentos apresentaram juvenis livre nadantes durante o experimento, sendo eles óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico (OFB+CV) e óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe (OFB+OP), com 24 e 32 dias, respectivamente.



**Figura 4.** Média e desvio padrão de embriões por fêmea ovígera para cada tratamento categorizado pelos tempos de cultivo a partir dos quais ocorreram pela primeira vez. OFB - Óleo de fígado de bacalhau (n = 22); OP - Óleo de peixe (n = 23); CV - Complexo vitamínico (n = 12); IG - *Isochrysis galbana* (n = 14); OFB+OP - Óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe (n = 17); VC - Vitamina C (n = 13); OFB+CV - Óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico (n = 24) e AR - Sem enriquecimento (Controle) (n = 18). n = número de fêmeas a partir de 20 dias de cultivo.

## DISCUSSÃO

Estudos sobre a influência do tipo de dieta nas respostas fisiológicas de misidáceos têm sido realizados por diversos autores e para diferentes espécies, podendo ser citados GAMA e ZAMBONI (1999) para o cultivo de *Metamysidopsis elongata atlântica*; REYNIER (1996) para *Mysidium gracilie*; e PRÓSPERI (1993) para *Mysidopsis juniae*. Entretanto, devido ao aumento do interesse de seu cultivo para uso nos ensaios ecotoxicológicos e potencial aplicação como alimento vivo em aquicultura, existe a real necessidade de investigar melhorias no cultivo destes organismos.

Os maiores valores de comprimento dos organismos alimentados com náuplios enriquecidos por óleo de fígado de bacalhau (OFB) e por óleo de fígado de bacalhau e complexo vitamínico (OFB+CV) podem ser atribuídos às altas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados (HUFA), como EPA e DHA, que segundo WATANABE *et al.* (1980),

LÉGER *et al.* (1986) e BADARÓ-PEDROSO (1993), são formas passíveis de assimilação que podem contribuir para o aumento das taxas de crescimento.

Para a sobrevivência, STOTTRUP e MCEVOY (2003) destacam que as vitaminas são consideradas suplementos importantes no aumento da pigmentação dos organismos, conferindo maior resistência ao estresse causado pelas condições de cultivo. Dessa forma, a baixa sobrevivência e a falta de estabilização nas mortes apresentada pelos *M. juniae* alimentados com náuplios enriquecidos com complexo vitamínico (CV) não foram resultados esperados. Segundo LÉGER *et al.* (1987), o aumento do metabolismo e das necessidades energéticas dos misidáceos provocados pelas vitaminas podem não ser supridas por náuplios com mais de 8 horas de idade. Náuplios envelhecidos e de maior tamanho podem ser um efeito indesejado das técnicas de enriquecimento devido ao tempo mínimo exigido de bioencapsulação (LÉGER *et al.*, 1986).



Por outro lado, não há registro de alterações nas taxas de sobrevivência de misidáceos frente a diferentes dietas. NIPPER e WILLIANS (1997) compararam enriquecimento de náuplios por *I. galbana* (IG), óleo de bacalhau (OFB), óleo de peixe (OP), óleo de fígado de bacalhau e óleo de peixe (OFB+OP) nas taxas de sobrevivência de *Tenagomysis novae-zealandiae* e só observaram a estabilização desta taxa após 7 dias em todos os tratamentos. A estabilização da sobrevivência de misidáceos com a idade já foi destacada por CLUTTER e THEILACKER (1971), pois a frequência das mudas é reduzida conforme o organismo atinge a maturidade, ou seja, a sensibilidade em função da renovação do exoesqueleto e do estágio de vida diminui, resultando em maior sobrevivência para os adultos.

A maioria dos tratamentos que apresentaram ocorrência de embriões no marsúpio continha óleo de fígado de bacalhau (OFB - rico em DHA) na dieta, confirmando o destacado por LÉGER *et al.* (1986) que constataram que o valor energético do alimento é dado em função dos níveis EPA e DHA. Para náuplios enriquecidos com a microalga *I. galbana*, ricas em DHA e EPA segundo STOTTRUP e MCEVOY (2003), não foram obtidos os mesmos resultados que o OFB. Segundo LAVENS e SORGELOOS (1996), o enriquecimento de *Artemia* através da utilização de microalgas é altamente vulnerável à contaminação por outros organismos, prejudicando o enriquecimento dos náuplios. Neste estudo, o aumento observado na produção de embriões por misidáceos alimentados com náuplios enriquecidos com vitamina C (VC) ainda necessita de confirmação, pois segundo STOTTRUP e MCEVOY (2003), esta vitamina promove o aumento nas taxas de sobrevivência de larvas de camarão, mas cujos mecanismos de ação ainda permanecem desconhecidos.

A liberação de juvenis pelos tratamentos de óleo de fígado de bacalhau com complexo vitamínico (OFB+CV) e óleo de fígado de bacalhau com óleo de peixe (OFB+OP) sugerem que compostos oléicos são responsáveis por aumentar a produtividade e reduzir o tempo de maturação. Entretanto, a ação isolada do óleo de fígado de bacalhau (OFB), apesar de vantajoso para as taxas de crescimento, sobrevivência e

produção de embriões, não apresentou resultados satisfatórios na liberação precoce de juvenis.

De qualquer forma, a importância do uso de ácidos graxos poli-insaturados no sucesso do cultivo de organismos marinhos já é bem destacada na literatura (NIPPER e WILLIANS, 1997; STOTTRUP e MCEVOY, 2003), entretanto, a sua associação de outros compostos bioativos ainda pode ser usada como tema de pesquisa, o que apresenta potencialidades no desenvolvimento de novos produtos aplicados a aquicultura.

## CONCLUSÕES

Os experimentos realizados demonstraram que a presença de ácidos graxos poli-insaturados (HUFA) em óleo de fígado de bacalhau (OFB) é de fundamental importância no enriquecimento de náuplios de *Artemia* oferecidos na dieta de misidáceos e que resultam em organismos de cultivos em maior tamanho e com maior sobrevivência. Entretanto, o seu uso conjugado com vitaminas (complexo vitamínico de B1 e B12) pode otimizar estes parâmetros, sendo tão eficiente, ou melhor, quando comparado com misturas entre diferentes tipos de óleos (óleo de peixe - OP).

Estes resultados sugerem um sinergismo entre os diferentes compostos utilizados no enriquecimento de náuplios de *Artemia*, pois a atuação isolada de cada composto foi distinta e pode não necessariamente ser considerada apenas como artefato acumulativo das concentrações utilizadas. De qualquer forma, existe a necessidade de estudos voltados exclusivamente para este objetivo assim como na avaliação de misturas complexas com três ou mais compostos enriquecedores.

## REFERÊNCIAS

- ABNT/NBR, 2011 *Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com misídeos (Crustacea)*. ABNT/NBR 15308. 19p.
- BADARÓ-PEDROSO, C. 1993 *Toxicidade crônica de amostras ambientais do canal de São Sebastião e de substâncias puras a Mysidopsis juniae (Crustacea: Misidacea)*. São Carlos. 171f. (Dissertação de

- Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo).
- BOND-BUCKUP, G. e BUCKUP, L. 1995 *Os crustáceos do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre. UFRGS. 632p.
- CLUTTER, R.I. e THEILACKER, G.H. 1971 Ecological efficiency of a pelagic mysid shrimp; estimates from growth, energy budget, and mortality studies. *Fishery Bulletin*, 69(1): 93-115.
- GAMA, A.M.S. e ZAMBONI, A.J. 1999 Aspectos da biologia e do cultivo de *Metamysidopsis elongata atlantica* para uso em testes de toxicidade. *Nauplius*, 7: 127-139.
- IGARASHI, M.A. 2010. Situação atual e o potencial para o desenvolvimento do cultivo de polvo no Brasil. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, 8(4): 417-427.
- LAVENS, P. e SORGELOOS, P. 1996 *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper, 361, FAO, Rome. 361p.
- LÉGER, P.; BENGTON, D.A.; SIMPSON, K.L.; SORGELOOS, P. 1986 The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanography and Marine Biology: an annual review*, 24: 521-623.
- LÉGER, P.; JOHNS, M.D.; SORGELOOS, P. 1987 Description of standard bioassay with the marine crustacean *Mysidopsis bahia* for the evaluation of the nutritional effectiveness of *Artemia* nauplii and metanauplii. *Ecology, Culturing, use in Aquaculture*, 3: 395-410.
- NIPPER, M.G. e WILLIAMS, E.K. 1997 Culturing and toxicity testing with the New Zealand Mysid *Tenagomysis novae-zealandiae*, with a summary of toxicological research in this group. *Australian Journal of Ecology*, 3: 117-129.
- PONTES, C.S. e ANDREATTA, E.R. 2003 Efeito da oferta de nauplius de *Artemia franciscana* enriquecidos com ácidos graxos poliinsaturados sobre o desenvolvimento do pós-larva do camarão marinho *Farfantepenaeus paulensis*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(6): 1544-1550.
- PRÓSPERI, V.A. 1993 *Aplicação de testes de toxicidade com organismos marinhos para análise de efluentes industriais lançados em áreas estuarinas*. São Carlos. 120f. (Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo).
- PRÓSPERI, V.A.; NIPPER, M.; BURATINI, S.V. 1994 *Desenvolvimento de metodologia de cultivo e testes de toxicidade com organismos marinhos*. Relatório Técnico. CETESB, SP. 20p.
- REYNIER, M.V. 1996 *Aspectos do ciclo de vida de *Mysidium gracilie* (Dana, 1852) (Cristacea-Mysidacea) e um estudo sobre a sua adequação para testes de toxicidade com hidrocarbonetos*. São Carlos. 94f. (Dissertação de Mestrado. Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo).
- SORGELOOS, P. e PERSOONE, G. 1975 Technological improvements for the cultivation of invertebrates as food for fishes and crustaceans: hatching and culturing of the brine shrimp, *Artemia Salina*. *Aquaculture*, 6: 303-317.
- SORGELOOS, P. e LÉGER, P. 1992 Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and prawn. *Journal of the World Aquaculture Society*, 23(4): 251-263.
- STOTTRUP, J.G. e MCEVOY, L.A. 2003 *Live feeds in marine aquaculture*. Blackwell Publishing, Oxford. 318p.
- TAMARU, C.S.; AKO, H.; PANG, L. 1999 Enrichment of *Artemia* for use in freshwater ornamental fish production. *Center for Tropical and Subtropical Aquaculture*, 133: 21p.
- USEPA 2002 *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms*. Washington DC. Office of water. 464p.
- WATANABE, T.; OOWA, F.; KITAJIMA, C.; FUJITA, S.; YONE, Y. 1980 Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia salina* and their content of highly unsaturated fatty acids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46: 35-41.
- ZAR, J.H. 1996 *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 718p.