

EXPERIMENTOS DE CULTURA DO ROTÍFERO *Brachionus calyciflorus* VISANDO SUA UTILIZAÇÃO NA AQUICULTURA DE ÁGUA DOCE

(Culture experiments of the rotifer *Brachionus calyciflorus* for use in freshwater aquaculture)

Katia DE LUCA^{1,3}
Suzana SENDACZ²
Edison KUBO²

RESUMO

Com a finalidade de obter uma metodologia simplificada para a produção massal do rotífero de água doce *Brachionus calyciflorus* visando sua utilização como alimento nas criações intensivas de larvas de peixe, foram desenvolvidos experimentos de cultivo desses organismos "in vitro". Testou-se um meio de cultura para o desenvolvimento dos rotíferos e usou-se como fonte alimentar para os mesmos a alga unicelular *Chlorella homosphaera*. Estabeleceu-se a relação entre a densidade óptica e o número de células por unidade de volume, representada pela equação: $\Delta \log_2 A+10 = 1,1925 \Delta \ln+1,0083$, com um coeficiente de correlação igual a 0,9954. A produção diária de rotíferos foi maior por volta do 18º dia de cultivo, oscilando entre $0,3 \times 10^4$ e $11,0 \times 10^4$ rotíferos/dia.

PALAVRAS-CHAVE: rotíferos, *Brachionus calyciflorus*, cultura, alimentação

ABSTRACT

"In vitro" culture experiments of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* were carried out to obtain a simplified methodology of production, aiming its utilization as food for fish larvae. It was tested a culture medium for the development of the rotifers, which were fed with the unicellular algae *Chlorella homosphaera*. The relation between the optical density and the number of cells by unity of volume is represented by the equation:

$$\Delta \log_2 A+10 = 1,1925 \Delta \ln+1,0083 \quad (r = 0,9954)$$

The daily production was higher around the 18th day of culture, and ranged between $0,3 \times 10^4$ and $11,0 \times 10^4$ rotifers/day.

KEY-WORDS: rotifers, *Brachionus calyciflorus*, culture, feeding

1. INTRODUÇÃO

As pesquisas de métodos de cultura de plâncton, visando à alimentação de larvas de peixes, são de grande importância para o desenvolvimento da piscicultura, na tentativa de melhorar e tornar economicamente viável essa atividade no país.

Os rotíferos constituem um dos principais componentes do zooplâncton lacustre; esse grupo de organismos vem sendo muito utilizado atualmente como alimento vivo

em aquicultura devido, entre outros fatores, ao significativo teor protéico, ao curto ciclo de vida e por minimizarem a contaminação bacteriana da água, uma vez que representam uma fonte de matéria orgânica viva. A contaminação bacteriana da água é um problema freqüente quando são utilizadas partículas de matéria orgânica (ração) como alimento, impedindo ou limitando o crescimento das larvas de

(1) Bióloga-Estagiária do Instituto de Pesca-Bolsista de Aperfeiçoamento do CNPq

(2) Pesquisador Científico- Seção de Limnologia- Divisão de Pesca Interior- Instituto de Pesca - CPA/SAA

(3) Endereço/Address: Av. Francisco Matarazzo, 455-CEP 05031- São Paulo-SP

peixes (CRUZ & MILLARES, 1974).

Das três espécies de *Brachionus* usadas em aqüicultura, *B. rubens*, *B. calyciflorus* e *B. plicatilis*, a última é a mais largamente utilizada em criações de peixes marinhos e larvas de camarão, devido à sua tolerância às condições do ambiente marinho. Em aqüicultura de água doce, *B. rubens* e *B. calyciflorus* foram propostos como alimento para larvas de peixes (SCHLUTER & GROENEWEG, 1981) e seu limitado uso deve-se, provavelmente, à utilização de ração como fonte de alimento para tais larvas (LUBZENS, 1987) e à inexistência de uma tecnologia que permita a produção de organismos planctônicos em grande escala.

O uso de rotíferos como alimento vivo

para a criação de pequenas larvas de peixes foi introduzido por pesquisadores japoneses (Hirano, 1969, apud SCOTT & BAYNES, 1978). Os rotíferos são vistos como cápsulas de alimento vivo, que fornecem suprimento adequado de macro e micronutrientes, vitaminas ou até antibióticos para larvas de peixes (Gatesoupe, 1982, apud LUBZENS, 1987).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia simples para o cultivo "in vitro" de *Brachionus calyciflorus*, para uma posterior cultura em massa. Esta espécie foi escolhida pelo fato de ser comumente encontrada em corpos d'água doce em geral, sendo facilmente coletada e isolada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Cultura da alga

Para a alimentação dos rotíferos foi utilizada a alga clorofícea *Chlorella homosphaera* Beijerinck, 1980. Para o seu cultivo foi utilizado o meio de cultura Myer's 4N, com pequenas alterações efetuadas por TANJI, MISHIMA & POZZI (1983).

A alga foi cultivada em balões volumétricos de 2000 ml de capacidade, mantidos no laboratório com iluminação natural e aeração vigorosa, constante, com bomba de ar.

A densidade numérica da cultura foi avaliada de duas maneiras: a) contagem de uma amostra, retirada diariamente da cultura previamente homogeneizada, em câmara de Sedgewick-Rafter, sob microscópio óptico; b) contagem de uma amostra concentrada e de cinco diluídas nas proporções 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 e 1/32, fixadas em igual volume de solução de Transeau e

gotas de lugol; cada amostra foi submetida a duas subamostragens de 10 ml, sendo as contagens realizadas em microscópio invertido, após quarenta e oito horas de sedimentação. Foi estipulada a contagem das células de *Chlorella* encontradas em transecto correspondente ao diâmetro da cubeta, delimitado com o auxílio do retículo de Whipple na ocular. Para o cálculo final do número de células encontradas por unidade de volume, foi utilizada a fórmula de WELCH (1948),

$$N = \frac{nAc}{t (At) Vc}, \text{ onde:}$$

N= número de células por unidade de volume (células / ml)

n= número total de células contadas no transecto

Ac= área da cubeta (4,909 cm²)

t= número de transectos (1)

Vc= volume da subamostra (10 ml)

At= área do transecto (0,040 cm²)

Em ambos os métodos de contagem foi medida a porcentagem de transmitância de cada amostra da cultura com ajuda de espectrofotômetro Spetronic 70, Bauch & Lomb, no comprimento de onda de 660 nm. Os valores obtidos em transmitância foram convertidos para unidades equivalentes de absorvância (densidade óptica), na tentativa de estabelecer uma relação entre esta e a densidade numérica, avaliada através das contagens.

Foram efetuadas medidas diárias da temperatura e pH da cultura, mantido entre 6 e 8 através da edição de KOH (10%) ou H₂SO₄ (5%).

Cultura do rotífero

Os exemplares de *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766 foram coletados no lago do Clube de Campo Jaraguá, situado na região oeste da cidade de São Paulo (SP).

Para o cultivo dos rotíferos foi utilizado o sistema de água parada. Os exemplares coletados foram colocados inicialmente em béqueres de 80 ml, com meio de cultura inorgânico, modificado de HALBACH & HALBACH-KEUP (1974) (TABELA 1), e algas na concentração de $1,0 \pm 0,5 \times 10^6$ células ml⁻¹.

A cada dois dias a cultura era trans-

ferida para béqueres maiores (200 ml), com meio de cultura de rotíferos renovado e *Chlorella*, na mesma concentração de $1,0 \pm 0,5 \times 10^6$ células ml⁻¹.

A contagem dos rotíferos foi realizada "in vivo", diariamente.

As culturas foram mantidas no laboratório, sob condições naturais, tendo sido medidos, diariamente, a temperatura e o pH. Foram desenvolvidas quatro culturas experimentais (A, B, C e D), todas com o mesmo procedimento.

Alguns frascos de cultivo foram deixados sob iluminação artificial constante, por alguns dias, a fim de verificar a influência do fotoperíodo no desenvolvimento dos rotíferos.

TABELA 1

Composição do meio de cultura usado para rotíferos [modificado de HALBACH & HALBACH-KEUP (1974)]

Componentes	Quantidade
KNO ₃	0,01 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,12 g
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,05 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,06 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	0,05 g
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,10 g
H ₂ O destilada	1,00 L

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cultura da alga

A alga *Chlorella* é de pequeno tamanho. Seu diâmetro varia de alguns micrômetros a 20 µm, no máximo. Várias espécies de *Chlorella* têm sido cultivadas ultimamente para serem usadas como alimento em diversos experimentos, principalmente devido à facilidade de cultura e à rapidez de seu crescimento

(BOURRELY, 1972).

O pH da cultura foi mantido entre 6,0 e 8,0 durante todo o experimento e a temperatura acompanhou a variação da temperatura ambiente, que permaneceu em 20 °C ± 5 °C, durante o dia. A temperatura noturna não foi registrada.

Em altas temperaturas, o desenvolvimento da alga é muito rápido, mas a adição de nutrientes favorece o desenvolvimento

de protozoários que inibem o crescimento de *Chlorella* (ROTHBARD, 1979). Dessa forma, a manutenção da cultura da alga em temperatura ambiente minimizou o problema do desenvolvimento de protozoários, sem afetar o seu crescimento.

As FIGURAS 1 e 2 mostram a existência de uma proporcionalidade direta entre a densidade óptica e o número de células por unidade de volume em relação às sucessivas diluições da cultura de algas. Estas, enquanto soluções coloridas, obedecem à lei de Beer.

cem à lei de Beer.

O teste de diluição possibilitou o estabelecimento de uma curva padrão relacionando a densidade óptica com o número de células por unidade de volume, com base nos trabalhos de Sorokin (1973), apud BIANCHINI; VIEIRA & TOLEDO (1985) (FIGURA 3); utilizaram-se os valores apresentados na FIGURA 2, onde

$$\Delta \ln = \ln N - \ln N'$$

$\ln N$ = logaritmo natural do número de células/ml

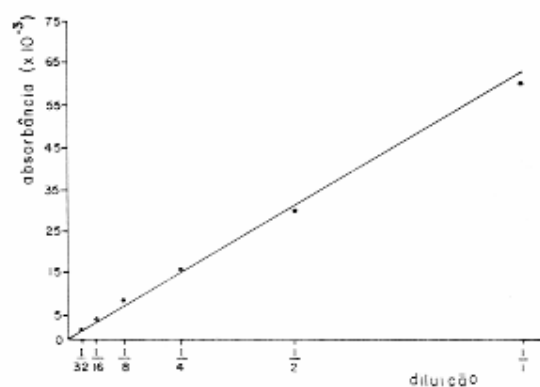


FIGURA 1 - Variação da densidade óptica, determinada em comprimento de onda de 660 nm, com relação às sucessivas diluições da cultura de *Chlorella homosphaera*

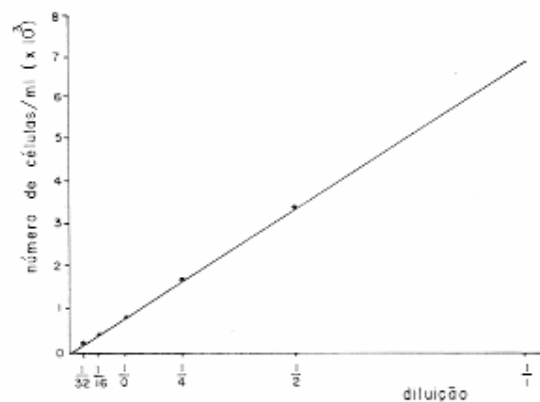


FIGURA 2 - Variação do número de células por unidade de volume (cel/ml) com relação às sucessivas diluições da cultura de *Chlorella homosphaera*

$\ln N'$ = logaritmo natural do número de células/ml, equivalente a $T = 99\%$ (ou $A = 0,0044$)

$$\Delta \log_2 A + 10 = (\log_2 A + 10) - (\log_2 A' + 10)$$

$\log_2 A$ = logaritmo, na base 2, da absorbância

$\log_2 A'$ = logaritmo, na base 2, da absorbância, igual a 0,0044 (ou $T = 99\%$)

A relação obtida entre a densidade óptica e o número de células por unidade de volume pode ser expressa pela seguinte equação:

$$\Delta \log_2 A + 10 = 1,3161 \Delta \ln + 0,4469,$$

com um coeficiente de correlação igual a 0,9987 (FIGURA 3).

Os resultados das contagens diárias feitas em câmara de Sedgewick-Rafter também mostraram uma correlação direta do número de células por unidade de volume com os respectivos valores de absor-

bância (FIGURA 3).

Adotando o mesmo procedimento anterior, foi construída a curva padrão (FIGURA 4) para os valores obtidos nas contagens diárias (FIGURA 3). A equação obtida relacionando a densidade óptica com o número de células por unidade de volume é a seguinte:

$$\Delta \log_2 A + 10 = 1,1925 \Delta \ln + 1,0083,$$

com coeficiente de correlação igual a 0,9954.

Uma vez estabelecida a relação entre densidade óptica e número de células por unidade de volume, apenas a absorbância de uma amostra da cultura era medida diariamente. A partir deste valor, foi calculado, utilizando-se a segunda equação, o número de células de *Chlorella* presentes na cultura, por unidade de volume (FIGURA 4).

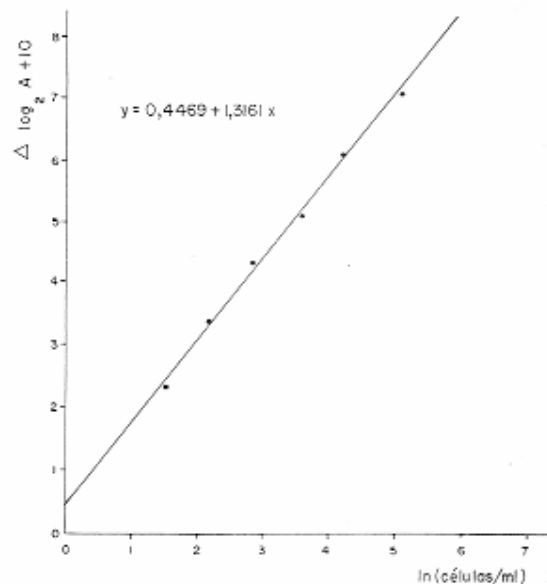


FIGURA 3 - Curva padrão relacionando a densidade óptica e o número de células de *Chlorella homospheera* contadas nas amostras de teste de diluição

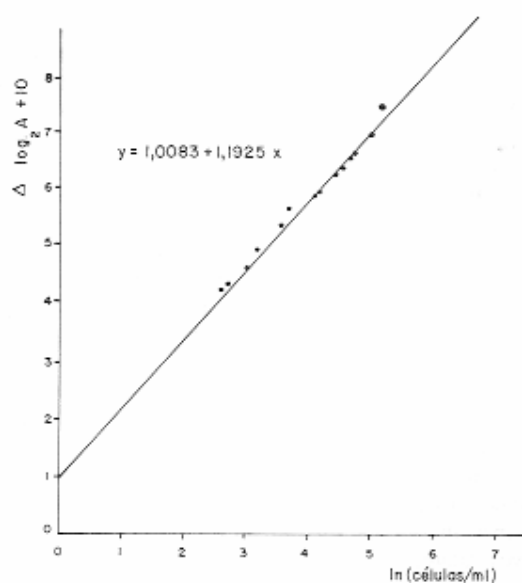


FIGURA 4 - Curva padrão relacionando a densidade óptica e o número de células contadas diariamente, de amostras da cultura de *Chlorella homophana* em desenvolvimento

Cultura do rotífero

a) Sistema de cultivo

Para o cultivo de organismos aquáticos podem ser utilizados dois sistemas: água parada e água circulante.

Na utilização do sistema de água parada, as células planctônicas, que constituem o alimento, diminuem progressivamente ao serem consumidas pelo organismo cultivado, o que obriga à adição de alimento e a um aumento de volume.

Quanto ao uso do sistema de água circulante, é necessário criar uma barreira que impeça a fuga dos organismos cultivados. No caso particular dos rotíferos, isso é difícil, devido ao seu pequeno tamanho (CRUZ & MILLARES, 1974).

A opção por uma cultura de rotíferos com sistema de água-parada foi acompa-

nhada de uma preocupação com a manutenção da qualidade da água. Os produtos de excreção produzidos pelos rotíferos (uréia, amônia, fosfato) e o alimento não ingerido, que contribuem para a deterioração da qualidade da água, foram eliminados a cada dois dias, durante a transferência da cultura para outro recipiente.

b) Alimentação

O rotífero *Brachionus* é um organismo filtrador, podendo utilizar-se de diversas formas de alimento, tais como algas, bactérias e fungos. Quanto ao tamanho das partículas ingeridas, foi verificada uma correlação direta entre tamanho do corpo e tamanho máximo das partículas (Hino & Hirano, 1980, apud LUBZENS, 1987).

Segundo POURRIOT (1977), partículas de até 18 μm de diâmetro podem ser ingeri-

das por *Brachionus calyciflorus*. Esse autor constatou que a espécie tem preferências alimentares, com diferenças entre populações. Foi demonstrada forte preferência por Euglenales, Volvocales, Chlorococcales e fraca por detritos, com ou sem bactérias.

A taxa de filtração em *Brachionus calyciflorus* foi determinada por Erman (1962), apud SEAMAN et alii (1986), que usou como alimento células de *Lagerheimia*.

HALBACH & HALBACH-KEUP (1974), usando *Chlorella pyrenoidosa* como alimento para *Brachionus calyciflorus* numa densidade entre $0,05 \times 10^6$ e $5,00 \times 10^6$ células ml^{-1} , observaram que a taxa de filtração variou com a concentração de alimento. Seus dados mostraram um pico na taxa de filtração (com temperatura entre 19 °C e 21 °C) quando a densidade do alimento era 5×10^5 células ml^{-1} (taxa: $3,40 \pm 0,12 \mu l$ animal $^{-1} h^{-1}$) e um valor mínimo (taxa: $0,59 \pm 0,01 \mu l$ animal $^{-1} h^{-1}$) em altas concentrações de células. Esses autores constataram um declínio, ao invés de um platô, nas taxas de ingestão de algas em suspensões muito densas.

Já, STARWEATHER (1980) observou que a taxa de ingestão aumenta com o aumento da densidade de células alimentares em suspensões de concentrações baixas e moderadas. Em preparações densas, a taxa de ingestão do rotífero atinge um valor máximo e mantém-se constante.

Uma variedade de mecanismos foram propostos para explicar a progressiva ou ocasionalmente abrupta redução das taxas de filtração dos rotíferos com o aumento da densidade de alimento. A causa imediata destas mudanças pode ser a saturação do aparelho filtrador (HALBACH & HALBACH-KEUP, 1974) ou a inibição da atividade da coroa ciliar (Erman, 1956, apud STARWEA-

ATHER, 1980). Tais mecanismos reguladores podem também ser induzidos por fatores nutricionais, como redução na eficiência de assimilação devido a uma rápida passagem do alimento pelo tubo digestivo, ou inibição direta da coroa ciliar por toxinas de algas, fungos, bactérias ou metabólitos (HALBACH & HALBACH-KEUP, 1974). É possível também que os rotíferos possam sentir diretamente a densidade de células, através da frequência de contatos, e modular a alimentação em resposta a este estímulo (STARWEATHER, 1980).

Segundo Hirayama et alii (1973), Lubzens (1981) e Snell et alii (1983), apud LUBZENS (1987), a taxa reprodutiva e a sobrevivência de *Brachionus plicatilis* dependem da concentração de alimento no meio de cultura.

A concentração de células de *Chlorella homosphaera* colocada nos frascos de cultivo de *Brachionus calyciflorus* nesse experimento, $1,0 \pm 0,5 \times 10^6$ células ml^{-1} , foi considerada ideal por HIRAYAMA; WATANABE & KUSANO (1973) para *Brachionus plicatilis*. Pelos resultados obtidos, pode-se supor que a concentração utilizada não afetou o sistema filtrador dos rotíferos e tampouco representou um fator limitante para o desenvolvimento das culturas.

c) Potencial hidrogeniônico

A influência do pH na cultura de rotíferos foi estudada por SCHLUTER (1980). Esse autor manteve culturas de *Brachionus rubens* em valores de pH entre 3,0 e 11,0. Após seis dias de incubação, as maiores densidades de rotíferos foram encontradas em pH de 6,0 a 8,0, sendo que nenhum rotífero sobreviveu em valores de pH acima de 9,5 e abaixo de 4,5. Neste experimento, o pH nos frascos de cultivo foi mantido entre 6,0 e 8,0, podendo-se concluir que, provavelmente, não houve interferência

negativa do mesmo no desenvolvimento dos organismos.

d) Temperatura

A temperatura é um dos principais fatores que afetam os parâmetros populacionais, como taxa de nascimento e de crescimento. Antes de 1967, King (1967), apud GALKOVSKAYA (1987), concluiu que a taxa de nascimento da população de rotíferos é mais influenciada, inicialmente, pela temperatura e, depois, pela quantidade e qualidade de alimento. Essa conclusão foi confirmada posteriormente por vários autores, como Halbach (1970), Hillbricht-Ilkowska & Pourriot (1970), Galkovskaya (1979) e outros, apud GALKOVSKAYA (1987).

No presente experimento, como a cultura foi mantida em condições naturais, não houve um controle rígido sobre a temperatura. As variações registradas corresponderam às variações da temperatura ambiente que permaneceu, durante o dia, em torno de $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

A temperatura também afeta a composição bioquímica dos rotíferos. A 18°C , os rotíferos consomem seu alimento lentamente e matêm relativamente altos níveis de lipídios e carboidratos por um longo período de tempo. A 28°C , o alimento é consumido rapidamente e a composição dos rotíferos também muda rapidamente quando acaba o alimento (SCOTT & BAYNES, 1978).

e) Oxigênio dissolvido

Em relação a *Brachionus rubens*, SCHLUTER (1980) verificou que a reprodução não foi afetada por baixos valores de O_2 dissolvido (1 a 2 mg/l). Em nossos experimentos, uma vez que as culturas foram mantidas sem aeração, provavelmente o teor de O_2 não afetou o desenvolvimento da criação de rotíferos.

f) Fotoperíodo

Algumas culturas de rotíferos, desenvolvidas durante os meses de inverno, quando a temperatura caía muito, principalmente à noite, foram deixadas com iluminação artificial direta e constante por vários dias, na tentativa de impedir que a temperatura caísse muito. Essas culturas não conseguiram desenvolver-se bem, chegando a apresentar grande número de ovos de resistência e altas taxas de mortalidade.

Segundo POURRIOT (1980), o fotoperíodo é de grande importância na regulação do comportamento reprodutivo dos rotíferos em cultura, controlando a indução de reprodução sexuada e a eclosão de ovos de repouso. Neste experimento, tanto a temperatura quanto o fotoperíodo podem ter interferido negativamente.

g) Desenvolvimento das culturas

No início do experimento foi verificado que *Brachionus calyciflorus* não se desenvolvia bem e, em alguns casos, não sobrevivia em 100% de meio de cultura de algas. De acordo com HALBACH & HALBACH-KEUP (1974), o meio da alga é tóxico para rotíferos. A tentativa de diluição da alga em água destilada não apresentou resultados satisfatórios (TABELA 2), sendo que a cultura só se desenvolveu bem com a utilização de um meio próprio para rotíferos, proposto por HALBACH & HALBACH-KEUP (1974) e utilizado nesse estudo com algumas alterações.

Os resultados do desenvolvimento populacional nos frascos de cultivo são apresentados na TABELA 3, onde

- número de indivíduos da cultura = N

- velocidade de crescimento:

$$K = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$

- tempo de duplicação (T) = $\ln 2 / K$
- produção diária (PD) = $(N_2 - N_1) / (t_2 - t_1)$

Apesar de não ter sido feito nenhum tratamento diferencial nos frascos de cultivo, foram observadas grandes variações no número de rotíferos e na produção diária, o que resultou em diferentes curvas de desenvolvimento populacional. Porém, em todas as culturas o pico foi atingido praticamente no mesmo período (FIGURA 5). Na TABELA 3 encontra-se o desempenho

TABELA 2

Desenvolvimento de culturas do rotífero *Brachionus calyciflorus* em meio inorgânico próprio para rotíferos (frasco 1) e em água destilada (frasco 2), ambas com a mesma concentração de algas por unidade de volume

Dias de cultivo	Número de rotíferos	
	frasco 1	frasco 2
0	50	50
1	7	25
2	300	25
3	867	117
4	2367	117
7	3067	67
8	3433	67
9	9800	33
11	17750	0

comparativo das culturas A, B, C e D.

O número máximo de rotíferos obtidos nas culturas com um inóculo inicial variando de 22 a 100 indivíduos foi atingido por volta do décimo oitavo dia de cultivo. A partir daí, a densidade da população começou a cair (FIGURA 5).

Já, a produção diária de rotíferos foi maior por volta do décimo oitavo dia de cultivo, tendo sido obtida, com esse método de cultivo, uma produção diária máxima que oscilou entre $0,3 \times 10^4$ e $3,2 \times 10^4$ rotíferos/dia, em uma das culturas (cultura C); no entanto, foi atingido $11,0 \times 10^4$ rotíferos/dia (TABELA 3).

No decorrer do experimento foram encontradas fêmeas com oito ovos ou mais ligados ao corpo. LUBZENS; FISHLER & BERDUGO-WHITE (1980) verificaram em *Brachionus plicatilis*, que fêmeas com três ou mais ovos dão origem a fêmeas míticas ou amíticas, enquanto que fêmeas com vários ovos pequenos produzem somente machos. Segundo POURRIOT & SNELL (1983), fatores externos e internos regulariam a produção de fêmeas míticas; os fatores externos seriam fotoperíodo, densidade da população, aspectos qualitativos e quantitativos da dieta, e os internos, idade da fêmea e genótipo. Em relação a *Brachionus calyciflorus* e *B. rubens*, esses autores verificaram que a idade das fêmeas

TABELA 3

Comparação entre as densidades populacionais do rotífero *Brachionus calyciflorus*, obtidas nas culturas A, B, C e D

Cultura	Nº inicial de rotíferos	Nº final de rot.	Tempo da cultura (dias)	K (rot./dia)	T (dias)	Prod. diária (rot./dia)	Prod. diária máxima (rot./dia)
A	100	47600	18	0,34	2,03	2638,9	15700
B	100	64000	17	0,38	1,82	3758,8	32000
C	67	213000	18	0,45	1,53	11829,6	110050
D	22	13000	19	0,34	2,03	683,1	3280

era inversamente relacionada à proporção de fêmeas míticas produzidas.

Em nossas culturas, fêmeas míticas ocorreram provavelmente quando a população de rotíferos atingiu altas densidades, sendo comum a presença de machos (bem menores que as fêmeas), assim como de fertilização, evidenciada pela presença de ovos de repouso. Segundo SEAMAM et alii (1986), quanto maior a produção de fêmeas míticas, menor seria a capacidade da população crescer em pouco tempo.

As variações nas proporções entre fêmeas amíticas e míticas poderiam ter influenciado o desempenho das populações de rotíferos em nossas culturas, ocasionando, talvez, os diferentes picos observa-

dos na FIGURA 5.

Apesar do cultivo ter sido desenvolvido a partir de inóculos pequenos e sob condições ambientais naturais, os resultados foram satisfatórios em termos de uma produção inicial em pequena escala, na qual foi utilizada uma metodologia relativamente simples, porém, sem deixar de levar em conta aspectos importantes da fisiologia, alimentação e ciclo de vida dos rotíferos. Por outro lado, a manutenção de culturas em pequena escala, "in vitro", é de fundamental importância para o início de uma produção em maior escala, atendendo às necessidades da demanda de alimento nos tanques de criação de larvas de peixes.

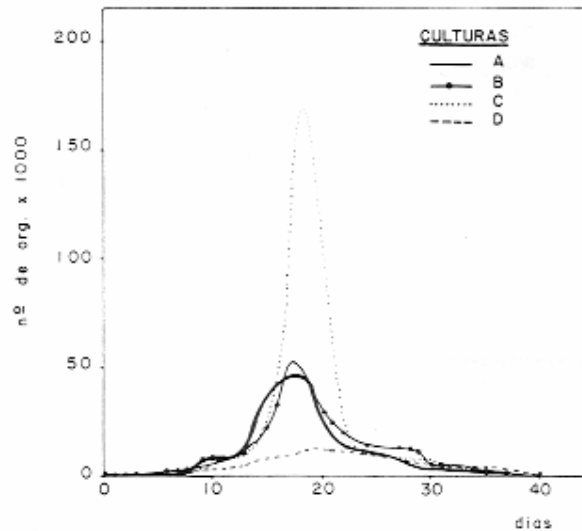


FIGURA 5 - Curvas de crescimento da população de *Brachionus calyciflorus*, nas culturas A, B, C e D

4. CONCLUSÕES

- O cultivo de rotíferos "in vitro" pode produzir número de indivíduos suficiente para o início de uma produção e utilização em grande escala.

- A utilização de um meio inorgânico próprio para rotíferos mostrou ser altamente eficiente, uma vez que, se colocados diretamente na cultura de algas ou na água des-

tilada, os resultados obtidos não são satisfatórios.

- É possível obter uma produção em altas taxas reprodutivas sob condições naturais, "in vitro", a partir de inóculos pequenos, controlando-se o suprimento alimentar, a temperatura e o fotoperíodo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIANCHINI JR., I.; VIEIRA, A. A. H. & TOLEDO, A. P. P. 1985 Colorimetric determination of the number of cells in axenic cultures of *Scenedesmus quadricauda* - a comparison with direct counting. *Hydrobiologia*, 122: 167-70.
- BOURRELY, P. 1972 *Les algues d'eau douce - tome I: Les algues vertes*. Éditions N. Boubée et Cie., Paris, 572 p.
- CRUZ, S. A. & MILLARES, D. N. 1974 Método de cultivo massivo de *Brachionus plicatilis* (Rotifera) a escala experimental. *Investigaciones marinas*, Serie 8 (11): 1-28.
- GALKOVSKAYA, G. A. 1987 Planktonic rotifers and temperature. *Hydrobiologia*, 147: 307-17.
- HALBACH, U. & HALBACH-KEUP, G. 1974 Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der populationsdynamik des Rotators *Brachionus calyciflorus* Pallas Befunde aus Laboratoriumexperimenten und Freilanduntersuchungen. *Arch. Hydrobiol.*, 73: 273-309.
- HIRAYAMA, K.; WATANABE, K. & KUSANO, T. 1973 Fundamental studies on physiology of rotifers for its mass culture. III. Influence of phytoplankton density on population growth. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 39 (11):1123-7.
- LUBZENS, E. 1987 Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 147: 245-55.
- _____; FISHLER, R. & BERDUGO-WHITE, V. 1980 Induction of sexual reproduction and resting egg production in *Brachionus plicatilis* reared in sea water. *Hydrobiologia*, 73: 55-8.
- POURRIOT, R. 1977 Food and feeding habits of rotifers. *Arch. Hydrobiol.*, 8: 243-60.
- POURRIOT, R. 1980 Workshop on culture techniques of rotifers. *Hydrobiologia*, 73: 33-5.
- _____; SNELL, T. W. 1983 Resting eggs in rotifers. *Hydrobiologia*, 104: 213-24.
- ROTHBARD, S. 1979 Practical mass culture of the rotifer *Brachionus calyciflorus* (Muller). *EIFAC Tech Pap. n° 35*, Suppl.1:194-202.
- SCHLUTER, M. 1980 Mass culture experiments with *Brachionus rubens*. *Hydrobiologia*, 73: 45-50.
- _____; GROENEWEG, J. 1981 Mass production of freshwater rotifers on liquid wastes. I. The influence of some environmental factors on population growth of *Brachionus rubens* Ehrenberg 1838. *Aquaculture*, 25: 17-24.
- SCOTT, A. P. & BAYNES, S. M. 1978 Effect of algal diet and temperature on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 14: 247-60.
- SEAMAN, M. T.; GOPHEN, M.; CAVARI, B. Z. & AZOULAY, B. 1986 *Brachionus calyciflorus* Pallas as agent for the removal of *E. coli* in sewage ponds. *Hydrobiologia*, 135: 55-60.
- STARWEATHER, P. L. 1980 Aspects of the feeding behavior and trophic ecology of suspension feeding rotifers. *Hydrobiologia*, 73: 63-72.
- TANJI, S.; MISHIMA, M. & POZZI, R. 1983 Cultivo de *Chlorella ellipsoidea* S-1 em sacos plásticos. *B. Inst. Pesca*, 10 (único): 9-16.
- WELCH, P. S. 1948 *Limnological methods*. 1st Ed., MacGraw-Hill Book Company-Inc., New York, 382 p.