

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

CARLOS HENRIQUE PROFÍRIO MARQUES

**CULTIVO DE ROTÍFEROS, *Brachionus plicatilis*, EM SALINIDADES 10,
20 E 30 ALIMENTADOS COM *Spirulina platensis* VIVA E FILTRADA,
EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

**FORTALEZA-CEARÁ-BRASIL
JUNHO/2010**

CARLOS HENRIQUE PROFÍRIO MARQUES

**CULTIVO DE ROTÍFEROS, *Brachionus plicatilis*, EM SALINIDADES 10,
20 E 30 ALIMENTADOS COM *Spirulina platensis* VIVA E FILTRADA,
EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS**

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Pesca

**FORTALEZA-CEARÁ-BRASIL
JUNHO/2010**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M316c Marques, Carlos Henrique Profírio.

Cultivo de rotíferos, *Brachionus plicatilis*, em salinidades 10, 20 e 30 alimentados com *Spirulina platensis* viva e filtrada, em condições laboratoriais / Carlos Henrique Profírio Marques. – 2010.
39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2010.

Orientação: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias.

1. Cianobactéria. 2. Rotífero. 3. Salinidade. 4. Biomassa. I. Título.

CDD 639.2

CARLOS HENRIQUE PROFÍRIO MARQUES

CULTIVO DE ROTÍFEROS, *Brachionus plicatilis*, EM SALINIDADES 10,20 E 30 ALIMENTADOS COM *Spirulina platensis* VIVA E FILTRADA, EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS.

Monografia submetida ao Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Engenheiro de Pesca, com Área de Concentração em Aquicultura.

Aprovada em ___/___/_____.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Wladimir Ronald Lobo Farias, D.Sc.
Orientador

Prof. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá, D.Sc.
Membro

Prof^a, Kyria Santiago do Nascimento, D.Sc.
Membro

AGRADECIMENTOS

Agradeço por Jesus Cristo ter transformado minha vida, fazendo de mim uma nova criatura, e a todos as pessoas que pregam sua palavra para que outros vivam.

Ao Professor Wladimir Ronald Lobo Farias por ter confiado e me dado a oportunidade de fazer a pesquisa no laboratório de Plânctologia.

A Universidade Federal do Ceará e em especial ao Departamento de Engenharia de Pesca.

A Piscicultura Tanganyika por ter apoiado a fase inicial deste trabalho.

Ao meu Pai Ercílio Marques dos Santos por ter investido durante toda a sua vida nos meus estudos e acreditado em mim.

A minha Mãe Lordeni Alves Profírio por suas orações e conselhos.

A minha Tia Maria Marques dos Santos pelo seu amor.

RESUMO

Cada vez mais a aquicultura torna-se fundamental para os seres humanos como fonte de produção de alimento. Os rotíferos são muito importantes para a larvicultura de peixes e crustáceos, que é uma das fases mais importantes em qualquer criação de organismos aquáticos. O Cultivo em sua maioria é feito com a utilização de microalgas e a seleção da espécie depende da adaptação da mesma às condições locais e também pela qualidade nutricional. O trabalho teve por objetivo avaliar o crescimento da população de rotíferos da espécie *Brachionus plicatilis* em salinidades diferentes e alimentados exclusivamente com *Spirulina platensis*. A produção dessa microalga cianofíceia possui manejo mais simplificado e a quantidade ofertada aos rotíferos foi padronizada, além do que, existem poucos trabalhos com sua utilização e raros utilizando-a viva. O experimento foi realizado em erlenmeyers com volume de 500 mL cada. Foram utilizadas as salinidades 10, 20 e 30, a partir de uma cepa mantida com salinidade 25. A *Spirulina platensis* foi ofertada viva, filtrada e fragmentada em tela de 60 µm. O cultivo de rotíferos iniciou com a concentração de 20 rot./mL e ao final, no quinto dia de cultivo, foram obtidas as concentrações médias de 39,2 rot./mL para a salinidade 30; 82,6 rot./mL para a salinidade 20 e 203,84 rot./mL para a salinidade 10. Com a realização do trabalho, podemos concluir que foi comprovado o efeito positivo no aumento da cultura de rotíferos da espécie *Brachionus plicatilis* com o uso da microalga *Spirulina platensis* viva, sendo a maior densidade de rotíferos encontrada na salinidade 10 e o maior percentual de fêmeas com ovos encontrado na salinidade 30.

Palavras-Chave: Cianobactéria, Rotífero, Salinidade, Biomassa.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Cultivos de *Spirulina platensis* em garrafas de vidro prontos para adição de meio de cultura ou filtragem. **20**
- Figura 2** - Inóculo de rotíferos alimentados com *Sacharomyces cerevisiae* na garrafa A e os cultivos alimentados com *Spirulina platensis* garrafas B, C, D e E. **23**
- Figura 3** - Rotíferos *Brachionus plicatilis*. A esquerda uma fêmea com ovos e a direita uma fêmea sem ovos. **26**
- Figura 4** - Densidades populacionais médias iniciais e finais (rot./mL) dos rotíferos *B. plicatilis* cultivados nas salinidades 10, 20 e 30, alimentados com *S. platensis*. Letras diferentes sobre as barras de erro indicam diferenças significativa ao nível de 1%. **28**
- Figura 5** - Aspecto dos filamentos (tricomatos) de *Spirulina platensis* antes (A) e após a fragmentação pela malha de 60 μm (B). **29**
- Figura 6** - Percentual de fêmeas com ovos nas salinidades 10, 20 e 30, ao final dos cinco dias de cultivo do rotífero *Brachionus plicatilis*, alimentados com *Spirulina platensis*. **29**
- Figura 7** - Comparação do tamanho de um rotífero *Brachionus plicatilis* com os filamentos (tricomatos) de *Spirulina platensis* antes (A) e após a fragmentação pela malha de 60 μm (B). **33**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição do meio de cultivo.	18
Tabela 2 -	Contagens dos rotíferos presentes no inóculo para o início dos cultivos nas salinidades 10, 20 e 30.	25
Tabela 3 -	Volumes utilizados de cada inóculo e número total de rotíferos distribuídos em cada um dos quatro cultivos dos três tratamentos de salinidade.	26
Tabela 4 -	Contagens finais dos rotíferos nos cultivos realizados nas salinidades 10, 20 e 30, após o quinto dia de alimentação com a microalga <i>Spirulina platensis</i> .	27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Biologia e ciclo de vida dos rotíferos	14
2.2 A importância dos rotíferos na aquicultura	15
2.3 As vantagens da spirulina como alimento	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Obtenção do inóculo de <i>Spirulina platensis</i>	18
3.2 Preparo do meio de cultivo	18
3.3 Cultivo da cianofíceia <i>Spirulina platensis</i>	19
3.4 Filtragem das microalgas	20
3.5 Aquisição do inóculo do rotífero <i>Brachionus plicatilis</i>	20
3.6 Preparo da água salgada	21
3.7 Aclimação dos rotíferos	21
3.8 Delineamento experimental	22
3.9 Alimentação dos rotíferos <i>Brachionus plicatilis</i> com a microalga	22
3.10 Parâmetros físico-químicos	23
3.11 Análises estatísticas	24
4 RESULTADOS	25
4.1 Contagem inicial dos rotíferos	25
4.2 Contagem final dos rotíferos	27
4.3 Parâmetros físico-químicos	30
5 DISCUSSÃO	31
6 CONCLUSÃO	36

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de pescado proveniente da aquicultura vem aumentando nos últimos anos e hoje representa cerca de 47% do total de organismos aquáticos consumidos (FAO, 2009).

Um dos estágios em que é necessária uma maior atenção na piscicultura é após o período larval, pois vários fatores, tais como a má qualidade de água, manejo errôneo e enfermidades podem ser mais perigosos do que em qualquer outro estágio de vida, fazendo com que a taxa de mortalidade aumente consideravelmente. (ZANIBONI-FILHO, 2000). Após o consumo do vitelo, a larva transforma-se em uma pós-larva e sua alimentação passa a ser exógena, exigindo principalmente presas vivas como microalgas e zooplâncton, em razão de seu sistema digestivo não estar funcionando completamente. (VILELA; BANDARRA, 2002).

Alimentos artificiais não são atrativos para a maioria das larvas, já que além de serem matérias inertes, podem causar insucesso nas larviculturas, pois se deterioram com facilidade, afetando a qualidade da água e isso favorece o crescimento de bactérias que podem provocar contaminação e morte dos organismos. (YAMANAKA; OBA, 1978).

Desde a década de 60, o uso dos rotíferos como fonte alimentar nas larviculturas, tanto em água doce como salgada, tem sido uma excelente opção já que estes microorganismos possuem um manejo relativamente simples. (DE LA CRUZ; MILLARES, 1974; YÚFERA, 2001). São fontes valiosas de hormônios reguladores e fatores de crescimento, enzimas, minerais, lipídeos, ácidos graxos, aminoácidos e proteínas, tornando-se um substituto de baixo custo para farinha de peixe. (KIBRIA *et al.*, 1997; CRISPIM *et al.*, 1999). Além disso, são fáceis de serem capturados pelas presas e possuem tamanho adequado. (PINTO-COELHO, *et al.*, 1997).

Os rotíferos podem se alimentar de protozoários, bactérias, leveduras, esporos, partículas orgânicas ou ração artificial. (DE LA CRUZ *apud.* GOMES, 1986). Há uma tendência crescente para incluir microalgas no enriquecimento nutricional de rotíferos, pois estas constituem uma

excelente dieta por possuírem, além de outros nutrientes, ácidos graxos essenciais. (DHERT *et al.*, 2001).

De acordo com Piñero-Estrada *et al.*, (2001); Canela *et al.*, (2002), a microalga cianofícea *Spirulina platensis* possui um alto valor nutricional, devido possuir elevados teores de proteínas, vitaminas, carotenóides, minerais e ácidos graxos poliinsaturados. Por outro lado, esta cianobactéria também produz compostos com atividade farmacológica que atuam na estimulação do sistema imunológico, da microbiota intestinal e na prevenção e tratamento de doenças virais. (CHAMORRO *et al.*, 2002).

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o desenvolvimento populacional dos cultivos de rotíferos alimentados apenas com biomassa viva de *Spirulina platensis*. E o objetivo específico identificar em que salinidade 10, 20 ou 30, houve maior crescimento na população.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Biologia e Ciclo de Vida dos Rotíferos

Os rotíferos são invertebrados microscópicos, assim denominados pelo movimento rotacional, feito pelos cílios que estão presentes em uma espécie de coroa, ou corona, localizada na extremidade anterior do animal que, além da função de locomoção, ajuda na alimentação, pois conduz continuamente uma corrente de água em direção boca do rotífero. (KOSTE; SHIEL, 1987). Ao fundo da corona se encontra a boca, onde existe um órgão musculoso, cheio de pinças quitinosas chamado de mástax, cuja função é de triturar o alimento para facilitar a absorção dos nutrientes. Esta espécie de faringe muscular se liga ao estômago, através de um esôfago tubular. O estômago conduz a um intestino, chamado de cloaca, que, logo após, abre-se em um ânus. O corpo é cilíndrico, dividido em uma parte anterior, um tronco e um pé terminal bifurcado, que o animal utiliza para se fixar quando necessário. (WALLACE; SNELL 2001).

Os rotíferos possuem altas taxas de reprodução e um ciclo de vida curto de, aproximadamente, quatro dias. No ambiente natural, quando as condições estão favoráveis, sua população aumenta rapidamente, já que as fêmeas se reproduzem por partenogênese, dando origem a outras fêmeas e os ovos são chamados de ovos de verão. (WALLACE, 1998). Quando as condições ambientais se tornam desfavoráveis, algumas fêmeas produzem ovos menores que dão origem aos machos, através dos espermatozóides os machos fecundam internamente as fêmeas e estas geram ovos com um revestimento mais espesso, chamados de ovos de inverno. Estes ovos são resistentes às baixas temperaturas e dessecação. No entanto, quando as condições voltam a ser favoráveis eclodem dando origem a outras fêmeas que passam a se reproduzir novamente por partenogênese. (RIOJA, 1964).

Os rotíferos são animais cosmopolitas e estão distribuídos nos cinco continentes. (JENKINS; UNDERWOOD, 1998). Atualmente são conhecidas em torno de 2000 espécies, entre animais de água doce e salgada. (WALLACE; SNELL, 2001). De acordo com Wallace (1980),

podem ser sésseis, fixos dentro de cápsulas protetoras ou formando colônias, no entanto, a grande maioria são planctônicos, nadadores solitários de vida livre que permanecem em suspensão, uniformemente, em toda a coluna de água embora May (1989), afirme a existência de um número pequeno de espécies marinhas que podem ser parasitas. O corpo geralmente é transparente, mas dependendo do alimento ingerido, pode adquirir cores com tons alaranjados, castanhos, verdes ou vermelhos. A grande maioria é menor que 1 mm, mas algumas espécies chegam a atingir um comprimento de até 3 mm. (BARNES, 1968).

Existe uma divergência entre os autores em relação à classificação sistemática dos rotíferos. Segundo Rioja *et al.*, (1964), a espécie *Brachionus plicatilis*, por exemplo, foi classificada como pertencente ao Filo Traquelminto; Classe Rotífera, Subclasse Monogononta; Ordem Ploima. Já Storer; Usinger (1967) classificaram o mesmo animal como pertencendo ao Filo Asquelminto; Classe Rotífera; Ordem Monogonata. Atualmente um maior número de autores, sendo esta a tendência atual, os classificam como pertencentes ao Filo Rotífera; Classe Monogononta; Ordem Ploima. (BARNES, 1968; RUSSEL-HUNTER, 1971),

De acordo com Fukusho; Iwamoto (1980 e 1981), a espécie *Brachionus plicatilis* é dividida em duas linhagens dependendo do tamanho do indivíduo, tipo-S de (small) ou de menor tamanho e tipo-L (large) ou de maior tamanho e que podem se alternar dependendo das condições de cultivo utilizado. FUKUSHO; OKAUSHI (1983). O *B. plicatilis* é a espécie de rotífero mais amplamente cultivada e utilizada, por possuir várias vantagens, como sua capacidade de suportar altas densidades, pequeno tamanho, facilidade de captura pelo seu constante movimento na massa d'água, requerimentos alimentares simples, ciclo de vida curto e seu alto valor nutritivo (GILBERTO; MAZZOLA, 1981).

2.2 A Importância dos Rotíferos na Aquicultura

A diminuição dos estoques pesqueiros mundiais está afetando a oferta de pescado no mercado, portanto uma das principais alternativas para esta problemática é a produção de pescado, na qual a piscicultura tem se tornado fundamental. (ONO; KUBITZA, 2003).

Uma nutrição de qualidade e em quantidade adequada é fundamental nas larviculturas, o que aumenta a taxa de sobrevivência e ainda exerce grande influência na obtenção de um plantel de animais saudáveis para as fases posteriores do cultivo. (HAYASHI, 2001). Para se obter melhores resultados nas larviculturas, novas técnicas visam tornar o local de cultivo o mais próximo possível do habitat natural do animal cultivado. (LIMA, 1991).

Atualmente, mais de 60 espécies de peixes marinhos e 18 espécies de crustáceos precisam, em suas larviculturas, de uma oferta segura e adequada de rotíferos com alta qualidade nutritiva. (QI, 2009). Vários estudos mostram o sucesso do uso de rotíferos na alimentação de larvas de peixes e camarões, como nas larviculturas da tainha *Muzil Liza* e dos peneídeos *Penaeus* (m.) *brasiliensis* e *P.* (m.) *paulensis*. (COSTA, s/d). Estudos realizados na alimentação de carpas, *Cyprinus carpio*, resultaram em um crescimento acima do esperado segundo Lubzens (1981), bem como resultados satisfatórios foram obtidos na alimentação de larvas do camarão gigante da Malásia *Macrobrachium rosenbergii*. (SEIXAS FILHO, 1984).

Outra vantagem do uso dos rotíferos nas larviculturas é a de agir como bioencapsuladores, ou seja, ao se alimentarem de microalgas, por exemplo, transferem o conteúdo dos seus intestinos, parcialmente digeridos, para as pós larvas, facilitando a assimilação dos nutrientes. (LUBZENS, 1989; WIKFORS; OHNO, 2001).

2.3 As Vantagens da Spirulina como Alimento

As microalgas possuem um papel muito importante na aquicultura, pois constituem a base da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos e sua utilização tem sido amplamente praticada pelo seu baixo custo de produção em larga escala comparada, por exemplo, com a mesma quantidade de farinha de peixe utilizada nas dietas artificiais. (FERREIRA *et al.*, 2008). Através da fotossíntese, elas utilizam a energia solar para formar compostos orgânicos e produzir

oxigênio, portanto podem agir como uma poderosa ferramenta para o sequestro do CO₂ do meio ambiente, quando cultivadas em larga escala. (HENRIQUES *et al.*, 1998). Além disso, as microalgas podem ser cultivadas nos mais diversos ambientes, já que se adaptam a grandes variações de disponibilidade de nutrientes, temperatura, salinidade e irradiação. (ROSALES *et al.*, 2005; WU *et al.*, 2005).

Em várias regiões do mundo já existe o cultivo e comercialização da biomassa de spirulina, que é produzida, principalmente, a partir do cultivo das espécies *Arthrospira máxima* e *A. platensis*, mais conhecidas como *Spirulina máxima* e *S. platensis*. (ARAÚJO *et al.*, 2003). A Spirulina também possui a vantagem de poder ser coletada e separada do meio de cultivo, através de uma simples filtração, que é uma característica importante para facilitar o uso de uma microalga na aquicultura. (HENSON, 1990).

De acordo com Watanabe *et al.*, (1983), os ácidos graxos poli-insaturados (Poli Unsaturated Fatty Acid - PUFA) tais como o DHA (ácido docosahexaenóico) e o EPA (ácidos eicosapentaenóico) são essenciais para o desenvolvimento das pós larvas de peixes marinhos dos ácidos graxos poli-insaturados presentes na *Spirulina* destacam-se os ácidos gama linolênico e palmítico pois representam 20% e 45%, respectivamente, do total de ácidos graxos presentes na espécie *S. platensis* (COLLA *et al.*, 2004), e rotíferos enriquecidos aumentam seu valor nutritivo, os quais ao serem administrados às pós-larvas podem minimizar os problemas de desenvolvimento das mesmas (VILELA; BANDARRA, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção do Inóculo de *Spirulina platensis*

O inóculo da cianofíceia *S. platensis* foi obtido a partir de um cultivo pré-estabelecido proveniente do Laboratório de Planctologia do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará. O inóculo de 0,5 L foi cultivado até atingir o volume de 3 L, sob temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, iluminância constante de 2.000 Lux e aeração contínua.

3.2 Preparo do Meio de Cultivo

O meio de cultivo utilizado foi preparado com fertilizantes agrícolas comerciais, bicarbonato de sódio e cloreto de sódio (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição do meio de cultivo.

NUTRIENTES	(g/L)
Nitrogênio, Fósforo e Potássio (NPK)	1,0
Superfosfato Triplo	0,1
SAIS	
Cloreto de Sódio (NaCl)	30
Bicarbonato de Sódio (NaHCO ₃)	10

Fonte: Pesquisa do Autor

A água utilizada para o preparo do meio foi obtida do fornecimento urbano e, inicialmente, foi dissolvido o cloreto de sódio, seguido do bicarbonato de sódio que além de fazer o efeito tampão no cultivo também servia como fonte de carbono. Em seguida, os fertilizantes, que serviam como fonte de nitrogênio, fósforo e potássio, foram triturados em liquidificador, macerados e adicionados na água, e o meio foi submetido a uma aeração constante por 24 horas para evaporação de todo o cloro da água, homogeneização dos nutrientes e estabilização do pH. A salinidade do meio de cultivo após a mistura de todos os sais com os fertilizantes ficou em

torno de 40, essa concentração de sal prejudicou a multiplicação de outras espécies de microalgas invasoras, mas a *Spirulina platensis* suportou esta salinidade.

3.3 Cultivo da Cianofíceia *Spirulina platensis*

O cultivo da microalga *S. platensis* foi iniciado transferindo-se 3 L do inóculo para um garrafão de 13 L e, de acordo com o desenvolvimento da cultura, o meio de cultivo foi adicionado gradativamente até completar o volume do recipiente. O acompanhamento do cultivo foi realizado em espectrofotômetro a 680 nm (faixa de leitura da clorofila verde) e sempre que a cultura estava verde escuro e atingia uma absorbância em torno de 0,400, novo meio de cultivo era adicionado, caracterizando um cultivo do tipo estacionário ou “batch”. As vidrarias utilizadas foram previamente autoclavadas e mantidas tampadas com rolhas de algodão envoltas em gaze durante todo o cultivo.

A aeração foi fornecida por uma bomba de ar conectada a mangueiras plásticas e pedras porosas e, para a iluminação, foram utilizadas duas lâmpadas fluorescentes de 20 W, dispostas lateralmente aos cultivos. A iluminância foi avaliada com um luxímetro digital e a salinidade monitorada com um refratômetro portátil.



Figura 1 - Cultivos de *Spirulina platensis* em garrafas de vidro prontos para adição de meio de cultura ou filtragem.

3.4 Filtragem das Microalgas

Quando a densidade celular alcançava valores elevados, com absorvância em torno de 0,400 a cultura passava a ser filtrada, sendo repostado novo meio de cultivo, caracterizando um cultivo semi-contínuo. A filtragem foi realizada através da utilização de uma malha de 60 μm , acoplada a um funil de vidro. A biomassa retida na tela foi lavada com água destilada para retirar o excesso de sal e meio de cultivo antes de ser ofertada aos rotíferos.

3.5 Aquisição do inóculo do rotífero *Brachionus plicatilis*

Os rotíferos *B. plicatilis* foram adquiridos de um cultivo pré estabelecido na Estação de Piscicultura Ornamental Tanganyika, localizada no Município de Aquiraz-CE, onde são mantidos e alimentados com ração artificial. Para isso, os mesmos foram filtrados em tela ou rede de fibra sintética de 60 μm de malha e suspensos em um volume de 500 mL de água com salinidade 25

em uma garrafa de polietileno. No laboratório, os rotíferos foram transferidos para um erlenmeyer de vidro de 1 L, na densidade de 111 rot./mL e alimentados apenas com a levedura *Sacharomyces cerevisiae* obtida comercialmente como fermento biológico. Esta cultura foi mantida no laboratório de Planctologia do DEP/UFC a 28 ± 2 °C, com aeração fraca e foi a cepa utilizada para iniciar os cultivos experimentais.

3.6 Preparo da água salgada

A água salgada utilizada nos experimentos foi preparada adicionando-se sal comum de cozinha à água destilada. Assim, foram adicionadas 10, 20 e 30 g/L de sal para preparar a água salgada nas três diferentes concentrações utilizadas no experimento. A salinidade das soluções foi determinada com o auxílio de um refratômetro e, em seguida, as mesmas foram armazenadas em garrafas de polietileno (PET).

3.7 Aclimação dos rotíferos

Para iniciar as culturas na salinidade 10 foi necessário a aclimação dos rotíferos, *B. plicatilis* suportam variações graduais de salinidade, tanto para mais como para menos (ITO, 1960), e durante um período de dois dias, a salinidade da água foi reduzida em cinco partes/dia até atingir a salinidade 15 e, só então os mesmos foram transferidos para a salinidade 10. Durante toda a aclimação os rotíferos foram alimentados, duas vezes ao dia, uma pela manhã e outra à tarde com fermento biológico. Para as culturas nas salinidades de 30 e 20 não houve necessidade de aclimatar os indivíduos da cepa, já que os mesmos se encontravam na salinidade de 25 e foi necessário modificar a salinidade em cinco partes.

3.8 Delineamento experimental

O experimento constou de 12 culturas que foram realizadas em erlenmeyers com um volume útil de 500 mL, sendo três tratamentos e quatro repetições nas salinidades de 10, 20 e 30. Cada cultivo teve uma duração de cinco dias e foram realizados durante um período de três semanas. Para o início do experimento, os rotíferos foram distribuídos aleatoriamente em cada erlenmeyer na densidade de 20 rot/mL. A determinação da densidade populacional foi realizada através da filtragem de 1 litro da cepa em uma rede de 60 μm . Os rotíferos que ficaram na tela foram lavados com água na salinidade desejada e transferidos para um erlenmeyer de 125 mL, sendo o volume completado para 100 mL com água na mesma salinidade.

Para a contagem, o conteúdo do erlenmeyer foi agitado para homogeneizar bem os rotíferos e, com o auxílio de uma pipeta de vidro, foram retiradas cinco gotas. Cada gota foi colocada em uma lâmina de vidro e adicionada mais 1 gota de formol a 4%. Com o auxílio do microscópio, o número total de rotíferos e a quantidade de indivíduos com ovos foram determinados em cada gota. O número médio obtido da contagem foi extrapolado para o volume de 1 mL (28 gotas), sendo a densidade expressa em rotíferos/mL. E a avaliação do crescimento populacional foi determinado através da taxa de crescimento intrínseca ($\ln N_{\text{final}} - \ln N_{\text{inicial}} / \text{Tempo do cultivo}$), que utiliza o logaritmo neperiano nas contagens iniciais e finais.

3.9 Alimentação dos rotíferos *Brachionus plicatilis* com a microalga

A alimentação dos rotíferos com spirulina viva foi realizada após a filtragem da mesma em malha de 60 μm . A biomassa retida na malha foi lavada com água destilada para remover o excesso de meio de cultivo e posteriormente forçada a passar pela mesma tela, com o auxílio de uma colher e água salgada, para fragmentar a microalga e reduzir o comprimento dos tricomas de *S. platensis* e, assim, facilitar a ingestão dos mesmos pelos rotíferos, que poderia ser dificultada devido à forma filamentosa da microalga. A alimentação foi ofertada uma vez ao dia, as 10:00 h,

e a quantidade de *S. platensis* administrada aos rotíferos, em todo o experimento, foi mantida em 0,150, e monitorada através da absorbância da água da cultura, com o auxílio de um espectrofotômetro no comprimento de onda de 680 nm. Para manter a qualidade da água durante os cultivos, o material aderido ao fundo dos erlenmeyers como os dejetos dos rotíferos, restos alimentares e matéria orgânica eram retirados diariamente. Além disso, no terceiro dia de cada cultivo, foi realizada uma renovação de 50% da água de cada erlenmeyer.



Figura 2 – Inóculo de rotíferos alimentados com *Sacharomyces cerevisiae* na garrafa A e os cultivos alimentados com *Spirulina platensis* garrafas B, C, D e E.

3.10 Parâmetros físico-químicos

O oxigênio dissolvido e a temperatura da água das culturas foram determinados com o auxílio de um oxímetro digital, o pH e a salinidade da água foram obtidos com a ajuda de um

medidor de pH de bancada e um refratômetro portátil, respectivamente. A primeira medição feita no primeiro dia antes da oferta de alimento e as outras medições foram feitas pela manhã, sempre antes da limpeza do fundo, renovação de água ou oferta de alimento.

3.11 Análises estatísticas

Ao final do experimento, as médias totais de rotíferos obtidos de cada um dos três tratamentos foram submetidos a uma análise de variância com fator único (ANOVA) e, posteriormente, ao teste de Tukey no caso de diferença estatística significativa entre os tratamentos. Todos os testes foram realizados ao nível de 5% de significância estatística utilizando o programa BIOSTAT 5.0.

4 RESULTADOS

4.1 Contagem inicial dos rotíferos

A contagem das gotas foi feita a partir de um concentrado de 100 mL, após a filtragem do volume de 1 Litro do inóculo, a Tabela 2 mostra os valores das contagens de rotíferos, por gota, e os valores totais, médios e densidade populacional dos rotíferos (rot./mL), utilizados na distribuição aleatória para o início dos cultivos nas salinidades 10, 20 e 30.

Tabela 2 - Contagens dos rotíferos presentes no inóculo para o início dos cultivos nas salinidades 10, 20 e 30.

Salinidade 10								
Gotas	1	2	3	4	5	Totais	Médias	rot./mL
Fêmeas s/ ovos	24	29	27	25	35	140	28	784
Fêmeas c/ ovos	0	1	4	3	2	10	2	56
Totais	24	30	31	28	37	150	30	840
Salinidade 20								
Gotas	1	2	3	4	5	Totais	Médias	rot./mL
Fêmeas s/ ovos	15	23	19	19	20	96	19,2	537,6
Fêmeas c/ ovos	3	5	4	1	3	16	3,2	89,6
Totais	18	28	23	20	23	112	22,4	627,2
Salinidade 30								
Gotas	1	2	3	4	5	Totais	Médias	rot./mL
Fêmeas s/ ovos	28	23	34	39	32	156	31,2	873,6
Fêmeas c/ ovos	3	2	0	1	1	7	1,4	39,2
Totais	31	25	34	40	33	163	32,6	912,8

Fonte: Pesquisa do Autor

A Tabela 3 apresenta os volumes utilizados da cepa e os totais de rotíferos distribuídos nos cultivos realizados nas salinidades de 10, 20 e 30.

Tabela 3 - Volumes utilizados de cada inóculo e número total de rotíferos distribuídos em cada um dos quatro cultivos dos três tratamentos de salinidade.

Salinidade 10			
Volumes	Fêmeas s/ ovos	Fêmeas com ovos	Total de rotíferos
10 mL	7.840	560	8.400
54 gotas	1.512	108	1.620
Total	9.352	668	10.020
Salinidade 20			
Volumes	Fêmeas s/ ovos	Fêmeas com ovos	Total de rotíferos
15 mL	8.064	1.344	9.408
27 gotas	518	86,4	604,8
Total	8.583	1.430	10.013
Salinidade 30			
Volumes	Fêmeas s/ ovos	Fêmeas com ovos	Total de rotíferos
10 mL	8.736	392	9.128,0
27 gotas	842,4	37,8	880,2
Total de rotíferos	9.578	430	10.008

Fonte: Pesquisa do Autor

Desta forma, foram distribuídos em cada uma das quatro garrafas 10.020 rotíferos para a salinidade 10, 10.013 rotíferos para a salinidade 20 e 10.008 nos cultivos realizados na salinidade 30.

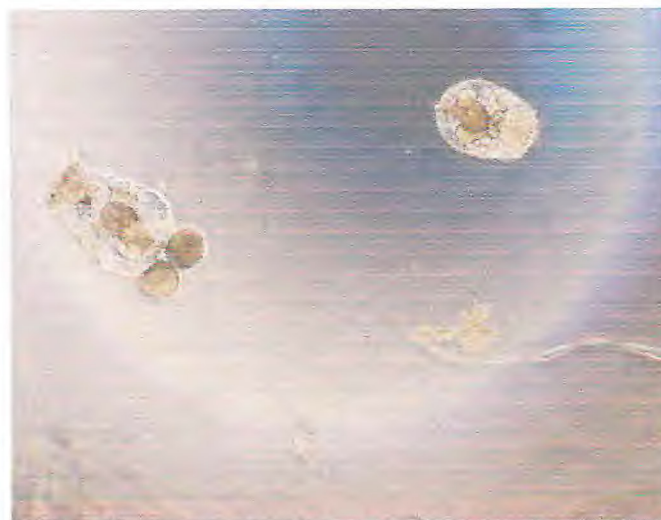


Figura 3 - Rotíferos *Brachionus plicatilis*. A esquerda uma fêmea com ovos e a direita uma fêmea sem ovos

4.2 Contagem final dos rotíferos

Após os cinco dias de experimento, os cultivos realizados nas salinidades 10, 20 e 30, apresentaram totais médios de 101.920, 41.300 e 19.600 rotíferos, respectivamente. Estes valores corresponderam a uma densidade populacional de 203,84; 82,60 e 39,20 rot./mL para as salinidades de 10, 20 e 30 (Tabela 4), e taxas de crescimento intrínsecas de 0,58; 0,36 e 0,16, respectivamente.

Tabela 4 – Contagens finais dos rotíferos nos cultivos realizados nas salinidades 10, 20 e 30, após o quinto dia de alimentação com a microalga *Spirulina platensis*.

Salinidade 10				
Repetições	Fêmeas s/ ovos	Fêmeas c/ ovos	Total de rotíferos	rot./mL
A	71.680	15.680	87.360	174,72
B	82.320	8.400	90.720	181,44
C	114.240	10.080	124.320	248,64
D	90.720	14.560	105.280	210,56
Médias	89.740	12.180	101.920	203,84
Salinidade 20				
Repetições	Fêmeas s/ ovos	Fêmeas c/ ovos	Total de rotíferos	rot./mL
A	24.640	4.480	29.120	58,24
B	42.000	3.360	45.360	90,72
C	28.000	560	28.560	57,12
D	59.360	2.800	62.160	124,32
Médias	38.500	2.800	41.300	82,60
Salinidade 30				
Repetições	Fêmeas s/ ovos	Fêmeas c/ ovos	Total de rotíferos	rot./mL
A	14.000	10.640	24.640	49,28
B	3.920	5.600	9.520	19,04
C	12.880	11.200	24.080	48,16
D	12.880	7.280	20.160	40,32
Médias	10.920	8.680	19.600	39,20

Fonte: Pesquisa do Autor

A análise estatística evidenciou que a densidade populacional final média obtida dos cultivos realizados na salinidade 10 (203,84 rot./mL) foi significativamente superior ($p < 0,01$) das obtidas nos cultivos realizados nas demais salinidades testadas. Já a densidade populacional média final obtida nos cultivos realizados nas salinidades de 20 (82,60 rot./mL) e 30 (39,20 rot./mL) não apresentaram diferença significativa ao nível de 1% (Figura 4).

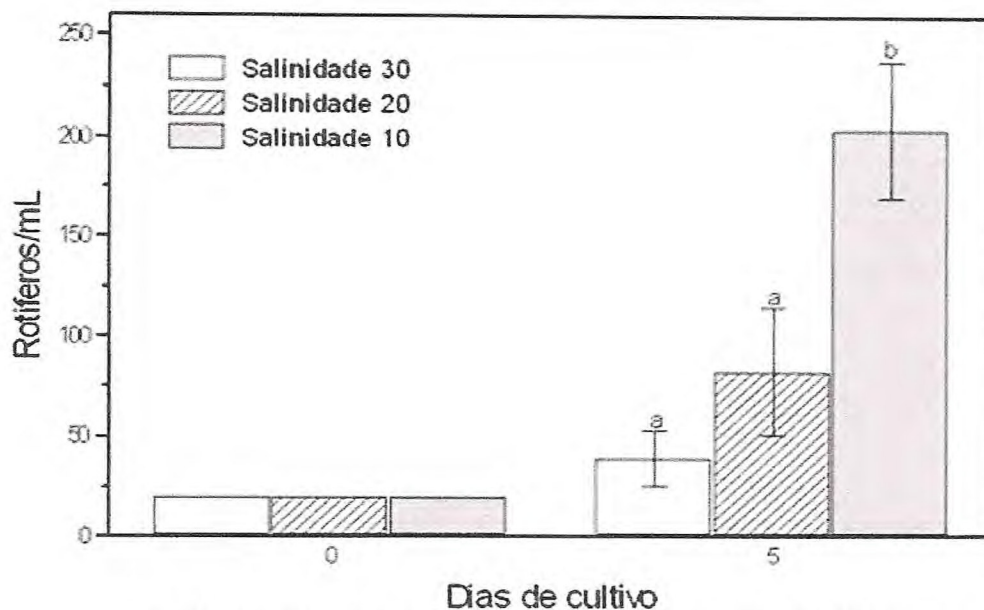


Figura 4 – Densidades populacionais médias iniciais e finais (rot./mL) dos rotíferos *B. plicatilis* cultivados nas salinidades 10, 20 e 30, alimentados com *S. platensis*. Letras diferentes sobre as barras de erro indicam diferenças significativa ao nível de 1%.

Para a salinidade 30 a população dobrou de valor e para a salinidade 20 a população aumentou aproximadamente quatro vezes, assim, ficou evidente o maior crescimento populacional na menor salinidade testada, com a população final chegando a ser mais de dez vezes superior à população inicial. O bom desenvolvimento da população, na melhor condição de salinidade utilizada neste experimento, mostrou também a eficiência do uso da *Spirulina* viva como alimento para os rotíferos. Isto foi possível devido à quebra dos tricomas na malha de 60 μm antes da oferta, pois o grande comprimento inicial dos mesmos poderia dificultar a ingestão por parte dos rotíferos (Figura 5).

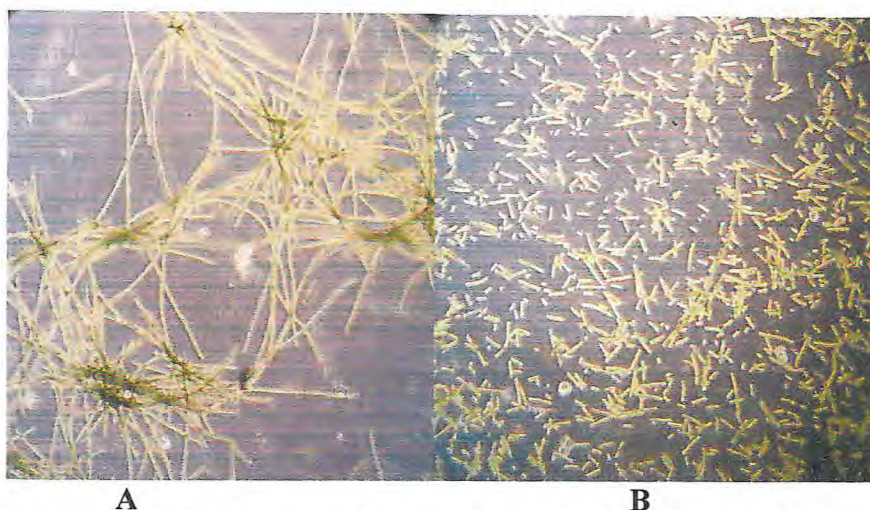


Figura 5 – Aspecto dos filamentos (tricomas) de *Spirulina platensis* antes (A) e após a fragmentação pela malha de 60 µm (B).

Um fato interessante foi observado na contagem diferencial de fêmeas com e sem ovos. Apesar do menor desenvolvimento populacional ter sido obtido nos cultivos na salinidade 30, a proporção de fêmeas com ovos em relação ao total de rotíferos foi significativamente superior no cultivo realizado nesta salinidade (44,28%), enquanto os totais médios obtidos de fêmeas ovadas nas salinidades de 10 (11,95%) e 20 (6,78%) não apresentaram diferença significativa (Figura 6).

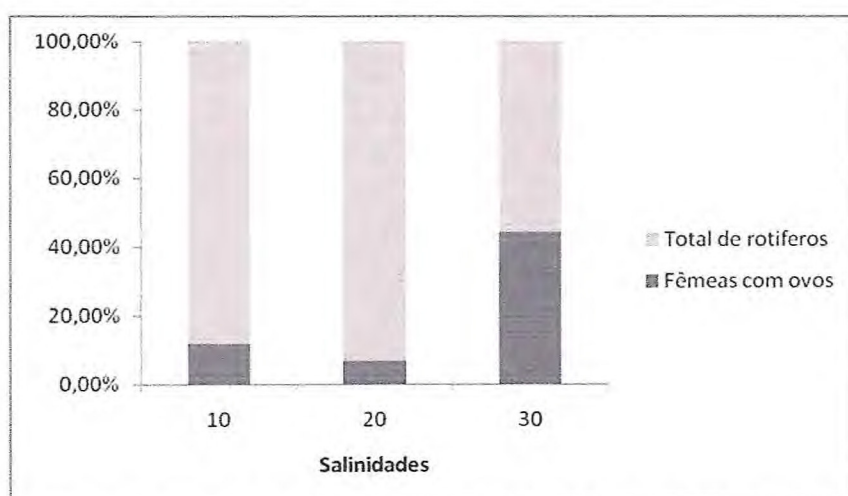


Figura 6 – Percentual de fêmeas com ovos nas salinidades 10, 20 e 30, ao final dos cinco dias de cultivo do rotífero *Brachionus plicatilis*, alimentados com *Spirulina platensis*.

4.3 Parâmetros físico-químicos

Em todos os tratamentos e respectivas repetições, a salinidade não se alterou em relação ao início do cultivo, se mantendo constante até o final dos cinco dias de cultivo. A temperatura variou entre 26,6 e 27,9 °C para o tratamento na salinidade 10, de 26,1 a 28,5 °C no tratamento com salinidade 20 e de 27,8 a 29 °C, no tratamento em salinidade 30. Já os valores de oxigênio dissolvido ficaram entre 4,64 e 5,23 mg/L para os cultivos realizados na salinidade 10, entre 4,10 e 5,33 mg/L para os realizados na salinidade 20 e entre 4,16 e 5,11 mg/L para a salinidade 30. O pH variou de 6,2 a 7,2 na salinidade 10, de 7,0 a 7,2 na salinidade 20 e de 7,0 a 7,1 na salinidade 30.

5 DISCUSSÃO

Neste trabalho os rotíferos da espécie *Brachionus plicatilis* foram cultivados nas salinidades de 10, 20 e 30 em um volume fixo de 500 mL, durante cinco dias, caracterizando um cultivo do tipo estacionário ou “batch” que é o mais comumente utilizado, devido a facilidade de produção de indivíduos. (LUBZENS *et al.*, 2001). O período de 5 dias de cultivo para cada salinidade foi escolhido, pois outros autores obtiveram dados satisfatórios em cultivos de 3 dias. (QI *et al.* 2009).

Algumas das principais características limnológicas da água dos cultivos foram acompanhadas, como a temperatura, a concentração de O₂ dissolvido e o pH. A variação destes parâmetros pode interferir de forma positiva ou negativa no desenvolvimento da população de rotíferos. (ROSSA *et al.* 2007).

De La Cruz *apud.* Gomes (1986), considera como ideais para o cultivo de rotíferos valores de temperatura entre 25 e 33 °C, oxigênio dissolvido próximo da saturação ($\pm 6,0$ mg/L), salinidade de 10 a 40, com um ótimo de 14, e valores de pH ligeiramente alcalinos, variando de 7,8 a 8,3. Durante a realização desse trabalho as variações de temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido ficaram dentro das faixas consideradas aceitáveis pelo autor. Por outro lado, as variações de pH obtidas, nas três salinidades utilizadas, ficaram mais para a faixa neutra e não para ligeiramente alcalina como recomendada pelo autor supracitado. No entanto, este fato não interferiu nos resultados obtidos já que foi praticamente igual para os três diferentes tratamentos.

Dentre as técnicas utilizadas para avaliar a biomassa de rotíferos, a determinação do volume, a pesagem direta, o conteúdo de carbono e a contagem individual dos organismos são as mais conhecidas. É muito importante que cada técnica seja realizada com bastante atenção devido ao pequeno tamanho dos animais, já que pequenas falhas ocorridas durante as determinações podem gerar grandes erros na estimativa de sua biomassa. (PAGGI; PAGGI, 1995). Nesse trabalho, optamos pela técnica de contagem do indivíduos por ser uma das mais precisas e acessíveis. De acordo com Dumont *et al.*, (1975), a técnica de pesagem depende muito da sensibilidade do equipamento utilizado e é realizada com, no mínimo, 5 mg de peso seco, sendo

praticamente impossível a pesagem individual. Por isso esta técnica é mais utilizada para grandes valores de biomassa e segundo Pinto-Coelho (2004), já foi desaconselhada devido ao pequeno tamanho dos indivíduos. O conteúdo de carbono não é freqüentemente utilizado como método de avaliação de biomassa por necessitar da utilização de um analisador de carbono, apesar de ser considerada a ideal (MCCAULEY, 1984). A desvantagem da determinação do volume é a possibilidade de ocorrer erros durante as medições por negligência do próprio observador e também diferenças entre observadores (BOTTRELL *et al.*, 1976).

Os rotíferos foram alimentados com a cianofícea, *Spirulina platensis*, viva e filtrada em malha de 60 µm, já que melhores resultados de cultivo são obtidos com a oferta de microalgas vivas. (LUCIA-PAVÓN; SARMA; NANDINI, 2001; GATESOUBE; LUQUET, 1980). No entanto, estes organismos também podem ser alimentados com dietas especiais. (SUANTIKA *et al.*, 2000).

No entanto, estes organismos também podem ser alimentados com dietas especiais. (SUANTIKA *et al.*, 2000). Alguns autores como Rueda (1996); Belgis; Guido (2003), fizeram uso da biomassa seca de spirulina, na alimentação de rotíferos, porém não foram encontrados trabalhos utilizando spirulina viva sendo muito mais freqüente a utilização de outras microalgas vivas como *Nannochloropsis* sp. utilizada por Sayegh *et al.*, (2007), *Isochrysis galbana* utilizada por Wikfors; Ohno (2001); Babarro *et al.*, (2001), *Tetraselmis* sp. e *Nannochloris* sp. utilizada por Ferreira *et al.*, (2008), e segundo De la Cruz *apud*. Gomes (1986), o uso de *Dunaliella* sp., *Monochrysis* sp., *Exuviella* sp., *Chlorella* sp. além da utilização de bactérias, fermento biológico (leveduras) e, até mesmo, ração balanceada e protozoários. A ausência de trabalhos utilizando spirulina viva como alimento para rotíferos, provavelmente, deve-se ao fato da dificuldade de ingestão dos filamentos (tricomas), já que os mesmos são muito longos. Este problema não foi observado em nosso experimento, já que os tricomas foram quebrados em pequenos pedaços ao passar pelo processo fragmentação pela pressão exercida na tela de filtragem (Figura 6).



Figura 7 – Comparação do tamanho de rotíferos *Brachionus plicatilis* com os filamentos (tricomias) de *Spirulina platensis* antes (A) e após a fragmentação pela malha de 60 µm (B).

Belgis e Guido (2003), utilizaram várias combinações de alimentos para avaliar o desenvolvimento de populações do rotífero *B. calyciflorus*, dentre elas combinações de microalgas vivas da espécie *P. subcapitata* com biomassa seca de *Spirulina* sp., bem como combinações utilizando *P. subcapitata* com alimentos artificiais inertes como Soro e Selco (INVE), embora um dos alimentos artificiais testados (Rotirich) tenha sido uma combinação de leveduras e outras microalgas secas. Os autores obtiveram os melhores resultados quando combinaram a microalga viva com a ração Selco com taxa de crescimento intrínseca de 0,85. A maior taxa de crescimento intrínseca obtida em nosso trabalho foi de 0,58, não muito distante da observada pelos autores, quando utilizaram *P. subcapitata* viva associada à biomassa seca de *Spirulina* que foi de 0,70. Outro fator que pode influenciar no crescimento populacional é a fase de crescimento dos rotíferos no início dos cultivos. (SAYEGH *et al.*, 2007).

A utilização apenas da dieta artificial (Cultura Selco®) por SUANTIKA (2000), resultou em uma taxa de crescimento intrínseca de 0,20 e, neste caso, os autores tiveram de fazer ajustes na quantidade de alimento ofertada diariamente, devido a necessidade constante de renovação da água para manter a qualidade da mesma e repor a perda do alimento neste processo. Por outro lado, a associação da ração Selco com bactérias resultou em uma taxa de 0,67. (QI *et al.*, 2009). Evidenciando mais uma vez a importância do alimento vivo.

As vantagens da utilização da spirulina como alimento em relação a todos os outros tipos de dietas, começam logo pelo fato da mesma poder ser utilizada viva e obtida por uma simples filtração em cultivos do tipo “batch”. Praticamente não alterou os parâmetros limnológicos da água do cultivo, pois a biomassa foi ofertada sem o meio de cultivo e sim com água em condições melhores que a da própria cultura de rotíferos. Por outro lado, a quantidade a ser utilizada é facilmente controlada, pois através da filtração e leitura de absorbância na água de cultivo é sempre possível manter constante a biomassa ofertada. Desta forma, a padronização exata da quantidade de um único alimento facilita a análise de outras variáveis no cultivo de rotíferos, pois a mudança na quantidade de alimento também pode influenciar no tamanho da população no ciclo de vida, na maturidade sexual, no tamanho dos indivíduos e no tamanho dos ovos (GALINDO *et al.*, 1993).

Apesar do maior desenvolvimento da população de rotíferos na menor salinidade testada (10), foi observado, neste caso, um menor percentual de fêmeas com ovos (11,95%) do encontrado na salinidade 30 (44,28%). A fecundidade mais alta normalmente está ligada a um período de vida mais curto, porque são dirigidos recursos energéticos para reprodução ao invés de ficarem disponíveis para crescimento do indivíduo e manutenção (SNELL; KING, 1997; KING; ANDERSON, 1971; DUNCAN, 1989).

Quando a salinidade foi maior a densidade populacional foi menor, mas a porcentagem de fêmeas com ovos aumentou. É possível que fêmeas tenham período de vida maior para conseguirem produzir ovos mais resistentes a salinidade, e isso faz com que o crescimento da população desacelere. Nossos resultados concordam com os obtidos no trabalho de Zhang *et al.*, (2005) que também relatou uma produção de ovos significativamente maior com uma menor densidade populacional nos cultivos feitos em salinidades maiores.

Desta forma, ficou evidente no presente trabalho que, em salinidade 10, os rotíferos se reproduziram mais rapidamente, aumentando a biomassa do cultivo, e em salinidade 30 os mesmos diminuíram o ritmo de reprodução e aumentaram seu ciclo de vida, resultando em um maior percentual de fêmeas com ovos. E dependendo da necessidade do produtor, pode-se optar por utilizar cultivos na salinidade 30 para obtenção de mais fêmeas com ovos, pelo maior valor

nutricional de cada indivíduo comparado a um rotífero sem ovo ou optar pelo cultivo em salinidade 10 para uma produção em massa de rotíferos, se o interesse for à quantidade.

Estudos mais aprofundados devem ser realizados para que possamos descobrir a reação da população de *B. plicatilis* com outros valores de salinidades como 5, 15 e 25. E depois um estudo mais aprofundado para encontrar a concentração ideal de *S. platensis* e identificarmos qual a melhor quantidade a ser utilizada, pois a diferença em concentração utilizada dentro de uma mesma espécie de microalga, influi mais na população de rotíferos do que a diferença de espécies de microalgas.

6 CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho concluímos que a cianofícea *Spirulina platensis* pode ser utilizada viva como alimento para os rotíferos da espécie *Brachionus plicatilis* e que foi possível obter uma população significativamente maior, quando os mesmos foram cultivados na salinidade 10.

Concluímos também que foi possível concentrar uma percentagem maior de fêmeas com ovos, no tratamento com salinidade 30.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, K. G. L.; FACCHINETTI, A. D. ; SANTOS, C. P. Influência da ingestão de biomassas de *Spirulina* (*Arthrospira sp.*) sobre o peso corporal e consumo de rações em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.1, p.6-9, jan./abr. 2003.

BARNES, R.D., **Invertebrate Zoology**. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 168-178. 1968.

BABARRO, J. F.; REIRIZ, M. J. F.; LABARTA, U. Influence of preservation techniques and freezing storage time on biochemical composition and spectrum of fatty acids of *Isochrysis galbana* clone T-ISO. **Aquaculture**, Vigo, Spain, Res. v. 32, p. 565–572. 2001.

BELGIS, C.; GUIDO P. Cyst-based toxicity tests. XI. Influence of the type of food on the intrinsic growth rate of the rotifer *Brachionus calyciflorus* in short-chronic toxicity tests. **Chemosphere**. Panama City, Panama, v.50, n.3, p. 365-372. Jan. 2003.

BOTTRELL, H. H.; DUNCAN, A.; GLIWICZ, Z. M.; GRYGIEREK, E.; HERZIG, A., HILLBRICHT-ILKOWSKA, A.; KURASAWA, H.; LARSSON, P.; WEGLENSKA, T. Are view of some problems in zooplankton production studies. **Norw. J. Zool**, v. 24, p. 419-456. 1976.

CANELA, A. P .R. F.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction of fatty acids and carotenoids from the microalgae *Spirulina maxima*. **Industrial, Engineering Chemistry Research**, Washigton, v.41, n.12, p.3012-3018, Jun. 2002.

CHAMORRO, G.; SALAZAR, M.; ARAUJO, K. G. D.; DOS SANTOS, C. P.; CEBALLOS, G.; CASTILLO, L. F. Update on the pharmacology os *Spirulina* (*Arthrospira*), an unconfional food. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.52, n.3, p.232-240, Sep. 2002.

COLLA, L.M.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.V. Fatty acids profiles of *Spirulina platensis* under different temperatures and nitrogen concentrations **Zeitschrift fur Naturforschung**, v.59c, n.1/2, p.55-59, 2004.

COSTA, P. F. Cultura em massa do rotifer *Brachionus plicatilis* , Manual de Maricultura, MINISTÉRIO DA MARINHA. INSTITUTO NACIONAL DE ESTUDOS DO MAR. capitulo IV. p.1-24. (mimeografado). (198_).

CRISPIM, M. C.; CAVALHEIRO, J. M. O. ; PEREIRA, J.A. A influência do *zooplâncton* no crescimento de peixes em viveiros de aquicultura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 11 e CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE PESCA, 1999, Olinda, PE. **Anais...**Olinda: Associação de Engenheiros de Pesca de Pernambuco. 1999. v.1, p. 78-87.

DE LA CRUZ, S. A.; MILLARES, N. Método de cultivo massivo de *Brachionus Plicatilis* (Rotífera) a escola experimental. **Investigaciones Marinas**, Habana, v.11, p. 1-29, 1974.

DHERT, P.; ROMBAUT, G.; SUANTIKA, G.; SORGELOOS, P. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. **Aquaculture**, v. 200, p. 129–146. 2001.

DUMONT, H. J.; VAN, V. I.; DUMONT, S. The dry weight estimate of biomass in a selection of *Cladocera*, *Copepoda*, and *Rotifera* from the *plankton*, *periphyton* and *benthos* of continental waters. **Oecologia**, Gent, Belgium, v.19, p. 75-97. 1975.

DUNCAN, A. Food limitation and body size in life cycle of *planktonic* rotifers and *cladocerans*. **Hydrobiologia**., Belgium, v.186/187, p. 11 – 28. 1989.

FAO. 2008. The state of world fisheries and aquaculture. Roma. 2009.

FERREIRA, M.; MASEDA, A.; FÁBREGAS, J. ; OTERO, A.. Enriching rotifers with “premium” microalgae. *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-ISO. **Aquaculture**, Santiago de Compostela, Spain, v. 279, p. 126–130. 2008.

FUKUSHO, K.; IWAMOTO, H. *Cyclomorphosis* in size of the culture rotifer, *Brachionus plicatilis*. **Bull Natl. Res. Inst. Aquaculture**, n.1, p. 29-37, 1980.

FUKUSHO, K.; IWAMOTO, H. Polymorphism in size of *rotifer*, *Brachionus plicatilis*. Cultured with various feeds. **Bull Natl. Res. Inst. Aquaculture**, n.2, p. 1-10, 1981.

FUKUSHO, K.; OKAUCHI, M.. Sympatry in natural distribution of the two strains of a rotifer, *Brachionus plicatilis*. **Bull Natl. Res. Inst. Aquaculture**, n.4, p. 135-138, 1983.

GALINDO, M. D.; GUISANDE, C.; TOJA, J. Reproductive investment of several rotifer species. **Hydrobiologia**, v. 255/256, p. 317-324, 1993.

GATESOUBE, F. J.; LUQUET, P. Practical diet for mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*: application on larval rearing of sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, v. 22, p. 149-163, 1980.

GILBERTO, S.; MAZZOLA, A. Mass culture of *brachionus plicatilis* with an integrated system of *tetraselmis suetica* and *sacharomyces cerevisiae*. *J. World Maric. Soc.*, v. 12, n.2, p. 61-62, 1981.

GOMES, L. A.O **Cultivo de crustáceos e moluscos**. São Paulo: Nobel, p. 44-53. 1986.

HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R ; MEURER, F. Desempenho de larvas de carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*), alimentadas com plâncton, ração, micropelletizada, farelada e pastosa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38. **Anais...** Piracicaba. 2001, p. 14-19.

HENRIQUES, N. M.; NAVALHO, J. C; VARELA, J. C ; CANCELA, M. L. *Dunaliella*: uma fonte natural de beta-caroteno com potencialidades de aproveitamento biotecnológico. **Boletim de Biotecnologia**, n.61 p.12-18, dez .1998.

HENSON, H. R. Spirulina algae improves japanese fish feeds. **Aquaculture Magazine**, p. 38-43. Nov-Dec 1990.

ITO, T. On the culture of the *mixohaline* rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Müller, in seawater. **Report of the Faculty of Fisheries**, Prefectural University of Mie, v. 3, p.708-740. 1960.

JENKINS, D. G.; UNDERWOOD, M. O. Zooplankton may not disperse readily in wind, rain, or waterfowl. **Hydrobiologia**, v. 387/388, p. 15-2, 1998.

KIBRIA, G.; NUGEGODA, D.; FAIR LOUGH, R.; LAM, P.; BRADLY, A. *Zooplankton*: It's biochemistry and significance in aquaculture, NAGA: the International Center for Living Aquatic Resources Management. **ICLARM Quarterly**, Melbourne, Australia, apr.-jun, v. 20, n.2, p. 8-14, 1997.

KING, C. E.; ANDERSON, W.W. Age-specific selection: II. The interaction between r and K during population growth. **American Naturalist Am. Nat.**, New Haven, v. 105 n. 942, p. 137-156, Mar. /Apr. 1971.

KOSTE, W.; SHIEL, R. J. Rotifera from Australian inland waters. II. Epiphanidae and Brachionidae (Rotifera: Monogononta). *Invertebrate Taxonomy*, v. 7, p. 949–1021. 1987.

LIMA, T. V. C. **Cultivo experimental de *brachionus plicatilis* D.F. Muller (Rotatoria) em laboratório, como fonte alternativa a aquicultura comercial e de reposição de estoques impactados.** Salvador: [s.n], p. 1-33. 1991 (mimeografado).

LUBZENS, E. Rotifer resting eggs and their application to marine aquaculture. *Eur. Maricult. Soc. Spec. Pub.*, p. 163-179, 1981.

LUBZENS, E.; TANDLER, A.; MINKOFF, G. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia*, v. 186/187, p. 387–400. 1989.

LUBZENS, E.; ZMORA, O.; BARR, Y. Biotechnology and aquaculture of rotifers. *Hydrobiologia*, v. 446, p. 337–353. 2001.

LUCÍA-PAVÓN, E.; SARMA, S. S. S.; NANDINI, S. **Effect of different densities of live and dead *Chlorella vulgaris* on the population growth of rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera)**, 2001.

MAY, L. Epizoic and parasitic rotifers. *Hydrobiologia*, v. 186/187, p. 59–67. 1989.

MCCAULEY, E. The estimation of the abundance and biomass of zooplankton in samples. *In*: DOWING J. A, RIGLER F. H (Eds.) **A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters.** Blackwell. Londra, RU. p. 228-261. 1984.

ONO, E A.; KUBTIZA, F. **Cultivo de peixes em tanques-rede.** 3. ed. Jundiaí: São Paulo, 2003. 62p.

PAGGI, J. S.; PAGGI, J. C. Determinación de la abundancia y biomassa *zooplanctónica*. *In*: LOPRETTO E, Tell J (Eds.) **Ecosistemas de aguas continentales: Metodologías para su estudio.** Argentina.: Sur Editora. La Plata, p. 315-323. 1995.

PIÑERO-ESTRADA, J. E.; BERMEJO-BESCÓS, P.; VILLAR DEL FRESNO, A. M. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. II *Farmaco*, v. 56, n.5-7, p.497-500, Jul. 2001.

PINTO-COELHO, R. M.; SÁ JUNIOR, W. P.; CORGOSINHO, P. H. Variação nictemeral do status nutricional do zooplâncton em tanques de cultivo de plâncton. **Ver. Unimar**, v.19 n. 2, p.521-535.1997.

PINTO-COELHO, R. M. Métodos de coleta, preservação, contagem e determinação de biomassa em zooplâncton de águas epicontinentais. *In*: BICUDO C. E. M.; BICUDO, D.C. (Orgs.) **Amostragem em limnologia**. São Carlos, SP, RiMa Editora. 2004. 351 p.

QI, Z.; DIERCKENS, K.; DEFOIRDT, T.; SORGELOOS, P.; BOON, N.; BAO, Z.; BOSSIER, P. Analysis of the evolution of microbial communities associated with different cultures of rotifer strains belonging to different cryptic species of the *Brachionus plicatilis* species complex. **Aquaculture**, v. 292, p. 23–29. 2009.

RIOJA, L. B. E; RUIZ, O. M ; LARIOS, R. I. **Tratado elemental de zoologia**. México: Porrúa. 1964. p. 255-261.

ROSALES, N.; ORTEGA , J.; MORA, R. ; MORALES, E. Influence of salinity on the growth and biochemical composition of the *cyanobacterium synechococcus sp*. **Ciências Marinas**, Baja California, v.31, n.2, p.349-355. Jun. 2005.

ROSSA, D. C.; BONECKER, C. C.; FULONE, L. J. Biomassa de Rotíferos em Ambientes Dulcícolas: Revisão de métodos e fatores influentes. **INCI**, v. 32, n.4, p.220-226. 2007.

RUEDA, J. R. A. Nutritional effect of three microalgae and one cyanobacteria on the culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* Muller. 1786. **Ciências Marinas**, Baja California, v. 22 n. 3 p. 313-328, sep. 1996.

RUSSEL – HUNTER, W. D. **Biologia dos invertebrados superiores**. São Paulo: Polígono, p. 269. 1971.

SAYEGH, F. A. Q.; RADI, N.; MONTAGNES, D. J. S . Do strain differences in microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *Brachionus plicatilis*? **Aquaculture**, v. 273, p. 665–678. 2007.

SEIXAS FILHO, J. T.; SIMÃO, O. M. ; TRIANI, L. Rotífero: uma alternativa no orçamento larval de *Macrobrachium rosenbergii*. – Rio de Janeiro: Pesagro, 1984. p. 1-3. (mimeografado).

SNELL, T. W.; KING, C. E. *Lifespan* and fecundity patterns in rotifers: the cost of reproduction. **Evolution**, v. 31, p. 882–890. 1997.

STORER, T. I. ; USINGER, R. L. Zoologia geral. **Omega.**, Barcelona, v. 6, p. 497-502. 1967.

SUANTIKA, G.; DHERT, P.; NURHUDAH, M.; SORGELOOS, P. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system: consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. **Aquac. Eng.**, v. 21, p. 201–213. 2000.

VILELA, M. H.; BANDARRA, N. M. Cultura de *copépodes*, um alimento vivo essencial em piscicultura marinha. Instituto de Investigação das Pescas e do Mar - **IPIMAR**, Lisboa, n. 25, set. 2002.

WALLACE, R. L. Ecology of *sessile* rotifers. **Hydrobiologia**. v. 73, p. 181–193. 1980.

WALLACE, R. L. 1998. Rotifera, *In*: KNOBIL, E.; Neil. J. D., (Eds). **Encyclopedia of reproduction**. San Diego, v.4, p. 118–129. 1998.

WALLACE, R. L.; SNELL, T. W. **Phylum rotifera ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates**. 2nd. 2001. cap.8, p. 195-254.

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

WIKFORS, G.H.; OHNO, M.. Impact of algal research on aquaculture. **J. Phycol**, v.37, p. 968–974. 2001.

WU, H. Y.; GAO, K. S.; VILLAFANE, V. E.; WATANABE, T.; HELBLING, E. W. Effects of solar UV radiation on morphology and photosynthesis of filamentous. **Microbiology**, Washigton, v.71, n.9, p.5004-5013, Sep. 2005.

YAMANAKA, N.; OBA, M. Sobre o cultivo *Brachionus plicatilis*. **Simp. Bras. Aqüicultura**, Recife, 53, Jul. 1978.

YÚFERA, M. Studies on *Brachionus (Rotifera)*: an example of interaction between fundamental and applied research. **Hydrobiologia**, v. 446, p. 383–392. 2001.

ZANIBONI FILHO, E. Larvicultura de peixes de água doce. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.21, n. 203, p. 69-77, mar./abr. 2000.

ZHANG, D. M.; YOSHIMATSUC, T.; FURUSEA, M.. Effects of *l-carnitine* enrichment on the population growth, egg ratio and body size of the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*. **Aquaculture**, v. 248, p. 51– 57. 2005.