

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

FRANCISCO FARLEY VASCONCELOS DE SOUSA

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE PÓS-LARVAS DE *Betta splendens* ALIMENTADOS COM ROTÍFEROS *Brachionus plicatilis* ENRIQUECIDOS COM DIFERENTES DIETAS

FORTALEZA – 2011

FRANCISCO FARLEY VASCONCELOS DE SOUSA

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE PÓS-LARVAS DE *Betta splendens* ALIMENTADOS COM ROTÍFEROS *Brachionus plicatilis* ENRIQUECIDOS COM DIFERENTES DIETAS

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para a obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias.

FORTALEZA - 2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- S696a Sousa, Francisco Farley Vasconcelos de.
 Avaliação do crescimento e sobrevivência de pós-larvas de *Betta splendens* alimentados com rotíferos *Brachionus plicatilis* enriquecidos com diferentes dietas / Francisco Farley Vasconcelos de Sousa. – 2011.
 32 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Monografia (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2011.
 Orientação: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias.
1. Peixes ornamentais. 2. Larva de peixe - cultura. 3. Alimentos vivos. 4. Bioencapsulamento I.
 Título.
-

CDD 639.2

FRANCISCO FARLEY VASCONCELOS DE SOUSA

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE PÓS-LARVAS DE
Betta splendens ALIMENTADOS COM ROTÍFEROS Brachionus plicatilis
ENRIQUECIDOS COM DIFERENTES DIETAS

Monografia apresentada ao curso de
Graduação em Geologia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial
à obtenção do título de Engenheiro de
Pesca.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Glácio Souza Araújo
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. Jefferson Pablo de Sousa Saboya
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, José Ferreira de Sousa e Expedita Vasconcelos de Sousa, aos meus irmãos e irmãs, ao meu filho Guilherme e à minha esposa Alessandra Rebouças de Albuquerque pela paciência, amor, dedicação, confiança, apoio e compreensão durante todos esses anos.

AGRADECIMENTOS

Aos professores e coordenadores do Departamento de Engenharia de Pesca da UFC pela paciência dedicada a mim, em especial àqueles que sempre me apoiaram e aconselharam a seguir sempre em frente.

À professora Rosemeiry Carvalho da Economia Agrícola pelos conselhos relacionados ao meu filho Guilherme.

Ao professor Wladimir Ronald Lobo Farias por ter assumido a responsabilidade de ser meu orientador, ter colaborado com a ajuda necessária para realização deste experimento e, acima de tudo, pela sua confiança.

Aos companheiros do CEBIAQUA, William, Pedro, Alan, João, Nara, Luís Paulo, Júnior Sousa, Plácido, Glácio, entre outros.

Aos amigos desde o início da faculdade, Jefferson Pablo, André Caetano, Hidalécio Braga, Kelma Pires.

Em especial ao meu grande amigo e camarada Renato Teixeira Moreira, que sempre esteve à disposição para ajudar em tudo.

A todos que não citei aqui, que de alguma maneira me ajudaram nessa caminhada acadêmica muito longa, porém valiosa.

Ainda que eu falasse
A língua dos homens
E falasse a língua dos anjos,
Sem amor eu nada seria.

Legião Urbana

RESUMO

O *Betta splendens*, também conhecido como “peixe de briga” e “peixe beta”, destaca-se como um dos peixes ornamentais de grande interesse comercial, pela sua beleza, variedade de cores e rusticidade. Os rotíferos são organismos do zooplâncton largamente utilizado como alimento vivo na larvicultura de muitos peixes marinhos e de água doce, devido ao seu pequeno tamanho (120-300 μm), movimentação na coluna d'água, capacidade de produção em larga escala, facilidade de manejo e de assimilar substâncias enriquecedoras. Este trabalho avaliou o crescimento e sobrevivência de pós-larvas de betas, alimentados com rotíferos *Brachionus plicatilis*, previamente alimentados com as microalgas *Spirulina platensis*, *Nannochloropsis oculata*, *Chlorella vulgaris* e com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, obtidas de culturas pré-estabelecidas no Laboratório de Planctologia do CEBIAQUA/DEP/CCA/UFC. A avaliação do crescimento populacional dos rotíferos foi realizada em um delineamento totalmente ao acaso, com os quatro tipos de alimentação em quatro repetições, durante cinco dias. O tratamento com a microalga *N. oculata* resultou em um aumento populacional significativamente maior do que o observado nos outros tratamentos, atingindo a densidade de $47,5 \pm 8,3$ rotíferos mL^{-1} . As pós-larvas de betas foram cultivadas em recipientes plásticos com volume de 100 mL, alimentadas com os rotíferos enriquecidos (100 indivíduos mL^{-1}) com as microalgas e o fermento, em quatro repetições. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos e as pós-larvas alcançaram um desenvolvimento satisfatório em todos os tratamentos, comprovando a importância dos rotíferos na alimentação do beta. Ao final do experimento, verificou-se um aumento de cinco pontos na salinidade, enquanto os valores de pH e amônia mantiveram-se constantes durante todo o experimento.

Palavras-chave: Peixes ornamentais, Larva de peixe - cultura, Alimentos vivos, Bioencapsulamento.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS		PÁG.
FIGURA 1	Cultivo dos rotíferos no Laboratório de Planctologia.	19
FIGURA 2	Disposição dos tratamentos e repetições do experimento com pós-larvas de beta	21
FIGURA 3	Curvas de crescimento populacional dos rotíferos alimentados com as diferentes microalgas e com o fermento biológico (<i>S. cerevisiae</i>).	24
FIGURA 4	Densidades populacionais finais dos rotíferos cultivados com as diferentes microalgas e fermento biológico. As letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos.	24
FIGURA 5	Peso médio das pós-larvas de beta alimentadas com rotíferos enriquecidos com as microalgas <i>S. platensis</i> , <i>N. oculata</i> e <i>C. vulgaris</i> , e com o fermento biológico (<i>S. cerevisiae</i>)	26

LISTA DE TABELAS

TABELAS		PÁG
TABELA 1	Composição do meio Guillard f/2.	17
TABELA 2	Composição da solução de metais traço do meio Guillard f/2.	18
TABELA 3	Composição do meio Jordan.	18
TABELA 4	Coefficiente de determinação (R^2) e equações de regressão linear entre DC e DO_{680nm} dos cultivos de <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> e <i>Spirulina platensis</i> .	22
TABELA 5	Valores de densidade óptica (DO_{680nm}), volumes das culturas adicionados e concentrações algais finais para a alimentação dos rotíferos .	22
TABELA 6	Médias e desvios padrões das contagens de rotíferos mL^{-1} , durante os cinco dias de cultivo. Letras diferentes nas colunas mostram diferenças significativas.	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

beta	<i>Betta splendens</i>
pl's	Pós-larvas
DO _{680nm}	Densidade óptica a 680 nanômetros
DC	Densidade celular
µm	Micrometro
µL	Microlitro
µE	Microeinsteins

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1 Obtenção das cepas de microalgas.....	16
2.2 Cultivo das microalgas.....	16
2.3 Preparo dos meios de cultivo	17
2.4 Obtenção da cepa de rotíferos	18
2.5 Cultivo dos rotíferos.....	19
2.6 As larvas de <i>Betta splendens</i>.....	20
2.7 Avaliação do desenvolvimento das larvas	20
2.8 Análises estatísticas	21
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	22
3.1 Cultivos das microalgas	22
3.2 Curva de crescimento dos rotíferos	23
3.3 Avaliação do desenvolvimento dos betas.....	25
4 CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, registros históricos do início da atividade de criação de peixes ornamentais datam do final da década de 1920 quando Sigeiti Takase, imigrante japonês fixado no Rio de Janeiro, começa a negociar peixinhos de aquário de origem amazônica. Antes disso os aquariofilistas limitavam-se a coletar os peixes em rios e lagos e colocá-los em recipientes de vidro. A partir de reuniões que Takase promovia em sua casa, a atividade começou a ser mais divulgada. No entanto, somente em 1930 foi criada a primeira loja de peixes ornamentais do Brasil, a Aquário Rio. Na década de 1950, pessoas que obtiveram sucesso em reproduzir seus exemplares começaram a vendê-los para criadores dos estados de São Paulo e Minas Gerais. Em meados de 1980, o aquarismo chega ao nordeste e tem sua grande ascensão de 1994 a 1998 com a introdução de peixes importados, devido à grande valorização do real frente ao dólar e, ainda hoje os plantéis nacionais necessitam de melhoramento genético a partir de exemplares importados (VIANNA, 2009).

Oriundo da Ásia (Tailândia, Indonésia, Vietnã, China e outros países), a espécie *Betta splendens* ou *Siamese fighting fish*, também conhecido como “peixe de briga” e “peixe beta”, habita regiões alagadas, com águas paradas e pobres em oxigênio, brejos, pântanos e campos de plantação de arroz. Sua alimentação é basicamente de larvas de mosquitos, vermes e pequenos peixes, encontrados em abundância nesses locais (FARIA *et al.*, 2006). Pertence à subordem Anabantoidei e a grande Família Osphronemidae cuja característica anatômica mais marcante é a existência de um órgão acessório, localizado na parte superior de seu tórax, chamado de labirinto, que permite que o animal respire o oxigênio atmosférico (VIANNA, 2010).

A origem do seu nome vem da associação com uma tribo de guerreiros que dominavam as regiões do antigo Sião, os “Ikan Bettah”. Essa relação é bastante evidente, uma vez que o Beta é um peixe territorialista e violento quando em contato com outros machos da sua espécie (FARIA *et al.*, 2006). Com um paladar voraz e capaz de se alimentar de tudo que se movimenta no seu raio de visão, tem sido utilizado frequentemente em programas de controle biológico da proliferação de mosquitos, principalmente do *Aedes aegypti*, o mosquito da Dengue, em substituição ao larvicida químico “temefós” (PAMPLONA *et al.*, 2004).

Uma característica interessante dessa espécie é a sua precocidade sexual. Exemplares de três meses, quando bem alimentados já estão aptos à reprodução (FARIA *et al.*, 2006). Experimentos avaliaram a idade necessária para a maturidade sexual em juvenis de

beta a partir de 30 dias sendo administrado alimento uma, duas ou três vezes ao dia. Após 77 dias, ou seja, três meses e meio de vida, as fêmeas estavam aptas à reprodução em ambos os tratamentos, apresentando melhor desempenho reprodutivo aquelas que foram alimentadas duas vezes ao dia (JAMES; SAMPATH, 2002).

Entre algumas espécies ornamentais, o beta destaca-se como um dos peixes de melhor mercado, não só pela beleza e variedade de cores, como também pela rusticidade, associada à presença de um sistema acessório de respiração aérea que lhe permite sobreviver em pequenos aquários chamados de beteiras (ZUANON *et al.*, 2007).

Existem vários tipos de alimentos que podem ser administrados aos alevinos. A partir do quinto dia de vida, eles começam a aceitar alimentação exógena. Os mais utilizados são: infusórios, paramécios, farinha de minhoca, farinha de salmão, gema de ovo, artêmias e branchonetas (FARIA *et al.*, 2006).

O domínio de técnicas de manejo faz surgir novos métodos de alimentação e controle de qualidade em aquarioria. Portanto, a utilização de rotíferos torna-se uma nova fonte de crescimento rápido para o beta. Com tamanho intermediário entre as microalgas e as artêmias (120-300 μm), os rotíferos estão presentes em diferentes habitats e mesmo aqueles que pertencem à mesma espécie apresentam variação de tamanho. Esta amplitude torna mais fácil a adaptação do animal cultivado ao alimento. Os rotíferos podem ser cultivados com diferentes tipos de alimentos desde fermento fresco ou desidratado, a microalgas vivas ou liofilizadas (PEREIRA, s.d.).

Entre as várias espécies de zooplâncton, o rotífero *Brachionus plicatilis* tem sido usado mais extensivamente como alimento vivo para o cultivo de vários tipos de larvas de peixes marinhos e de água doce (WATANABE; KITAJIMA; FUJITA, 1983). É uma espécie eurialina, de tamanho pequeno, natação lenta, com bom valor nutricional, bastante prolífico e muito tolerante a uma ampla variedade de condições ambientais (TREECE; DAVIS, 2000). Em virtude do seu tamanho, permanência na coluna d'água, capacidade de produção em larga escala, facilidade de manejo em termos de assimilação de substâncias enriquecedoras e ampla faixa de tolerância a mudanças no meio de cultivo, o *B. plicatilis* torna-se indispensável na larvicultura de uma grande quantidade de peixes marinhos.

Em águas com elevados níveis de eutrofização, os copépodes, camarões e peixes pequenos, normalmente predadores de rotíferos, não podem sobreviver por longos períodos e são eliminados das águas. Porém, os rotíferos possuem uma maior capacidade de tolerar a eutrofização do que os predadores. Desta forma, os rotíferos podem sobreviver, crescer e se reproduzir muito bem nas águas eutrofizadas (FENGQI, 1996)

A técnica de bioencapsulamento, ou seja, o enriquecimento de rotíferos através da utilização das microalgas como fonte de alimento, e a sua oferta já enriquecido, pode otimizar consideravelmente o crescimento das pós-larvas de beta em seus primeiros dias de alimentação, logo após a absorção do saco vitelínico (COSTA *et al.*, 2008). A produção intensiva deste tipo de alimento é fundamental para desenvolver um dos estágios mais difíceis da larvicultura de peixes. (SEIXAS, 2001).

A introdução de fitoplâncton em tanques de criação para inúmeras espécies de animais dulcícolas e marinhos leva a resultados muito melhores em termos de índice de sobrevivência, crescimento e transformação do que quando feita em água limpa, tornando estas condições de cultivo uma necessidade econômica (MULLER-FEUGA, 2000).

As microalgas estão diretamente envolvidas na criação da maioria das espécies de animais produzidos na maricultura, incluindo moluscos bivalves em todo seu ciclo de vida, em estágios larvais de crustáceos, peixes e espécies de cefalópodes, e indiretamente como parte da alimentação para a produção de presas vivas, que constituem a dieta para pós-larvas (FERREIRA *et al.*, 2008).

A microalga *Chlorella vulgaris* pertence à classe Trebouxiophyceae, ordem Chlorellales, família Chlorellaceae (GORS *et al.*, 2010). É uma espécie unicelular, cosmopolita e esférica, sem movimentos e com diâmetro variando de 2,0 a 10,0 µm (PHUKAN *et al.*, 2011). É bastante utilizada tanto na indústria alimentícia (GOUVEIA *et al.*, 2007) quanto na indústria farmacêutica (WANG *et al.*, 2010), bem como na alimentação humana (MORAIS; COSTA, 2007) ou de organismos aquáticos (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2003).

A espécie *Nannochloropsis oculata* pertence à classe Eustigmatophyceae (Xanthophyceae), ordem Eustigmatales e família Monopsidaceae (BICUDO; MENEZES, 2006). Podem ser produzidas em cultivo estacionário, tipo batch, sendo frequentemente usadas na cadeia alimentar de rotíferos (OKAUCHI, 1991).

A *Spirulina* pode ser considerada de grande importância na nutrição humana devido às suas qualidades nutricionais: alto teor de proteína, baixo teor de gordura e alto teor de ácido linolênico (SASSANO, 1999). Em várias regiões do mundo já existe o cultivo e comercialização da biomassa de *Spirulina*, que é produzida, principalmente, a partir das espécies *Arthrospira máxima* e *A. platensis*, mais conhecidas como *S. máxima* e *S. platensis*. (ARAÚJO; FACCHINETTI; SANTOS, 2003). A microalga cianoficea *Spirulina platensis* possui um alto valor nutricional, devido possuir elevados teores de proteínas, vitaminas, carotenóides, minerais e ácidos graxos poli-insaturados (CANELA *et al.*, 2002).

O objetivo deste trabalho foi acompanhar o crescimento e a sobrevivência de pós-larvas do peixe *Betta splendens* alimentados com rotíferos *Brachionus plicatilis* enriquecidos com as microalgas *Spirulina platensis*, *Nannochloropsis occulata*, e *Chlorella vulgaris*, fermento biológico, *Saccharomyces cerevisiae*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das cepas de microalgas

As cepas das microalgas *Spirulina platensis*, *Nannochloropsis oculata* e *Chlorella vulgaris* utilizadas neste estudo foram obtidas de culturas pré-estabelecidas no Cepário do Laboratório de Planctologia, no Centro de Biotecnologia Aplicada à Aquicultura – CEBIAQUA, do Departamento de Engenharia de Pesca da UFC. São mantidas em temperatura constante de $17^{\circ}\text{C}\pm 1$, salinidades 30 para *N. oculata* e *C. vulgaris*, e 5 para *S. platensis*, respectivamente, e luminosidade de $60 \mu\text{E cm}^{-2}\text{s}^{-1}$.

2.2 Cultivo das microalgas

Os cultivos foram realizados em sistema estacionário, ou tipo batch (OHSE *et al.*, 2008), utilizando três erlenmeyers de vidro com capacidade para um litro para cada microalga (Figura 1), onde cada espécie foi inoculada em uma densidade óptica ($\text{DO}_{680\text{nm}}$) inicial de $0,100 \pm 0,020$, a partir de cepas cultivadas no próprio laboratório de planctologia. Diariamente o desenvolvimento dos cultivos foi acompanhado através da leitura da absorbância, através da densidade óptica $\text{DO}_{680\text{nm}}$, utilizando um espectrofotômetro, coletando amostras de 25 mL^{-1} de cada cultura.

A correlação linear entre $\text{DO}_{680\text{nm}}$ e DC é mostrada na equação 1, de acordo com Sipaúba-Tavares; Rocha (2003), que descreve o método de diluições utilizado para obter as concentrações celulares decrescentes das curvas de crescimento das microalgas, tornando possível a determinação das suas equações de regressão linear (LIU; WANG; ZHOU, 2008). Através destas equações foi possível determinar as quantidades ideais de células mL^{-1} nos experimentos seguintes.

$$v = V - \left[\left(\frac{D_f}{D_i} \right) V \right] \quad (1)$$

Onde:

v – Volume renovado em mL^{-1} ,

V – Volume do recipiente em mL^{-1} ,

D_f – Densidade celular desejada em cels mL^{-1} ,

D_i – Densidade celular atual em cels mL^{-1} .

Os valores de absorvância foram correlacionados com as contagens de células de cultivos pré-estabelecidos no próprio laboratório, sendo obtidas suas equações de regressão linear. Desta forma, foram determinadas as quantidades em nº de células mL^{-1} a serem adicionadas diariamente ao experimento com os rotíferos.

Todos os materiais utilizados nesse experimento, assim como os meios de cultivos, foram esterelizados em autoclave por um período de 15 minutos com temperatura de 120°C , a 1 atm, para eliminar bactérias. As condições de cultivo permaneceram constantes, com temperatura de $23^\circ\text{C} \pm 1$, luminosidade de $60 \mu\text{E cm}^{-2}\text{s}^{-1}$ tendo como fonte lâmpadas fluorescentes de 40 w, sem fotoperíodo e aeração constante fornecida por um soprador, com o fluxo controlado a $3,0 \pm 1,0 \text{ L ar min}^{-1}$.

2.3 Preparo dos meios de cultivo

O meio de cultura utilizado para manutenção do experimento com as microalgas *C. vulgaris* e *N. oculata* foi o Guillard f/2 (1975), com salinidade 30, preparado de acordo com as tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Composição do meio Guillard f/2.

Solução	Componentes	Solução estoque (g L^{-1})	Quantidade no meio de cultura (mL L^{-1})
1	Nitrato de sódio	75	1,0
2	Fosfato de sódio	5	1,0
3	Silicato de sódio	30	1,0
4	Solução de vitamina	*	0,5
5	Metais traço	**	1,0

* 50 mL de água destilada mais duas ampolas da vitamina.

** A formulação da solução de metais traço está representada na tabela 2.

Tabela 2 - Composição da solução de metais traço do meio Guillard f/2.

Componentes	Solução estoque (g L ⁻¹)	Quantidade na solução de metais traço
Cloreto de ferro	-----	3,15 g L ⁻¹
Na ₂ EDTA	-----	4,36 g L ⁻¹
Sulfato de cobre	9,8	1,0 mL L ⁻¹
Molibdato de sódio	6,3	1,0 mL L ⁻¹
Sulfato de zinco	22	1,0 mL L ⁻¹
Cloreto de cobalto	10	1,0 mL L ⁻¹
Cloreto de manganês	180	1,0 mL L ⁻¹

Para a espécie *S. platensis* foi utilizado o meio Jourdan (JOURDAN, 2001), cuja composição química está apresentada na tabela 3.

Tabela 3 - Composição do meio Jourdan.

Componentes	Quantidade (g L ⁻¹)
Ureia	0,07
Sulfato de Magnésio monobásico	0,2
Sulfato ferroso	0,005
Sulfato de Potássio	1,0
Fosfato de amônio monobásico	0,1
Nitrato de potássio	2,0
Cloreto de sódio	5,0
Bicarbonato de Sódio	8,0

2.4 Obtenção da cepa de rotíferos

Os rotíferos da espécie *Brachionus plicatilis*, foram obtidos de cultivos pré-estabelecidos na Estação de Piscicultura Ornamental Tanganyika, localizada no município de Aquiraz/CE, onde são mantidos em salinidade 28 e alimentados exclusivamente com CSP - Culture Selco® Plus, INVE N.V., Bélgica, duas vezes ao dia, em quantidades de acordo com a orientação do fabricante. Esta cepa foi mantida no CEBIAQUA em salinidade 25, alimentados com fermento biológico seco, *Saccharomyces cerevisiae*, em temperatura de 26±2°C, com aeração constante, até o início dos experimentos.

2.5 Cultivo dos rotíferos

O cultivo dos rotíferos foi realizado no Laboratório de Planctologia, no Centro de Biotecnologia Aplicada à Aquicultura – CEBIAQUA, do Departamento de Engenharia de Pesca da UFC. As culturas realizadas em recipientes de vidro com capacidade máxima de 500 mL, e volume de cultivo inicial de 250 mL, em sistema estacionário (batch), onde diariamente foram adicionados os diferentes tipos de alimentação. Definiu-se quatro tratamentos com quatro repetições, em um delineamento totalmente ao acaso e dispostos em uma bancada do Laboratório de Planctologia (Figura 1).

A densidade inicial de rotíferos dentro de cada tratamento foi definida em 10 indivíduos mL⁻¹ (SANTOS *et al.*, 2009). A temperatura no local de cultivo foi mantida constante em 23°C ± 1 e não houve disponibilidade de luz para nenhum dos tratamentos, a fim de evitar o crescimento das microalgas dentro dos cultivos.

Figura 1 – Cultivo dos rotíferos no Laboratório de Planctologia.



Fonte: Arquivo pessoal.

A alimentação dos rotíferos foi realizada a partir dos cultivos das microalgas em densidades celulares específicas. Para isso, amostras de cada cultura foram diluídas em seus respectivos meios de cultivos a fim de atingir a densidade celular ideal, através da leitura de absorbância com DO_{680nm}. Após essa diluição, *C. vulgaris* e *N. oculata* foram ofertadas aos rotíferos, vivas, sem filtragem. Já a biomassa de *S. platensis* foi filtrada em uma malha de 60 µm, lavada com água destilada para remover o excesso de meio de cultivo e, posteriormente,

forçada a passar pela mesma tela, com o auxílio de água salgada, para fragmentar os tricomas da microalga e, assim, facilitar a ingestão pelos rotíferos. O fermento biológico *S. cerevisiae* foi ofertado dissolvido em água com a mesma salinidade dos cultivos, mantendo uma quantidade de células equivalente ao das microalgas.

O desenvolvimento das culturas de rotíferos foi avaliado diariamente por contagem total de indivíduos em alíquotas de 200 μL , com quatro repetições em lâmina de microscopia, utilizando uma fonte de luz diretamente sob a lâmina, e lupa comum. A partir da média da contagem das alíquotas foi feita extrapolação para 1 mL e as contagens finais foram expressas em rotíferos mL^{-1} .

2.6 As larvas de *Betta splendens*

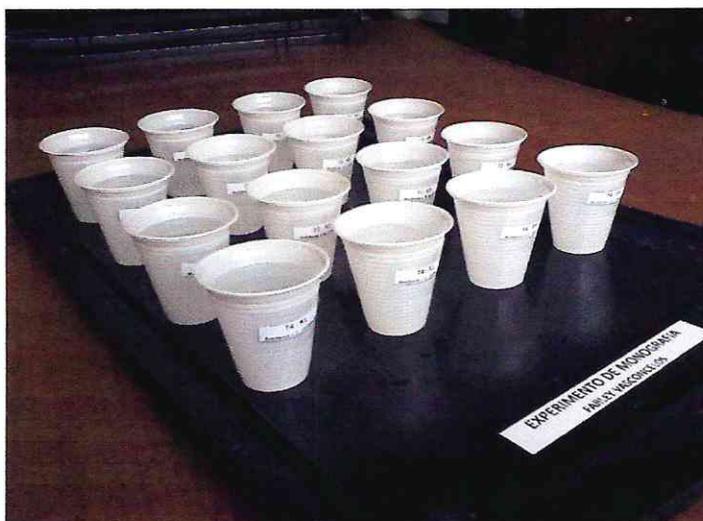
As larvas do peixe foram obtidas de cruzamento feito no Centro de Biotecnologia Aplicada à Aquicultura – CEBIAQUA, do Departamento de Engenharia de Pesca da UFC, imediatamente após o período de consumo do saco vitelínico, com aproximadamente 48 horas após a eclosão dos ovos.

2.7 Avaliação do desenvolvimento das pós-larvas

Inicialmente, foi realizada uma pesagem das pós-larvas de *B. splendens* em balança analítica com precisão de 1 mg, em quatro amostras aleatórias e homogêneas. Os betas pesados foram retirados da mesma ninhada para não haver diferenças genéticas quanto ao seu desenvolvimento.

As pl's foram estocadas em recipientes plásticos com volume útil de 150 mL, com 100 mL de água desclorada, em número de 10 indivíduos, em quatro tratamentos com quatro repetições. A disposição dos recipientes foi feita de forma completamente aleatória (Figura 2) e as pós-larvas alimentadas diariamente com os rotíferos bioencapsulados com as três espécies de microalgas utilizadas no experimento, bem como com o fermento biológico seco.

Figura 2 – Disposição dos tratamentos e repetições do experimento com pós-larvas de beta.



Fonte: Arquivo pessoal.

De cada cultivo de rotíferos foi retirado o volume de 200 mL, filtrado em malha de 60 μm e ofertados quando se encontravam nas mesmas densidades de cultivo, 100 rotíferos mL^{-1} , de forma que todas as larvas pudessem se alimentar satisfatória e abundantemente.

Foram realizadas mais duas pesagens para determinar o desenvolvimento das larvas de beta em cada tratamento, uma na metade do experimento e outra no final. Nestas duas pesagens foram quantificados os pesos médios e quantidades de todas as larvas, em cada tratamento e repetições, verificando a mortalidade.

2.8 Análises estatísticas

Os dados obtidos no presente trabalho foram submetidos à análise de variância com fator único (ANOVA) e, no caso de diferença significativa, submetidas ao teste de *Tukey* para médias ao nível de 5% utilizando o programa BioEstat 5.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Cultivos das microalgas

A partir dos valores de densidade óptica e contagem de células mL^{-1} foi observada uma forte correlação linear entre as duas variáveis para os cultivos das microalgas *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata* e *Spirulina platensis*. Dessa forma, foi possível a obtenção das respectivas equações de regressão linear (Tabela 4). A partir destas equações foram determinadas as quantidades ideais de células mL^{-1} a serem ofertadas aos rotíferos diariamente.

Tabela 4 – Coeficiente de determinação (R^2) e equações de regressão linear entre DC e $\text{DO}_{680\text{nm}}$ dos cultivos de *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata* e *Spirulina platensis*.

Microalga	R^2	Equação de regressão linear
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,9850	$y = 0,0159x + 0,0011$
<i>Nannochloropsis oculata</i>	0,9916	$y = 0,0182x - 0,0221$
<i>Spirulina platensis</i>	0,9849	$y = 0,0269x - 0,1271$

Os cultivos foram mantidos sempre na fase de crescimento exponencial, através da realização de repicagens frequentes com substituições parciais dos respectivos meios de cultivo. Para alimentação dos rotíferos, as densidades ópticas das culturas das microalgas foram ajustadas, através de diluição com seus respectivos meios de cultura, de forma a atingirem uma densidade celular em torno de 78×10^4 cels mL^{-1} . Dessa forma, foram estabelecidos os volumes da cultura de cada microalga a serem adicionados aos cultivos dos rotíferos, a fim de manter constante a oferta de alimento aos animais (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores de densidade óptica ($\text{DO}_{680\text{nm}}$), volumes das culturas adicionados e concentrações algais finais para a alimentação dos rotíferos.

Microalga	Densidade óptica ($\text{DO}_{680\text{nm}}$)	Volume das culturas (mL^{-1})	Concentração algal ($\times 10^4$ cels mL^{-1})
<i>S. platensis</i>	0,40	13,44	78,379
<i>N. oculata</i>	0,33	13,63	77,385
<i>C. vulgaris</i>	0,31	13,57	77,711

Sahandi; Jafaryan (2011) relatam a necessidade de manter constante a oferta da microalga *Nannochloropsis oculata* para o cultivo de rotíferos, deixando à disposição dos animais sempre a mesma quantidade de alimento.

3.2 Curva de crescimento dos rotíferos

A tabela 6 mostra as médias das contagens dos rotíferos de cada tratamento. Como podemos observar, a partir do terceiro dia de cultivo dos rotíferos, as densidades populacionais das culturas alimentadas com *N. oculata* foram significativamente superiores do que as observadas nas culturas alimentadas com *S. platensis*, *C. vulgaris* e *S. cerevisiae*, as quais não apresentaram diferenças significativas entre suas respectivas densidades populacionais.

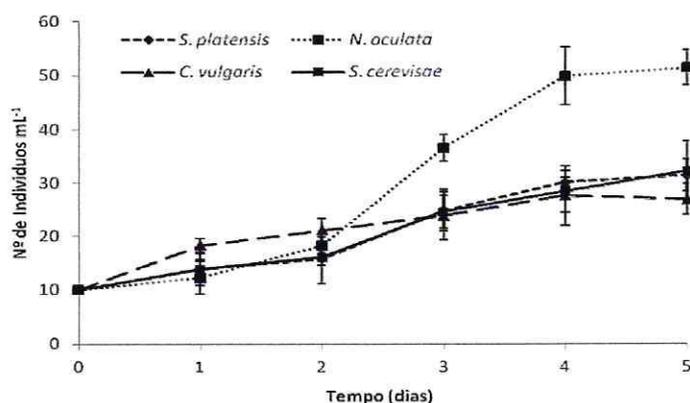
Tabela 6 – Médias e desvios padrões das contagens de rotíferos mL⁻¹, durante os cinco dias de cultivo. Letras diferentes nas colunas mostram diferenças significativas.

Alimentação	Dias				
	1	2	3	4	5
<i>S. platensis</i>	13,75±2,9 ^b	15,75±4,6 ^a	24,75±3,9 ^b	30,00±0,8 ^b	31,25±3,0 ^b
<i>N. oculata</i>	12,25±3,0 ^b	18,25±1,5 ^a	36,50±2,5 ^a	46,00±5,4 ^a	47,50±3,3 ^a
<i>C. vulgaris</i>	18,25±1,3 ^a	21,00±2,2 ^a	23,75±4,5 ^b	27,50±5,6 ^b	26,75±2,9 ^b
<i>S. cerevisiae</i>	13,75±1,9 ^b	16,00±1,4 ^a	24,50±3,1 ^b	28,25±3,9 ^b	32,00±5,5 ^b

As curvas de crescimento populacional dos rotíferos alimentados com as diferentes microalgas e com o fermento biológico são mostradas na Figura 3. As culturas passaram por uma nítida fase de indução até o segundo dia de cultivo com exceção das culturas alimentadas com a microalga *C. vulgaris* que, apesar de não apresentar a fase de indução, já entrou em redução do crescimento relativo a partir do segundo dia sem apresentar a fase de crescimento exponencial. Por outro lado, as culturas alimentadas com *N. oculata*, *S. platensis* e *S. cerevisiae* entraram em crescimento exponencial a partir do segundo dia de cultivo. Esta fase foi inferior para as culturas alimentadas com *N. oculata* permanecendo até o quarto dia de cultivo, enquanto para as culturas alimentadas com *S. platensis* e *S. cerevisiae* foi apenas até o terceiro dia. Foi observada uma fase de redução do crescimento relativo nas

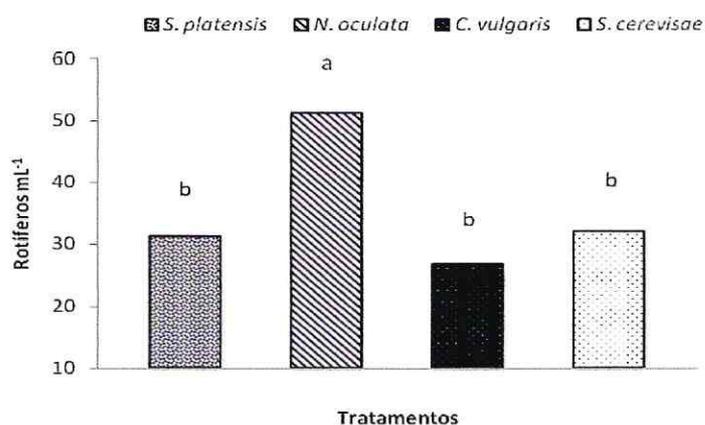
culturas alimentadas com *S.platensis* e *S. cerevisiae* do terceiro para o quarto dia de cultivo, entrando ambas em fase estacionária no quinto dia. As culturas onde foi ofertada *N. oculata*, apesar de não apresentarem uma nítida fase de redução do crescimento relativo, também entraram na fase estacionária no quinto dia de cultivo.

Figura 3 – Curvas de crescimento populacional dos rotíferos alimentados com as diferentes microalgas e com o fermento biológico.



A densidade populacional dos rotíferos ao final do experimento foi significativamente maior quando os animais foram alimentados com a microalga *N. oculata*, chegando a $47,50 \pm 8,3$ indivíduos mL⁻¹ e sem diferença estatística quando os animais foram alimentados com os outros três tipos de alimento (Figura 4).

Figura 4 – Densidades populacionais finais dos rotíferos cultivados com as diferentes microalgas e fermento biológico. As letras diferentes mostram diferença significativa entre os tratamentos.



A ingestão dos tricomas de *S. platensis* pode ter sido dificultada devido à forma filamentosa da microalga (MARQUES, 2010) e, apesar da fácil ingestão das células de *C. vulgaris* e *S. cerevisiae* devido ao pequeno tamanho, a digestão de *C. vulgaris* pelos rotíferos pode ter sido dificultada pela presença de uma parede celular rica em celulose, enquanto o baixo valor nutricional do fermento pode não ter sido suficiente para um maior desenvolvimento da população dos rotíferos.

O melhor crescimento populacional dos rotíferos alimentados com *N. oculata* ocorreu devido às boas características da espécie como sua forma esférica ou levemente ovóide e seu tamanho de aproximadamente 3 μm (MURAKAMI; HASHIMOTO, 2009), compatíveis com o aparato alimentar do *B. plicatilis*, assim como seu alto teor de ácidos graxos polinsaturados (RODOLFI *et al.*, 2009).

Santos *et al.* (2009) mostraram resultados semelhantes alimentando rotíferos *B. plicatilis* com a microalga *Dunaliella salina*, ofertada nas concentrações algais de 60×10^4 e 100×10^4 cels mL^{-1} , partindo de um inóculo com 10 rotíferos mL^{-1} . Observaram ao final de sete dias de cultivo, densidades populacionais de 50 e 80 rotíferos mL^{-1} , respectivamente.

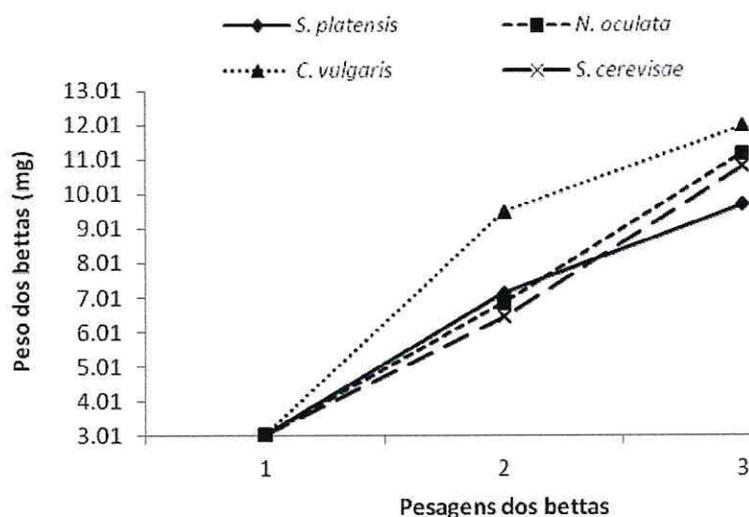
Costa *et al.* (2008) obtiveram uma quantidade final de 268 rotíferos mL^{-1} , em quatro dias de cultivo, utilizando a microalga *Isochrysis galbana* na densidade de 50×10^4 cels mL^{-1} . No entanto os autores partiram de uma densidade inicial de 50 rotíferos mL^{-1} , ou seja, cinco vezes superior a utilizada no presente trabalho.

Durante o cultivo dos rotíferos, os parâmetros de pH e amônia mantiveram-se constantes e satisfatórios, com valores em torno de 8,0 e 0,2 mg L^{-1} , respectivamente.

3.3 Avaliação do desenvolvimento dos betas

A figura 5 mostra o peso médio das larvas de beta alimentadas com os rotíferos enriquecidos com *S. platensis*, *N. oculata*, *C. vulgaris* e *S. cerevisiae*, durante os cinco dias de experimento. Podemos observar um crescimento bastante significativo das pós-larvas. No entanto não houve diferenças significativas entre os tratamentos onde foram oferecidos rotíferos alimentados com as quatro diferentes dietas. Durante todo o experimento com as pós-larvas, foram observadas sobrevivências de 95, 100, 90 e 100% para os tratamentos com rotíferos enriquecidos com *S. platensis*, *N. oculata*, *C. vulgaris* e *S. cerevisiae*, respectivamente.

Figura 5 – Peso médio das pós-larvas de beta alimentadas com rotíferos enriquecidos com as microlgas *S. platensis*, *N. oculata* e *C. vulgaris*, e com o fermento biológico (*S. cerevisiae*).



Apesar da ausência de diferença significativa, foi observada uma tendência de um maior peso das pós-larvas alimentadas com os rotíferos enriquecidos com *C. vulgaris*. No entanto, esse fato ocorreu provavelmente devido a mortalidade de uma pós-larva em cada repetição do referido tratamento e, como não houve reposição, a redução da densidade populacional favoreceu a ingestão de mais rotíferos pelas referidas pós-larvas. No caso das pós-larvas alimentadas com os rotíferos enriquecidos com *S. platensis*, a mortalidade foi observada em apenas duas das repetições, o que não interferiu no peso médio final do experimento. Além disso, a mortalidade foi observada logo após a primeira biometria o que pode ter sido consequência do estresse que foram submetidos.

Fato interessante foi o aumento da salinidade no cultivo das pós-larvas para 5 ao final do experimento. Esse aumento na salinidade foi resultante do aporte de alimento, pois os rotíferos foram cultivados na salinidade 25 e, mesmo sendo filtrados e concentrados em um volume menor antes da oferta às pós-larvas, a quantidade de sal foi aumentando ao passar dos dias. No entanto, devido à grande capacidade de osmoregulação desta espécie, esse fato em nada influenciou nos resultados finais.

A tolerância à salinidade de adultos de betas foi de 100% para tratamentos com 6 e 7 g de sal comum L⁻¹, enquanto a salinidade letal média foi de 9,35 g L⁻¹, comprovando a grande adaptação da espécie a pequenas variações de salinidade (ZUANON *et al.*, 2009).

Experimentos variando a concentração de sal e diferentes tipos de dietas resultaram em diferenças significativas na sobrevivência, mais por causa das dietas que pela presença ou ausência de sal (PUELLO-CRUZ; VELASCO-BLANCO; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, 2010). Ainda segundo os autores, quando as pós-larvas receberam uma alimentação à base de microalgas (*C. vulgaris*), rotíferos e artêmias (TI), foram observadas sobrevivências de $100\pm 0,0$ e $96,7\pm 0,8\%$, para salinidades 0 e 5, respectivamente. Na dieta utilizando microalgas e ração comercial para alevinos (TII), as sobrevivências foram reduzidas para 46,6 e 48,3% para 0 e 5, respectivamente. Por outro lado, quando as pós-larvas foram alimentadas exclusivamente com microalgas, observaram sobrevivências de 46,7 e 23,3% para as salinidades 0 e 5, respectivamente.

O leve aumento da salinidade durante os cultivos das pós-larvas de *B. splendens* alimentadas com rotíferos enriquecidos também pode ser vantajosa, pois os parasitas comumente encontrados na água doce têm maior dificuldade de sobreviver com o aumento da salinidade.

O uso do sal comum durante o manejo de peixes ornamentais tem se mostrado eficiente em reduzir o estresse causado por fatores como captura, transporte e alterações na qualidade da água. Além disso, reduz problemas osmorregulatórios, entre outras respostas fisiológicas ao estresse, levando à redução da mortalidade dos peixes (CARNEIRO; URBINATI, 2001).

Segundo Kubitza (2007), o sal marinho é amplamente disponível, de baixo custo, seguro para os peixes e para quem o manipula e pode ser usado em diversas situações na piscicultura, como por exemplo, na prevenção e controle de doenças, alivia o estresse relacionado às despescas, biometrias, confinamento durante a depuração e como amenizador de condições ambientais adversas como toxidez por nitrito e inflamação das brânquias.

4 CONCLUSÃO

Com a realização do presente trabalho podemos concluir que a alimentação de rotíferos *Brachionus plicatilis* com a microalga *Nannochloropsis oculata* resultou em um crescimento populacional superior aos alimentados com as outras dietas. No entanto, a alimentação das pós-larvas de *Betta splendens* com os rotíferos foi bastante satisfatória, independente da dieta utilizada.

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.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. Gêneros de algas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições), **São Carlos: Rima**, v. 2, p. 03-06, 2006.

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**, Washington, v. 41, n. 12, p. 3012-3018, Jun. 2002.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Salt as a stress mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Günther), during transport. **Aquaculture Research**, v. 32, n. 4, p. 297-304, Apr. 2001.

COSTA, W. M.; FIGUEIREDO, M. B.; CAVALLI, R. O.; GÁLVEZ, A. O. Crescimento populacional de rotíferos *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786), alimentados com microalgas e dieta formulada. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, v. 3, n. 2, p. 173-178, abr/jun. 2008.

FARIA, P.M.C.; CREPALDI, D. V.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; SOUZA, A. B.; CARVALHO, D. C.; MELO D. C.; SALIBA, E. O. S. Criação, manejo e reprodução do peixe *Betta splendens* (Regan, 1910). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 30, n. 3-4, p. 134-149, jul/dez. 2006.

FENGQI, L. Production and Application of Rotifers in Aquaculture. **Aquaculture Magazine** v. 22, n. (3), p. 16-22, 1996.

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.

GOUVEIA, L.; BATISTA, A. P.; MIRANDA, A.; EMPIS, J.; RAYMUNDO, A. *Chlorella vulgaris* biomass used as colouring source in traditional butter cookies. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, n. 3, p. 433-436, Sep. 2007.

GORS, M.; SCHUMANN, R.; GUSTAVS, L.; KARSTEN, U. The potential of ergosterol as chemotaxonomic marker to differentiate between “*Chlorella*” species (Chlorophyta). **Journal of Phycology**, v. 46, n. 6, p.1296-1300, Nov. 2010.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: **Culture of marine invertebrate animal**, SMITH, W. L.; CHANLEY, M. H. (eds.). New York: Plenum Publishing, p. 29-60, 1975.

JAMES, R.; SAMPATH, K. Effect of different feeds on growth and fecundity in ornamental fish, *Betta splendens* (Regan). **Department of Zoology, V.O. Chidambaram College**. Indian Journal Fish. v. 49, n. 3, p. 279-285, Jul/Sep. 2002.

JOURDAN, J. P. Grow your own spirulina. **Revised on Dec. 2001**. 16p.

KUBITZA, F. A versatilidade do sal na piscicultura. **Revista Panorama da Aqüicultura**. Set/Out. 2007.

LIU, Z. Y.; WANG, G. C.; ZHOU, B. C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4717-4722, July 2008.

MARQUES, C. H. P. **Cultivo de rotíferos, *Brachionus plicatilis*, em salidades 10, 20 e 30 alimentados com *Spirulina platensis* viva e filtrada, em condições laboratoriais**. 2010, 43 f. Monografia em Engenharia de Pesca. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. **Energy Conversion and Management**. v. 48, n. 7, p. 2169-2173, July 2007.

MULLER-FEUGA, A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 3-5, p. 527-534, 2000.

MURAKAMI, R.; HASHIMOTO, H. Unusual nuclear division in *Nannochloropsis oculata* (Eustigmatophyceae, Heterokonta) which may ensure faithful transmission of secondary plastids. **Protist**, v. 160, p. 41-49, Feb. 2009.

OHSE, S.; DERNER, R. B.; OZÓRIO, R. A.; BRAGA, M. V. C.; CUNHA, P.; LAMARCA, C. P.; SANTOS, M. E. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. **Revista Biotemas**, v. 21, n. 2, p. 7-18, jun. 2008.

OKAUCHI, M. The status of phytoplankton production in Japan. In: Fulks, W. & Main, K. L. (eds). **Rotifers and microalgae culture systems**. US-Asia Workshop, The Oceanic Institute, Honolulu, HI, 1991. p.247-256.

PAMPLONA, L. G. C.; LIMA, J. W. O.; CUNHA, J. C. L.; SANTANA, E. W. P. Avaliação do impacto na infestação por *Aedes aegypti* em tanques de cimento do município de Canindé, Ceará, Brasil, após a utilização do peixe *Betta splendens* como alternativa de controle biológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n 5 - Uberaba Set/Out. 2004.

PEREIRA, A. M. Produção de alimento vivo: importância e perspectiva para aquicultura. **Universidade Federal Rural de Pernambuco**. Sem data.

PHUKAN, M. M.; CHUTIA, R. S.; KONWAR, B. K.; KATAKI, R. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3307-3312, Oct. 2011.

PUELLO-CRUZ, A. C.; VELASCO-BLANCO, G.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, E. Growth and survival of siamese fighting fish, *Betta splendens*, larvae at low salinity and with different diets. **Journal of the World Aquaculture Society**. v. 41, n. 5, p. 823-828. Oct. 2010.

RODOLFI, L.; ZITTELLI, G. C.; BASSI, N.; PADOVANI, G.; BIONDI, N.; BONINI, G.; TREDICI, M. R. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 102, n. 1, p. 100-112, 2009.

SAHANDI, J.; JAFARYAN, H. Rotifer (*Brachionus plicatilis*) culture in batch system with suspension of algae (*Nannochloropsis oculata*) and bakery yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation. **International Journal of the Bioflux Society**. AACL Bioflux, 2011, v. 4, n. 4. Disponível em: <<http://www.bioflux.com.ro/aac>>. Acesso em: 09 nov. 2011.

SANTOS, A. P. F.; SANTOS, L. B. G.; NASCIMENTO, R. D. M.; MARINHO, Y. F.; CALAZANS, N. K. F.; VASCONCELOS, R. F. L.; DANTAS, D. M. M.; GÁLVEZ, A. O. Análise do crescimento populacional do rotífero *Brachionus plicatilis* alimentados com a microalga *Dunaliella salina*. **IX Jornada de ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009.

SASSANO, C. E. N. **Influência da ureia no crescimento e no teor do ácido graxo - linolênico da biomassa de *Spirulina platensis***. 1999, 144 f. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo.

SEIXAS, M. A. C. **Sobrevivência e crescimento de larvas de Pintado *Pseudoplatystoma corruscans* Agassiz, 1829 (Siluriformes: Pimelodidae) alimentadas com *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff, 1921 (Rotifera: Brachionidae).** 2001, 77 f. Dissertação de defesa de M. Sc. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande/MS.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. **São Carlos:** Rima, 106p, 2003

TREECE, G. D.; DAVIS, D. A. Culture of small zooplankters for the feeding of larval fish. **Southern Regional Aquaculture Center Publication** n. 701, 2000.

VIANNA, W. O *Betta splendens* - “Uma Revisão”. **Publicado na biblioteca virtual da Universidade Federal de Viçosa, e na Revista mania de Bicho.** Disponível em: <http://www.cea-br.org/artigos_bettas_splendens.php>. Acesso em: 13 de ago. 2010.

VIANNA, W. Uma visão crítica sobre a situação atual dos peixes ornamentais no Brasil. Abril/2009. **Bettas Brasil Website.** Disponível em: <http://www.bettabrasil.com.br/artigo_022.asp>. Acesso em: 13 de ago. 2010.

WANG, L.; LI, Y.; CHEN, P.; MIN., M.; CHEN, Y.; ZHU, J.; RUAN, R. R. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella sp.* **Bioresource Technology**, v. 101, n. 8, p. 2623-2628, Apr. 2010.

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

ZUANON, J. A. S.; HISANO, H.; FALCON, D. R.; SAMPAIO, F. G.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Digestibilidade de alimentos protéicos e energéticos para fêmeas de beta. **Revista Brasileira de Zootecnia.** Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 4, p. 987-991. 2007.

ZUANON, J. A. S.; SALARO, A. L.; VERAS, G. C.; TAVARES, M. M.; CHAVES, W. Tolerância aguda e crônica de adultos de beta, *Betta splendens*, à salinidade da água. **Revista Brasileira de Zootecnia.** Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 38, n. 11, p. 2106-2110, 2009.