

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

Efeito da bioencapsulação de ácidos graxos essenciais em *Artemia* sp. utilizada na alimentação de pós-larvas de Bijupirá (*Rachycentron canadum*)

JOSE LUIZ SANCHES GONCALVES JUNIOR

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

JULHO – 2010

Efeito da bioencapsulação de ácidos graxos essenciais em *Artemia* sp. utilizada na alimentação de pós-larvas de Bijupirá (*Rachycentron canadum*)

JOSE LUIZ SANCHES GONCALVES JUNIOR

Biólogo

Faculdade de Tecnologia e Ciências, 2006

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciência Animal, ênfase em Alimentação e Nutrição de Organismos Aquáticos

Orientador: Leandro Portz

Co-orientador: José Jerônimo de Souza Filho

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

JULHO – 2010

FICHA CATALOGRÁFICA

G635

Gonçalves Junior, José Luiz Sanches.

Efeito da bioencapsulação de ácidos graxos essenciais em artêmia sp. utilizada na alimentação de pós-larvas de bijupirá (*Rachycentron canadum*). / José Luiz Sanches Gonçalves Júnior. _ Cruz das Almas – BA, 2010.

65f.; il.

Orientador: Leandro Portz.

Co-orientador: José Jerônimo de Souza Filho.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Área de Concentração: Ciência Animal.

1. Piscicultura. 2. Peixes - Alimentação. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
II. Título.

CDD 639.3

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE
JOSE LUIZ SANCHES GONCALVES JUNIOR**

Prof. Ph.D. Leandro Portz
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
(Orientador)

Prof. Dr. Jose Arlindo Pereira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Ricardo Castelo Branco Albinati
Universidade Federal da Bahia

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
JULHO – 2010**

DEDICATÓRIA

Dedico com carinho e amor ao meu herói (pai), minha luz (mãe) e irmã, que
sempre me apoiaram.

Dedico a todos os amigos e familiares que estiveram juntos neste sonho,
acreditando em minha capacidade.

À minha namorada Rosiane, pela paciência, compreensão, dedicação e carinho
durante esta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde e por ter me guiado ao final desta jornada.

Agradeço aos meus pais, irmã, familiares e amigos pelo apoio e ensinamentos da vida.

A uma grande pessoa chamada Rogério Arapiraca, que através da natação me ensinou a ter determinação e força de vontade pelos meus ideais.

A minha segunda mãe Virginia Guimarães, que sempre me orientou e me indicou os caminhos certos.

Ao meu orientador, pelo aprendizado, orientação, apoio e paciência.

Ao meu co-orientador, chefe e amigo Jerônimo, pela ajuda, convivência sadia, risadas, conhecimento técnico e de vida.

Agradeço à Bahia Pesca, que disponibilizou a estrutura, as pós-larvas e a liberação do horário de trabalho para o mestrado.

Aos Funcionários da Fazenda Oruabo: Beijinho, Íris, Pintor, Siri, Roque (Quingue), Pin, D. Lúcia, D. Ivone (Neném), Pintor, Bargada, Mongol (ordinário), Deco (Del), Dedinho, Gildasio, Neneu, Gado, Seu Zé, D. Cristina, Zé Roberto, Eliane, Flavio (Xô), Reginaldo (Nanico), Fully (Sacanagem) e Carlos Eduardo (Tico), que ajudaram e me incentivaram de forma direta e indireta na condução do experimento.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e ao curso de Mestrado em Ciência Animal pela oportunidade de realização do curso.

À Prof^a Dra. Janice Druzian, da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal da Bahia por oferecer o LAPESCA para realização das análises e paciência.

Ao pessoal do LAPESCA que me ajudou e contribuiu para realização das análises. Em especial Aline Casais Tavares pela amizade, ajuda nas análises e paciência.

Ao aluno de Engenharia de Pesca da UFRB, Leandro S. Neves pela acolhida na república e parceria.

Ao colega de Mestrado, Washington Tavechio pela força companheirismo e ajuda.

À minha grande amiga e companheira Rosiane, que durante esta fase esteve do meu lado me apoiando e incentivando na realização deste sonho. E a todos de sua família que contribuíram indiretamente.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
Capítulo 1 EFEITO DA BIOENCAPSULAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS EM <i>Artemia sp.</i> , ALIMENTADA COM PRODUTOS COMERCIAIS	11
Capítulo 2 INCORPORAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS EM PÓS-LARVAS DE BIJUPIRÁ (<i>Rachycentron canadum</i>), ALIMENTADAS COM <i>Artemia sp.</i> ENRIQUECIDA	28
CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
ANEXO A	51
ANEXO B	58

EFEITO DA BIOENCAPSULAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS EM
Artemia sp. UTILIZADA NA ALIMENTAÇÃO DE PÓS-LARVAS DE BIJUPIRÁ
(*Rachycentron canadum*)

Autor: Jose Luiz Sanches Goncalves Junior

Orientador: Leandro Portz

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da bioencapsulação de ácidos graxos essenciais em artêmia na alimentação de pós-larvas de Bijupirá (*Rachycentron canadum*) em sistema fechado de produção de larvas. Para o presente estudo os tratamentos foram definidos como 1:1 de ω 3 Yeast 60® e Red Papper® (TR-1 = RED+YEAST) e 1:1 de ω 3 Yeast 60® e Algamac 3050® (TR-2 = A3050+YEAST), respectivamente, avaliando os perfis de ácidos graxos essenciais nos produtos, nas artêmias e nas pós-larvas de bijupirá. As pós-larvas de bijupirá foram alimentadas quatro vezes ao dia em uma densidade de 1 artemia/ml entre o 10º ao 18º DAE exclusivamente com artêmia oriundas dos dois tratamentos. Os produtos comerciais TR-1 e TR-2 bem como as artêmias enriquecidas por eles apresentaram perfis significativamente diferentes ($p < 0,05$) para o ácido linoléico, DHA, totais de AGPI, n-3 AGPI, n-6 AGPI e DHA/EPA. O ácido graxo linolênico ARA e EPA não apresentaram correlação significativa entre os tratamentos na artêmia. E as pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-2 apresentaram um aumento significativo no DHA e no total de n-3 AGPI em relação às pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-1. Os resultados obtidos neste estudo indicam a baixa eficiência na incorporação de DHA e a relação DHA/EPA na artêmia alimentada com TR-1, sugerindo uma retroconversão desse ácido graxo para EPA. Entretanto, as pós-larvas de bijupirá possuem uma alta incorporação de ácidos graxos essenciais, após um período de alimentação com artêmia enriquecida. Diferente de outras espécies de peixes marinhos o bijupirá não evidencia o alongamento da cadeia dos ácidos graxos essenciais, mas preferencialmente retenção no tecido das pós-larvas.

Palavras-chave: Ácidos graxos, enriquecimento, incorporação, larvicultura.

EFFECT OF THE ENRICHMENT OF ESSENTIAL FATTY ACID IN *Artemia* sp.
USED IN FEED FOR POST-LARVAE COBIA (*Rachycentron canadum*)

Autor: Jose Luiz Sanches Goncalves Junior

Orientador: Leandro Portz

Abstract: The present study had as objective evaluates the effect of the enrichment of essential fatty acids in *Artemia* in the feeding of Cobia fish larvae (*Rachycentron canadum*) in closed water system. In the present study the treatments were defined as 1:1 of n3 Yeast 60® and Red Papper® (TR-1 = RED+YEAST) and 1:1 of n3 Yeast 60® and Algamac 3050® (TR-2 = A3050+YEAST), respectively, appraised the profiles of essential fatty acids in the products, and Cobia larvae. The fish larvae were fed four times a day in a density of 1 *artemia*/ml among the 10th to 18th DAE exclusively with *artemia* originating from of the two treatments. The commercial products TR-1 and TR-2 as well as the enriched *artemia* by them presented profiles significantly different ($p < 0,05$) for the linoleic acid, DHA, total of AGPI, n-3 AGPI, n-6 AGPI and DHA/EPA. The linolenic acid, ARA and EPA didn't present significant correlation among the treatments in the *artemia* enrichment. And the post-larvae fed with *artemia* enriched with TR-2 presented a significant increase in DHA and in the n-3 total AGPI as post-larvae fed with *artemia* enriched with TR-1. The results obtained in this study indicate the low efficiency in the incorporation of DHA and the relationship DHA/EPA in the *artemia* fed with TR-1, suggesting a conversion of that fatty acid EPA. However, the cobia possess a high incorporation of essential fatty acids, after a feeding period with *artemia* enriched. Different from other species of sea fish the cobia doesn't evidence the prolongation of the chain of the essential fatty acids, but preferentially retention in the tissue of the post-larvae.

Key-words: Fatty acids, enrichment, incorporation, larviculture.

INTRODUÇÃO

O Bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) é um peixe marinho cosmopolita, pelágico, migrador e que durante os períodos de desova (primavera e verão) utiliza costas e baías ao longo da zona tropical, subtropical e em águas temperadas com exceção aparente do Oceano Pacífico Oriental (BRIGGS, 1960).

Destaca-se no mundo pela facilidade de adaptação a desovas naturais, com altas taxas de fecundidade e um grande potencial zootécnico, podendo alcançar 5 - 6 kg no período de um ano em cultivos realizados em sistema de tanques redes no mar (ARNOLD et al., 2002; LIAO et al., 2004).

No Brasil o bijupirá se distribui em todo o litoral, em especial no Nordeste, onde foi realizada a primeira desova de bijupirá do Brasil pela Bahia Pesca, na Bahia em 2006 (CARVALHO FILHO, 2006).

Esta espécie merece atenção especial para a fase de pós-larvas, fase esta considerada a mais crítica do cultivo, pois depende do alimento exógeno vivo para sua nutrição, sendo os mais utilizados para este fim os rotíferos (*Brachionus* sp.) e o microcrustáceo (*Artemia* spp.) (HASSLER; RAINVILLE, 1975; FAULK; HOLT, 2003, 2005; FAULK et al., 2007a; BENETTI et al., 2008).

Com o avanço da tecnologia na alimentação das pós-larvas de peixes marinho, esta pode ser melhorada através da técnica de bioencapsulação (enriquecimento) do alimento vivo com dietas que atendam as exigências nutricionais, sendo esta técnica de fundamental importância para o sucesso da larvicultura (LAVENS; SORGELOOS, 1996; HOFF; SNELL, 1999).

Durante a fase de larvicultura de peixes carnívoros marinhos ocorre uma transição gradativa na alimentação, onde o rotífero é oferecido como primeiro alimento exógeno, sendo substituído gradualmente por náuplio de artêmia. Durante a transição do alimento vivo, as pós-larvas de peixes marinhos necessitam de dietas ricas em nutrientes essenciais, sendo necessária a técnica de enriquecimento utilizando-se a *Artemia salina* como veículo (MERCHIE, 1996).

Nas fases de náuplio e metanáuplio, o microcrustáceo *Artemia* spp. é um dos alimentos vivos mais utilizados na alimentação de peixes marinhos. Isto porque é de fácil obtenção através de cistos, é resistente a amplas faixas de parâmetros abióticos, à manipulação e a enfermidades, tem grande aceitabilidade, suporta altas densidades, são de fácil digestibilidade, um tamanho que varia de 400 a 600 micra e possuem uma movimentação ativa, ideal para estimular a captura pela pós-larva e se mantêm por um maior período de dias na alimentação, comparado com outros organismos como os rotíferos (LAVENS; SORGELOOS, 1996; HOFF; SNELL, 1999).

A *Artemia* sp. apresenta um valor nutricional baixo para as pós-larvas de peixes marinhos; oito horas após a eclosão, os náuplios entram na fase de metanáuplios, passando a se alimentar de pequenas partículas. Assim, para obtenção de um valor nutricional ideal as artêmias utilizadas na alimentação inicial das pós-larvas de peixes marinhos, são submetidas ao processo de bioencapsulamento (enriquecimento) com nutrientes (LAVENS; SORGELOOS, 1996).

O bioencapsulamento da *Artemia* sp. tem como função principal incorporar ao metanáuplio quantidades específicas de nutrientes essenciais como aminoácidos, ácidos graxos essenciais, vitaminas, imunonutrientes e probióticos, e assim, serem indiretamente biodisponibilizados às pós-larvas de peixes como alimento.. O enriquecimento deve ser capaz de suprir as exigências nutricionais e microbiológicas da espécie de peixe em estudo, através da transferência bioquímica e microbiológica, fazendo com que o melhoramento tenha um impacto positivo na sobrevivência, crescimento e no desenvolvimento das pós-larvas de peixes marinhos em larvicultura (LAVENS; SORGELOOS, 1996; HOFF; SNELL, 1999).

REVISÃO BIBLIOGRAFICA

O Bijupirá, *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766), é o único representante da família Rachycentridae. É um peixe marinho cosmopolita, pelágico, migrador e que durante os períodos de desova (primavera e verão) utiliza costas e baías ao longo da zona tropical, subtropical e em águas temperadas com exceção aparente do Oceano Pacífico Oriental (BRIGGS, 1960; SHAFFER; NAKAMURA, 1989).

A espécie se destaca dentre os peixes marinhos tropicais, por possuir larga distribuição geográfica, elevada qualidade da carne, crescimento rápido (CHOU et al., 2001; LIAO et al., 2004; BENETTI et al., 2007), fecundidade elevada, facilidade de desova induzida e natural em cativeiro (FRANKS et al., 2001; ARNOLD et al., 2002), resistência a doenças e boa adaptação ao confinamento nos tanques (SCHWARZ, 2004). O processo de larvicultura do bijupirá vem sendo estudado por diversos pesquisadores (FAULK; HOLT, 2003, 2005; FAULK et al., 2007; HOLT et al., 2007; BENETTI et al., 2008).

O bijupirá merece atenção especial para a fase de pós-larvas, fase esta considerada a mais crítica do cultivo, pois depende do alimento exógeno vivo para sua nutrição, sendo os mais utilizados para este fim os rotíferos (*Brachionus* sp.) e o microcrustáceo (*Artemia* spp.) (HASSLER; RAINVILLE, 1975; FAULK; HOLT, 2003, 2005; FAULK et al., 2007a; BENETTI et al., 2008). Segundo KUBITZA (1997) as pós-larvas de peixes apresentam trato-digestivo rudimentar por ocasião da transição entre o vitelo (alimento endógeno) e alimento externo. O alimento vivo (rotífero e artêmia) são os primeiros alimentos externos para as pós-larvas da maioria dos peixes cultivados. Enzimas digestivas presentes nestes organismos são liberadas pela ação física das pós-larvas durante a captura e a ingestão. Estas enzimas desencadeiam a hidrólise das proteínas do próprio alimento vivo ingerido e estimulam a secreção de enzimas pelo trato digestivo das pós-larvas, facilitando os processos de digestão e absorção dos nutrientes.

FAULK; HOLT, (2005) conduziram estudos para determinar os efeitos do enriquecimento de rotíferos e artêmia utilizando microalgas e dietas comerciais, no crescimento e sobrevivência de pós-larvas de bijupirá, e avaliando os benefícios da adição de microalgas no tanque de cultivo. FAULK et al., (2007) cultivaram pós-larvas em sistema de recirculação de água para melhorias no controle da temperatura e qualidade da água na criação.

HOLT et al., (2007) revisaram a larvicultura de bijupirá para determinar as necessidades de produção, focando os resultados recentes de desovas, larvicultura e iniciativas para futuros estudos na área. BENETTI et al., (2008) testaram a eficácia de protocolos experimentais, incorporando o uso de probiótico, profilaxia, diminuição no uso de microalgas, e inclusão de dietas comerciais para o enriquecimento do alimento vivo.

Na produção de pós-larvas de muitas espécies de peixes marinhos, tais como: pargo (*Pagrus pagrus*), garoupas ([*Epinephelus spp*](#)), robalos (*Centropomus spp*), vermelhos (*Lutjanus spp*), robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), atuns (*Thunnus spp*) podem ser oferecidos rotíferos *Brachionus plicatilis* como alimento vivo inicial, e, posteriormente, *Artemia* sp. e *Artemia salina* (*Branchipus stagnalis*), após um período inicial com um alimento vivo menor. Entretanto, as larvas dos peixes marinhos são cultivadas geralmente utilizando apenas *Artemia* sp. na dieta, como alimento vivo por um período de tempo muito mais longo (MERCHIE, 1996).

O bijupirá tem o início de sua alimentação com o rotífero *Brachionus plicatilis*, que vai do 3º ao 7º dia após a eclosão (DAE), havendo a transição do rotífero para o náuplio de *Artemia* sp. a partir do 7º ao 8º DAE. Após o 8º DAE, as pós-larvas de bijupirá começam a se alimentar da *Artemia* sp. enriquecida, até ser realizado o “desmame” (FAULK; HOLT, 2005).

Pós-larvas de peixes marinhos, ao contrário da maioria das espécies de água doce, não possuem as enzimas necessárias para a síntese dos ácidos eicosapentenoico (EPA, C-20:5 ω -3), e docosahexenoico (DHA, C-22:6 ω -3), a partir de seu precursor de cadeia mais curta, o ácido linolênico (C-18:3 ω -3). Em vista disso, é essencial que os ácidos graxos, conhecidos como poli-insaturados (AGPI's ω -3), sejam fornecidos através da dieta. Esta exigência é considerada uma característica típica da nutrição de pós-larvas de peixes marinhos (SARGENT et al., 1989; WATANABE, 1993). A inclusão de uma pequena

quantidade (0,5 a 1% do peso seco) do ácido araquidônico (ARA, C-20:4 ω -6) em dietas utilizadas para larvicultura foi associada a maiores taxas de sobrevivência e maior resistência das larvas de *Sparus aurata* e *Scophthalmus maximus* ao estresse causado pela mudança de salinidade ou manipulação (CASTELL et al., 1994; SARGENT et al., 1999; BESSONART et al., 1999; KOVEN et al., 2001).

Segundo LAVENS; SORGELOOS, (1996) os náuplios e os metanáuplios de *Artemia sp.* normalmente apresentam um valor nutricional reduzido para as pós-larvas de peixes marinhos quando fornecidas oito horas após a eclosão onde os náuplios entrarão na fase de metanáuplio, passando a se alimentar de pequenas partículas. Assim, para obter um maior valor nutricional das artêmias utilizadas na alimentação inicial das pós-larvas de peixes marinhos, são realizados processos de bioencapsulamento dos nutrientes para uma posterior biodisponibilização indireta dos nutrientes as pós-larvas.

A utilização de AGPI no enriquecimento da artêmia foi realizada para ter um efeito significativo na larvicultura dos peixes marinhos, e conduzir ao aumento da sobrevivência e da variabilidade dos peixes na larvicultura, tornando-se, assim, importante no desenvolvimento da produção comercial. Além disso, a resistência das pós-larvas ao manejo, melhoria da pigmentação, redução nas deformidades, melhora nas inflações da bexiga natatória e aumento na natação, tem sido correlacionada diretamente com o enriquecimento de AGPI na dieta das pós-larvas (MERCHIE, 1996).

Um dos aspectos mais importantes para o desenvolvimento das pós-larvas de peixe marinho diz respeito ao fornecimento de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI's) incluindo o ácido araquidônico (ARA, C-20:4 ω -6), o ácido eicosapentênico (EPA, C-20:5 ω -3) e o ácido docosahexenóico (DHA, C-22:6 ω -3) (SARGENT et al., 1989; KANAZAWA, 1993; WATANABE, 1993; REITAN et al., 1994; LAVENS; SORGELOOS, 1996; BARRETO; CAVALCANTI, 1997; HOFF; SNELL, 1999). Estes ácidos não são sintetizados pelas pós-larvas de peixes marinhos e possuem um importante papel na estrutura, função e manutenção das membranas celulares, resistência ao estresse, desenvolvimento e funcionamento adequado do sistema nervoso e visual das pós-larvas de peixes marinhos (MERCHIE, 1996).

Em resultados publicados por FAULK; HOLT, (2003) a composição dos ácidos graxos nos ovos e larvas de bijupirá *Rachycentron canadum* apresentaram altos níveis de DHA, EPA e ARA, que constituem aproximadamente 80% dos ácidos graxos poli-insaturados.

Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da bioencapsulação de ácidos graxos essenciais em *Artemia* sp. na alimentação de pós-larvas de Bijupirá (*Rachycentron canadum*) em sistema fechado de produção de larvas. As metodologias e os resultados são apresentados nos capítulos a seguir: Capítulo 1: Efeito da bioencapsulação de ácidos graxos essenciais em *Artemia* sp., alimentada com produtos comerciais; e Capítulo 2: Incorporação de ácidos graxos essenciais por pós-larvas de Bijupirá (*Rachycentron canadum*), alimentadas com *Artemia* sp. enriquecida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNOLD, C.R. et al.. Spawning of cobia *Rachycentron canadum* in captivity. **J. World Aquac. Soc.** v. 33(2), 205-208, 2002.

BARRETO, O. J.; CAVALCANTI, D. G., Enriquecimento de alimentos vivos para alimentação de larvas de organismos marinhos: uma breve revisão. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, 24 (único): 139-159, 1997.

BENETTI, D.D. et al. Aquaculture of Cobia (*Rachycentron canadum*) in the Americas and the Caribbean. In: Liao, I.C., Leano, E.M. (Eds.), *Cobia Aquaculture: Research, Development, and Commercial Production*. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, World Aquaculture Society, Louisiana, USA, The Fisheries Society of Taiwan, Keelung, Taiwan, and National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan, p. 57-77, 2007.

BENETTI, D.D. et al. Intensive larval husbandry and fingerling production of cobia *Rachycentron canadum*, **Aquaculture**, 2008. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.03.030.

BESSONART, M. et al. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture** v. 179, 265-275 1999.

BRIGGS, J.C., Fishes of worldwide (circumtropical) distribution. **Copeia**. V. 3 p. 171-180, 1960.

CARVALHO FILHO, J. O êxito da primeira desova do bijupirá. *Panorama da Aqüicultura*. V. 16, n 97, 40-45, 2006.

CASTELL, J. D. et al. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, v. 128, p. 315-333, 1994.

CHOU, R.-L. et al. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 193, p. 81–89, 2001.

FAULK, C.K. et al. Ontogeny of the gastrointestinal tract and selected digestive enzymes in cobia *Rachycentron canadum* (L.). **Journal of Fish Biology** v. 70, p. 567-583, 2007b.

FAULK, C.K.; HOLT, G.J. Lipid nutrition and feeding of cobia *Rachycentron canadum* larvae. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 34, p. 368–378, 2003.

_____. Advances in rearing cobia *Rachycentron canadum* larvae in recirculating aquaculture systems: live prey enrichment and greenwater culture. **Aquaculture**, v. 249, p. 231–243, 2005.

FAULK, C.K. et al. Growth and survival of larval and juvenile cobia *Rachycentron canadum* in a recirculating raceway system. **Aquaculture**, v. 270, p. 149–157, 2007a.

FRANKS, J.S. et al. Spontaneous spawning of cobia, *Rachycentron canadum*, induced by human chorionic gonadotropin (HCG), with comments on fertilization, hatching, and larval development. **Proc. Caribb. Fish. Inst.** v. 52, p. 598-609, 2001.

HASSLER, W.W.; RAINVILLE, R.P. Techniques for hatching and rearing cobia, *Rachycentron canadum*, through larval and juvenile stages. **University of North Carolina Sea Grant College Program**, UNC-SG-75-30, Raleigh, North Carolina. P. 26, 1975.

HOFF, F. H., SNELL, T. W. **Plankton culture manual**, 5th edition. Florida: Nelsen, J. (Ed.), p. 160, 1999.

HOLT, G.J. et al. A review of the larvae culture of cobia *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. **Aquaculture**, v. 268, p. 181–187, 2007.

KANAZAWA A. Importance of dietary docosahexaenoic acid on growth and survival of fish larvae. In: Lee CS, Su MS, Liao IC. (Eds), **Finfish Hatchery in Asia: Proceeding of finfish Hatchery in Asia 91**. TML Conference Proceeding 3, p. 87–95, 1993.

KOVEN, W. et al. Advances in the development of microdiets for gilthead seabream, *Sparus aurata*: a review. **Aquaculture**, v. 194, p. 107-121, 2001.

KUBITZA, F. **Nutrição e Alimentação dos Peixes**. ESALQ-USP, Brasil. p. 74, 1997.

LAVENS, P; SORGELOOS, P. (eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. **FAO Fisheries Technical Paper**. No. 361. Rome, FAO. p. 295, 1996.

LIAO, I.C. et al. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Aquaculture**, v. 237, p. 155–165, 2004.

MERCHIE, G. Use of nauplii and meta-nauplii, p. 137-163
In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. **FAO Fisheries Technical Paper** No. 361. Lavens, P. & Sorgeloos, P. (Eds.), p. 295, 1996.

SARGENT, J. R. et al. The lipids. In: Haver, J. (Ed.), Fish Nutrition, 2 nd ed. NY, **Academic Press**, p. 153-218, 1989.

SARGENT, J. et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. **Aquaculture**, v. 177, p. 191-199, 1999.

SCHWARZ, M.H. Fingerling production still bottleneck for cobia culture. **Glob. Aquac.** Advocate 7(1), p. 40–41, 2004.

SHAFFER, R.V.; NAKAMURA, E.L., 1989. Synopsis of biological data on the cobia, *Rachycentron canadum*. (Pisces:Rachycentridae). **FAO Fisheries Synop.** 153 (NMFS/S 153). U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Rep. NMFS 82. p. 21, 1989.

WATANABE, T. Importance of Docosahexaenoic Acid in Marine Larval Fish. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 24, p. 153-161, 1993.

CAPÍTULO 1

EFEITO DA BIOENCAPSULAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS EM *Artemia* sp., ALIMENTADA COM PRODUTOS COMERCIAIS

Artigo submetido ao comitê editorial do periódico científico Anais da Academia Brasileira de Ciências

Efeito da bioencapsulação de ácido graxo essencial em *Artemia* sp.
Alimentada com produtos comerciais

Jose Luiz Sanches Gonçalves Junior^{I,III}; Leandro Portz^{II}; José Jerônimo de Sousa Filho^{III}; Aline Casais Tavares^{IV}

^I Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa, 710, Centro, 44380-00, Cruz das Almas, BA, Brasil.

^{II} Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua Pioneiro, 2153, Jd. Dallas, 85950-000 Palotina, PR, Brasil

^{III} Bahia Pesca, Av. Adhemar de Barros, 967, Ondina 40170-110 Salvador, BA, Brasil

^{IV} Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada (LAPESCA), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Rua Barão do Jeremoabo, 147, Ondina, 40170-115 Salvador, BA, Brasil

Palavra-chave: Ácidos graxos. Alimentação. Enriquecimento. Incorporação.

Incorporação de ácido graxo essencial em *Artemia* sp..

Zootecnia / Recursos Pesqueiros

Jose Luiz Sanches Gonçalves Junior, End. Av. Luiz Viana Filho, 6151, Ed. Ipanema, AP. 304, Paralela, 41730-101 Salvador, BA, Brasil. Tel: 071 81289464/071 33669441 E-mail: juniorssanches@hotmail.com

ABSTRACT: In marine fish hatchery the transition period of the live prey feed, they are necessary strategies for essential nutrients incorporation on diets, being necessary the enrichment technique with *Artemia* as vehicle. In the present study two types of treatments were accomplished for the enrichment to a rate of 0,6 g/106/*Artemia* for a period of 12:00, totaling 24:00 of enrichment to a density of 150 *Artemia*/ml maintained in 35 psu and 28,4±0,5 °C. The treatments were defined like 1:1 of n3 Yeast 60® and Red Papper® (TR-1 = RED+YEAST) and 1:1 of n-3 Yeast 60® and Algamac 3050® (TR-2 = A3050+YEAST), respectively and appraised the profiles of acids essential fatty acids of the products and *Artemia*. The commercial products TR-1 and TR-2 as well as the enrichment *Artemia* for them, presented profiles significantly different ($p < 0,05$) for the acid linoleic, DHA, total of AGPI, n-3 AGPI, n-6 AGPI and DHA/EPA. The fatty acid linolenic, ARA and EPA didn't present significant correlation among the treatments. The low efficiency in the incorporation of DHA and relationship DHA/EPA in TR-1 being used commercial enrichments; they suggest a retro conversion of that fatty acid for EPA.

Key-words: Enrichment. Feeding. Fatty acids. Incorporation.

INTRODUÇÃO

Na produção de pós-larvas de muitas espécies de peixes marinhos, tais como: pargo (*Pagrus pagrus*), garoupas ([*Epinephelus spp*](#)), robalos (*Centropomus spp*), vermelhos (*Lutjanus spp*), robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), atuns (*Thunnus spp*) podem ser oferecidos rotíferos *Brachionus plicatili* como alimento vivo inicial, e, posteriormente, *Artemia* sp. e *Artemia salina* (*Branchipus stagnalis*), após um período inicial com um alimento vivo menor. Entretanto, as larvas dos peixes marinhos são cultivadas geralmente utilizando apenas *Artemia* sp. na dieta, como alimento vivo por um período de tempo muito mais longo (Merchie 1996).

Durante a fase de larvicultura de peixes carnívoros marinhos ocorre uma transição gradativa na alimentação, onde o rotífero é oferecido como primeiro alimento exógeno, sendo substituído gradualmente por náuplio de artêmia. Durante a transição do alimento vivo, as pós-larvas de peixes marinhos necessitam de dietas ricas em nutrientes essenciais, sendo necessária a técnica de enriquecimento utilizando-se a *Artemia salina* como veículo (Merchie 1996).

Com o avanço da tecnologia na alimentação das pós-larvas de peixes marinho, esta pode ser melhorada através da técnica de bioencapsulação (enriquecimento) do alimento vivo com dietas que atendam as exigências nutricionais, sendo esta técnica de fundamental importância para o sucesso da larvicultura (Lavens and Sorgeloos 1996, Hoff and Snell 1999).

Nas fases de náuplio e metanáuplio, o microcrustáceo *Artemia* spp. é um dos alimentos vivos mais utilizados na alimentação de peixes marinhos. Isto porque é de fácil obtenção através de cistos, é resistente a amplas faixas de parâmetros abióticos, à manipulação e a enfermidades, tem grande aceitabilidade, suporta altas densidades, são de fácil digestibilidade, um tamanho que varia de 400 a 600 micra e possuem uma movimentação ativa, ideal para estimular a captura pela pós-larva e se mantêm por um maior período de dias na alimentação, comparado com outros organismos como os rotíferos (Lavens and Sorgeloos 1996, Hoff and Snell 1999).

A *Artemia* sp. apresenta um valor nutricional baixo para as pós-larvas de peixes marinhos; oito horas após a eclosão, os náuplios entram na fase de

metanúplios, passando a se alimentar de pequenas partículas. Assim, para obtenção de um valor nutricional ideal as artêmias utilizadas na alimentação inicial das pós-larvas de peixes marinhos, são submetidas ao processo de bioencapsulamento com nutrientes (Lavens and Sorgeloos 1996).

O bioencapsulamento da *Artemia* sp. tem como função principal incorporar ao metanúplio quantidades específicas de nutrientes essenciais como aminoácidos, ácidos graxos essenciais, vitaminas, imunonutrientes e probióticos, e assim, serem indiretamente biodisponibilizados às pós-larvas de peixes como alimento. O enriquecimento deve ser capaz de suprir as exigências nutricionais e microbiológicas da espécie de peixe em estudo, através da transferência bioquímica e microbiológica, fazendo com que o melhoramento tenha um impacto positivo na sobrevivência, crescimento e no desenvolvimento das pós-larvas de peixes marinhos em larvicultura (Lavens and Sorgeloos 1996, Hoff and Snell 1999).

Um dos aspectos mais importantes para o desenvolvimento das pós-larvas de peixe marinho diz respeito ao fornecimento de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI's) incluindo o ácido araquidônico (ARA, C-20:4 ω -6), o ácido eicosapentênico (EPA, C-20:5 ω -3) e o ácido docosahexenóico (DHA, C-22:6 ω -3) (Sargent et al. 1989, Kanazawa 1993, Watanabe 1993, Reitan et al. 1994, Lavens and Sorgeloos 1996, Barreto and Cavalcanti 1997, Hoff and Snell 1999). Os AGPI's e ARA's, possuem um importante papel na estrutura e função da manutenção das membranas, resistência ao esforço, desenvolvimento e funcionamento adequado do sistema nervoso e visual das pós-larvas (Merchie 1996).

O presente estudo tem como objetivo avaliar diferentes estratégias de enriquecimentos sobre o perfil de ácidos graxos essenciais incorporados pelas *Artemias* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Piscicultura Marinha da Fazenda Experimental Oruabo, Bahia Pesca S.A., Secretaria de Agricultura do Estado da Bahia, localizado no distrito de Acupe, Município de Santo Amaro – BA – Brasil. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Pescados e

Cromatografia Aplicada da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia.

Incubação do cisto de *Artemia* sp.

Os cistos de *Artemia* sp. utilizados para o experimento foram adquiridos da empresa BioArtemia. *Ltda.*, Grossos, Rio Grande do Norte.

Os cistos de *Artemia* sp. foram desinfectados com solução de hipoclorito de sódio 5% e hidratados por 45 minutos em água doce, em seguida removidos (Lavens and Sorgeloos 1996). Os cistos foram incubados em tanques de eclosão cilíndricos cônicos de fibra de vidro com capacidade de 30 litros, cor escura e fundo claro, com água previamente filtrada em filtros mecânicos de areia, filtros cunco de 5 e 1 μm e esterilizada com luz ultravioleta. Foi mantida aeração constante, luz por 24 h, densidade de 1 g/l, e mantidos em 30 psu e temperatura de 28,5 °C.

Após a eclosão os náuplios de *Artemia* sp. recém-eclodido foram separados dos demais cistos que não eclodiram, concentrados e transferidos para tanques de polietileno de 50l para serem enriquecidos.

Metodologia do enriquecimento

O enriquecimento da *Artemia* sp. ocorreu após 8h da eclosão do cisto, período necessário para a abertura do trato digestivo. As artêmias foram colocadas em emulsões enriquecedoras e diluídas em água do mar 35 psu.

Foram realizados dois tipos de tratamentos para o enriquecimento a uma taxa de 0,6 g/10⁶artêmia por dois intervalos de 12 h, totalizando 24 h de enriquecimento com uma densidade de aproximadamente 150 artêmia/ml mantidas em 35 psu e 28,4 \pm 0,5 °C.

Os tratamentos foram definidos em uma proporção de 1:1 de ω 3 Yeast 60® e Red Papper® ambos da Bernaqua® (TR-1 = RED+YEAST) e numa proporção de 1:1 de ω 3 Yeast 60® e Algamac 3050®, da Bernaqua® e Aquafauna Bio-Marine® (TR-2 = A3050+YEAST), respectivamente (Tabela 1). Para cada tratamento foram realizadas três repetições de enriquecimento. Os

enriquecedores dos tratamentos foram misturados em água salgada e distribuídos aos tanques de enriquecimento.

Após um período de 24 h de enriquecimento uma quantidade de 15 g de artêmia foi coletada e imediatamente congelada a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, para posterior análise da composição de ácidos graxos.

Análise química por cromatografia gasosa dos ácidos graxos

Para a análise dos ácidos graxos nos enriquecedores, nos náuplios e nas artêmias foram extraídos das amostras o lipídio bruto por gravimetria através da mistura de clorofórmio:metanol:água (2,0:1,0:0,8), de acordo com o método de Bligh-Dyer (1959).

A extração foi realizada a frio utilizando-se clorofórmio:metanol:água, obtendo-se todas as classes de lipídios que foram submetidos a transesterificação (Joseph and Ackman 1992) com NaOH 0,5 N e solução de trifluoreto de boro (BF_3) a 14%, ambas em metanol, e a composição de ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa.

A determinação dos metil ésteres de ácidos graxos (AG) foi realizada em cromatógrafo gasoso (CG VARIAN – CP 3800) com detector de ionização em chama (DIC) equipado com injetor split/splitless (razão do split; 50:1 - $T_i = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_d = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{He} = 1,3\text{ ml/min}$), coluna CP-WAX (25 m x 0,25 mm x 0,20 μm) = 150 $^{\circ}\text{C}$ /16 min, 2 $^{\circ}\text{C/min}$ até 180 $^{\circ}\text{C}$ /25 min, 5 $^{\circ}\text{C/min}$ até 210 $^{\circ}\text{C}$ /10 min. As identificações foram realizadas por comparação dos tempos de retenção (T_r) dos metil ésteres de ácidos graxos das amostras padrões e a quantificação por normalização de área. Os tempos de retenção e as porcentagens de área foram computados automaticamente pelo integrador.

Análise estatística

Para a comparação entre as médias foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) com nível de significância (α) fixado em 5%. Para as variáveis onde as médias dos tratamentos apresentaram diferença significativa foi realizado o Teste de Tukey para comparação entre as médias.

A regressão linear foi aplicada para avaliar a incorporação dos ácidos graxos essenciais dos diferentes enriquecedores em *Artemia* sp.. As análises foram processadas utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira 2000).

RESULTADOS

Os enriquecedores comerciais TR-1 e TR-2 apresentaram perfis significativamente diferentes ($p < 0,05$) para o ácido linoléico, DHA, total de AGPI, n-3 AGPI, n-6 AGPI e DHA/EPA. Entretanto para perfil do ácido linolênico, ARA e EPA não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Análise da composição de ácidos graxos essenciais (% total de ácidos graxos) na matéria seca presente nos enriquecedores comerciais da *Artemia* sp..

Ácido Graxos	TR-1 = RED+YEAST	TR-2 = A3050+YEAST
18:2 n-6	6,11 ± 0,27 ^a	0 ^b
18:3 n-3	0,19 ± 0,19 ^a	0,36 ± 0,01 ^a
20:4 n-6	1,51 ± 0,28 ^a	1,53 ± 0,03 ^a
20:5 n-3	1,83 ± 0,18 ^a	1,67 ± 0,03 ^a
22:6 n-3	51,70 ± 0,20 ^a	32,18 ± 0,09 ^b
Σ AGPI	41,81 ± 0,57 ^b	55,24 ± 0,08 ^a
n-3 AGPI	34,19 ± 0,55 ^b	53,72 ± 0,06 ^a
n-6 AGPI	7,62 ± 0,01 ^a	1,53 ± 0,03 ^b
DHA/EPA	17,73 ± 1,6 ^b	31,05 ± 0,52 ^a
EPA/ARA	1,22 ± 0,11 ^a	1,09 ± 0,03 ^a

Valores (média ± Desvio Padrão) seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Tratamento 1: Red Papper + ω 3 Yeast 60 (TR-1 = RED+YEAST); Tratamento 2: Algamac 3050 + ω 3 Yeast 60 (TR-2 = A3050+YEAST). AGPI: são ácidos graxos orgânicos de moléculas lineares que podem ter de 4 a 22 carbonos em sua estrutura, com duas ou mais duplas ligações.

Os náuplios recém-eclodidos de *Artemia* sp. e as *Artemia* sp. enriquecidas com ácidos graxos essenciais apresentaram perfis significativamente diferentes entre si ($p < 0,05$). Porém, a relação de EPA/ARA não diferiu estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Análise da composição de ácidos graxos essenciais (% total de ácidos graxos) presente no náuplio de *Artemia* sp. e na *Artemia* sp. alimentada com diferentes enriquecimento.

Ácido Graxos	Náuplio	TR-1 = RED+YEAST	TR-2 = A3050+YEAST
18:2 n-6	6,60 ± 0,58 ^b	8,29 ± 0,77 ^a	4,18 ± 0,31 ^c
18:3 n-3	3,19 ± 0,55 ^a	3,54 ± 0,37 ^a	1,99 ± 0,15 ^b
20:4 n-6	1,29 ± 2,24 ^c	9,02 ± 1,00 ^a	5,31 ± 0,68 ^b
20:5 n-3	6,27 ± 5,43 ^a	10,71 ± 1,00 ^a	8,39 ± 0,63 ^a
22:6 n-3	0 ^c	2,27 ± 0,27 ^b	14,31 ± 0,09 ^a
Σ AGPI	17,35 ± 5,69 ^b	33,81 ± 3,41 ^a	34,17 ± 1,85 ^a
n-3 AGPI	9,46 ± 4,90 ^b	16,5 ± 1,63 ^b	24,69 ± 0,87 ^a
n-6 AGPI	7,89 ± 1,84 ^b	17,31 ± 1,78 ^a	9,48 ± 0,98 ^b
DHA/EPA	0 ^c	0,21 ± 0,01 ^b	1,71 ± 0,19 ^a
EPA/ARA	0,8 ± 1,40 ^a	1,19 ± 0,02 ^a	1,59 ± 1,40 ^a

Valores (media ± Desvio Padrão) seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0.05). Náuplio: artêmia recém eclodida; Tratamento 1: Red Papper + ω3 Yeast 60 (TR-1 = RED+YEAST); Tratamento 2: Algamac 3050 + ω3 Yeast 60 (TR-2 = A3050+YEAST). AGPI: são ácidos graxos orgânicos de moléculas lineares que podem ter de 4 a 22 carbonos em sua estrutura, com duas ou mais duplas ligações.

Na Figura 1 foram comparados os ácidos graxos DHA, ARA, EPA, Linoléico, Linolênico, n-3 AGPI e conteúdo de n-6 AGPI no enriquecedor, e o incorporado na artêmia. Como a quantidade de DHA, Linoléico, n-3 AGPI e n-6 AGPI aumentou no enriquecedor, um correspondente aumento foi evidenciado na artêmia enriquecida.

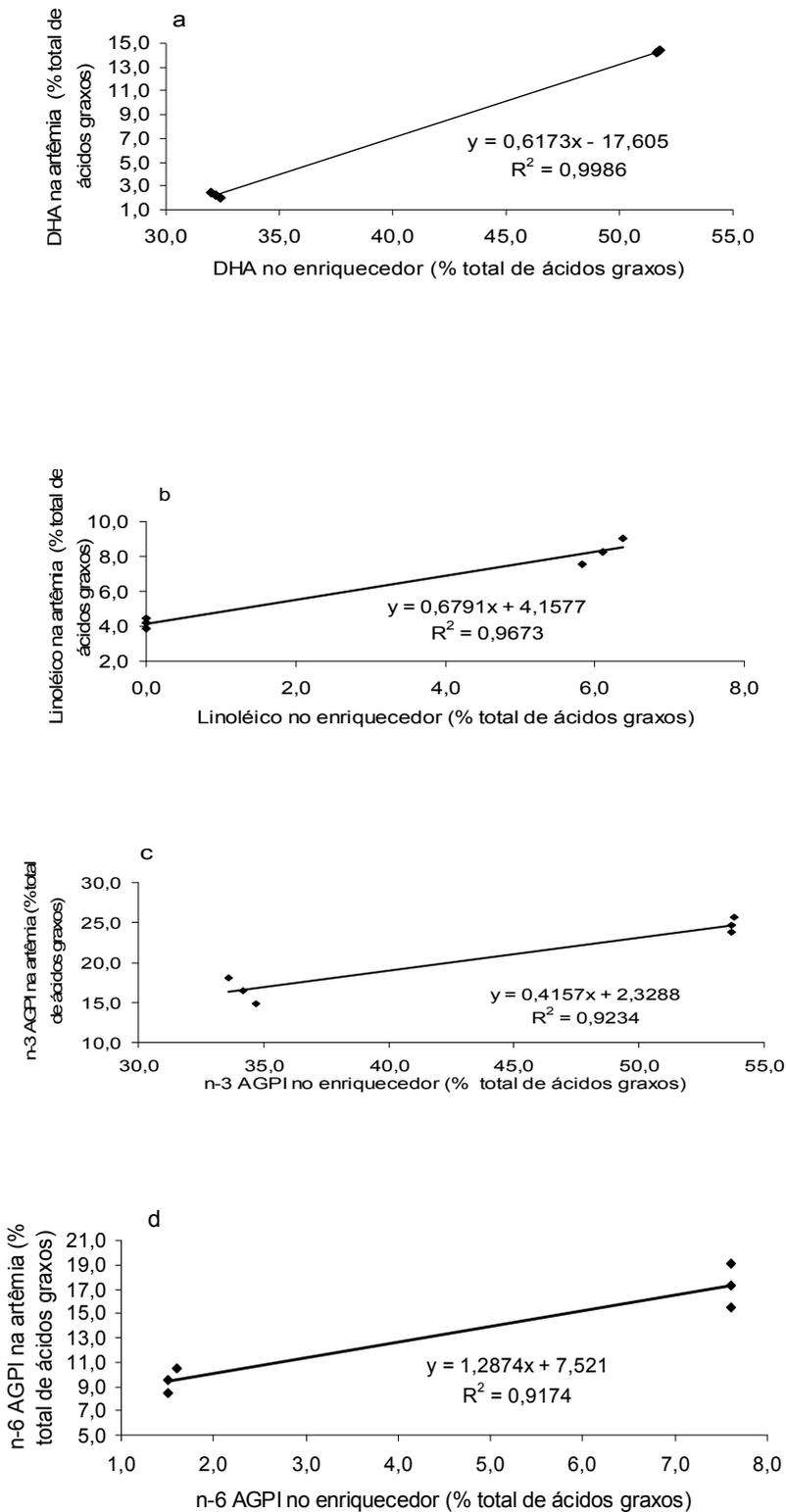


Figura - 1. Correlação entre a porcentagem de DHA (a), Linoléico (b), n-3 AGPI (c) e n-6 AGPI (d) no produto comercial enriquecedor e a porcentagem de ácidos graxos na artéria após 24 h de enriquecimento.

DISCUSSÃO

No presente estudo diferentes enriquecedores comerciais foram utilizados para fornecer níveis de ácidos graxos essenciais, avaliando seu perfil e incorporação na artêmia, objetivando a alimentação de peixes-marinheiros. Segundo Sargent et al. (1989), Kanazawa (1993), Watanabe (1993), Reitan et al. (1994), Lavens and Sorgeloos (1996), Barreto and Cavalcanti (1997), Hoff and Snell (1999), um dos aspectos mais importantes para o desenvolvimento das pós-larvas de peixe-marinho diz respeito ao fornecimento de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI's) incluindo o ácido araquidônico (ARA, C-20:4 ω -6), o ácido eicosapentênico (EPA, C-20:5 ω -3) e o ácido docosahexenóico (DHA, C-22:6 ω -3) (Sargent et al. 1989, Kanazawa 1993, Watanabe 1993, Reitan et al. 1994, Lavens and Sorgeloos 1996, Barreto and Cavalcanti 1997, Hoff and Snell 1999). Estes não são sintetizados pelas pós-larvas de peixes-marinheiros e possuem um importante papel na estrutura, função e manutenção das membranas, resistência ao esforço, desenvolvimento e funcionamento adequado do sistema nervoso e visual das pós-larvas de peixes-marinheiros (Merchie 1996).

Os náuplios recém-eclodidos de artêmia apresentaram, dentre o total de ácidos graxos, a quantidade de 3,19% de ácido linolênico, 6,60% de ácido linoléico, 0% de DHA, 6,27% de EPA e 1,29% de ARA, e para as artêmias enriquecidas o percentual de ácido linolênico (3,54% e 1,99%), ácido linoléico (8,29% e 4,18%), DHA (2,27% e 14,31%), EPA (10,71% e 8,39%) e ARA (9,02% e 5,31%), respectivamente para TR1 e TR2. Estes resultados demonstram que houve um aumento nos níveis destes ácidos, após um período de 24h de enriquecimento com os produtos comerciais. Segundo Lavens and Sorgeloos (1996), os náuplios e os metanáuplios de artêmia apresentam um valor nutricional baixo para as pós-larvas de peixes-marinheiros, necessitando do processo de enriquecimento de nutrientes para serem utilizadas em larvicultura. Diversos estudos com enriquecimento com ácidos graxos essenciais demonstram o aumento nos níveis destes ácidos na *Artemia* sp., após o enriquecimento (Mourente and Tocher 1992, Navarro et al. 1997, Estevez et al. 1998, Ham et al. 2000 and 2001, Faulk and Holt 2005, Holt et al. 2007). Han et al. (2000)

observaram que após um período de 24h de enriquecimento com n-3 AGPI os níveis de DHA, EPA e total de n-3 AGPI na artêmia aproximadamente dobram.

No presente estudo foi observado que quando a quantidade de DHA, Linoléico, n-3 AGPI e n-6 AGPI é aumentada no enriquecedor, esses ácidos graxos essenciais são também aumentados na artêmia enriquecida, demonstrando a eficiência do processo de enriquecimento. Essa tendência foi observada por Han et al. (2000), que, em seu estudo de estratégias de enriquecimento para artêmia, usando emulsões fornecidas com 0%, 30% e 50% de n-3 AGPI, demonstraram que com o aumento nas porcentagens de n-3 AGPI no enriquecedor, os ácidos graxos DHA, EPA e o total de n-3 AGPI são aumentados na artêmia enriquecida. Neste mesmo trabalho os autores observaram que a artêmia exibe uma menor eficiência na incorporação de DHA, do que EPA. Holt et al. (2007) enriqueceram artêmia com produtos comerciais (Aquagrow e Algamac), e observaram um aumento significativo nos níveis de ARA e DHA. Han et al. (2001) avaliando a eficiência na incorporação de três dietas numa proporção de 50%:50% de (DHA e ácido oléico), (EPA:ácido oléico) e (ARA:ácido oléico), demonstraram um aumento na incorporação do ácido DHA, EPA e ARA, sendo que a incorporação menos eficiente foi de DHA, comparado com ARA ou EPA.

Em peixes, o DHA é o maior constituinte das membranas celulares, especialmente rico nos tecidos neurais e visuais, nos quais são rapidamente incorporados e retidos durante a ausência da dieta (Mourente and Tocher 1992). No presente estudo os enriquecedores testados apresentaram quantidades de DHA 51,70% e 32,18% nos tratamentos TR-1 e TR-2, respectivamente. Entretanto, na análise do total de ácidos graxos na artêmia enriquecida com TR-1 e TR-2 a concentração de DHA foi 2,27% e 14,31%, respectivamente, para os enriquecedores testados. Em termos proporcionais o TR-2 foi muito mais eficiente na incorporação de DHA. No entanto, esses dados mostram que a concentração do DHA do enriquecedor TR-2 mostrou-se menor em relação ao do enriquecedor TR-1, porém o DHA do enriquecimento da artêmia alimentada com A3050+YEAST foi superior. Navarro et al. (1997) estudaram o catabolismo de DHA na artêmia durante um período de 24h de enriquecimento com o enriquecedor radiolabelled DHA, e observaram a habilidade desta para retroconverter a incorporação de DHA para EPA. Estevez et al. (1998) concluíram

que os níveis de DHA diminuíram na artêmia com relação ao encontrado inicialmente no enriquecimento, após um período de ausência de alimento, provavelmente pela retroconversão de DHA para EPA e a mobilização da energia para o crescimento. Han et al. (2001) relatam em seu estudo que o resultado de enriquecimento com emulsões contendo AGPI, exibe uma incorporação inferior de DHA comparada com EPA e ARA, provavelmente relacionada às conversões metabólicas de DHA para EPA pelo náuplio de artêmia.

A diminuição na eficiência da incorporação de DHA na artêmia alimentada com enriquecedor comercial, que possui quantidades maiores de DHA, ajuda a explicar a retroconversão desse ácido graxo para EPA e a quantidade baixa da razão DHA/EPA no TR-1 para o presente estudo.

O grande crescimento na produção de pós-larvas de peixes-marinheiros demonstra a importância de estudos para melhorar a incorporação de ácidos graxos essenciais em artêmias. Este estudo demonstrou a eficiência do processo de enriquecimento e a habilidade da artêmia em retroconverter a incorporação de DHA para EPA. Sendo assim, experimentos devem ser realizados neste sentido, para demonstrar a real capacidade desta retroconversão e seu nível ideal de incorporação para cada ácido graxo essencial.

RESUMO: Na larvicultura de peixes marinhos, durante a fase de transição do alimento vivo, são necessárias estratégias para o enriquecimento de dietas vivas com nutrientes essenciais, sendo necessária a técnica de bioencapsulação, utilizando-se a *Artemia* sp. como veículo. No presente estudo foram realizados dois tipos de tratamentos para o enriquecimento a uma taxa de 0,6 g/10⁶/artêmia por um período de intervalos de 12 h, totalizando 24 h de enriquecimento a uma densidade de 150 artêmia/ml mantidas em 35 psu e 28,4±0,5 °C. Os tratamentos foram definidos como 1:1 de ω3 Yeast 60® e Red Papper® (TR-1 = RED+YEAST) e 1:1 de ω3 Yeast 60® e Algamac 3050® (TR-2 = A3050+YEAST), respectivamente e avaliados os perfis de ácidos graxos essenciais nos produtos e nas artêmias. Os produtos comerciais TR-1 e TR-2 bem como as artêmias enriquecidas por eles apresentaram perfis significativamente diferentes (p<0,05) para o ácido linoléico, DHA, totais de AGPI, n-3 AGPI, n-6 AGPI e DHA/EPA. O ácido graxo linolênico, ARA e EPA não apresentaram correlação significativa entre os tratamentos. A baixa eficiência na incorporação de DHA e relação DHA/EPA no TR-1 utilizando-se enriquecedores comerciais sugerem uma retroconversão desse ácido graxo para EPA.

Palavras-chave: Ácido graxo. Alimento. Artêmia. Enriquecimento. Incorporação.

REFERÊNCIAS

Barreto OJ and Cavalcanti DG. 1997. Enriquecimento de alimentos vivos para alimentação de larvas de organismos marinhos: uma breve revisão. B. Inst. Pesca, São Paulo, 24 (único): 139-159.

Bligh EG and Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.

Estevez A, McEvoy LA, Bell JG, Sargent JR. 1998. Effects of temperature and rate of loss of essential fatty acids in *Artemia* náuplio previously enriched using arachidonic acid and eicosapentaenoic acid-rich emulsions. *Aquaculture* 165: 295-311.

Faulk CK and Holt GJ. 2005. Advances in rearing cobia *Rachycentron canadum* larvae in recirculating aquaculture systems: live prey enrichment and greenwater culture. *Aquaculture* 249: 231–243.

Faulk CK, Kaiser JB, Holt GJ. 2007. Growth and survival of larval and juvenile cobia *Rachycentron canadum* in a recirculating raceway system. *Aquaculture* 270: 149–157.

Ferreira DF. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, 45., São Carlos. Programas e Resumos... São Carlos: UFSCar, Julho de 2000. p. 255-258.

Han K, Geurden I, Sorgeloos P. 2001. Fatty acid changes in enriched and subsequently starved *Artemia franciscana* náuplio enriched with different essential fatty acids. *Aquaculture* 199: 93-105.

Han K, Geurden I, Sorgeloos P. 2000. Enrichment strategies for *Artemia* using emulsions providing different levels of n – 3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture* 183: 335-347.

Hoff FH and Snell TW. 1999. Plankton culture manual, 5 nd ed. Flórida: Nelsen J, 160 p.

Holt GJ, Faulk CK, Schwarz MH. 2007. A review of the larvicultura of cobia *Rachycentron canadum*, a warm water marine fish. *Aquaculture* 268: 181-187.

Joseph JD and Ackman RG. 1992. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75: 488-506.

Kanazawa A. 1993. Importance of dietary docosahexaenoic acid on growth and survival of fish larvae. In: Lee CS, Su MS, Liao IC. (Eds), *Finfish Hatchery in Asia: Proceeding of finfish Hatchery in Asia 91*. TML Conference Proceeding 3, p. 87–95.

Lavens P and Sorgeloos P. (Eds), 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*, n. 361, 295 p.

Merchie G. 1996. Use of nauplii and meta-nauplii, 137-163 In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper No. 361*. Lavens P and Sorgeloos P (Eds.), 295 p.

Mourete G and Tocher DR. 1992. Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22:6n-3) levels in brais of developing turbot. *Aquaculture* 105: 363-377.

Navarro JC, Henderson RJ, McEvoy LA. 1997. Lipid turnover in enriched *Artemia* náuplio. *British/Spanish Joint Research Programme No. 1238*, 10 p.

Reitan KI, Rainuzzo JR, Olsen Y. 1994. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquacul. Int.* 2: 33–48.

Sargent JR, Henderson RJ, Tocher DR. 1989. The lipids. In: Haver, J. (Eds), *Fish Nutrition*, 2 nd edn. NY, Academic Press 153-218.

Watanabe T. 1993. Importance of Docosahexaenoic Acid in Marine Larval Fish. J. World Aquac. Soc. 24: 153-161.

CAPITULO 2

INCORPORAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS EM PÓS-LARVAS
DE BIJUPIRÁ (*Rachycentron canadum*), ALIMENTADAS COM *Artemia sp.*
ENRIQUECIDA

Incorporação de ácidos graxos essenciais em pós-larvas de bijupirá
(*Rachycentron canadum*), alimentadas com *Artemia* sp. enriquecida

Jose Luiz Sanches Gonçalves Junior^{1, c}; Leandro Portz²; José Jerônimo de Sousa
Filho³; Aline Casais Tavares⁴

Jose Luiz Sanches Gonçalves Junior, End. Av. Luiz Viana Filho, 6151, Ed.
Ipanema, AP. 304, Paralela, 41730-101 Salvador, BA, Brasil. Tel: +55 71 8128-
9464/+55 71 3366-9441 E-mail: juniorssanches@hotmail.com

Incorporação de ácidos graxos essenciais em pós-larvas de bijupirá com *Artemia*
sp. enriquecida

Palavras-chave: Ácidos graxos. Alimentação. Alimento vivo. Enriquecimento.

¹ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa, 710,
Centro, 44380-00, Cruz das Almas, BA, Brasil.

² Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua Pioneiro, 2153, Jd. Dallas, 85950-
000 Palotina, PR, Brasil

³ Bahia Pesca, Av. Adhemar de Barros, 967, Ondina 40170-110 Salvador, BA,
Brasil

⁴ Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada (LAPESCA), Universidade
Federal da Bahia (UFBA), Rua Barão do Jeremoabo, 147, Ondina, 40170-115
Salvador, BA, Brasil

1. RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a incorporação de ácidos graxos essenciais por pós-larvas de Bijupirá (*Rachycentron canadum*), alimentadas com *Artemia* sp. enriquecida. Pós-larvas de bijupirá foram alimentadas quatro vezes ao dia em uma densidade de uma artêmia/ml entre o 10º e o 18º DAE exclusivamente com artêmias oriundas dos dois tratamentos com misturas de enriquecedores, TR-1 (n-3 Yeast 60® e Red Papper®) e TR-2 (n-3 Yeast 60® e Algamac 3050®). Os náuplios de artêmia enriquecidos apresentaram composições de ácidos graxos essenciais significativamente diferentes ($p < 0,05$). A composição do ácido graxo essencial linoléico, linolênico, ARA, EPA e o total de n-6 AGPI nas pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-1 apresentaram aumento significativo em relação às alimentadas com artêmia enriquecida com TR-2. As pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-2 apresentaram um aumento significativo no DHA e no total de n-3 AGPI em relação às pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-1. Os resultados obtidos neste estudo indicam que as pós-larvas de bijupirá possuem uma alta incorporação de ácidos graxos essenciais, após um período de alimentação com artêmia enriquecida. O bijupirá não evidencia o alongamento da cadeia dos ácidos graxos essenciais, mas preferencialmente retenção no tecido das pós-larvas.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Alimentação. Alimento vivo. Enriquecimento.

2. INTRODUÇÃO

O Bijupirá (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) é um peixe marinho cosmopolita, pelágico, migrador e que durante os períodos de desova (primavera e verão) utiliza costas e baías ao longo da zona tropical, subtropical e em águas temperadas com exceção aparente do Oceano Pacífico Oriental (Briggs, 1960).

Destaca-se no mundo pela facilidade de adaptação a desovas naturais, com altas taxas de fecundidade e um grande potencial zootécnico podendo alcançar 5 - 6 kg no período de um ano nos cultivos realizados em tanques redes no mar (Arnold et al. 2002; Liao et al. 2004).

Esta espécie merece atenção especial para a fase de pós-larvas, já que é considerada a mais crítica do cultivo, pois depende do alimento exógeno vivo para sua nutrição sendo os mais utilizados para este fim os Rotíferos (*Brachionus* sp.) e o micro crustáceo (*Artemia* spp.) (Hassler & Rainville 1975; Faulk & Holt 2003, 2005; Faulk et al. 2007a; Benetti et al. 2008).

Com o avanço da tecnologia na alimentação das pós-larvas de peixes marinho, esta pode ser melhorada através da técnica de bioencapsulação (enriquecimento) do alimento vivo com dietas que atendam suas exigências nutricionais, sendo de fundamental importância para o sucesso do cultivo (Lavens & Sorgeloos 1996; Hoff & Snell 1999).

Nas fases de náuplio e metanáuplio, o microcrustáceo *Artemia* spp. é um dos alimentos vivos mais utilizados na alimentação de peixes marinhos. Isto porque é de fácil obtenção através de cistos, é resistente a amplas faixas de parâmetros abióticos, à manipulação e a enfermidades, tem grande aceitabilidade pelas pós-larvas, suporta altas densidades, são de fácil digestibilidade, apresentam tamanho que varia de 400 a 600 micra e possuem uma movimentação ativa, ideal para estimular a captura pela pós-larva e se mantêm por um maior período de dias na alimentação, comparado com o rotífero (Lavens & Sorgeloos 1996; Hoff & Snell 1999).

A *Artemia* sp. apresenta um valor nutricional baixo para as pós-larvas de peixes marinhos; oito horas após a eclosão, os náuplios entram na fase de metanáuplios, passando a se alimentar de pequenas partículas. Assim, para obter um maior valor nutricional adequado das artêmias utilizadas na alimentação inicial

das pós-larvas, são realizados processos de enriquecimento com nutrientes específicos (Lavens & Sorgeloos 1996).

O bioencapsulamento da *Artemia* sp. tem como função principal incorporar ao metanúplio quantidades específicas de nutrientes como aminoácidos, ácidos graxos essenciais, vitaminas, imunonutrientes e probióticos. O enriquecimento deve ser capaz de suprir as exigências nutricionais e microbiológicas da espécie em estudo, através da transferência bioquímica e microbiológica, fazendo com que o melhoramento tenha um impacto positivo na sobrevivência, crescimento e no desenvolvimento das pós-larvas em larvicultura (Lavens & Sorgeloos 1996; Hoff & Snell 1999).

Inicialmente para as pós-larvas obterem as enzimas exógenas, para desencadear a hidrólise e estimulando a secreção de enzimas endógenas, é necessária a ação física durante a captura e a ingestão do alimento vivo Kubitza (1997). Entre o 18° e o 22° dia após eclosão (DAE), as pós-larvas de bijupirá apresentam o trato digestivo totalmente desenvolvido, com enzimas para absorção dos nutrientes (Faulk et al. 2007b).

Um dos aspectos mais importantes para o desenvolvimento das pós-larvas de peixe marinho diz respeito ao fornecimento de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI's) incluindo o ácido araquidônico (ARA, C-20:4 ω -6), o ácido eicosapentênico (EPA, C-20:5 ω -3) e o ácido docosahexenóico (DHA, C-22:6 ω -3) (Sargent et al.1989; Kanazawa 1993; Watanabe 1993; Reitan et al. 1994; Lavens & Sorgeloos 1996; Barreto & Cacalcanti 1997; Hoff & Snell 1999). Estes ácidos não são sintetizados pelas pós-larvas de peixes marinhos e possuem um importante papel na estrutura, função e manutenção das membranas, resistência ao esforço, desenvolvimento e funcionamento adequado do sistema nervoso e visual das pós-larvas de peixes marinhos Merchie (1996).

Segundo Faulk & Holt, (2003) a composição de ácidos graxos de ovos de bijupirá *Rachycentron canadum* e de larvas com vitelo possuem altos níveis de DHA, EPA e ARA que constitui aproximadamente 80% dos ácidos graxo poli-insaturados necessários para as primeiras horas de sobrevivência das larvas.

Devido a importância das exigências em nutrientes essenciais o presente estudo teve como objetivo avaliar a incorporação de ácidos graxos essenciais por pós-larvas de Bijupirá (*Rachycentron canadum*), alimentadas com *Artemia* sp. enriquecida cultivadas em sistema fechado de larvicultura.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Piscicultura Marinha da Fazenda Experimental Oruabo da empresa Bahia Pesca S.A. ligada à Secretaria de Agricultura do Estado da Bahia. O laboratório está localizado no distrito de Acupe, Município de Santo Amaro – BA – Brasil. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Pescados e Cromatografia Aplicada da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia.

3.1 Obtenção das pós-larvas

As pós-larvas de bijupirá utilizadas no presente estudo foram obtidas através de desova natural de reprodutores mantidos em cativeiro no Laboratório de Piscicultura Marinha da Fazenda Experimental Oruabo.

3.2 Incubação e transferência dos ovos, larvas e pós-larvas

Após a desova, no período da noite, os ovos foram coletados, contados através de estimativa volumétrica e colocados em incubadoras de 500 litros, na proporção de 300 ovos/L⁻¹. Durante a desova e a transferência, a salinidade permaneceu em 35,7 g L⁻¹ e a temperatura em 27,5 °C. Após a eclosão, uma amostra volumétrica foi retirada da incubadora para determinar o número total de larvas e a taxa de eclosão.

Ao final de dois dias após a eclosão (DAE), quando as larvas apresentam a vesícula vitelínica, foram agrupadas e transferidas para dois tanques de 4.000 L⁻¹, com água previamente filtrada em filtro mecânico de areia, filtro cunco de 5 e 1 µm, e esterilizada com luz ultravioleta. A salinidade e oxigênio dissolvido foram monitorados durante o período que as larvas ficaram nos tanques e variaram entre 35,5 ± 0,4 g L⁻¹ e 5,5 ± 0,3 mg L⁻¹, respectivamente. A média da temperatura da água foi de 26,5 ± 0,5 °C no tanque 1 e 26,2 ± 0,4 °C no tanque 2. O fotoperíodo se manteve natural durante todo o experimento. A amônia, nitrito e pH foram 0,5 mg L⁻¹, 0,5 mg L⁻¹ e 7,5 ± 0,3, respectivamente.

Durante o período que as larvas ficaram nos tanques foi adicionada a microalga *Nannochloropsis oculata* e rotífero enriquecido até o 9º DAE. No 10º

DAE foram retiradas três amostras de pós-larvas para análise inicial do perfil de ácidos graxos da carcaça total, realizada a biometria inicial e sua transferência. No 11° DAE, as pós-larvas foram transferidas e iniciaram-se os estudos em 12 unidades experimentais.

3.3 Enriquecimento do rotífero e da artêmia

Os rotíferos *Brachionus plicatilis* utilizados neste estudo foram obtidos de cultivos em tanques cilíndricos cônicos de fibra de vidro de 2.000 L de cor escura com fundo claro, com densidade de aproximadamente 150 rot/ml em sistema semicontínuo e alimentados com aproximadamente 250.000 cel/ml de *N. oculata* e 100.000 cel/ml de *Isochrysis galbana* no mesmo laboratório onde foram realizados os estudos.

O enriquecimento dos rotíferos *B. plicatilis* teve como objetivo aumentar os níveis de AGPI's dos mesmos e se deu através de uma proporção de 1:1:1 de ω 3 Yeast 60, Red Pepper e Oleo n-3 (Bernaqua®) durante 12 h em tanques de policloreto de vinilo (PVC) de 100 L⁻¹ com densidade de aproximadamente 400 rot/ml, baseado em estudos preliminares conduzidos no laboratório. Os rotíferos foram mantidos em salinidade de 30 g L⁻¹ e temperatura 28,5 ± 0,4 °C ao longo da incorporação.

A *Artemia* sp. foi obtida através da eclosão de cisto (BioArtemia®). Esta eclosão se deu após 45 min de hidratação com água doce, desinfecção com hipoclorito de sódio e a remoção do mesmo no cisto. Em seguida, os cistos numa densidade de 1 g L⁻¹ foram transferidos para tanque cilíndrico cônico de fibra de vidro de 30 L⁻¹ de cor escura e fundo claro, com aeração e luz por 24 h e mantidos em salinidade de 30 g L⁻¹ e 28,5 °C. O náuplio de artêmia recém-eclodido foi concentrado e transferido para tanques de PVC de 50 L⁻¹ sendo armazenados em sala refrigerada com 20 °C.

O enriquecimento da artêmia foi realizado em um período de 8 h após a eclosão do cisto, tempo necessário para a abertura de seus tratos digestivos. As artêmias foram colocados em emulsões enriquecedoras e diluídas em água do mar a 35 g L⁻¹. Para o enriquecimento usou-se uma taxa de 0,6 g/10⁶artêmia, por um período a cada 12 h, totalizando 24 h de enriquecimento, com densidade de aproximadamente 150 artêmia/ml e mantidas em 35 g L⁻¹ e 28,4±0,5 °C.

Os enriquecedores foram divididos em dois tratamentos. No tratamento 1 com uma proporção de 1:1 de ω 3 Yeast 60® e Red Papper®, e no tratamento 2 com uma proporção de 1:1 de ω 3 Yeast 60® e Algamac 3050® (Tabela 1).

Após um período de 24 h de enriquecimento uma quantidade de 15 g de artêmia foi coletada e imediatamente congelada a -80 °C, para posterior análise da composição de ácidos graxos.

Tabela 1

3.4 Alimentação das pós-larvas

A pré-alimentação das pós-larvas dos bijupirás experimentais se deu no final da fase da absorção da vesícula vitelínica utilizando rotífero *B. plicatilis* enriquecido em uma proporção de 1:1:1 de ω 3 Yeast 60, Red Pepper e Oleo ω 3 todos da Bernaqua®. Os rotíferos foram fornecidos quatro vezes ao dia para as pós-larvas, na densidade inicial de três rotíferos/ml chegando, gradativamente, até o 7º DAE, a aproximadamente cinco rotíferos/ml. No 7º DAE, houve uma diminuição gradativa na densidade de rotíferos, até o 9º DAE, período em que as pós-larvas passaram a se alimentar somente dos náuplios de artêmia quatro vezes por dia na densidade de 0,5 náuplios/ml, chegando à densidade de um náuplio/ml no 10º DAE.

Após o 10º DAE foi iniciado o período experimental, quando as pós-larvas foram alimentadas exclusivamente com artêmias enriquecidas oriundas dos dois tratamentos com duas misturas de enriquecedores, tratamento 1 (ω 3 Yeast 60® e Red Papper® da Bernaqua®) (TR-1=RED+YEAST), e tratamento 2 (ω 3 Yeast 60® e Algamac 3050®) (TR-2=A3050+YEAST), Bernaqua® e Aquafauna Bio-Marine®, respectivamente. A alimentação dos tratamentos foi realizada quatro vezes ao dia em uma densidade de uma artêmia/ml, até o 18º DAE.

As unidades experimentais eram compostas cada uma por dois tratamentos com seis repetições utilizando uma densidade de cinco pós-larvas de bijupirá/litro, totalizando 350 pós-larvas/tanque (unidade). Cada unidade era composta por um tanque de 100 L em polietileno com volume útil de 70 L⁻¹, aeração constante e entrada e saída de água filtrada e esterilizada por luz ultravioleta. A recirculação da água foi realizada por um dreno com um tubo de 100 mm perfurado em toda

sua extensão e revestido com uma tela de 60 μm para evitar a possível saída do alimento vivo e das pós-larvas. O fotoperíodo foi o natural, a intensidade luminosa reduzida em 80% através de uma cobertura e a temperatura ambiente de 28 °C.

Salinidade e oxigênio dissolvido foram monitorados durante o período que as pós-larvas permaneceram nas unidades experimentais. Os parâmetros eram ideais para a espécie, para o tratamento 1 e tratamento 2, observou-se $35 \pm 0.4 \text{ g L}^{-1}$, $5,8 \pm 0,3 \text{ mg L}^{-1}$, $35,2 \pm 0.4 \text{ g L}^{-1}$ e $5,6 \pm 0,3 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente. A média da temperatura da água foi de $28,5 \pm 0,5 \text{ °C}$ para o tratamento 1 e $28,7 \pm 0,5 \text{ °C}$ para o tratamento 2. Valores médios dos parâmetros de amônia, nitrito e pH monitorados foram $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $7,5 \pm 0,3$, respectivamente, para os dois tratamentos.

O final do experimento se deu no 18º DAE com a biometria final e avaliação da sobrevivência. Para análise do perfil de ácidos graxos das amostras de carcaças dos tratamentos foi coletado um “pool” de peixes por unidade e as amostras imediatamente congeladas em ultrafreezer a -80 °C.

3.5 Análise dos ácidos graxos essenciais

Para determinação dos ácidos graxos nos enriquecedores, nos náuplios de artêmia, nas artêmias enriquecidas e nas pós-larvas de bijupirá foram extraídos os teores de lipídio bruto por gravimetria após extração, com uma mistura de clorofórmio:metanol:água (2,0:1,0:0,8), de acordo com o método de Bligh-Dyer (1959).

Após a extração do lipídio, as amostras foram submetidas a transesterificação (Joseph & Ackman 1992) com NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e solução a 14% de trifluoreto de boro (BF_3), ambas em metanol, e a composição de ácidos graxos determinada por cromatografia gasosa (CG VARIAN – CP 3800). A determinação dos metil ésteres de ácidos graxos (AG) foram analisadas utilizando um detector de ionização em chama (DIC) equipado com injetor split/splitless (razão do split; 50:1, $T_i = 250^\circ\text{C}$, $T_d = 280^\circ\text{C}$, $\text{He} = 1,3 \text{ mL/min}$), coluna CP-WAX (25m x 0,25mm x 0,20 μm) igual a $150^\circ\text{C}/16\text{min}$, 2°C/min até $180^\circ\text{C}/25\text{min}$, 5°C/min até $210^\circ\text{C}/10\text{min}$. As identificações foram realizadas por comparação dos tempos de retenção (TR) dos metil ésteres de ácidos graxos da amostra padrão e

a quantificação por normalização de área. Os tempos de retenção e as porcentagens de área foram computados automaticamente pelo integrador.

3.6 Análise estatística

Para a comparação entre as médias foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) com nível de significância (α) fixado em 5%. Para as variáveis onde as médias dos tratamentos apresentaram diferença significativa foi realizado Teste de Tukey para comparação entre as médias.

A regressão linear foi aplicada para avaliar a incorporação dos ácidos graxos essenciais no tecido das pós-larvas de bijupirá alimentadas com artêmia enriquecida com diferentes produtos comerciais. As análises foram processadas utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira 2000).

4. RESULTADOS

Os náuplios de artêmia enriquecidos apresentaram composições de ácidos graxos essenciais significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo apenas iguais estatisticamente para o Σ AGPI (Tabela 2).

A composição do ácido graxo essencial linoléico, linolênico, ARA, EPA e o total de n-6 AGPI na artêmia enriquecida com produtos comerciais apresentaram um aumento significativo para o tratamento 1 (TR-1=RED+YEAST) em relação ao tratamento 2 (TR-2=A3050+YEAST). No total de n-3 AGPI e entre as relações DHA/EPA e EPA/ARA foi observado um aumento significativo no TR-2 em relação ao TR-1 (Tabela 2).

Tabela 2

As pós-larvas de bijupirá alimentadas com artêmia enriquecida com produtos comerciais durante oito dias apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$) para os perfis de ácidos graxos essenciais entre os dois tratamentos; não apresentando diferença estatística no Σ AGPI e na relação DHA/EPA e EPA/ARA (Tabela 3).

A composição do ácido graxo essencial linoléico, linolênico, ARA, EPA e o total de n-6 AGPI nas pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-1 apresentaram aumento significativo em relação às alimentadas com artêmia

enriquecida com TR-2. As pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-2 apresentaram um aumento significativo no DHA e no total de n-3 AGPI em relação às pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com TR-1 (Tabela 3).

Tabela 3

Foi observada uma correlação positiva e significativa ($P < 0,05$) (Figura 1) entre o ácido graxo essencial DHA, ARA, EPA, linoléico, linolênico, total de n-3 e n-6 AGPI de artêmia enriquecida quando comparado com o encontrado nas pós-larvas. Quando a quantidade de DHA, EPA, linoléico e linolênico aumentou na artêmia enriquecida um correspondente crescimento foi evidente nas pós-larvas. Porém, uma correlação negativa e significativa foi observada no nível de ARA.

Figura 1

No 10° DAE, as pós-larvas dos tratamentos TR-1 e TR-2 apresentaram 5,9 mm e 7,2 mm de comprimento, respectivamente (Tabela 4). No 18° DAE, as pós-larvas tiveram diferença significativa para o comprimento nos tratamentos, sendo que o TR-2 obteve comprimento significativo chegando a 19,25 mm, em média, enquanto o TR-1 alcançou 15,7 mm (Tabela 4).

Para sobrevivência foi observada diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos sendo que o TR-1 teve 14,1% e o TR-2 12,7% de sobrevivência (Tabela 4).

Tabela 4

5. DISCUSSÃO

O sucesso no cultivo de pós-larvas de peixe marinho depende parcialmente do adequado fornecimento de lipídios, proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais via alimentação (Watanabe & Kiron 1994; Kanazawa 2003).

Um dos aspectos mais importantes para o desenvolvimento das pós-larvas de peixe marinho diz respeito ao fornecimento de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI's) incluindo o ácido araquidônico (ARA, C-20:4 ω -6), o ácido eicosapentenoico (EPA, C-20:5 ω -3) e o ácido docosahexenoico (DHA, C-22:6 ω -3) (Sargent et al. 1989; Kanazawa 1993; Watanabe 1993; Reitan et al. 1994; Lavens & Sorgeloos 1996; Barreto & Cavalcanti 1997; Hoff & Snell 1999). Estes não são sintetizados pelas pós-larvas de peixes marinhos e possuem um importante papel na estrutura, função e manutenção das membranas, resistência ao esforço, desenvolvimento e funcionamento adequado do sistema nervoso e visual das pós-larvas de peixes marinhos (Sargent et al. 1989; Merchie 1996).

Faulk et al. (2007b) apontam que as pós-larvas de bijupirá apresentam uma maior atividade para enzima lipase no 22° DAE. Esta enzima realiza a hidrólise dos lipídios em ácidos graxos e atua sobre os triglicerídeos como ácidos graxos de cadeia longa. Inicialmente, para as pós-larvas de bijupirá obterem as enzimas exógenas para desencadear a hidrólise e estimularem a secreção de enzimas endógenas, é necessária a ação física durante a captura e a ingestão do alimento vivo (rotífero e artêmia).

Houve uma correlação positiva e significativa entre os ácidos graxos essenciais DHA, EPA, linoléico, linolênico, total de n-3 AGPI e n-6 AGPI de artêmia enriquecida com o encontrado nas pós-larvas. Como a quantidade de DHA, EPA, linoléico, linolênico, total de n-3 AGPI e n-6 AGPI aumentou na artêmia enriquecida, um correspondente aumento foi evidente nas pós-larvas. Esta correlação positiva mostra que houve uma incorporação dos ácidos graxos essenciais na artêmia e nas pós-larvas. Porém, uma correlação negativa e significativa foi observada no nível de ARA. Faulk & Holt (2005) estabeleceram uma correlação positiva entre a porcentagem de DHA na artêmia enriquecida com microalga ou produtos comerciais e a porcentagem correspondente de ácidos graxos analisados no tecido das pós-larvas de bijupirá (*Rachycentron canadum*) no 16° DAE.

Não houve uma significativa correlação entre a porcentagem de EPA e ARA na artêmia correspondendo ao tecido da pós-larva. Turner & Rooker (2005) demonstram que pós-larvas de bijupirá alimentadas do 8° ao 21° DAE com artêmia enriquecida com Algamac 2000 fornecem 95% dos valores dietéticos e níveis semelhantes do ácido linoléico, linolênico, ARA, EPA, C-22:5n-3, C-22:5n-6

e DHA encontrados na artêmia, que também foram encontrados nas pós-larvas. Blair et al. (2003) relatam significativa retenção de DHA e ARA no tecido da pós-larva de hadoque (*Melanogrammus aeglefinus*) alimentada com dieta viva ou formulada, contendo níveis variados de AGPI.

O estudo demonstrou a seguinte quantidade de ácidos graxos essenciais: ácido linolênico (1,9 e 0,58%), EPA (6,28 e 5,53%), DHA (4,46 e 11,29%), linoléico (5,74 e 3,87%) e ARA (10,74 e 8,51%), no tecido das pós-larvas de bijupirá, no 18° DAE, alimentadas com artêmia enriquecida com TR-1 e TR-2, respectivamente, para os percentuais acima, sendo que a artêmia contém altos níveis desses ácidos. Estes resultados mostram que para as pós-larvas de bijupirá não é evidente o alongamento da cadeia dos ácidos graxos essenciais, mas preferencialmente a retenção no tecido das pós-larvas. No entanto, Estevez et al. (1999) evidenciaram o alongamento da cadeia de EPA para DHA em pós-larvas de *Scophthalmus maximus*, alimentadas com uma dieta viva com altos níveis de EPA e baixos níveis de DHA. Faulk & Holt (2005) detectaram a quantidade de 1,9% de DHA do total de ácidos graxos no tecido das pós-larvas de bijupirá (*Rachycentron canadum*) com 16° DAE, alimentadas com artêmia enriquecida por *N. oculata*, contendo níveis desprezíveis de DHA. Já Furuita et al. (1999) estudaram Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) com 40° DAE, e observaram que os níveis de EPA e 22:5 n-3 em pós-larvas alimentadas com artêmia enriquecida com DHA, diminuiu com o aumento dos níveis de DHA.

Ao final do experimento no 18° DAE, após oito dias de cultivo, as pós-larvas de bijupirá apresentaram diferenças no comprimento (15,7 e 19,25mm) e sobrevivência (14,1 e 12,7%), respectivamente para os tratamentos TR-1 e TR-2. Esses dados mostram que o TR-2 proporcionou um maior crescimento em relação ao TR-1 e melhores taxas de sobrevivência em comparação ao TR-2. Faulk & Holt (2005) estabeleceram para pós-larvas de bijupirá com 16° DAE, após nove dias de cultivo, uma média de crescimento de 15,2; 14,7; 15,2mm e sobrevivência de 12,0; 13,0; 15,6%, quando alimentadas com artêmias enriquecidas por Algamac 2000, Algamac 2000 90% + 10% de Aquagrow arachidonic respectivamente. Os mesmos autores durante o período de cultivo acima, com a cultura de água verde, obtiveram uma média de crescimento de 12,6 e 12,4mm e sobrevivência de 12,9% para os enriquecimentos comerciais Algamac 2000 e Algamac 3050, respectivamente. Nhu et al. (2009) avaliaram que

pós-larvas de bijupirá com 18° DAE, depois de 10 dias de cultivo em cultura de água verde, apresentaram um crescimento de 11,6mm e sobrevivência de 12,0%, para o enriquecimento da artêmia com DHA Selco.

Experimentos de enriquecimento de alimento vivo devem ser conduzidos com bijupirá por apresentar uma baixa sobrevivência na fase de pós-larva. Os resultados obtidos neste estudo indicam que as pós-larvas de bijupirá possui uma boa incorporação de ácidos graxos essenciais, após um período de alimentação com artêmia enriquecida. Diferente de outras espécies de peixes marinhos o bijupirá não evidencia o alongamento da cadeia dos ácidos graxos essenciais, mas preferencialmente a retenção no tecido das pós-larvas.

Estudos devem ser conduzidos com o enriquecimento da artêmia, com ácidos graxos essenciais para estabelecer a real necessidade desses ácidos em pós-larvas de bijupirá.

6. Referências

Arnold, C.R., Kaiser, J.B. & Holt, G.J. (2002) Spawning of cobia *Rachycentron canadum* in captivity. *J. World Aquac. Soc.* 33(2), 205-208.

Barreto, O. J. & Cavalcanti, D. G. (1997) Enriquecimento de alimentos vivos para alimentação de larvas de organismos marinhos: uma breve revisão. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, 24 (único): 139-159.

Benetti, D.D., Sardenberg, B., Welch, A., Hoenig, R., Orhun, M.R. & Zink, I. (2008) Intensive larval husbandry and fingerling production of cobia *Rachycentron canadum*, *Aquaculture*, doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.03.030.

Blair, T., Castell. J., Neil, S., D` Abramo, L., Cahu, C., Harmon, P. & Ogumoye, K. (2003) Evaluation of microdiets versus live feeds on growth, survival and fatty acid composition of larval haddock (*Melanogrommus aeglefinus*). *Aquaculture*, 225, 451-461.

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.

Briggs, J.C. (1960) Fishes of worldwide (circumtropical) distribution. *Copeia*, (3):171-180.

Estevez, A., McEvoy, L.A., Bell, J.G. & Sargent, J.R. (1999) Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in arachidonic and eicosapentaenoic acids. *Aquaculture*, 180, 321-343.

Faulk, C.K., Benninghoff, A.D. & Holt, G.J. (2007b) Ontogeny of the gastrointestinal tract and selected digestive enzymes in cobia *Rachycentron canadum* (L.). *Aquaculture*. 70, 567-583.

Faulk, C.K. & Holt, G.J. (2003) Lipid nutrition and feeding of cobia *Rachycentron canadum* larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34, 368–378.

Faulk, C.K. & Holt, G.J. (2005) Advances in rearing cobia *Rachycentron canadum* larvae in recirculating aquaculture systems: live prey enrichment and greenwater culture. *Aquaculture*, 249, 231–243.

Faulk, C.K., Kaiser, J.B. & Holt, G.J. (2007a) Growth and survival of larval and juvenile cobia *Rachycentron canadum* in a recirculating raceway system. *Aquaculture*, 270, 149–157.

Ferreira, D.F. (2000) Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, 45. São Carlos. Programas e Resumos... São Carlos: UFSCar. p. 255-258.

Furuita, H., Konishi, K. & Takeuchi, T. (1999) Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* náuplio on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 170, 59-69.

Hassler, W.W. & Rainville, R.P. (1975) Techniques for hatching and rearing cobia, *Rachycentron canadum*, through larval and juvenile stages. University of North Carolina Sea Grant College Program, UNC-SG-75-30, Raleigh, North Carolina. 26 pp.

Hoff, F. H. & Snell, T. W., (1999) Plankton culture manual, 5th edition. Flórida: Nelsen, J. (Ed.), 160p.

Joseph, J. D. & Ackman, R. G. (1992) Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 75: 488-506.

Kanazawa, A. (1997) Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. *Aquaculture*, 155, 129 – 134.

Lavens, P. & Sorgeloos, P. (eds.) (1996) Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*. No. 361. pp. 295. Rome, FAO.

Liao, I.C., Huang, T.S., Tsai, W.S., Hsueh, C.M., Chang, S.L. & Leño, E.M. (2004) Cobia culture in Taiwan: current status and problems. *Aquaculture*, 237, 155–165.

Merchie, G. (1996) Use of nauplii and meta-nauplii, 137-163 In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper* No. 361. Lavens, P. & Sorgeloos, P. (Eds.), 295pp.

Nhu, V.C., Dierckens, K., Nguyen, T.H., Tran, M.T. & Sorgeloos, P. (2009) Can umbrella-stage *Arteia franciscana* substitute enriched rotifers for Cobia (*Rachycentron canadum*) fish larvae?. *Aquaculture*, 289, 64 – 69.

Sargent, J.R., Tocher, D.R. & Bell, J.G. (1989) The lipids. In: *Fish Nutrition* (ed. By J. Halver), pp. 153-218. Academic Press, San Diego, CA, USA.

Turner, J.P. & Rooker, J.R. (2005) Effect of dietary fatty acids on the body tissues of larval and juvenile cobia and their prey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 322: 13-27

Watanabe, T. (1993) Importance of Docosahexaenoic Acid in Marine Larval Fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24, 153-161.

Watanabe, T. & Kiron, V. (1994) Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, 124, 223 – 251.

7. Tabelas

Tabela 1. Análise da composição de ácidos graxos essenciais (% total de ácidos graxos) na matéria seca presente nos enriquecedores da artêmia

Ácidos Graxos	RED+YEAST	A3050+YEAST
18:2n-6	6,11 ± 0,27 ^a	0 ^b
18:3n-3	0,19 ± 0,19 ^a	0,36 ± 0,01 ^a
20:4n-6	1,51 ± 0,28 ^a	1,53 ± 0,03 ^a
20:5n-3	1,83 ± 0,18 ^a	1,67 ± 0,03 ^a
22:6n-3	51,70 ± 0,20 ^a	32,18 ± 0,09 ^b
ΣAGPI	41,81 ± 0,57 ^b	55,24 ± 0,08 ^a
n-3 AGPI	34,19 ± 0,55 ^b	53,72 ± 0,06 ^a
n-6 AGPI	7,62 ± 0,01 ^a	1,53 ± 0,03 ^b
DHA/EPA	17,73 ± 1,6 ^b	31,05 ± 0,52 ^a
EPA/ARA	1,22 ± 0,11 ^a	1,09 ± 0,03 ^a

Valores (media ± Desvio Padrão) seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0.05).

RED+YEAST= Red Papper + ω3 Yeast 6; A3050= Algamac 3050 + ω3 Yeast 60.

AGPI= São ácidos graxos orgânicos de moléculas lineares que podem ter de 4 a 22 carbonos em sua estrutura, com duas ou mais duplas ligações.

Tabela 2. Análise da composição de ácidos graxos essenciais (% total de ácidos graxos) presente nas artêmias alimentados com enriquecimentos comerciais.

Ácidos Graxos	TR-1 = RED+YEAST	TR-2 = A3050+YEAST
18:2 n-6	8,29 ± 0,77 ^a	4,18 ± 0,31 ^b
18:3 n-3	3,54 ± 0,37 ^a	1,99 ± 0,15 ^b
20:4 n-6	9,02 ± 1,00 ^a	5,31 ± 0,68 ^b
20:5 n-3	10,71 ± 1,00 ^a	8,39 ± 0,63 ^b
22:6 n-3	2,27 ± 0,27 ^b	14,31 ± 0,09 ^a
ΣAGPI	33,81 ± 3,41 ^a	34,17 ± 1,85 ^a
n-3 AGPI	16,5 ± 1,63 ^b	24,69 ± 0,87 ^a
n-6 AGPI	17,31 ± 1,78 ^a	9,48 ± 0,98 ^b
DHA/EPA	0,21 ± 0,01 ^b	1,71 ± 0,19 ^a
EPA/ARA	1,19 ± 0,02 ^b	1,59 ± 1,40 ^a

Valores (média ± Desvio Padrão) seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0.05).

Náuplio=*Artemia* sp. recém eclodida; Tratamento 1= Red Papper + ω3 Yeast 60 (TR-1=RED+YEAST); Tratamento 2= Algamac 3050 + ω3 Yeast 60 (TR-2= A3050+YEAST).

AGPI= São ácidos graxos orgânicos de moléculas lineares que podem ter de 4 a 22 carbonos em sua estrutura, com duas ou mais duplas ligações.

Tabela 3. Análise da composição de ácidos graxos essenciais (% total de ácidos graxos) nas pós-larvas de bijupirá alimentadas com artêmia enriquecida com produtos comerciais antes e depois dos tratamentos.

Ácidos Graxos	Dia 10	Dia 18	
		TR-1=RED+YEAST	TR-2=A3050+YEAST
18:2 n-6	4,75 ± 0,05	5,74 ± 0,04 ^a	3,87 ± 0,16 ^b
18:3 n-3	1,32 ± 0,2	1,90 ± 0,02 ^a	0,58 ± 0,58 ^b
20:4 n-6	9,96 ± 0,25	10,74 ± 0,46 ^a	8,51 ± 0,20 ^b
20:5 n-3	7,91 ± 0,01	6,28 ± 0,09 ^a	5,53 ± 0,43 ^b
22:6 n-3	3,36 ± 0,11	4,46 ± 0,18 ^b	11,29 ± 0,57 ^a
ΣAGPI	27,29 ± 0,28	26,98 ± 0,64 ^a	29,78 ± 0,78 ^a
n-3 AGPI	12,58 ± 0,08	10,51 ± 0,16 ^b	17,40 ± 0,42 ^a
n-6 AGPI	14,7 ± 0,20	16,47 ± 0,49 ^a	12,38 ± 0,36 ^b
DHA/EPA	0,42 ± 0,01	0,71 ± 0,02 ^a	1,05 ± 1,05 ^a
EPA/ARA	0,79 ± 0,02	0,59 ± 0,02 ^a	0,65 ± 0,03 ^a

Valores (média ± Desvio Padrão) seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0.05)

Tratamento 1= Red Papper + ω3 Yeast 60 (TR-1=RED+YEAST); Tratamento 2= Algamac 3050 + ω3 Yeast 60 (TR-2= A3050+YEAST).

AGPI= São ácidos graxos orgânicos de moléculas lineares que podem ter de 4 a 22 carbonos em sua estrutura, com duas ou mais duplas ligações.

Tabela 4. Média de comprimento (10° e 18° DAE) e sobrevivência de pós-larvas de bijupirá alimentadas com artêmia enriquecida com produtos comerciais ricos em ácidos graxos essenciais.

Enriquecimento	Média de comprimento (mm)		Sobrevivência
	10 DAE	18 DAE	18 DAE
TR-1 = RED+YEAST	6,6 ± 0,5	15,7 ± 1,8 ^b	14,1 ± 1,0 ^a
TR-2 = A3050+YEAST	6,6 ± 0,5	19,25 ± 1,2 ^a	12,7 ± 0,8 ^b

Valores (média ± Desvio Padrão) seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0.05)

Tratamento 1= Red Papper + ω3 Yeast 60 (TR-1=RED+YEAST); Tratamento 2= Algamac 3050 + ω3 Yeast 60 (TR-2= A3050+YEAST).

8. Figuras

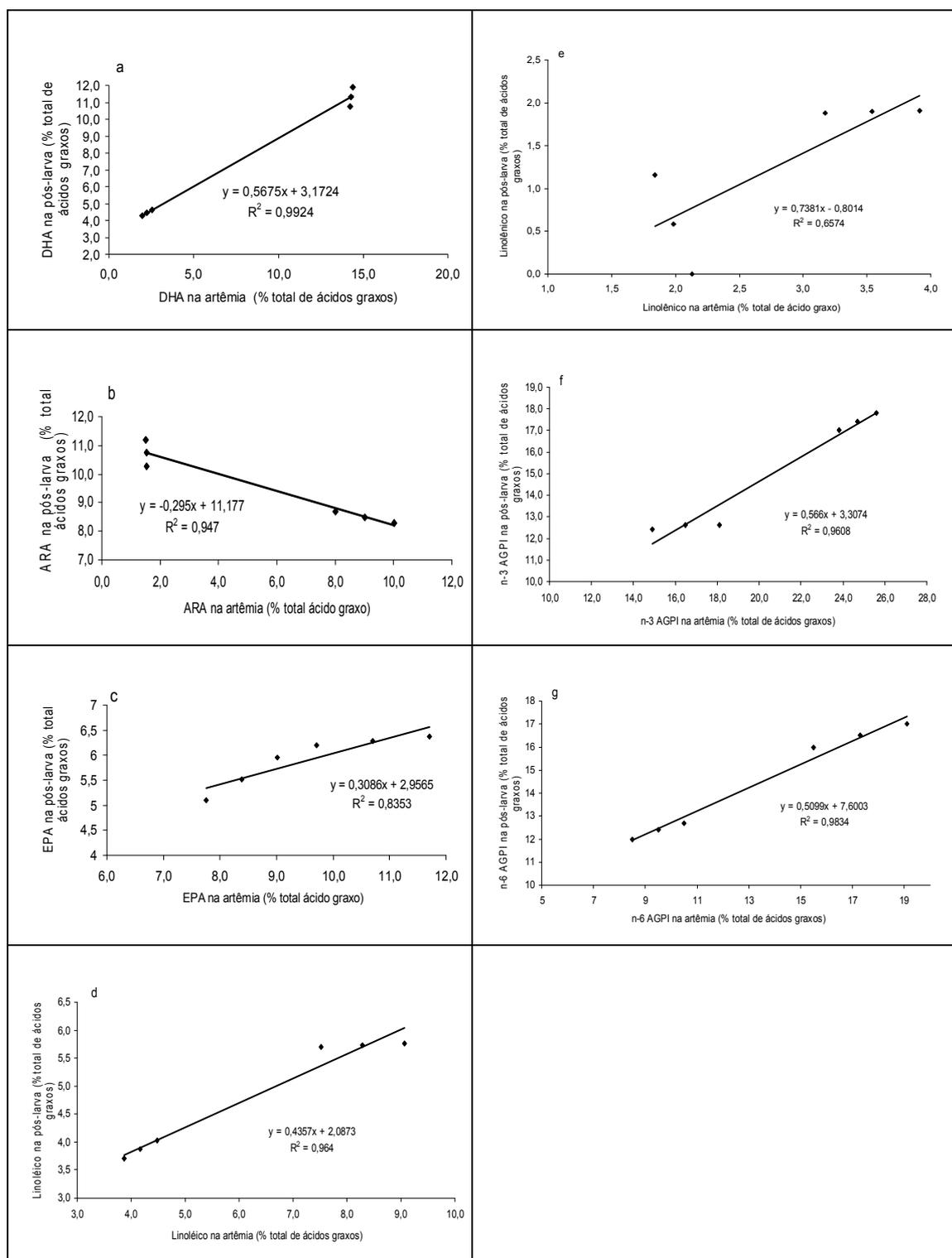


Fig. 1. Correlação entre a porcentagem de DHA (a), ARA (b), EPA (c), linoléico (d), linolênico (e), n-3 AGPI (f) e n-6 AGPI (g) em artêmia enriquecida com produtos comerciais e a porcentagem de ácidos graxos nas pós-larvas de bijupirá com 18 (DAE).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O grande crescimento na produção de pós-larvas de peixes marinhos mostra a importância de estudos para melhorar a incorporação de ácidos graxos essenciais em artêmia. Este estudo demonstrou a eficiência do processo de enriquecimento, e à habilidade da artêmia em retroconverter a incorporação de DHA para EPA.

Experimentos de enriquecimento de alimento vivo devem ser conduzidos com bijupirá por apresentar uma baixa sobrevivência na fase de pós-larva. Os resultados obtidos neste estudo indicam que as pós-larvas de bijupirá possui uma boa incorporação de ácidos graxos essenciais, após um período de alimentação com artêmia enriquecida. Diferente de outras espécies de peixes marinhos o bijupirá não evidencia o alongamento da cadeia dos ácidos graxos essenciais, ou preferencialmente, retenção no tecido de pós-larvas.

Estudos devem ser conduzidos com o enriquecimento da artêmia, com ácidos graxos essenciais para estabelecer a real necessidade desses ácidos em pós-larvas de bijupirá.

ANEXO A

Instruções aos Autores

16/03/2009

Revisadas em dezembro de 2007

A revista ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS encoraja fortemente as submissões online. Uma vez o artigo preparado de acordo com as instruções abaixo, visite o site de submissão online (<http://aabc.abc.org.br>).

As instruções devem ser lidas cuidadosamente e seguidas integralmente. Desta forma, a avaliação e publicação de seu artigo poderão ser feitas com mais eficiência e rapidez. Os editores reservam-se o direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

Objetivo e Política Editorial

Todos os artigos submetidos devem conter pesquisa original e ainda não publicada ou submetida para publicação. O primeiro critério para aceitação é a qualidade científica. O uso excessivo de abreviaturas ou jargões deve ser evitado, e os artigos devem ser compreensíveis para uma audiência tão vasta quanto possível. Atenção especial deve ser dada ao Abstract, Introdução e Discussão, que devem nitidamente chamar a atenção para a novidade e importância dos dados relatados. A não observância desta recomendação poderá resultar em demora na publicação ou na recusa do artigo.

Os textos podem ser publicados como uma revisão, um artigo ou como uma breve comunicação. A revista é trimestral, sendo publicada nos meses de março, junho, setembro e dezembro.

Tipos de Artigos

Revisões: Revisões são publicadas somente a convite. Entretanto, uma revisão pode ser submetida na forma de breve carta ao Editor a qualquer tempo. A carta deve informar os tópicos e autores da revisão proposta e declarar a razão do interesse particular do assunto para a área.

Artigos: Sempre que possível, os artigos devem ser subdivididos nas seguintes partes: 1. Página de rosto; 2. Abstract (escrito em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); 3. Introdução; 4. Materiais e Métodos; 5. Resultados; 6. Discussão; 7. Agradecimentos quando necessário; 8. Resumo e palavras-chave (em português - os autores estrangeiros receberão assistência); 9. Referências. Artigos de algumas áreas, como Ciências Matemáticas, devem observar seu formato usual. Em certos casos pode ser aconselhável omitir a parte (4) e reunir as partes (5) e (6). Onde se aplicar, a parte de Materiais e Métodos deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em humanos ou as normas seguidas para a manutenção e os tratamentos experimentais em animais.

Breves Comunicações: Breves comunicações devem ser enviadas em espaço duplo. Depois da aprovação não serão permitidas alterações no artigo, a fim de que somente correções de erros tipográficos sejam feitas nas provas.

Os autores devem enviar seus artigos somente em versão eletrônica.

Preparo dos Artigos

Os artigos devem ser preparados em espaço duplo. Depois de aceitos nenhuma modificação será realizada, para que nas provas haja somente correção de erros tipográficos.

Tamanho dos artigos: Embora os artigos possam ter o tamanho necessário para a apresentação concisa e discussão dos dados, artigos sucintos e cuidadosamente preparados têm preferência tanto em termos de impacto quando na sua facilidade de leitura.

Tabelas e ilustrações: Somente ilustrações de alta qualidade serão aceitas. Todas as ilustrações serão consideradas como figuras, inclusive desenhos, gráficos, mapas, fotografias e tabelas com mais de 12 colunas ou mais de 24 linhas (máximo de figuras gratuitas: cinco figuras). A localização provável das figuras no artigo deve ser indicada.

Figuras digitalizadas: As figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: 1. Desenhos e ilustrações devem ser em formato .PS/.EPS ou .CDR (Postscript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; 2. Imagens ou figuras em meio tom devem ser no formato .TIF e nunca inseridas no texto; 3. Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; 4. Em princípio, as figuras devem ser submetidas no tamanho em que devem aparecer na revista, i.e., largura de 8 cm (uma coluna) ou 12,6 cm (duas colunas) e com altura máxima para cada figura menor ou igual a 22 cm. As legendas das figuras devem ser enviadas em espaço duplo e em folha separada. Cada dimensão linear das menores letras e símbolos não deve ser menor que 2 mm depois da redução. Somente figuras em preto e branco serão aceitas. 5. Artigos de Matemática, Física ou Química podem ser digitados em Tex, AMS-Tex ou Latex; 6. Artigos sem fórmulas matemáticas podem ser enviados em .RTF ou em WORD para Windows.

Página de rosto: A página de rosto deve conter os seguintes itens: 1. Título do artigo (o título deve ser curto, específico e informativo); 2. Nome (s) completo (s) do (s) autor (es); 3. Endereço profissional de cada autor; 4. Palavras-chave (4 a 6 palavras, em ordem alfabética); 5. Título abreviado (até 50 letras); 6. Seção da Academia na qual se enquadra o artigo; 7. Indicação do nome, endereço, números de fax, telefone e endereço eletrônico do autor a quem deve ser endereçada toda correspondência, prova e separatas (30 separatas por artigo publicado são oferecidas gratuitamente).

Agradecimentos: Devem ser inseridos no final do texto. Agradecimentos pessoais devem preceder os agradecimentos a instituições ou agências. Notas de rodapé devem ser evitadas; quando necessário, devem ser numeradas. Agradecimentos a auxílios ou bolsas, assim como agradecimentos à colaboração

de colegas, bem como menção à origem de um artigo (e.g. teses) devem ser indicados nesta seção.

Abreviaturas: As abreviaturas devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto no caso de abreviaturas padrão e oficial. Unidades e seus símbolos devem estar de acordo com os aprovados pela ABNT ou pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Referências: Os autores são responsáveis pela exatidão das referências. Artigos publicados e aceitos para publicação (no prelo) podem ser incluídos. Comunicações pessoais devem ser autorizadas por escrito pelas pessoas envolvidas. Referências a teses, abstracts de reuniões, simpósios (não publicados em revistas indexadas) e artigos em preparo ou submetidos mas ainda não aceitos, podem ser citados no texto como (Smith et al. unpublished data) e não devem ser incluídos na lista de referências.

As referências devem ser citadas no texto como, por exemplo, (Smith 2004), (Smith and Wesson 2005) ou, para três ou mais autores, (Smith et al. 2006). Dois ou mais artigos do mesmo autor no mesmo ano devem ser distinguidos por letras, e.g. (Smith 2004a), (Smith 2004b) etc. Artigos com três ou mais autores com o mesmo primeiro autor e ano de publicação também devem ser distinguidos por letras.

As referências devem ser listadas em ordem alfabética do primeiro autor sempre na ordem do sobrenome XY no qual X e Y são as iniciais. Se houver mais de 10 autores, use o primeiro seguido de et al. As referências devem ter o nome do artigo. Os nomes das revistas devem ser abreviados. Para as abreviações corretas, consultar a listagem de base de dados na qual a revista é indexada ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviatura para os Anais da Academia Brasileira de Ciências é An Acad Bras Cienc. Os seguintes exemplos são considerados como guia geral para as referências.

Artigos

Albe-Fessard D, Condes-Lara M, Sanderson P and Levante A . 1984a.
Tentative explanation of the special role played by the áreas of

paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

Albe-Fessard D, Sanderson P, Condes-Lara M, Delandsheer E, Giuffrida R and Cesaro P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

Knowles RG and Moncada S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

Pinto ID and Sanguinetti YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

Livros e capítulos de livro

Davies M. 1947. An outline of the development of Science, Athinker's Library, n. 120. London: Watts, 214 p.

Prehn RT . 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: National Cancer Conference , 5., Philadelphia Proceedings, Philadelphia: J.B. Lippincott, p. 97-104.

Uytenbogaardt W and Burke EAJ . 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2 nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

Woody RW . 1974. Studies of theoretical circular dichroism of Polipeptides: contributions of B-turns. In: Blouts ER et al . (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

Outras publicações

International Kimberlite Conference , 5, 1991. Araxá, Brazil. Proceedings ... Rio de Janeiro: CPRM, 1994., 495 p.

Siatycki J . 1985. Dynamics of Classical Fields. University of Calgary,
Department of Mathematics and Statistics, 19985, 55 p. Preprint n. 600.

ANEXO B

Author Guidelines

Manuscript Submission

Manuscripts should be submitted online at <http://mc.manuscriptcentral.com/anu>. Full instructions and support are available on the site and a user ID and password can be obtained on the first visit. Support can be contacted by phone (+1 434 817 2040 ext. 167), e-mail (support@scholarone.com) or at <http://mcv3support.custhelp.com>. If you cannot submit online, please contact Anette Hatland in the Editorial Office by telephone (+47 55905200) or by e-mail (an@nifes.no).

A covering letter must be included, signed by the corresponding author (i.e., the author to whom correspondence should be addressed), and stating on behalf of all the authors that the work has not been published and is not being considered for publication elsewhere. Authors are encouraged to suggest four potential referees for their manuscripts.

Copyright

It is a condition of publication that authors **assign the Copyright Transfer Agreement (CTA)** to the Publisher for all articles including abstracts. Papers will not be considered for publication unless the CTA has been assigned. To assist authors a **CTA** is available from the Editorial Office or by clicking [here](#).

When submitting your paper to *Aquaculture Nutrition* we'd be very grateful if you could upload an electronic copy of the Copyright Transfer Agreement as a 'Supplementary File Not for Review'. If you have any problems doing so please contact Anette Hatland in the Editorial Office by telephone (+47 55 90 51 00) or by e-mail (an@nifes.no).

Authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.

Preparation of the Manuscript

All sections of the manuscript should be double-spaced and with 30mm margins.

Articles are accepted for publication only at the discretion of the Editor(s). Authors will receive prompt acknowledgement of receipt of their paper and a decision will be reached within 3 months of receipt. A manuscript should consist of the following sections:

Title **page**

This should include: the full title of the paper; the full names of all the authors; the name(s) and address(es) of the institution(s) at which the work was carried out (the present addresses of the authors, if different from the above, should appear in a footnote); the name, address, and telephone and fax numbers of the author to whom all correspondence and proofs should be sent; a suggested running title of not more than fifty characters, including spaces; and six key words to aid indexing.

Main **text**

Generally, all papers should be divided into the following sections and appear in the order: (1) Abstract or Summary, not exceeding 150-200 words, (2) Introduction, (3) Materials and Methods, (4) Results, (5) Discussion, (6) Acknowledgements, (7) References, (8) Figure legends, (9) Tables, (10) Figures.

The Results and Discussion sections may be combined and may contain subheadings. The Materials and Methods section should be sufficiently detailed to enable the experiments to be reproduced. Trade names should be capitalized and the manufacturer's name and address given.

All pages must be numbered consecutively from the title page, and include the acknowledgements, references and figure legends, which should be submitted on separate sheets following the main text. The preferred position of tables and figures in the text should be indicated in the left-hand margin.

Units **and** **spellings**

Système International (SI) units should be used. The salinity of sea water should be given as g L⁻¹. Use the form g mL⁻¹ not g/mL. Avoid the use of g per 100g, for example in food composition, use g kg⁻¹. If other units are used, these should be defined on first appearance in terms of SI units, e.g. mmHg. Spelling should conform to that used in the Concise Oxford Dictionary published by Oxford

University Press. Abbreviations of chemical and other names should be defined when first mentioned in the text unless they are commonly used and internationally known and accepted.

Scientific names and statistics

Complete scientific names should be given when organisms are first mentioned in the text and in tables, figures and key words. The generic name may subsequently be abbreviated to the initial, e.g. *Gadus morhua* L., otherwise *G. morhua*. Carry out and describe all appropriate statistical analyses.

References (Harvard style)

References should be cited in the text by author and date, e.g. Lie & Hemre (1990). Joint authors should be referred to by et al. if there are more than two, e.g. Hemre et al. (1990).

More than one paper from the same author(s) in the same year must be identified by the letters a, b, c, etc., placed after the year of publication. Listings of references in the text should be chronological. At the end of the paper, references should be listed alphabetically according to the first named author. The full titles of papers, chapters and books should be given, with the first and last page numbers; journal titles should be abbreviated according to World List of Scientific Periodicals.

Lie, O., Lied, E. & Lambertsen, G. (1988) Feed optimization in Atlantic cod (*Gadus morhua*): fat versus protein content in the feed. *Aquaculture*, 69, 333-341.

Lall, S.P. (1989) The minerals. In: *Fish Nutrition* (Halver, J.E. ed.), 2nd edn, Vol. 1, pp. 219-257. Academic Press Inc., San Diego, CA, USA.

Work that has not been accepted for publication and personal communications should not appear in the reference list, but may be referred to in the text (e.g. A. Author, unpubl. observ.; A.N. Other, pers. comm.). It is the authors' responsibility to obtain permission from colleagues to include their work as a personal communication. A letter of permission should accompany the manuscript.

References

in

Articles

We recommend the use of a tool such as EndNote (<http://www.endnote.com/>) or Reference Manager (<http://www.refman.com/>) for reference management and formatting.

EndNote reference styles can be searched for here:
<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here:
<http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Illustrations

and

tables

These should be referred to in the text as figures using Arabic numbers, e.g. Fig. 1, Fig. 2, etc., in order of appearance. Three copies of each figure should be submitted and each figure should be marked on the back with its appropriate number, together with the name(s) of the author(s) and the title of the paper. Where there is doubt as to the orientation of an illustration the top should be marked with an arrow.

Photographs and photomicrographs should be unmounted glossy prints and should not be retouched. Labelling should be clearly indicated on an overlay or photocopy. Colour illustrations are acceptable when found necessary by the Editor; however, the author may be asked to contribute towards the cost of printing.

Line drawings should be on separate sheets of white paper in black indelible ink (dot matrix illustrations are not permitted); lettering should be on an overlay or photocopy and should be no less than 4 mm high for a 50% reduction. Please note, each figure should have a separate legend; these should be grouped on a separate page at the end of the manuscript. All symbols and abbreviations should be clearly explained.

Tables should be self-explanatory and include only essential data. Each table must be typewritten on a separate sheet and should be numbered consecutively with Arabic numerals, e.g. Table 1, and given a short caption. No vertical rules should be used. Units should appear in parentheses in the column headings and not in the body of the table. All abbreviations should be defined in a footnote.

All tables and figures that are reproduced from a previously published source must be accompanied by a letter of permission from the Publisher or copyright owner.

It is the policy of *Aquaculture Nutrition* for authors to pay the full cost for the reproduction of their colour artwork.

Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Blackwell Publishing require you to complete and return a colour work agreement form before your paper can be published. This form can be downloaded as a PDF* from the internet. The web address for the form is:

http://www.blackwellpublishing.com/pdf/SN_sub2000_X_CoW.pdf

If you are unable to access the internet, or are unable to download the form, please contact the Production Editor at the address below, or:

Phone: +65 6511 8258 (direct line)
Fax: +65 6511 8288

And they will be able to email or FAX a form to you.

Once completed, please return the form to the Production Editor at the address below:

Blackwell Publishing Ltd
600 North Bridge Road #05-01 Parkview Square
Singapore 188778
Singapore

Any article received by Blackwell Publishing with colour work will not be published until the form has been returned.

* To read PDF files, you must have Acrobat Reader installed on your computer. If you do not have this program, this is available as a free download from the following web address: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>

Acknowledgements

These should be brief and must include references to sources of financial and logistical support.

Page Proofs and Reprints

Proofs will be sent via e-mail as an Acrobat PDF (portable document format) file. The e-mail server must be able to accept attachments up to 4 MB in size. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: <http://www.adobe.com/prodindex/acrobat/main.html> This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Editor within 3 days of receipt, ideally by fax. Only typographical errors can be corrected at this stage. Major alterations to the text cannot be accepted.

Offprints of articles may be ordered at the proof stage. The corresponding author will be provided with five free copies of the published issue. Where there are more than two authors, the corresponding author will receive two free copies for distribution to each author.

Disks

The Journal welcomes submission of accepted manuscripts on disk. These should be IBM-compatible and must be accompanied by an accurate hard copy. Do not justify. A file description form should also be completed and sent with the disk: <http://www.blackwellpublishing.com/pdf/dfd.pdf>. Particular attention should be taken to ensure that any articles submitted in this form adhere exactly to the journal style in all respects. Further details can be obtained from the Publisher; the Editor(s) will supply 'disk submission' forms on acceptance of a manuscript. Disks will not be returned to the authors.

Author

Services

NEW: Online production tracking is now available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services.

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via author services only. Please therefore sign up for author services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.

Early View

Aquaculture Nutrition is covered by Wiley-Blackwell Publishing's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Articles are therefore available as soon as they are ready, rather than having to wait for the next scheduled print issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.