

UTILIZAÇÃO DA CIANOBACTÉRIA *Spirulina maxima* E DA LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae* COMO DIETAS COMPLEMENTARES NO CULTIVO DE *Artemia franciscana*

I. S. SOUZA^{1*} e P. H. C. OLIVEIRA²

¹Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte - IFRN

²Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Acre - IFAC

ivanildo.surini@ifrn.edu.br*

Artigo submetido em maio/2012 e aceito em maio/2015

DOI: 10.15628/holos.2015.925

RESUMO

Diferentes combinações da cianobactéria *S. maxima* e da levedura *S. cerevisiae* foram utilizadas no cultivo de *A. franciscana*, com o objetivo de avaliar dietas de baixo custo e fácil manuseio, e que mantivessem as larvas desse microcrustáceo em laboratório, de modo a propiciar estudos de sua ecologia, biologia e uso na aquicultura. Para isso, 12 cones de Imhoff contendo 1 L de água do mar filtrada foram estocados com 100 náuplios e submetidos à aeração contínua, monitoramento do pH, temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido e luminosidade, além de renovação diária de 50 % do volume de água. Durante dez dias, os náuplios

foram alimentados duas vezes ao dia com 25 mg de diferentes combinações de *S. maxima* e *S. cerevisiae*, nas seguintes proporções: 100/0; 75/25; 50/50; 25/75 e 0/100. Foram avaliadas a taxa de sobrevivência, proporção sexual, proporção juvenis/adultos e performance reprodutiva. Os resultados indicaram um melhor desempenho zootécnico de *A. franciscana* nos tratamentos que associaram *S. maxima* à *S. cerevisiae* (75/25, 50/50 e 25/75), e desta maneira, demonstram que a referida mistura dietética, em tais proporções, é viável para manter as larvas em cultivo laboratorial.

PALAVRAS-CHAVE: *Artemia*, cultivo, levedura, cianobactéria.

USE THE CYANOBACTERIUM *Spirulina maxima* AND YEAST *Saccharomyces cerevisiae* AS FURTHER IN DIETS FOR CULTIVATION OF *Artemia franciscana*

ABSTRACT

Different combinations of cyanobacterium *S. maxima* and yeast *S. cerevisiae* were used in the cultivation of *A. franciscana*, with the objective of evaluate low cost of the diets, the easy handling, and also the *Artemia* larvae maintenance in laboratory, to propitiate studies about *Artemia* ecology, biology and its use in the aquaculture. For that, 12 Imhoff cones filled with 1 L of filtered sea water were stocked with 100 nauplii and submitted to the continuous aeration, pH monitoring, temperature, salinity, luminosity and dissolved oxygen values, besides the daily change of 50% of the water volume. For ten

days, nauplii were fed twice a day, 25 mg in each time of different proportions of *S. maxima* and *S. cerevisiae*, in the following proportions: 100/0; 75/25; 50/50; 25/75 and 0/100. The survival rate, sex ratio, juvenals/adults ratio and reproductive performance were evaluated. The results indicated a better performance in the treatments which associated *S. maxima* to *S. cerevisiae* (75/25, 50/50 and 25/75), and therefore they demonstrated that the referred dietary mixture, in such proportions, is viable to maintain *A. franciscana* larvae in laboratory culture.

KEYWORDS: *Artemia*, cultivation, yeast, cyanobacterium.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o microcrustáceo *Artemia* vem desempenhando um papel central no desenvolvimento da aquicultura. A maior razão para o seu interesse é o seu relevante papel como alimento vivo e de uso prático em aquicultura, dado seu valor e plasticidade nutricional, facilidade no manejo, características de desenvolvimento, pequeno tamanho dos naúplios e metanaúplios, e longa vida de prateleira desempenhada pelos seus ovos císticos (Szyper, 2003).

Além disso, ao contrário de outros zooplactontes potencialmente úteis, as formas adultas de *Artemia* têm o exoesqueleto extremamente delgado e de fácil digestão para os predadores. Assim, tanto em sua forma larval (naúplios eclodidos a partir de cistos) como no estágio adulto (biomassa), esse microcrustáceo é considerado o mais versátil e popular de todos os alimentos usados em aquicultura. Ele é utilizado na alimentação de larvas e juvenis de peixes e camarões, da mesma forma que na indução à reprodução e na engorda de indivíduos adultos. Ainda, *Artemia* tem sido usado como vetor para bioencapsular – via emulsões lipídicas – vários componentes profiláticos e nutricionais em um número crescente de organismos aquáticos (Persoone e Sorgeloos, 1980).

Os cistos de *Artemia*, que na realidade são embriões inativos, se encontram comercialmente disponíveis nos mercados especializados em aquicultura. Em particular, o Great Salt Lake (Utah, EUA) dispõe de mais de 90 % do mercado internacional de cistos, sendo que este produto é resultado da atividade de extração das populações naturais existentes naquele corpo d'água. Pelo fato de o equilíbrio destas populações está sujeito a variações ambientais, sobretudo de origem climática, a oferta de cistos pode flutuar bastante em determinados anos (Vinatea, 1998).

Sem dúvida, um aumento no setor aquícola somado às intempéries ambientais que diminuem as populações de *Artemia*, provocam efeitos muito prejudiciais para o bom desempenho da aquicultura. Tais fatos tornam a oferta de cistos e de seus produtos alternativos (biomassa viva, congelada, liofilizada, “flakes”, “pellets”) incapazes de suprir a grande demanda existente na atualidade.

A importância do valor nutritivo de *Artemia* para alimentação de organismos marinhos, reside em sua composição de ácidos graxos altamente insaturados da série omega 3 (HUFAs w3). O perfil de ácidos graxos HUFAs w3 deste organismo é altamente variável, dependendo da cepa geográfica e da dieta a qual está submetida determinada população. Apesar disso, este perfil é insuficiente para manter um ótimo crescimento e sobrevivência das larvas de organismos marinhos. Por esse motivo, atualmente vem se desenvolvendo várias técnicas para o enriquecimento do valor nutritivo de *Artemia* por meio da bioencapsulação de componentes essenciais (Tizol, 1994).

Vários experimentos demonstram que esse microcrustáceo pode ser cultivado com diferentes tipos de alimento inerte; já que a seleção de seus alimentos baseia-se unicamente no tamanho da partícula – até 50 μm . Tais alimentos podem substituir as microalgas, sua principal fonte alimentar, e desta maneira fazer com que a produção de adultos seja economicamente mais viável. Esses, além de diminuir significativamente os custos, simplifica marcadamente os processos

de obtenção de biomassa. Entre esses produtos encontra-se farinha de trigo, pó de arroz e de soja, macroalgas, levedura de cerveja e de padaria e melado de cana.

Contudo as algas unicelulares, em escala laboratorial, ainda permanecem como um alimento indispensável para a criação de organismos aquáticos filtradores. Porém, o cultivo de tais microalgas é de alto custo e necessita suporte intensivo. Assim sendo, o desenvolvimento para substitutos de microalgas vivas é de importância primária nos sistemas de cultivo.

Nesse sentido, a cianobactéria *S. maxima* e a levedura *S. cerevisiae* oferecem várias características interessantes, tais como: aquisição a partir de materiais com baixo custo de produção, partículas de tamanho satisfatório, o que os torna mais facilmente assimiláveis pela *Artemia*, e um elevado teor proteico. Além disso, a rígida parede celular presente em *S. cerevisiae* previne a lixiviação de nutrientes no meio de cultura e subsequentemente a deterioração da qualidade da água. A levedura, em suspensão na água, ainda pode servir para agregar outras fontes alimentares (bactérias e microalgas). Já *S. maxima*, propicia uma boa flutuabilidade na coluna d'água, alta digestibilidade, graças a presença de uma cadeia simples de aminoácidos, e uma fina parede celular formada por mucopolissacarídeos não tóxicos (Coutteau *et. al.*, 1992; Pedraza, 1989).

Por fim, a produção da cianobactéria *S. maxima* e da levedura *S. cerevisiae* também tem sido incluída substancialmente como uma fonte proteica na mistura de dietas para a produção da biomassa de *Artemia* e larvas de outros crustáceos (Coutteau *et. al.*, 1992).

A necessidade de dispor suficientes quantidades de *Artemia*, para atender a alimentação de animais cultivados em laboratórios e/ou em tanques ao ar livre, de desenvolver uma dieta de baixo custo e fácil manuseio, que mantenha as larvas em laboratório para estudo de sua ecologia e biologia, estimula o desenvolvimento de projetos que visam substitutos para as microalgas vivas na dieta desse microcrustáceo portador de considerável importância biológica e comercial.

Diante dessa necessidade, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a utilização da cianobactéria *S. maxima* e da levedura *S. cerevisiae* como dietas complementares no cultivo de *A. franciscana* em escala laboratorial.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Cistos de *A. franciscana* provenientes de Grossos/RN foram levados ao Laboratório de Nutrição Aquática (LNAqua), Departamento de Oceanografia e Limnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Em laboratório, 1 g de cistos foi devidamente pesado e, em seguida, transferido para um cone de sedimentação de Imhoff preenchido com 1 L de água do mar previamente filtrada em rede de zooplâncton com malha de 120 µm. As condições de incubação para a eclosão dos náuplios se enquadraram naquelas preconizadas por Sorgeloos *et al.* (1986): salinidade de 35 ‰, oxigênio dissolvido acima de 5 mg/L, luminosidade superior a 1.000 lux, pH entre 8,0 – 8,5 e temperatura entre 25 – 28°C.

Após 24 horas de incubação, um total de 1.200 náuplios instar II de *A. franciscana* foram contados e, em seguida, 100 indivíduos foram inoculados em cada um dos doze cones experimentais e tratados com diferentes combinações de *S. maxima* e *S. cerevisiae*.

O experimento foi conduzido durante um período de 10 dias em um sistema experimental constituído de 12 cones de Imhoff. Assim como para a eclosão, os cones comportaram 1 L de água do mar filtrada em malha de 120 μm . As condições de salinidade, oxigênio dissolvido, pH e temperatura foram mantidas em níveis adequados. O fotoperíodo utilizado foi de 14 horas de escuridão por 10 horas de luminosidade ($> 1.000 \text{ lux}$) (Sorgeloos et al., 1986).

Para assegurar a concentração de oxigênio dissolvido em níveis satisfatórios, e também, manter as partículas alimentares em suspensão, pontos de aeração de fundo foram instalados em cada cone. Uma renovação de 50 % do volume de água foi realizada diariamente antes da primeira alimentação. Para isso, foi utilizado um sifão que apresentava, em uma de suas extremidades, uma malha de 120 μm para deter o escape dos náuplios.

As dietas experimentais utilizadas consistiam de diferentes proporções da cianobactéria *S. maxima*, obtida a partir da descapsulação de comprimidos adquiridos em farmácias, e da levedura *S. cerevisiae*, obtida a partir de fermento seco adquirido em pontos de panificação. A composição nutricional da cianobactéria *S. maxima* e da levedura *S. cerevisiae* é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1: Perfil nutricional da cianobactéria *S. maxima* e da levedura *S. cerevisiae*

	<i>S. maxima</i> (%)	<i>S. cerevisiae</i> (%)
Proteínas	65,0 – 71,0	39,0
Lipídeos	7,0	8,0
Polissacarídeos	4,6	34,1
Cinzas	9,0	3,1
Outros	8,4 – 14,4	15,8

Fonte: modificado de <http://www.naturalways.com/spirul2.htm>

Diariamente indivíduos de *A. franciscana* foram alimentados às 8 h (25 mg) e 17 h (25 mg) com diferentes combinações de *S. maxima* e *S. cerevisiae*, nas seguintes proporções: 100/0; 75/25; 50/50; 25/75 e 0/100. Antes das ofertas diárias, as dietas eram hidratadas por 5 min para desagregar as partículas. Todos os tratamentos foram realizados em duplicata. Adicionalmente, um controle negativo, também em duplicata, com ausência total de *S. maxima* e *S. cerevisiae* (0/0), foi utilizado. Desta forma, o experimento consistiu em seis tratamentos (100/0; 75/25; 50/50; 25/75, 0/100 e 0/0).

Os dados abióticos apresentados nesse estudo foram coletados diariamente às 17 h. As concentrações de oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram obtidas por um oxímetro digital (modelo Y55). O pH foi determinado com o auxílio de um papel indicador; e a salinidade medida por um refratômetro com escala 0 ‰ – 280 ‰ (modelo S-28). Para verificar a luminosidade foi utilizado um luxímetro digital (modelo DX– 200).

Ao fim do experimento, 800 mL de cada cone teste foram sifonados para mais facilmente coletar os indivíduos de *A. franciscana* que permaneciam agrupados no volume de água restante. Uma vez coletados, estes foram estocados e conservados em frascos de 250 mL contendo 15 mL de formalina 5 %, 175 mL de água do mar, além de 10 mL de clorofórmio. Essa última substância foi utilizada como anestésico, de modo a evitar a liberação de embriões ou cistos por parte das fêmeas.

Utilizando uma lupa estereoscópica, os critérios de avaliação sobrevivência, proporção juvenis/adultos, proporção sexual e performance reprodutiva (estado e modo reprodutivo;

fecundidade) de *A. franciscana* foram determinados, em concordância com os valores percentuais e médios extraídos das duplicatas.

Para a sobrevivência, foi considerado o percentual dos indivíduos amostrados para cada tratamento dietético. Subsequentemente, os indivíduos foram agrupados em juvenis e adultos, e em machos e fêmeas. À semelhança da sobrevivência, a taxa percentual destes critérios foi determinada para cada tratamento.

Foram considerados juvenis os indivíduos desprovidos de órgãos genitais (hemipênis ou ovissaco) e de um acentuado dimorfismo sexual (antenas em forma de “pinça” nos machos); ou que quando presentes, estas estruturas eram pouco desenvolvidas. Por sua vez, os exemplares eram caracterizados como adultos a partir da emergência de um evidente dimorfismo sexual (antenas bastante desenvolvidas e em forma de “pinça” nos machos), assim como pelo completo desenvolvimento dos seus atributos genitais (hemipênis ou ovissaco).

Machos e fêmeas foram facilmente separados. Machos apresentavam um par de pênis (hemipênis) e o primeiro par de antenas era bastante desenvolvido com o seu característico formato de “pinça”. As fêmeas eram facilmente identificadas pelo seu distintivo saco embrionário (ovissaco) e, geralmente, apresentavam-se com tamanho superior ao dos machos.

Já para o estado reprodutivo foi somente analisado o número de fêmeas, sejam elas ovígeras ou não-ovígeras. Foram consideradas fêmeas não-ovígeras as fêmeas imaturas que ainda não apresentam embriões ou cistos em seu ovissaco/oviduto. As fêmeas caracterizadas como ovígeras apresentavam alguma massa embrionária, sejam náuplios ou cistos, ainda em formação, ou já formados, em seu oviduto ou ovissaco.

Em seguida, as fêmeas ovígeras foram classificadas conforme seu modo reprodutivo em ovíparas (cistos no ovissaco), ovovíparas (portando embriões) ou não-classificáveis (fêmeas com massa embrionária indistinguível em seu oviduto/ovissaco), e suas taxas subsequentemente determinadas. E finalmente, para se obter informações sobre a fecundidade média das fêmeas ovíparas ou ovovíparas, o número de cistos ou embriões, respectivamente, foi determinado através da dissecação dos ovissacos.

3 RESULTADOS

Os resultados obtidos para o critério sobrevivência estão ilustrados na Figura 1, enquanto que os percentuais achados para os critérios maturidade sexual (juvenil/adulto) e proporção sexual estão sumarizados na Tabela 2.

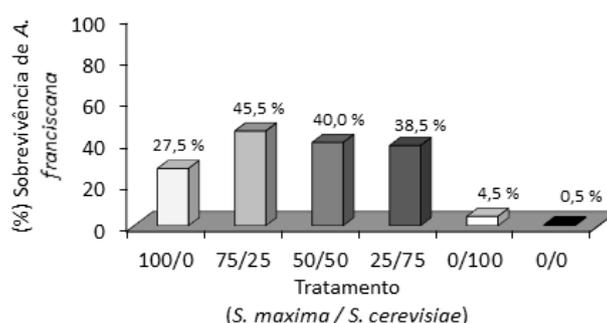


Figura 1: Sobrevivência média de *A. franciscana* obtida nos diferentes tratamentos dietéticos ao final do período experimental

Conforme ilustra a Figura 1, os tratamentos 75/25 (45,5 % \pm 10,6), 50/50 (40,0 % \pm 25,5) e 25/75 (38,5 % \pm 47,4) apresentaram médias superiores àquelas obtidas nos tratamentos administrados integralmente à base de *S. maxima* (27,5 % \pm 2,1) e de *S. cerevisiae* (4,5 % \pm 0,7). Como esperado, o tratamento com ausência total das dietas experimentais apresentou sobrevivência média muito baixa (0,5 % \pm 0,7). Com exceção deste último tratamento, todos os demais apresentaram taxa percentual maior de indivíduos adultos sobre os juvenis, sendo as taxas 100 %, 91,3 % e 74 % dos tratamentos 75/25, 50/50 e 25/75, respectivamente, as mais expressivas (Tabela 2).

Quanto a proporção sexual, os resultados indicaram uma maior incidência de machos para todos os tratamentos, salvo o tratamento 0/100, no qual 50 % dos indivíduos encontrados eram fêmeas, e o tratamento 0/0, no qual 100 % dos indivíduos ficaram restritos à fase juvenil.

Ao fim do experimento, 93,2 % \pm 7,9 das fêmeas apresentavam-se ovígeras no tratamento 75/25, 72,4 % \pm 18,4 no tratamento 50/50, 62,5 % \pm 23,1 no tratamento 100/0 e 32,0 % \pm 0,0 no tratamento 25/75, ao passo que o tratamento 0/100 não apresentou fêmeas ovígeras, e o tratamento 0/0 não apresentou fêmeas (Tabela 3).

Tabela 2: Valores percentuais referentes a maturidade e proporção sexual de *A. franciscana* obtidos para os diferentes tratamentos dietéticos à base de *S. maxima* e *S. cerevisiae*.

Tratamentos Dietéticos (<i>S.maxima/S.cerevisiae</i>)	Maturidade Sexual (%)		Proporção Sexual (%)	
	Juvenis	Adultos	Machos	Fêmeas
100/0	27,3	72,7	60	40
75/25	0	100	51,6	48,4
50/50	8,7	91,3	60,3	39,7
25/75	26	74	56,1	43,9
0/100	33,3	66,7	50	50
0/0	100	0	0	0

Com taxas superiores ou igual a 50 %, o modo reprodutivo ovovivíparo foi predominante, em relação ao ovíparo, em todos os tratamentos no qual esteve presente. Entretanto, o tratamento 100/0 apresentou 50 % de fêmeas com o modo reprodutivo não-classificável.

Tabela 3: Valores percentuais referentes ao estado e modo reprodutivo das fêmeas de *A. franciscana* para os diferentes tratamentos dietéticos à base de *S. maxima* e *S. cerevisiae*.

Tratamentos Dietéticos	Estado Reprodutivo (%)		Modo Reprodutivo das Fêmeas Ovígeras (%)		
	Não-ovígera	Ovígera	Ovíparo	Ovovivíparo	Não-classificável
100/0	37,5	62,5	0	50	50
75/25	6,8	93,2	9,8	56,1	34,1
50/50	27,6	72,4	9,5	57,2	34,3
25/75	68	32	0	75	25
0/100	100	0	0	0	0
0/0	0	0	0	0	0

A Tabela 4 apresenta uma visão geral dos valores médios e desvio padrão do número de fêmeas ovígeras e não-ovígeras (estado reprodutivo), assim como de ovíparas, ovovivíparas e não-classificáveis (modo reprodutivo), encontrado nos diferentes tratamentos dietéticos. Os valores

médios do número de fêmeas, determinado para todos os tratamentos (duas repetições), em relação ao estado reprodutivo foi de 18,5 fêmeas não-ovígeras ($n = 37$) e 40 fêmeas ovígeras ($n = 80$). Destas, 23 fêmeas ($n = 46$) adotaram o modo ovovivíparo e apenas 3 ($n = 6$) adotaram o modo ovíparo, sendo a maior média, tanto de fêmeas ovíparas ($2,0 \pm 0,0$) quanto ovovíparas ($11,5 \pm 0,7$), encontrada no tratamento 75/25. Os resultados ainda apontaram que, em 14 fêmeas ovígeras ($n = 28$), o modo reprodutivo não foi classificado.

Tabela 4: Valores médios do número de fêmeas de *A. franciscana* encontrados para o estado e modo reprodutivo nos diferentes tratamentos dietéticos à base de *S. maxima* e *S. cerevisiae*

Tratamentos Dietéticos	Estado Reprodutivo (média \pm DP)		Modo Reprodutivo das Fêmeas Ovígeras (média \pm DP)		
	Não-ovígera	Ovígera	Ovíparo	Ovovivíparo	Não-classificável
100/0	3,0 \pm 0,0	5,0 \pm 4,2	0,0 \pm 0,0	2,5 \pm 2,1	2,5 \pm 2,1
75/25	1,5 \pm 2,1	20,5 \pm 4,9	2,0 \pm 0,0	11,5 \pm 0,7	7,0 \pm 4,2
50/50	4,0 \pm 2,8	10,5 \pm 12,0	1,0 \pm 1,4	6,0 \pm 7,1	3,5 \pm 3,5
25/75	8,5 \pm 12,0	4,0 \pm 5,7	0,0 \pm 0,0	3,0 \pm 4,2	1,0 \pm 1,4
0/100	1,5 \pm 0,7	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
0/0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
Total de fêmeas	18,5	40,0	3,0	23,0	14,0

A fecundidade das fêmeas ovíparas variou de 63,0 cistos \pm 2,8 no tratamento 50/50 a 105,0 cistos \pm 33,2 no tratamento 75/25, ao passo que a fecundidade das fêmeas ovovíparas variou de 45,3 embriões \pm 8,9 no tratamento 25/75 a 92,0 embriões \pm 34,9 no tratamento 75/25. Os tratamentos 0/100 e 0/0 não apresentaram fêmeas ovígeras, enquanto que o tratamento 100/0 com 75,6 embriões \pm 32,9 e 25/75 com 45,3 embriões \pm 8,9 só apresentaram fêmeas ovovíparas (Figura 2).

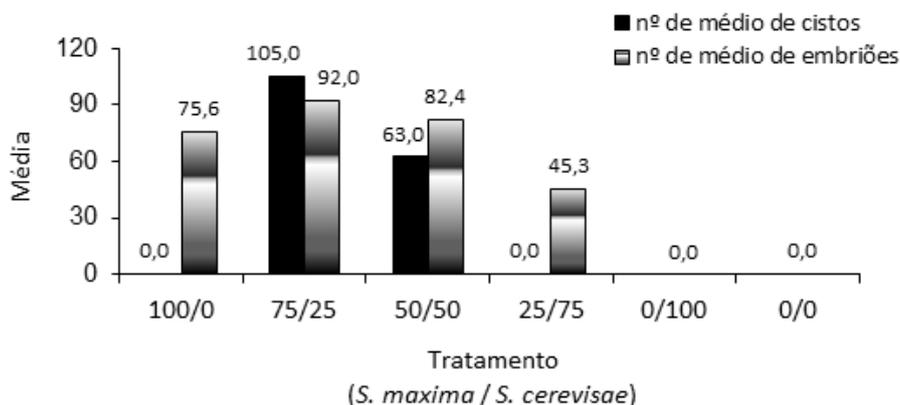


Figura 2: Fecundidade média de fêmeas ovíparas (cistos) e ovovíparas (embriões) de *A. franciscana* nos diferentes tratamentos dietéticos.

Exceto a salinidade (mantida a 37 ‰), os dados abióticos obtidos no sistema experimental (temperatura, oxigênio dissolvido, luminosidade e pH) foram mantidos em condições adequadas de cultivo (Sorgeloos *et al.*, 1986) (Tabela 5).

Tabela 5: Valores abióticos obtidos durante o período experimental.

Parâmetros	Temperatura (°C)	Salinidade (‰)	OD (mg/L)	Luminosidade (lux)	pH
Ideal	25 – 28	35	> 5	> 1.000	8,0 – 8,5
Obtido	27,7	37	–	1.630	8,0

4 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

De um modo geral, indivíduos de *A. franciscana* tratados com mistura entre as dietas obtiveram um melhor índice de sobrevivência. O índice mais expressivo (45,5 % \pm 10,6) foi apresentado no tratamento em que 75 % do conteúdo dietético era constituído de *S. maxima*. Conforme reduzia-se o conteúdo de *S. maxima* da dieta, os índices de sobrevivência foram decaindo, até os valores 4,5 % (\pm 0,7) no tratamento 0/100 e 0,5 % (\pm 0,7) no tratamento 0/0; os quais não apresentavam *S. maxima* em sua composição. Esse achado, somado ao fato de que a sobrevivência no tratamento integralmente à base de *S. cerevisiae* (4,5 % \pm 0,7) foi inferior àquele administrado exclusivamente com *S. maxima* (27,5 % \pm 2,1), leva a crer que esta possui um melhor valor alimentar (ingestibilidade, digestibilidade e/ou teor proteico) para *A. franciscana* que *S. cerevisiae*, muito embora a associação entre as duas dietas seja mais eficiente para manter o cultivo.

Os resultados do presente estudo assemelham-se aos de Coutteau *et al.* (1992), os quais testaram várias combinações dietéticas entre a microalga *Dunaliella tertiolecta* e *S. cerevisiae* no cultivo de *A. franciscana* e concluíram que a sobrevivência resultava em um melhor índice quando a dieta era constituída exclusivamente de *D. tertiolecta* (89,0 % \pm 6,0) ou quando havia associação de 25 % desta microalga com 75 % de *S. cerevisiae* (88,0 \pm 7,0), que àquela constituída unicamente de *S. cerevisiae*. Os achados de Cavalcante *et al.* (2004) também corroboram os obtidos no presente trabalho. Em seu estudo, uma combinação de 25 % de *S. maxima* com 75 % da macroalga *Gracilaria cervicornis* micronizada resultou em um maior índice de sobrevivência de *A. franciscana* (62,0 % \pm 1,4) que àqueles com dietas integrais, constituídas exclusivamente de *S. maxima* (25,5 % \pm 33,2) ou de *G. cervicornis* (17,5 \pm 24,7). Todos esses resultados indicam que o cultivo pode ser viabilizado quando *A. franciscana* é tratada com dietas associadas. Sabendo que *S. cerevisiae* possui uma composição química constituída por elementos essenciais ao desenvolvimento de vários organismos, e que o valor alimentar de determinadas dietas, além do teor de proteínas e de outros constituintes, compreende a sua ingestibilidade e digestibilidade, pode-se assumir que provavelmente a ineficácia da dieta à base de *S. cerevisiae* tenha sido devido a uma baixa fluabilidade e/ou estabilidade da levedura na coluna d'água, as quais implicariam em uma menor disponibilidade de células para *A. franciscana*. Esses fatos podem justificar o porquê de quantidades significativas da cianobactéria *S. maxima* (75 % e 50 %) serem requeridas para suprir o déficit de *S. cerevisiae* disponível no meio, e, por conseguinte, sustentar o cultivo. Coutteau *et al.* (1992) vão além, e admitem que uma certa quantidade de microalgas é também necessária para suplementar *S. cerevisiae* na dieta de *A. franciscana* e, desta forma, manter uma boa sobrevivência.

Resultados ainda melhores para a sobrevivência de *A. franciscana* foram alcançados por Coutteau *et al.* (1992), quando *S. cerevisiae* foi submetida a um processamento químico que consistia na remoção ou permeabilização de sua rígida parede celular, e uma adição de ácidos graxos insaturados (HUFA's). Certamente, o tratamento químico empregado favoreceu a uma

maior fluutuabilidade e estabilidade da levedura no meio de cultivo, logo maior ingestibilidade, além de um enriquecimento nutricional para os náuplios.

Contudo, o tamanho das partículas alimentares aparentemente foi satisfatório para *A. franciscana*, uma vez que essa apresentou uma boa sobrevivência, em todos os tratamentos, exceto naquele constituído unicamente por *S. cerevisiae*, o qual novamente poderia ser explicado por ocasião da estabilidade/fluutuabilidade reduzida.

Considerando que para qualquer organismo atingir a maturidade sexual ele tem que assimilar, ao longo do seu desenvolvimento, partículas com um considerável valor alimentar, nota-se que a associação entre *S. maxima* e *S. cerevisiae* é, também, nutricionalmente mais viável para sustentar indivíduos de *A. franciscana* até os estádios adultos, uma vez que os resultados mais expressivos para a maturidade demonstraram uma maior predominância de adultos, em relação a juvenis, nos tratamentos que houve mistura (principalmente 75/25 e 50/50). Ainda que se tenha encontrado taxas superiores de adultos nos tratamentos com dietas integrais, os indivíduos submetidos a estas apresentaram um maior percentual para juvenis que àqueles tratamentos de associação entre as dietas.

Naquele mesmo estudo em 1992, Coutteau e colaboradores, afirmaram que *S. cerevisiae* suplementado com lipídios e vitaminas lipossolúveis presentes na microalga *D. tertiolecta* promove o crescimento de *A. franciscana* à estádios adultos como também diferenciações sexuais. Baseado nessa informação, pode-se admitir que a inteiração entre as dietas testadas no presente estudo, contém, além de um alto teor de proteínas, suficientes quantidades de lipídios, conforme mostra a Tabela 1, e possivelmente vitaminas requeridas para nutrir *A. franciscana* até estádios mais avançados.

A renovação diária de 50 % no volume de água teve por finalidade minimizar o efeito do desenvolvimento de microorganismos junto às dietas, uma vez que o cultivo sem renovação da água pode propiciar condições satisfatórias para uma acelerada proliferação microbiana que pode servir como uma fonte alimentar alternativa para *A. franciscana*, e deste modo mascarar a deficiência da dieta.

James *et al.* 1987 apud Coutteau *et al.* (1992) cultivaram *Artemia* com a levedura marinha *Candida*, em baixa densidade e sem renovação de água, e alcançaram bons resultados. No entanto, as condições do cultivo foram satisfatórias para o desenvolvimento de “blooms” microbianos que serviu como um suplemento alimentar e, deste modo, omitiu a deficiência na dieta. Neste caso, o uso da levedura como uma fonte alimentar não permitiu uma autêntica avaliação do seu valor nutricional.

O efeito de microorganismos como fonte alimentar alternativa para náuplios de *Artemia*, foi evidenciado por Uchida *et al.* (1997). Inoculando *Alteromonas espejiana*, bactéria rica em proteínas, em um meio contendo talos formados a partir de *Laminaria japonica* (105-177 μm), ele observou que *A. espejiana* degrada os talos em partículas ainda menores, se adere aos detritos formados e ainda suplementa tais detritos, que por sua vez são ingeridos pela *Artemia*.

As variáveis experimentais obtidas no sistema de cultivo foram mantidas em condições adequadas (Sorgeloos *et al.* 1986), e portanto, não interferiram nos critérios avaliados. Desta maneira, a predominância do modo reprodutivo ovovivíparo em relação ovíparo foi resultado, não só, de uma correta manutenção da qualidade da água, mas também de uma alimentação

satisfatória, uma vez que a reprodução por oviparismo denota uma condição ambiental e/ou nutricional estressante.

Provavelmente, a condição pela qual algumas fêmeas inverteram seu modo reprodutivo para o oviparismo (tratamentos 75/25 e 50/50) tenha sido uma deficiência na quantidade do alimento, uma vez que nestes tratamentos foi atingida uma alta sobrevivência. Além disso, opcionalmente, não foi ofertada uma quantidade maior das dietas à medida que os indivíduos cresciam. Outra possível condição que tenha feito as fêmeas adotarem tal estratégia pode ter sido uma predisposição genética, favorável ao desenvolvimento ovíparo, que poderia estar expressa em uma parte da população experimental; a qual só se confirmaria após estudos genéticos.

Nas mesmas condições de cultivo, Cavalcante *et al.* (2004), alimentaram *A. franciscana* com diferentes proporções de *S. maxima* e *G. cervicornis*, e igualmente encontraram uma maior predominância de ovoviviparismo em relação ao oviparismo, sendo este último encontrado apenas nos tratamentos onde a sobrevivência foi elevada.

Os tratamentos nos quais 75 % e 50 % de *S. maxima* foi associada à *S. cerevisiae*, possivelmente, foram os mais bem sucedidos para estimular a cópula de *A. franciscana*, já que as fêmeas apresentaram valores expressivos tanto para o número médio de cistos ($92,0 \pm 34,9$ no tratamento 75/25 e $82,4 \pm 20,2$ no tratamento 50/50) como para o de embriões ($105,0 \pm 33,2$ no tratamento 75/25 e $63,0 \pm 2,8$ no tratamento 50/50). Não obstante, o tratamento ofertado com 100 % de *S. maxima* e o tratamento no qual 25% de *S. maxima* suplementou *S. cerevisiae* apresentaram uma alta fertilidade somente para as fêmeas ovovivíparas (dotadas de embriões). As fêmeas submetidas a dieta exclusivamente com *S. cerevisiae* não apresentavam cistos ou embriões, indicando que não foram fecundadas (fêmeas inférteis). Tais fatos levam a crer que dietas ofertadas integralmente à base de *S. cerevisiae* não são viáveis para assegurarem o comportamento pré-copulativo e a cópula de *A. franciscana*.

No entanto, os resultados obtidos para a fecundidade das fêmeas, sejam elas ovovivíparas ou ovíparas, neste último caso apenas nos tratamentos 75/25 e 50/50, apresentaram-se ótimos quando comparados com a descrição de Amat (1985), o qual relatou que a primeira postura de uma exemplar varia entre 10 e 30 embriões ou cistos, enquanto que as fêmeas de idade mais avançada, em perfeito estado reprodutivo, o número de embriões ou cistos, varia entre 100 e 400, dependendo das condições do meio.

Contudo, os valores encontrados para o tratamento ofertado apenas com *S. maxima* e para os tratamentos com associações entre *S. maxima* e *S. cerevisiae*, demonstraram que tais tratamentos possuem dietas com um valor nutricional capaz de promover diferenciações sexuais, estimular a cópula e sustentar o cultivo de *A. franciscana*, uma vez que os indivíduos submetidos a estes tratamentos, não só apresentaram uma sobrevivência relativamente alta, mas também atingiram o estágio adulto e foram capazes de realizar a cópula.

Em conclusão, o estudo da utilização da cianobactéria *S. maxima* e da levedura *S. cerevisiae* como dietas complementares para *A. franciscana*, indicam que adequadas proporções entre as dietas testadas (75/25, 50/50 e 25/75), sobretudo com maior quantidade de *S. maxima*, atendem as perspectivas para o sustento de larvas e adultos de *A. franciscana* em sistemas de cultivos laboratoriais, e desta forma, são suficientemente viáveis para substituir, ou pelo menos suplementar, as microalgas vivas na nutrição desse microcrustáceo.

5 REFERÊNCIAS

1. AMAT, F., 1985. Biología de Artemia. Instituto de acuicultura de Torre de la Sal. Inf. Tecn. Inst. Inv. Pesq./126-127. 59 p.
2. CAMARA, M. R., 1996. *Artemia* no Brasil: em busca de um modelo auto-sustentável de produção. Panorama de Aquicultura, 36: 16-19.
3. CAVALCANTE, P.H.O; SOUZA I.S; JUNIOR, M.A.F.C.; SOUZA, F.R.S.; CABRAL, T. M; CAMARA, M.R., 2004. Utilização da macroalga *Gracilaria cervicornis* e da cianobactéria *Spirulina maxima* como dietas complementares no cultivo de *Artemia franciscana* Kellogg (Crustacea; Anostraca) em escala laboratorial. In: VI Simpósio Brasileiro sobre Camarão – FENACAM, Natal, 2004. Resumos, Natal: ABCC, p. 31.
4. COUTTEAU, P., BRENDONCK, L., LAVENS, P., & SORGELOOS, P., 1992. The use of manipulated baker's yeast as na algal substitute for the laboratory culture of Anostraca. Hydrobiologia, 234: 25-32.
5. PEDRAZA, G., X., 1989. Cultivo de *Spirulina maxima* para suplementación proteica. Livestock Research for Rural Development. Vol. I, N 1. Fundación CIPAV, Cali, Colômbia.
6. PERSOONE, G. & SORGELOOS, P., 1980. General aspects of the ecology and biogeography of *Artemia*. In: G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels, and Jaspers (Editores), The brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Universa Press, Wetteren, Bélgica, p. 3-24.
7. SORGELOOS, P., LAVENS, P., LEGER P., TACKAERT, W. & VERSICHELE, D., 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in Aquaculture. 319 pp. University of Ghent. Belgica.
8. SZYPER, J. P., 2003. Live feeds: Production of the brine shrimp *Artemia* without natural sea water or microalgae. Aquaculture Extension Bulletin. P: 1-6.
9. TIZOL C., R., 1994. Uso de la levedura torula (*Torulopsis utilis*) en la obtención de biomassa de *Artemia*. An. Inst. Mar. Punta Betín, 23: 165-171. Santa Marta, Columbia.
10. UCHIDA, M., NAKATA, K., & MAEDA, M., 1997. Introduction of detrital food webs into an aquaculture system by supplying single cell algal detritus produced from *Laminaria japonica* as a hatchery diet for *Artemia* nauplii. Aquaculture 154: 125-137.
11. VINATEA, L. A., 1998. Manual de producción de Artemias (quistes y biomasa) en módulos de cultivo. Proyecto II – A/2 “Localización, caracterización y evaluación del potencial extractivo de *Artemia* en Ibero-América con destino a la acuicultura”. 59 p.
12. <http://www.naturalways.com/spirul2.htm> (Acessado em 06 de Fevereiro de 2012 às 13:25 horas).