

## Produção de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*: efeito da duração do período de co-alimentação durante o desmame

### Production of Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* juveniles: the effect of co-feeding period during the weaning

Andréa Ferretto da Rocha<sup>1</sup> Cristina Vaz Avelar de Carvalho<sup>1</sup> Luís André Sampaio<sup>1\*</sup>

#### RESUMO

O desmame, ou seja, a substituição do alimento vivo por alimento inerte é uma etapa crítica para a produção de alevinos de peixes marinhos. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do período de co-alimentação (alimento vivo e inerte) sobre a sobrevivência, o crescimento e os custos de produção de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus*. Durante o período de co-alimentação, os juvenis (idade inicial 32 dias) receberam *Artemia* enriquecida juntamente com ração. Foram testados três períodos de co-alimentação: 15, 20 e 25 dias, mais um grupo controle alimentado com *Artemia* enriquecida. Ao final do experimento (76 dias), os juvenis alimentados exclusivamente com *Artemia* enriquecida apresentaram sobrevivência (82%), peso ( $480 \pm 157$ mg) e comprimento ( $35,5 \pm 5,0$ mm) significativamente maiores ( $P < 0,05$ ) que os juvenis alimentados com ração. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) no crescimento entre os juvenis alimentados com ração nos diferentes períodos, entretanto, um período maior de co-alimentação favoreceu a sobrevivência. Os resultados obtidos demonstram que os linguados alimentados exclusivamente com *Artemia* apresentam melhor performance do que aqueles alimentados com ração. Entretanto, o custo de produção quando a *Artemia* é substituída por ração aos 58 dias de vida é menor do que quando o desmame é realizado mais cedo ou quando os alevinos são alimentados apenas com *Artemia*.

**Palavras-chave:** co-alimentação, desmame, *Paralichthys orbignyanus*, dieta artificial.

#### ABSTRACT

Weaning is a critical period for production of marine fish juveniles. The objective of this research was to evaluate the effect of co-feeding on survival, growth, and cost of production after the weaning of juveniles of Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. Juvenile flounder (32 days after hatching) were fed on HUFA enriched *Artemia* and subsequently

three periods of co-feeding with dry diets (15, 20, and 25 days) were tested, a control group, where flounder were fed exclusively on *Artemia* was also followed until the end of the experiment. Juveniles fed on *Artemia* showed significantly higher ( $P < 0.05$ ) survival (82%), weight ( $480 \pm 157$ mg) and total length ( $35.5 \pm 5.0$ mm) than flounder weaned into dry diets, independent of the co-feeding period. Growth was similar ( $P > 0.05$ ) for juveniles fed on dry diets, but a higher survival rate was registered when the co-feeding period was longer. The results obtained demonstrate that flounder fed exclusively on *Artemia* have a better performance than those weaned into dry diets. However, unitary cost of production is reduced when juveniles are weaned 58 days after hatching.

**Key words:** co-feeding, weaning, *Paralichthys orbignyanus*, artificial diets.

#### INTRODUÇÃO

O linguado *Paralichthys orbignyanus* é uma das espécies consideradas para desenvolvimento da piscicultura marinha no Brasil (SAMPAIO et al., 2001; SAMPAIO et al., 2007). No entanto, assim como sucede com a maioria das espécies cultivadas, os juvenis de *P. orbignyanus* devem ser capazes de aceitar uma dieta formulada, visto que a utilização do alimento vivo por um período muito extenso pode criar barreiras econômicas significativas para uma produção comercial (HAMLIN & KLING, 2001).

Na criação de juvenis de peixes marinhos, ainda é necessário o fornecimento de presas vivas durante a primeira alimentação, principalmente rotíferos (*Brachionus plicatilis*) e *Artemia* (CAHU &

<sup>1</sup>Departamento de Oceanografia, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), 96201-900, Rio Grande, RS, Brasil. E-mail: sampaio@mikrus.com.br. \*Autor para correspondência.

ZAMBONINO INFANTE, 2001). Entretanto, é necessário esforço em termos de mão-de-obra, tempo e energia para a produção destas duas espécies de alimento vivo, representando uma despesa que pode alcançar 80% do custo total de produção (PERSON LE RUYET et al., 1993). Para a maioria das espécies de peixes marinhos pesquisadas, os resultados encontrados nos estudos que avaliam a substituição do alimento vivo pelo alimento inerte, conhecida também como “desmame”, mostram uma menor eficiência das dietas formuladas em comparação com o alimento vivo quando utilizadas como única fonte alimentar desde a primeira alimentação (HOLT 1993, KOLKOVSKI et al., 1997). Quando se procede à transição alimentar de uma forma gradativa, em que o alimento inerte é oferecido em combinação com o alimento vivo, denominada estratégia de co-alimentação, podem ser obtidas taxas de crescimento similares ou melhores às alcançadas com o fornecimento exclusivo de *Artemia* (PERSON LE RUYET et al., 1993).

As vantagens obtidas com o uso da estratégia de co-alimentação na realização do desmame, possibilitam uma redução na quantidade de alimento vivo utilizado e diminuem, conseqüentemente, os custos de produção (CALLAN et al., 2003). Este regime alimentar pode auxiliar as larvas e os juvenis a aceitarem o alimento inerte e, de uma forma geral, isso pode resolver o problema do fornecimento inadequado de nutrientes, devido à maior diversidade de alimento disponível (ROSELUND et al., 1997). Resultados positivos em sobrevivência e crescimento foram observados no desmame de *Hippoglossus hippoglossus*, assim como em *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata*. Esses estudos concluíram que o desmame após 10 dias de co-alimentação seguido de sete dias de redução da densidade de *Artemia* (ROSELUND et al., 1997). HART & PURSER (1996), utilizando a estratégia de co-alimentação de 10 dias, alcançaram sobrevivência superior no desmame do linguado *Rhombosolea tapirina* aos 23 dias após a eclosão. Entretanto, muitos fatores estão envolvidos no sucesso da substituição do alimento vivo pelo alimento inerte, tais como o desenvolvimento do sistema digestório, o comportamento alimentar, a duração do período de transição alimentar e as propriedades da dieta (PERSON LE RUYET et al., 1993), que devem ser levados em consideração antes da escolha de um protocolo adequado de alimentação.

Este estudo foi realizado para determinar o tempo mínimo necessário de co-alimentação antes de se completar o desmame de juvenis de *P. orbignyanus*, comparando quatro estratégias alimentares em termos de sobrevivência, crescimento e custos de produção.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Maricultura, do Departamento de Oceanografia, da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Os juvenis de *P. orbignyanus* foram obtidos a partir de reprodução em laboratório de linguados capturados na natureza. Os reprodutores foram induzidos hormonalmente à desova em laboratório utilizando-se extrato de hipófise de carpa na dose única de 3mg kg<sup>-1</sup>.

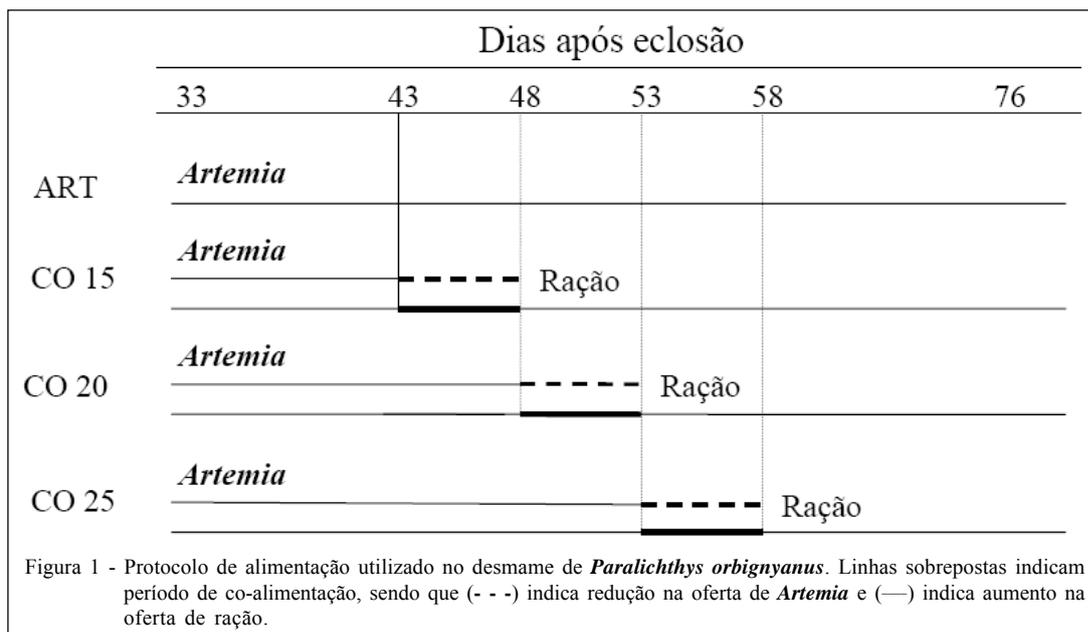
A primeira alimentação das larvas foi iniciada com o rotífero *B. plicatilis* a uma densidade de 20 indivíduos mL<sup>-1</sup>. Os rotíferos foram alimentados com a microalga *Nannochloropsis oculata* a uma densidade de 0,5 x 10<sup>6</sup> células mL<sup>-1</sup> nos tanques de larvicultura e Culture Selco 3000 (Inve). Aos nove dias após eclosão (DAE) foi iniciado o fornecimento de *Artemia* enriquecida (1–5 *Artemia* mL<sup>-1</sup>) juntamente com o rotífero até completarem 32 dias de vida. Os cistos de *Artemia* (Inve) eram colocados para eclodir durante 24 horas e os náuplios enriquecidos durante 24 horas com DHA Selco (Inve). Após esse período, a *Artemia* enriquecida era coletada e fornecida às larvas e aos juvenis durante o dia, permanecendo refrigeradas e com aeração.

Ao completarem 32 dias de vida, os juvenis foram medidos (comprimento total 9,5± 1,2mm, n=35), contados e transferidos para tanques de fibra de vidro de 50L, com paredes pretas e fundo branco, a uma densidade de 3 indivíduos L<sup>-1</sup>, ou 150 juvenis em cada tanque. Os tanques permaneceram imersos em banho termostático com temperatura média de 23,8 ± 0,2°C e água do mar (salinidade entre 30 e 34‰), em sistema de fluxo-contínuo, com uma taxa de renovação de aproximadamente 10 litros h<sup>-1</sup>. O experimento teve duração de 44 dias, quando os linguados completaram 76 dias de vida

A concentração de amônia total foi medida segundo metodologia da UNESCO (1983) e nunca excedeu 0,3mg L<sup>-1</sup> N-NH<sub>3</sub>, enquanto o pH esteve entre 7,8 e 8,1. Os tanques eram sifonados diariamente para a retirada do material depositado no fundo. A água foi filtrada por um sistema de filtros de cartucho (1µm) e ultravioleta. O fotoperíodo foi alterado para 18 horas de luz e seis horas de escuro, com intensidade luminosa de aproximadamente 200 lux na superfície da água.

Foram avaliados quatro tratamentos com três repetições, sendo três períodos de co-alimentação e um grupo controle, em que as larvas foram alimentadas exclusivamente com *Artemia*. O protocolo experimental pode ser observado na figura 1, sendo descrito como:

ART: juvenis alimentados exclusivamente com *Artemia* ao longo do experimento.



CO-15: ao completarem 33 dias de vida, os juvenis deste grupo foram co-alimentados (*Artemia* e ração) durante 15 dias. Nos últimos cinco dias, foi iniciada a redução gradual da oferta de *Artemia* concomitante ao aumento da oferta de ração, efetivando-se o desmame aos 48 DAE.

CO-20: ao completarem 33 dias de vida, os juvenis deste grupo foram co-alimentados (*Artemia* e ração) durante 20 dias. Nos últimos cinco dias, foi iniciada a redução gradual da oferta de *Artemia* concomitante ao aumento da oferta de ração, efetivando-se o desmame aos 53 DAE.

CO-25: ao completarem 33 dias de vida, os juvenis deste grupo foram co-alimentados (*Artemia* e ração) durante 25 dias. Nos últimos cinco dias, foi iniciada a redução gradual da oferta de *Artemia* concomitante ao aumento da oferta de ração, efetivando-se o desmame aos 58 DAE.

No início do experimento, foi utilizada a ração comercial Proton 2 (Inve), com 58% de proteína, 14% de lipídio, 9% de cinzas e tamanho de partícula entre 150-300  $\mu\text{m}$  de diâmetro, juntamente com a ração Lansy NRD (Inve), com 60% de proteína, 14,5% de lipídio, 11,5% de cinzas e tamanho de partícula entre 200- 800 $\mu\text{m}$  de diâmetro, substituídas aos 60 DAE pela ração Epac Alfa (Inve), com 56% de proteína, 15% de lipídio, 12% de cinzas e tamanho de partícula entre 1200-2000 $\mu\text{m}$  de diâmetro. Também foi oferecida *Artemia* enriquecida com DHA Selco (Inve) para todos os tratamentos durante os períodos de co-alimentação.

A oferta do alimento vivo foi realizada três vezes ao dia (manhã, tarde e noite), enquanto o alimento inerte foi oferecido, no mínimo, duas vezes pela manhã,

três vezes pela tarde e duas vezes pela noite, sempre com sobras.

Para análise do crescimento, os juvenis de linguado foram pesados em balança de precisão e medidos sob microscópio estereoscópico ao final do experimento. Para estimar a sobrevivência (S), os juvenis foram contados no final do experimento (Nf). O cálculo foi efetuado com a fórmula:  $S = (N_i - N_f) / N_i \times 100$ , em que  $N_i$  é o número inicial de juvenis de linguado. A taxa de crescimento específico (TCE) foi calculada a partir da equação:  $TCE = (\ln C_f - \ln C_i) / T \times 100$ , sendo que:  $C_f$  é o comprimento final,  $C_i$  é o comprimento inicial e T é a duração do período experimental em dias. O cálculo dos custos com alimentação foi baseado no consumo aparente de *Artemia* enriquecida e ração durante o experimento. Foi considerada a eclosão de 150.000 náuplios de *Artemia*/grama de cisto.

A normalidade dos dados e a homocedasticidade da variância foram testadas respectivamente com os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene. Os resultados de sobrevivência, taxa de crescimento específico, comprimento e peso foram analisados com ANOVA (uma via), seguida do teste de Tukey quando encontrada diferença significativa entre os tratamentos. Os dados percentuais foram transformados (arco seno) antes de serem submetidos à ANOVA. Todas as análises foram realizadas com um nível de significância de 95% (SOKAL & ROHLF 1995), utilizando o programa estatístico Statistica 6.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo alimentado exclusivamente com *Artemia* apresentou sobrevivência significativamente

maior ( $P < 0,05$ ) que os grupos que passaram pelo processo de transição alimentar. A sobrevivência do tratamento CO 15 foi significativamente menor do que CO 25 ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1).

A baixa sobrevivência verificada nos tratamentos que completaram o desmame pode ser atribuída ao fato de os juvenis não se adaptarem à dieta inerte e morrerem por inanição após a retirada completa do alimento vivo. As larvas de peixes marinhos não dispõem de enzimas digestivas suficientes para digerir alimento artificial (CAHU & ZAMBONINO INFANTE, 2001), portanto, também é possível que apesar de terem ingerido a ração, ela não tenha sido digerida e/ou assimilada. LEE & LITVAK (1996) obtiveram alta sobrevivência no desmame de juvenis de *Pleuronectes americanus* utilizando um protocolo de desmame gradual de sete dias. HART & PURSER (1996) observaram que larvas do linguado *Rhombosolea tapirina* alcançavam sobrevivência similar em diferentes períodos de co-alimentação.

A taxa de crescimento específico em comprimento foi significativamente maior para os juvenis alimentados exclusivamente com *Artemia* ( $P < 0,05$ ). Entretanto, não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para os linguados alimentados com ração, independente do período de co-alimentação utilizado. Os mesmos resultados foram observados para o peso úmido e o comprimento total ao final do experimento (Tabela 1). O aumento do período de co-alimentação pode proporcionar uma melhor performance, como observado por HART & PURSER (1996) em *Rhombosolea tapirina*, em que o tempo para concluir o desmame apresentou efeito significativo sobre o crescimento, mostrando que períodos mais longos (10-20 dias) são mais eficientes que períodos menores (cinco dias).

Para que o sistema de co-alimentação seja bem-sucedido, é importante que a larva se alimente da ração enquanto o alimento vivo ainda é oferecido (ROSELUND et al., 1997). KOLKOVSKI et al., (1997) também observaram que larvas de pargo *Sparus aurata* previamente alimentadas com presas vivas selecionam

preferencialmente o alimento vivo durante a co-alimentação, o que pode refletir em um comportamento de pré-condicionamento em favor do alimento vivo. Entretanto, APPELBAUM (1985) observou que larvas de *Solea solea* aceitaram mais facilmente partículas inertes nos primeiros estádios de desenvolvimento do que em estádios mais avançados. Também CAÑAVATE & FERNÁNDEZ-DÍAZ (1999) verificaram que a oferta de *Artemia* e ração na proporção de 1:1 desde a primeira alimentação faz com que um maior número de larvas de *Solea senegalensis* aceite a ração mais cedo. Há sugestões de um regime de co-alimentação precoce favorece a aceitação do alimento inerte, acelerando o processo de substituição do alimento vivo (ROSELUND et al., 1997; CALLAN et al., 2003), facilitando o processo de digestão e assimilação de nutrientes (HOLT, 1993; PERSON LE RUYET et al., 1993) e garantindo uma significativa economia no custo de produção com alimento vivo (KOLKOVSKI et al., 1997).

As observações comportamentais também devem ser levadas em consideração, pois podem ajudar a explicar os dados de crescimento e sobrevivência. BENETTI (1997) sugere estocar juvenis de *Paralichthys woolmani* em baixas densidades (5 indivíduos  $L^{-1}$ ) e fazer um constante gradeamento para reduzir o canibalismo. Neste trabalho foram observadas situações de canibalismo entre os juvenis de *P. orbignyanus* principalmente após o desmame. O gradeamento não foi realizado, entretanto, a densidade de estocagem utilizada (3 indivíduos  $L^{-1}$ ) é a usualmente empregada em estudos com outras espécies de linguado (LEE & LITVAK, 1996).

A análise dos custos com alimentação durante o experimento mostrou que os gastos com *Artemia* foram muito superiores aos gastos com ração. Isso tem reflexo nos custos de produção, pois embora a utilização da *Artemia* tenha favorecido a sobrevivência e o crescimento, um período de co-alimentação de 25 dias reduziu os custos finais (Tabela 2).

O alimento vivo pode representar 80% do custo total em 45 dias de produção de robalo europeu *Dicentrarchus labrax*, sendo que o uso de *Artemia*

Tabela 1 - Performance de juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus* sob diferentes regimes alimentares: co-alimentados com *Artemia* e ração durante 15, 20 e 25 dias (CO 15, CO 20 e CO 25) ou exclusivamente com *Artemia*

Parâmetro analisado	<i>Artemia</i>	CO 25	CO 20	CO 15
Sobrevivência	82±3 <sup>a</sup>	23±3 <sup>b</sup>	13±5 <sup>bc</sup>	9±6 <sup>c</sup>
Peso úmido	480±157 <sup>a</sup>	192±161 <sup>b</sup>	243±207 <sup>b</sup>	184±10 <sup>b</sup>
Comprimento total	35,5±5 <sup>a</sup>	26,5±5 <sup>b</sup>	27,4±6 <sup>b</sup>	24,6±6 <sup>b</sup>
TCE - comprimento	3,0±0,32 <sup>a</sup>	2,3±0,46 <sup>b</sup>	2,4±0,47 <sup>b</sup>	2,1±0,55 <sup>b</sup>

\* Letras diferentes indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) após teste de Tukey.

Tabela 2 - Custos de produção de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* com *Artemia* e ração.

Tratamento	<i>Artemia</i> <sup>1</sup>	Ração <sup>2</sup>	DHA <sup>3</sup>	Total
<i>Artemia</i>	41	---	32	173
CO 15	88	61	20	169
CO 20	104	41	23	168
CO 25	95	22	21	138

Os valores são apresentados em dólar americano.

<sup>1</sup>(Inve) = US\$ 80,00 kg<sup>-1</sup>; <sup>2</sup>(Inve) = US\$ 15,00 kg<sup>-1</sup>; <sup>3</sup>(Inve) = US\$ 48,00 L<sup>-1</sup>.

representa 80% do total de despesas com alimento vivo, que incluem também os gastos com a produção de microalgas e rotíferos (PERSON LE RUYET et al., 1993). CALLAN et al. (2003) obtiveram resultados positivos em sobrevivência e crescimento do bacalhau *Gadus morhua* utilizando um sistema de co-alimentação que reduziu cerca de 75% a quantidade de *Artemia*. EHRLICH et al. (1989) conseguiram reduzir o custo de produção de *Micropterus dolomieu* pela metade realizando o desmame mais cedo.

## CONCLUSÃO

Um período de co-alimentação de 25 dias no desmame de *P. orbignyanus* parece ser a melhor estratégia, visto que a sobrevivência dos juvenis foi favorecida por este regime alimentar e que o custo de produção foi menor. Entretanto, ainda não foi possível estabelecer um protocolo ideal de substituição do alimento vivo pelo alimento inerte na criação de juvenis de *P. orbignyanus*.

## AGRADECIMENTOS

Andréa Ferretto da Rocha foi aluna do Programa de Pós-graduação em Aqüicultura da FURG, sendo bolsista de mestrado do CNPq. Cristina Vaz Avelar de Carvalho é aluna do Programa de Pós-graduação em Aqüicultura da FURG. Luís André Sampaio é Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq. Este projeto foi financiado com recursos do CT-Agronegócio/MCT/SEAP-PR/CNPq (Processo 504028/2003-0) e FAPERGS (Processo 04/0501-1).

## REFERÊNCIAS

APPELBAUM, S. Rearing of Dove sole *Solea solea* L., through its larval stages using artificial diets. *Aquaculture*, v.49, p.209-221, 1985.

BENETTI, D.D. Spawning and larval husbandry of flounder (*Paralichthys woolmani*) and Pacific yellowtail (*Seriola mazatlanensis*), new candidate species for aquaculture. *Aquaculture*, v.155, p.307-318, 1997.

CAHU, C.; ZAMBONINO INFANTE, J. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, v.200, p.161-180, 2001.

CALLAN, C. et al. Reducing *Artemia* use in the culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, v.219, p.585-595, 2003.

CAÑAVATE, J.P.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, C. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture*, v.174, p.255-263, 1999.

EHRLICH, K.F. et al. Growth and survival of larval and postlarval smallmouth bass fed a commercially prepared dry feed and/or *Artemia* nauplii. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.20, p.1-6, 1989.

HAMLIN, H.J.; KLING, L.J. The culture and early weaning of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) using a microparticulate diet. *Aquaculture*, v.201, p.61-72, 2001.

HART, P.R.; PURSER, G.J. Weaning of hatchery-reared greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther) from live to artificial diets: Effects of age and duration of the changeover period. *Aquaculture*, v.145, p.171-181, 1996.

HOLT, J.G. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.24, p.225-230, 1993.

KOLKOVSKI, S. et al. The mode of action of *Artemia* in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture*, v.155, p.193-205, 1997.

LEE, G.W.Y.; LITVAK, M.K. Weaning of metamorphosed winter flounder (*Pleuronectes americanus*) reared in the laboratory: comparison of two commercial artificial diets on growth, survival and conversion efficiency. *Aquaculture*, v.144, p.251-263, 1996.

PERSON LE RUYET, J. et al. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *Journal of the World Aquaculture Society*, v.24, p.211-224, 1993.

ROSELUND, G. et al. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture*, v.155, p.183-191, 1997.

SAMPAIO, L.A. et al. Growth of Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* cultured in different salinities. *Journal of Applied Aquaculture*, v.11, p.67-75, 2001.

SAMPAIO, L.A. et al. Effects of salinity on Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* from fertilization to juvenile settlement. *Aquaculture*, v.262, p.340-346, 2007.

SOKAL, R.R.; RHOLF, J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. 3.ed. New York: State University of New York, 1995. 887p.

UNESCO. **Chemical methods for use in marine environmental monitoring**. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission, 1983. 53p. (Manual and Guides 12).