

BIBLIOTECA
CCA/UFSC

MATIAS GUILHERME BOLL



PRODUÇÃO DE ROTÍFEROS
COM FERMENTO DE PÃO



UFSC-BU

Florianópolis

1987

228149



MATIAS GUILHERME BOLL

422

**PRODUÇÃO DE ROTÍFEROS
COM FERMENTO DE PÃO**

Monografia apresentada ao Curso de Pós-Graduação "Latu sensu" em Aquicultura, do Departamento de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis
1987

PRODUÇÃO DE ROTÍFEROS
COM FERMENTO DE PÃO

por

MATIAS GUILHERME BOLL

Monografia aprovada como requisito parcial do grau de Especialista no Curso de Pós-Graduação "Laty sensu" em Aquicultura, pela Comissão formada pelos professores:

Prof. MS. EDEMAR ROBERTO ANDREATTA
Orientador

Prof. MS. JOÃO BOSCO R. RODRIGUES
Coordenador do Curso

Prof. Dr. CARLOS ROGÉRIO POLI
Chefe de Departamento

Florianópolis, 28 de Fevereiro de 1987

DEDICATÓRIA

" Este trabalho é dedicado às Famílias de Lineu Schneider, pela alegria e ensino na convivência, e a minha Família, pelo apoio, paciência e estímulo."

*"O meu socorro vem do SENHOR, que fez
o céu e a terra".*

Salmo 121 : 2

"Muitas pessoas tem estudado os rotíferos simplesmente para aprender algo mais sobre estes, independentemente de qualquer possibilidade de importância econômica do assunto. Em defesa destes trabalhos, é digno de nota, que alguns dos conhecimentos mais utilizados pelo homem, foram consideradas inúteis à época em que ele os adquiriu."

H. W. MANTER, 1959.

APRESENTAÇÃO

Este não é, certamente, um trabalho comum de monografia. Não nos referimos exclusivamente a sua extensão, ou ao grande número de bibliografias consultadas, mas ao objetivo que pretendemos alcançar. Este objetivo, sinteticamente, é que um número maior de pessoas se interesse seriamente pela pesquisa e utilização de rotíferos em projetos de aquacultura. A primeira vista, isto não é tão fácil. Os rotíferos são animais bastante pequenos, com ciclo de vida anormal aos nossos padrões, além do fato da maioria da bibliografia a seu respeito ser apresentada em língua estrangeira, marcadamente o inglês, quando pode ser encontrada.

Talvez de maneira superficial, mas sempre de modo honesto, procuramos abordar nos 6 capítulos iniciais deste trabalho, um número máximo de fatores que tem relação com a pesquisa e produção de rotíferos. Além da revisão bibliográfica, são apontadas algumas opiniões pessoais, baseadas na rápida experiência que tivemos, e portanto, estão sujeitas a críticas construtivas.

Um dos fatores limitantes para quem trabalha com rotíferos é a falta de acesso à trabalhos científicos sobre o assunto. Nós resolvemos esta questão com uma visita à biblioteca do Instituto Oceanográfico da USP, São Paulo, onde foram encontradas a maioria

dos trabalhos citados nesta monografia. Alguns poucos trabalhos foram obtidos através do serviço COMUT, oferecido nas bibliotecas, embora se apresentasse bastante demorado. Nesse sentido procuramos sempre aproveitar os trabalhos mais recentes.

A partir da abrangência dos assuntos, resolvemos apresentar a introdução dividida em capítulos, procurando manter um desenvolvimento coerente do assunto, e achamos que este é um dos pontos altos deste trabalho.

Durante o período em que escrevemos os capítulos de Materiais e Métodos e, principalmente, os Resultados e Discussão, nos sas conclusões iniciais muitas vezes tiveram que ser reconsideradas, ou mesmo abandonadas. Nós achamos isto importante e sugerimos que as pessoas que vão escrever monografias, reservem um tempo maior para estes capítulos. Também, neste trabalho, não serão apresentadas conclusões em separado, mas que poderão ser feitas individualmente pelas pessoas interessadas.

Não gostaríamos de deixar de mencionar algumas pessoas dignas de agradecimento. À Prof. Dra. Annia Poli, pelo estímulo e idéias sobre a instalação do experimento. À Sra. Rosane Macanhão Rech, pelos serviços de datilografia e paciência na correção. Ao Prof. M.S. Edegar R. Andreatta, orientador deste trabalho, pela forma positiva de buscar solucionar problemas, e pela liberdade de ação e confiança depositadas em nosso trabalho. Ao biólogo Israel D. da Silva, pelo empréstimo da bibliografia inicial. Ao engenheiro agrônomo Elpídio Beltrame, pela ajuda na instalação do experimento. Ao biólogo Walter Muedas, pela discussão saudável de aspectos importantes em aquacultura. Ao jovem secundarista Jadir, da Estação de Larvicultura da Barra da Lagoa - UFSC, pela anotação das temperaturas durante os experimentos. Aos demais colegas

e professores do curso de Pós-graduação, companheiros e estimuladores. Gostaria ainda, de agradecer especialmente o Profº. MS. Maurício dos Reis, pela sua ajuda desinteressada na análise estatística, em computador, dos dados deste trabalho. A todos o meu muito abrigado.

S U M Á R I O

I	O QUE SÃO OS ROTÍFEROS	01
II	POR QUE ROTÍFEROS EM AQUACULTURA	08
III	FORMAS PARA AVALIAR CULTURAS DE ROTÍFEROS	14
	a) Densidade Populacional	15
	b) Taxas Reprodutivas	15
	c) Taxa de Filtração e Taxa de Ingestão	17
	d) Estimativas de Produção	18
	e) Produção de Biomassa	20
	f) Eficiência de Cultivo	22
	g) Biovolume	23
IV	ALGUNS EFEITOS IMPORTANTES SOBRE CULTIVOS DE ROTÍFEROS	26
	a) Alimentação	26
	b) Densidade Alimentar	30
	c) Temperatura	32
	d) Salinidade	33
	e) Densidade e Constituição Populacional	34
	f) Metodologia	37
	g) Poluição	40
	h) Contaminação	40
	i) Aeração	42
	j) Outros Parâmetros	43

V	VALOR NUTRICIONAL DOS ROTÍFEROS	46
VI	OS ROTÍFEROS E OS SISTEMAS ESTÁTICOS	49
VII	MATERIAIS E MÉTODOS	53
VIII	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
	a) Metodologia	66
	b) Experimento A	70
	c) Determinação do Peso Seco	73
	d) Experimentos B e C	74
	BIBLIOGRAFIA	85
	ANEXOS	91

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Caracterização dos tratamentos usados	92
TABELA 2 - Variação da temperatura nas culturas do Experimento C	92
TABELA 3 - Coeficientes de Variação em 8 repetições de um único tratamento	93
TABELA 4 - Evolução no tempo do coeficiente de variação, em 8 repetições de um único tratamento	93

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Um rotífero Brachionídeo	94
FIGURA 2 - Três tipos de trofos do mástax	95
FIGURA 3 - Ciclo de vida de rotíferos monogonontes	96
FIGURA 4 - Sistema usado para o controle da temperatura nos experimentos B e C	97
FIGURA 5 - Evolução no tempo da Biomassa presente nas culturas do experimento B	98
FIGURA 6 - Evolução no tempo da Biomassa presente nas culturas do experimento C	99
FIGURA 7 - Biomassa em culturas com diferentes taxas de diluição, em dois níveis de temperatura	100
FIGURA 8 - Eficiência de crescimento em culturas com diferentes taxas de diluição, em dois níveis de temperatura	101
FIGURA 9 - Produção de Biomassa em culturas com diferentes taxas de diluição, em dois níveis de temperatura	102

I - O QUE SÃO OS ROTÍFEROS?

Existem descritas mais de um milhão de espécies animais. Deste número, cerca de 5% possuem uma coluna vertebral e são conhecidos como vertebrados. Todos os outros, que incluem a maior parte do Reino Animal, são invertebrados. Considerando a grande diferença entre o número de espécies vertebradas em relação às invertebradas, parece que esta divisão é artificial, uma vez que uma característica de um único sub-filo é usada como base para separar todo o Reino Animal (BARNES, 1984).

Dentre os invertebrados se encontram os rotíferos, formando o filo Rotífera (ou Rotatoria), que junto com os filos Gastrotricha, Nematomorpha e Kinorhyncha formam o grupo chamado de Asquelminthes (BARNES, 1984). Alguns autores apresentam este conjunto em um único filo (Asquelminthes), sendo que cada um dos grupos acima, forma uma classe (MANTER E MILLER, 1959).

Quanto a denominação Rotífera ou Rotatoria, se considerarmos que a lei de prioridade na nomenclatura, como sugere BLACKWELDE (1967; cit. em RICCI, 1983), também possa ser aplicada para taxa acima de família, uma das duas palavras, Rotífera ou Rotatoria, esta incorreta, e seu uso deve ser abandonado.

RICCI (1983) investigou historicamente a nomenclatura dos rotíferos, desde sua primeira descrição, em 1703. De sua revisão nós concluímos que o nome correto é Rotifera, adaptado de Rotifero (Rota = roda; fero = carrega) usado pela primeira vez por SPALLANZANI (1773). O nome Rotatoria, por sua vez, se originou de Räder tiere (Räder = rodas; tiere = animais), usado pela primeira vez por EHRENBERG (1832). A autora Cláudia Ricci apresenta em seu trabalho resultados interessantes de investigações na área evolutiva dos rotíferos.

Os rotíferos normalmente são animais livre nadantes, que tem uma coroa de cílios na extremidade anterior, e em nenhum outro lugar do corpo. As batidas dos cílios, numa sequência regular, dando a aparência de uma roda girando, deu origem ao nome rotíferos. Como os protozoários, eles são pequenos, em média menores de 0,5 mm. Os rotíferos são considerados animais fascinantes pela sua atividade constante, hábitos estranhos e pela diversidade de formas que apresentam. A transparência de seu corpo revela claramente os órgãos interiores, sendo que nos espécimes vivos eles podem ser vistos em funcionamento (MANTER E MILLER, 1959).

A grande maioria das espécies é de água doce, apresentando algumas poucas espécies marinhas e outras que vivem em musgos, num total de mais de 1800 espécies descritas. Quase todos os rotíferos são animais solitários, de vida livre, embora existam algumas espécies sésseis e outras coloniais (BARNES, 1984).

O corpo alongado, ou em forma de saco pode estar dividido numa curta região anterior, no tronco, que compõe a maior parte do corpo e num pé terminal (veja Fig. 1). O corpo invariavelmente é coberto por uma nítida cutícula. A porção anterior, larga

ou estreita, forma a região da cabeça e possui um órgão ciliado denominado coroa (ou coroa). A coroa de cílios dos rotíferos apresenta duas funções vitalmente importantes, quais sejam, a locomoção e alimentação. Para alguns membros da família Brachionidae foi estimada uma atividade de cerca de 960-1110 batidas por minuto deste órgão (RICCI, 1983).

O tronco alongado ou sacular compõe a maior parte do corpo. A cutícula frequentemente é bastante espessa, formando um envoltório conspícuo, denominado lórica, usualmente ornamentada com cristas ou espinhos. A porção terminal do corpo, ou pé, é consideravelmente mais estreita que a região do tronco. Tanto em rotíferos sésseis quanto nos rastreadores, o pé é usado como um órgão de fixação.

Muitas espécies de rotíferos pelágicos sofrem alterações sazonais na forma ou proporções do corpo, fenômeno este, conhecido por ciclo-morfose e que ocorre também em pequenos crustáceos. Por exemplo, certos indivíduos apresentam, durante uma estação do ano, espinhos que são mais curtos ou mais longos do que aqueles durante outra estação do ano. O significado adaptativo da ciclo-morfose é incerto, porém nos rotíferos parece estar determinado por condições ambientais. Por exemplo, em Brachionus calyciflorus, os espinhos podem ser induzidos pela falta de alimento, baixas temperaturas ou por substâncias produzidas por um rotífero predador, sendo que estes fatores tem efeito aditivo (BARNES, 1984).

A boca dos rotíferos é tipicamente ventral, sendo usualmente circundada por alguma porção da coroa. A faringe, ou mǎstax, é característica de todos os rotíferos e sua estrutura é um aspecto distintivo da classe. O mǎstax dos comedores de suspensões

está adaptado a trituração; duas de suas peças são muito grandes, tem cristas e formam placas. Provavelmente, neste tipo de rotíferos, o mástax age como bomba, aspirando as partículas que foram coletadas na boca (Fig. 2). HINO e HIRANO (1984), num estudo sobre o tamanho mínimo do alimento apreendido pela espécie Brachionus plicatilis, observaram que o mástax do genero Brachionus é particularmente complexo, sendo que o desenho apresentado pelos autores japoneses não coincide com nenhum dos tipos de mástax apresentados na Fig. 2.

O balanço hídrico nos rotíferos apresentam como órgãos responsáveis dois protonefrídeos. Os protonefrídeos tem a função de regulação osmótica (para revisão, ver WILSON e WEBSTER, 1974; cit. em BARNES, 1984).

O cérebro consiste de uma massa ganglionar dorsal que se situa acima do mástax e origina um número variado de nervos que se estendem para os órgãos sensitivos anteriores e outras partes do corpo. Os órgãos sensitivos constituem de cerdas sensoriais localizadas nas diversas partes da coroa ciliada, duas depressões ciliadas e um a cinco olhos. Os olhos são ocelos simples, compostos de uma ou poucas células fotoreceptoras, além de uma célula pigmentada acessória (BARNES, 1984).

O hábito alimentar dos rotíferos varia muito. alguns rotíferos se alimentam de células de algas, outras principalmente de pequenos crustáceos, mas a grande maioria é omnívora, comendo praticamente qualquer material orgânico de tamanho apropriado (MANTER e MILLER, 1959).

A reprodução é inteiramente sexual e como a maioria das Asquelminthes, os rotíferos são dióicos. Os machos são invariavel-

mente menores que as fêmeas e certas estruturas (por exemplo a cloaca) são degenerados ou ausentes. Os machos estão presentes por poucas semanas durante o ano. Eles são muito ativos e nunca vivem mais do que alguns dias, morrendo após a cópula (MANTER e MILLER, 1959).

A partenogênese é característica da maioria dos grupos. Nos monogonontes são produzidos diferentes tipos de ovos. Um tipo, denominado amíctico, tem casca delgada, não pode ser fertilizado e desenvolve-se em fêmeas amícticas. Não ocorre a meiose típica na maturação e os ovos são diploides (2n). Um segundo tipo de ovo, chamado míctico, possui também uma casca fina, mas é haploide (BARNES, 1984). A palavra mictico vem do grego MIKTOS e quer dizer misturado, sendo que nos rotíferos se refere ao fato que os ovos mícticos podem dar origem a dois tipos de indivíduos. Por partenogênese, quando não são fertilizados, aos machos e através da reprodução sexual, à fêmeas, sendo que nesse caso existe a participação do macho para fertilização (Fig. 3). Uma vez que os ovos micticos são fertilizados, eles começam a secretar uma casca espessa resistente. Tais ovos passam a denominar-se ovos dormentes e são capazes de suportar a dessecação e outras condições ambientais adversas durante vários meses. Dos ovos dormentes eclodem fêmeas. As fêmeas, por sua vez, podem produzir ovos micticos ou amicticos, mas não ambos, e seu destino parece ser determinado durante a época de desenvolvimento dos oócitos (BARNES, 1984). Normalmente os dois tipos de fêmeas são morfologicamente indistinguíveis (MANTER e MILLER, 1959; HUTCHINSON, 1967). A indução e manutenção das diferentes formas de reprodução em rotíferos do gênero Brachionus será melhor discutida abaixo.

Na natureza, o padrão reprodutivo dos rotíferos Monogonon-

tes (incluindo o genero Brachionus) tende a ser cíclico. Após as chuvas de primavera, com o advento de temperaturas mais elevadas, os ovos dormentes, que passaram pelo inverno, eclodem, produzindo fêmeas amícticas. Estas fêmeas, produzem um certo número de gerações partenogeneticamente, cada qual tendo um tempo de vida de uma a duas semanas. Algumas espécies podem duplicar a sua população a cada dois dias. Ao final da primavera, ou no início do verão, quando este tipo de reprodução atinge seu pico, são produzidos ovos mícticos e aparecem os machos. HIRANO (1984) aponta que a ocorrência de machos e, conseqüentemente, da reprodução bissexual em cultivos massivos do rotífero Brachionus plicatilis, provoca um rápido decréscimo na velocidade de propagação e densidade populacional. O zoologista americano Whitney demonstrou que, enquanto o rotífero Epiphanes senta foi alimentado com protozoários incolores, somente foram produzidas fêmeas amícticas. Assim que este animal foi alimentado, com um flagelado verde, a geração seguinte seria míctica, envolvendo o aparecimento de machos. Hoje, se acredita que qualquer mudança brusca - principalmente mudanças de dieta, relacionadas com mudanças ambientais - estimulam a produção de fêmeas mícticas (MANTER e MILLER, 1959). Para revisão do assunto, veja THANE (1974) e GILBERT (1974), citados por BARNES (1984).

HIRANO (1984) acrescenta que a variação no tamanho corporal de rotíferos de uma mesma espécie e seus fatores dependentes (velocidade de propagação, utilização na alimentação de larvas de diferentes espécies, etc.), bem como a ocorrência de machos e a frequência de formação de ovos dormentes dependem marcadamente da cepa do rotífero usado. Nesse sentido é muito importante o conhecimento e estudo da cepa usada para execução de projetos de alimentação e produção.

Os ovos dos rotíferos são distribuídos tão facilmente pelo vento e por animais, que praticamente (ou potencialmente), todas as suas espécies são cosmopolitas. A ocorrência de uma espécie depende do ambiente local, antes do que da geografia. Certa espécie, frequentemente, é restrita a condições ecológicas particulares, por exemplo, a acidez da água, podendo ocorrer onde esta condição se fizer presente, quer seja na Austrália, África e Estados Unidos (MANTER e MILLER), 1959).

Na nossa opinião, o isolamento e estudo comparativo de diferentes cepas de rotíferos de uma determinada região parecem apresentar perspectivas muito interessantes, principalmente visando economicidade e aproveitamento das condições ambientais para o cultivo massivo dos rotíferos. Algumas técnicas de coletas são apresentadas por WICKSTEAD (1965) e CURRLIN (1975), podendo ser facilmente adaptáveis. O isolamento de espécies pode ser feito com micropipetas, com metodologia semelhante àquela empregada para isolamento de microalgas.

II - POR QUE ROTÍFEROS EM AQUACULTURA?

No cultivo de peixes marinhos e crustáceos, a qualidade e quantidade do alimento ofertado tem influência direta sobre o índice de sobrevivência de larvas (YÚFERA, 1982).

GIRIN E PERSON-LE RUYET (1977; cit. em YÚFERA, 1982), apontam que o tamanho de partículas ideal para alimentação inicial das espécies marinhas de interesse comercial varia de 50 a 500 μm . Muitas vezes, pela impossibilidade de suprir esta variação com zooplâncton cultivado, tem-se usado plancton natural na alimentação de larvas. Esta alternativa tem se apresentado como um fator limitante, pela dependência e variabilidade de oferta, impossibilitando o cultivo massivo de algumas espécies de peixes. Portanto, um dos principais objetivos na produção de larvas é encontrar um organismo de tamanho adequado que possa ser utilizado como alimento e que seja capaz de ser cultivado em larga escala.

ITO (1960; cit. em CRUZ e MILLARES, 1974) estudou a biologia do rotífero hialino Brachionus plicatilis, uma vez que sua presença em grande quantidade em viveiros de enguias e carpas, foi relacionada com altas mortalidades. Os fenômenos observados nos viveiros japoneses se caracterizavam por diminuição do fito-

planton, troca de cor d'água, aumento da transparência e diminuição do pH e O₂ dissolvido. Embora os trabalhos de ITO (1955a, 1955b, 1956; ITO e IWAI, 1956a, 1956b; ITO, 1957; ITO e IWAI, 1957; cits em CRUZ e MILLARES, 1974) inicialmente estivessem orientados para a destruição do rotífero, mais tarde, se dirigiram ao seu cultivo, para utilização como alimento vivo.

Hoje, embora não seja um componente importante das dietas naturais de muitos peixes marinhos e crustáceos, o rotífero B. plicatilis é largamente usado em aquacultura porque serve como elo ideal na teia alimentar marinha nos diferentes estágios larvais de peixes e camarões (JAMES et al., 1983).

Com o aumento do conhecimento e importância de B. plicatilis, outras espécies de rotíferos foram estudados e comparadas. No presente trabalho, apresentamos alguns resultados obtidos no cultivo de Brachionus calyciflorus (BORAAS, 1983; MITCHELL, 1986) e Brachionus rubens (GROENEWEG e SCHLUTER, 1980; SCHLUTER e GROENEWEG, 1985), ambas de água doce.

No cultivo, uma vez que uma espécie ou cepa é isolada (geralmente a partir de 1 indivíduo) um inóculo é mantido em pequenos volumes, sob condições controladas. Periodicamente este inóculo é repicado, dando início ao cultivo propriamente dito. Em experimentos de laboratório, os cultivos podem ser realizados em volumes muito pequenos (< 1,0 l), aumentando o volume conforme as necessidades do laboratório. Na Larvicultura da Barra da Lagoa, UFSC - Florianópolis, são usados volumes úteis de até 2.800 l (BOLL et al., 1987). JAMES et al. (1983), menciona volumes de 10, 15 e até 20 m³, usados para produção massiva do rotífero Brachionus plicatilis no Kuwait.

Qualquer que seja o volume usado, existem dois métodos principais de cultivo de rotíferos. Um, por nós chamado de intermitente (in. "batch"), permite o desenvolvimento da população, a partir de um inóculo, até que atinja um ponto máximo, sofrendo a partir daí, um processo de retiradas parciais desordenadas, ou mesmo o seu imediato encerramento. Geralmente não são mantidos por tempo prolongado, sendo que quando os volumes de cultivo são grandes, costuma-se iniciar a cultura com uma fração do volume total, aumentando o volume a medida que o rotífero se desenvolve (SIMÃO, 1977; BOLL et al., 1987).

A segunda forma de cultivo, chamada cultura contínua, praticamente é uma adaptação do cultivo intermitente, com a exceção de que a produção é feita de maneira ordenada, a partir de retiradas parciais diárias do volume de cultivo (THEILACKER e McMASTER, 1971; GROENEWEG e SCHLUTER, 1980). O cultivo contínuo poderá ser mantido por várias semanas (MOCK et al., 1980; TROTTA, 1980).

AMAT (1975; cit em MORALES, 1983) apresenta cinco fases distintas de crescimento da população de rotíferos alimentados com fitoplâncton, para cultivos em volumes de 60 l:

- Fase de latência (2-4 dias): depois de inoculada, a densidade de rotíferos não varia ou até diminui;
- Fase de aceleração (3-5 dias): começa a aumentar o número de indivíduos por unidade de volume (geralmente 1 ml);
- Fase exponencial (4-5 dias): se alcançam as máximas densidades;
- Fase de decréscimo;

- Fase de mortalidade exponencial: caída brusca do tamanho da população.

Nos cultivos massivos procura-se sempre otimizar este ciclo, que seja pela cepa isolada, pela escolha do método de cultivo, pelo tipo de alimento usado, entre outros fatores.

Segundo MORALES (1983), a espécie Brachionus plicatilis apresenta as seguintes vantagens para seu cultivo:

- Pequeno tamanho (100-300 μm), o que permite sua ingestão por larvas de peixes e crustáceos antes que possam ingerir nauplius de Artemia sp;
- Fácil e barata alimentação, a base de fitoplancton, fermentos ou dietas artificiais;
- Alta velocidade de reprodução em determinadas condições de cultivo, podendo duplicar sua população em menos de um dia;
- Resistência a amplas variações de temperatura e salinidade; e
- Alcança densidades de cultivo muito elevados (até 1450 ind/ml).

Recentemente, SORGELOOS et al. (1983), desenvolveram um sistema de fluxo contínuo (flow-through) para produção intensiva de Artemia sp. Algumas características desse sistema são a corrente contínua de água do mar através da cultura, a retenção dos organismos através de telas com micragem correspondente, e fornecimento contínuo da suspensão alimentar. Na nossa opinião, es-

te sistema também poderia ser adaptado a produção de rotíferos, oferecendo grandes perspectivas.

GROENEWEG e SCHLÜTER (1980), sugerem o uso de rotíferos na reciclagem de nutrientes em aquacultura, a partir do uso de águas ricas em matéria orgânica de viveiros de produção intensiva de peixes para produção de algas e bactérias. Estas algas e bactérias seriam usadas na produção de rotíferos que poderiam ser utilizadas na alimentação de alevinos de peixes.

Se considerarmos a liberação dos efluentes agrícolas, industriais ou mesmo urbanas e conseqüentemente eutrofização de corpos de água, através da produção de grande quantidade de matéria viva em suspensão, os rotíferos se apresentam como uma alternativa barata para "colher" esta matéria, (MITCHELL, 1986). Alguns aspectos sobre a produção de algas em tais sistemas são apresentados por GOLDMAN (1979).

A despeito das vantagens apontadas acima, do uso dos rotíferos em projetos de aquacultura, na época em que este trabalho estava sendo escrito a Larvicultura da Barra da Lagoa, UFSC, Florianópolis, não estava mais usando este organismo para produção de larvas de camarões peneídeos. Não há dúvidas que existem sérias dificuldades na viabilização do cultivo de rotíferos em larga quantidade. Um dos fatores limitantes é o trabalho e tempo dedicado aos cultivos unialgais, que são requeridos em grandes volumes (JAMES et al. 1983). Este fator apresenta maior complexidade a partir da necessidade de sincronismo entre a produção de algas e rotíferos (BOLL et al., 1987). O uso de fermentos como alimento e a automação dos cultivos parecem alternativas interessantes e mais econômicas (TESHIMA et al., 1981). Não encontramos, entre os trabalhos revisados, entretanto, nenhuma menção

de custos de produção. Acreditamos que este seja um campo profícuo para trabalhos sérios, de importância marcada para definições futuras no cultivo massivo de rotíferos.

III - FORMAS PARA AVALIAR CULTURAS DE ROTÍFEROS:

As mais variadas formas de avaliação tem sido utilizadas para acompanhar o desempenho de culturas de rotíferos. A mais clara e simples é a densidade populacional alcançada. Uma forma mais completa de analisar a densidade alcançada é pela introdução do fator tempo, obtendo a velocidade de reprodução e a velocidade de duplicação da cultura. Um outro tipo de medida são as taxas de Filtração e Ingestão de partículas pelo rotífero, geralmente obtidos em experimentos com pequeno número de indivíduos.

A produção da cultura, inicialmente medida apenas pelo número de indivíduos coletados do cultivo, em estudos mais recentes, passa a ser analisada em termos de biomassa. Alguns métodos de determinação do peso seco dos rotíferos são discutidos mais abaixo.

Uma relação importante, desenvolvida para relacionar a quantidade de alimento gasto para produzir uma certa quantidade de rotíferos é a eficiência de cultivo ou eficiência de crescimento.

Com o desenvolvimento de aparelhos de precisão, como os contadores de partículas eletrônicas, alguns laboratórios já tem apresentado seus resultados em termos de Biovolume.

A escolha do método a ser utilizado para avaliar as culturas de rotíferos está estreitamente ligada aos objetivos do trabalho a ser feito. A seguir são apresentados alguns desses métodos.

a) Densidade Populacional

Expressa a concentração ou densidade da cultura, geralmente em indivíduos $\cdot \text{ml}^{-1}$ (=ind.m. $^{-1}$).

Durante os cultivos de rotíferos se faz necessário o acompanhamento diário da população e seu desenvolvimento. A forma mais usual e simples é a retirada de uma amostra, de volume conhecido e contagem do número de indivíduos presentes junto a uma lupa, com auxílio de uma câmara de contagem (WICKSTEAD, 1965) ou ao microscópio, com auxílio de uma pipeta de vidro (SCHLUTER e GROENEWEG, 1985).

As influências dos mais diversos fatores, não podem, a nosso ver, serem diferenciados apenas por uma medida tão simples, principalmente em trabalhos científicos. De toda forma, alguns resultados obtidos em termos de Ind. $\cdot \text{ml}^{-1}$ são usados como recordes, ou desafio, apontando para os níveis máximos alcançados. HIRATA (1974) obteve para o rotífero B. plicatilis densidades de até 1450 ind. $\cdot \text{ml}^{-1}$ em 9 dias. É fácil de constatar, entretanto, que a grande maioria dos experimentos e cultivos massivos reportadas pela literatura, apresentam densidades fracionárias do resultado obtido pelo trabalho acima.

b) Taxas Reprodutivas

THEILACKER e McMASTER (1971), utilizaram a velocidade de duplicação da população como parâmetro para comparar o efeito de 4 espécies algais como alimento sobre as culturas do rotífero B.

plicatilis. O índice é calculado em duas etapas, conforme as seguintes fórmulas:

$$K = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \quad \text{e} \quad T.D = \frac{\ln 2}{K}$$

onde: K = velocidade de crescimento;

N_1 = número de rotíferos no tempo 1;

N_2 = número de rotíferos no tempo 2;

TD = tempo de duplicação.

Os resultados que THEILACKER e McMASTER (1971) obtiveram para o tempo de duplicação a 24°C, variaram de 0,8 a 1,1 dias. Outros autores continuam usando este parâmetro (CRUZ e MILLARES, 1974; JAMES et al., 1983; PASCUAL e YÚFERA, 1983). Uma das vantagens desses índices é a sua utilização direta em cultivos massivos, dispensando unidades experimentais especiais.

Dois outros índices relacionados com a velocidade de crescimento da população são a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) e a taxa líquida de Produção (Ro), introduzidas e utilizadas principalmente pela equipe do pesquisador japonês HIRAYAMA (HIRAYAMA et al., 1973 e HIRAYAMA e WATANABE, 1973; cit. em HIRAYAMA et al., 1979; HIRAYAMA e NAKAMURA, 1976; cit. em JAMES, et al., 1983; HIRAMA et al., 1979; cit. em HIRAYAMA e FUNAMOTO, 1982). Estes índices foram utilizados por HIRAYANA et al., (1979) para avaliar o efeito nutricional de oito espécies de algas sobre o crescimento populacional do rotífero B. plicatilis. São características desse método o uso de tubos de ensaio para o cultivo, o uso de micropipetas para transferência de adultos ou ovos, o alto controle sobre organismos contaminantes através de antibióticos e o uso de modelos matemáticos computadorizados (BI

RCH, 1948; cit. em HIRAYAMA et al. 1979). O uso desses modelos matemáticos e a forma de cálculo dos índices de crescimento da população são explicados em outro trabalho (HIRAYAMA e KUSANO, 1972; cit. em HIRAYAMA e FUNAMOTO, 1982). Alguns pesquisadores procuraram adaptar a metodologia de HIRAYAMA para trabalhos de isolamento de cepas, reisolamento de fêmeas amicticas a partir de cultivos desgastados ou para estudar novas formas de avaliação dos cultivos (CHOTIYAPUTTA e HIRAYAMA, 1978; SNELL e CARRILLO, 1983). HIRAYAMA e FUNAMOTO (1982), num trabalho sobre o valor nutricional do fermento de pão para o rotífero B. plicatilis apresentam algumas comparações entre o sistema de cultivo intermitente e o cultivo unitário de indivíduos, discutindo seus possíveis efeitos sobre os resultados de um experimento.

MITCHELL (1986), determinou a taxa de crescimento específico para B. calyciflorus em culturas de 4 l de volume útil, onde os organismos foram contados diariamente, e coletados de forma que quando novo meio fosse adicionado, a densidade populacional permanecesse menor que $0,5 \text{ ind. ml}^{-1}$. O meio de cultivo foi ajustado para manter uma concentração final de biomassa seca de algas em torno de $0,05 \text{ a } 0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. A taxa de crescimento específica foi calculada pela fórmula $\ln(X/X_0) = \mu t$, onde X é a contagem de rotíferos no tempo t, X_0 é a contagem inicial, μ é taxa de crescimento específico, e t é o tempo em dias (PIRT, 1975; cit. em MITCHELL, 1986).

c) Taxa de Filtração e Taxa de Ingestão:

Desde que CHOTIYAPUTTA e HIRAYAMA (1978), constatavam de forma científica que o rotífero B. plicatilis é capaz de selecionar um alimento predileto, a partir de uma mistura de dois alimentos mantidos em suspensão, vários autores procuraram estudar melhor

estes índices e a influência das condições ambientais sobre os mesmos (SCHLOSSER e ANGER, 1982; HINO e HIRANO, 1984; YÚFERA e PASCUALI, 1985).

SCHLOSSER e ANGER (1982), em condições experimentais especialmente controladas, apresentam um índice de 5 células . ind⁻¹. min.⁻¹ para a taxa de ingestão de fermento de pão pelo rotífero B. plicatilis. Outra conclusão importante dos autores alemães, foi que as taxas de ingestão e filtração apresentam um decréscimo de 90% com o aumento do tempo de experimento de 60 para 240 minutos.

d) Estimativas de Produção

A estimativa da produção de rotíferos em culturas intermitentes, por unidade de volume, é expressa pela fórmula abaixo:

$$P = D_f - D_i, \text{ em } t \text{ dias}$$

onde P = produção por unidade de volume;

D_f = densidade populacional final;

D_i = densidade populacional inicial.

Nas culturas contínuas, com retiradas parciais diárias, a produção por unidade de volume é expressa por:

$$P = \frac{D_m \times V_r}{V_t},$$

onde: P = produção diária por unidade de volume (ind.ml⁻¹);

D_m = densidade populacional momentânea (ind.ml⁻¹);

V_r = volume retirado da cultura (ml);

V_t = volume total de cultivo (ml);

Para obtenção do número total de indivíduos produzidos pela cultura diariamente (Pd), basta multiplicar a produção diária por unidade de volume (P) pelo volume total (Vt), respeitando as unidades.

Para a estimativa de produção total das culturas contínuas, GATESOUBE e ROBIN (1981), apresentam a seguinte equação:

$$Pt = (\sum Pd + Df) - Di$$

onde: P = produção por unidade de volume

Df = densidade populacional final

Di = densidade populacional inicial

Em sistemas de produção contínua, com retiradas parciais a produção diária (P.d), pode ser expressa por:

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ ind. ml}^{-1} \times \text{Volume retirado}}{\text{Volume total}}$$

O resultado é expresso em nº de indivíduos produzidos por unidade de volume. Para obtenção do número total de indivíduos produzidos por dia (Pd) basta multiplicar pelo volume total, respeitando a unidade do volume.

$$Pd = P \times \text{volume total (na mesma unidade)}$$

onde P = produção por unidade de volume)

Para a estimativa total de produção de culturas contínuas (Pt), GATESOUBE e ROBIN (1981), apresentam a seguinte equação (adaptada):

$$Pt = (\sum Pd + Df) - Di$$

onde: Pd = Produção diária da cultura

Df = densidade final

Di = densidade inicial

Para cultivos massivos, esses valores podem ser expressos mais simplesmente em unidades de 10^6 indivíduos. Usando um sistema de alimentação proporcional a densidade de cultivo, os autores franceses citados acima, obtiveram uma média de $20,42 \times 10^6$ rotíferos produzidos num volume de 20 l, em 30 dias. Isto significa uma produção média de $34 \text{ ind. ml}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ (o alimento usado foi a Spirulina sp., seca, sendo testada em dois níveis de salinidade).

TROTTA (1980), num estudo interessante sobre a possibilidade de cultivo do rotífero B. plicatilis em sacos plásticos, após uma fase inicial de adaptação, obteve de um volume de 30 l de cultivo, uma produção diária média de $1,73 \times 10^6$ rotíferos, durante 24 dias (ou ainda $55 \text{ ind. ml}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$, considerando 4,8 l de coleta diária; inferência nossa). O método de cultivo apresentado pelo autor italiano, como ele mesmo sugere, parece ter boas perspectivas em larviculturas que necessitam do cultivo massivo de B. plicatilis, uma vez que oferece a possibilidade de obtenção diária de um número suficiente de rotíferos em condições monoxenicas para servirem de inóculo nos tanques de produção massiva, com economia razoável de mão-de-obra.

e) Produção de Biomassa:

Como consequência do grande volume de pesquisa em B. plicatilis e outras espécies de zooplâncton utilizadas em cultivos e produção de larvas de peixes marinhos e crustáceos, passou-se a utilizar índices de produção expressas em peso seco, para compa-

ração de resultados. Basicamente as fórmulas do cálculo da produção são as mesmas apresentadas acima, sendo que a densidade populacional é substituída pela respectiva biomassa. A determinação pode ser feita diariamente, a partir da fração coletada, ou feita uma vez, inicialmente, e extrapolada no decorrer da produção, a partir dos valores obtidos para a densidade populacional.

THEILACKER e McMASTER (1971) determinaram o peso seco de B. plicatilis através da coleta de um número conhecido de indivíduos numa tela de 35 μm tarada, secagem da amostra a 60°C até peso constante e pesagem numa eletrobalaça com aproximação de ± 2 mg. Como média de 4 determinações, obtiveram o peso seco de 0,16 \pm 0,01 $\mu\text{g} \cdot \text{ind.}^{-1}$.

SCHLOSSER e ANGER (1982), utilizaram metodologia semelhante, com a diferença de usarem filtros de fibra-de-vidro e o congelamento a seco da amostra, sendo que obtiveram um peso médio de 280 ng $\cdot \text{ind.}^{-1}$. Considerando que o peso seco de um indivíduo varia significativamente conforme a cepa utilizada, o uso de medidas em biomassa se apresentam úteis para comparação entre cepas (YÚFERA, 1982).

Uma aplicação muito importante a partir do conhecimento do peso seco dos rotíferos cultivados é a possibilidade de execução e comparação de programas de alimentação proporcional às densidades de cultivo com base na matéria seca do alimento a ser ofertado (HIRATA, 1974; YÚFERA e PASCUAL, 1985; MITCHELL, 1986).

BORAAS (1983) observou que em culturas contínuas, mantidas por mais de um ano, existe uma tendência seletiva em favor de indivíduos menores. O mesmo autor expressou a produção das cultu-

ras como a saída total de biomassa por unidade de tempo ($\mu\text{g.l}^{-1}$).

MITCHELL (1986), para efeito de comparação, considerou que o rotífero B. calyciflorus apresenta 90% de água em sua composição e 10% de matéria seca. WATANABE (1978; cit. em HIRANO, 1984) encontrou 88,5% de conteúdo úmido para o rotífero B. plicatilis alimentado com diferentes combinações alimentares, confirmando as considerações do pesquisador sul-africano.

f) Eficiência de Cultivo:

Uma vez determinado o peso seco e a produção de rotíferos em termos de biomassa, é interessante saber a eficiência de cultivo, ou seja, a relação entre a biomassa produzida e o peso de alimento ofertado.

Uma maneira simplificada de calcular a eficiência alimentar é apresentada por GATESOUBE e ROBIN (1981), dada pelo quociente entre o peso total do alimento ofertado (g) durante o período de cultivo sobre o número total de rotíferos produzidos pela cultura no período (Pt).

JAMES et al. (1983), apresentam a eficiência alimentar pelo seguinte cálculo:

$$\text{E.a.} = \frac{\text{Biomassa alimentar ofertada} \cdot \text{dia}^{-1}}{\text{Biomassa de rotíferos produzidos} \cdot \text{dia}^{-1}}$$

Na prática, para o cálculo da eficiência alimentar, os pesquisadores acima utilizaram o valor médio para a biomassa do alimento ofertado (soma do peso de diferentes alimentos no período de um dia), e dividiram-no pela produção média diária da cultura

(Pd) no período, multiplicado pelo peso seco de 1 rotífero. A eficiência alimentar no estudo citado variou de 3,75 a 6,75.

MITCHELL (1986), usou uma relação diferente para determinar a eficiência do crescimento (%).

$$E = \frac{\text{Biomassa de rotíferos produzidos no dia 1}}{\text{Biomassa do alimento ofertado no dia 0}} \times 100$$

g) Biovolume

A partir do uso de aparelhos eletrônicos para contagem do número de partículas em suspensão, BORAAS (1983), em culturas contínuas do rotífero B. calyciflorus, estimou quantitativamente o biovolume das algas e zooplâncton do sistema, além do número de ovos por fêmea e uma distribuição da população que pode ser convertida para uma distribuição grosseira da idade dos indivíduos.

O pesquisador norte americano verificou que o biovolume apresentou um coeficiente de variação (c.v.) de 10% apenas, sendo a medida mais indicada para análise de biomassa de rotíferos, principalmente em culturas prolongadas.

O fator de conversão biovolume: biomassa foi de $0,10 \text{ g.cm}^{-3}$, para rotíferos com intestino vazio, de $0,12 \text{ g.cm}^{-3}$, para animais recém coletados nas culturas e de $0,21 \text{ g.cm}^{-3}$ para rotíferos com os intestinos cheios. Estes valores se explicam em parte pelo fato das algas apresentarem uma densidade (relação biovolume: biomassa) consideravelmente superior aos rotíferos (BORAAS, 1983).

MITCHELL (1986), para termos de comparação, considerou os

resultados obtidos por BORAAS (1983), expressos em biovolume
(g . cm³), como equivalentes à biomassa (g) .

IV - ALGUNS EFEITOS IMPORTANTES SOBRE CULTURAS DE ROTÍFEROS

Abaixo são apresentados 10 fatores que determinam efeitos importantes sobre o cultivo de rotíferos e alguns dos resultados de estudos realizados nesse sentido. Existem ainda inúmeros efeitos interativos, que escapam de uma análise superficial como esta. Da mesma forma, é muito difícil determinar o efeito mais importante, de forma que os diferentes efeitos não são apresentados em ordem de importância.

Um fator nem sempre mencionado nos trabalhos, e que tem influência sobre a resposta de uma cultura a todos os fatores que atuam sobre ela é o material genético utilizado. Acreditamos que a menção da origem do material utilizado, bem como o uso de uma denominação para cada uma das cepas testadas é de grande significado para a comparação de resultados, e diferenciação dos efeitos, como já pode ser observado para Artemia sp (SORGEL00S et al. 1983).

Vale lembrar ainda que esta revisão não esgota o assunto e muitos outros fatores importantes devem ser pesquisados.

a) Alimentação

Considerando a afirmação de NANTER e MILLER (1959), apre-

sentada no início desta revisão, de que a maioria dos rotíferos é omnívora, se alimentando praticamente de qualquer matéria orgânica em suspensão, desde que tenha tamanho adequado, e comparando os resultados obtidos pelos pesquisadores na área de alimentação do rotífero, podemos chegar a duas conclusões importantes.

Trabalhos como de THEILACKER e McMASTER (1971), HIRAYAMA et al. (1979), SNELL e CARRILLO (1983), e JAMES et al. (1983), apresentam resultados de estudos sobre o efeito de diferentes dietas sobre a população dos rotíferos.

THEILACKER e McMASTER (1971), apesar de não encontrarem diferenças significativas na velocidade de crescimento da população do rotífero B. plicatilis alimentado com 4 espécies de algas, ofertadas em quantidades equivalentes de matéria seca ($50 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$), usaram a alga Dunaliella sp, uma vez que apresentou os maiores rendimentos e praticidade no cultivo.

HIRAYAMA et al. (1979), usaram os resultados obtidos com a alga Chlorella sp para comparar outras 7 espécies de algas marinhas em termos de taxa intrínseca de crescimento populacional (r) e taxa líquida de produção (R_0). Apartir dos resultados obtidos, o valor nutricional das espécies Chlorella sp e Synechococcus elongatus se apresentou excelente, enquanto que Chlamydomonas sp, Monochrysis lutein, Dunaliella teriolecta e Cyclotella cryptica apresentaram um valor intermediário e Eutreptiella sp e Nitzschia clostelium foram consideradas deficientes para o cultivo do rotífero B. plicatilis.

SNELL e CARRILLO (1983), num trabalho de caracterização morfológica de 13 cepas de rotíferos, verificaram que as variações

máximas no tamanho médio dos indivíduos, obtidos pela substituição da dieta, foram da ordem de 15%.

HIRAYAMA e FUNAMOTO (1982) estudaram o efeito nutricional do fermento de pão lavado por centrifugação sobre a taxa intrínseca de crescimento populacional (r) e a taxa líquida de produção (R_0). Suas conclusões confirmam as sugestões de HIRAYAMA e WATANABE (1973; cit. em HIRAYAMA e FUNAMOTO, 1982), de que o sucesso do cultivo de rotíferos com fermento de pão está baseado na suplementação nutricional obtida pela liberação de nutrientes a partir da decomposição do fermento e também pelo crescimento de fitoplâncton e bactérias nos tanques de cultivo utilizando os produtos decompostos como fonte nutricional, antes do que no valor nutricional do fermento como alimento. A partir da suplementação da vit. B12 ao fermento de pão lavado, foram verificados aumentos significativos nos índices estudados. Os pesquisadores concluíram ainda que os ácidos graxos poli-insaturados tem uma função importante para aumento dos índices acima, sendo que esse efeito não é substituído pela adição isolada, ou em conjunto, das vitaminas A, D e E (lipossolúveis). Em relação aos aminoácidos, somente a cistina apresenta algum efeito de aumento dos índices de crescimento populacional. Para conclusão do trabalho, os pesquisadores japoneses admitem que, apesar dos aumentos obtidos nos índices de crescimento populacional investigados pela suplementação nutricional do fermento de pão lavado, nenhum dos resultados obtidos foi igual ou superior aos resultados obtidos com o uso da alga Chlorella na alimentação de rotíferos.

JAMES, et al. (1983), sugerem que a produção do rotífero B. plicatilis, em tanques de produção massiva, é favorecida pela presença da alga Chlorella nas combinações de alimentos testados.

YÚFERA e PASCUAL (1985), apontam como fatores intrínsecos do alimento o tamanho, forma, composição química, estado fisiológico e densidade celular ofertada.

A nossa primeira conclusão é que, embora o rotífero tenha a capacidade de ingerir diferentes partículas de matéria orgânica em suspensão, as variações nos índices de crescimento da população aumentam com o uso de alimentos inertes, se comparados com a variação obtida no uso de diversos alimentos vivos estudados.

Infelizmente, os cultivos de rotíferos a base de Chlorella, requerem grande demanda de energia e equipamentos caros, como grandes tanques de cultivo, etc. (HIRATA, 1980; cit. em TESHIMA et al., 1981). O uso do fermento de pão no cultivo de B. plicatilis tem tornado realidade a produção efetiva de rotíferos com um custo mais baixo (HIRATA, 1967 e FUSHIMI, 1975; cits. em TESHIMA et al., 1981).

TESHIMA et al. (1981), realizaram alguns testes de cultivo do rotífero B. plicatilis a partir do uso de dietas microencapsuladas como alimento. Essas dietas suportaram o crescimento da população nos primeiros dias (70 ind. ml^{-1} no 5º dia), mas devido à grande perda de nutrientes para o meio líquido, seu efeito sobre a população foi negativo a partir do 9º dia. Os pesquisadores concluem que o estudo dos requerimentos nutricionais dos rotíferos é viável a partir da metodologia empregada, exigindo no entanto, como passo intermediário, um estudo sobre emulsificantes adequados.

O segundo ponto importante na consideração deste tópico é o tamanho do alimento aceito pelo rotífero.

TESHIMA et al. (1981), em rações microencapsuladas usaram dietas com tamanho de 5 a 8 μm .

HIRAYAMA et al. (1979), apresentam o volume de 8 espécies de algas testadas no crescimento populacional do rotífero B. plicatilis.

YÚFERA et al. (1983), num estudo sobre o efeito de 4 algas marinhas sobre o crescimento populacional de 2 cepas do rotífero B. plicatilis, apresenta o tamanho e volume do alimento utilizado.

HINO e HIRANO (1980; cit. em HINO e HIRANO, 1984) determinaram uma linha de regressão para o tamanho máximo de partículas ingeridas (y) a partir do comprimento de lóricas (x), através da equação $y = 0,0896x - 0,033$, onde y e x são expressas em μm .

Um outro estudo, (HINO e HIRANO, 1984), os autores procuraram determinar o tamanho mínimo de partícula ingerido por B. plicatilis. Embora obtivessem uma equação de regressão para o tamanho mínimo de partícula ingerida (y) a partir do tamanho da lórica (x) onde $y = 0,010821x + 1,8958$, a baixa correlação encontrada ($r=0,61$) foi justificada pelos resultados obtidos para a medida do mástax. O tamanho dos dentes no mástax, que poderiam regular a habilidade de mastigação, é uniforme, independentemente do tamanho do corpo do rotífero.

BORAAS (1983), observou que o rotífero B. calyciflorus, alimentado com uma dieta a base de algas de células grandes, apresenta maiores taxas de produção. Segundo o pesquisador americano, estes dados são consistentes ante a hipótese de que os rotíferos alimentados com algas de células pequenas apresentam uma

limitação do tipo energia-carbono, sendo que esta relação teria sido relaxada quando os animais foram alimentados com algas de células grandes, com maior relação C:N. No entanto, o ganho em termos de biomassa algas: rotíferos (eficiência alimentar, inferência nossa) foi menor quando a cultura foi alimentada com algas de células grandes. Isto pode indicar, segundo o autor, que os rotíferos crescidos nessas culturas estivessem sofrendo uma forma de limitação de nitrogênio.

b) Densidade Alimentar

Um dos maiores problemas a ser resolvido no cultivo de rotíferos é definir a densidade alimentar a ser ofertada e o método de manutenção desta densidade no tempo (HIRATA, 1974; GATE-SOUBE e ROBIN, 1981; YÚFERA e PASCUAL, 1985). Ou ainda, segundo THEILACKER e McMASTER (1971), a alta concentração do alimento é o parâmetro mais importante para uma alta produção do rotífero B. plicatilis.

HIRATA (1974), num trabalho em que procurou avaliar o efeito da alimentação controlada sobre o crescimento populacional, definiu Taxa de alimentação (%) como sendo a divisão da quantidade de alimento ofertado (g) pelo peso total dos rotíferos na unidade de cultivo (g) multiplicada por 100. Através da contagem de células residuais de fermento no tanque em intervalos de seis horas, foi possível ajustar a quantidade de alimento a ser ofertado para mais um período de 6 horas. Por este método, o autor ofereceu aos cultivos de B. plicatilis, em média, $0,15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ de fermento marinho diariamente, durante os primeiros dias do experimento e cerca de $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ na metade final do trabalho, quando foram obtidas densidades de até $1450 \text{ ind} \cdot \text{ml}^{-1}$. Estes valores representaram taxas de alimentação de 400 a 200% inicial-

mente e de 200 a 140% durante a segunda metade do cultivo, ou seja, uma correlação negativa da taxa de alimentação com o número de ind.ml⁻¹.

Provavelmente, o estudo mais completo sobre a metodologia de alimentação, com alimentos inertes, nos cultivos de B. plicatilis por nós revisado foi o de GATESOUBE e ROBIN (1981). Os pesquisadores franceses resumem na introdução de seu trabalho a problemática central da questão: "Em nossa opinião, a questão mais importante na produção de rotina de rotíferos se refere ao ajustamento do nível alimentar à densidade populacional. Se não houver o ajuste, por exemplo, se for usado um nível constante de alimentação, a eficiência será ótima para um certo nível de densidade populacional, enquanto que a sub ou super alimentação ocorrerá em todos os outros níveis populacionais. Por outro lado, o suprimento alimentar proporcional à população, aumenta a eficiência, mas em densidades populacionais decrescentes, a concentração alimentar poderá ser muito baixa para garantir o nível mínimo de alimentação para os rotíferos".

SCHLOSSER e ANGER (1982), trabalhando com o rotífero B. plicatilis apontam mais alguns efeitos importantes na problemática: a busca de alimento pelo rotífero depende principalmente da quantidade e qualidade do alimento, além da densidade populacional, a temperatura e o tempo (em experimentos), sendo que para este último, os rotíferos apresentaram um efeito de saturação do intestino, efeito este que aumenta com o uso de altas concentrações iniciais de alimento. Os pesquisadores concluem que para densidade de 500 ind. ml⁻¹ são necessários 0,5 g de peso úmido por litro. dia⁻¹ de fermento de pão (ou 0,1 g. l⁻¹. dia⁻¹, em peso seco), em temperatura de 23°C.

YÚFERA e PASCUAL (1985), sugerem que o rotífero B. plicatilis, devido as características de seu ciclo natural, está adaptado a concentrações muito altas de alimento, mais altas inclusive que outras espécies do gênero Brachionus. Os pesquisadores espanhóis chegaram a usar até $300 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ de algas, para testes dos índices de filtração e ingestão de partículas.

c) Temperatura

IMADA et al. (1979; cit. em TESHIMA et al., 1981), aponta as mudanças bruscas de temperatura do meio de cultivo durante o período de um dia, como uma das principais causas para o insucesso de um cultivo de rotíferos.

SCHLOSSER e ANGER (1982), registraram um decréscimo de 42% na taxa de filtração, quando o rotífero B. plicatilis foi submetido a uma variação de temperatura de 23,5 para 18°C. A temperatura é considerada pelos autores um dos fatores mais importantes na determinação da taxa de alimentação.

SNELL e CARRILLO (1983), num trabalho com 13 cepas diferentes do rotífero B. plicatilis, observaram respostas diferenciadas do aumento do tamanho corporal em relação a variação de temperatura. Enquanto algumas cepas não responderam de forma nenhuma ao estímulo, aquelas que responderam, o fizeram de forma não linear.

PASCUAL e YÚFERA (1983), observaram que não houve crescimento populacional para a cepa de B. plicatilis estudada em temperaturas inferiores a 20°C, ocorrendo lenta extinção da população. A taxa instantânea de crescimento da população (k) aumenta progressivamente aos aumentos na temperatura a partir de 20°C,

chegando ao máximo em 35°C. Também as maiores densidades foram observadas em temperaturas de 30 a 35°C, embora se apresentassem mais estáveis a 30°C, e com rápido decréscimo a 35°C. Os mesmos autores concluíram que o principal efeito do aumento da temperatura é um encurtamento do desenvolvimento embrionário e pós-embrionário, antes do que uma influência direta sobre a taxa de reprodução.

THEILACKER e McMASTER (1971), já tinham observado que temperaturas de 30 a 34°C aceleram o crescimento populacional dos rotíferos, mas preferiram usar uma temperatura padrão de 24°C, para comparações do efeito nutricional de 4 espécies de algas sobre a população de rotíferos, uma vez que as altas temperaturas poderiam prejudicar o desenvolvimento das algas.

SCOTT e BAYNES (1978), num estudo sobre o efeito nutricional de diferentes espécies de algas sobre a composição química proximal do rotífero B. plicatilis, em diferentes níveis de temperatura, apontam para os efeitos interativos de fatores como a temperatura, alimentação e jejum. Segundo os autores ingleses, em baixas temperaturas (18°C), os rotíferos consumiram o alimento ofertado de forma vagarosa e mantiveram um valor nutricional alto para o elemento lipídico por um período relativamente prolongado de jejum. Em altas temperaturas (28°C) o alimento é consumido rapidamente, sendo que a composição lipídica dos rotíferos decresce rapidamente, quando o alimento termina. O valor nutricional dos rotíferos será melhor discutido abaixo.

d) Salinidade

SNELL e CARRILLO (1983), constataram que diferentes cepas do rotífero B. plicatilis apresentam uma tendência a diminuir seu

tamanho corporal em até 11%, com o aumento da salinidade.

PASCUAL e YÚFERA (1983), testaram o rotífero B. plicatilis em concentrações de 0 a 80 g. l⁻¹ de salinidade, a 24°C. Embora as taxas de crescimento populacional fossem mais elevadas para os níveis mais baixos de salinidade, após um período de adaptação gradual, a cepa utilizada apresentou crescimento populacional entre as concentrações de 2 a 50 g. l⁻¹ de salinidade. Para os dois valores extremos, 0 e 80 g. l⁻¹, a população morreu em 24 horas. Estes resultados confirmam que a espécie B. plicatilis é eurihalina, com preferência por ambientes mesohalinas.

GATESOUBE e ROBIN (1981), relatam que não houve resultado positivo nos cultivos realizados com alimentação baseada em alimentos inertes, sempre que a salinidade foi alta (30g.l⁻¹).

Pesquisadores israelenses estudaram diferentes formas de indução à produção de ovos de resistência no rotífero B. plicatilis para serem guardados como estoque e eclodidos na época de maior demanda (LUBZENS et al., 1980). Para a cepa estudada, a melhor produção de ovos de resistência ocorreu com a redução da salinidade da água do mar local (38g. l⁻¹ para 25g. l⁻¹).

e) Densidade e Constituição Populacional

Nos cultivos de rotíferos existe uma preocupação constante em manter estáveis as condições que favorecem o modo partenogenético de reprodução, uma vez que a indução da reprodução bissexual levará ao rápido decréscimo na densidade populacional e formação de ovos de resistência (HIRANO, 1984). Da mesma forma, parece interessante o estudo do efeito da densidade populacional do próprio rotífero sobre as condições de cultivo.

SCHLOSSER e ANGER (1982), não observaram alterações significativas nas taxas de filtração e ingestão de B. plicatilis para altas densidades populacionais.

JAMES et al. (1983), não observaram influências significativas da densidade populacional sobre o tempo de duplicação da população enquanto aquelas se mantiveram inferiores a 100 ind. ml⁻¹, durante cultivos massivos de B. plicatilis. É sugerido ainda, que este nível pode apresentar variações conforme o método de cultivo.

MORALES (1983), aponta que geralmente é mantida uma densidade populacional de 100 ind. ml⁻¹ nos cultivos, e cerca de 30% de fêmeas ovígeras (carregando um ou mais ovos). Quando a porcentagem de fêmeas ovígeras é menor de 20%, se prevê um decréscimo brusco na densidade populacional, sendo conveniente o preparo de novo meio de cultura.

THEILACKER e McMASTER (1971), apontam alguns fatores importantes na manutenção da reprodução por partenogênese: cepa usada, superpopulação, temperatura, quantidade e qualidade de alimentação e salinidade.

HINO e HIRANO (1976; cit. em HINO e HIRANO, 1977) e HINO e HIRANO, (1977), estudaram o processo de indução à reprodução bissexual no rotífero B. plicatilis de forma sistemática. Segundo os autores, parece haver pelo menos dois estágios no processo. O primeiro é a habilidade para produzir fêmeas micticas, que é adquirida naturalmente com o desenvolvimento das gerações partenogênicas. O segundo passo é a ação de um fator externo, como a alta densidade populacional, e é efetivado somente naqueles animais que passaram pelo primeiro. Uma vez que a frequência de

produção de fêmeas micticas difere com a cepa estuda, os autores japoneses concluem que parece ser possível selecionar uma cepa, de acordo com o objetivo a que se propõe o cultivo quer seja para a produção massiva ou indução artificial para formação de ovos dormentes (resistencia).

BORAAS (1983), observou que o rotífero B. calyciflorus, após 1 a 2 meses de cultivo em culturas em estado estático (veja mais abaixo), cessou a produção de machos e de ovos de resistência, sugerindo haver seleção negativa sobre a reprodução sexual nesse tipo de cultivo. Amostras coletadas no início do cultivo, indicaram a presença de pelo menos 40% de fêmeas micticas, em número. Após 2 a 3 meses em cultura contínua, machos e fêmeas micticas não foram mais observadas e não puderam ser induzidas pelo uso do método intermitente de cultivo. Estas observações sugerem que os pequenos rotíferos amicticos possuem vantagem seletiva sob as condições experimentadas.

LUBZENS et al. (1980), aponta que uma das possibilidades de garantir um suprimento seguro de rotíferos em projetos de aquicultura seria a constituição de um estoque de reserva a ser usado quando a demanda aumentasse. Este objetivo poderia ser alcançado em dois passos: a) encontrando métodos para indução dos rotíferos a produzirem ovos de resistência em grandes quantidades; b) encontrando formas de preservar e eclodir os ovos de resistência. Os melhores resultados na indução de produção de ovos de resistência, para a cepa local, foram obtidos através da diminuição da salinidade do cultivo, de $38 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$. Os ovos de resistência assim obtidos, puderam ser preservados por 12 semanas quando congelados a -14°C , sem perda considerável da capacidade e eclosão ou ainda por 3 semanas, quando dissecados e mantidos em temperatura ambiente. Algumas revisões sobre o assunto podem

ser obtidos em GILBERT (1974; cit. em LUBZENS et al., 1980).

No início dos cultivos, parece ser desejável o uso de fêmeas amícticas, em fase exponencial de crescimento (SNELL e CARRILLO, 1984) embora alguns autores tenham usado inóculos a partir de culturas em fase final de crescimento (YÚFERA, 1982). O processo de filtragem em telas de diferentes malhas pode ser um meio eficiente para separar fêmeas com ovos (BOLL et al. 1987) e de uniformizar a população inicial em experimentos (SCHLOSSER e ANGER, 1982). A densidade inicial de rotíferos nos trabalhos vistos nesta revisão variaram entre 1 ind. ml⁻¹ (HIRAYAMA et al., 1979) e 50 ind. ml⁻¹ (SCHLOSSER e ANGER, 1982).

f) Metodologia

A grande variabilidade encontrada nos resultados dos experimentos realizados com rotíferos, levaram ao estudo de algumas medidas que pudessem diminuir esta variação.

Um fator crítico, nesse sentido é o histórico prévio da cepa usada, ou seja, as condições em que a cepa vinha sendo cultivada até então (HIRAYAMA e FUNAMOTO, 1982). Muitos autores mencionam o uso de uma fase de pré-cultivo em seus estudos, adaptando os rotíferos às condições experimentais por um período de algumas horas (SCOTT e BAYNES, 1978; SCHLOSSER e ANGER, 1982) até de 30 dias (HIRAYAMA et al., 1979; YÚFERA, 1982). GROENEWEG e SCHLUTER (1980), utilizaram uma adaptação gradativa para introdução de um novo tipo de alimento ao cultivo do rotífero B. rubens.

SCHLOSSER e ANGER (1982), procuraram fazer uma análise detalhada de alguns métodos comumente empregadas em experimentos

com rotíferos e sua influência sobre os resultados. Alguns desses pontos são: a) foi usado um agitador magnético (600 r.m^{-1}) e aeração para dissolver o alimento (fermento de pão) por 12 horas para diluição de partículas agregadas; b) até 50% dos rotíferos se aderem ao vidro quando trocados de ambiente, passando gradativamente a coluna d'água. (Estas constatações tem importância fundamental nas contagens feitas com exemplares vivos. Este problema pode ser contornado com o uso de algumas gotas de Formalina para liquidar os rotíferos); c) em experimentos de curta duração o tempo do experimento altera significativamente os resultados; d) para contagem eletrônica das partículas em suspensão, na faixa de $2,5 - 3,2 \mu\text{m}$, existe uma super estimação, provavelmente pela inclusão das bolas fecais dos rotíferos.

Durante a alimentação dos rotíferos com alimentos inertes, existe a possibilidade de crescimento de algumas algas no frasco de cultivo, alterando os resultados (HIRATA, 1974). Quando a alimentação dos cultivos é baseada em algas, seu crescimento durante o período de cultivo pode ser desprezado (PASCUAL e YÚFERA, 1983).

O crescimento das algas em cultivos de rotíferos pode ser evitado pela manutenção da cultura de rotíferos em ausência de luz (BORAAS, 1983).

HIRAYAMA e FUNAMOTO (1982), descrevem a metodologia para formação de cultivos axênicos de rotíferos através do uso de antibióticos e lavagem, com centrífuga e água do mar esterilizada, do fermento de pão. REGUERA (1984), usou um método mais simples, através de pipetagens sucessivas dos indivíduos em água do mar esterilizada, evitando alguns efeitos negativos dos antibióticos sobre os rotíferos.

Através da revisão de outros trabalhos, parece não haver necessidade, a não ser em experimentos muito precisos, de maior tratamento da água do mar usada, do que sua filtração por filtros de 0,45 μ m ou o uso de filtros de carvão ativado (CHOTIYAPUTTA e HIRAYAMA, 1978; TESHIMA et al., 1981; LUBZENS, 1985).

Existem ainda dois fatores importantes na metodologia que gostaríamos de apontar: o primeiro se refere ao número de repetições usadas concomitantemente. Nós encontramos, nos trabalhos revisados, de 3 a 8 repetições (GATESOUBE e ROBIN, 1981; SCHLOSSER e ANGER, 1982, respectivamente). Por outro lado, existem trabalhos que se utilizam do número mínimo de repetições (2) ou de repetições no tempo (HIRATA, 1974), mesmo em condições de cultivo externo. No nosso ponto de vista, este último tipo de trabalho é oportuno para buscar os níveis máximos alcançados, não podendo seus resultados serem extrapolados para condições experimentais normais.

O segundo fator importante se refere ao tipo de testemunha usada. Segundo o Dr. Patrick Sorgeloos (Artemia Use and Production in Aquaculture, Iº Congresso Inter Americano de Aquacultura, Salvador-BA, 1986) os experimentos designados para avaliação de um alimento em culturas de zooplâncton devem ter como testemunha parcelas onde não é oferecido alimento algum aos animais. Este tipo de testemunha permite avaliar se existe algum problema básico no alimento testado evitando completamente sua ingestão pelos rotíferos. Este aspecto foi confirmado por pelo menos um dos trabalhos revisados, de uma equipe japonesa especializada em experimentos nutricionais com larvas e juvenis de camarões peneídeos (TESHIMA et al., 1981).

Nos experimentos sobre as taxas de filtração e ingestão, o

papel se reverte, sendo normalmente usadas como testemunhas, unidades experimentais com a presença exclusiva da suspensão alimentar (CHOTIYAPUTTA e HIRAYAMA, 1978; SCHLOSSER e ANGER, 1982, LUBZENS et al., 1985).

g) Poluição

HIRATA (1974), constatou que, embora o cultivo de rotíferos a baixas densidades estivesse dominado, no cultivo em altas densidades populacionais, o excremento dos animais é um dos problemas mais importantes a ser resolvido, principalmente se considerarmos que um rotífero excreta mais de 10 vezes seu peso corporal num dia. O autor procurou minimizar este problema através da colocação de um "air-lift" central no tanque de cultivo, forçando a passagem de toda a suspensão através de um filtro biológico formado de cascalhos, localizado no terço inferior do tanque. O volume de ar suprido foi aumentado, a medida em que aumentou o peso de alimento ofertado ao cultivo (de 3 a 15 l.min⁻¹).

IMADA et al. (1979; cit. em TESHIMA et al., 1981), aponta a diminuição da qualidade d'água como uma das principais causas do insucesso no cultivo de rotíferos.

h) Contaminação

A contaminação das culturas de rotíferos por outros organismos, também pode ser uma das causas de seu insucesso (HIRAYAMA, 1980; cit. in TESHIMA et. al., 1981).

Um trabalho importante a respeito da contaminação de culturas do rotífero B. plicatilis por ciliados é apresentada pela pesquisadora espanhola REGUERA (1984). Foi constatado que em cul

turas de rotíferos alimentados com fermento de pão, altas concentrações de ciliados indicavam baixo crescimento e baixas densidades populacionais, bem como a mortalidade maciça dos rotíferos (REGUERA et al., 1982 e AL-MATTAR et al., 1979; cits. em REGUERA, 1984).

Embora os ciliados se alimentem de bactérias, é possível que se alimentem também de algas vivas. Sua ação se caracteriza pela rápida sedimentação das algas, formando um tapete verde no fundo dos tanques. Essa atividade pode deixar os rotíferos sem alimentação durante grande parte do dia. Isto implica num baixo valor nutricional, além de baixa fertilidade e densidade populacional devido as más condições alimentares dos indivíduos, levando a cultura ao colapso após algum tempo. Foi detectado, entretanto, um efeito positivo da presença de ciliados, pela remoção de bactérias e algas mortas. Esse efeito benéfico é totalmente mascarado pelo seu efeito negativo (REGUERA, 1984).

A temperatura ótima para os ciliados está entre 20 e 25°C. Os ciliados podem ser eliminados de pequenos volumes através da lavagem dos rotíferos em telas de no mínimo 63 μ m e também pela adição de formalina (20-50 ppm) ao tanque de cultivo, 24 horas antes da introdução dos rotíferos (REGUERA, 1984). CRUZ E MILLARES (1974), eliminaram os ciliados de cultivos em pequenos volumes através da retirada dos rotíferos e elevação da temperatura a 45°C, colocando o frasco fechado ao sol de Havana, Cuba, por 24 h. Este procedimento só foi possível porque a alga utilizada na alimentação, Nannocloris, suportou variações de temperatura dessa magnitude.

De qualquer maneira, a eliminação total dos ciliados não deve ser almejada, já que a proliferação exagerada de bactérias po

de causar danos aos rotíferos. Uma prática aconselhável para manter os ciliados em níveis toleráveis é a decantação do cultivo e remoção da parte inferior, que contém grande número de ciliados e resíduos de matéria orgânica, indispensável aos ciliados (REGUERA, 1984).

GIRAN e DEVAUCHELLE (1974) e PERSON-LE RUYET (1976), citados por REGUERA (1984), observaram um efeito positivo da presença de copépodos em culturas de rotíferos, numa proporção de 1 a 2 copépodos para cada 200 rotíferos.

Geralmente, uma estabilidade maior dos cultivos pode ser alcançado pela tolerância ou mesmo introdução deliberada de outros organismos do que aqueles que estão sendo cultivados e seu alimento. Dessa forma, pode-se estabelecer um ecossistema mais completo, embora um certo grau de controle seja necessário para prevenir uma redução inaceitável na produtividade (REGUERA, 1984). STØTTRUP et al. (1985), descrevem uma metodologia para produção de copépodo Acartia tonsa

i) Aeração

Praticamente todos os métodos de cultivo de rotíferos utilizam algum sistema de aeração, quer seja para homogeneização do meio e retirada de amostras, para manutenção do alimento em suspensão ou ainda para oxidar a matéria orgânica presente.

De qualquer forma, o rotífero B. plicatilis não parece ter necessidade de aerização no meio (CRUZ e MILLARES, 1974; MOCK et al., 1981).

SCHLOSSER e ANGER (1982), recomendam que a aerização do meio

deve ser muito cuidadosa. Eles reportam que a falta de aeração pode levar a uma redução do consumo alimentar de 40%, enquanto que a aeração forte pode ter efeitos catastróficos, sendo preferível, para pequenas unidades de cultivo, o uso de agitadores magnéticos.

HIRATA (1974), usou aeração forte (3 a 15 l. min⁻¹) no cultivo de B. plicatilis em volume útil de 30 l, e aparentemente não houve efeito danoso para os animais.

GROENEWEG e SCHLÜTER (1980), para o rotífero B. rubens, consideraram o uso de aeração importante para oxigenação da cultura e oxidação da matéria orgânica em suspensão, principalmente no sistema de cultivo contínuo, com pequenas retiradas parciais.

GATESOUBE e ROBIN (1981), usaram 4 entradas de ar para o cultivo de B. plicatilis com alimentos inertes em volumes de 20 l. Para volumes de 60 l, foram usados 3 entradas, sendo que a quarta, central, foi substituída por uma pedra de aeração, aparentemente com o objetivo de manter o alimento em suspensão.

PASCUAL e YÚFERA (1983), em culturas de 1 litro, usaram agitação contínua através de borburejo do ar.

j) Outros Parâmetros

Embora o pH do meio de cultura dos rotíferos tenha sido bastante acompanhado em trabalhos científicos, nem sempre foi possível se chegar a conclusões sobre seu efeito, uma vez que parece que os rotíferos apresentam uma resistência razoável às suas variações. Infelizmente não dispusemos de um trabalho específico sobre o assunto nesta revisão, de forma que as conclusões acima

são especulativas.

HIRATA (1974), observou que o rotífero B. plicatilis apresentou bom crescimento sempre que o pH se manteve estável. O mesmo pesquisador, no entanto, relata que o potencial de oxi-redução apresentou maior sensibilidade quando foram ofertados à cultura quantidades exageradas de alimento, sugerindo que o potencial de oxi-redução pode ser um indicador adequado da qualidade d'água nos cultivos.

MITCHELL (1986), sugere que a elevação do pH em cultivos de rotíferos B. calyciflorus pode ser um meio efetivo de controle sobre organismos contaminantes.

SCHLUTER e GROENEWEG (1984), procuraram determinar a resistência à amônia do rotífero B. rubens. Foi observado, conforme esperado pelos pesquisadores alemães, que o efeito prejudicial da amônia sobre o rotífero depende do pH e da temperatura do meio de cultura. Independentemente do pH do meio, a reprodução do rotífero estudado não apresentou decréscimo em concentrações iguais ou inferiores a 3,0 mg de amônio livre $-N.l.^{-1}$. De 3-5 mg $NH_3-N.l.^{-1}$, a reprodução foi inibida reversivelmente, e não puderam ser detectados animais mortos na cultura. Acima de 5m $NH_3 - N.l.^{-1}$, os rotíferos morreram em 48 horas. Os autores concluem que a medida dos níveis tóxicos de uma substância através de sua influência sobre a dinâmica populacional é bem mais sensível do que o estabelecimento da DL50 e DL 100 (concentrações que matam 50 e 100% dos animais em 24 horas, respectivamente).

GROENEWEG e SCHLUTER (1980) observaram que a presença de bactérias nitrificantes foi importante para reduzir os índices de nitrato dentro dos tanques de cultivo do rotífero B. rubens

alimentados com algas cultivadas em tanques de alta concentração de matéria orgânica.

V - VALOR NUTRICIONAL DOS ROTÍFEROS

No Japão, a grande produção de alevinos de peixes marinhos, deve muito de seu sucesso a descoberta do rotífero (Brachionus plicatilis) como alimento planctônico e o desenvolvimento de metodologias para seu cultivo massivo (HIRANO, 1984).

Recentemente, os pesquisadores japoneses têm dado grande importância do valor nutricional dos rotíferos ofertados às larvas e a possibilidade de aumentar seu valor através do uso de dietas enriquecidas.

TACON (1984; revisão manuscrita, não publicada) resume o problema: "Da mesma forma como os nauplius de Artemia, o fator principal para o sucesso dos rotíferos como primeiro alimento para as larvas (exceto o tamanho) é seu conteúdo em ácidos graxos essenciais. Os rotíferos apresentam composição extremamente variável de sua fração lipídica, em contraste a fração mineral ou o conteúdo em aminoácidos, que se apresentam relativamente constantes. Por outro lado, sua constituição varia diretamente com o substrato alimentar empregado. Para revisão do assunto veja WATANABÉ et al., (1983) e SIMPSON et al., (1982), citados por TACON (1984).

Este problema ficou claro a partir da constatação de que rotíferos alimentados unicamente com fermento de pão, apresentavam marcada deficiência de ácidos graxos poli-insaturados (WATANABE et al., 1978), causando elevadas mortalidades em larviculturas. O uso de meios de cultura enriquecidas com óleo de fígado de peixes, para produção de fermento de pão, mostrou-se uma forma efetiva na transferência dos ácidos graxos essenciais para as larvas (KITAJIMA et al., 1979, 1980a, 1980b. Outra forma de contornar este problema é alimentar os rotíferos produzidos com fermento de pão, com a alga Chlorella por um período de 6 horas antes de serem ministradas às larvas (WATANABE, 1979; cit. em MORALES, 1983), ou durante 2 horas em cultivo com Tetraselmis (MORALES, 1983). SCOTT e BAYNES (1978), sugerem que o rotífero possa ser utilizado como veículo de transferência de elementos nutricionais essenciais às larvas predadoras.

LUBZENS et al. (1985), apresentou o trabalho mais completo sobre a composição química proximal do rotífero B. plicatilis por nós revisado. Os autores demonstraram, através de estudos realizados com auxílio do C_{14} , que existe uma pequena capacidade do rotífero sintetizar ácidos-graxos, mesmo quando arraçoado com alimentos deficientes nesses elementos. O detalhe nas análises e resultados, permite uma boa comparação entre o valor nutricional de diferentes algas utilizadas na alimentação do rotífero.

SEGNE et al. (1984), utilizaram uma outra metodologia avançada para avaliar o efeito nutricional do rotífero Brachionus plicatilis alimentado com diferentes algas, através da análise da ultra estrutura dos hepatócitos de larvas do peixe Chanos Chanos com um microscópio eletrônico.

SEIXAS et al. (1984), através de resultados preliminares,

concluíram que B. plicatilis, numa concentração de 30 ind. ml⁻¹, é uma alternativa viável para substituição do microcrustáceo Artemia sp., durante os 10 primeiros dias de larvicultura do camarão gigante da Malásia (Macrobrachium rosenbergii).

YÚFERA et al. (1984), observaram que o camarão Penaeus Kerathurus apresentou uma ingestão ativa do rotífero B. plicatilis a partir do estágio protozoa II, até o estágio de postolarva II.

LUBZENS et al. (1984), obtiveram um crescimento 3 vezes mais rápido para larvas de carpa (Cyprinus carpio) alimentadas com uma dieta mista de ração e rotíferos (B. plicatilis), em concentração de 5 ind. ml⁻¹, quando comparado ao uso apenas da ração. Estes resultados sugerem que o rotífero eurihalino Brachionus plicatilis largamente utilizado em maricultura, também pode ser usado, com resultados positivos, na aquicultura de água doce.

VI - OS ROTÍFEROS E OS SISTEMAS ESTÁTICOS

O uso de sistemas quimiostáticos ou de estado estático (in. "steady-state") para estudo da dinâmica populacional de rotíferos teve origem da tentativa de aplicar modelos matemáticos originalmente desenvolvidos para organismos microscópicos. Embora os resultados obtidos apresentem algumas diferenças daquelas esperadas para seres microscópicos, o uso dessa técnica representa o estudo mais completo sobre dinâmica populacional de rotíferos, possibilitando a introdução de uma série de conceitos, além de algumas tentativas para sua aplicação em culturas contínuas.

Segundo BORAAS (1983), as taxas de crescimento de uma população de rotíferos são influenciadas por alguns fatores ambientais que podem ser diretamente alterados pelo crescimento da população, como a concentração de alimento, acúmulo de catabólitos, etc., e aqueles que não são influenciados pelo crescimento da população, como a temperatura. Nas culturas intermitentes, é difícil distinguir entre o primeiro e o segundo tipo de efeito ambiental. Em culturas contínuas, a variabilidade incontrolável pode ser minimizada para revelar sem ambiguidades, os mecanismos biológicos que regulam o crescimento populacional.

DROOP e SCOTT (1978), que usaram o sistema quimioestático de

dois estágios, para medir as taxas de respiração do rotífero B. plicatilis, apontam que no sistema estático ocorre a supressão do fator tempo, com duas implicações importantes: a) a influência do histórico do material usado é em grande parte superada; b) a variação dos elementos estudados, como a alimentação, assimilação, taxa de crescimento, são obtidas a partir de medidas facilmente exequíveis, como a concentração de nutrientes, biomassa, etc. Outra vantagem é que a população é estatisticamente homogênea, respondendo incoerentemente, ou seja, de forma não sincronizada, e oferecendo dados da população, e não individuais. Essencialmente, tem-se uma população constante multiplicando-se à uma taxa específica e constante, num reator de volume constante, sendo alimentados com substrato fresco na mesma taxa específica de multiplicação.

Pode-se mostrar, providenciando que certas condições sejam preenchidas, que um fator controlador, usualmente a concentração de equilíbrio de um dos nutrientes, garante que as duas taxas sejam iguais. No sistema proposto, o objeto é o rotífero e o "nutriente-limitante" é o alimento algal.

De uma forma mais prática, o sistema quimioestático apresenta dois estados principais, quais sejam; o estado estático e a lavagem do organismo. As principais variáveis independentes são a concentração do substrato na entrada, C , e a taxa de diluição do sistema D , (onde $D = \text{fluxo médio/volume da cultura}$). A taxa de suprimento do alimento é $C \times D$. Por definição, a taxa de crescimento específico do organismo, μ , numericamente se iguala a D no estado estático. Se $D > \mu$, o organismo vai sendo lavado da cultura, enquanto μ está perto do seu valor máximo. Tanto D como μ são expressos em unidades de tempo recíproco, $l. t^{-1}$ (BORAAS, 1983). As principais variáveis são a concentração de

biomassa do organismo, o resíduo do substrato e produtos metabólicos. No estudo estático, todas as variáveis dependentes (como fecundidade, eficiência de assimilação e longevidade) permanecem constantes ao longo do tempo.

Embora bastante teóricos, a aplicação desses conceitos em cultivos massivos parece interessante, por permitir a manutenção de determinada densidade populacional por um período prolongado. Considerando a taxa de diluição, D , como o volume retirado diariamente de um cultivo, os rotíferos que são retirados representam a produção diária da cultura. Segundo HOWELL (1973; cit. em MORALES, 1983), é possível retirar até 33% da população diariamente, uma vez que a densidade populacional dobra aproximadamente cada 1 a 5 dias. Os pesquisadores franceses (PERSON-LE RUYET, 1976 e GATESOUBE e LUQUET, cit. in MORALES, 1983; GATESOUBE e ROBIN, 1981), usam uma metodologia de retiradas parciais de 25% do meio de cultura.

GROENEWEG e SCHLUTER (1983), para produção do rotífero B. rubens a partir de algas produzidas em piscinas fertilizadas com esterco animal, utilizaram $D = 0,25$, ou seja, um tempo de retenção da cultura de 4 dias. Quando D passou para 0,5, foi observado que o número total de rotíferos decresceu, e o aproveitamento do alimento diminuiu. Numa segunda fase até 500 ind. ml^{-1} puderam ser mantidos na cultura quando 25% da cultura foi retirada a cada 12 horas e substituída por suspensão alimentar fresca, sendo que os rotíferos coletados na segunda retirada, foram recolocados no tanque de cultivo.

MITCHELL (1986), estudou a aplicação dos conceitos de culturas estáticas desenvolvidas em laboratório para cultivos massivos exteriores (volume útil de 500 l). O autor sul-africano pre-

feriu chamar suas culturas de semi-contínuas, sendo que a metodologia usada difere um pouco dos trabalhos anteriores. A partir do volume total, diariamente foram filtrados 400 l de meio de cultura, sendo uma parte dos organismos separada (proporcional a D) e os demais organismos devolvidos ao cultivo. Em seguida, foi adicionado o meio de cultura fresco, completando 500 l. Diariamente foram determinados os pesos secos das algas ofertadas à cultura e dos organismos coletados. Em outras palavras, D é constante para o meio de cultura ($D=0,8$), enquanto que para os rotíferos é variável ($D = 0,1$ a $0,45$). Os resultados obtidos nesse trabalho apresentaram uma correlação negativa ($r = -0,96$) entre D e biomassa seca ($g \cdot l^{-1}$). A biomassa presente nas culturas foi mais alta ($0,174 g \cdot l^{-1}$) para a taxa de diluição mais baixa ($D = 0,1$) e mais baixa ($0,02 g \cdot l^{-1}$) na taxa de diluição mais alta ($D=0,4$). O ponto de lavagem ocorreu para uma taxa de diluição de $0,445 \cdot d^{-1}$ que nessas condições representa o máximo. Por outro lado, a produção de biomassa dos cultivos ($g \cdot l^{-1} \cdot d^{-1}$, expressa em matéria seca) foi mais alta ($0,01964 g \cdot l^{-1} \cdot d^{-1}$) para uma taxa de diluição de $0,16 \cdot d^{-1}$. Acima e abaixo destes valores de D, a produção apresentou um decréscimo. A partir da produção diária calculada ($P = D \times$ biomassa, $g \cdot l^{-1}$, \times volume da cultura, l) a produção ótima foi estimada em $0,0192 g \cdot l^{-1} \cdot d^{-1}$, para $D = 0,19 \cdot d^{-1}$. A eficiência de crescimento (veja revisão acima) foi maior ($23,7 \pm 2,7\%$) para $D = 0,20 \cdot d^{-1}$. A eficiência de crescimento apresentou decréscimo acentuado para ambos os lados da curva em função do tempo de retenção. Para tempos menores de residência, as algas não puderam ser totalmente consumidas, mas para tempos de residência maiores, a baixa eficiência de crescimento pode ter sido causada pela senescência da cultura, segundo o autor.

VII - MATERIAIS E MÉTODOS

Os rotíferos usados nos experimentos do presente estudo são de uma cepa utilizada durante vários anos em pesquisas e projetos de aquacultura da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Sua origem provável é na França, tendo sido importado pelo antigo Instituto de Pesquisas da Marinha (atual Instituto de Estudos do Mar Al. Paulo Moreira, Cabo Frio - RJ), de onde foram repicadas para Santa Catarina (I. D. Silva, biólogo da Estação de Larvicultura da Barra da Lagoa - UFSC; comunicação pessoal). A cepa não tem denominação específica e muito pouco foi investigado a seu respeito (BOLL et al., 1987).

O meio líquido usado nos experimentos foi sempre o mesmo, ou seja, água do mar de características oceânicas, sem qualquer ajuste de salinidade (aprox. 35g. l^{-1}). A água do mar captada junto a praia da Barra da Lagoa, Florianópolis através de uma ponteira localizada na zona entre-marés, aproximadamente a 1 metro de profundidade. O único tratamento que a água usada nos experimentos sofreu, foi sua dupla filtragem, através da areia que cerca a ponteira, e de um filtro de feltro industrial, tipo "bidin", enrolado na ponteira. É possível que pequenas variações nas características físicas e químicas da água do mar usada nos experimentos, tenham ocorrido em função de mudanças nas condições me

teorológicas durante o período de estudo. Nenhuma análise foi conduzido no sentido de avaliar estas variações.

Os 3 experimentos descritos nesse trabalho foram realizados na sala de cultivo massivo de zooplâncton da Estação de Larvicultura da Barra da Lagoa - UFSC. Esta sala tem sistema de controle da temperatura através do uso de 2 aparelhos de ar condicionado, além de oferecer a possibilidade de manutenção constante da iluminação. Os experimentos A, B e C foram mantidos a uma distância de 1,5, 2,0 e 2,0 metros, respectivamente, de 2 lâmpadas 40W, luz do dia. Por duas vezes durante o experimento C, houve queda da corrente elétrica, sendo que as lâmpadas permaneceram apagadas por tempo indeterminado. Embora a corrente elétrica tenha sido religada imediatamente e, o sistema de aeração das culturas voltassem a funcionar, as lâmpadas não reacenderam. Uma vez que ambas as quedas de corrente, ocorreram no período do dia claro, a luz artificial foi substituída pelo menos parcialmente pela luz natural, já que a sala apresenta grande número de clarabóias (ANDREATA et al., 1987).

Em todos experimentos, o único alimento usado para a cultura dos rotíferos foi o fermento de pão comum, marca Fleischmann, adquirido em armazéns da localidade, em embalagem de 100g.

Considerando os conceitos desenvolvidos por DROOP e SCOTT (1978), BORAAS (1983) e MITCHELL (1986), para manutenção de culturas em estado estático (veja revisão acima), foram delineados 4 tratamentos, das quais 3 apresentam diferentes taxas de diluição (D), e o quarto não apresentou diluição nenhuma, sendo considerado como testemunha (TAB.1)

Uma vez que o objetivo original desse estudo é a formação de

curvas de regressão, foi considerado importante que os tratamentos abrangessem os pontos de máxima produção, bem como o ponto de lavagem da população (μ). De acordo com MITCHELL (1986), o ponto de maior produção para culturas de rotíferos alimentados com algas, deve estar em torno de $D = 0,1$ a $0,2 \cdot d^{-1}$ e o ponto de lavagem em torno de $D = 0,4 \cdot d^{-1}$.

A testemunha, $D = 0$, representa uma forma de comparação entre 2 métodos de cultivo, com vistas a futuras aplicações em culturas massivas. Se o acúmulo de detritos, excreções e organismos contaminantes tem uma influência negativa sobre o cultivo (HIRATA, 1974; REGUERA, 1984), e se o próprio crescimento populacional dos rotíferos diminui à medida que aumenta a densidade populacional (THEILACKER e McMASTER, 1971; JAMES et al., 1983), então um sistema de retiradas parciais poderá ser vantajoso. No presente estudo queremos testar esta hipótese e procurar determinar o ponto ótimo de diluição da cultura. Paralelamente foi designado um experimento para se determinar o número mínimo de repetições a usar num trabalho deste tipo. Também foi determinado o peso seco de um rotífero, bem como do fermento de pão a ser utilizado no processo de alimentação.

As unidades experimentais onde se realizaram os cultivos consistiram de frascos de vidro, tipo erlenmayer de 3 litros, sendo que o volume útil usado foi de 2,0 l. Cada frasco apresentou 2 marcas feitas com tinta não lavável, demarcando o volume total e o volume a ser retirado (D).

Para manutenção da temperatura dos cultivos em níveis mais estreitos daqueles mantidos pelos condicionadores de ar, foram utilizadas 5 caixas de cimento-amianto (150 l.). Dentro de cada caixa foram colocadas 4 colunas de 4 tijolos furados cada uma,

em cima das quais foram mantidas as unidades experimentais (Fig.4). As caixas foram enchidas com água de mar até 5 cm acima do nível superior das colunas de tijolos. Cada caixa recebeu um termostato e um aquecedor de 50W, tipo aquário. Para homogeneização da temperatura da água da caixa, foi empregado o borburejo leve de ar. Uma vez que poderiam haver diferenças imprevistas na manutenção da temperatura da água pelos 5 termostatos, cada caixa foi considerada como um bloco, apresentando uma repetição de cada tratamento. No experimento C, as unidades experimentais foram mantidas em 3 caixas de fibro-cimento, e apenas 1 termostato foi usado, ligado a 3 aquecedores de 200W colocados nas caixas. Dessa forma, também o delineamento experimental foi alterado para completamente casualizado. As 2 caixas d'água restantes foram mantidas com água do mar, porém sem aquecimento. Para o experimento A não houve controle da temperatura.

A aeração nas unidades experimentais foi mantida com auxílio de pedras porosas, enquanto que nas caixas de fibro-cimento foi usado o borburejo direto. Todas as unidades experimentais, bem como as caixas de fibro-cimento apresentaram controle individual da pressão de ar. O controle foi feito através de ajustes periódicos, baseados em observação visual.

Durante a condução dos experimentos, diariamente foram feitas as contagens de densidade populacional, único parâmetro anotado, em relação aos rotíferos, nesse período. Em todos os experimentos as contagens foram feitas com os organismos "in vivo". Durante os experimentos A e B, as contagens foram feitas a vista desarmada, com auxílio de uma pipeta de vidro de 1 ml, contrastada com um fundo escuro. No experimento C as contagens foram feitas com auxílio de uma câmera especial, sob uma lupa estereoscópica.

A forma de amostragem dos cultivos mudou à medida que os experimentos avançaram. Para o experimento A, uma alíquota de 10 ml foi retirada do cultivo e diluída em 90 ml de água do mar. A partir desse conjunto foram feitas 5 sub-amostras de 1 ml cada, contadas a vista desarmada. Cada um dos resultados foi multiplicado por 10 e o valor médio obtido foi considerado como a densidade populacional na unidade experimental para o dia da contagem. No experimento B, uma amostra de 5 ml do cultivo foi diluído em 45 ml de água do mar, sendo que as contagens foram feitas conforme descrito para A. No experimento C, foram retirados 5 amostras de 10 ml cada. Deste novo universo, representando a mesma densidade populacional da unidade experimental, foram retiradas 5 amostras de 5 ml cada e diluídas em 45 ml de água do mar, cada uma. Desta diluição foram retiradas 1 sub-amostra de 1 ml, cada uma, para contagem sob a lupa. Como nos experimentos A e B, cada resultado obtido nas contagens, foi multiplicado por 10 e obtida a densidade populacional na cultura para o dia da contagem. Na metade final do experimento C, foi possível conduzir 2 contagens concomitantemente, reduzindo o número de contagens por unidade experimental de 5 para 3, embora se perdesse alguma noção da variabilidade.

Uma vez conhecida a densidade populacional nas unidades experimentais, foi calculado o número total de rotíferos presentes na cultura e este foi transformado em biomassa. Em seguida, uma quantidade proporcional de fermento de pão foi pesado e diluída em 0,5 l. de água do mar levente aquecida. A partir do cálculo por regra de três simples e com auxílio de uma pipeta de 10 ml, as respectivas quantidades de suspensão alimentar foram distribuídas às unidades, após a retirada da fração correspondente a taxa de diluição da cultura.

Uma vez ao dia, as temperaturas nas 5 caixas d'água foram anotadas, com auxílio de um termômetro de álcool, sendo obtido um valor médio. No experimento C, as temperaturas foram apontadas duas vezes ao dia, nos horários que teoricamente, correspondem às temperatura extremas dentro do laboratório (08:00 e 14:00 h). Em cada horário foram anotadas as duas temperaturas extremas verificadas entre as 5 caixas de fibra-cimento e entre as unidades experimentais, com objetivo de verificar a eficiência do sistema de controle de temperatura e sua transferência. A partir dos 4 valores obtidos entre as unidades experimentais foi calculada uma média diária.

Um dia antes do início dos experimentos, todo o equipamento foi lavado com solução de Hipoclorito de Sódio, fórmula comercial, e os frascos de cultivos enchidos com água de mar até a metade. Os sistemas de aeração e controle de temperatura também foram ligados. De um dos cultivos massivos, alimentado com fermento de pão, e em fase adiantada de cultivo (YÚFERA, 1982), foi filtrada uma porção de rotíferos com auxílio de uma tela de 32 μ m. Este inóculo permaneceu 24h em água do mar, sem nenhuma alimentação, sendo agitado por aeração na forma de borburejo. Ainda nesse período foi realizado o sorteio das unidades experimentais e sua distribuição nos blocos.

No dia seguinte, 12 horas após a montagem do equipamento, os sistemas de aeração e temperatura foram revisados e ajustados.

Cerca de vinte e quatro horas após a separação dos rotíferos do cultivo massivo, foi verificada a sua densidade populacional, conforme técnicas descritas acima. Uma vez conhecido o número de rotíferos presentes na fração separada, um volume pro-

porcional e igual foi inoculado em cada uma das unidades experimentais, de forma que a densidade populacional inicial nos cultivos fosse em torno de 10 ind. ml^{-1} .

Durante a condução dos experimentos B e C, uma média de 5 horas foram gastas diariamente para condução do experimento.

Experimento A

Este experimento foi conduzido no período de 10 a 16 de maio de 1986. Foi idealizado com o objetivo de se determinar o número mínimo de repetições a ser usado nos demais experimentos.

Apenas 1 tratamento foi utilizado, $D = 0,1 \text{ d}^{-1}$, com 8 repetições. Nesta etapa do trabalho, o peso seco de 1 rotífero foi obtido na literatura, e fixado em 0,2 mg (HIRATA, 1974). A taxa alimentar (veja abaixo) foi de 102,88% nos primeiros 2 dias e de 205,76% nos 4 dias restantes.

A densidade populacional em cada repetição foi determinada conforme técnicas descritas acima. A partir das densidades populacionais diárias em cada repetição, foi calculado um valor médio de densidade populacional para cada repetição, representando os 6 dias de cultivo. Estes valores médios foram numerados de 1 a 8 e agrupados em conjuntos com número crescente de elementos, a medida que foram sendo sorteados por uma tabela parcial de números aleatórios para tomada de amostras (MARKUS, 1977). O número de elementos nos conjuntos, variou de 3 a 8 (universo), sendo que os elementos de cada conjunto foram sorteados em 10 repetições. Para cada repetição foi calculado o coeficiente de variação (c.v.) existente entre os elementos e anotado. A partir das 10 repetições, foi obtido uma média, ou seja, o coeficiente de variação que representou o conjunto na comparação com os demais

conjuntos.

Enquanto que na etapa acima foram considerados os elementos repetidos no sorteio num mesmo conjunto, numa segunda etapa, os elementos repetidos num mesmo conjunto foram descartados. Também o número de repetições por conjunto diminuiu de 10 para 8.

A partir das densidades populacionais diárias das 8 repetições foi calculado o coeficiente de variação diário entre as repetições, bem como sua evolução no tempo.

Determinação do Peso Seco

Os rotíferos utilizados para determinação do peso seco foram coletados no final do experimento A, após 6 dias de cultivo com fermento de pão. Os rotíferos foram separados em 5 grupos e retirados através de filtragem do meio de cultura em telas de 32 μm . As amostras foram resuspendidas em volume conhecido de água do mar limpa por um período de 1 hora, para esvaziamento do seu conteúdo intestinal. Em seguida foram fixados com solução formalina 4,2%, preparada a partir da diluição de 10 ml de formalina 42% em 90ml de água-de-mar (WICKSTEAD, 1965). As amostras foram contadas conforme metodologias descritas acima e acondicionadas em vasilhames de plástico tampados, onde permaneceram para posterior análise do peso seco.

A determinação do peso seco dos rotíferos foi feita no Centro de Tecnologia dos Alimentos - UFSC, Florianópolis. A metodologia usada está baseada em THEILACKER e McMASTER (1971). Cada uma das amostras foi filtrada e lavada com água destilada, e auxílio de uma bomba a vácuo (filtragem tipo Kitasay), sobre uma tela previamente tarada, a 105°C, de 32 μm . As amostras foram

Levadas à estufa com auxílio de cadinhos preparados com papel alumínio, permanecendo ali por 2 horas, a 105°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976). Em seguida, as amostras foram esfriadas em dessecador e pesadas em balança analítica ($\pm 0,1$ mg), voltando a estufa por mais 30 minutos e novamente pesadas.

A partir dos pesos obtidos para a amostra e conhecendo o número de rotíferos na mesma, foi possível determinar o peso seco de 1 rotífero.

Também para o fermento de pão, 4 amostras de peso úmido conhecido, foram secas em estufa, a 105°C, e pesadas.

Experimento B

Este experimento foi conduzido nos dias 20 a 24 de julho de 1986. A montagem, funcionamento e formas de amostragem e contagem foram descritas acima. Os tratamentos usados são os mesmos descritos acima e são apresentados na Tab. 4.

Após a determinação da densidade populacional dos rotíferos em cada uma das parcelas, foi calculada a biomassa retida diariamente nos cultivos através da expressão:

$$Bh = N \cdot V \cdot (Ps \cdot 10) \cdot (1-D)$$

onde: Bh = peso úmido dos rotíferos retidos na cultura (g);

N = densidade populacional (ind. ml^{-1});

V = volume do cultivo (ml);

Ps = peso seco de 1 rotífero (g);

D = taxa de diluição da cultura (.d^{-1}).

Na fórmula acima, para obtenção do peso úmido, o peso seco de 1 rotífero foi multiplicado por 10, considerando que um rotífero apresenta 90% de água em sua composição (MITCHELL, 1986; veja revisão).

O parênteses (1-D) determina o efeito do tratamento sobre a biomassa presente no cultivo, uma vez que, enquanto D representa o volume (e respectiva biomassa) retiradas do cultivo, 1-D representa o volume (e respectiva biomassa) remanescentes na unidade experimental.

Para o cálculo da quantidade de fermento de pão a ser ofertado diariamente às culturas, foi usado o conceito da taxa (HIRATA, 1986), e foi calculado pela seguinte expressão:

$$T = \frac{Ph}{Bh} \times 100$$

onde: T = taxa de alimentação da cultura (%);

Ph = peso úmido de alimento ofertado (g);

Bh = peso úmido dos rotíferos retidos na cultura (g).

No presente estudo, T foi fixado em 350%, baseados nos resultados obtidos por HIRATA (1974; veja revisão). Dessa maneira, o valor calculado diariamente foi Ph, ou seja, o peso úmido de fermento de pão a ser ofertado às culturas diariamente.

Antes do alimento ser ofertado às culturas, as frações correspondentes às taxas de diluição (0,1; 0,2 e 0,4 . d⁻¹) foram retiradas dos respectivos cultivos através de uma mangueira fina, baixando o nível do cultivo até a segunda marca de tinta especial no frasco. Em seguida o alimento foi ofertado e o volume do

cultivo foi elevado até a marca inicial.

Neste experimento, procurou-se manter a temperatura em torno de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Experimento C

Este experimento foi conduzido no período de 29 de julho a 8 de agosto de 1986. A única diferença deste experimento em relação ao experimento B, afora aquelas apontadas acima, foi o nível da temperatura, que procurou-se manter em torno de $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$. O fato de não terem sido realizados concomitantemente, além de algumas diferenças na metodologia, nos levou a analisar em separado estes experimentos.

Parâmetros para Comparações

No presente estudo, 3 parâmetros principais foram calculados para avaliação dos tratamentos, bem como para comparação com resultados obtidos por outros autores.

O primeiro parâmetro utilizado foi a biomassa, calculada pela seguinte expressão:

$$B = \frac{N \times V \times Ps}{Vl}$$

onde: B = biomassa, em termos de matéria seca, presente na cultura. (g.l^{-1});

N = densidade populacional (ind. ml^{-1});

V = volume da cultura (ml);

Ps = peso seco de 1 ortífero (g);

Vl = Volume da cultura (l).

A biomassa presente na cultura (B), ao contrário do peso úmido dos rotíferos retirados na parcela (Bh), é calculada com base no peso seco, além de ser apresentada em unidade de volume recíproco, facilitando comparações com outros trabalhos. É importante observar que V e V1 são expressos em unidades diferentes, ml e l, respectivamente.

O segundo parâmetro para avaliação dos cultivos está relacionado com o aproveitamento, ou conversão em biomassa, do alimento ofertado aos rotíferos, e foi calculado pela seguinte expressão:

$$E = \frac{B \cdot V1 \cdot D}{Q} \times 100$$

onde: E = eficiência de crescimento (%);

B = biomassa, em termos de matéria seca, presente na cultura (g.l^{-1});

V1 = volume da cultura (l);

D = taxa de diluição da cultura (.d^{-1});

Q = peso seco do alimento ofertado (g).

A eficiência do crescimento, na forma que foi calculada no presente trabalho, está baseada nos estudos de MITCHELL (1986; veja revisão). O numerador da expressão nada mais é do que uma estimativa da produção de matéria seca da cultura, uma vez que pela multiplicação por D, a biomassa fica restrita ao peso seco dos rotíferos retirados da cultura. Dessa forma, a biomassa produzida é comparada com o peso seco do alimento ofertado, e o resultado é apresentado em porcentagem.

O último parâmetro usado neste trabalho, é justamente a pro-

dução de biomassa por unidade de volume, calculada pela seguinte expressão:

$$P = B \cdot D$$

onde: P = produção de biomassa da cultura, em termos de matéria seca (g. l^{-1});

B = biomassa presente na cultura expressa em termos de matéria seca (g.l^{-1});

D = taxa de diluição da cultura (d^{-1}).

Os três índices acima, B, E e P, foram calculados para cada dia de cultivo, obtendo-se sua distribuição média no tempo e em relação às taxas de diluição estudadas.

Um programa simplificado para computador foi idealizado e concretizado. Para a efetivação dos cálculos foi usado um mini-computador CASIO, de bolso.

VIII - RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Metodologia

A manutenção da temperatura nos experimentos B e C não apresentou a eficiência esperada no que se refere ao controle da variação diária da temperatura. Este fato foi comprovado pelo apontamento das temperaturas extremas no interior das culturas do experimento C nos 2 horários, que teoricamente representam as temperaturas ambientais extremas dentro do laboratório (Tab. 2). A variação média diária da temperatura no experimento C foi de $3,38 \pm 1,08^{\circ}\text{C}$ (d.p., C.V. = 32,00%). Por outro lado, o sistema de transferência da temperatura das caixas d'água para o interior dos cultivos apresentou uma diferença média de temperatura de $0,82 \pm 0,62^{\circ}\text{C}$ (d.p., C.V. = 75,59%) entre os dois meios. Apesar do alto coeficiente de variação, pode ser considerado que a transferência de temperatura, do meio externo para o meio interno, foi eficiente através do sistema adotado, validando este tipo de aparato para futuros experimentos. No experimento B a temperatura foi apontada uma vez ao dia, não sendo possível o estudo da variação diária da temperatura. As temperaturas médias para os experimentos B e C foram de $22,52 \pm 1,12^{\circ}\text{C}$ (dp, C.V. = 4,98%) e $27,45 \pm 1,49^{\circ}\text{C}$ (d.p., C.V. = 5,44%), respectivamente.

A variação diária da temperatura é apontada como uma das principais causas para o insucesso de culturas de rotíferos (IMADA et al., 1979; cit em TESHIMA et al., 1981), embora nenhum valor de referência tenha sido apresentado pelos autores acima (TESHIMA et al., 1981). SCHLOSSER e ANGER (1982), observaram uma redução de 42% na atividade filtradora do rotífero B. plicatilis submetido a uma redução da temperatura ambiente de 23,5^oC para 18^oC. Estas observações sugerem que, variações diárias de temperaturas podem causar "stress" para os rotíferos de forma parecida ao que acontece com outros animais cultivados em meio aquático, embora estudos conclusivos não tenham sido encontrados por nós. Considerando as temperaturas médias calculadas para os cultivos dos experimentos B e C, parece haver um mascaramento da variação observada, causando a impressão de que a variação diária da temperatura foi muito pequena. Estes resultados confirmam a importância do estudo da variação diária da temperatura, bem como de métodos mais eficientes para evitá-la. Este tipo de variação pode ter influenciado de forma significativa os resultados obtidos no presente trabalho.

As unidades experimentais, que constituíram de frascos de vidro, tipo erlenmayer, se apresentaram de fácil manejo e rápida limpeza, embora de material bastante frágil e de custo elevado.

O fato deste tipo de frasco apresentar uma base larga, apresentou-se prejudicial para a manutenção em suspensão do alimento inerte forçando o uso de aeração forte nos cultivos. Este fato provocou a formação de espuma no interior dos frascos sempre que o alimento foi adicionado, e retenção dos rotíferos pela espuma acima do nível de cultivo, mantendo-os fora do meio e consequentemente alterando as contagens diárias.

Uma forma de solucionar este problema seria o uso do mesmo tipo de frasco, (ou outro mais simples, como garrafas de 0,5 de água mineral), porém mantidos de ponta-cabeça. Junto ao bocal se ria mantida uma rolha grande, com furos para entrada das mangueiras de ar e alimentação. Dessa forma, os cultivos poderiam ser mantidos com aeração fraca, além de haver um melhor isolamento da cultura contra organismos contaminantes. Para o cultivo massivo poderiam ser usados sacos plásticos cônicos, parecidos com aqueles usados para eclosão de ovos em piscicultura (Dr. P. GARADI, curso de "Propagação Artificial da Carpa"; Camboriú, SC, 1986). Alguns estudos sobre o assunto são apresentados por TROTTA (1980), GATESOUBE e ROBIN (1981), TESHIMA et al. (1981), e BRISSET et al. (1982; cit. por SORGELOOS et al., 1983).

O volume útil dos cultivos, 2 l., se apresentou conveniente pelo fácil manejo e rápida metodologia de condução, embora todo o funcionamento da alimentação e contagens nos experimentos tenha sido manual. O estudo da automatização de sistemas de cultivo será de grande auxílio para experimentos futuros, visando redução de custos e economia de tempo. O uso de "timers", bombas peristálticas e outros equipamentos tem sido feitos em países mais adiantados a mais tempo (TROTTA, 1981; BRISSET et al., 1982; cit em SORGELOOS, 1983). Embora nem sempre viável para os cultivos massivos, esse equipamento é indicado para unidades de pesquisa.

As contagens realizadas a vista desarmada nos experimentos A e B, com auxílio de uma pipeta de 1 ml, contrastada a um fundo escuro, se apresentaram consistentes, apesar do pequeno tamanho dos rotíferos, uma vez que todo o conteúdo da pipeta foi visualizado. Durante o experimento B, no entanto, após 4 dias de contagens (100 contagens . dia⁻¹), surgiu uma forte irritação

nos olhos, levando ao encerramento antecipado deste experimento.

Durante o experimento C, as contagens foram realizadas sob lupa estereoscópica, com auxílio de uma câmera especial. Para facilitar a visualização dos rotíferos, as contagens foram realizadas com os organismos "in vivo". SCHLOSSER e ANGER (1982), observaram que até 50% dos rotíferos amostrados "in vivo", permaneceram aderidos à vidraria por tempo limitado, ocasionando uma grande variação nos resultados obtidos nas contagens. Este fato pode ter influenciado significativamente os resultados do experimento C, uma vez que todas as amostras neste experimento foram realizadas com pipetas de vidro. Os autores alemães sugerem o uso de solução de formalina para liquidar os animais da amostra.

Todas as metodologias usadas para contagem dos rotíferos no presente trabalho, mostraram-se bastante laboriosas e demoradas, ocupando cerca de 85% de tempo de análise diária dos experimentos (aprox. 4 h e 25 m). O desenvolvimento de metodologias rápidas e confiáveis para contagem de rotíferos é objeto suficiente para a execução de estudos específicos do assunto. O uso de corantes (CURRLIN, 1975), a contagem dos indivíduos com auxílio de pipetas de vidro sob microscópio (SCHLÜTER e GROENEWEG, 1985), além do uso de sistemas eletrônicos para contagem de partículas em suspensão (BORAAS, 1983), parecem ser alguns dos caminhos a serem investigados.

A diluição do fermento de pão em água do mar levemente aquecida para alimentação dos rotíferos aparentemente foi bem sucedida, embora não tenham sido feitos exames ao microscópio para verificar a individualização das células. SCHLOSSER e ANGER (1982), usaram um agitador magnético por 12 h para diluição do fermento de pão, antes de ser ofertado aos animais. Tempos maio-

res de diluição não reduziram a presença de glomérulos na suspensão alimentar. O uso de pedra porosa, para aeração das culturas no presente estudo, pode ter favorecido a formação de aglomerados, pela presença de pequenas bolhas de ar, tornando o alimento indisponível aos animais devido a seu tamanho.

b) Experimento A

Teoricamente, a medida que aumenta o número de elementos de um universo numa amostra, ocorre uma aproximação das estatísticas estimadas para a amostra em relação aos parâmetros do universo. Os resultados obtidos no cálculo dos coeficientes de variação em amostras com número crescentes de elementos, a partir de um universo de 8 elementos (densidades médias de 8 repetições de um cultivo com $D = 0,1 \cdot d^{-1}$) são apresentados na tabela 3. Para C.V. 1.0 e C.V.2.0 não ocorre o postulado acima e nós suspeitamos que este fato é devido ao grande número de repetições (C.V. 1.0 e C.V. 2.0) e/ou à aceitação de médias repetidas para composição dos grupos de elementos.

Foram calculados, por isso, os coeficientes de variação internos de cada conjunto, a partir das repetições (C.V. 1.1 e C.V. 2.1). Desta feita, conforme o esperado, a medida que aumenta o número de elementos da amostra, aproximando-se do universo, diminui o coeficiente de variação entre as repetições usadas para o cálculo dos coeficientes de variação originais.

Isto significa que, embora os coeficientes de variação originais (C.V. 1.0 e C.V. 2.0) permaneçam os mesmos, existe, para esses dois índices uma maior aproximação dos coeficientes de variação parciais, a medida que aumenta o número de repetições, aumentando portanto a consistência do índice original. Quando de-

cresceu o número de repetições e, principalmente, foram descartadas as médias repetidas pelo sorteio, C.V. 2.0, a aproximação dos coeficientes de variação parciais foi maior (C.V. 2.1).

Um dos objetivos desse estudo foi comprovar de forma estatística o número mínimo de repetições a ser usado nos demais experimentos. Baseados nos resultados apresentados na tabela 3, foi decidido usar 5 repetições, uma vez que há uma diminuição significativa dos coeficientes de variação (C.V.2.0 e C.V.2.1) em relação ao grupo de 4 repetições.

Considerando o universo de 8 repetições, o coeficiente de variação apresentou um valor relativamente alto (C.V. = 28,27%) se comparado ao coeficiente de variação normalmente aceito em experimentos com microorganismos (15 a 25%, R. Nodari, Prof. Ms. do Centro de Ciências Agrárias, UFSC; comunicação pessoal). SCHLOSSER e ANGER (1982), descartaram amostras que apresentaram um coeficiente de variação superior a 10%. Estas observações indicam que, nos experimentos do presente trabalho, houve um elemento importante atuando sobre os rotíferos, ocasionando a dispersão dos resultados.

Uma das razões para os altos coeficientes de variação obtidas pode ser o fato de que não houve homogeneização nenhuma da população a ser estudada. Para filtração do inóculo, foi usada uma tela de 32 μ m, capaz de reter todos os tamanhos de rotíferos (SNELL e CARRILLO, 1984). O uso de telas de diferentes aberturas pode ser eficiente na homogeneização da população inicial, desde que se conheça as dimensões morfométricas da cepa de rotíferos com que se trabalha (YÚFERA, 1982; SCHLOSSER e ANGER, 1982; BOLL et al., 1987). A suspeita de que os coeficientes de variação apontados acima estão relacionados com fatores intrínsecos

da população é confirmada, na nossa opinião, pela evolução no tempo do coeficiente de variação médio das densidades populacionais nas culturas do presente experimento (Tab. 4).

Ao submetermos os rotíferos a um período de 24 h sem alimentação antes do início dos experimentos, tínhamos como intenção provocar uma quebra brusca entre o "passado" dos indivíduos e as novas condições de cultivo. SCHLOSSER e ANGER (1982), num experimento sobre as taxas de filtração de B. plicatilis, não observaram nenhuma correlação ou regressão entre tempos crescentes de jejum (10h a 40h) e as taxas de filtração dos rotíferos verificadas em experimentos de 60 min. sendo que estas últimas se apresentavam normais. Não encontramos, entretanto, em nenhum dos trabalhos revisados, alguma menção sobre o efeito de períodos prolongados em ausência de alimento sobre a dinâmica populacional dos rotíferos, embora as mudanças com relação à alimentação de rotíferos fossem considerados como um dos fatores principais para indução à produção de fêmeas micticas (MANNTER e MILLER, 1959). Este tipo de efeito, na nossa opinião, poderá ser maior quando se usa uma população oriunda de cultivos em fase final de crescimento, como no presente trabalho.

Existe ainda, a nosso ver, a possibilidade de ter ocorrido um esgotamento genético, em termos de produção, da cepa de rotíferos usada. Este esgotamento pode ter ocorrido através da pressão de seleção exercida sobre os rotíferos por condições inconsistentes de cultivo.

É comum, em laboratórios de cultivo massivo, o desaparecimento completo dos rotíferos por determinado período, e seu reaparecimento, após alguns dias, em suspensões alimentares. Este fato implica na presença de ovos de resistência, ou seja, da re-

produção sexual e conseqüentemente, da recombinação gênica. Uma recombinação indesejável poderá dominar a população em cultivos massivos, uma vez que a reprodução partenogenética é estimulada e os efeitos de seleção sobre a população de rotíferos ainda não são bem conhecidos. Estas hipóteses são especulativas, mas se confirmadas, sugerem uma atenção redobrada aos inóculos usadas em cultivos massivos, bem como o uso de experimentos periódicos para testar a eficiência de crescimento da cepa utilizada (THEILACKER e McMASTER, 1971; HINO e HIRANO, 1977; LUBZENS, 1980; BO-RAAS, 1983; HIRANO, 1984; MITCHELL, 1986).

c) Determinação do Peso Seco

O peso seco obtido no presente trabalho, para 1 rotífero da cepa estudada, foi de 216 ng ($0,216 \times 10^{-6}$ g).

Um dos principais problemas enfrentados para a determinação do peso seco dos rotíferos foi o número reduzido de indivíduos disponíveis, resultando em amostras muito pequenas. Das 5 amostras iniciais, apenas 3 puderam ser pesadas, e destas, somente 2 apresentaram resultados consistentes. Dessa forma não pode ser considerado definitivo o resultado apresentado acima, devendo, em estudos futuros, ser repetido. Para o presente trabalho, foi considerado importante a obtenção de um valor padrão para o cálculo dos parâmetros de comparação (veja Materiais e Métodos), de forma que foi aceito o valor obtido.

THEILACKER e McMASTER (1971), obtiveram um peso seco de 160 ng. ind⁻¹. SCOTT e BAYNES (1978) fizeram várias observações do peso seco em rotíferos obtendo valores entre 150 ng e 750 ng. ind⁻¹. YÚFERA et al. (1983), observaram uma alta correlação entre a porcentagem de fêmeas ovíferas na população e o peso médio

dos indivíduos. SCHLOSSER e ANGER (1982), encontravam um peso seco médio de 280 ng.ind⁻¹. JAMES et al. (1983), apresentam um peso seco de 331 ng por indivíduo. Estes valores indicam que o peso seco obtido para 1 rotífero da cepa estudada no presente trabalho se encontra aproximadamente, no terço inferior da distribuição dos valores obtidos pelos demais autores.

Neste estudo, houve uma diferença na metodologia de determinação do peso seco em relação à metodologia usada por THEILACKER e McMASTER (1971) no que se refere a temperatura. Enquanto nós usamos 105°C, os autores norte-americanos usaram 60°C para secagem das amostras a peso constante nas estufas. Esta alteração está baseada na técnica de determinação de resíduos secos apresentada pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1976), e pode ter alterado significativamente os resultados. Quando se trabalha com a determinação de pesos assim pequenos, é aconselhável o uso de amostras em branco, além de maior número de repetições.

Para o fermento de pão, foi obtido um conteúdo médio de matéria seca da ordem de 87,5 ± 2,1% (d.p, C.V. = 2,4%), a partir de 4 determinações.

d) Experimentos B e C

A evolução no tempo da biomassa média presente nas culturas dos experimentos B e C, em função da taxa de diluição (D), é apresentada nas figuras 5 e 6, respectivamente. Pode ser considerado que houve, inicialmente, um desenvolvimento normal das culturas, de acordo com as fases de desenvolvimento populacional apresentadas por AMAT (1975; cit. em MORALES, 1983), embora nem todas as fases pudessem ser caracterizadas num mesmo tratamento.

Normalmente a evolução no tempo das culturas de sistema contínuo não é apresentada, uma vez que, nesse tipo de cultura, é mais importante a caracterização da cultura após ter alcançado o estado estático (BORAAS, 1983; MITCHEL, 1986). No presente trabalho, devido a testemunha usada ($D=0$) e a curta duração dos experimentos, achamos importante a apresentação desses resultados. Para efeito de cálculo dos parâmetros de comparação, foi considerado, a partir das figuras 5 e 6, que as culturas dos experimentos B e C alcançaram um relativo estado estático a partir do 3º e 8º dia, respectivamente.

A exceção do tratamento onde não houve nenhuma troca do meio de cultivo ($D=0$), que apresentou crescimento contínuo durante o período dos experimentos, os demais tratamentos apresentaram uma tendência ao equilíbrio ou decréscimo da biomassa presente nos cultivos, com o passar do tempo. Estas observações indicam a presença, na testemunha, de um meio particularmente favorável, que não pode ser mantido a partir de uma renovação mínima de 10% ($D=0,1.d^{-1}$) do meio de cultura. Estas observações reforçam as considerações de HIRAYAMA e WATANABE (1973; cit. in HIRAYAMA e FUNAMOTO, 1982) que apontaram, que o sucesso da produção massiva de rotíferos alimentados com fermento, é suportado pela suplementação nutritiva oriunda da decomposição do fermento e também, pelo crescimento de fitoplâncton e bactérias nos tanques de cultivo, utilizando os produtos de decomposição como fonte de nutrientes.

Num trabalho específico sobre o valor nutricional do fermento de pão sobre o crescimento populacional do rotífero B.plicatilis, HIRAYAMA e FUNAMOTO (1982) concluíram que o fermento de pão sem nenhuma suplementação nutritiva é deficiente em qualidades nutricionais que permitam o crescimento da população, embora

seu valor possa ser aumentado consideravelmente através da inclusão de diversos nutrientes à suspensão de células de fermento. TESHIMA et al. (1981), num estudo comparativo entre diferentes dietas, para alimentação do rotífero B.plicatilis, observaram um decréscimo marcado das densidades populacionais, após um período de crescimento de 5 dias, dos rotíferos alimentados apenas com fermento de pão.

O uso em larga escala do fermento de pão para a produção massiva do rotífero (JAMES et al., 1983; HIRANO, 1984) está baseado na boa aceitação deste alimento pelos rotíferos (HIRAYAMA e FUNAMOTO, 1982), ao contrário de outras dietas testadas (GATE-SOUBE e ROBIN, 1981; TESHIMA et al., 1981).

Nós concluímos que, embora apresente deficiências nutricionais importantes para o bom desenvolvimento dos cultivos de rotíferos, o fermento de pão tem como trunfo a sua boa aceitação pelos mesmos, provavelmente devido a seu tamanho (SCHLOSSER e ANGER, 1982). O uso de dietas compostas, a partir do fermento de pão, e o estudo da suplementação do meio de cultivo em que é produzido o fermento (KITAJIMA et al., 1979; 1980a; 1980b) parecem ser os caminhos indicados para o estudo da viabilização deste alimento.

Na figura 7 são apresentados os resultados obtidos nas culturas contínuas dos experimentos B e C, em termos da biomassa presente nas culturas em função da taxa de diluição. A máxima biomassa presente ($0,014 \text{ g.l}^{-1}$, C.V. = 68,94%) foi observada no experimento C, para $D=0$. No mesmo experimento, foi observada a menor biomassa ($0,0003 \text{ g.l}^{-1}$, C.V. = 127,97%). Os coeficientes de correlação (r) entre a biomassa presente nas culturas (expressa em g.l^{-1} de matéria seca) e as taxas de diluição, nos

experimentos B e C, foram de 68,76 e 64,98 respectivamente, com $n=80$ em ambos os cálculos. Ambas as correlações se apresentaram muito significativas, para o número de pares estudados ($P < 0,001$, MARKUS, 1977). As equações de regressão, que são apresentadas na figura 7, apresentaram os coeficientes da equação muito significativas ($P < 0,001$).

GROENEWEG e SCHLUTER (1981), em culturas de B. rubens, alimentadas com suspensões algais, usaram $D=0,25$ em intervalos de 12 horas, repondo ao cultivo os rotíferos coletados a cada segunda diluição da cultura, mantiveram uma densidade populacional em torno de 500 ind.ml^{-1} . Embora não sejam fornecidos dados de biomassa pelos autores, as densidades populacionais verificadas são bastante superiores àquelas verificadas no presente estudo.

BORAAS (1983), em culturas de B. calyciflorus num sistema quimiostático, obteve uma biomassa de $0,0243 \text{ g.l}^{-1}$ para $D=0,83 \text{ d}^{-1}$, e de $0,0233 \text{ g.l}^{-1}$ para $D=1,08 \text{ d}^{-1}$, quando algas com células diminutas foram usadas como alimento. Os resultados são apresentados pelo autor sob forma de biovolume, sendo assumido, para fins de comparação, que o biovolume em mililitros é igual a grammas (MITCHELL, 1986).

MITCHELL (1986), em culturas semi-contínuas do rotífero B. calyciflorus, alimentados com Chlorella sp., observou uma correlação negativa entre a taxa de diluição da cultura (D) e a biomassa presente ($r=0,96$). A biomassa mais alta ($0,174 \text{ g.l}^{-1}$) foi observada para a taxa de diluição mais baixa ($D=0,1 \text{ d}^{-1}$) e a mais baixa ($0,02 \text{ g.l}^{-1}$), para a taxa de diluição mais alta ($D=0,4 \text{ d}^{-1}$).

Os resultados acima, são superiores àquelas verificadas no

presente trabalho, confirmando que culturas alimentadas com algas oferecem vantagens para a produção de biomassa de rotíferos, se comparadas àquelas alimentadas com fermento de pão exclusivamente. Há, entretanto, algumas diferenças metodológicas, além daquelas já expostas, entre os trabalhos acima.

BORAAS (1983), encontrou que a biomassa permaneceu relativamente constante com o aumento de D, enquanto que MITCHELL (1986) e os resultados do presente trabalho, indicam um marcado declínio da biomassa com o aumento da taxa de diluição. A razão para este fato é que BORAAS (1983) aumentou a quantidade total de alimento que passou pelo sistema, com o aumento de D, enquanto nos 2 estudos referidos, a quantidade total de nutrientes introduzidos diariamente no sistema permaneceu constante, independentemente de D (MITCHELL, 1986).

Estas observações, em contrapartida, demonstram que a condução de culturas contínuas apresenta certa flexibilidade, o que a nosso ver, é muito importante para sua aplicação em cultivos massivos, principalmente no ajuste da densidade alimentar, quando alimentos inertes ou suspensões de algas concentradas por centrifugação são usadas como substrato às culturas (GATESOUBE e ROBIN, 1981; BOLL et al., 1987).

Os pontos de lavagem estimados para as culturas dos experimentos B e C, ocorreram em $D = 0,517.d^{-1}$ e $D = 0,388.d^{-1}$ respectivamente. Teoricamente, nestes pontos também ocorre o crescimento específico máximo, μ , dos rotíferos (BORAAS, 1983).

GROENEWEG e SCHLÜTER (1981) encontraram que B. rubens, alimentado com algas produzidas a partir de meios maciçamente fertilizados com esterco animal, tem um μ max. entre $0,25.d^{-1}$ e

0,5 . d⁻¹.

BORAAS (1983), em culturas de rotífero B. calyciflorus alimentados com algas, verificou o ponto de lavagem das culturas em $D=1,296.d^{-1}$, sendo que este valor também corresponde a μ max.

MITCHELL (1986) em culturas de B. calyciflorus, verificou que a lavagem das culturas ocorreu em $D=0,445 . d^{-1}$, enquanto que o crescimento específico (μ max) determinado em laboratório foi de $0,59 . d^{-1}$.

Os resultados do presente trabalho indicam que existe uma influência significativa da temperatura sobre o ponto de lavagem das culturas, sendo que o ponto de lavagem das culturas mais alto ocorreu na temperatura mais baixa. Considerando que nesses pontos também ocorrem as taxas de crescimento específico máximas da população, os resultados obtidos sugerem que, o uso de temperaturas em níveis mais baixos e estáveis, para cultivos massivos do rotífero com fermento de pão é vantajoso, incorrendo simultaneamente em redução dos custos de produção.

GATESOUBE e ROBIN (1981), observaram que nenhum resultado positivo foi obtido nos cultivos de B. plicatilis com o uso de alimentos inertes, sempre que foram usadas altas salinidades para a água do mar do meio de cultura, embora nenhuma conclusão pudesse ser feita sobre a relação entre salinidade e o nível alimentar. No presente trabalho foi usada água do mar de características oceânicas, com altas salinidades, o que, de acordo com os pesquisadores franceses citados acima, pode ter influenciado negativamente os resultados. PASCUAL e YÚFERA (1983) observaram que, embora o rotífero B. plicatilis seja hialino, apresentou uma adaptação mais rápida a meios de cultivo com salinidade reduzida. Provavelmente, os maus resultados obtidos por GATESOUBE e

ROBIN (1981), relacionados muito mais à cepa utilizada e sua capacidade intrínseca de adaptação, do que às densidades alimentares utilizadas em si.

Na figura 8 são apresentados os resultados obtidos nos experimentos B e C para a eficiência de crescimento em função da taxa de diluição. Foi verificada uma correlação positiva entre a taxa de diluição e a eficiência de crescimento. A máxima eficiência foi verificada para $D = 0,4.d^{-1}$, cerca de 1,74% e 1,80%, para os experimentos B e C, respectivamente.

Para $D = 0,1.d^{-1}$, os experimentos B e C apresentaram eficiências de crescimento de 0,34% e 0,35%, respectivamente. A eficiência foi nula para $D = 0$ devido a um artifício de cálculo, já que o referido parâmetro é calculado a partir da produção diária da cultura, que neste caso é zero. Este fato indica que é discutível o uso deste tipo de testemunha num estudo com culturas contínuas. Provavelmente o uso de uma testemunha com indivíduos sem nenhuma alimentação seria mais vantajoso (TESHIMA et al., 1981).

BORAAS (1983), verificou uma eficiência de crescimento de aproximadamente 25%, em culturas de B. calyciflorus alimentadas com algas. MITCHELL (1986), observou que os rotíferos utilizaram as algas mais eficientemente em $D = 0,2.d^{-1}$, com uma eficiência de crescimento de $23,7 \pm 2,7\%$. O mesmo autor sugere que este parâmetro pode apresentar um aumento quando os rotíferos são cultivados em sistemas onde o alimento é limitado.

Os valores obtidos no presente trabalho para o parâmetro eficiência de crescimento são muito inferiores àqueles apresentados nos trabalhos acima. Estes resultados confirmam, na nossa opinião, as deficiências nutricionais do fermento de pão como ú-

nico alimento em culturas de rotíferos. Por outro lado, o uso deste tipo de cálculo dá respaldo científico para decisões com vistas a futuras aplicações de diferentes suspensões alimentares em cultivos massivos.

Uma conclusão interessante é que não houve diferença significativa entre as eficiências de crescimento para os dois níveis de temperatura utilizadas. Este fato pode ter ocorrido devido ao uso, em ambos os experimentos, de uma taxa de alimentação fixa e igual, e não de um sistema proporcional (GATESOUBE e ROBIN, 1981).

Outra causa do mau aproveitamento, pelos rotíferos, do alimento ofertado pode ter sido a ação negativa de organismos ciliados (REGUERA, 1984). Durante o experimento C, quando as contagens foram realizadas com auxílio de uma lupa estereoscópica, foi observado, a partir do 7º dia de cultivo, até o fim do experimento, a presença, em grande número, de ciliados em algumas unidades experimentais, marcadamente para $D=0$ e $D=0,1.d^{-1}$.

A presença de ciliados em culturas de rotíferos alimentados com fermento de pão tem sido relacionada com baixas densidades populacionais e até mesmo com mortalidades maciças da população (REGUERA et al., 1982; AL-MATTAR et al., 1979; cits. por REGUERA, 1984). Considerando os tratamentos em que foram verificadas as contaminações, existe uma evidência de que seu efeito negativo não foi a principal causa do insucesso observado, uma vez que estas culturas apresentaram valores superiores para a biomassa presente (FIG. 7).

Um fator crítico na eficiência do crescimento são as densidades alimentares usadas nas culturas e sua manutenção durante o

período de cultivo (GATESOUBE e ROBIN, 1981).

Em média, no presente trabalho, foram ofertados aos cultivos $0,010 \text{ g.l}^{-1}$ e $0,026 \text{ g.l}^{-1}$ de fermento de pão por dia (em base de matéria seca) nos experimentos B e C, respectivamente.

HIRATA (1974), utilizou em média cerca de $0,15 \text{ g.l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ de fermento marinho (peso úmido) para culturas do rotífero B. plicatilis em fase inicial de crescimento.

SCHLOSSER e ANGER (1982), apontam, como conclusão de seu estudo, que são necessários $0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ de fermento de pão (em base de matéria seca, 23°C) para a manutenção de 500 ind.ml^{-1} .

GATESOUBE e ROBIN (1981), num estudo específico sobre a densidade alimentar e sua manutenção no período de um dia, utilizaram uma distribuição do alimento da seguinte forma: 1/3 do alimento foi ofertado diretamente as culturas, pela manhã; 1/3 do alimento foi ofertado da mesma forma, pela tarde; e 1/3 do alimento foi diluído em água do mar e repassado à cultura por alimentadores automáticos durante a noite. Segundo os mesmos autores, embora a salinidade possa influir negativamente na produção de rotíferos alimentados com dietas inertes, o fator mais importante consiste no ajustamento do nível de alimentação às densidades populacionais diárias.

Uma vez que no presente trabalho não houve este ajuste, as eficiências de crescimento verificadas para as culturas alimentadas com fermento de pão, poderão ter seus valores melhorados em outros estudos que considerem seriamente esta questão.

Na figura 9 são apresentados os resultados obtidos para a

produção de biomassa verificada nas culturas dos experimentos B e C. No nível inferior de temperatura, a máxima produção ocorreu para $D=0,4.d^{-1}$, cerca de $0,0006 g.l^{-1}.d^{-1}$ (em termos de matéria seca). No nível superior de temperatura testado, a produção máxima foi verificada para $D=0,1 . d^{-1}$, cerca de $0,0011 g.l^{-1}.d^{-1}$. Em ambos os experimentos, o tratamento $D=0$ não apresentou produção, por artifício de cálculo, uma vez que não sofreu retiradas parciais diárias (veja Materiais e Métodos).

BORAAS (1983), obteve uma produção de $0,0202 g.l^{-1}$ e $0,0252 g . l^{-1}$, para taxas de diluição de $0,83 . d^{-1}$ e $1,08 .d^{-1}$, respectivamente.

MITCHELL (1986), observou a máxima produção para $D=0,16.d^{-1}$, cerca de $0,020 g .l^{-1}$.

O mesmo autor observou que pela estimativa da produção ($D \times$ biomassa \times volume da cultura), a produção ótima foi de $0,019 g.l^{-1}.d^{-1}$ (cerca de $19,2 g . m^{-3} . d^{-1}$) que seria alcançada em $D=0,19 . d^{-1}$. No presente trabalho, a partir da estimativa da produção, a produção ótima foi de $1,33 g . m^{-3} . d^{-1}$, para $D=0,19 . d^{-1}$, no experimento C, e de $0,58 g . m^3 . d^{-1}$, para $D=0,25$, no experimento B, bem abaixo, portanto, dos valores encontrados pelo autor sul-africano.

Através de um programa estatístico computadorizado (MINITAB - Pensilvania State University, versão 77.2; IEPE, UFRGS), foram relacionados 5 fatores independentes nas mais variadas combinações, procurando encontrar uma equação de regressão para os parâmetros estudados. Nosso erro, nesta análise, foi incluir todos os dados disponíveis, inclusive aqueles obtidos durante o desenvolvimento inicial das culturas, tornando mais difícil a aproxi-

mação de uma equação pelo computador. Para a produção de biomassa das culturas foram encontrados baixos coeficientes de regressão ($r^2=9,0$ a $30,6$), e para o conjunto de valores estudados, não houve significancia do coeficiente da correlação entre a produção e a temperatura ($r=0,096$).

Existe o interesse, de nossa parte, de repetir estas análises, usando apenas os dados das culturas a partir do momento que estas atingiram o estado estático, além de reduzir o número de interações analisadas.

BIBLIOGRAFIA

- 01 ANDREATTA, E.R., E. BELTRAME, I.D. e SILVA, C.M. PEREIRA, 1987. Implantação de uma Larvicultura para Camarões Penéides. IIº Seminário de Estudos do Mar, na Iª Semana da Pesquisa. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC (em processo de impressão).
- 02 BARNES, R.D., 1984. Zoologia dos Invertebrados. Ed. Livraria Roca Ltda., 4ª Ed. São Paulo, SP. p. I -II, 292-306.
- 03 BOLL, M.G., E.R. ANDREATTA, E. BELTRAME, I.D. e SILVA, C.M. PEREIRA, 1987. Produção do Rotífero Brachionus plicatilis O.F. Muller, em diferentes salinidades. IIº Seminário de Estudos do Mar, na Iª Semana da Pesquisa. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC (em processo de impressão).
- 04 BORAAS, M.E., 1983. Population Dynamics of Food - limited Rotifers in Two-stage Chemostat Culture. *Limnol. Oceanogr.* 28 (3) : 546-563.
- 05 CHOTIYAPUTTA, C., K. HIRAYAMA, 1978. Food Selectivity of the Rotifer Brachionus plicatilis Feeding on Phytoplankton. *Marine Biology* 45 : 105-111.
- 06 CRUZ S., A., N. MILLARES D., 1974. Metodo de Cultivo Masivo de Brachionus plicatilis (ROTIFERA) a Escala Experimental. *Investigaciones Marinas, Serie-8* (11). Universidad de Habana, Cuba.
- 07 CURRLIN, E. N., 1975. Ecologia Química Marinha: As Praias e o Mar. Ed. Resenha Universitária. São Paulo, SP. p.400 - 407.

- 08 DROOP, M.R., J.M. SCOTT, 1978. Steady-state Energetics of a Planktonic Herbivore. J. mar. biol. Ass. U.K. 58:749-772.
- 09 GATESOUBE, F-J., J.H. ROBIN, 1981. Commercial Single-cell Proteins either as Sole Food Source or in Formulated Diets for Intensive and Continuous Production of Rotifers (Brachionus plicatilis). Aquaculture 25:1-15.
- 10 GOLDMAN, J.C., 1979. Outdoor Mass Algal Cultures. 1. Applications. Water Res. 13:1-19.
- 11 GROENEWEG, J., M. SCHLUTER, 1981. Mass Production of Fresh water Rotifers on Liquid Wastes. II. Mass Production of Brachionus rubens Ehrenberg 1838 in the Effluent of High rate Algal Ponds Used for the Treatment of Piggery Waste. Aquaculture 25:25-33.
- 12 HINO, A., HIRANO, 1977. Ecological Studies on the Mechanism of Bisexual Reproduction in the Rotifer Brachionus plicatilis - II: Effects of Cumulative Parthenogenetic Generation on the Frequency of Bisexual Reproduction. Bull. Japan. Soc. Scient. Fish. 43 (10): 1147-1155.
- 13 HINO, A., R. HIRANO, 1984. Relationship between Body Size of the Rotifer Brachionus plicatilis and the Minimum Size of Particles Ingested. Bull. Japan. Soc. Scien. Fish. 50 (7): 1139-1144.
- 14 HIRANO, R., 1984. Problems in Production of Marine Fish Seedling in Japan, in Proceedings of Ist ROC - Japan Meeting. p. 25-28.
- 15 HIRATA, H., 1974. An Attempt to Apply an Experimental Microcosm for the Mass Culture of Marine Rotifer. Brachionus plicatilis Müller. Mem.Fac. Fish. Kagoshima Univ. 23:163-172.
- 16 HIRAYAMA, K., K. TAKAGI, H. KIMURA, 1979. Nutritional Effect of Eight Species of Marine Phytoplankton on Population Growth of the Rotifer, Brachionus plicatilis. Bull. Japan. Soc. Scien. Fish. 45(1):11-16.
- 17 HIRAYAMA, K., H. FUNAMOTO, 1982. Supplementary Effect of Several Nutrients on Nutritive Deficiency of Baker's yeast for Population Growth of the Rotifer Brachionus plicatilis Bull. Japan. Soc. Scien. Fish. 49(4): 505-510.

- 18 HUTCHINSON, G. E., 1967. ROTIFERA, in A treatise on Limnology. Vol. II. Introduction to Lake Biology and Limnoplankton. p.506-518.
- 19 INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Vol. 1. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. 2ª ed. São Paulo, SP. p. 22-23.
- 20 JAMES, C.M., B. ABBAS, A. M. AL-KHARS, S. AL-HINTY, A.E. SALMAN, 1983. Production of the Rotifer Brachionus plicatilis for Aquaculture in Kuwait. Hydrobiologia 104: 77-84.
- 21 KITAJIMA, C., S. FUJITA, F. OHWA, Y. YONE, T. WATANABE, 1979. Improvement of Dietary Value for Red Sea Bream Larvae of Rotifers Brachionus plicatilis Cultured with Baker's Yeast Saccharomyces cerevisiae. Bull. Japan. Soc. Scien. Fish, 45(4):469-471 (em japonês).
- 22 KITAJIMA, C., T. ARAKAWA, F. OHWA, S. FUJITA, O. IMADA, T. WATANABE, Y. YONE, 1980a. Dietary value for Red Sea Bream larvae of Rotifer Brachionus plicatilis Cultured with a New Type of Yeast. Bull. Japan. Soc. Scien. Fish. 46(1): 43-46 (em japonês).
- 23 KITAJIMA, C., M. YOSHIDA, T. WATANABE, 1980b. dietary Value for Ayu Plecoglossus altivelis of Rotifer Brachionus plicatilis Cultured with Baker's Yeast Saccharomyces cerevisiae supplemented with cuttlefish Liver Oil. Bull. Japan. Soc. Scien. Fish. 46(1): 47-50 (em japonês).
- 24 LUBZENS, E., R. FISHLER, V. BERDUGO - WHITE, 1980; Induction of Sexual Reproduction and Resting Egg Production in Brachionus plicatilis reared in Sea Water. Hydrobiologia 73:55-58.
- 25 LUBZENS, E., G. SAGIE, G. MINKOFF, E. MERAGELMAN, A. SCHNELLER, 1984. Rotifers (Brachionus plicatilis) Improve Growth Rate of Carp (Cyprinus carpio) larvae. Bamidgeh 36 (1): 41-46.
- 26 LUBZENS, E., A. MARKO, A. TIETZ, 1985. De novo synthesis of fatty acids in the rotifer, Brachionus plicatilis. Aquaculture 47:27-37.
- 27 MANTER, H.W., D.D. MILLER, 1959. Phylum Aschelminthes, Chapter 25, in Introduction to Zoology. Ed. Tarper and Brothers. New York, USA. p. 197-204

- 28 MARKUS, R., 1977. Elementos de Estatística Aplicada (princípios básicos). Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS.
- 29 MITCHELL, S.A., 1986. Experiences with out door semi-continuous Mass Culture of Brachionus calyciflorus Pallas (ROTIFERA). Aquaculture 51:289-297.
- 30 MOCK, C. R., C.T. FONTAINE, D.B. REVERA, 1980. Improvements in rearing larval Penaeid Shrimp by the Galveston Laboratory Method, in The Brine Shrimp Artemia, Vol. 3. Ecology, Culturing and Use in Aquaculture. Universa Press. Belgium. p. 331-342.
- 31 MORALES, R., 1983. Aquicultura Marina Animal. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, Espanha. p. 362-365.
- 32 PASCUAL, E., M. YÚFERA, 1983. Crecimiento en Cultivo de Una Cepa de Brachionus plicatilis O.F. Muller em Funcion de la Temperatura y la Salinidad. Inv. Pesq. 47 (1):151-159.
- 33 REGUERA, B., 1984. the Effect of Ciliate Contamination in Mass Cultures of the Rotífer, Brachionus plicatilis O. F. Müller. Aquaculture 40: 103-108.
- 34 RICCI, C., 1983. ROTIFERA or ROTATORIA? Hydrobiologia 104 : 1-2.
- 35 SCHLOSSER, H.J., K. ANGER, 1982. The Significance of Some Methodological Effects on filtration and Ingestion rates of the Rotifer Brachionus plicatilis. Helgoländer Meeresuntersuchungen 35:215-225.
- 36 SCHLÜTER, M. J. GROENEWEG, 1985. The Inhibition by Ammonia of Population Growth of the Rotife, Brachionus rubens, in continuous Culture. Aquaculture 46:215-220.
- 37 SCOTT, A.P., S.M. BAYNES, 1978. Effect of Algal Diet and Temperature on the Biochemical Composition of the Rotífer, Brachionus plicatilis. Aquaculture 14:247:260.
- 38 SEGNER, H. B. O. ACOSTA, J.V. JUARIO, 1984. The Effect of Brachionus plicatilis Grow on three different species of Phytoplankton on the Ultra structure of the Hepatocytes of Chanos chanos (Forskal) fry. Aquaculture 42:109-115.

- 39 SEIXAS F., J.T., O.M. SIMÃO, L. TRIANI, L.L. CUNHA, J.E. THOMAS, M.M. SOUZA, V. MATTA, 1984. Rotífero: Uma Alternativa no Arraçoamento Larval de Macrobrachium rosenbergii. Resultados Preliminares. Pesagro. Rio de Janeiro, RJ.
- 40 SIMÃO, O.M., 1977. Estudos sobre a Produção Massiva do Rotífero Brachionus plicatilis. Relatório de Bolsa de Pesquisa do CNPq. Pesagro. Rio de Janeiro, RJ.
- 41 SNELL, W.T., K. CARRILLO, 1984. Body Size Variations Among Strains of the Rotífer Brachionus plicatilis. Aquaculture 37: 359-367.
- 42 SORGeloos, P., E. BOSSUYT, P. LAVENS, P. LEGER, P. VANHAECKE, D. VERSICHELE, 1983. The use of Brine Shrimp Artemia in Crustacean Hatcheries and Nurseries. C.R.C. Handbook of Mariculture. Vol. I. Crustacean Aquaculture. Flórida, USA.
- 43 STØTTRUP, J.G., K. RICHARDSON, E. KIRKE GAARD, N.J. PIHL, 1986. The Cultivation of Acartia tonsa Dana for use as a live Food Source for Marine Fish Larvae. Aquaculture 52: 87-96.
- 44 TACON, A., 1984. Nutricional Value of Zooplankton Used in Aquaculture. Revisão Manuscrita, não publicada. CERLA. Pirassununga, SP.
- 45 TESHIMA, S., A. KANAZAWA, M. SAKAMOTO, 1981. Attempt to Culture the Rotifers with Microencapsulated Diets. Bull. Japan. Soc. Scien Fish 47(12):1575-1578.
- 46 THEILACKER, G.H., M.F. McMASTER; 1971. Mass Culture of the Rotifer Brachionus plicatilis and its Evaluation as a food for Larval Anchovies. Marine Biology 10:183-188.
- 47 TROTTA, P., 1980. A Simple and Inexpensive System For Continuous Monoxenic Culture of Brachionus plicatilis Müller as a Basis for Mass Production. Algae Biomass. Elsevier/North Holland Biomedical Press. p. 307-313.
- 48 WATANABE, T., C. KITAJIMA, T. ARAKAWA, K. FUKUSHO, S. FUJITA, 1978. Nutricional Quality of Rotífer Brachionus plicatilis as a living Feed from the View point of Essencial Fatty Acids for Fish. Bull. Japan. Soc. Scien. Fish. 44 (10): 1109-1114 (em japonés).
- 49 WICKSTEAD, J.H., 1965. An Introduction to the study of Tropical Plankton. Hutchinson Tropical Monographs London, England. p.54-68.

- 50 YÚFERA, M., 1982. Morphometric Characterization of a Small-sized Strain of Brachionus plicatilis in Culture. *Aquaculture* 27:55-61.
- 51 YÚFERA, M., E. PASCUAL, 1985. Effects of Algal Food Concentration on Feeding and Ingestion Rates of Brachionus plicatilis in Mass Culture. *Hydrobiologia* 122:181-187.
- 52 YÚFERA, M., L.M. LUBIÁN, E. PASCUAL, 1983. Efecto de cuatro algas marinas sobre el crecimiento poblacional de dos cepas de Brachionus plicatilis (ROTIFERA: Brachionidae) en cultivo. *Inv. Pesq.* 47:325-337.
- 53 YÚFERA, M., A. RODRIGUEZ, L.M. LUBIÁN, 1984. Zooplankton Ingestion and Feeding Behavior of Penaeus Kerathurus Larvae Reared in the Laboratory. *Aquaculture* 42:217-224.

A N E X O S

TABELA 1

CARACTERIZAÇÃO DOS TRATAMENTOS USADOS NOS
EXPERIMENTOS DO PRESENTE TRABALHO

TRATAMENTO	TAXA DE DI- LUIÇÃO (/d)	VOLUME RETIRADO DIARIAMENTE (%)	TEMPO DE RETENÇÃO	TIPO DE CULTURA
1	0	-	Integral	Intermitente
2	0,1	10	10	Contínua
3	0,2	20	5	Contínua
4	0,4	40	2,5	Contínua

TABELA 2

VARIAÇÃO DIÁRIA DE TEMPERATURA VERIFICADA
NO INTERIOR DAS CULTURAS DO EXPERIMENTO C

DIA	TEMPERATURA (°C)		
	08:00	14:00	VARIAÇÃO
29/07	25,5	30,2	4,7
30/07	29,4	24,5	4,9
31/07	28,8	26,0	2,8
01/08	28,5	26,5	2,0
02/08	29,0	27,0	2,0
03/08	29,0	26,0	3,0
03/08	24,8	29,0	4,2
05/08	27,5	29,5	2,0
06/08	25,2	29,0	3,8
07/08	25,4	29,5	4,1
08/08	29,5	26,5	3,7

TABELA 3

COEFICIENTES DE VARIAÇÃO (C.V.) OBTIDOS EM AMOSTRAS COM NÚMERO CRESCENTE DE ELEMENTOS, A PARTIR DAS DENSIDADES POPULACIONAIS MÉDIAS OBTIDAS EM 6 DIAS DE CULTIVO EM 8 REPETIÇÕES DE UM ÚNICO TRATAMENTO, $D = 0,1 \cdot d^{-1}$ (VEJA MATERIAIS E MÉTODOS).

ÍNDICE	NÚMERO DE ELEMENTOS NAS AMOSTRAS						OBS.
	3	4	5	6	7	8	
C.V. 1,0	24,97	26,85	26,20	26,20	25,64	28,27	- 10 repetições - c/médias repet.
C.V. 1,1	41,13	29,11	31,61	22,57	17,52	-	- C.V. interno da amostra
C.V. 2,0	27,80	30,91	27,98	28,49	28,22	28,27	- 8 repetições - s/médias repet.
C.V. 2,1	20,80	19,37	14,58	7,03	6,83	-	- C.V. interno da amostra

TABELA 4

EVOLUÇÃO NO TEMPO DO C.V. MÉDIO DE 8 REPETIÇÕES DE UM ÚNICO TRATAMENTO, $D = 0,1 \cdot d^{-1}$ (VEJA MATERIAIS E MÉTODOS)

ÍNDICE	DIA					
	01	02	03	04	05	06
C.V.	18,47	27,00	23,03	55,10	41,82	51,84

FIGURA 1
UM ROTÍFERO BRACHIONÍDEO
(SEGUNDO BARNES, 1984)

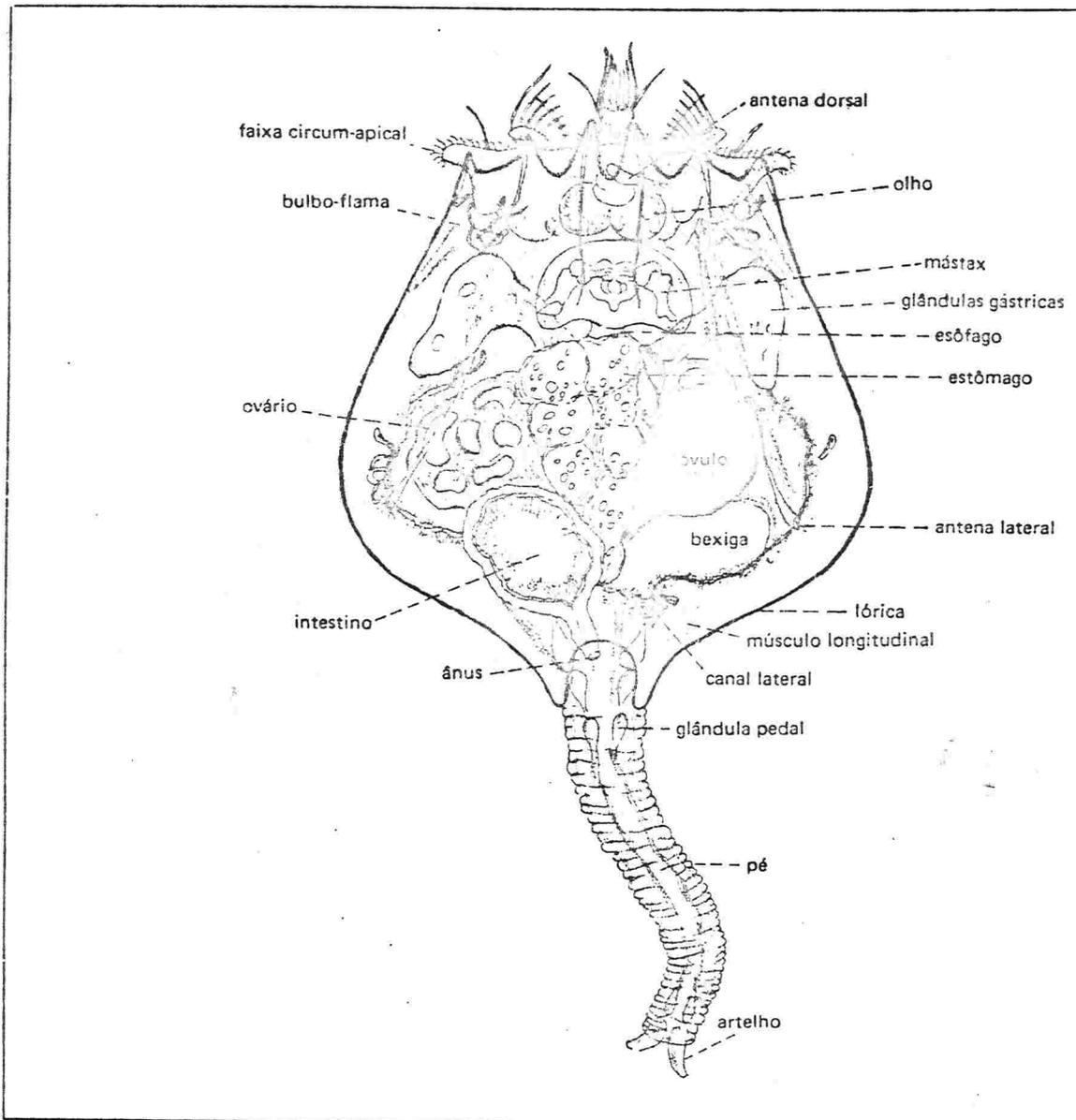


FIGURA 2

TRÊS TIPOS DE TROFOS DO MÃSTAX. A, MÃSTAX COM TROFOS ADAPTADOS PARA TRITURAR. NOTE AS DUAS GRANDES PLACAS COM CRISTAS QUE FORNECEM AS SUPERFÍCIES DE TRITURAÇÃO. B, MÃSTAX COM TROFOS ADAPTADOS PARA AGARRAR. C, MÃSTAX DE SYNCHAETA COM TROFOS AGARRADORES EM FORMA DE PINÇAS. (SEGUNDO BARNES, 1984).

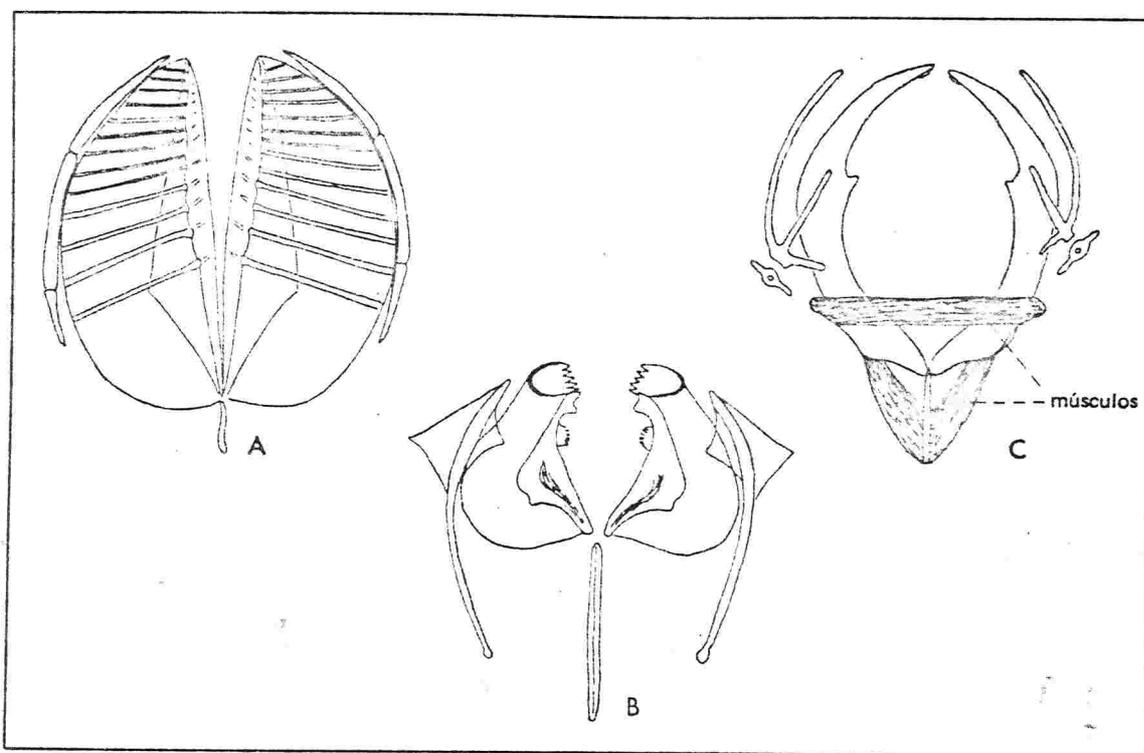


FIGURA 3

CICLO DE VIDA DE ROTÍFEROS MONOGONONTES (DE BIRKY, C.W., 1964; J. EXP. ZOOL., 155:273-292; CIT. POR BARNES, 1984).

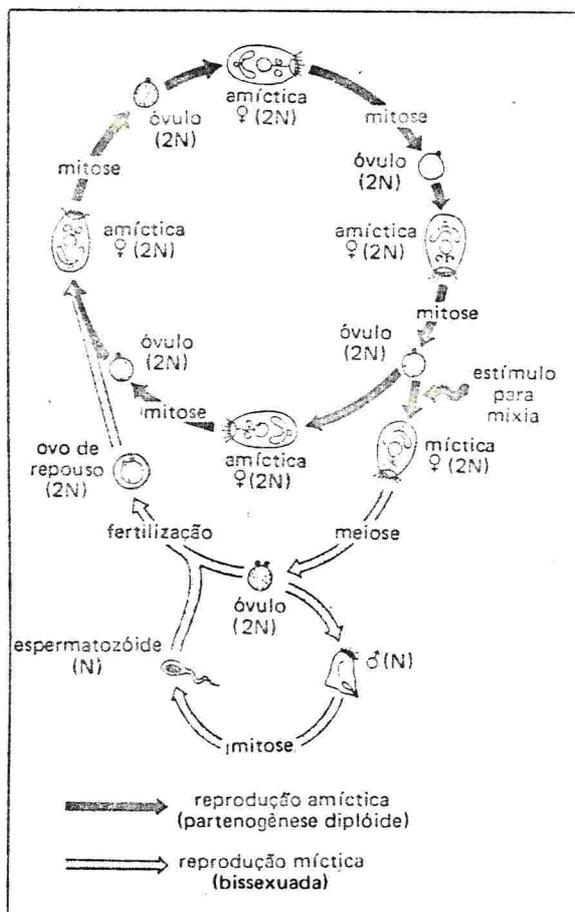


FIGURA 4

DESENHO ESQUEMÁTICO DO SISTEMA USADO PARA CONTROLE DA TEMPERATURA NOS EXPERIMENTOS B e C.

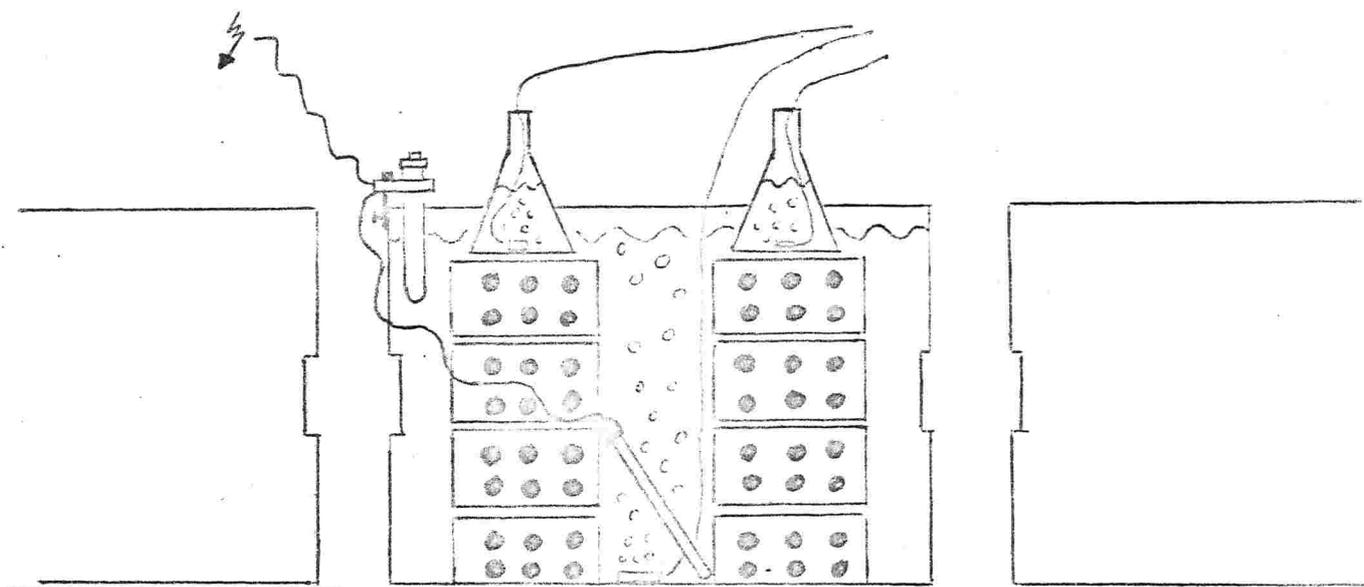


FIGURA 5

EVOLUÇÃO NO TEMPO DA BIOMASSA PRESENTE NAS CULTURAS (EXPRESSA EM $g \cdot l^{-1}$ DE MATÉRIA SECA), SOB DIFERENTES TAXAS DE DILUIÇÃO? DURANTE O EXPERIMENTO B.

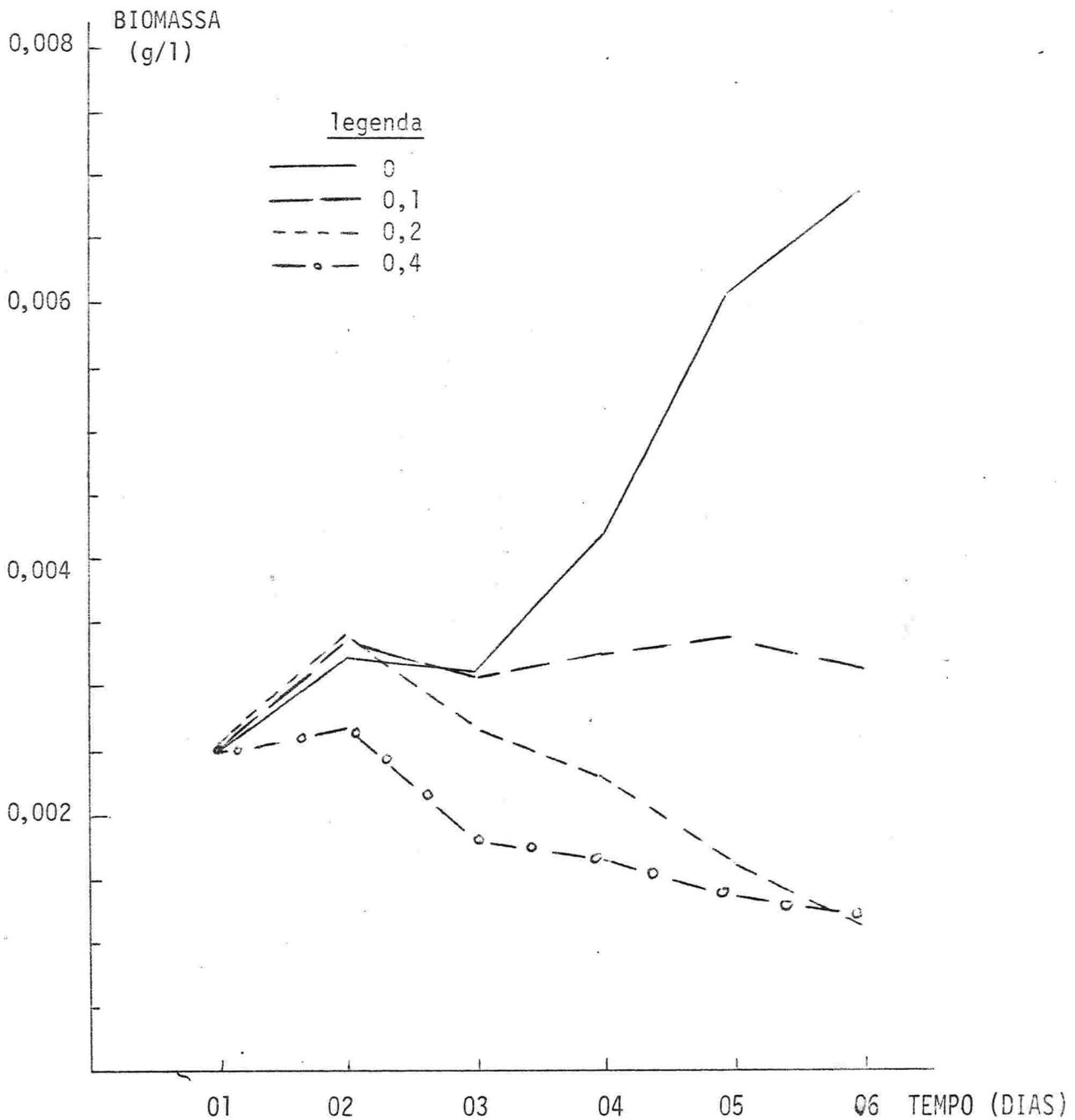


FIGURA 6

EVOLUÇÃO NO TEMPO DA BIOMASSA PRESENTE NAS CULTURAS (EXPRESSA EM $g \cdot l^{-1}$ DE MATÉRIA SECA), SOB DIFERENTES TAXAS DE DILUIÇÃO, DURANTE O EXPERIMENTO C.

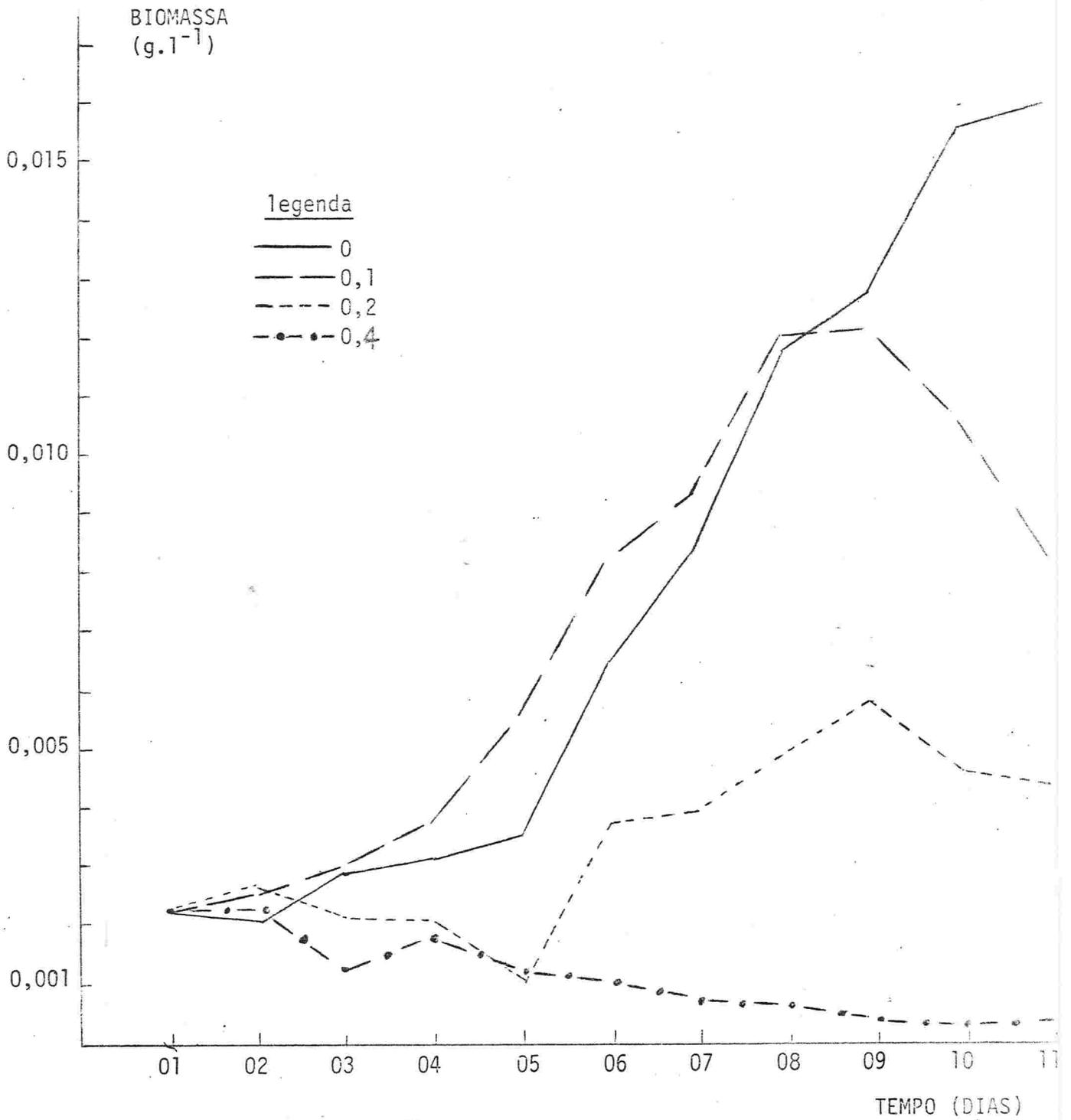


FIGURA 7

BIOMASSA MÉDIA (+ d.p.) DE B. PLICATILIS ALIMENTADO COM FERMENTO DE PÃO EM CULTURAS CONTÍNUAS, SOB DIFERENTES TAXAS DE DILUIÇÃO, EXPRESSA EM g. DE MATÉRIA SECA . 1⁻¹., EM DOIS NÍVEIS DE TEMPERATURA.

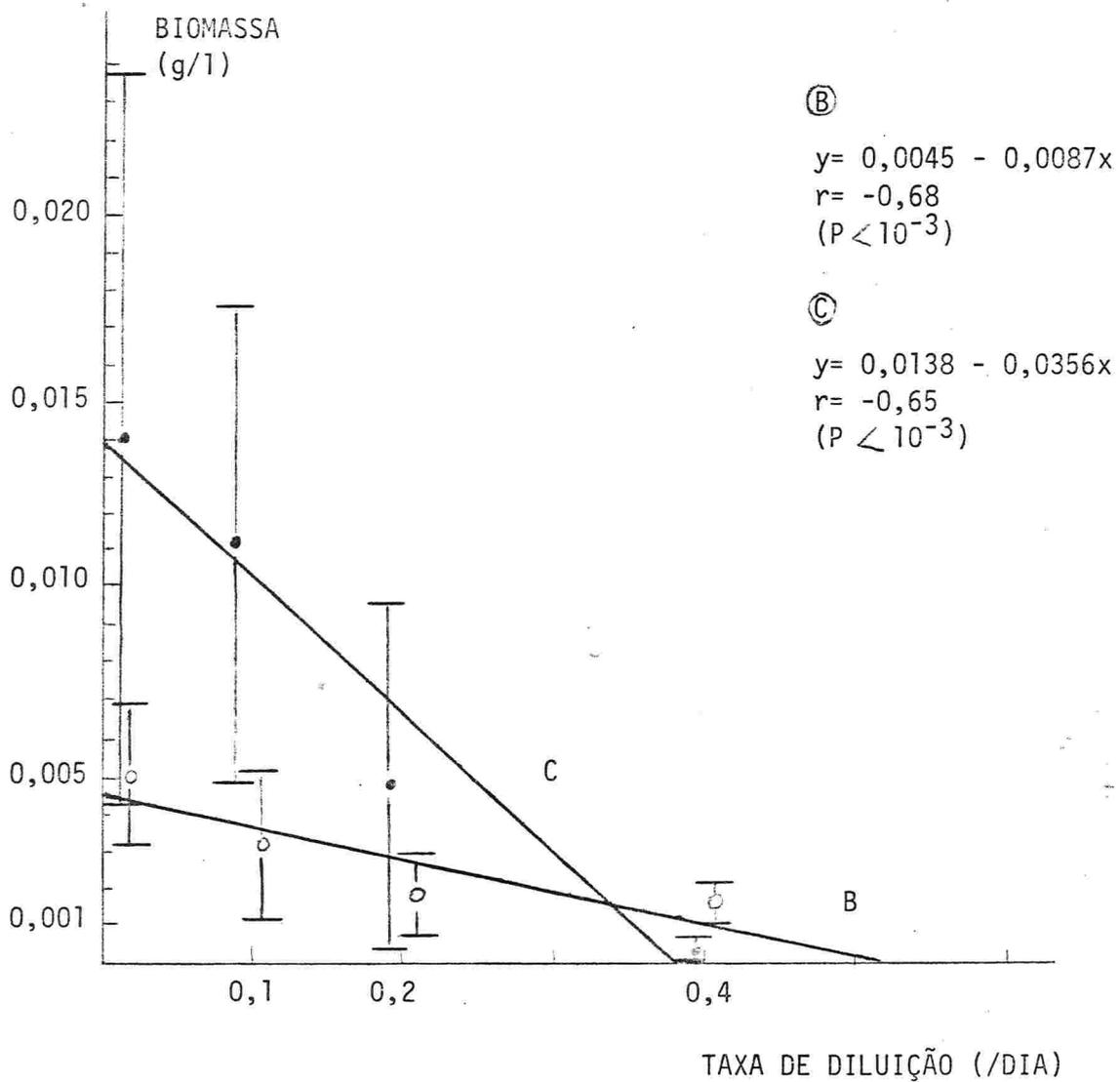


FIGURA 8

A EFICIÊNCIA DE CRESCIMENTO (+ d.p) DE B. PLICATILIS ALIMENTADO COM FERMENTO DE PÃO, EM CULTURAS CONTÍNUAS, SOB DIFERENTES TAXAS DE DILUIÇÃO, EXPRESSA COMO PORCENTAGEM DA MATÉRIA SECA DO FERMENTO OFERTADO ÀS CULTURAS, EM DOIS NÍVEIS DE TEMPERATURA.

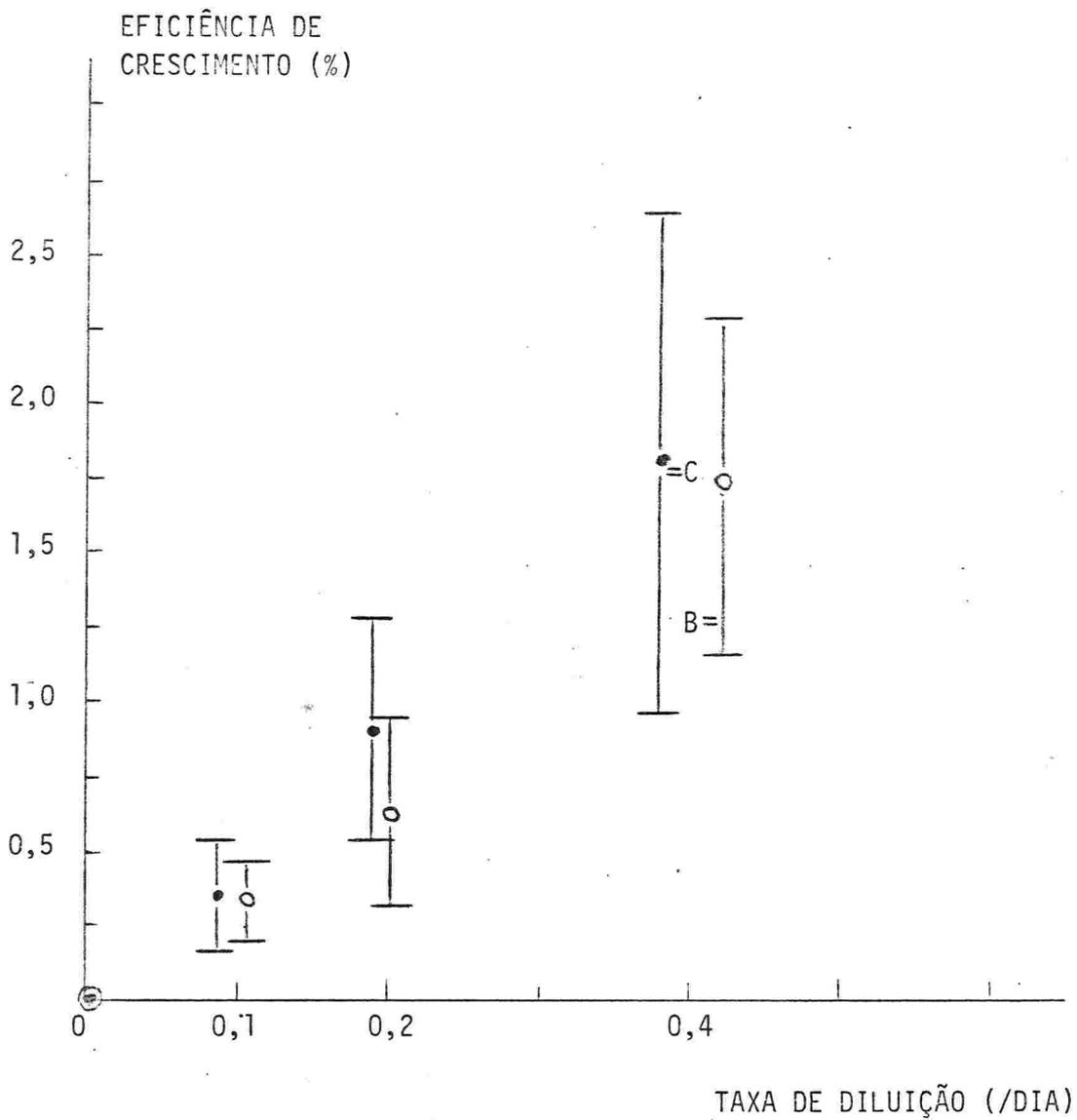


FIGURA 9

A PRODUÇÃO MÉDIA DE *B. PLICATILIS* (+ d.p), ALIMENTADO COM FERMENTO DE PÃO, EXPRESSA EM g DE MATÉRIA SECA . l⁻¹, DE CULTURAS CONTÍNUAS SOB DIFERENTES TAXAS DE DILUIÇÃO, EM DOIS NÍVEIS DE TEMPERATURA. AS PRODUÇÕES ESTIMADAS (LINHAS DESTACADAS) FORAM CALCULADAS A PARTIR DAS EQUAÇÕES DA FIGURA 7.

