ISSN 2318-1400 Junho/2023



Aspectos metodológicos da experimentação com larvas de peixes de água doce



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Pesca e Aquicultura Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

DOCUMENTOS 54

Aspectos metodológicos da experimentação com larvas de peixes de água doce

Ana Paula Oeda Rodrigues Thyssia Bomfim Araújo da Silva Flávio Augusto Leão da Fonseca

Embrapa Pesca e Aquicultura
Palmas, TO
2023

Embrapa Pesca e Aquicultura

Avenida NS 10, Loteamento Água Fria, Palmas, TO, Caixa Postal nº 90, CEP 77008-900,Palmas, TO Fone: (63) 3229-7800

Fax: (63) 7800 www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações da Unidade Responsável

Presidente

Roberto Manolio Valladão Flores

Secretário-Executivo Diego Neves de Sousa

Membros

Alexandre Uhlmann, Clenio Araújo, Fabrício Pereira Rezende, Hellen Christina de Almeida Kato, Jefferson Christofoletti, Luciana Cristine Vasques Vilela, Luiz Eduardo Lima de Freitas.

Supervisão editorial Luiz Eduardo Lima de Freitas

Revisão de texto Clenio Araújo

Normalização bibliográfica Andréa Liliane Pereira da Silva

Tratamento das ilustrações Jonatham Cleimes

Projeto gráfico da coleção Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica Jonatham Cleimes

Foto da capa Thyssia Bomfim Araújo da Silva

1ª edição

Publicação Digital (2023): PDF

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Pesca e Aquicultura

Rodrigues, Ana Paula Oeda.

Aspectos metodológicos da experimentação com larvas de peixes de água doce / Ana Paula Oeda Rodrígues, Thyssia Bomfim Araújo da Silva, Flávio Augusto Leão da Fonseca - Palmas, TO: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2023.

PDF (43p.): il. - (Documentos / Embrapa Pesca e Aquicultura, ISSN 2318-1400;54.).

1. Alevino. 2. Peixe de água doce. 3. Experimentação. I. Silva, Thyssia Bomfim Araújo da. II. Fonseca, Flávio Augusto Leão da. III.

Andréa Liliane Pereira da Silva (CRB-2/1166)

CDD 639.32

Autores

Ana Paula Oeda Rodrigues

Engenheira agrônoma, Mestre em Aquicultura, Pesquisadora da Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas/TO.

Thyssia Bomfim Araújo da Silva

Engenheira de Pesca, Doutora em Aquicultura, Professora de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal do Amazonas, *Campus* Presidente Figueiredo/AM.

Flávio Augusto Leão da Fonseca

Biólogo, Doutor em Aquicultura, Professor de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal do Amazonas -*Campus* Zona Leste, Manaus/AM.

Apresentação

No Brasil, a larvicultura de peixes nativos é ainda realizada de forma bastante extensiva e com baixo controle da produção e de sua eficiência. Considerando que os peixes podem crescer até 300 vezes nessa fase e que quaisquer interferências no bom desenvolvimento podem ocasionar prejuízos significativos, fica evidente que o atual retrato da larvicultura de peixes nativos impacta negativamente o ciclo de produção e evidencia a necessidade de soluções tecnológicas para essa etapa tão importante da cadeia produtiva. Embora estudos na fase de larvicultura não envolvam alto custo de experimentação, como nas fases de engorda e terminação, essa etapa do ciclo produtivo ainda é relativamente pouco estudada em comparação com a fase juvenil, que concentra a maioria dos trabalhos de pesquisa. Quando consultamos a literatura técnico-científica disponível, observamos que as publicações com foco em larvicultura de peixes conduzidas no país, embora muito relevantes, se originam de uma pequena diversidade de grupos de pesquisa. Isso provavelmente se deve às dificuldades e particularidades de se trabalhar nessa fase de desenvolvimento. Com o objetivo de estimular mais pesquisas para essa fase do ciclo de produção, este documento consolida de forma simplificada os principais detalhes metodológicos e técnicas de experimentação em larvicultura, visando fortalecer o desenvolvimento da piscicultura de peixes nativos no Brasil.

Lícia Maria Lundstedt
Chefe de Pesquisa e Desenvolvimento

Sumário

Introdução	9
O que é uma larva ?	11
Estrutura e utensílios para experimentação	12
Transporte e povoamento de ensaios com larvas	16
Qualidade da água	20
Alimentação	21
Avaliação do desempenho	27
Considerações finais	28
Agradecimentos	29
Referências	41

Introdução

De 2014 a 2020, a piscicultura brasileira produziu de 476 mil a 552 miltoneladas (IBGE, 2022). Nesse período, a produção de tilápia cresceu aproximadamente 72%, enquanto a de tambagui, segunda principal espécie da piscicultura nacional, sofreu uma redução de 28% (IBGE, 2022). A disponibilidade de um pacote tecnológico mais desenvolvido, maior profissionalização do setor e aumento da demanda interna e das exportações justificam o aumento contínuo da produção de tilápias em detrimento da criação de peixes nativos (Pedroza-Filho et al., 2020a). No entanto, igualmente ao observado para a tilápia, é desejável que a produção de peixes nativos também se desenvolva de forma contínua, agregando valor à aquicultura nacional e garantindo maior diversificação de seus produtos. Apesar da abundância de espécies de peixes nativos com grande potencialaquícola e aceitação pelo mercado interno, a produção é prejudicada por limitações tecnológicas, entraves burocráticos e dificuldades na comercialização (Associação Brasileira da Piscicultura, 2022). Dentre as diversas limitações tecnológicas que dificultam o desenvolvimento da cadeia produtiva de peixes nativos, a produção de formas jovens com qualidade zootécnica e custo competitivo constitui um dos grandes fatores limitantes (Pedroza-Filho et al., 2020b). No Brasil, a larvicultura de peixes nativos é conduzida majoritariamente de forma extensiva, com estocagem direta das larvas logo nos primeiros dias de vida, após a abertura da boca e absorção do saco vitelínico, em viveiros previamente adubados, sem que seja possível fazer o controle absoluto dos diversos fatores que podem prejudicar o desenvolvimento e o aproveitamento do potencial produtivo dos animais. Nesse sistema, as larvas, ainda em uma fase muito inicial de desenvolvimento, são submetidas às condições naturais do ambiente, como variações nos parâmetros de qualidade de água e na disponibilidade de alimento, além da presença de predadores (Jomori et al., 2003). Em complemento, o período de reprodução da maioria das espécies nativas ocorre na estação chuvosa, quando sequências de dias nublados são comuns e prejudicam a produtividade primária e níveis adequados de oxigênio dissolvido em viveiros escavados. Adicionalmente, muitos produtores não fazem o devido controle da origem genética das matrizes destinadas à reprodução, o que facilita a ocorrência de endogamia e ocasiona perdas na qualidade dos juvenis produzidos e na eficiência produtiva do sistema. Considerando que durante

a larvicultura os animais podem crescer até 300 vezes e que quaisquer interferências no bom desenvolvimento podem ocasionar prejuízos acentuados, fica evidente que todos esses fatores, que atualmente caracterizam a larvicultura de peixes nativos no Brasil, impactam negativamente o ciclo de produção e demonstram a necessidade de soluções tecnológicas para essa etapa tão importante da cadeia produtiva.

Embora estudos na fase de larvicultura não envolvam alto custo de experimentação, como nas fases de engorda e terminação, essa etapa do ciclo produtivo ainda é relativamente pouco estudada em comparação com a fase juvenil, que concentra a maioria dos trabalhos de pesquisa. Quando observamos a autoria das principais publicações com larvas de peixe conduzidas no país, verifica-se que originam de uma pequena diversidade de grupos de pesquisa. Isso provavelmente se deve às dificuldades e particularidades de se trabalhar nessa fase de desenvolvimento, que envolve uma rotina intensa de trabalho desde a aclimatação até a manutenção da sobrevivência das larvas durante todo o experimento. Isso inclui a necessidade de limpezas frequentes das unidades experimentais, rígida manutenção da qualidade de água em níveis adequados, contagem e biometria de um número significativo de organismos milimétricos e frágeis, além da necessidade de produção de alimento vivo e ausência de protocolos de alimentação estabelecidos.

Considerando que muitas particularidades da experimentação com larvas depeixe são pouco conhecidas ou estabelecidas em grupos de pesquisa que trabalham com aquicultura, mas não com essa fase de desenvolvimento, e visando estimular mais pesquisas nessa fase, este trabalho teve por objetivo consolidar de forma simplificada os principais detalhes metodológicos em ensaios com larvas. Começamos o documento explicando primeiramente as terminologias específicas da fase larval e como elas afetam a condução de ensaios. Na sequência, apresentamos estruturas e utensílios utilizados para experimentação e aspectos importantes do manejo de larvas. Por fim, descrevemos algumas das principais variáveis comumente utilizadas em experimentação com larvas.

Esta publicação possui aderência à meta 15.1 do ODS Vida Terrestre que prevê até 2030, assegurar a conservação dos ecossistemas aquáticos e de sua biodiversidade.

O que é uma larva?

É importante, primeiramente, conceituarmos o que é uma larva para a comunidade científica, já que existem divergências entre a nomenclatura técnica eaquela comumente utilizada pelo setor produtivo¹. A terminologia proposta por Kendall e colaboradores em 1984 é a mais empregada no meio científico. Nela, a fase larval se inicia assim que o animal sai do ovo (eclosão da larva) e termina quando a larva adquire características morfológicas que se assemelham às de um peixe adulto: nadadeiras e raios das nadadeiras formados, com diferenças apenas nos padrões de pigmentação. O final da fase larval é delimitado por um período de transição para a fase juvenil, em que ocorrem maior pigmentação do peixe, alterações no formato corporal que o aproximam de caracteres de um juvenil-adulto, completa formação dos raios das nadadeiras e formação de escamas (no caso de peixes de escama). Ao final dessa fase de transição, o peixe é considerado juvenil.

Dessa forma, a fase larval concentra uma quantidade significativa de alterações morfológicas da vida do peixe que, na prática, precisam ser consideradas na condução de estudos com larvas. Ainda nesse sentido, existem dois padrões de desenvolvimento das larvas - direto e indireto - que classificam as larvas em precoces e altriciais, respectivamente. As larvas precoces, como o salmão-do-Atlântico (*Salmo salar*), a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), iniciam a alimentação exógena com sistema digestório diferenciado e semelhante ao de um peixe adulto (enzimas digestivas ativas e órgãos completamente formados), podendo geralmente receber alimentos inertes desde a primeira alimentação (Portella et al., 2012). Já as larvas altriciais eclodem pouco desenvolvidas, com olhos não pigmentados, sem brânquias, sem ossificação e raios nas nadadeiras, transparentes e com nadadeiras pélvicas e peitorais ausentes. Elas iniciam a alimentação

¹De forma geral, para o setor produtivo, a fase larval compreende desde a eclosão da larva até o início da alimentação exógena. Do início da alimentação exógena até o surgimento das nadadeiras peitoral, ventral e anal, o peixe é nomeado pós-larva e, quando a metamorfose já está completa, alevino (Zaniboni-Filho, 2000).

exógena após abertura da boca e do ânus, pigmentação dos olhos e inicial das nadadeiras peitorais e com o trato digestório incompleto/indiferenciado, embora funcional, dependendo inicialmente do uso exclusivo de alimento vivo (Portella et al., 2012). A maioria das larvas de peixes nativos de água doce de interesse para a piscicultura nacional são altriciais e iniciam a primeira alimentação valendo-se de um resquício de reserva vitelínica (fase mixotrófica). que assegura uma nutrição complementar àquela advinda da alimentação exógena (Jaroszewska; Dabrowski, 2011).

Estruturas e utensílios para experimentação

Devido ao tamanho diminuto do peixe e à densidade de estocagem variável em função do objetivo do estudo, uma grande diversidade de estruturas é empregada como unidade experimental para larvas, principalmente em estudos em laboratório, tais como béqueres, garrafas PET, vasilhas plásticas, aquários e tanques de variados formatos. Com relação à renovação de água, os experimentos podem ser conduzidos com recirculação da água, mediante filtragens mecânicas e biológicas (sistema fechado), com renovação contínua da água (sistema aberto) ou com renovação parcial da água em determinado(s) horário(s) do dia (sistema estático). O uso de aquecedores² e aeradores para a manutenção da temperatura e oxigênio em níveis adequados é imprescindível na maioria dos ensaios em laboratórios, assim como o emprego de limpezas periódicas nas unidades experimentais. Independente da estrutura inicial aplicada em determinado ensaio, o ideal é que seus resultados sejam posteriormente validados em estruturas que se aproximam da realidade de sistemas produtivos comerciais ou mesmo em parceria com o setor produtivo, aplicando-se densidades de estocagem mais elevadas, unidadesexperimentais maiores e mais suscetíveis a interferências abióticas, além de análiseseconômicas (Fracalossi et al., 2012).

Em unidades experimentais a campo, como viveiros escavados, é importante o seu devido preparo, que passa pela desinfecção e eliminação de organismos que possam predar ou transmitir doenças às larvas, calagem do solo

O uso de aquecedor no mesmo ambiente das larvas pode atrai-las em direção ao mesmo e ocasionar perdas das larvas. Nesse caso, indica-se aquecer a água em outro local e efetuar a reposição.

e fertilização da água de produção, a fim de assegurar a produção primária necessária para a alimentação e nutrição larval. Esse preparo é fundamental para a eliminação de ninfas de Odonata (predadoras eficientes de larvas de peixes) já existentes nos viveiros. Em adição, é importante povoar os viveiros com as larvas em até três a quatro dias após a fertilização, minimizando o encontro das larvas com novas ninfas de Odonata. O uso de telas antipássaros de malha pequena (15 mm) é imprescindível para reduzir a predação por pássaros e minimizar a deposição de ovos de Odonata na superfície da água, assim como o uso de telas de proteção na entrada de água dos viveiros, a fim de minimizar a entrada de predadores. O emprego de telas de proteção na saída dos viveiros também é importante para evitar a fuga de larvas pelo dreno.

Nas Figuras 1 e 2, ilustramos as principais estruturas e utensílios utilizados em experimentação em laboratório e a campo, bem como detalhes importantes a serem observados

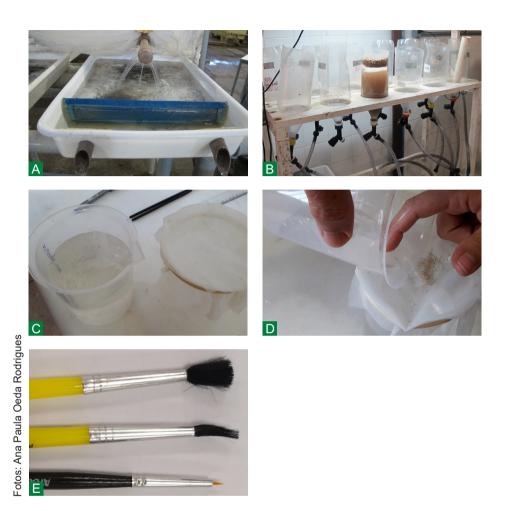


Figura 1. Estruturas e materiais para experimentação em laboratório. (A) Bandeja retangular em polipropileno adaptada para experimentação com larvas. (B) Estrutura para produção de alimento vivo em garrafas PET. (C; D) Adaptação com tecido do tipo organza para concentração de larvas. (E) Pincéis para manipulação das larvas, com desbaste das cerdas do pincel original à esquerda para adaptá-lo ao manuseio de larvas (pincel do meio).



Figura 2. Estruturas para experimentação a campo. (A) Viveiros escavados com paredes de concreto, fundo de terra e cobertura com tela antipássaros, passando pelo processo de secagem e desinfecção com cal hidratada. (B) Viveiros parcialmente cheios, com tela de proteção na tubulação de entrada e saída de água. (C, D, E) Adulto de Odonata tentando passar pela tela antipássaros; ninfas de Odonata capturadas em um viveiro povoado com larvas de tambaqui; juvenis de tambaqui predados por ninfas de Odonata.

Continua...

Figura 2. Continuação.







Figura 2 (F) Hapas para larvicultura e reversão sexual de tilápia. (G) Viveiros escavados de terra de 300 m² de área superficial em tamanho padronizado e quantidade para experimentação (destaque amarelo).

Transporte e povoamento de ensaios com larvas

As larvas podem ser produzidas na própria instituição de pesquisa, havendo condições para a realização da reprodução, ou podem ser adquiridas de pisciculturas comerciais. Neste último caso, é importante conhecer o fornecedor, se o mesmo faz controle do seu plantel e dos acasalamentos, a fim de evitar consanguinidade e os prejuízos que esta pode acarretar sobre o desempenho das larvas e dos juvenis, além de cruzamentos interespecíficos. As qualidades da água e das matrizes utilizadas na reprodução (principalmente o estado nutricional das mesmas) são outros fatores determinantes para o sucesso da produção de formas jovens com qualidade e que produzam resultados satisfatórios para a produção. Adicionalmente, é importante transportar as larvas em condições que assegurem adequada sobrevivência e manutenção da integridade física do animal, haja vista sua fragilidade nesta fase.

O transporte de larvas é geralmente realizado em sacos plásticos, na proporção 1:4 ou 1:3 (volume de água em relação ao volume total do saco após injeção de gás oxigênio). A sobrevivência após o transporte varia, de forma geral, em função dos seguintes fatores relatados por Silva (2015):

- (i) idade da larva: quanto mais jovem, maior o cuidado durante a manipulação antes e após o transporte e menor a atividade motora, o que pode ocasionar sedimentação das larvas umas sobre as outras e gerar dificuldade para realização de trocas gasosas. A presença de reserva vitelínica pode ser vantajosa para a sobrevivência da larva em longos tempos de transporte. Além disso, é desejável que as larvas possuam autonomia de natação, sendorecomendado que o transporte aconteça quando elas já têm a bexiga natatória insuflada.
- (ii) Densidade de estocagem: afeta a sobrevivência e varia principalmente em função da temperatura e da duração do transporte. De forma geral, quanto maior a densidade de estocagem, maior a mortalidade.
- (iii) Temperatura da água durante o transporte: temperaturas mais baixas favorecem maior solubilidade do oxigênio na água e menor concentração de dióxido de carbono e amônia tóxica na água. Adicionalmente, reduzem a atividade metabólica das larvas. No entanto, deve-se considerar o intervalo de temperatura ideal de cada espécie.
- (iv) Tempo de transporte: de forma geral, tempos de transporte muito longos podem favorecer uma maior mortalidade das larvas. Devido à escassez de informações na literatura sobre transporte de larvas, uma alternativa é se informar com o fornecedor sobre a experiência do mesmo em transportes longos, idade da larva e densidades de estocagem.

Além do transporte propriamente dito, a aclimatação das larvas no ambiente de destino é outro fator decisivo para sua sobrevivência, devendo-se seguir as mesmas recomendações indicadas para peixes juvenis (Lima et al., 2015). Adicionalmente, é importante que os parâmetros de qualidade de água este-

jam adequados aos exigidos pela espécie de peixe em questão. A Figura 3 apresenta o preparo de larvas de tambaqui para o transporte e sua aclimatação no destino final.

O método mais adequado para o povoamento ou a distribuição das larvas nas unidades experimentais é a contagem manual de cada larva que será utilizada no ensaio. Embora possa ser necessário em experimentos a campo, que envolvem a contagem de um número muito elevado de larvas, o método de contagem volumétrico³ incide em maior erro de contagem, o que pode prejudicar um índice muito importante em trabalhos de larvicultura que é a sobrevivência. Para a contagem manual de larvas em fases muito iniciais, é importante que os olhos já estejam pigmentados e, dessa forma, exercendo algum contraste em relação ao restante do corpo transparente da larva, o que permite sua visualização e contagem (Figura 4). No Anexo I, apresentamos







Figura 3. Preparo de larvas de tambaqui para o transporte e a aclimatação no destino final. (A) Captura das larvas da incubadora. (B).

Continua...

³ Neste método, as larvas são amostradas em um volume conhecido e contadas manualmente. A amostragem é feita, pelo menos, três vezes. A partir dessas contagens, é calculada uma média que irá resultar na estimativa do número de larvas em um determinado volume. Essa estimativa por volume é aplicada para o povoamento e a distribuição das larvas nas unidades experimentais.

Figura 3. Continuação.



(C) Concentração das larvas da incubadora em balde de concentração (malha de 250 μm). (D) Alocação das larvas em sacos plásticos. (E) Saco plástico fechado após injeção de gás oxigênio para transporte. (F) Início do processo de aclimatação das larvas após o transporte: manutenção dos sacos por 5-10 min sobre a superfície da água; abertura dos sacos e adição gradual da água de destino; soltura das larvas. (G) Larvas recém-aclimatadas, com fluxo de água e aeração ajustados de forma a proporcionar renovação da água e movimentação suave das larvas.





Figura 4. Larvas de tambaqui *(Colossoma macropomum)* com quatro dias após a eclosão. Na bandeja (A), larvas separadas para contagem manual. No detalhe (B), em estereomicroscópio, observam-se olhos já pigmentados, saco vitelínico presente e bexiga natatória insuflada.

o procedimento de contagem manual de larvas para fins de povoamento em experimentação.

Qualidade da água

De forma geral, para os principais parâmetros de qualidade de água, as larvas necessitam de valores similares àqueles que são preconizados como adequados para a criação de peixes. Neste item, iremos listar alguns aspectos da qualidade de água que são especialmente importantes na fase larval:

- (i) Em condições laboratoriais, as larvas ficam mais suscetíveis a choques mecânicos decorrentes de elevado fluxo de água de entrada e aeração intensa. Esses choques podem ocasionar deformidades esqueléticas que só serão visualizadas após a metamorfose, na fase juvenil, e/ou prejudicar o acesso da larva ao alimento. Recomenda-se ajustar o fluxo de água e a intensidade da aeração de forma a promover a troca e oxigenação da água, sem, no entanto, comprometer o movimento natural de natação das larvas.
- (ii) Variações nos parâmetros de qualidade de água podem ser mais prejudiciais às larvas do que em peixes juvenis, seja em laboratório ou a campo.

- (iii) Caso a fonte de água de abastecimento seja de poço artesiano, é possível que apresente gases que acidificam a água e que podem ocasionar prejuízo à sobrevivência larval, como o gás carbônico. Nesse caso, é importante que a água passe por um tratamento prévio ao abastecimento das unidades experimentais, como represamento ou aeração prévia para a evaporação desses gases (Lima et al., 2015).
- (iv) Dependendo da espécie de peixe, a salinização da água durante o fornecimento de náuplios de artêmia pode ser benéfica à larva, resultando em maior crescimento e sobrevivência. Isso porque a salinização aumenta o tempo de vida dos náuplios de artêmia na água, assim como diminui o gasto energético para manutenção do metabolismo, beneficiando diretamente as larvas (Tabela 1).
- (v) Em condições laboratoriais, a limpeza das unidades experimentais é fundamental, haja vista que na fase larval o fornecimento de alimento vivo ou inerte é feito em grandes quantidades e altas frequências para assegurar adequada nutrição larval e o excesso de matéria orgânica na água pode favorecer a ocorrência de doenças, além de problemas na qualidade da água.

Alimentação

Conforme visto anteriormente, a maioria das larvas de peixes nativos produzidos no Brasil é altricial, iniciando a alimentação exógena com o trato digestório ainda não completamente diferenciado. Para esse tipo de larva, o uso do alimento vivo no início da fase exógena é condição essencial e resulta em maiores taxas de crescimento, sobrevivência e qualidade larval (Portella et al., 2012). Isso porque o alimento vivo concentra uma série de fatores primordiais à primeira alimentação, como: i) disponibilidade de nutrientes e energia em uma matriz altamente aquosa que facilita a digestão e a absorção pelo sistema digestório rudimentar da larva; ii) dispersão de substâncias atrativas e alta palatabilidade, que estimulam sua detecção, captura e ingestão; iii) movimentação aliada ao próprio contraste do alimento vivo que oferecem estímulo visual e tátil para sua detecção e captura pela larva (Portella et al., 2012). Posteriormente, com uma maior diferenciação do trato digestório, em

especial do estômago (presença de glândulas gástricas e pregas na mucosa), é iniciada a transição alimentar gradual do alimento vivo para o alimento inerte (coalimentação).

O principal alimento vivo utilizado em estudos com larvas de peixe é o náuplio da artêmia (*Artemia* spp.) devido à facilidade de aquisição, produção e manipulação (Øie et al., 2011). Conforme revisado por Sorgeloos et al. (2001), é importante o estabelecimento de condições adequadas para a eficiência de incubação dos cistos de artêmia, como temperatura entre 25 e 28 °C, salinidade de 15-35 ppt, pH acima de 8, densidade de cisto máxima de 2 g/L, níveis de oxigênio próximos da saturação e iluminação de 2.000 lux. Essas condições geralmente são encontradas no rótulo do produto e é recomendável sempre adaptar o protocolo de incubação de acordo com as instruções do fabricante. No Anexo II, é apresentado um protocolo de incubação de cistos de artêmia.

Nos últimos anos, com avanços na tecnologia de processamento de rações efusão de indústrias/marcas de rações de organismos aquáticos por grupos gigantes do ramo de insumos, a oferta de rações mais específicas para larvas de peixes e camarões foi facilitada. A ração em pó farelada deixou de ser a única opção (e, preferencialmente, não deve ser utilizada) para alimentação de larvas e recém-juvenis com o surgimento primeiramente de rações microextrusadas de 0,8, 1 e 1,5 mm. Mais recentemente, a disponibilidade de dietas a partir de 50 µm, ainda que importadas, possibilita o uso de alimentos mais adequados ao tamanho da boca das larvas e fisicamente mais estáveis, garantindo uma boa nutrição e manutenção da qualidade da água (Figura 5). A combinação das técnicas de elaboração de rações, como, por exemplo, a microextrusão e o tamanho dos péletes, permite melhor absorção do alimento, pois disponibiliza de forma mais eficiente os nutrientes em condições de melhor ingestão.

Na Tabela 1, resumimos dados sobre o início da alimentação exógena e sobre a transição alimentar de algumas das principais larvas de peixe de água doce produzidas no Brasil.

Tabela 1, Início da alimentação exógena e protocolos de transição alimentar de larvas de algumas espécies de peixe nativos.

Espécie de peixe	Alimentação
Pirarucu (Arapaima gigas)	Alimentação exógena: a partir do 6º DAE (T 30°C) (Ruiz-Tafur et al., 2017). Alimento inicial: zooplâncton vivo, zooplâncton congelado e náuplios de artêmia (Cavero et al., 2003; Lima et al., 2021). Ração: microextrusada, com 45% de proteína bruta e 0,8 a 1,0 mm de granulometria. Transição alimentar¹: - Peixes de 5 cm de comprimento total, alimentados seis vezes ao dia (8, 10, 12, 14, 16, 18 h) (T 26 °C): do 1º ao 3º dia, alimentação exclusiva com náuplios de artêmia ou zooplâncton; do 4º ao 6º dia, coalimentação progressiva com ração nas proporções de 1, 2 e 3% da biomassa de peixe; 7º ao 9º dia alimentação exclusiva com ração até a saciedade aparente (Cavero et al., 2003). - Peixes com 13 cm de comprimento total, alimentados quatro vezes ao dia (8,5, 11, 13,5, 17 h) (T 27,6 °C): substituição gradual do zooplâncton vivo ou congelado por ração microextrusada, a cada três dias, nas proporções de 0, 20, 40, 60, 80 e 100% (Lima et al., 2021). Salinização durante o fornecimento de náuplios de artêmia: 4 g/L, resultando em aumento de 7 vezes no tempo de vida dos náuplios e melhora no desempenho dos peixes (Araújo-Silva et al., 2019).

Continuação...

Continua.

Espécie de peixe	Alimentação
Tambaqui (Colossoma macropomum)	Alimentação exógena: a partir do 6º DAE (T 29,6 °C) (Araújo-Dairiki, 2016). Alimento inicial: zooplâncton vivo e náuplios de artêmia (Araújo-Dairiki, 2016; Gomes et al., 2020). Ração: triturada ou microextrusada, com 45-50% de proteína bruta e 0,2 a 0,5 mm de granulometria. Transição alimentar: - Alimentação seis vezes ao dia (7, 10, 13, 16, 19, 22 h) (T 29,6 °C): do 6º ao 17º DAE, alimentação exclusiva com náuplios de artêmia; do 18º ao 20º DAE, substituição gradual dos náuplios por ração microextrusada nas proporções de 25, 50 e 75% (Araújo-Dairiki, 2016). Salinização durante o fornecimento de náuplios de artêmia: larvas de tambaqui mostraram maiores sobrevivências tanto em água doce (não salinizada) quando com salinização de 2 g/L (Jomori et al., 2013).
Matrinxã (Brycon amazonicus)	Alimentação exógena: a partir de 29 HAE (T 30 °C) (Neumann et al., 2020). Alimento inicial: larvas de piau (<i>Leporinus piau</i>), cladóceras; larvas de pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) e curimbatá (<i>Prochilodus</i> sp.) (de Barros et al., 2019; Gomes et al., 2020; Neumann et al.,2020). Ração: triturada ou microextrusada, com 40% de proteína bruta. Transição alimentar: - Neumann et al. (2020) sugerem que seja feita entre o 10° e o 17° DAE, quando a espécie apresenta diferenciação completa do trato digestório, com estômago funcional e presença de cecos pilóricos Conforme revisado por Urbinati et al. (2020), devido à alta incidência de canibalismo na espécie, maiores taxas de sobrevivência são obtidas quando são ofertadas larvas de peixes como alimento inicial. Salinização durante o fornecimento de náuplios de artêmia: 2 g/L, resultando em maior sobrevivência para a espécie (Jomori et al., 2013).

Continua.

Espécie de peixe	Alimentação	
Pacu (Piaractus mesopotamicus)	Alimentação exógena: a partir do 4º DAE (T 29 °C) (Leitão et al., 2011) ou do 5º DAE (T 29 °C) (Jomori et al., 2003). Alimento inicial: náuplios de artêmia; zooplâncton vivo (Jomori et al. 2003; Freitas et al., 2019). Ração: triturada ou microextrusada, com 40 a 57% de proteína bruta e 0,1 a 0,2 mm de granulometria. Transição alimentar: - Alimentação seis vezes ao dia (7, 10, 13, 16, 19 e 22h) (T 29,5 °C): do 5º ao 11º DAE, alimentação exclusivamente com náuplios de artêmia; do 12º ao 17º DAE, substituição gradual dos náuplios por ração microextrusada (Freitas et al., 2019). Salinização durante o fornecimento de náuplios de artêmia: 2 g/L, resultando em maior desempenho e sobrevivência para a espécie (Jomori et al., 2012).	
Dourado (Salminus brasiliensis)	Alimentação exógena: a partir de 24 HAE (T 26 °C) (Vega-Orellana et al., 2006); 30 a 54 HAE (T 27 °C) (Mai, 2009). Alimento inicial: larvas de curimba (<i>Prochilodus lineatus</i>), larvas de piau (<i>Leporinus obtusidens</i>) (Vega-Orellana et al., 2006; Mai, 2009). Ração: triturada ou microextrusada, com 51-59% de proteína bruta e 0,2 a 0,6 mm de granulometria. Transição alimentar: - A partir do 7º DAE da larva de dourado com oferta de ração 9 vezes ao dia, a cada 2 h (8-24 h), e coalimentação com larvas de curimba (24-48 HAE) durante os dois primeiros dias, uma vez ao dia (T 24 °C) (Vega-Orellana et al., 2006).	

Continuação...

Continua.

Espécie de peixe	Alimentação
Jundiá (Rhamdia quelen)	Alimentação exógena: a partir do 2º DAE (T 26 °C) (Silveira et al., 2013). Alimento inicial: náuplios de artêmia, ração triturada/microextrusada, com 40-45% de proteína bruta e 0,1 a 0,2 mm de granulometria (Behr et al., 2000; Silveira et al., 2013). Transição alimentar: - Espécie pode iniciar a alimentação exógena diretamente com ração. No entanto, a suplementação da ração com náuplios de artêmia por sete dias resulta em maior sobrevivência larval (T 24 °C) (Behr et al., 2000).

DAE: dias após a eclosão; T: temperatura da água; HAE: horas após a eclosão.

¹ A transição alimentar do pirarucu descrita nos dois trabalhos citados foi realizada com o peixe já na fase juvenil. Isso é comum de ocorrer nas pisciculturas, já que a reprodução da espécie ocorre de forma natural nos viveiros e é detectada somente quando a nuvem de larvas ou juvenis é observada nadando na superfície dos viveiros. Os animais geralmente são capturados já na fase juvenil para a realização do treinamento alimentar em laboratório.

Avaliação do desempenho

A sobrevivência é um dos principais parâmetros quando se avalia a resposta zootécnica de larvas em experimentação. É igualmente importante em condições práticas de produção, já que irá refletir o potencial de larvas ou juvenis para comercialização de uma piscicultura e, consequentemente, os lucros daquela produção. Conforme mencionado no item 4, para uma adequada estimativa da sobrevivência, é necessária a contagem manual das larvas no povoamento da unidade experimental e no término do período que se deseja avaliar:

Sobrevivência (%) = (número de larvas final / número de larvas inicial) × 100

Além da sobrevivência, peso, comprimento, biomassa final, heterogeneidade de crescimento, fator de condição e frequência de distribuição de classes são variáveis comumente utilizadas para medir o desempenho das larvas. A avaliação biométrica pode ser feita com a larva: (i) ainda viva e anestesiada (in natura); (ii) eutanasiada e conservada em solução de formol 4% tamponado; (iii) eutanasiada e seca em estufa. A melhor opção deve ser avaliada pela equipe dependendo do número de larvas previsto para biometria4 e da disponibilidade da equipe para a realização das medidas no dia da avaliação, que, muitas vezes, coincide com outros manejos e coletas de materiais biológicos. O importante é manter a opção escolhida durante todas as biometrias do mesmo ensaio, evitando erros devido a possíveis variações na umidade das larvas. Para a pesagem da larva fixada ou seca, é necessário contabilizar a perda de água, caso o peso precise ser apresentado na base úmida. No Anexo III, exemplificamos como pode ser realizada a biometria em larvas. Cabe ressaltar que um maior crescimento pode ser resultante de uma baixa sobrevivência e uma alta sobrevivência pode ser acompanhada de um menor crescimento das larvas. Dessa forma, é fundamental a análise crítica do crescimento junto com a sobrevivência larval. Uma forma de avaliar essa relação é classificar as larvas em classes de tamanho para avaliar a frequência de distribuição por tamanho (Jomori et al., 2003).

⁴ Geralmente é amostrado 10% do lote de cada unidade experimental para fins de biometria.

A heterogeneidade de crescimento pode ser uma variável interessante caso o ensaio envolva o teste de tratamentos que possam influenciar a homogeneidade de crescimento das larvas. É calculada por meio do coeficiente de variação do peso e/ou comprimento das larvas de uma mesma unidade experimental:

Coeficiente de variação (%) = (desvio padrão / média) × 100

O consumo de alimento pelas larvas é uma tarefa difícil de se medir, assim como a coleta de fezes; rotinas comuns em ensaios de nutrição com peixes juvenis e que são utilizadas para avaliação da assimilação e do aproveitamento do alimento. Devido a essas limitações, o uso da técnica de isótopos estáveis (como δ^{13} C, δ^2 H e δ^{15} N) é bastante aplicado em estudos de alimentação com larvas de peixes devido à praticidade e à acurácia do método (Conceição et al., 2009). Por meio desta técnica, é possível avaliar a ingestão e a assimilação de determinado alimento pela larva, sendo uma importante ferramenta para o desenvolvimento de protocolos de alimentação e de dietas inertes para larvas (Jomori et al., 2008).

Considerações finais

A fase larval dos peixes é repleta de particularidades fisiológicas que a diferenciam das fases juvenil e adulta. Da mesma forma, a experimentação com larvas se distingue em muitos aspectos metodológicos das demais fases de vida dos peixes. Neste documento, foram apresentados alguns desses aspectos, bem como protocolos utilizados durante experimentação com larvas de peixes na Embrapa Pesca e Aquicultura. Algumas das recomendações aqui apresentadas podem ser aplicadas, com a devida adaptação, em larviculturas comerciais, como os cuidados durante aquisição, transporte, aclimatação e manutenção das larvas, início da alimentação exógena e protocolos de transição alimentar para as espécies de peixe destacadas, variáveis de desempenho da larvicultura e protocolo de incubação de cistos de artêmia e oferta de náuplios recém-eclodidos.

Agradecimentos

Este trabalho pertence ao projeto "BRSAqua - Ações estruturantes e inovação para o fortalecimento das cadeias produtivas da Aquicultura no Brasil" financiado pelo Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 421502/2017-7).

ANEXO I

Contagem manual de larvas para fins de distribuição em unidades

- 1. Começamos por destacar alguns dos materiais necessários e importantes para a contagem:
 - Mesa grande⁵ que possa servir de apoio às pessoas que irão auxiliar na contagem e aos materiais que serão utilizados no processo (Figura 5A);
 - · Contadores manuais de 4 dígitos;
 - Baldes, béqueres e puçás;
 - Copo de café descartável;
 - Peneira/coador de chá de plástico, sem travas de suporte (Figura 5B);
 - Bacia de concentração (irá concentrar as larvas que serão capturadas e contabilizadas pelo contador);
 - Bacia de contagem (irá concentrar as larvas recém-contadas).
- 2. Reunir um número significativo de pessoas para auxiliar na contagem, considerando o número total de larvas que será utilizado no ensaio.
- 3. Além de pessoas auxiliando na contagem, é importante ter pessoas exclusivamente fazendo o trabalho que não o da contagem e que inclui: reposição de água nas bandejas de contagem; reposição das larvas nas bacias de concentração de larvas; transferência das larvas contadas da bacia de contagem para as unidades experimentais (o que pode envolver aclimatação, caso a fonte de água seja distinta).
- 4. As bacias de concentração e de contagem devem ser preferencialmente brancas a fim de proporcionar um maior contraste da larva com o fundo da bacia. A bacia de concentração deve ser preferencialmente redonda e com

⁵ Pode-se dividir a equipe em mais de uma mesa

fundo reto e paredes lisas para facilitar a captura da larva e evitar a concentração de grupos de larvas em determinado local da bacia (Figura 5B).

- 5. A captura de larvas ainda transparentes da bacia de concentração para que possam ser contadas é facilitada com o uso de copos de café descartáveis na cor branca. Para tanto, indicam-se aqueles que possuem paredes lisas e sejam relativamente maleáveis. O copo deverá ter a borda cortada para torná-lo ainda mais maleável (Figura 6).
- 6. Cada contador deverá ter uma bacia ou bandeja de contagem, um contador manual de 04 dígitos e um copo de café branco descartável ou um coador de chá (no caso de larvas já maiores, mais pigmentadas e com natação ativa) (Figura 5B).
- 7. A bacia de concentração poderá ser dividida por mais de um contador, devendo ficar em posição central para que todos os contadores tenham fácil acesso.
- 8. A pessoa que ficar responsável por abastecer as larvas na bacia de concentração deverá também controlar o tempo de permanência das larvas na bacia. Evitar ultrapassar 30 min de permanência. As larvas não contadas da bacia de concentração deverão ser transferidas para um tanque de recuperação com condições adequadas de qualidade de água e substituídas por um novo grupo.
- 9. É importante definir um número de contagem que facilite o povoamento das unidades experimentais e seja compatível com a agilidade da equipe envolvida na contagem. Por exemplo: contagens de 250 larvas/bacia de contagem a cada 5 min.





Fotos: Ana Paula Oeda Rodrigues

Figura 5. Contagem manual de larvas de tambaqui para povoamento em experimento. (A) Mesa com quatro pessoas auxiliando na contagem. (B) Contagem de larvas onde se pode observar, da esquerda para a direita: bacia de concentração de larvas, contador manual, coador de chá adaptado para manuseio com larvas e juvenis (sem travas) e bacia de contagem.





Fotos: Ana Paula Oeda Rodrigues

Figura 6. Copo de café descartável, com borda superior cortada para contagem manual de larvas nos primeiros dias de vida. (A) O copo deve ser na cor branca, com paredes maleáveis e relativamente lisas, que ofereçam pouca resistência às larvas. (B) Forma de manuseio do copo durante a captura e contagem das larvas.

ANEXO II

Protocolo de incubação de cistos de artêmia e oferta dos náuplios

A. Incubação

Neste exemplo, serão considerados:

- Uso de incubadoras de 60 L;
- Instruções de um fabricante resumidas na Tabela 2;
- Necessidade de se obter 3.490.000 náuplios por refeição.

Tabela 2. Condições ideais para a incubação da artêmia High 5 (INVE Aquaculture).

Salinidade	25 g/L
Taxa de eclosão	75-50%
Densidade de incubação	2 g/L
Tempo de incubação	24 h (<i>100% Instar I</i>)
Iluminação	> 200 lux
Temperatura	28 a 30°C
рН	> 7,00
Tamanho do cisto	270 μm
Comprimento do náuplio	550 μm
Quantidade de cisto/g	225.000
Náuplio/g (75 a 80%)	169.000 a 180.000

1. Para calcular a quantidade de cistos que deverão ser incubados, foi considerada uma proporção intermediária ao intervalo informado pelo fabricante de 174.500 náuplios em 1 g de cisto. Isso resulta na necessidade de incubar 20 g de cistos de artêmia (3.490.000 ÷ 174.500) em 10 L de água (densidade de incubação: 2 g/L).

2. Encher a incubadora com 10 L de água limpa e declorada.

3. Encaixar a pedra porosa da aeração no fundo da incubadora de forma a praticamente tampar o dreno (Figura 7). Isso evita o acúmulo de cistos neste local, onde geralmente a eclosão é inviabilizada devido à falta de movimentação.

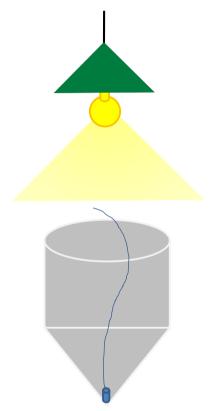


Figura 7. Posição para encaixe da pedra porosa e luz incidente sobre a incubadora.

- 4. A aeração deve ser constante e vigorosa, mas não em excesso para evitar o consumo das reservas nutricionais dos náuplios recém-eclodidos.
- 5. Dissolver 250 g de sal na água da incubadora (salinidade: 25 g/L).
- 6. Conferir se o pH está acima de 7,0. Caso contrário, adicionar uma colher de chá ou mais de bicarbonato de sódio na água para elevar o pH da água.

- 7. Ligar um termostato de aquário de modo a manter a temperatura da água entre 28 e 30 °C.
- 8. Ligar a iluminação que fica sob as incubadoras, a qual deverá permanecer ligada durante toda a incubação.
- 9. Pesar e adicionar 25 g de cisto de artêmia na incubadora. Cuidar para não encostar o frasco com os cistos na água; caso contrário, parte dos cistos ficarão retidos no frasco.

B. Separação dos náuplios eclodidos

- 1. Após 24 h de incubação, os náuplios serão removidos para alimentar as larvas.
- 2. Apagar a luz incidente sobre a incubadora que será colhida.
- 3. Remover a pedra porosa e preferencialmente cobrir a parte superior da incubadora com um plástico preto.
- 4. Posicionar uma lanterna no fundo da incubadora durante 15 a 30 min. Os náuplios serão atraídos pela luz, concentrando-se no fundo da incubadora.
- 5. Drenar o conteúdo da incubadora em um balde preferencialmente graduado.
- 6. Recomenda-se fazer alguns testes para saber quanto do volume total da incubadora realmente precisa ser drenado, evitando com isso a coleta de cistos não eclodidos e cascas de cistos juntamente com os náuplios. Estes não servem de alimento às larvas e podem obstruir seu trato gastrintestinal e/ou sujar a água de produção. De forma geral, menos do que a metade do volume inicial precisa ser drenada.
- 7. Se ficarem muitos cistos após a separação dos náuplios, repetir o processo de separação no balde (Figura 8):
- a. Posicionar o balde de forma inclinada
- b. Jogar uma fonte luminosa no fundo do balde por 10-15 min
- c. Sifonar com uma mangueira transparente somente os náuplios do fundo do balde. Refazer a contagem dos náuplios.



Figura 8. Nova concentração de náuplios de artêmia, quando a separação dos cistos não for efetiva.

C. Oferta dos náuplios eclodidos

Esse procedimento visa concentrar os náuplios e retirar o excesso de sal antes de ofertar às larvas

- 1. Homogeneizar o conteúdo do balde de concentração e filtrar/concentrar os náuplios em saco coletor de malha de 100 μm.
- 2. Jogar água no balde de concentração para garantir que não sobraram náuplios em seu interior e filtrar esse conteúdo, acumulando-o ao anterior.
- Transferir os náuplios filtrados no saco para um outro balde graduado.
 Lavar o saco coletor várias vezes para garantir a máxima recuperação dos náuplios.
- 4. Completar a graduação do balde com água doce e sem cloro, de forma a se obter um volume facilmente divisível pelo número de tanques que precisam ser alimentados. Por exemplo, se temos 8 tanques, completar o volume do balde de artêmia com 4 litros permite alimentar cada tanque com 500 mL de "solução" de náuplios de artêmia. Lembrando que o volume completado no

balde não pode ser muito pequeno de forma a gerar volumes pequenos para alimentação e, com isso, favorecer variações na concentração de náuplios entre os volumes e, consequentemente, tratos desiguais entre os tanques.

5. Os náuplios de artêmia sobrevivem cerca de 40 min em água doce.

D. Contagem do número de náuplios eclodidos

- Esse procedimento é feito a cada troca de lote de artêmia ou mudança de marca ou anualmente para um mesmo lote.
- É importante sua realização com antecedência ao ensaio ou início da alimentação exógena.
- Com ele é possível checar a taxa de eclosão informada pelo fabricante, bem como avaliar se as condições de incubação estão adequadas.
- 1. Pegar uma pipeta de vidro de 1 mL e três tubos Falcon de 50 mL.
- 2. No balde de concentração, fazer movimentos no fundo do balde com a mão em forma de concha, de baixo para cima, de forma a homogeneizar e suspender os náuplios de artêmia.
- 3. Imediatamente, pipetar 1 mL de amostra do balde e despejar o conteúdo em um tubo Falcon de 50 mL (Figura 9).
- 4. Repetir todo o procedimento mais duas vezes, de forma a obter três amostragens do balde.



Balde de concentração de náuplios de artêmia

Figura 9. Esquema representativo da amostragem de náuplios de artêmia do balde de concentração para contagem do número de náuplios eclodidos.

- 5. Com auxílio de uma proveta, medir 49 mL de água de torneira. Adicionar esse volume em cada tubo Falcon (Figura 9).
- 6. Para a contagem de cada tubo Falcon:
 - a. Homogeneizar suavemente o conteúdo;
 - b. Imediatamente, pipetar 1 mL da solução com uma pipeta Pasteur plástica;
 - c. Colocar em uma placa de Petri;
 - d. Repetir igualmente tudo mais duas vezes, de forma a se contar trêsvezes o conteúdo de cada tudo Falcon (nove contagens, no total):
 - e. Contar os náuplios eclodidos em um fundo branco.
- 7. Calcular a média das três contagens de cada tubo Falcon. Depois, calcular a média das médias dos três tubos Falcon. Exemplo de contagem:

a) Número de náuplios por placa:

Contagem	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Tubo Falcon I	5	9	7
Tubo Falcon II	6	10	8
Tubo Falcon III	8	8	9
Média	6,3	9	8
Média das médias	8 náuplios eclodidos/ placa		

- b) Multiplicar o valor de cada contagem por 50 mL. O valor obtido é a quantidade de náuplios presente em 1 mL da solução do balde de concentração.
- c) 8 náuplios x 50 mL = 450 náuplios em 1 mL amostrado.
- d) Supondo que o volume do balde de concentração era de 10 L, temos 450 náuplios x 10.000 mL= 4.500.000 náuplios eclodidos na incubadora amostrada.

ANEXO III

Biometria de larvas

1. Neste exemplo, iremos apresentar o passo a passo para a biometria de larvas que foram eutanasiadas em solução de eugenol e fixadas em formol 4% tamponado.

- 2. Dispor as larvas em um recipiente que as mantenha imersas no fixador, sem secar e facilite sua captura para pesagem.
- 3. Utilizar uma balança analítica de precisão para a pesagem das larvas. Como o peso das larvas nos primeiros dias de vida é pequeno, é necessário realizar a pesagem com uma vidraria contendo água (previamente tarada) para que a balança consiga aferir o peso da larva.
- 4. Sobre a vidraria, dispor um vidro de relógio que irá receber cada larva a ser pesada. As larvas devem ser dispostas em uma lâmina de vidro e manipuladas com um pincel para posicioná-las sobre o vidro de relógio.
- 5. Tarar novamente a balança após cada pesagem. Evitar pesar a larva extremamente molhada para não dar erro na pesagem.
- 6. Após a pesagem de cada larva, elas devem ser organizadas sequencialmente sobre lâmina ou placa de Petri numeradas para posterior medida do comprimento total.
- 7. A Figura 10 ilustra o passo a passo apresentado anteriormente.





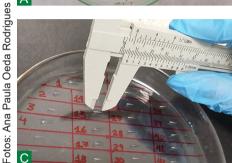


Figura 10. (A) Recipiente contendo larvas para pesagem. (B) Larva sendo pesada em balança analítica. (C) Larvas que foram pesadas, sendo medidas sequencialmente com auxílio de paquímetro.

Referências

ARAÚJO-DAIRIKI, T. B. **Desenvolvimento ontogenético dos sistemas muscular e digestório de tambaqui** *Colossoma macropomum* **sob influência da alimentação e temperatura**. 2016. 130 p. Tese (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

BEHR, E. R.; TRONCO, A. P.; RADÜNZ-NETO, J. Ação do tempo e da forma de suplementação alimentar com artemia franciscana sobre a sobrevivência e o crescimento de larvas de jundiá. **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, p. 503-507, 2000. DOI: 10.1590/S0103-84782000000300023.

CAVERO, B.A.S.; ITUASSU, D.R.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R.; BORDINHON, A.M.; FONSECA, F.A.L.; ONO, E.A. Uso de alimento vivo como dieta inicial no treinamento alimentar de juvenis de pirarucu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n.8, p. 1011-1015, 2003. DOI: 10.1590/S0100-204X2003000800015.

- CONCEIÇÃO, L. E. C.; ARAGÃO, C.; RICHARD, N.; ENGROLA, S.; GAVAIA, P.; MIRA, S.; DIAS, J. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 26-35, 2009. DOI: 10.1590/S1516-35982009001300003.
- DE BARROS, I. B. A.; VILLACORTA-CORREA, M. A.; CARVALHO, T. B. Stocking density and water temperature as modulators of aggressiveness, survival and zootechnical performance in matrinxã larvae, *Brycon amazonicus*. **Aquaculture**, v. 502, p.378-383, 2019. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.12.070.
- FRACALOSSI, D.M.; RODRIGUES, A.P.O.; SILVA, T.S.C.; CYRINO, J.E.P. Técnica experimentais em nutrição de peixes. In: FRACALOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. (ed.). **Nutriaqua**: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. cap. 2, p. 37-64.
- FREITAS, T. M.; LOPES, I. G.; LOPES, T. S.; BUZOLLO, H.; PORTELLA, M. C.Growth performance and incidence of skeletal anomalies in pacu larvae under different weaning protocols. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 45, N.1, e433, 2019. DOI: 10.20950/1678-2305.2019.45.1.433.
- GOMES, L. C.; SIMÕES, L. N.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTO, B. (ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 3ª ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2020. cap.8, p. 147-168.
- IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal. 2020**. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940>. Acesso em: 30 de jun de 2022.
- JAROSZEWSKA, M.; DABROWSKI, K. Utilization of yolk: transition from endogenous to exogenous nutrition in fish. In: HOLT, G. J. (ed.). **Larval fish nutrition.** West Sussex: John Wiley & Sons, Inc., 2011. cap. 6, p. 183-218.
- JOMORI, R. K.; CARNEIRO, D. J.; MALHEIROS, E. B.; PORTELLA, M. C. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, v. 221, N.1/4, p. 277-287, 2003. DOI: 10.1016/S0044-8486(03)00069-3.
- JOMORI, R. K.; DUCATTI, C.; CARNEIRO, D. J.; PORTELLA, M. C. Stable carbon (δ 13C) and nitrogen (δ 15N) isotopes as natural indicators of live and dry food in *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) larval tissue. **Aquaculture Research**, v. 39, N. 4, p. 370-381, 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01760.x.
- JOMORI, R. K.; LUZ, R. K.; PORTELLA, M. C. Effect of salinity on larval rearing of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a freshwater species. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, N. 3, p. 423-433, 2012. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2012.00570.x.
- JOMORI, R. K.; LUZ, R. K.; TAKATA, R.; FABREGAT, T. E. H. P.; PORTELLA, M. C. Água levemente salinizada aumenta a eficiência da larvicultura de peixes

neotropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, N. 8, p. 809-815, 2013. DOI: 10.1590/S0100-204X2013000800001.

KENDALL JÚNIOR, A. W.; AHLSTROM, E. H.; MOSER, H. G. Early life stages in fishes and their characters. In: MOSER, H. G.; RICHARDS, W. J.; COHEN, D. M.; FAHAY, M. P.; KENDALL, A. W.; RICHARDSON, S. L. (ed.). **Ontogeny and systematics of fishes**. Florida: American Society Ichthyology Herpetologists, 1984. p. 11-23.

LEITÃO, N. J.; PAI-SILVA, M.; ALMEIDA, F. L. A.; PORTELLA, M. C. The influence of initial feeding on muscle development and growth in pacu Piaractus mesopotamicus larvae. **Aquaculture**, v. 315, n. 1/2, p. 78–85, 2011. DOI: 10.1016/j.aquaculture. 2011.01.006.

LIMA, A. F.; RODRIGUES, A. P. O.; COSTA, V. E. Frozen zooplankton is efficient as natural food during pirarucu *Arapaima gigas* weaning. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 9, p. 4227-4236, 2021. DOI: 10.1111/are.15261.

LIMA, A. F.; SILVA, A. P.; RODRIGUES, A. P. O.; SOUSA, D. N.; BERGAMIN, G. T.; LIMA, L. K. F.; TORATI, L. S.; PEDROZA FILHO, M. X.; MACIEL, P. O.; FLORES, R. M. V. **Manual de piscicultura familiar em viveiros escavados**. Brasília: Embrapa, 2015. 143 p.

MAI, M. G. Estudos da ontogenia e da alimentação inicial de larvas de peixes, com ênfase em dourado Salminus brasiliensis (Characiformes, Characidae). 2009. 97 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) — Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

NEUMANN, E.; PAES, M. C. F.; MENDES, J. M. R.; BRAGA, F. M. S.; NAKAGHI, L. S. O. Ontogeny of the digestive tract of Brycon amazonicus (Teleostei, Bryconidae) under culture conditions: from hatching to juvenile stage. **Zygote**, v. 28, n. 3, p. 208-216, 2020. DOI: 10.1017/S0967199420000015.

ØIE, G.; REITAN, K. I.; EVJEMO, J. O.; STØTTRUP, J.; OLSEN, Y. Live feeds. In: HOLT, G. J. (ed.). **Larval fish nutrition**. West Sussex: J. Wiley & Sons, Inc., 2011. cap. 11, p. 307-334.

PEDROZA-FILHO, M. X.; FLORES, R. M. V.; IANELLA, P.; CASTILHO-BARROS, L.; OLIVEIRA, E. J.; CAETANO, A. R. **Tambaqui**: Benefícios econômicos com a adoção do Tambaplus parentesco. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2020b. 18p. (Embrapa Pesca e Aquicultura, Comunicado Técnico, 4).

PEDROZA-FILHO, M. X.; RIBEIRO, V. S.; ROCHA, H. S.; UMMUS, M. E.; VALE, T. M. Caracterização da cadeia produtiva da tilápia nos principais polos de produção do Brasil. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2020a. 49p. (Embrapa Pesca e Aquicultura. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 26).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. Anuário Brasileiro da Pisicultura: Disponível em: https://www.peixebr.com.br/anuario2022/. Acesso em: 14 mar. 2022.

PORTELLA, M. C.; LEITÃO, N. J.; TAKATA, R.; LOPES, T. S. Alimentação e nutrição de larvas. In: FRACALOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. (ed.). **Nutriaqua**: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. cap. 9, p. 185-216.

RUIZ-TAFUR, K. M.; DÁVILA-PANDURO, L.; PALOMINO-TRIGOSO, V. Y.; YAHUARCANI-TAMINCHE, C.; ALVAN-AGUILAR, M. A.; AYARZA-RENGIFO, J.; CHU-KOO, F. W. Desarrollo larval del paiche o pirarucu *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Folia Amazónica**, v.26, n.1, p.59-74, 2017.

SILVA, R.A. **Transporte de larvas de jundiá Rhamdia quelen (Quoy & Gaimard, 182) em sacos plásticos**. 2015. 23 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.

SILVEIRA, J.; SILVA, C. P.; CARGNIN-FERREIRA, E.; ALEXANDRE, D.; ELIAS, M. A.; FRACALOSSI, D. M. Freshwater catfish jundiá (*Rhamdia quelen*) larvae are prepared to digest inert feed at the exogenous feeding onset: Physiological and histological assessments. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.39, n.6, p.1581-1590, 2013. DOI: 10.1007/s10695-013-9810-x.

SORGELOOS, P.; DHERT, P.; CANDREVA, P. Use of the brine shrimp, Artemia spp., in marine fish larviculture. **Aquaculture**, v. 200, n. 1/2, p. 147-159, 2001. DOI: 10.1016/S0044-8486(01)00698-6.

URBINATI, E. C.; TAKAHASHI, L. S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTO, B. (ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 3. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2020. cap.9, p. 169-200.

VEGA-ORELLANA, O. M.; FRACALOSSI, D. M.; SUGAI, J. K. Dourado (*Salminus brasiliensis*) larviculture: Weaning and ontogenetic development of digestive proteinases. **Aquaculture**, v. 252, n. 2/4, p. 484-493, 2006. DOI: 10.1016/j. aquaculture.2005.07.002.

ZANIBONI FILHO, E. Larvicultura de peixes de água doce. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 203, p. 69-77, 2000.



Apoio:







