

Otimização de técnicas de produção de rotíferos *Brachionus plicatilis* ¹

Sofia Coelho Botelho², Hugo Batista³, Margarida Ferreira⁴, José Júlio Gonçalves Barros Martins ⁵

¹ Universidade De Trás-Os-Montes E Alto Douro, Vila Real, Portugal.

E-mail: sbotelho@utad.pt

² Oceanário de Lisboa, Portugal.

Resumo: Os rotíferos são amplamente utilizados em aquicultura como primeiro alimento para os estágios larvares de peixes e crustáceos, em especial devido ao seu tamanho reduzido (130-320 µm), à baixa mobilidade, ao valor energético e à possibilidade de manipular artificialmente o seu valor nutricional. Estes invertebrados alimentam-se por filtração de vários organismos e partículas, tais como microalgas, protozoários, bactérias, matéria orgânica morta e dietas comerciais. Para a sua utilização em aquicultura, a sua principal fonte de alimento são as microalgas. Estas podem ser fornecidas em fresco, concentradas, liofilizadas ou congeladas. Uma outra forma de os alimentar consiste no fornecimento de alimentos comerciais, cuja composição consiste em nutrientes essenciais para o crescimento de larvas de peixe marinhos. Este ensaio teve como objetivo verificar em que condições de temperatura (20 e 25°C), salinidade (16 e 32 ppm) e alimento (microalgas *Nannochloropsis sp.* e *Isochrysis sp.* e o alimento comercial Easy DHA Selco[®]) a cultura de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) se desenvolveria de forma mais favorável. Verificou-se que o melhor crescimento da cultura de rotíferos foi conseguido com o fornecimento de *Nannochloropsis sp.*, a uma temperatura de 25°C e salinidade de 16 ppm, sendo que os resultados menos favoráveis foram observados com a utilização de Easy DHA Selco[®], a 25°C e salinidade 16 ppm (P<0,0001).

Palavras-chave: *Brachionus plicatilis*, alimento, crescimento populacional, salinidade, temperatura

Abstract: Rotifers are widely used in aquaculture as the first feed for fish and crustacean larval stages, especially due to their small size (130-320 μm), low mobility, energetic value and the possibility of artificial manipulation of their dietary value. These invertebrates feed by filtration of several organisms and particles, such as microalgae, protozoa, bacteria, dead organic matter and artificial diets. For its use in aquaculture, their main food source is usually microalgae. Another way of feeding rotifers consists on the supply of artificial diets, such as Easy DHA Selco[®], which contains several essential nutrients for the proper development of the marine fish larvae. Experiments were conducted in order to evaluate in which conditions of temperature (20 and 25°C), salinity (16 and 32 ppm) and food (microalgae *Nannochloropsis sp.* and *Isochrysis sp.*, and artificial diet Easy DHA Selco[®]) the culture of rotifers (*Brachionus plicatilis*) would develop in the most favorable way. The results show that the best development of this culture was obtained with the supply of *Nannochloropsis* at the temperature of 25°C and 16 ppm of salinity, being that the least favorable development of the culture was registered with the use of Easy DHA Selco[®], at 25°C and 16 ppm ($P < 0.0001$).

Keywords: *Brachionus plicatilis*, food, populations growth, salinity, temperature

Introdução

Os pioneiros na utilização do rotífero *Brachionus plicatilis* como alimento vivo foram anguicultores japoneses (Ito, 1960). Após esta descoberta, a aquicultura sofreu um grande desenvolvimento (Protella et al., 1997), sendo os rotíferos amplamente utilizados como primeiro alimento vivo para os estágios iniciais larvares de inúmeros peixes, crustáceos e moluscos (Watanabe, 1985; Hagiwara et al., 2001; Ando et al., 2004; Cheng et al., 2004; Kotani et al., 2009; Seychelles et al., 2009; Jeeja et al., 2011), tornando possível, por sua vez, a produção em massa de larvas de peixe (Watanabe, 1985).

Os rotíferos são considerados um alimento ideal devido ao seu tamanho (130-320 μm), natureza planctônica, intervalo entre gerações curto e taxas produtivas elevadas, características adequadas para a produção em massa (sob condições controladas), elevada capacidade de crescimento e de reprodução em culturas de elevada densidade, relativa baixa mobilidade, valor calórico adequado e a possibilidade de manipular artificialmente a sua qualidade nutricional (Watanabe et al., 1983; Lubzens, 1987; Fielder et al., 2000; Dhert et al., 2001; Seychelles et al., 2009; Jeeja et al., 2011; Yin et al., 2013). Para além disso, em muitas espécies de peixes, as presas vivas são preferidas ao alimento inerte devido à sua capacidade

de se deslocarem na coluna de água, apelando ao instinto predatório das larvas e estando constantemente disponíveis para estas (Conceição et al., 2010). A adequação do tamanho da presa ao tamanho da boca do predador é de extrema importância, tornando a seleção da estirpe de organismo a utilizar um dos parâmetros mais importantes na cultura de rotíferos (Lubzens, 1987; Lucas e Southgate, 2012; Dhont et al., 2013). Por tudo isto, os rotíferos são considerados um primeiro alimento excepcional para larvas de peixes (Howell, 1973; Lubzens, 1987; Dhont et al., 2013). No entanto, apesar destes organismos serem resistentes e a sua cultura em grande escala ser fácil (Lucas e Southgate, 2012), também é laboriosa, intensiva e algo delicada, visto poderem ocorrer ocasionais contaminações das culturas que acabam por levar ao seu colapso (Dhont et al., 2013).

O cultivo de rotíferos nas maternidades de peixes, moluscos e crustáceos continua a ser um processo dispendioso, em muitos casos ainda constituindo um dos fatores limitantes da industrialização do processo de larvicultura (Coutteau e Sorgeloos, 1997; Suantika et al., 2000). O fornecimento de rotíferos em quantidade adequada durante as épocas cruciais, aquelas em que existe uma grande quantidade de larvas, é um dos principais problemas em muitos tipos de produção em aquacultura (Lubzens, 1987), forçando as maternidades a manter várias culturas de rotíferos, para além de culturas de reserva (Candrea et al., 1996; Suantika et al., 2000; Hagiwara et al., 2001). Uma vez que os rotíferos se alimentam por filtração e a sua dieta natural consiste numa variedade ampla de bactérias, protozoários, detritos, fitoplâncton (microalgas) e/ou zooplâncton de menor tamanho (Rezeq e James, 1987; Omori e Ikeda, 1994; Øie e Olsen, 1997; Jeeja et al., 2011), o alimento fornecido é um fator determinante para o crescimento da cultura, afetando a qualidade nutricional dos rotíferos, revelando-se assim essencial para a sobrevivência e ótimo crescimento das larvas de peixes, crustáceos e moluscos (Lubzens, 1987; Szyper, 1989; Jeeja et al., 2011).

O presente trabalho teve como finalidade testar o efeito na densidade de cultivo de *Brachionus plicatilis* no tempo com a manipulação de fatores: abióticos, temperatura (20°C e 25°C) e salinidade (16 ppm e 32 ppm); e bióticos, nomeadamente a fonte de nutrição, com microalgas (*Nannochloropsis* e *Isochrysis*) e a preparação comercial Easy DHA Selco®.

Materiais e Métodos

Todos os ensaios tiveram a duração de 5 dias e foram iniciados com rotíferos provenientes do stock do Oceanário de Lisboa, a uma densidade média de 40 rotíferos/ml. Cada cultura de rotíferos foi mantida num gobelé, com o volume inicial de 1 litro, o qual foi

colocado dentro de um banho-maria com recirculação de água. Para cada alimento foram utilizados 2 banhos-maria, programados para cada uma das temperaturas em avaliação. Dentro de cada banho-maria foram colocados 5 gobelés de cada uma das salinidades em estudo. As culturas foram mantidas utilizando um sistema “*Modified batch culture*” com recurso à adição diária de 100 ml de alimento, acrescentados ao volume inicial. Desta forma, cada um dos três alimentos foi testado em quintuplicado, tendo sido avaliados os efeitos das várias combinações possíveis de temperatura e salinidade de acordo com o esquema da figura 1.

IN PRESS

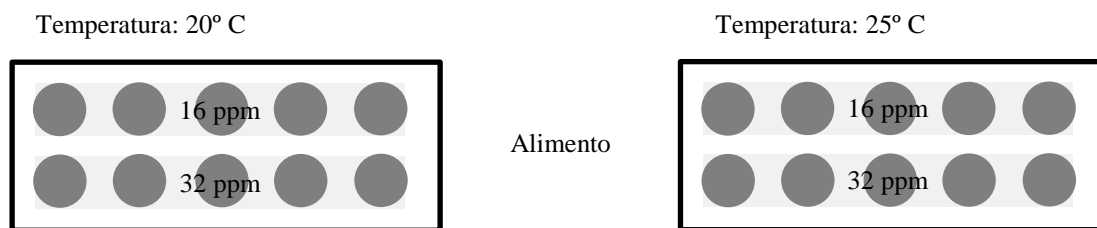


Figura 1: Montagem experimental para cada um dos alimentos.

A contagem dos rotíferos foi realizada diariamente, sendo que os primeiros a ser contados foram os de salinidade mais alta, tendencialmente sempre à mesma hora. Tendo em conta o número de rotíferos obtidos na contagem de cada dia, o alimento era preparado de acordo com as recomendações dos fabricantes e fornecido uma vez por dia, sensivelmente à mesma hora. Antes do fornecimento, o alimento foi diluído em água com a salinidade correspondente.

Previamente à recolha das amostras para contagem, era realizada uma cuidadosa agitação do conteúdo do gobelé, com o auxílio da vareta de arejamento. Seguidamente eram retiradas três amostras, de 3 ml cada, em três locais diferentes da coluna de água. O processo de contagem dos rotíferos foi realizado em amostras individuais (1 ml). Essa amostra foi colocada numa placa de petri com uma malha no fundo por forma a facilitar a contagem com uma lupa eletrónica.

Nannochloropsis sp; concentrado vivo PhytoBloom green formula®

Este é um alimento comercial fabricado pela empresa Necton SA. Após a abertura da embalagem foi mantido no frigorífico, entre 0 e 4°C. A quantidade deste alimento a distribuir foi calculada de acordo com as instruções do fabricante e dependendo da densidade de rotíferos existentes (Tabela 1).

Isochrysis sp. PhytoBloom prof®

Outro dos alimentos utilizados foi o produto comercial “*Isochrysis sp. PhytoBloom prof®*”, da Necton, composto pela microalga *Isochrysis*, liofilizada.

Foram realizados os cálculos para determinar a quantidade de microalga a ser utilizada, tendo em conta a tabela 1, de acordo com as recomendações do fabricante e a quantidade de rotíferos presente na cultura.

Tabela 1: Quantidade de alimento “*Nannochloropsis* sp. concentrado vivo PhytoBloom green formula[®]” (PhytoBloom 2013a) e “*Isochrysis* sp. PhytoBloom prof[®]” (PhytoBloom 2013b) fornecidos tendo em conta o número de rotíferos.

	PhytoBloom Green Formula	PhytoBloom Prof
Dia 0	2,5 ml/10 ⁶ rotíferos	1 – 1,2 g/10 ⁶ rotíferos
Dia 1 a 7	1 – 1,5 ml/10 ⁶ rotíferos	0,25 – 0,3 g/10 ⁶ rotíferos

Easy DHA Selco[®]

O terceiro alimento testado foi o “Easy DHA Selco[®]”, tendo sido oferecido nas quantidades descritas na tabela 2. Foram utilizadas as concentrações referentes ao produto comercial “DHA Protein Selco[®]” visto não terem sido encontradas recomendações do fabricante relativamente à quantidade recomendada de “Easy DHA Selco[®]” para rotíferos. De referir ainda que este produto foi formulado para enriquecimento nutricional de *Artemia salina*.

Tabela 2: Quantidades de “DHA Protein Selco[®]” a fornecer em função do número de rotíferos/ml da cultura (adaptado Moretti et al., 1999).

Passos	Idade (dias)	Rotíferos/ml	Taxa de alimentação diária (g/10 ⁶ rotíferos)
Inoculação	0	200	0,55
	1	250	0,44
	2	350	0,34
Enriquecimento	3	450	0,31
Colheita	4	600	

Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo programa JMP-SAS (versão 5.1; SAS Institute Inc. Cary, NC, USA), com recurso a ANOVA multifatorial tendo em conta os efeitos da alimentação, temperatura e salinidade. Foi realizada a comparação de médias através do teste de Tukey HSD (Tukey-Kramer Honestly Significant Difference).

Resultados e Discussão

Nas tabelas 3 e 4 são apresentados, respectivamente, os resultados dos valores obtidos na análise descritiva e de comparação de médias e os efeitos da temperatura (20 e 25° C), salinidade (16 e 32 ppm) e dos diferentes alimentos testados: “*Nannochloropsis sp. concentrado vivo PhytoBloom green formula*®” (Nanno), “*Isochrysis sp. PhytoBloom prof*®” (Iso) e “*Easy DHA Selco*®” (Selco®).

IN PRESS

Tabela 3: Média dos mínimos quadrados, desvio padrão, mínimo, máximo e coeficiente de variação para o número de rotíferos por alimento, temperatura e salinidade.

Temperatura (°C)	Salinidade (ppm)	Alimento														
		Iso					Nanno					Selco®				
		MNQ	dp	Min	Máx	CV (%)	MNQ	dp	Min	Máx	CV (%)	MNQ	dp	Min	Máx	CV (%)
20	16	58,1	16,0	8	94	27,6	77,6	37,3	8	165	48,1	48,6	15,9	18	102	32,6
	32	41,1	9,6	7	74	23,2	48,2	19,9	14	101	41,3	33,5	11,6	6	67	34,5
25	16	62,0	19,7	29	114	31,8	107,0	56,2	34	258	52,5	23,0	12,2	4	48	53,1
	32	48,9	11,0	20	81	22,5	72,3	31,6	17	151	43,8	38,2	8,5	21	69	22,2

Iso – Isochrysis sp. PhytoBloom prof®; Nanno – Nannochloropsis sp. concentrado vivo PhytoBloom green formula®; Selco®- Easy DHA Selco® MNQ – Média dos mínimos quadrados; dp- desvio padrão; Min - mínimo; Máx - máximo

Tabela 4: Efeito dos diferentes tratamentos sobre a concentração de rotíferos (por ml de solução).

Efeitos	[Rotíferos]	SEM	P
Alimento			
Nanno	76,28 ^a	1,43	<0,0001
Iso	52,53 ^b		
Selco [®]	35,84 ^c		
Temperatura			
(°C)			
25	58,59 ^a	1,17	<0,0001
20	51,18 ^b		
Salinidade			
(ppm)			
16	62,72 ^a	1,17	<0,0001
32	47,04 ^b		

Em cada coluna, médias com índices diferentes representam valores significativamente diferentes ($P \leq 0,05$). SEM- standard error of the mean.

Verificou-se a existência de um efeitos altamente significativos ($P < 0,0001$) dos vários tratamentos (alimento, temperatura e salinidade) sobre a concentração de rotíferos por ml.

Nos vários alimentos testados, o Nanno foi aquele que apresentou melhores resultados, com uma densidade média de 76,28 rotíferos/ml. O alimento que apresentou piores resultados foi o Selco[®], com uma densidade média de 35,84 rotíferos/ml. Estes resultados foram similares aos encontrados por Suchar e Chigbu (2006) que observaram a existência de um efeito altamente significativo ($P < 0,001$) na utilização de diferentes microalgas marinhas (*Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*, entre outras) sobre o número final de rotíferos e a taxa de crescimento populacional do rotífero marinho *Colurella dicentra*. No mesmo estudo, os segundos melhores resultados foram obtidos com a microalga *Nannochloropsis* com resultados superiores aos obtidos com *Isochrysis galbana* ($P = 0,05$; Suchar e Chigbu, 2006). Viayeh e Mohammadi (2015) testaram o efeito de diferentes microalgas (*Chlorella*, *Nannochloropsis*, *Isochrysis*, e *Scenedesmus*) sobre a densidade populacional de duas estirpes de rotíferos verificando a existência de efeitos altamente significativos ($P < 0,0001$) relacionados com o tipo de microalga fornecida.

Utilizando outro tipo de alimento vivo, Rajthilak et al. (2014) analisaram o efeito da utilização das microalgas *Isochrysis galbana* e *Nannochloropsis salina* no crescimento populacional de copépodes (*Nitokra affinis*), relatando a existência de um efeito altamente significativo ($P < 0,001$) sobre o crescimento populacional da espécie.

Relativamente à influência das temperaturas testadas sobre a concentração de rotíferos, verificou-se que estas exerceram um efeito altamente significativo ($P < 0,0001$), tendo os melhores resultados sido obtidos com a temperatura de 25° C (58,6 rotíferos/ml), comparativamente aos registados para a temperatura de 20°C (51,2 rotíferos/ml). Resultados similares foram obtidos por Altaff e Janakiraman (2015) quando testaram o efeito de diferentes temperaturas (26 e 31°C) na densidade de rotíferos, tendo verificado que existia um efeito altamente significativo ($P < 0,001$) deste parâmetro da água com obtenção de melhores crescimentos a temperaturas mais baixas (26°C). Walczyńska e Serra (2014) obtiveram resultados semelhantes sendo que, no seu estudo, o número de rotíferos foi mais elevado a 25°C (média de 1.204,7 rotíferos/50 ml) do que a 20°C (média de 421 rotíferos/50 ml). Já Jing et al. (2014), reportaram a ocorrência de um efeito significativo ($P < 0,05$) da temperatura sobre a densidade, crescimento populacional e *ratio* de ovos (ovos/rotífero) em *Brachionus plicatilis*. Nesse estudo foi também apontada a temperatura de 25°C (de entre 20, 25 e 30°C) como sendo aquela que originou os melhores resultados. No entanto, Bosque et al. (2001), num estudo relativo ao efeito da temperatura (20 e 25°C) sobre o tempo de vida e o número de descendentes por fêmea do rotífero marinho *Synchaeta littoralis*, embora tenham observado a ocorrência de um efeito altamente significativo ($P < 0,0001$), os melhores resultados foram observados a 20°C. Rajthilak et al. (2014), num estudo com copépodes *Nitokra affinis*, constataram que a temperatura teve um efeito altamente significativo no crescimento populacional ($P < 0,001$) sendo que, nas várias temperaturas estudadas (15, 20, 25, 30 e 35°C), os melhores resultados obtidos foram a 30° C e os piores a 15° C.

No que respeita à influência da salinidade, esta teve um efeito muito significativo ($P < 0,001$) sobre o número de rotíferos, tendo sido obtidos os melhores resultados com uma salinidade de 16 ppm (62,7 rotíferos/ml), comparativamente aos obtidos com a salinidade mais elevada (32 ppm; 47,0 rotíferos/ml). Estes resultados estão em linha com os observados por Cheng et al. (2011) que, trabalhando com outra espécie de rotíferos, *Brachionus rotundiformis*, mas com condições de cultura ligeiramente diferentes (28°C, alimentados com *Isochrysis galbana* e com salinidades de 5, 10, 20 e 30 ppm), também

verificaram que a salinidade afetava de forma altamente significativa ($P < 0,001$) a taxa de crescimento das culturas. Também Bosque et al. (2001) estudaram o efeito da salinidade (25, 30 e 35 ppm) sobre o tempo de vida e o número de descendentes por fêmea do rotífero marinho *Synchaeta littoralis*, verificando que esta teve um efeito altamente significativo ($P < 0,0001$) em ambas as variáveis tendo sido registado um aumento em ambos os parâmetros produtivos com a diminuição da salinidade do meio.

Da análise estatística dos resultados foi observada a existência de interações altamente significativas que se apresentam na tabela 5.

Tabela 5: Interações entre alimento, temperatura e salinidade.

Efeitos	P
Alimento*Temperatura	<0,0001
Alimento*Salinidade	<0,0001
Temperatura*Salinidade	0,0037
Alimento*Temperatura*Salinidade	<0,0001
	SEM
Alimento*Temperatura	2,03
Alimento*Salinidade	2,03
Temperatura*Salinidade	1,66
Alimento*Temperatura*Salinidade	2,87

Na figura 2 são apresentados os dados referentes às interações entre o tipo de dieta e a temperatura da água. com registo de , tendo-se esta revelado altamente significativa. É possível observar que esta interação foi particularmente positiva ($P < 0,0001$) quando foi fornecido o alimento Nanno que originou os melhores resultados em ambas as temperaturas testadas; os piores resultados foram obtidos com a utilização do alimento comercial Selco[®], a qualquer das temperaturas.

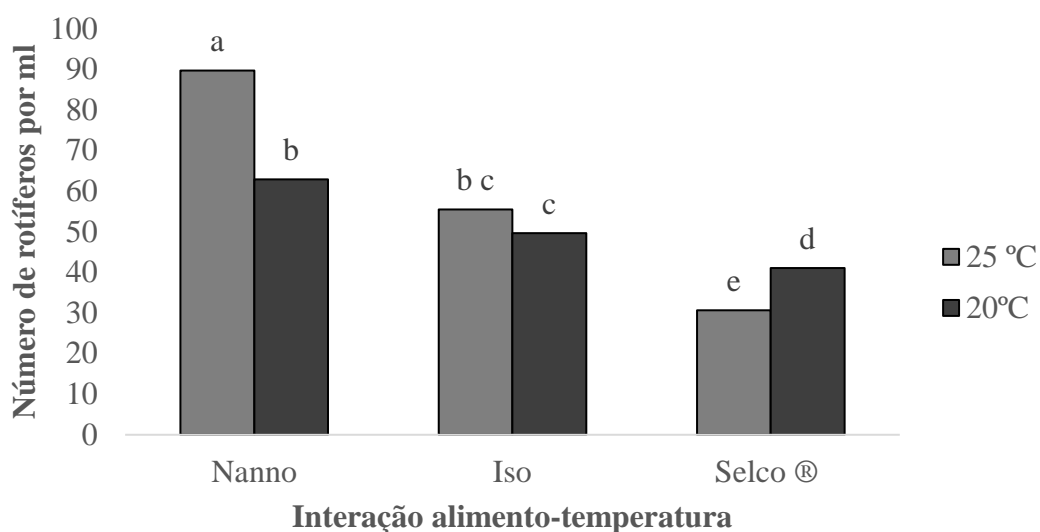


Figura 2: Interação entre o alimento e a temperatura da água em termos do número de rotíferos/ml. Barras com expoentes diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Aparentemente, a temperatura de 25° C favoreceu o crescimento da população de rotíferos quando foram utilizados os alimentos Nanno e Iso. Já quando os rotíferos foram alimentados com Selco®, os resultados apontaram para 20 °C como sendo a temperatura mais indicada para obtenção de melhores resultados.

Esta observação foi diferente da registrada por Korstad et al. (1989). Estes investigadores obtiveram melhores resultados com a microalga *Isochrysis galbana* do que com a *Nannochloropsis atomus* ($P < 0,05$). No entanto, as condições de cultura (20° C e 20 ppm de salinidade) em que decorreram essas experiências foram diferentes das utilizadas no presente estudo.

Na figura 3 são apresentados os resultados da interação entre alimento e salinidade.

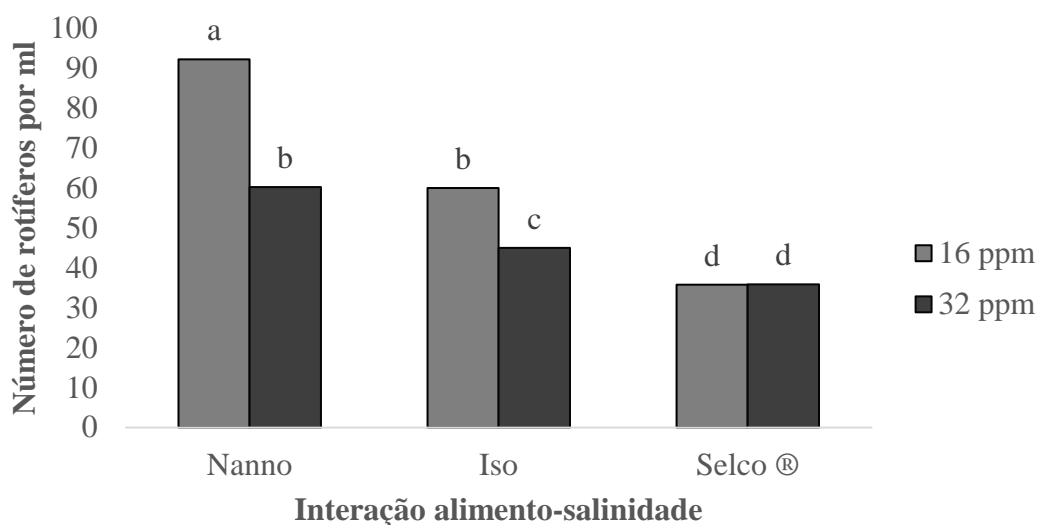


Figura 3: Interação entre o tipo de dieta e a salinidade da água, expresso em número de rotíferos por ml. Barras encimadas com letras diferentes correspondem a valores significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Analisando os dados verificou-se que a combinação do alimento Nanno com uma salinidade de 16 ppm foi aquela que permitiu obter as melhores densidades de rotíferos sendo os piores resultados obtidos com a dieta Selco®, a qualquer uma das salinidades. Viayeh e Mohammadi (2015) estudaram a interação entre alimento (diferentes microalgas – *Chlorella*, *Nannochloropsis*, *Isochrysis* e *Scenedesmus*) e a salinidade (5, 15 e 25 ppm) em duas estirpes iranianas (Ba e Zbl) de *Brachionus plicatilis*. Numa das estirpes (Ba), os autores observaram a ocorrência de uma interação altamente significativa ($P < 0,0001$) entre alimento e salinidade para a densidade da população e taxa de crescimento específico.

Por fim, quanto à interação entre a salinidade e a temperatura (figura 4), os melhores resultados foram obtidos à temperatura de 25°C, independentemente das salinidades testadas. Os piores resultados foram observados com a salinidade de 32 ppm, à temperatura de 20°C. Resultados semelhantes foram observados por Oltra e Todoli (1997), que ao estudarem o efeito da temperatura (20 e 24°C), salinidade (20, 25, 30 e 37 ppm) e nível de alimento e suas interações sobre o tempo de vida e número de descendentes por fêmea do rotífero marinho *Synchaeta cecilia valentina*, observaram a ocorrência de uma interação significativa ($P < 0,05$) entre salinidade e temperatura sobre o tempo de vida e um efeito altamente significativo ($P < 0,0001$) no número de descendentes por fêmea. Também Bosque et al. (2001) verificaram que a interação entre temperatura e salinidade teve um efeito altamente significativo ($P < 0,0001$) sobre o tempo de vida e significativo ($P < 0,05$) no número de descendentes por fêmea do rotífero marinho *Synchaeta littoralis*.

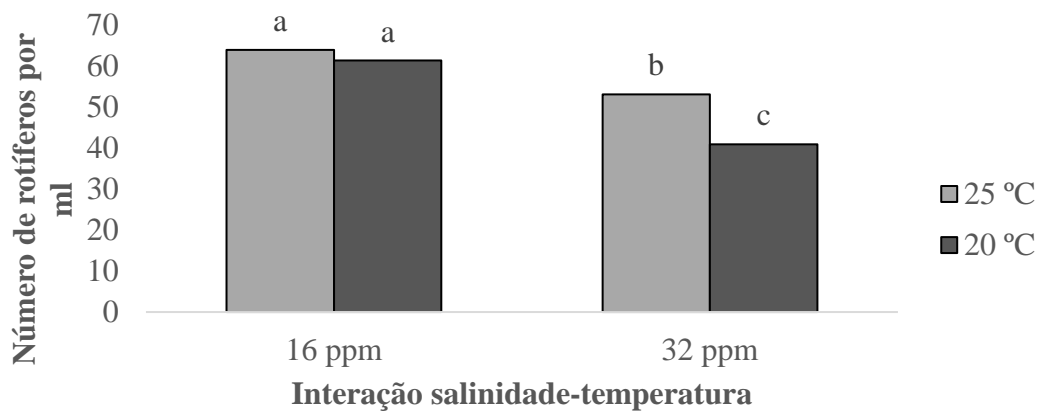


Figura 4: Interação entre a salinidade e a temperatura, expresso em número de rotíferos por ml. Barras encimadas com letras diferentes correspondem a valores significativamente diferentes ($P < 0,05$).

A análise estatística evidenciou a existência de uma interação altamente significativa ($P < 0,0001$) dos fatores em análise (alimento*temperatura*salinidade) relativamente à concentração de rotíferos. Na figura 5 são apresentadas essas interações entre tratamentos.

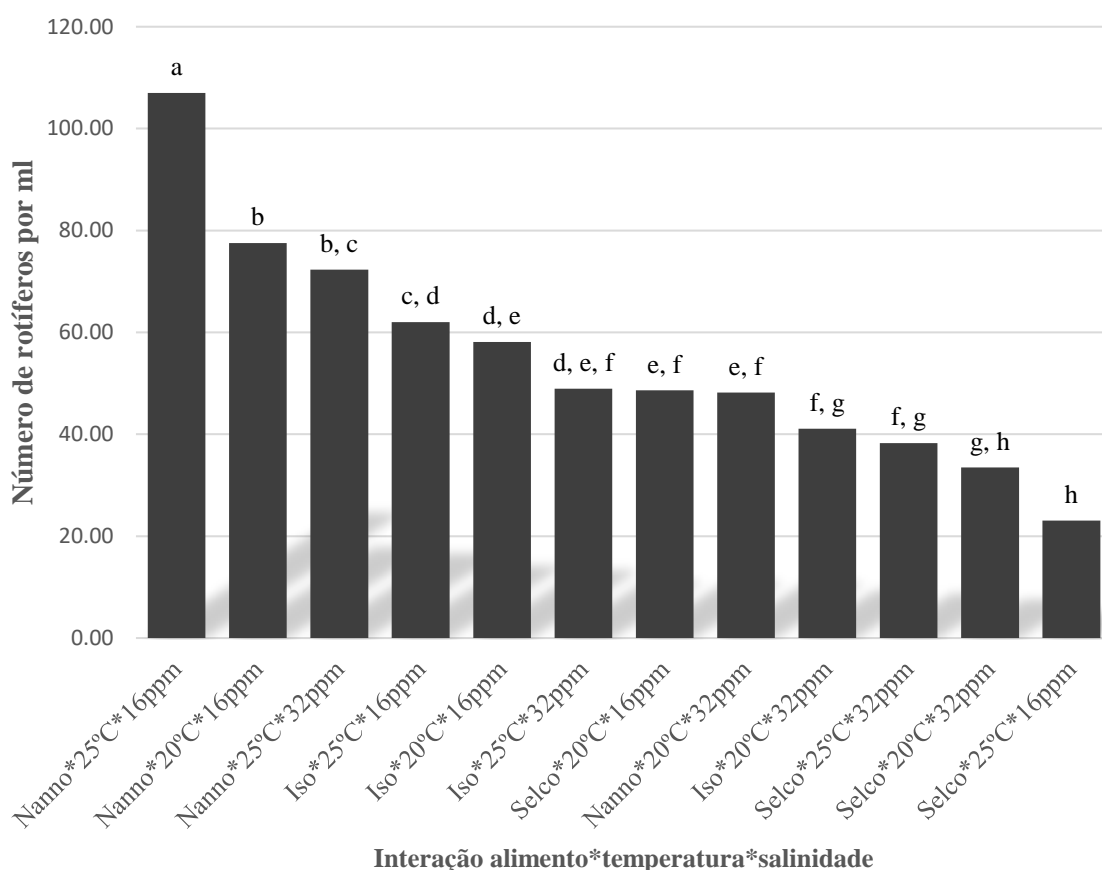


Figura 5: Interação entre o alimento*temperatura*salinidade, expressa em número de rotíferos por ml. Barras encimadas com letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Da análise das interações torna-se evidente que a melhor combinação resultou da alimentação com dieta Nanno, a 25°C e com uma salinidade de 16 ppm. Os piores resultados foram obtidos com a combinação Selco®*25°C*16 ppm. Também é pertinente referir que o alimento com melhores resultados (Nanno) acabou por ter resultados similares ao pior alimento (Selco®), quando ambos foram fornecidos a 20°C e com salinidades de 16 e 32 ppm, respetivamente ($P > 0,05$).

Apesar dos resultados que obtivemos terem revelado diferenças significativas, é necessário ter em consideração que, provavelmente, nenhuma espécie de microalga será ideal para a cultura de todas as espécies de rotíferos, devido aos seus hábitos alimentares diversos e estrutura e tamanho da corona, mastax e boca que determinam o tamanho da partícula de alimento que conseguem ingerir (Suchar e Chigbu, 2006). Desta forma, os resultados obtidos com uma ou mais estirpes não devem ser generalizados para outras, visto que membros do mesmo género raramente possuem características similares, mesmo que sejam cultivadas com microalgas semelhantes (Sarma e Nandini, 2002).

Simultaneamente, é importante referir que o alimento comercial utilizado, Easy DHA Selco[®] é um alimento especificamente formulado para a alimentação e enriquecimento de náuplios de *Artemia* e, esse facto, pode ter estado na origem do pior desenvolvimento demonstrado pelas culturas de rotíferos.

Conclusões

Sendo o rotífero *Brachionus plicatilis* uma das espécies mais comumente utilizada em aquicultura e em investigação laboratorial, resulta importante o conhecimento das condições ideais para o seu cultivo. Considerando as hipóteses testadas, aparentemente, as melhores condições de cultura para a estirpe de rotíferos *Brachionus plicatilis* existente no Oceanário de Lisboa foram atingidas com o fornecimento do alimento “*Nannochloropsis sp.* concentrado vivo PhytoBloom green formula[®]”, a 25°C de temperatura da água e com uma salinidade do meio de 16 ppm.

Tendo em consideração as diferenças entre espécies de rotíferos, e mesmo entre as estirpes desta espécie, deve prosseguir-se com cautela aquando da aplicação das condições observadas neste ensaio para outras estirpes/espécies de rotíferos.

É ainda aconselhável que, em locais onde seja requerida a produção contínua de rotíferos, sejam realizados testes em pequena escala (à semelhança deste ensaio) para averiguar quais as melhores condições para o cultivo em massa dessa estirpe em particular, de modo a produzir rotíferos de boa qualidade e em quantidades desejáveis.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado no âmbito do curso de Mestrado em Engenharia Zootécnica (UTAD), nas instalações do Oceanário de Lisboa, Portugal. Os investigadores vêm por esta forma agradecer a toda a equipa de trabalho do Oceanário de Lisboa em especial à Dr.^a Núria Baylina pela oportunidade de realizar este estudo.

Referências bibliográficas

- Altaff, K., e Janakiraman, A., 2015. Effect of temperature on mass culture of three species of zooplankton, *Brachionus plicatilis*, *Ceriodaphnia reticulata* and *Apocyclops dengizicus*.
- Ando, Y., Kobayashi, S., Sugimoto, T., e Takamaru, N., 2004. Positional distribution of n-3 highly unsaturated fatty acids in triacyl-sn-glycerols (TAG) of rotifers (*Brachionus plicatilis*) enriched with fish and seal oils TAG. *Aquaculture*, 229(1), 275-288.
- Bosque, T., Hernandez, R., Pérez, R., Todolí, R., e Oltra, R., 2001. Effects of salinity, temperature and food level on the demographic characteristics of the seawater rotifer *Synchaeta littoralis* Rousselet. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 258(1), 55-64.
- Candrea, P., Dhert, P., Novelli, A., e Brissi, D., 1996. Potential gains through alimentionation/nutrition improvements in the hatchery. In *Seabass and Seabream culture: problems and prospects. An international workshop* (Vol. 388, pp. 145-155). Verona, Italy: Spec. Publ. Eur. Aquacult. Soc.
- Cheng, S. H., Aoki, S., Maeda, M., e Hino, A., 2004. Competition between the rotifer *Brachionus rotundiformis* and the ciliate *Euplotes vannus* fed on two different microalgae. *Aquaculture*, 241(1), 331-343.
- Cheng, S. H., Kâ, S., Kumar, R., Kuo, C. S., e Hwang, J. S., 2011. Effects of salinity, food level, and the presence of microcrustacean zooplankters on the population dynamics of rotifer *Brachionus rotundiformis*. *Hydrobiologia*, 666(1), 289-299.
- Conceição, L. E., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S., e Dinis, M. T., 2010. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*, 41(5), 613-640.
- Coutteau, P., e Sorgeloos, P., 1997. Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. *Freshwater Biology*, 38(3), 501-512.
- Dhert, P., Rombaut, G., Suantika, G., e Sorgeloos, P., 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, 200(1), 129-146.
- Dhont, J., Dierckens, K., Støttrup, J., Van Stappen, G., Wille, M., e Sorgeloos, P., 2013. Rotifers, Artemia and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*, 157.

- Fielder, D. S., Purser, G. J., e Battaglione, S. C., 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 189(1), 85-99.
- Hagiwara, A., Gallardo, W. G., Assavaaree, M., Kotani, T., & De Araujo, A. B., 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture*, 200(1), 111-127.
- Howell, B. R., 1973. Marine fish culture in Britain VIII. A marine rotifer, *Brachionus plicatilis* Muller, and the larvae of the mussel, *Mytilus edulis* L., as foods for larval flatfish. *Journal du Conseil*, 35(1), 1-6.
- Ito, T., 1960. On the culture of the mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* O.F. Muller, in sea water. *Rep. Nat. Fish., Prefect. Univ. Mie*, 3: 708-740.
- Jeeja, P. K., Imelda, J., e Paulraj, R., 2011. Nutritional composition of rotifer (*Brachionus plicatilis* Muller) cultured using selected natural diets. *Indian Journal of Fisheries*, 58(2), 59-65.
- Jing, D., Yehui, Y., Yingying, Z., Kanyun, W., Haiyu, G., e Lin, L., 2014. Effects of temperature and food on population growth and reproduction of rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 4, 009.
- Korstad, J., Olsen, Y., e Vadstein, O., 1989. Life history characteristics of *Brachionus plicatilis* (Rotifera) fed different microalgae. *Em Rotifer Symposium V* (pp. 43-50). Springer Netherlands.
- Kotani, T., Genka, T., Fushimi, H., Hayashi, M., Dierckens, K., e Sorgeloos, P., 2009. Effect of cultivation methods on nutritional enrichment of euryhaline rotifer *Brachionus plicatilis*. *Fisheries Science*, 75(4), 975-984.
- Lubzens, E., 1987. Raising rotifers for use in aquaculture. In *Rotifer Symposium IV* (pp. 245-255). Springer Netherlands.
- Lucas, J. S., e Southgate, P. C., 2012. *Aquaculture: Farming aquatic animals and plants*. John Wiley e Sons.
- Øie, G., e Olsen, Y., 1997. Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding condition. In *Live Food in Aquaculture* (pp. 251-258). Springer Netherlands.

- Omori M. e Ikeda T., 1984. Feeding. *Methods in Marine Zooplankton Ecology*, pp. 134-172. John Wiley and Sons, New York.
- Oltra, R., e Todolf, R., 1997. Effects of temperature, salinity and food level on the life history traits of the marine rotifer *Synchaera cecilia valentina*, n. subsp. *Journal of plankton research*, 19(6), 693-702.
- PhytoBloom, 2013a. Phytobloom By Necton Ideal Green Water solution Ready-to-use micromicroalgae. Disponível em: <http://goo.gl/UMHIG8>
- PhytoBloom, 2013b. Phytobloom By Necton Ideal Green Water solution Ready-to-use micromicroalgae. Disponível: <http://goo.gl/98mLBJ>
- Portella, M. C., Cestarolli, M. A., Verani, J. R., e Rojas, N. E., 1997. Produção de organismos planctônicos para alimentação inicial de larvas de peixes de água doce. *Boletim Instituto de Pesca, São Paulo (Bra)*, 24, 79-89.
- Rajthilak, C., Santhanam, P., Anusuya, A., Pazhanimuthu, A., Ramkumar, R., Jeyaraj, N., e Perumal, P., 2014. Laboratory Culture and Population Growth of Brackish water Harpacticoid Copepod, *Nitokra affinis* (Gurney, 1927) under Different Temperatures, Salinities and Diets. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 6(1), 72-8.
- Rezeq, T. A., e James, C. M., 1987. Production and nutritional quality of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed marine *Chlorella sp.* at different cell densities. Em *Rotifer Symposium IV* (pp. 257-261). Springer Netherlands.
- Sarma, S. S. S., e Nandini, S., 2002. Comparative life table demography and population growth of *Brachionus macracanthus* Daday, 1905 and *Platytias quadricornis* Ehrenberg, 1832 (Rotifera, Brachionidae) in relation to microalgal (*Chlorella vulgaris*) food density. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*, 30(2-3), 128-140.
- Seychelles, L. H., Audet, C., Tremblay, R., Fournier, R., e Pernet, F., 2009. Essential fatty acid enrichment of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*, Müller) using frozen-concentrated microalgae. *Aquaculture Nutrition*, 15(4), 431-439.
- Suantika, G., Dhert, P., Nurhudah, M., e Sorgeloos, P., 2000. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system: consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. *Aquacultural Engineering*, 21(3), 201-213.

- Suchar, V. A., e Chigbu, P., 2006. The effects of microalgae species and densities on the population growth of the marine rotifer, *Colurella dicentra*. Journal of experimental marine biology and ecology, 337(1), 96-102.
- Szyper, J. P., 1989. Nutritional depletion of the aquaculture feed organisms *Euterpina acutifrons*, *Artemia sp.* and *Brachionus plicatilis* during starvation. Journal of the World Aquaculture Society, 20(3), 162-169.
- Viayeh, R. M., e Mohammadi, H., 2012. An experimental study on food and salinity preferences of two *Brachionus plicatilis* rotifer strains from Iran. African Journal of Aquatic Science, 37(1), 101-106.
- Walczyńska, A., e Serra, M., 2014. Inter-and intraspecific relationships between performance and temperature in a cryptic species complex of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Hydrobiologia, 734(1), 17-26.
- Watanabe, T., Kitajima, C., e Fujita, S., 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture, 34(1), 115-143.
- Watanabe, T., 1985. Nutritional quality of live food organism and their enrichment. Central Marine Fisheries Research Institute, Cochin.
- Yin, X. W., Min, W. W., Lin, H. J., e Chen, W., 2013. Population dynamics, protein content, and lipid composition of *Brachionus plicatilis* fed artificial macromicrobial detritus and *Nannochloropsis sp.* diets. Aquaculture, 380, 62-69.