

CULTIVO DE ROTÍFERO *Brachionus plicatilis* (MÜLLER, 1786) COM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS E DIETA FORMULADA

Cultivation of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) with different microalgae species and formulated feed

Wanessa de Melo Costa¹, Januária Cavalcanti Cezar de Albuquerque², Marina Bezerra Figueiredo³, Anna Maria Alencar Cavalcanti⁴, Gláucia Andreza de Brito da Silva⁴, Alfredo Olivera Gálvez⁵, Isabela Bacalhau de Oliveira⁶

RESUMO

O presente trabalho consta de dois experimentos os quais avaliaram o cultivo do rotífero *Brachionus plicatilis* através da densidade populacional, taxas de crescimento e reprodutiva e produção de ovos. O experimento 1 foi realizado com três tratamentos: diferentes espécies de microalgas: *Chaetoceros calcitrans*, na densidade de $2,5 \times 10^4$ cél.mL⁻¹, *Isochrysis galbana* e *Nannochloropsis* sp., na densidade 5×10^4 cél.mL⁻¹ para ambas as espécies. Apesar de não haver diferenças significativas entre os tratamentos com as diferentes espécies de microalgas, pode-se concluir que a microalga *I. galbana* é mais eficaz no cultivo de rotíferos. No experimento 2, com dieta formulada Culture Selco®Plus (CSP) as densidades iniciais de rotíferos foram: 250, 150 e 50 rotíferos.mL⁻¹, tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente. Observou-se maior densidade populacional ao final do cultivo (média de 122 rotíferos.mL⁻¹) quando a densidade inicial foi 250 rotíferos.mL⁻¹ ($p < 0,05$). No tratamento 3, a taxa de crescimento populacional e taxa de duplicação obtiveram valores positivos ($0,11 \pm 0,09$). A taxa reprodutiva foi superior a 0,25 nos tratamentos 2 e 3. A média dos valores de amônia ao final do experimento 2 foram inferiores às recomendadas pela literatura. As densidades iniciais de rotíferos no cultivo influenciam a densidade populacional, e taxas de crescimento e reprodutiva do rotífero *B. plicatilis* alimentado com CSP.

Palavras-chaves: rotífero, *Brachionus plicatilis*, cultivo, microalgas, dieta formulada, Culture Selco Plus.

ABSTRACT

The present study with two experiments evaluated the *Brachionus plicatilis* rotifer culture through population density, growth and reproductive rate and egg production. The experiment one was carried out with three microalgae species: *Chaetoceros calcitrans*, in density of 2.5×10^4 cells.mL⁻¹, and *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis* sp., in density of 5×10^4 cells.mL⁻¹ for both species. There was not statistically-significant difference between treatments with the microalgae species so that microalgae *I. galbana* was shown to be more efficient in rotifer culture. In experiment two, with formulated feed Culture Selco®Plus (CSP), the initial rotifer densities were 250, 150 e 50 rotifers.mL⁻¹, treatments 1, 2 and 3, respectively. The highest final density (mean 122 rotifers.mL⁻¹) was recorded when the initial density was 250 rotifers.mL⁻¹ ($p < 0.05$). In treatment 3, the rate of population growth rate and duplication received positive values (0.11 ± 0.09). The rate was higher at 0.25 reproductive treatments 2 and 3. Mean values of ammonia at the end of experiment 2 were lower than those recommended by literature. The initial densities of rotifers in the culture influence in population density and rates of growth and reproduction of rotifers *B. plicatilis* fed CSP.

Key words: rotifer, *Brachionus plicatilis*, cultivation, microalgae, formulated feed, Culture Selco Plus.

¹ Mestre em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura do Departamento de Pesca e Aqüicultura Universidade Federal Rural de Pernambuco, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Recife, PE, 52171900. Fone: 81-3320-6504. Fax: 81-3320-6502. wanessademelo@gmail.com

² Engenheira de Pesca pela Universidade Federal Rural de Pernambuco. janu_fishsp3@hotmail

³ Mestre em Rec. Pesqueiros e Aqüicultura pela Universidade Federal Rural de Pernambuco. marina_fig@hotmail.com

⁴ Graduandas em Engenharia de Pesca da Universidade Federal Rural de Pernambuco

⁵ Professor adjunto da Universidade Federal Rural de Pernambuco. alfredo_oliv@yahoo.com

⁶ Departamento de Pesca e Aqüicultura Universidade Federal Rural de Pernambuco, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Recife, PE, 52171900. Fone: 81-3320-6504. Fax: 81-3320-6502. isabelabacalhau@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Durante anos, rotíferos e náuplios de *Artemia* vêm sendo utilizados como alimento inicial para larvas de peixes marinhos. Os náuplios de *Artemia* também são utilizados comercialmente para cultivar larvas de camarão marinho e peixes de água doce. Outros zooplânctons como copépodos, protozoários e larvas de ostras também são utilizados, porém rotíferos, cladóceros e microcrustáceos têm-se mostrado mais eficientes (Hoff & Snell, 2004).

O rotífero *Brachionus plicatilis* é indispensável na larvicultura de uma grande variedade de peixes marinhos devido a características como pequeno tamanho (120-300 µm), reduzida mobilidade e permanência na coluna d'água, capacidade de produção em larga escala, facilidade de manejo em termos de assimilação de substâncias enriquecedoras e bactericidas, e ampla faixa de tolerância a mudanças no meio de cultivo (Giliberto & Mazzola, 1981; Hirayama, 1985; Sorgeloos & Léger, 1992; Lubzens *et al.*, 2001; Hoff & Snell, 2004).

Dhert *et al.* (2001) afirmam que as microalgas de boa qualidade, quando disponibilizadas em grandes quantidades, constituem-se numa excelente dieta para os rotíferos, principalmente por fornecerem altos níveis de ácidos graxos essenciais. Dentre as várias espécies de microalgas, o conteúdo específico de ácidos graxos essenciais DHA 22:6 ω-3 em *Isochrysis galbana*, e seu relativamente fácil cultivo em larga escala a faz ser um atrativo em laboratórios comerciais (Lubzens *et al.*, 1985; Whyte & Nagata, 1990; Sukenik & Wahnou, 1991; Mourente *et al.*, 1993, *apud* Dhert *et al.*, 2001). Porém, na maior parte do tempo, a produção de algas demanda muito trabalho, não sendo economicamente viáveis para a alimentação de rotíferos (Coutteau & Sorgeloos, 1997).

A dieta formulada mais frequentemente usada na Europa para o cultivo de rotíferos é Culture Selco® utilizável na forma seca. Ela tem sido formulada como um completo substituto para microalga viva e ao mesmo tempo garante a incorporação de altos níveis de EFA (ácidos graxos essenciais) e vitaminas nos rotíferos. A composição bioquímica da dieta formulada Culture Selco® consiste de 45% de proteínas, 30% de carboidratos, 15% de lipídeos (33% dos quais são (ω-3) HUFA - ácidos graxos altamente insaturados), e 7% de cinzas. As características físicas são ótimas para a tomada pelos rotíferos: a partícula, tendo 7 µm de tamanho, permanece em suspensão na coluna d'água com uma relativamente forte aeração e não lixivia (Dhert, 1996).

Vários estudos foram realizados de forma a melhorar a qualidade e a produção de rotíferos, enfocando a utilização de emulsões de lipídios, microalgas, leveduras e várias dietas inertes (Mourente *et al.*, 1993; Lie *et al.*, 1997; Kostopoulou *et al.*, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o cultivo de rotíferos *Brachionus plicatilis*, alimentados com microalgas e dieta formulada, através do crescimento populacional, taxas de crescimento e reprodutiva, tempo de duplicação e produção de ovos.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram realizados com rotíferos *B. plicatilis* alimentados com três espécies de microalgas e com dieta formulada (CSP - Culture Selco® Plus, INVE N.V., Bélgica). O experimento 1 foi conduzido no Laboratório de Maricultura Sustentável (LAMARSU) e o experimento 2, no Laboratório de Produção de Alimento Vivo (LAPAVI), ambos pertencentes ao Departamento de Pesca e Aqüicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A cepa de *B. plicatilis* foi obtida no Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPMAR) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sendo mantida no LAPAVI para fins experimentais.

No experimento 1, com duração de 15 dias em béqueres de 250 mL, os rotíferos foram alimentados com três espécies de microalgas: *Chaetoceros calcitrans*, na densidade de $2,5 \times 10^4$ cél.mL⁻¹ (tratamento 1), *Isochrysis galbana* (tratamento 2) e *Nannochloropsis* sp. (tratamento 3) na densidade 5×10^4 cél.mL⁻¹ para ambas as espécies. A iluminação foi mantida constante e a temperatura se manteve em $21 \pm 1^\circ\text{C}$. A densidade inicial foi de 5 rotíferos.mL⁻¹. A água do mar, previamente filtrada em areia e em filtro tipo cartucho com porosidade de 3 µm, possuía salinidade inicial de 34 ± 1 .

As microalgas foram provenientes do banco de cepas do LAPAVI, onde são rotineiramente mantidas utilizando o tipo de cultivo semi-contínuo com meio Conway (Walne, 1974). As microalgas utilizadas no experimento se encontravam na fase exponencial de crescimento. Em cada unidade experimental, a quantidade residual de microalgas (não consumidas pelos rotíferos) foi estimada diariamente a partir do segundo dia de cultivo com uma câmara de Neubauer. Desta forma, através da determinação da densidade celular, foi calculado o volume do meio de cultivo de microalga a ser adicionado em cada uma das unidades de cultivo de rotíferos.

No experimento 2, os rotíferos foram alimentados com dieta formulada CSP durante três dias, sendo estabelecidas três diferentes densidades iniciais como tratamentos: 250 rotíferos.mL⁻¹ (Tratamento 1); 150 rotíferos.mL⁻¹ (Tratamento 2) e 50 rotíferos.mL⁻¹ (Tratamento 3). A dieta formulada foi fornecida de acordo com as especificações do fabricante, ou seja, 0,7, 0,5 e 0,4 g de CSP para cada milhão de rotíferos nos dias 1, 2 e 3, respectivamente. No quarto dia de experimento foi realizada a última contagem da densidade populacional e coleta dos rotíferos.

Os rotíferos do experimento 2 foram cultivados em recipientes plásticos transparentes cilíndrico-cônicos, com volume útil de 1,5 L. Uma pedra porosa, colocada no centro de cada recipiente, fornecia aeração constante. Lâmpadas fluorescentes proviam cerca de 3000 lux, num fotoperíodo de 24 h de luz diárias. A água do mar, com salinidade original de 34 e previamente filtrada em areia e em filtro tipo cartucho com porosidade de 3 µm foi misturada à água destilada para obter salinidade de 20, de acordo com o protocolo de cultivo de rotíferos com CSP.

Amostras da água do mar do primeiro e do último dia do experimento 2 foram obtidas para posterior análise dos compostos nitrogenados: nitrogênio amoniacal (NH₄+NH₃) segundo Koroleff (1976), nitrito (NO₂) e nitrato (NO₃) de acordo com Mackerett & Heron (1978).

Para avaliar o crescimento populacional de *B. plicatilis* foram feitas contagens diárias dos indivíduos de cada unidade experimental, em câmara de Sedgewick-Rafter através de uma sub-amostra, fixada em formalina a 4%, de cada unidade experimental. Nesta oportunidade também foi estimada a quantidade de ovos para analisar a produção de múltiplos ovos.

A taxa de crescimento populacional (*r*) foi estimada pela equação: $r = (\ln N_1 - \ln N_0) / t$ (Omori & Ikeda, 1984), onde *N*₀ = densidade inicial indivíduos.mL⁻¹, *N*₁ = densidade final; *t* = período de cultivo (dias). O tempo de duplicação (*d*) foi calculado de acordo com a equação: $d = \ln 2 / r$ e a taxa reprodutiva em número de ovos por fêmea (*O/F*).

Diariamente, foram mensuradas as variáveis oxigênio dissolvido e temperatura com um analisador multiparâmetro (YSI 55, EUA), enquanto a salinidade e o pH foram medidos com refratômetro (Atago, S10-E) e medidor

de pH eletrônico (pH Meter Tec-2, Tecnal), respectivamente.

Foi aplicado o delineamento estatístico inteiramente casualizado da Análise de Variância (ANOVA), com três tratamentos e três repetições, precedida dos testes recomendáveis, através do Programa Statistic 6.0. Diferenças significativas entre as médias (*p*<0,05) foram avaliadas pelo teste de Duncan. Para valores com distribuição não-paramétrica, utilizou-se teste de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados relativos a taxas de crescimento populacional e reprodutiva, tempo de duplicação, produção de ovos e qualidade de água, estão descritos a seguir. As variáveis hidrológicas salinidade, temperatura, pH e oxigênio dissolvido não apresentaram variações significativas ao longo dos dois experimentos.

Pode-se observar um crescimento discreto na curva da densidade populacional do experimento 1, nos sete primeiros dias, período correspondente à fase *lag* que, segundo Pousão-Ferreira (1995), indica uma adaptação dos organismos ao meio. A partir do 8º dia de cultivo, os rotíferos alimentados com *Isochrysis galbana* conseguiram manter as mais altas densidades (*p*<0,05) com máxima de 599 ± 59,2 rotíferos.mL⁻¹, no 11º dia de cultivo (Figura 1). Gallardo *et al.* (2000), em experimento realizado durante 16 dias com ácido gama-aminobutírico (GABA), encontraram densidades de cerca de 200 rotíferos.mL⁻¹.

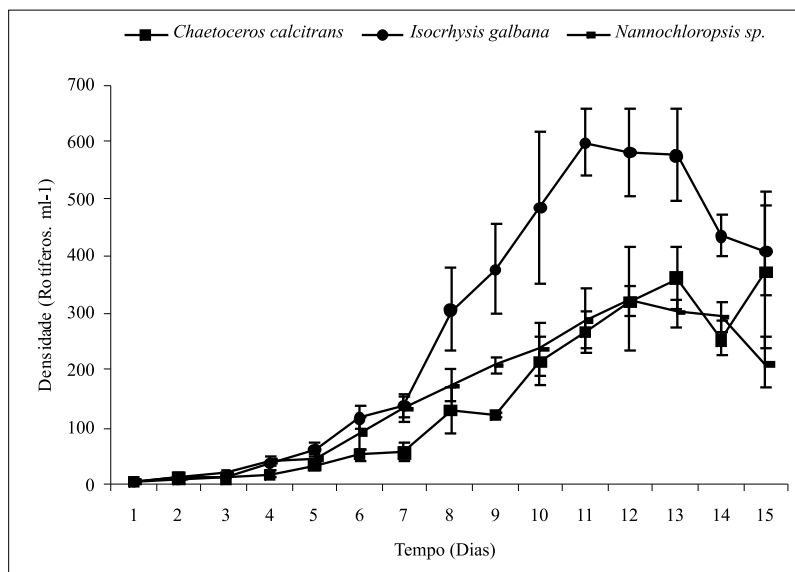


Figura 1 - Densidade populacional de *Brachionus plicatilis* durante o cultivo com diferentes espécies de microalgas. Cada ponto representa a média de quatro réplicas e desvio padrão (experimento 1).

Com relação à densidade populacional de rotíferos no experimento 2, houve diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) e o tratamento 1 obteve densidade mais alta ($122 \pm 35,0$ rotíferos.mL⁻¹) (Tabela I).

Embora a densidade populacional final mais alta tenha ocorrido no tratamento 1, de acordo com as especificações do produto utilizado neste experimento (Culture Selco® Plus), quando inoculados com 250 rotíferos.mL⁻¹ (dia 0), as densidades deveriam ser de 400 rotíferos.mL⁻¹ no dia 1, de 700 rotíferos.mL⁻¹ no dia 2 e de 1200 rotíferos.mL⁻¹ no dia 3, desde que as variáveis ambientais estivessem de acordo com as especificadas no produto. Ao contrário do padrão de densidade esperado, os tratamentos 1 e 2, ao final do experimento, encontraram-se com a metade da densidade populacional inicial (Tabela I).

Tabela I - Densidade populacional final (rotíferos.mL⁻¹) de *Brachionus plicatilis* alimentados com dieta formulada e cultivados com diferentes densidades populacionais iniciais (experimento 2) (média ± desvio padrão).

Densidade inicial de rotífero (rot.mL ⁻¹) no dia 0	Dia		
	1	2	3
Tratamento 1 - 250	242 ± 39,5 ^a	222 ± 14,0 ^a	122 ± 35,0 ^a
Tratamento 2 - 150	236 ± 36,1 ^a	137 ± 99,8 ^b	80 ± 17,0 ^{a,b}
Tratamento 3 - 50	61 ± 24,6 ^b	55 ± 25,6 ^c	83 ± 7,5 ^{a,b}

Observação: letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente entre tratamentos.

Em geral, os valores de r da maioria das espécies de rotíferos variam de 0,2 a 2 por dia, dependendo da espécie e da quantidade de alimento fornecida (Sarma et al., 2001). Entre as espécies de *Brachionus*, *B. plicatilis* e *B. calyciflorus* ocorrem taxas de crescimento mais altas que 0,5 por dia (Sarma et al., 2001), mas isto não foi observado nos presentes experimentos (Tabela II).

Utilizando sistema de recirculação, Suantika et al. (2003) encontraram taxas de 500 rotíferos.mL⁻¹ para indivíduos alimentados com Culture Selco de 0,50, portanto, superiores às encontradas no presente estudo, possivelmente devido às taxas iniciais de densidade, que foram de 250, 150 e 50 rotíferos.mL⁻¹. O fato de um sistema de recirculação promover um cultivo estável devido à estabilidade das variáveis hidrológicas não pode ser considerado neste caso, porque no presente experimento também não houve variação brusca nas variáveis hidrológicas.

A qualidade da água do cultivo do experimento 1 foi analisada de acordo com os compostos nitrogenados: nitrogênio amoniacal (NH₄+NH₃), nitrito (NO₂) e nitrato (NO₃) das amostras coletadas no final do cultivo. A média dos valores iniciais desses compostos foram 0,00 mg.L⁻¹ de NH₄+NH₃, 0,00 mg.L⁻¹ de NO₂ e 0,007 mg.L⁻¹ de NO₃.

Altos níveis de amônia não-ionizada são tóxicos para rotíferos, mas, se cultivados em condições com concentrações de NH₃ inferiores a 1 mg.L⁻¹, parece ser seguro (Dhert, 1996), com a recomendação de que o nível de amônia livre (tóxica) nos cultivos de rotíferos não exceda 1 mg.L⁻¹ (Hoff & Snell, 2004). No presente experimento, nos tratamentos 1 e 3, os níveis de NH₃ foram inferiores ao recomendado por esses autores, visto que a média de NH₄+NH₃ foi de 0,883 ± 0,13 e 0,025 ± 0,03, respectivamente (Tabela III).

Durante a fase exponencial do cultivo, uma taxa reprodutiva abaixo de 0,25 indica que o cultivo não está em boas condições e provavelmente se manterá estável ou cairá. Isto normalmente está associado à má qualidade ou à baixa quantidade de alimento, ou ainda, a condições ambientais desfavoráveis

Tabela III - Compostos nitrogenados ao final do cultivo de *Brachionus plicatilis* alimentado com dieta formulada (experimento 2) (média ± desvio padrão)

Densidade inicial de rotífero (rot.mL ⁻¹)	NH ₄ +NH ₃ (mg.L ⁻¹)	NO ₂ (mg.L ⁻¹)	NO ₃ (mg.L ⁻¹)
Tratamento 1 - 250	0,883 ± 0,13 ^b	0,005 ± 0,00 ^b	0,099 ± 0,03 ^b
Tratamento 2 - 150	1,060 ± 0,09 ^b	0,003 ± 0,00 ^{a,b}	0,090 ± 0,02 ^b
Tratamento 3 - 50	0,025 ± 0,03 ^a	0,001 ± 0,00 ^a	0,028 ± 0,03 ^a

Observação: letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente entre tratamentos.

Tabela II - Taxa de crescimento populacional e tempo de duplicação de *Brachionus plicatilis* alimentados com diferentes espécies de microalgas (experimento 1) e dieta formulada (experimento 2) (média ± desvio padrão)

Tratamentos	Taxa de crescimento (duplicação/dia)	Tempo de duplicação (dias/duplicação)
Experimento 1 - Microalga		
Tratamento 1 - <i>Chaetoceros calcitrans</i>	0,11 ± 0,02 ^a	11,09 ± 22,91 ^a
Tratamento 2 - <i>Isochrysis galbana</i>	0,07 ± 0,20 ^a	22,88 ± 32,66 ^b
Tratamento 3 - <i>Nannochloropsis</i> sp.	0,06 ± 0,21 ^a	-19,30 ± 74,99 ^c
Experimento 2 - densidade inicial de rotífero (rot.mL ⁻¹)		
Tratamento 1 - 250	-0,17 ± 0,08 ^b	-4,12 ± 1,42 ^b
Tratamento 2 - 150	-0,17 ± 0,07 ^b	-4,65 ± 1,76 ^b
Tratamento 3 - 50	0,11 ± 0,09 ^a	5,62 ± 0,99 ^a

Observação: letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente nos diferentes experimentos.

(Arancibia & Medel, 2005). No experimento 1, as taxas reprodutivas foram superiores a 0,25 em todos os tratamentos, enquanto no experimento 2 foram superiores apenas nos tratamentos 2 e 3 indicando, de acordo com esses autores, boas condições alimentar e ambiental no cultivo (Tabela IV).

Tabela IV - Taxa reprodutiva de *Brachionus plicatilis* alimentado com diferentes espécies de microalgas (experimento 1) e com dieta formulada (experimento 2) (média ± desvio padrão)

Experimentos	Taxa reprodutiva (ovos/fêmea)
Experimento 1 - Microalga	
Tratamento 1 - <i>Chaetoceros calcitrans</i>	0,30±0,09 ^a
Tratamento 2 - <i>Isochrysis galbana</i>	0,29±0,15 ^a
Tratamento 3 - <i>Nannochloropsis</i> sp.	0,28±0,13 ^a
Experimento 2 - Densidade inicial de rotífero	
Tratamento 1 - 250 rotíferos.mL ⁻¹	0,13±0,07 ^a
Tratamento 2 - 150 rotíferos.mL ⁻¹	0,34±0,60 ^a
Tratamento 3 - 50 rotíferos.mL ⁻¹	0,42±0,39 ^a

Observação: letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente nos diferentes experimentos.

Kostopoulou *et al.* (2006) afirmaram que rotíferos alimentados com levedura e Culture Selco possuem um maior número de fêmeas com múltiplos ovos. Porém, este fato não foi confirmado no experimento 2, visto que foi observada apenas uma fêmea com dois ovos, no segundo dia do tratamento 1. Entretanto, no experimento 1, todos os tratamentos apresentaram fêmeas com dois ovos a partir do segundo dia de cultivo, e nos tratamentos 2 e 3 foram encontradas fêmeas com quatro ovos.

As taxas reprodutivas de rotíferos são fortemente afetadas pelo alimento oferecido durante o cultivo. O tamanho das partículas e a espécie da microalga determinam essas taxas em *B. plicatilis* (Whyte & Nagata, 1990; Fulks & Main, 1991; Snell, 1991; Tamaru *et al.*, 1991; Nagata & Whyte, 1992; Vadstein *et al.*, 1993; Hansen *et al.*, 1997 *apud* Lubzens *et al.*, 2001).

CONCLUSÃO

A densidade populacional, as taxas de crescimento e reprodutiva, e a produção de ovos de rotíferos *Brachionus plicatilis* alimentados com dieta formulada Culture Selco® Plus variam de acordo com as densidades iniciais de rotíferos no cultivo. A espécie de microalga *Isochrysis galbana* é mais eficiente no cultivo de rotíferos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arancibia, A.S. & Medel, A.V. Cultivo de alimento vivo para larvas de pezes marinos, p.478-517, in Arancibia, A.S. (ed.), *Cultivo de pezes marinos*. ImprentaImagen, Facultad de Ciências del Mar, Coquimbo, 2005.

Dhert, P., in Lavens, P. & Sorgeloos, P. Manual on the production and use live food for aquaculture. *FAO Fish. Tech. Pap.*, Rome, n.361, p.1-295, 1996.

Dhert, P.; Rombaut, G.; Suantika, G. & Sorgeloos, P. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*, v.200, p.29-146, 2001.

Giliberto, S. & Mazzola, A. Mass culture of *Brachionus plicatilis* with integrated system of *Tetraselmis suecica* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J.W. Mar. Soc.*, v.12, n.2, p.61-62, 1981.

Hirayama, K. Biological aspects of the rotifer *Brachionus plicatilis* as a food organism for mass culture of seeding. *Coll. Franco-Japonais Océanogr.*, v.8, p.41-50, 1985.

Hoff, F.H. & Snell, T.W. *Plankton culture manual*. Florida Aqua Farms, Inc., 6th edition, 181 p., 2004.

Koroleff, F. Determination of nutrients, p.117-187, in Grasshof, K. (ed.), *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie Weinheim, 1976.

Kostopoulou, V.; Miliou, H.; Katis, G. & Verriopoulos, G. Changes in the population structure of the lineage 'nevada' belonging to the *Brachionus plicatilis* species complex, batch-cultured under different feeding regimes. *Aquac. Intern.*, v.14, p.451-466, 2006.

Lie, Ø.; Haaland, H.; Hemre, G.I.; Maage, A.; Lied, E.; Rosenlund, G.; Sandnes, K. & Olsen, Y. Nutritional composition of rotifers following a change in diet from yeast and emulsified oil to microalgae. *Aquac. Intern.*, v.5, p.427-438, 1997.

Lubzens, E.; Zmora, O. & Barr, Y. Biotechnology and aquaculture of rotifers. *Hydrobiology*, v.446/447, p.337-353, 2001.

Mackerett, F.H. & Heron, J.F. *Water analysis: some revised methods for limnologist*. Scientific Publications, 121 p., London, 1978.

Mourente, G., Rodriguez, A.; Tocher, D. R. & Sargent, J.R. Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA;22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L) larvae during first feeding. *Aquaculture*, v.112, p.79-98, 1993.

Omori, M. & Ikeda, T. *Methods in marine zooplankton ecology*. Wiley, 332 p., New York, 1984.

Pousão-Ferreira, P. Produção da cadeia alimentar para peixes marinhos. Portugal. (IPIMAR/CIMSul). Relatório de provas de acesso à carreira de investigação. 1995. Data da consulta: 05/03/2007. Disponível em <http://ipimar-iniap.ipimar.pt/crips/estacao_piscicultura>.

Sarma, S.S.; Larios-Jurado, P.S. & Nandini, S. Effect of the three food types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus*

patulus (Rotifera: Brachionidae). *Rev. Biol. Trop.*, v.49, p.75-82, 2001.

Sorgeloos, P. & Léger, P. Improved larviculture outputs of marine fish, shrimp and prawn. *J. W. Aquac. Soc.*, v.23. n.4, p.251-264, 1992.

Suantika, G.; Dhert, P.; Sweetman, E.; O'brien, E. & Sorgeloos, P. Technical and economical feasibility of a rotifer recirculation system. *Aquaculture*, v.227, p.173-189, 2003.

Walne, P. *Culture of bivalve mollusc, 50 years experience at Conway*. Fishing News (Books), 173 p., Farham, 1974.