

**ENRIQUECIMENTO DE ARTÊMIAS COM
ÁCIDOS GRAXOS PARA ESTUDOS DE
SUPLEMENTAÇÃO EM LARVAS DE PEIXE**

FELIPE GUEDES DE ARAÚJO

2007

FELIPE GUEDES DE ARAÚJO

**ENRIQUECIMENTO DE ARTÊMIAS COM ÁCIDOS GRAXOS PARA
ESTUDOS DE SUPLEMENTAÇÃO EM LARVAS DE PEIXE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora
Profª. Dra. Priscila Vieira Rosa Logato

**LAVRAS
MINAS GERAIS
2007**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Araújo, Felipe Guedes

Enriquecimento de artêmias com ácidos graxos para estudos de
suplementação em larvas de peixe / Felipe Guedes Araújo. -- Lavras : UFLA,
2007.

93 p. : il.

Orientador: Priscila Vieira Rosa Logato.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Curimba. 2. Enriquecimento. 3. Artêmias. 4. DHA. 5. Araquidônico. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-639.375

FELIPE GUEDES DE ARAÚJO

**ENRIQUECIMENTO DE ARTÊMIAS COM ÁCIDOS GRAXOS PARA
ESTUDOS DE SUPLEMENTAÇÃO EM LARVAS DE PEIXE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em zootecnia, área de concentração em nutrição de monogástricos para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 6 de março de 2007

Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas UFLA

Prof. Dr. Luiz David Solis Murgas UFLA

Prof. Dr. Henrique César Pereira Figueiredo UFLA

Prof. Dr. Mario César Guerreiro UFLA

Profa. Dra. Priscila Viera Rosa Logato
UFLA
(Orientadora)

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2007**

"Ousar é perder o equilíbrio momentaneamente.

Não ousar é perder-se"

Sören Kierkegaard,

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a minha família, por ter me apoiado e por ter
compreendido minha ausência.*

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, que me acolheram, durante a graduação e mestrado, por todo suporte e apoio concedidos.

À professora Priscila Viera Rosa Logato a minha mais profunda gratidão, pela confiança, amizade e constante incentivo.

Aos meus co-orientadores, professores Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, Luis David Solis Murgas, pelas sugestões, pela amizade e pela orientação no trabalho.

Ao professor Mario César Guerreiro, pela orientação e auxílio nas análises cromatográficas e pelo exemplo de dedicação.

Ao professor Henrique César Pereira, pelas sugestões e apoio.

Ao funcionário do DQI Hederson Garcia, pela amizade e pela ajuda nas análises cromatográficas.

Aos funcionários do Setor de Piscicultura Eleci Pereira e José Roberto dos Santos, pelo apoio e amizade.

Aos colegas Daniel Okamura e Ulisses Simon da Silveira, pela valiosa ajuda durante o projeto nos momentos de maior dificuldade e pela amizade.

Aos colegas do Naqua, em especial a Paula Perez Ribeiro, pela ajuda na pesagem das larvas.

Aos funcionários da Cemig, por ter nos recebido de forma tão hospitaleira e fraterna.

A minha namorada, Sabrina, pelo companheirismo, compreensão e dedicação incondicionais.

À Capes, pelo suporte financeiro.

Ao IEF, pelo financiamento do projeto.

A Martek biosciences, pela doação dos óleos e a DMS, pela doação da vitamina E.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a minha formação e para a realização deste trabalho

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE QUADROS	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	v
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3 REFERENCIAL TEÓRICO	4
3.1 Os lipídeos e sua importância na nutrição dos peixes.....	4
3.2 O ácido araquidônico e a síntese de eicosanoides.....	11
3.3 Características das larvas de peixe.....	13
3.4 O uso de alimentos vivos na larvicultura.....	15
3.5 Artêmia	17
3.6 Enriquecimento de artêmia	19
3.7 A curimba	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Local	23
4.2 Larvicultura.....	23
4.3 Dietas experimentais.....	24
4.4 Enriquecimento de artêmia com as diferentes emulsões experimentais	26
4.5 Variáveis analisadas.....	27
4.5.1 Desenvolvimento larval	27
4.5.2 Análises cromatográficas	28
4.6 Análise estatística	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30

5.1 Condições experimentais	30
5.2 Análise das emulsões experimentais.....	30
5.3 Análise das artêmias enriquecidas	31
5.4 Análise das larvas de curimba.....	36
5.5 Avaliação do desempenho das larvas de curimba.....	44
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
7 CONCLUSÕES	54
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXOS	64

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Elongação e dessaturação dos ácidos linolênico e linoléico	9
---	---

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 Diferentes ácidos graxos e suas classificações	5
QUADRO 2 Composição aminoacídica de náuplios de artêmia (mg/g de proteína).....	18
QUADRO 3 Variabilidade e amplitude do teor (%) de C20:5n-3 em artêmias de diferentes origens.....	19

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Composição das sete diferentes emulsões experimentais por 100g do produto.....	26
TABELA 2 Teor (%) dos principais ácidos graxos da fração lipídica das emulsões experimentais.....	31
TABELA 3 Teor de alguns ácidos graxos (%) na fração lipídica de artêmias enriquecidas com as diferentes emulsões experimentais e náuplios recém eclodidos.....	33
TABELA 4 Relações entre alguns ácidos graxos das artêmias enriquecidas.....	35
TABELA 5 Teor de alguns ácidos graxos na fração lipídica de larvas de <i>Prochilodus lineatus</i> , alimentadas com <i>artêmia</i> enriquecida, com diferentes emulsões, ao oitavo dia de experimento (coleta intermediária).....	37
TABELA 6 Teor de alguns ácidos graxos na fração lipídica de larvas de <i>Prochilodus lineatus</i> alimentadas com <i>artêmia</i> enriquecida com diferentes emulsões ao décimo sexto dia de experimento (coleta final).....	39
TABELA 7 Teor de alguns ácidos graxos na fração lipídica de larvas de <i>Prochilodus lineatus</i> , em três diferentes fases do experimento.....	41
TABELA 8 Relações entre alguns ácidos graxos de interesse das larvas de curimba ao 16° dia (coleta final).....	43
TABELA 9 Comprimento padrão médio (mm) das larvas de curimba nas fases inicial (1° dia), intermediária (8° dia) e final (16° dia).....	48
TABELA 10 Peso médio (matéria natural) das larvas de curimba nas fases intermediária (8° dia) e final (16° dia).....	49
TABELA 11 Distribuição percentual das larvas, ao 16° dia de experimento, em três diferentes fases do desenvolvimento larval.....	50

TABELA 12 Sobrevivência final das larvas submetidas aos diferentes tratamentos	51
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ARA	Ácido araquidônico	C20:4n-6
EPA	Ácido eicosapentaenóico	C20:5n-3
DHA	Ácido docosaexaenóico	C22:6n-3
SAFA	<i>Saturated fatty acid</i>	Ácidos graxos saturados
MUFA	<i>Monounsaturated fatty acid</i>	Ácidos graxos monoinsaturados
PUFA	<i>Polyunsaturated fatty acid</i>	Ácidos graxos poliinsaturados
HUFA	<i>Highly unsaturated fatty acid</i>	Ácidos graxos altamente insaturados
C.P.	Comprimento padrão	
COX	Ciclooxigenase	
PGI ₂	Prostaciclina I ₂	
PG	Prostaglandina	
HPETE	Ácido hidroperoxieicosatetraenoico	
LT	Leucotrieno	
FID	<i>Flame Ionisation Detector</i>	Detector de ionização de chama

RESUMO

ARAÚJO, Felipe Guedes. **Enriquecimento de artêmias com ácidos graxos para estudos de suplementação em larvas de peixe**. 2007. 93 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Foram estudadas no presente trabalho, as alterações no perfil lipídico de *Artemia salina* após 16 horas de enriquecimento com emulsões contendo variadas concentrações dos ácidos docosaexaenóico (DHA) e araquidônico (ARA) e os efeitos do fornecimento do alimento enriquecido sobre o perfil lipídico, desempenho e sobrevivência de larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*), uma espécie onívora tropical de água doce. O experimento foi executado na Estação Ambiental de Volta Grande da CEMIG, em conceição das Alagoas, MG. Foram elaboradas sete emulsões experimentais contendo dois níveis de araquidônico: T1 = 22,7% e T2 = 41,58% (% nos lipídeos totais); dois níveis de docosaexaenóico: T5= 21,7% e T6 = 39,41%, duas combinações de ARA e DHA sendo: T3 = 3:1 ARA/DHA (31,30% ARA; 10,07% DHA) e T4 = 1:3 ARA/DHA (12,95% ARA 30,18% DHA) e um controle à base de óleo de oliva: T7 = 68,65% de oléico. Houve alterações significativas no perfil lipídico das artêmias após o enriquecimento (Tukey $p < 0,05$). A concentração de DHA variou de 0,04% (% nos lipídeos totais) até 6,64% nas artêmias dos tratamentos T7 e T6, respectivamente e de 0,43% até 8,60% de ARA nos tratamentos T7 e T2, respectivamente. A presença de DHA nas emulsões parece ter favorecido a incorporação de ARA nas artêmias indicando um sinergismo entre estes ácidos. O perfil lipídico das larvas variou em conformidade com a dieta oferecida (Tukey $p < 0,05$), tanto na coleta intermediária (8º dia de execução do experimento) quanto na coleta final (16º dia). O desempenho das larvas foi alterado de forma significativa pelos tratamentos. Na coleta final, o comprimento padrão das larvas foi maior ($p = 0,0636$ Tukey) nos tratamentos T4 ($9,36 \pm 0,34$ mm) e T5 ($9,27 \pm 0,23$ mm). O peso (matéria natural) das larvas teve diferença significativa apenas na amostragem intermediária, onde o T3, T4, T5 e T7 se destacaram dos demais por terem gerado as larvas mais pesadas ($p < 0,05$). A sobrevivência não foi alterada pelas dietas ($p < 0,05$). Na coleta final, pôde-se constatar um melhor desenvolvimento ($p = 0,0793$) das larvas que receberam os tratamentos T5 e T4 que continham maior número de larvas em estágio de pós-flexão (18,13% e 18,24%, respectivamente). Com o presente trabalho conclui-se que: embora a curimba seja uma espécie tropical de água doce, as sua larvas têm seu desempenho e desenvolvimento influenciados pelo fornecimento de artêmia enriquecida com DHA e ARA, sendo os resultados mais positivos obtidos com os tratamentos T4 e T5.

Comitê Orientador: Priscila Vieira Rosa Logato - UFLA (Orientadora), Luis David Solis Murgas - UFLA; Rilke Tadeu Fonseca de Freitas – UFLA

ABSTRACT

ARAÚJO, Felipe Guedes. **Artemia enrichment with fatty acids for supplementation studies in fish larvae**. 2007. 93 p. Dissertation (Master program in animal science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

This work aimed to evaluate the alterations in *Artemia salina* lipid profile, after enrichment (16 hours) with experimental emulsions containing different concentrations of docosahexaenoic (DHA) and arachidonic acids (ARA), and the effects on growth, survival and fatty acids profile of curimba (*Prochilodus lineatus*) larvae, an omnivorous fresh water specie, fed on the enriched artemia. The experiment took place at the CEMIG's "Estação Ambiental de Volta Grade" (MG, Brazil). Seven different experimental emulsions were elaborated with two levels of ARA: T1 = 22.7 % and T2 = 41,58 % (% in total lipids); two levels of DHA: T5= 21.7 % and T6 = 39.41%; two combinations of ARA and DHA: T3 = 3:1 ARA/DHA (31.30% ARA; 10,07% DHA) and T4 = 1:3 ARA/DHA (12.95% ARA; 30.18% DHA) and a control treatment prepared with olive oil: T7 = 68,65% oleic acid. The fatty acid profile of the artemia was significantly modified by the enrichment in all treatments (Tukey $p < 0,05$). The DHA concentration varied from 0,04% (percentage in total lipids) to 6,64% in the artemias treated with T7 and T6, respectively and the ARA concentration varied from 0,43% to 8,60% in the treatments T7 and T2, respectively. The DHA presence in the emulsions seems to had improved the ARA assimilation by the artemia nauplii indicating a synergism between those two acids. The lipid composition of the larvae varied according with the diet (Tukey, $P < 0,05$) in both sampling periods (8th and 16th day from the beginning of the feeding trail) the larval performance was influenced by the diets. At the end of the experiment (16th day) the standard length was significantly bigger ($p = 0,0636$) in treatment T4 (9.36 ± 0.34 mm) and T5 (9.27 ± 0.23 mm). The larva weight (wet matter) only differ between treatments in the intermediary sampling (8th day) where the T3, T4, T5 and T7 produced heavier larvae than the other treatments. The survival was not influenced by the diets (Tukey $p < 0,05$). At the end of the experiment, the number of larvae from the treatment T5 e T4 in the post-flexion stage was bigger than in the other ones ($p = 0.0793$) showing that the larval development was also influenced by the diet. Although curimba is a fresh water specie, the use of HUFA enriched artêmia can influence larvae growth and development. The best results were achieved with the treatments T4 and T5.

Guiding committee: Priscila Vieira Rosa Logato-UFLA (Advisor), Luis David Solis Murgas-UFLA; Rilke Tadeu Fonseca de Freitas-UFLA

1 INTRODUÇÃO

Durante décadas, os pesquisadores buscam superar os obstáculos da nutrição inicial das larvas de peixes, de forma a viabilizar a produção em escala comercial. A produção de organismos aquáticos cresce de forma acentuada a cada ano e o cultivo das espécies de água doce tem ganhado mais espaço. O crescente investimento em pesquisa destinado às espécies de água doce tem contribuído para o crescimento do setor. No Brasil, os números ainda são modestos, mas, ao olharmos os resultados sob o prisma do potencial hídrico, torna-se claro que é questão de tempo para que o país ocupe seu lugar junto aos grandes produtores mundiais. Existem diversas espécies aptas para exploração comercial, basta que sejam desenvolvidas tecnologias para viabilizar uma produção sustentável.

De forma geral, os estudos sobre a utilização de alimentos artificiais nas primeiras fases do desenvolvimento das espécies reofílicas não têm apresentado bons resultados, mesmo que o alimento tenha a composição e a granulometria compatíveis com a capacidade de ingestão das larvas. Muitos aspectos relacionados à alimentação inicial das espécies tropicais continuam incógnitos.

O perfil de ácidos graxos dos alimentos há décadas tem ocupado lugar de destaque nos estudos de nutrição de larvas de peixe. As espécies marinhas cuja suplementação com EPA, DHA e ARA se faz condição irrevogável no cultivo intensivo, têm dominado grande parte das pesquisas. O mercado, na tentativa de absorver as novas tecnologias, tem desenvolvido produtos cada vez mais sofisticados, para aumentar o valor nutricional dos alimentos disponíveis.

Os ácidos graxos são substâncias complexas, em termos de atuação metabólica. Seus efeitos atingem o sistema imunológico, afetam o crescimento celular, interferem em mecanismos de resposta ao estresse e desempenham uma série de outros efeitos fisiológicos de grande relevância para a saúde animal.

As larvas de peixe das espécies tropicais apresentam, de forma geral, uma taxa de crescimento bastante acelerada, que força os mecanismos fisiológicos ao limite. Estudos que auxiliem na compreensão da atuação dos ácidos graxos nesta fase do desenvolvimento podem contribuir para o desenvolvimento da aquicultura de água doce.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar os efeitos do fornecimento de *Artemia salina* enriquecida com DHA e ARA sobre o perfil lipídico, desempenho e sobrevivência de larvas de curimba, *Prochilodus lineatus*, uma espécie onívora tropical.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver uma emulsão estável, de simples produção, capaz de imprimir diferentes padrões lipídicos aos náuplio de *Artemia salina* por meio de enriquecimento direto.
- Analisar as alterações no perfil lipídico das artêmias enriquecidas
- Observar como cada um dos diferentes padrões lipídicos criados nas artêmias influencia o comprimento padrão, peso, sobrevivência, desenvolvimento e o perfil lipídico das larvas de curimba.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Os lipídeos e sua importância na nutrição dos peixes

Os lipídeos são biomoléculas que exibem grande variedade estrutural. Moléculas distintas, como as gorduras e óleos, fosfolipídios, esteróides e carotenóides, que diferem grandemente tanto em suas estruturas como em suas funções, são agrupadas em um mesmo grande grupo, sob a designação de lipídeos. Esta classe heterogênea apresenta, como ponto comum, uma baixa solubilidade em meio polar. É possível dividi-los em lipídeos polares, compostos principalmente pelos fosfolipídios e em apolares, onde os triacilgliceróis, principal constituinte dos óleos e gorduras, representam a classe mais expressiva (Leninger, 1995; Tocher, 2003).

Os triacilgliceróis são constituídos de três moléculas de ácidos graxos, esterificadas aos grupos hidroxila do glicerol. Quando esterificadas, estas terminações são nomeadas *sn1*, *sn2* e *sn3*. Os óleos e gorduras, compostos mais ricos em energia de todas as classes de nutrientes, são importantes fontes de energia metabólica (ATP) (Horton, 2002). Segundo Richards et al. (2002a,b), durante exercícios moderados, os principais substratos utilizados para gerar energia na musculatura vermelha de truta arco-íris são os carboidratos e os lipídeos e, após exercícios exaustivos, as reservas de energia dos músculos brancos são recuperadas, principalmente por meio de oxidação lipídica.

Os lipídios são também componentes essenciais das membranas das células, servem como transportadores para vitaminas lipossolúveis e são fontes de ácidos graxos essenciais (Horton 2002; Leninger, 1995; Sargent et al., 1999; Tamaru et al., 1999).

Constituídos de uma cadeia alquil terminada em carboxila, os ácidos graxos conferem diferentes propriedades e funções aos lipídeos e podem ser, primariamente, classificados com base em seu grau de insaturação e no tamanho

de sua cadeia. As variadas conformações estruturais sob as quais os ácidos graxos aparecem na natureza podem ser contempladas pela fórmula $X:Yn-Z$, em que X representa o número de átomos de carbonos, Y refere-se ao número de duplas ligações, e Z revela a posição da primeira dupla ligação, contada a partir da extremidade metílica.

Os ácidos graxos insaturados, que possuem uma dupla ligação no carbono 3, contado a partir da extremidade metílica, são classificados como ácidos graxos da série ômega-3 (n-3). Se a dupla ligação estiver no sexto carbono, o ácido recebe a denominação ômega-6 (Horton, 2002; McKee & McKee, 2003). Alguns exemplos de ácidos graxos e suas classificações podem ser encontrados no Quadro 1.

De maneira geral, as duplas ligações são introduzidas nos ácidos graxos de 16 ou 18 carbonos. Portanto, um ácido graxo insaturado pode ser produzido a partir de um ácido graxo saturado, introduzindo-se duplas ligações por intermédio de enzimas específicas denominadas dessaturases. A posição da insaturação é determinada pelo tipo de dessaturase, que possui uma distribuição bastante diferenciada entre vegetais superiores, inferiores e animais (Brett & Müller-Navarra, 1997). Por exemplo, a Δ -9 dessaturase está presente somente nos animais, a Δ -6 dessaturase pode ser encontrada em animais e vegetais inferiores e a Δ -15 dessaturase faz parte somente das algas e plantas com clorofila (Motta, 2005).

As terminologias mais difundidas, no campo da aquicultura, para classificar os ácidos graxos quanto ao seu grau de insaturação, são: SAFA (*saturated fatty acid*) para os ácidos saturados; MUFA (*monounsaturated fatty acid*), para os ácidos com uma dupla ligação e PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) para ácidos com mais de uma insaturação ou HUFA (*highly unsaturated fatty acid*), caso se faça referência aos ácidos insaturados com 20 ou mais carbonos (Brett & Müller-Navarra, 1997).

QUADRO 1 Diferentes ácidos graxos e suas classificações

Nome sistemático	Nome comum	Tipo de ligação	Família - ω
Butanóico	Butírico	4:0	
Hexanóico	Capróico	6:0	
Octanóico	Caprílico	8:0	
Decanóico	Cáprico	10:0	
Dodecanóico	Láurico	12:0	
Tetradecanóico	Mirístico	14:0	
Hexadecanóico	Palmitico	16:0	
Octadecanóico	Esteárico	18:0	
Eicosanóico	Araquídico	20:0	
9-tetradecenóico	Miristoleico	14:1	ω -5
9-hexadecenóico	Palmitoleico	16:1	ω -7
9-octadecenóico	Oléico	18:1	ω -9
9,12-octadecadienóico	Linoléico	18:2	ω -6
6,9,12-octadecatrienóico	γ -linolênico	18:3	ω -6
9,12,15-octadecatrienóico	α -linolênico	18:3	ω -3
5,8,11,14-eicosatetranóico	Araquidônico (ARA)	20:4	ω -6
5,8,11,14,17-eicosapentanóico	EPA	20:5	ω -3
4,7,10,13,16,19 docosahexanóico	DHA	22:6	ω -3

Fonte: adaptado de Leninger (1995)

As terminologias mais difundidas, no campo da aquicultura, para classificar os ácidos graxos quanto ao seu grau de insaturação, são: SAFA (*saturated fatty acid*) para os ácidos saturados; MUFA (*monounsaturated fatty acid*), para os ácidos com uma dupla ligação e PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) para ácidos com mais de uma insaturação ou HUFA (*highly unsaturated fatty acid*), caso se faça referência aos ácidos insaturados com 20 ou mais carbonos (Brett & Müller-Navarra, 1997).

Ácidos graxos essenciais são aqueles que não podem ser biossintetizados ou não podem ser produzidos em quantidade adequada pelos animais para a correta manutenção de seus processos fisiológicos. Como os outros animais, os peixes não são capazes de formar os ácidos linoléico e linolênico a partir do ácido oléico, devido à ausência das enzimas $\Delta 12$ e $\Delta 15$ dessaturase. Logo, os ácidos graxos de 18C, das séries ω -3 e ω -6, em princípio, são obtidos a partir dos vegetais (Rainuzzo et al., 1997). Alguns autores consideram três os ácidos graxos essenciais: EPA, DHA e araquidônico. Não há indícios, em peixes, de que os ácidos graxos linoléico e linolênico possuam funções fisiológicas específicas que não seja a produção dos ácidos graxos essenciais que derivam deles (Tocher & Dick, 2000). O araquidônico e o linoléico possuem, em comum, uma dupla ligação situada entre os carbonos 6 e 7 (ω -6), o que possibilita ao araquidônico ser sintetizado a partir do linoléico, mas não o contrário (Lee, 2001; Lovell, 1998).

Os efeitos dos HUFA sobre o desenvolvimento e a fisiologia das larvas são bastante variados e nem sempre estão relacionados ao desempenho. Koven et al. (2001) estudaram os efeitos do fornecimento de alimentos vivos enriquecidos com ARA em larvas de *Sparus aurata* sobre o estresse e relataram efeitos distintos de sobrevivência nas larvas para diferentes tipos de estressor. Os autores constataram que o araquidônico aumentou a sobrevivência das larvas submetidas ao estresse agudo da transferência de tanque, no entanto, quando o estressor foi a flutuação diária de salinidade, a mortalidade aumentou. Os ácidos graxos parecem atuar também na formação das larvas. Gapasin & Duray (2001) verificaram que larvas tratadas com artêmia enriquecida com DHA apresentavam, significativamente, menos deformidade opercular.

Em um estudo sobre a ação dos ácidos graxos da dieta na fisiologia cardiovascular e respiratória dos peixes, McKenzie (2001) obteve indícios

interessantes da atuação benéfica dos HUFA sobre capacidade dos esturjões tolerarem a hipóxia.

Copeman et al. (2002), em um experimento com larvas yellowtail (*S. quinquerediata*), constataram que, dentre os diferentes tratamentos de rotíferos enriquecidos, o que continha a maior dose de DHA teve resultado melhor que os demais. Os tratamentos foram: DHA (43% dos lipídeos totais), DHA+EPA (37,4% e 14,2% respectivamente), DHA+ARA (36,0% e 8,9%, respectivamente). Bransden et al. (2005) também puderam observar que o desempenho se correlacionava positivamente com o teor de DHA em larvas de *Latris lineata* que recebiam dietas de artêmia enriquecida contendo níveis fixos de ARA e crescentes de DHA.

As deficiências nutricionais nos primeiros estágios de vida podem causar sintomas menos óbvios. Em experimentos com *Solea solea*, a tolerância a baixas temperaturas no estágio juvenil mostrou estar relacionada à dieta recebida durante o estágio larval. Os peixes que receberam artêmia enriquecida tiveram resultados melhores que os que receberam artêmia não enriquecida (Howell, 1994, citado por Stottrup, 2000).

De acordo com Peck (1994a,b), os lipídeos da dieta são distribuídos pelo organismo não apenas como reserva energética no tecido adiposo, mas também participando da estrutura das membranas celulares. Dessa maneira, eles garantem o *pool* de substrato para o metabolismo de eicosanóides. As propriedades bioquímicas únicas dos ácidos graxos também permitem que eles atuem nos processos de sinalização em membrana, de forma diferenciada. Essencialmente, todas as propriedades funcionais dos lipídeos têm alguma implicação vital para a manutenção de uma resposta imune adequada. Os lipídeos modulam a resposta imune, alterando a fluidez da membrana, produzindo peróxidos de lipídeos, regulando a síntese de metabólitos de eicosanóides e interagindo diretamente no processo de ativação celular.

A influência do EPA e do DHA, na consistência e na permeabilidade das membranas, é de extrema importância para a iniciação e propagação dos impulsos elétricos nos neurônios. O EPA e, principalmente, o DHA são vitais para o funcionamento do aparelho visual e neural e para o desenvolvimento do cérebro dos peixes (Mourete et al., 1991; Bell et al., 1995, citados por Cho et al., 2001).

Uma distinção é comumente feita, entre as espécies de água doce e as espécies de água salgada, quanto a sua habilidade de converter o ácido linoléico em araquidônico (ARA) e o α -linolênico nos HUFA eicosapentaenóico (EPA) e docosaenóico (DHA) (Bell & Sargent, 2003; Sargent et al., 1997; Tocher et al., 2003). Espécies marinhas, como o *Scophthalmus maximus* e o *Sparus aurata*, possuem baixa atividade das enzimas C18-C20 elongase e Δ -5 dessaturase, respectivamente, impedindo que consigam realizar tal conversão e, portanto, os peixes marinhos dependem completamente da dieta para suprir a demanda do organismo de EPA, DHA e ARA (Sargent et al., 1999; Tocher et al., 2003).

Nas espécies de água doce, o fígado é responsável por grande parte da produção de EPA, DHA e ARA. A maioria das reações acontece na fração microssomal e as mesmas enzimas que atuam na série ω -3 atuam também na ω -6. Originalmente, assumia-se que a inserção da última dupla ligação Δ -4 no 22:6n-3 ocorria por dessaturação Δ -4 direta de seu precursor imediato 22:5n-3.

Entretanto, recentemente, demonstrou-se que o processo ocorria de forma diferente (Sprecher, 2000). O 22:5n-3 sofre alongação, se transformando em 24:5n-3 que, por sua vez, é convertido, por dessaturação Δ -6, em 24:6n-3. Por meio de reações de encurtamento de cadeia nos peroxissomas, o 24:6n-3 é convertido em 22:6n-3. Este encurtamento de cadeia é a única reação que ocorre no espaço extra-microssomal (Bell et al., 2003; Luthria et al., 1996; Sprecher, 2000; Tocher et al., 2003). Estas transformações estão esquematizadas na Figura 1.

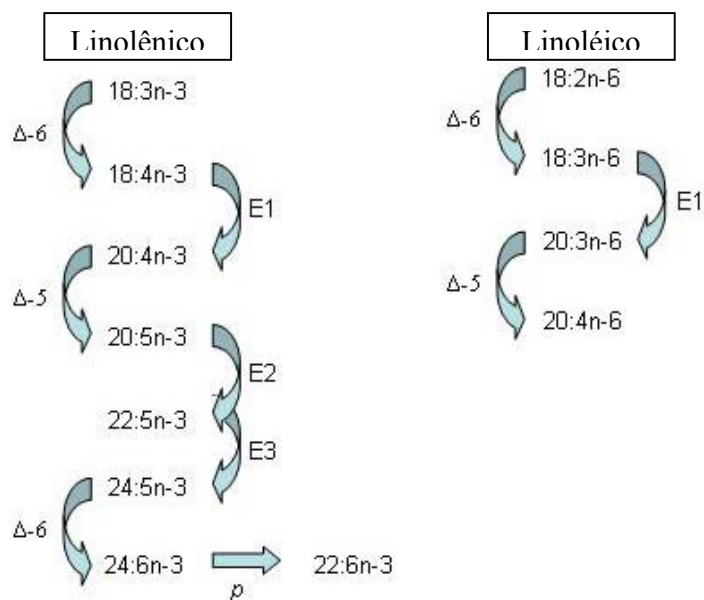


FIGURA 1 Elongação e dessaturação dos ácidos linolênico e linoléico
 Fonte: adaptado de Tocher, 2003.

É mais provável que a dependência das espécies de água salgada de moléculas prontas dos ácidos graxos ARA, EPA e DHA reflita mais uma pressão evolutiva do perfil lipídico dos alimentos naturais disponíveis, do que a origem marinha ou dulcícola das espécies por si só. A baixa atividade de elongase e dessaturase das espécies marinhas estudadas até então, aparentemente, existe como consequência da alta prevalência destes HUFA no seu alimento natural. Isso reflete o fato de que 20:5n-3 e 22:6n-3 são muito abundantes no ambiente marinho, originalmente em diatomáceas e algas flageladas, respectivamente, que são a base da cadeia alimentar. Os ácidos são transmitidos intactos, via zooplâncton, para os peixes. Enquanto o ambiente marinho ostenta teores elevadíssimos de HUFA, o alimento natural disponível para os peixes de água doce, particularmente as presas invertebradas, não reúne

quantidades adequadas destes ácidos. No entanto, há prevalência marcante dos precursores de 18 carbonos, 18:2n-6 e 18:3n-3. Apesar de os peixes de água doce terem evoluído a partir das espécies marinhas, eles precisaram desenvolver os mecanismos enzimáticos necessários para realizar a conversão do linoléico em araquidônico e do linolênico em EPA e DHA, para conseguirem se manter no ambiente de água doce (Brett & Müller-Navarra, 1997; Tocher, 2003).

Segundo Brett & Müller-Navarra (1997), apesar das exigências das espécies de água doce poderem ser supridas com os ácidos linoléico e linolênico, é possível que as formas larvais, devido a sua elevada taxa de crescimento somático, apresentem melhor desempenho, quando suplementadas com os ácidos ARA, EPA e DHA. Tocher & Dick (2000), em seus estudos com linhas de células de carpa *in vitro*, observaram que, em meio deficiente em ácidos graxos essenciais, a suplementação com PUFA 18C não era capaz de estimular o crescimento celular. No entanto, ao adicionar HUFA ao meio, o crescimento era estimulado.

3.2 O ácido araquidônico e a síntese de eicosanóides

Quando comparado ao DHA e ao EPA, o ácido araquidônico participa de uma, relativamente, pequena porcentagem na formação dos lipídeos nos tecidos dos peixes. Porém, os peixes, principalmente os marinhos, necessitam deste ácido na dieta. A contribuição do ARA para a integridade estrutural das membranas é limitada, No entanto, sua importância como precursor de eicosanóides, potentes substâncias com ação fisiológica, é bastante pesquisada e difundida. Os eicosanóides são substâncias semelhantes a hormônios com atuação autocrina (Bell & Sargent, 2003; Bransden et al., 2004).

O termo eicosanóides evoluiu para denotar uma abrangente família de compostos oxigenados oriundos de ácidos graxos HUFA de 20 carbonos contendo de três a cinco *cis*-duplas ligações (20:3N-6, 20:4N-6 e 20:5N-3). A

família eicosanóides pode ser dividida em três classes, que incluem os prostanóides (prostaglandinas e tromboxanos), que são gerados pela via da cicloxigenase; os leucotrienos e certos di e tri hidróxiácidos, que são formados via lipoxigenase, e os epóxidos, que são oriundos da via do citocromo P-450 epoxigenase. Estes ácidos de 20C, geralmente, se encontram esterificados na posição *sn-2* do glicerol dos fosfolipídios de membrana. O processo de liberação destes ácidos pode acontecer de duas formas distintas. Uma envolve a fosfolipase A2 e outra, que ocorre em duas etapas, envolve a fosfolipase C e a diacilglicerol lípase ou fosfolipase D (Calder, 2006; Luo, 2006; Smith, 1989).

Existem duas variações de ciclooxigenase (COX): A COX-1, que ocorre na maioria das células, e a COX-2, que é induzida em células inflamatórias. As COXs atuam sobre o araquidonato, produzindo endoperóxidos cíclicos. Estes podem dar origem a diferentes prostanóides: PGI₂ (prostaciclina I₂) TXA₂ (tromboxano A₂), PGE₂ (prostaglandina E₂), PGF_{2α} (prostaglandina F_{2α}) e PGD₂ (prostaglandina D₂). A 5-lipoxigenase atua sobre o araquidonato, produzindo 5-HPETE (ácido hidroperoxieicosatetraenóico), que é convertido em leucotrieno LTA₄ por uma desidrase. O LTA₄ pode ser convertido para LTB₄ ou numa série de cistenil-leucotrienos, LTC₄ LTD₄ e LTE₄, que possuem aminoácidos incorporados em sua estrutura (Barsh, 2001; Smith, 1989).

Por meio de rotas metabólicas semelhantes às percorridas pelo araquidonato, o ácido eicosapentaenóico pode gerar as séries 3 de prostanóides (PGI₃, TXA₃, TXB₃, PGD₃, PGE₃, PGF₃) e 5 de leucotrienos (LTA₅, LTB₅, LTC₅, LTD₅, LTE₅) que, em tese, possuem as mesmas funções que os produzidos pelo C20:4n-6, porém, os primeiros produzem efeitos muito mais brandos. Esta diferença entre a bio-potência dos eicosanóides permite que a atuação destas substâncias seja regulada pela razão ARA/EPA nas membranas celulares (Barsh, 2001; Rubin & Laposata, 1992; Smith, 1989).

De acordo com Sargent et al. (1999a), os requerimentos dos ácidos EPA, DHA e ARA não devem ser considerados individualmente e também não deve se deixar de levar em conta o balanço entre os ácidos poliinsaturados, monoinsaturados e saturados, e suas relativas proporções nos fosfolípidos e triacilgliceróis da dieta. Os autores afirmam, ainda, que a importância de um correto balanceamento entre os ácidos graxo reside, principalmente, nas complexas relações de competição que existem entre eles, por exemplo: o 18:2n-6, o 18:3n-3 e o 24:5n-3 competem pela Δ -6 desaturase; o 18:3n-6 e o 18:4n-3 competem pelo mesmo complexo elongase. O 20:4n-6 e o 20:5n-3 competem pela mesma ciclooxigenase e lipoxigenases na produção de eicosanóides; o 22:6n-3 compete como 20:5n-3 pelas mesmas acilases e transacilases para esterificação nos fosfolípidios (Luo, 2006; Rubin & Laposata, 1992; Tocher, 2003; Tocher & Dick, 1999).

3.3 Características das larvas de peixe

As larvas de peixes são consideradas os menores vertebrados autônomos com capacidade de alimentação ativa. O potencial de produção das larvas de peixe é enorme. Algumas espécies, como o turbot, a anchova e o herring, por exemplo, podem aumentar sua massa corporal inicial em 100 vezes, nas primeiras semanas de vida. O custo de deposição de constituintes dos tecidos, como proteínas, lípidos, carboidratos e ácidos nucleicos, é bastante alto e representa um gasto adicional de cerca de 40% do conteúdo energético de cada um (Osse et al., 1997; Pedersen, 1997).

Ao eclodir, o sistema digestório das larvas apresenta-se como um tubo reto, fechado em sua porção cranial e histologicamente indiferenciado. Este permanece relativamente inalterado da abertura da boca até a completa absorção do vitelo, quando passa a ser dividido em buco-faringe, intestino anterior, intestino médio e posterior. No término do período larval ocorre o

desenvolvimento de um estômago com glândulas gástricas e cecos pilóricos. O fígado e o pâncreas já estão formados no momento da eclosão, mas só se tornam funcionais no início da alimentação exógena. No momento em que se dá o início da alimentação, o sistema digestivo ainda não é totalmente funcional. Antes da formação do esfíncter pilórico, a válvula intestino-retal constitui a única constrição ao longo do trato digestivo.

Até que ocorra a formação do estômago, a digestão ocorre no intestino da larva, em pH alcalino. A função proteolítica é realizada por uma enzima semelhante à tripsina. A atividade das enzimas pancreática e intestinal, no momento da primeira alimentação, ainda é baixa. Na maioria das espécies, não há atividade de enzimas semelhantes à pepsina antes da formação das glândulas gástricas (Cahu & Zambonino Infante, 2001; Wallford & Lam, 1993; Zambonino Infante & Cahu, 2001).

A divisão da ontogenia dos peixes, em intervalos determinados, é bastante conveniente, pois tal divisão facilita a comparação entre resultados independentes, por pesquisadores de localidades distintas.

A terminologia utilizada para descrever as diferentes fases do desenvolvimento larval dos peixes é bastante variada. Segundo Snyder & Muth (2004), as que são mais utilizadas para fins descritivos derivam das definidas por Hardy (1974), que divide desenvolvimento dos peixes em larval vitelino, larva, pré-juvenil e juvenil; a proposta por Ahlstrom (1976), em que a divisão é feita em pré-flexão, flexão e pós-flexão, baseado na observação da notocorda e a de Snyder (1976), que divide o desenvolvimento em protolarva, mesolarva e metalarva. O fato de essas terminologias não serem competitivas torna possível que seja adotado, simultaneamente, mais de um tipo de classificação. Nakatani et al. (2001), para descrever o desenvolvimento das espécies de água doce, utilizam uma adaptação que combina diferentes sistemas. As larvas são

classificadas em quatro estágios, seguindo, basicamente, a seqüência de desenvolvimento da nadadeira caudal e seus elementos de suporte:

- **larval vitelino:** estágio de desenvolvimento compreendido entre a eclosão e a completa absorção do saco vitelínico. É onde, geralmente, se dá o início da alimentação exógena. As larvas de algumas espécies podem eclodir com boca e ânus não funcionais e com os olhos despigmentados. As nadadeiras apresentam-se indiferenciadas neste estágio;
- **pré-flexão:** estágio de desenvolvimento que se estende desde a completa absorção do saco vitelínico até o início da flexão da notocorda. Os primeiros raios da nadadeira caudal começam a se formar;
- **flexão:** estágio que se caracteriza pela flexão da notocorda, com o desenvolvimento dos elementos de suporte da nadadeira caudal, até a completa flexão da mesma, aparecimento do botão da nadadeira pélvica e início da segmentação dos raios das nadadeiras dorsal e anal;
- **pós flexão:** estágio de desenvolvimento que se caracteriza pela completa flexão da notocorda, aparecimento da nadadeira pélvica e início de segmentação dos raios das nadadeiras dorsal e anal, até a completa formação dos raios da nadadeira peitoral, absorção da nadadeira embrionária e aparecimento das escamas;

3.4 O uso de alimentos vivos na larvicultura

Em aquicultura, considera-se alimento vivo o grupo de organismos componentes do plâncton (fitoplâncton e zooplâncton), que constituem a base dos ecossistemas aquáticos. Independentemente dos hábitos alimentares dos

peixes na fase adulta, o zooplâncton exerce um papel de extrema importância para a aquicultura. O início da alimentação exógena das larvas altriciais está fortemente vinculado ao consumo de organismos planctônicos (Fernando, 1994; Lavens & Sorgeloos, 1998; Lazzaro, 1987). Os sistemas intensivos de produção aquícola empregam, com maior frequência, a artêmia salina e o rotífero brachionus como os primeiros alimentos das larvas. Nos sistemas extensivos, geralmente se utiliza o plâncton nativo, favorecendo o aumento de sua biomassa com a adubação dos viveiros (Guevara, 2003; Sipaúba-Tavares & Rocha, 2003).

As larvas de algumas espécies, como a curimba, eclodem em um estágio de desenvolvimento inacabado. O estabelecimento da alimentação exógena é concorrente com o desenvolvimento do trato digestivo, assim como dos órgãos e sistemas críticos para o sucesso da alimentação, como a visão e o desenvolvimento motor. Por estes e outros fatores, o alimento deve ser quantitativa e qualitativamente adequado e o tamanho da partícula alimentar deve ser compatível com o da abertura bucal da larva (Jomori 2001; Stottrup 2000; Zambonino Infante & Cahó, 2001).

Diversas tentativas de se substituir o alimento vivo por dietas inertes na alimentação das larvas já foram feitas. A tecnologia que vem sendo aplicada no desenvolvimento de microdietas tem progredido bastante nos últimos anos, porém, de maneira geral, os resultados obtidos ainda são inferiores aos obtidos com o fornecimento de presas vivas (Berlli, 2002; Blair, 2003; Lavens & Sorgeloos, 1996; Zambonino Infante & Cahó, 2001).

A superioridade do alimento vivo, em relação às dietas inertes, como primeiro item alimentar, pode estar relacionada à presença de algumas enzimas na própria presa que, ao serem ingeridas, colaborariam com o processo digestivo (kolkoviski, 2001; Langdon, 2003; Robin & Vicent, 2003; Teshima et al., 2000). Segundo Kurokawa et al. (1998) e Sipauba-Tavares & Rocha (2003), as pós-larvas autricias utilizam enzimas da presa ingerida, facilitando seu processo de

digestão, sendo dependentes das mesmas para desenvolver seu próprio sistema digestório.

Kubitza (1997 e 1998) sugere que as enzimas proteolíticas do zooplâncton sejam liberadas pela ação física das pós-larvas durante a captura e a ingestão dos mesmos. Estas enzimas exógenas desencadeariam a hidrólise das moléculas complexas do próprio zooplâncton ingerido, estimulando a secreção de enzimas endógenas pelo trato digestivo das pós-larvas.

Segundo Person-Le Ruyet et al. (1993), os produtos da autólise da presa podem estimular a secreção de tripsinogênio e ou ativar zimogênios no pâncreas das pós-larvas. Kolkovski (2001) relatou que, além de contribuir com enzimas exógenas, os alimentos vivos podem estimular a produção de neuropeptídeos intestinais, com os quais se promove a digestão. Ao comparar larvas seabream (*Sparus aurata*), alimentadas com náuplios de artêmia, com larvas submetidas à dieta inerte, os autores observaram um acréscimo na concentração de bombesina de cerca de 300% no grupo tratado com artêmia. A bombesina é um tetradecapeptídeo produzido pelos enterócitos dos peixes, que se assemelha ao GRP (*gastrin releasing peptide*) produzido pelos mamíferos. A bombesina possui ação estimulante sobre o músculo do estômago e sobre o peristaltismo, sua ação causa um aumento na eficiência do processo digestivo (Lin et al., 2000; Volkoff et al., 2005).

3.5 Artêmia

A artêmia é um pequeno crustáceo filtrador da classe Brachiopoda, subordem Anostraca e família Artemiidae, próprio de habitats aquáticos de elevada salinidade (Sorgeloos et al., 2001).

Com o crescente desenvolvimento da aquicultura, a utilização do camarão de salmoura, artêmia, como dieta inicial, tornou-se globalmente difundida. Apesar da artêmia não fazer parte da dieta natural das espécies

tropicais de água doce cultivadas, sua escolha torna-se justificável pela facilidade de uso e seu bom valor nutricional (Arana, 1999; Lavens & Sorgeloos, 2000). No Quadro 2, pode-se observar a composição de aminoácidos nos náuplios de artêmia.

QUADRO 2 Composição aminoacídica de náuplios de artêmia (mg/g de proteína)

Aminoácidos (mg/g)	Origem		
	Macau, Brasil	Great Salt Lake, UT-USA	San Pablo Bay, CA-USA
Ácido aspártico	110	113	141
Treonina	52	48	60
Serina	45	54	77
Ácido glutâmico	131	135	102
Prolina	57	59	49
Glicina	60	60	74
Alanina	46	49	42
Valina	53	52	55
Metionina	22	37	26
Isoleucina	56	68	54
Leucina	89	100	84
Tirosina	105	66	77
Fenilalanina	51	85	104
Histidina	49	27	35
Lisina	117	93	87
Arginina	115	97	98

Fonte: Adaptado de Lavens & Sorgeloos (1996)

Os cistos de artêmia consistem na forma dormente dos embriões, encapsulados por uma carapaça composta por três camadas. Em condições

adequadas de salinidade, temperatura, luminosidade e aeração, os embriões saem do seu envoltório e eclodem em náuplios (Lim et al., 2002). Os cistos dormentes de artêmia podem ser armazenados, por longos períodos, sem maiores dificuldades e podem ser utilizados como alimento 24 horas após sua incubação e, caso seja feito o desencapsulamento com hipoclorito, este tempo pode ser reduzido ainda mais. A utilização da artêmia é mais conveniente e menos laboriosa que a de qualquer outro alimento vivo disponível atualmente para a alimentação de larvas de peixe e crustáceos (Lavens & Sorgeloos, 1996).

A composição e a concentração de ácidos graxos destes organismos variam fortemente, de acordo com o alimento disponível no meio de cultivo e com a localização geográfica de origem (Stottrup, 2000). O Quadro 3 ilustra a variabilidade nos teores de EPA de artêmias de diferentes procedências.

QUADRO 3 Variabilidade e amplitude do teor (%) de C20:5n-3 em artêmias de diferentes origens.

Origem	20:5n-3 (%)	C.V. (%)
San Francisco Bay, CA-USA	0,3-13,3	78,6
Great Salt Lake (sul), UT-USA	2,7-3,6	11,8
Great Salt Lake (norte), UT-USA	0,3-0,4	21,2
Lago Chaplin, Canadá	5,2-9,5	18,3
Macau, Brasil	3,5-10,6	43,2
Bohai Bay, PR China	1,3-15,4	50,5

Fonte: Adaptado de Lavens & Sorgeloos, 1996.

3.6 Enriquecimento de artêmia

No final dos anos 1960 e início dos 70, diversos autores relataram insucesso na larvicultura das espécies marinhas quando faziam uso da artêmia. No início, as suspeitas recaíram sobre possíveis contaminações com metais pesados e organoclorados. Um estudo comparativo com oito variedades distintas de artêmias, utilizando como predador teste o *Pseudopleuronectes americanus*,

confirmou que o problema era de ordem nutricional. Os resultados de outras pesquisas mostraram que o fator que afetava de forma tão marcante o desempenho e a sobrevivência das larvas, era a grande variação no teor de ácido eicosapentaenóico entre as artêmias de diferentes procedências (Sorgeloos, 2001).

No início do desenvolvimento (instar I), os náuplios não se alimentam, possuem boca e ânus fechados e dependem, exclusivamente, de suas reservas energéticas para se manterem. De cinco a oito horas após a eclosão, o náuplio muda para o instar II de desenvolvimento onde o trato digestivo já possui maturidade suficiente para o início da alimentação exógena. O náuplio passa, então, a ser um consumidor não seletivo, capaz de filtrar partículas de 1 a 50 micras dispersas em seu meio (Lavens & Sorgeloos 1996). Tirando-se proveito das primitivas características de alimentação das artêmias, é possível manipular o valor nutricional e contornar a natural deficiência em n-3-HUFA (DHA, EPA) dos náuplios (Sorgeloos, 2001).

Este método de bioencapsulamento, também chamado de enriquecimento, é extensivamente aplicado na larvicultura das espécies de peixe e crustáceos cultivadas para aumentar o valor nutricional das artêmias (Coutteau & Sorgeloos, 1997). Aplicando-se métodos simples, pode-se, facilmente, incorporar substâncias lipofílicas como vitaminas e ácidos graxos essenciais à artêmia (Lavens & Sorgeloos 1996; Sorgeloos, 2001).

Pesquisadores de diversas nacionalidades desenvolveram, nas últimas décadas, produtos e protocolos de enriquecimento bastante variados, utilizando microalgas, compostos microencapsulados, leveduras, emulsões e concentrados auto-emulsificantes, de forma isolada ou combinados. Os mais elevados níveis de enriquecimento, no entanto, são atingidos com emulsões concentradas (Sorgeloos, 2001).

Watanabe (1988) comenta que, para aumentar o valor nutricional de alimentos vivos, existem métodos diretos e indiretos. Nos métodos diretos, os lipídios são fornecidos para os organismos sob a forma de emulsão, formada pela fonte lipídica homogeneizada com a água e algum emulsificante. Nos métodos indiretos, os organismos são alimentados, geralmente, com leveduras, que foram cultivadas em meio contendo lipídios.

A escolha da duração do enriquecimento deve ter como base a preservação da viabilidade da emulsão durante o procedimento, o desenvolvimento dos náuplios e fatores de ordem prática. Períodos muito longos sob aeração vigorosa, iluminação e as temperaturas em torno de 27°C normalmente adotadas, favorecem a oxidação dos HUFAs presentes nas emulsões. McEvoy et al. (1995) constataram reduções significativas nos teores iniciais de EPA (18%) e DHA (20%), em uma emulsão à base de óleo de atum, após 18 horas de enriquecimento. Segundo os autores, não seria indicado ultrapassar este limite de tempo.

3.7 A curimba

A curimba, ou curimbatá (*Prochilodus lineatus*), pertence à ordem *Characiformes* e à família *Prochilodontidae*. Os peixes do gênero *Prochilodus* estão entre as espécies de água doce mais abundantes e amplamente dispersas dos rios da América do Sul. Tratam-se de peixes migratórios, detritívoros e de grande importância para as comunidades que vivem da pesca. Estes peixes, durante seu ciclo reprodutivo, migram centenas de quilômetros ao longo dos rios, a partir de seus campos de alimentação, nas planícies inundadas e lagoas marginais, para as regiões de desova nas cabeceiras. As espécies do gênero *Prochilodus* apresentam elevada fecundidade e desovam no canal principal dos rios. O período reprodutivo estende-se de novembro a fevereiro. Os ovos fertilizados são levados, junto com a água, para as planícies alagadas, onde o

alimento para as larvas pode ser encontrado em abundância. O hábito alimentar detritívoro faz dos *Prochilodus* elementos dominantes na estrutura das comunidades da ictiofauna tropical (Carolsfeld, 2003; Sivasundar et al., 2001).

Na bacia do rio Paraná, o *P. lineatus* representa de 50% a 90% da biomassa nas regiões mais a jusante do rio e nas lagoas marginais. Segundo Sivasundar et al. (2001), existem três diferentes espécies do gênero *Prochilodus* na bacia do rio São Francisco, sendo *P. lineatus* uma delas.

A espécie era identificada, na bacia do alto Paraná, como *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881. Em 1990, Castro incluiu a espécie na sinonímia de *P. lineatus*. O corpo dos adultos é moderadamente alto, comprido e com a maior altura na origem da nadadeira dorsal. A distinção entre fêmeas e machos é bastante difícil, pois não há dimorfismo sexual aparente. A boca terminal, apresenta lábios carnosos, moderadamente desenvolvidos, formando um disco oral quando protraídos (CEMIG/CETEC, 2000; Furuya, 2001). É um peixe iliófago, que prefere ambientes lóticos. Os dentes funcionais se distribuem em duas fileiras em cada maxila. A rusticidade da espécie e a relativa facilidade com que se induz a reprodução tornam o cultivo da curimba bastante atrativo.

As larvas do *P. lineatus* eclodem 16 horas após a fecundação (25,9°C), medindo cerca de 3,50 mm de comprimento padrão (CP). O saco vitelínico é relativamente grande e os olhos são pouco pigmentados. Não apresentam pigmentação aparente no corpo no início de seu desenvolvimento. O aparecimento do botão da nadadeira peitoral ocorre com cerca de 4,73 mm de CP. A absorção completa do saco vitelínico ocorre com cerca de 5,9 mm de CP. As larvas são autotriciais, de hábito onívoro e, na natureza, os organismos do zooplâncton e fitoplâncton nativos constituem a base de sua dieta (Nakatani, 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local

O experimento foi executado em fevereiro de 2006, na Estação Ambiental de Volta Grande, da Companhia Energética de Minas Gerais (Cemig), Localizada no município de Conceição das Alagoas, na região do Triângulo Mineiro. A temperatura ambiente durante o período experimental oscilou de $21,22 \pm 0,97^{\circ}\text{C}$ (mínima) a $31,04 \pm 2,67^{\circ}\text{C}$ (máxima).

4.2 Larvicultura

Reprodutores de curimba (*Prochilodus lineatus*), provenientes do próprio plantel da estação, foram submetidos à reprodução induzida, com aplicação de extrato bruto de hipófise de carpa. Após a fecundação, os embriões foram transferidos para duas incubadoras cilindro-cônicas com 200 litros de capacidade, sob fluxo de água constante, a 28°C , até a eclosão.

Após eclodirem, as larvas de curimba passaram por um processo de contagem e separação. Durante este processo, a oxigenação da água nos baldes que recebiam as larvas contadas era mantida por borbulhamento de ar comprimido através de pedras porosas. Após a contagem, as larvas foram transferidas para 35 caixas de fibra de vidro cilíndricas, com 100 litros de capacidade, montadas em um sistema aberto de abastecimento (sem recirculação), onde foram mantidas durante todo período experimental. Nas primeiras 24 horas após a eclosão, não foi fornecido nenhum tipo de alimento.

Cada caixa comportou um volume útil de 60 litros, que foi mantido constante com o auxílio de tubos e conexões de PVC (diâmetro: 1 polegada). Para evitar a fuga das larvas, uma tela de 100 micras foi adaptada ao redor do sistema de escoamento. Cada caixa recebeu as larvas na densidade de 8,3 larvas por litro, totalizando 500 larvas/caixa.

A renovação de água contínua assegurou a adequação de parâmetros como pH, DO₂ (oxigênio dissolvido) e teor de amônia. A forma circular das unidades de larvicultura e o tipo de abastecimento adotado permitiram um fluxo de água homogêneo ao longo da caixa, sem zonas de estagnação. O fluxo de entrada da água, perpendicular ao raio da circunferência e o dreno posicionado no centro possibilitaram a eliminação de parte dos detritos de forma passiva. As partículas que se sedimentavam no fundo das caixas eram eliminadas por intermédio de um sifão. Para que os teores de oxigenação da água fossem mantidos elevados, o fornecimento de água foi feito por pequenos furos distribuídos de forma simétrica ao longo do tubo de abastecimento. A vazão média de abastecimento foi ajustada de forma a permitir uma renovação completa do volume útil das caixas a cada 30 minutos.

A temperatura e o teor de oxigênio dissolvido da água das caixas foram registrados diariamente, antes do fornecimento da alimentação, por meio de um oxímetro digital portátil. O pH foi determinado toda manhã, durante o período experimental, utilizando-se um peagâmetro digital.

Para evitar que o zooplâncton nativo do reservatório fosse levado para dentro das unidades experimentais, juntamente com a água do abastecimento, foram instaladas redes de 100 micras na entrada de água, em todas unidades experimentais. Estas redes foram limpas diariamente.

4.3 Dietas experimentais

As larvas de curimba receberam alimentação três vezes ao dia, nos horários de 8:00, 16:00 e 00:00. O fotoperíodo, mantido em função do horário de trabalho, foi de 19 horas de luz e 5 horas de escuro. As dietas experimentais foram compostas por náuplios de artêmia enriquecidos com diferentes emulsões. Foram testadas sete formulações lipídicas no enriquecimento, cada qual com

cinco repetições, num delineamento inteiramente casualizado (DIC), totalizando 35 parcelas.

Três diferentes óleos foram utilizados para compor sete emulsões experimentais distintas: um óleo rico em ácido docosaexaenóico (DHASCO[®] Martek biosciences, USA) extraído das algas *Cryptocodinium cohnii* e *Schizochytrium*, um óleo rico em ARA (ARASCO[®] Martek biosciences, USA), obtido a partir do fungo *Mortierella alpina*, que naturalmente produz altos teores deste ácido graxo, e um terceiro, rico em ácido oléico (óleo de oliva). Foram adicionados 0,5% de α -tocoferol (DSM Produtos Nutricionais, Brasil) a todas as emulsões, para tentar minimizar os efeitos nocivos de uma possível peroxidação dos ácidos graxos insaturados. A composição das referidas emulsões encontra-se na Tabela 1.

As emulsões foram confeccionadas por duas vezes durante o experimento. Dessa forma, o tempo máximo transcorrido da fabricação até a utilização foi de 8 dias. Uma vez elaboradas, as emulsões foram acondicionadas em frascos âmbar e refrigeradas a -2°C.

As emulsões foram feitas com auxílio de um agitador magnético com chapa aquecedora, cuja temperatura foi ajustada para 40°C, durante todo o processo. Uma balança de precisão (0,1mg) foi utilizada para a dosagem gravimétrica dos ingredientes. Primeiramente, foi feito o aquecimento da lecitina de soja, logo em seguida, o óleo foi adicionado lenta e fracionadamente. Após a adição do óleo, o α -tocoferol foi introduzido e a mistura foi mantida sob agitação constante por 10 minutos. Após este período, foi adicionada água destilada a 40°C. Depois de atingir um aspecto homogêneo, a mistura foi, então, processada por 10 minutos em liquidificador e depois refrigerada.

TABELA 1 Composição das sete diferentes emulsões experimentais por 100g do produto

Ingredientes (g/100g)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	ARA 0,5	ARA 1,0	ARA/ DHA 3:1	ARA/ DHA 1:3	DHA 0,5	DHA 1,0	Oléico
DHASCO®	0	0	10,87	32,63	21,75	43,5	0
ARASCO®	21,75	43,5	32,63	10,87	0	0	0
Óleo de oliva	21,75	0	0	0	21,75	0	43,5
Lecitina	5	5	5	5	5	5	5
α -tocoferol*	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
H ₂ O	51	51	51	51	51	51	51

4.4 Enriquecimento de artêmia com as diferentes emulsões experimentais

Os cistos de *Artêmia salina* (INVE corporation, Bélgica) foram eclodidos em incubadoras de fibra de vidro cilindro-cônicas com 100 litros de capacidade. Uma lâmpada incandescente de 100 W foi adaptada a 15 cm da abertura superior das incubadoras, para fornecer luminosidade. A oxigenação foi obtida pelo borbulhamento de ar comprimido através de pedras porosas. A salinidade adotada foi 35 ppm e a temperatura, mantida com auxílio de termostato, foi de 28°C. O tempo médio estimado para que se completasse a eclosão dos cistos foi 24 horas. Por razões de ordem prática, manejo de eclosão foi realizado duas vezes por dia (às 8 horas e 00:00 horas), apesar de serem três os turnos de alimentação e de enriquecimento. Com exceção do turno da tarde (16:00), quando se utilizavam náuplios com oito horas de vida, o enriquecimento era realizado com náuplios recém-eclodidos. A quantidade de cistos incubados no manejo das 8 horas era suficiente para que, no dia seguinte (24 horas após a incubação), se obtivesse o número de náuplios necessário para realizar um enriquecimento às 8 horas e um outro, às 16 horas. Em anexo, encontra-se representado, sob a forma de esquema, todo este procedimento.

Para o processo de enriquecimento, os náuplios obtidos foram separados das cascas e cistos não eclodidos e distribuídos em sete garrafas plásticas de 5

litros de capacidade, com volume útil de 3,6 litros. A densidade nas garrafas foi ajustada para 50 náuplios/mL, totalizando 180.000 náuplios/ml. A concentração dos náuplios foi estimada volumetricamente e, depois, ajustada, caso fosse necessário. A cada garrafa era destinado um tratamento. O enriquecimento foi feito por meio da adição de 1,22g/l das emulsões experimentais na água dos recipientes de enriquecimento. A salinidade, a temperatura, a luminosidade e a aeração foram mantidas em condições semelhantes às adotadas para a eclosão. A duração do enriquecimento foi estipulada em 16 horas, segundo a metodologia utilizada por Bransden et al. (2005).

Foram fornecidos, em cada um dos três turnos de alimentação, 0,6 náuplios de artêmia enriquecida por litro, totalizando 36.000 náuplios por caixa. As artêmias foram enxaguadas cuidadosamente em malha de 100 μ m, visando retirar o excesso da emulsão antes, de fornecê-las às larvas.

4.5 Variáveis analisadas

4.5.1 Desenvolvimento larval

Para acompanhar o desenvolvimento dos peixes, foram estudados: o peso das larvas, o comprimento e o estado geral dos animais (deformidades, lesões, etc.). As amostragens foram feitas no 1º, 8º e 16º dias de execução do experimento. A amostra inicial, correspondente ao 1º dia, foi composta de um único grupo de 60 larvas, coletadas imediatamente antes do início do experimento. A coleta intermediária, realizada no oitavo dia, reuniu 30 larvas de cada caixa e a coleta final, realizada no 16º dia, foi composta por 200 larvas de cada uma das 35 caixas. Todas as larvas coletadas para o acompanhamento do desenvolvimento foram fixadas em solução de formol a 10%.

O comprimento padrão das larvas (CP), medido a partir da ponta do focinho até a inserção da nadadeira caudal, foi individualmente mensurado em cada uma das três amostragens, utilizando-se para este fim uma lente de

aumento e um paquímetro digital. Para determinar o peso, as larvas foram agrupadas em cinco grupos de seis indivíduos na fase intermediária (n=30) e 40 indivíduos na amostra final (n=200). Antes da pesagem, o excesso de umidade foi eliminado com papel absorvente. As pesagens foram feitas em balança analítica de 0,1mg de precisão.

4.5.2 Análises cromatográficas

Para as análises cromatográficas também foram realizadas três amostragens. Foi coletado um grupo de 30 larvas no primeiro dia, antes do fornecimento das dietas experimentais; dois grupos de 15 larvas de cada caixa no 8º dia e um grupo de 30 larvas para cada caixa no 16º dia. As larvas coletadas foram sacrificadas, por choque térmico em água com gelo e imediatamente transferidas para tubos Eppendorf e refrigeradas a -20°C para posteriores análises.

Para avaliar a efetividade do enriquecimento, foram analisados os perfis de ácidos graxos das pós-larvas e das artêmias enriquecidas. Os ésteres metílicos dos ácidos graxos (FAMES) foram obtidos segundo metodologia adaptada de Hartman & Lago (1973), citados por Guevara (2003). O protocolo de extração dos lipídeos e o de esterificação encontram-se em anexo.

As análises cromatográficas foram realizadas na Central de Análise e Prospecção Química DQI/UFLA, utilizando-se um cromatógrafo gasoso CP3800, Varian, equipado com detector de ionização em chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida DB-WAX (30m x 0,25mm x 0,25 mm) J&W Scientific, USA. Os dados foram coletados e trabalhados com auxílio da Work Station Varian Star. A temperatura inicial da coluna foi mantida constante por 4 minutos, a 75°C. Após este intervalo, a temperatura foi elevada de 75°C para 235°C a uma razão de 10°C por minuto. O gás de arraste utilizado foi nitrogênio

a 2,0 mL . min⁻¹, a temperatura do detector FID foi ajustada em 280°C e a do injetor em 250°C. Adotou-se o modo de injeção “splitless”.

4.6 Análise estatística

O experimento foi executado seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Foram testados sete tratamentos com cinco repetições, totalizando 35 parcelas. O modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Em que,

Y_{ij} = valor da observação que recebeu o tratamento “i”, na repetição “j”;

μ = média geral do experimento;

T_i = efeito do tratamento i; com $i = 1, 2, \dots, 7$;

E_{ij} = efeito do erro experimental associado a cada parcela.

As eventuais diferenças entre os valores dos parâmetros estudados foram avaliadas por análise de variância (ANAVA) de cada tomada de amostra. Os testes de Tukey ou de Scott-Knott, para comparações múltiplas de médias foram utilizados para distinguir os tratamentos. As pressuposições da ANAVA foram validadas pelo teste de Shapiro-Wilk, para determinar se os resíduos possuem distribuição normal. O nível de significância adotado foi $P < 0,05$ (exceto para a variável peso final $p < 0,07$ e para fases de desenvolvimento $p < 0,08$). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Sisvar (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Condições experimentais

As condições climáticas locais e as características do abastecimento permitiram que a temperatura da água no laboratório tivesse uma variação pequena, apesar da ausência de controladores termostáticos de aquecimento. A captação, por não ser feita superficialmente, favoreceu uma menor oscilação de temperatura. O fato de o lago da represa abrigar um enorme volume de água, também contribuiu para a estabilidade térmica. A média geral da temperatura foi $26,8 \pm 2,8^\circ \text{C}$. A amplitude térmica diária da água não ultrapassou 4°C . Os níveis de oxigênio foram mantidos relativamente constantes em $5,6 \pm 0,98 \text{ mg/L}$. O pH da água se manteve em $7,1 \pm 0,3$.

5.2 Análise das emulsões experimentais

As emulsões experimentais apresentaram composição de ácidos graxos compatíveis com a de seus ingredientes, refletindo a participação de cada óleo na mistura, como mostrado na Tabela 2. Os resultados das análises cromatográficas das emulsões guardaram uma proporcionalidade compatível com o laudo apresentado pela Martek Biosciences para os óleos ARASCO e DHASCO (anexo). Copeman et al. (2002), trabalhando com emulsões a base dos mesmos óleos, obtiveram teores dos ácidos graxos semelhantes aos do presente trabalho. Na emulsão que os autores elaboraram com 100% de DHASCO, o nível de DHA foi de 43%, refletindo a concentração do ácido no óleo que, no lote utilizado, foi de 49% DHA.

TABELA 2 Teor (%) dos principais ácidos graxos da fração lipídica das emulsões experimentais.

Ácidos graxos (%)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	ARA 0,5	ARA 1,0	ARA/ DHA 3:1	ARA/ DHA 1:3	DHA 0,5	DHA 1,0	Oléico
C14:0 (<i>Mirístico</i>)	0,41	0,81	3,06	8,23	5,34	11,10	0,13
C14:1 (<i>Miristoléico</i>)	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*	0,05	0,09	n.d.*
C16:0 (<i>Palmitico</i>)	14,21	13,45	12,96	12,27	10,83	11,89	13,75
C16:1 (<i>Palmitoléico</i>)	n.d.*	n.d.*	n.d.*	n.d.*	1,21	n.d.*	n.d.*
C18:0 (<i>Estéarico</i>)	15,90	9,46	8,82	3,47	3,28	0,29	3,61
C18:1N-9 (<i>Oléico</i>)	32,80	14,02	15,01	22,43	47,13	29,07	68,65
C18:2N-6 (<i>Linoléico</i>)	7,89	10,38	10,56	6,83	7,61	6,12	9,74
C18:3N-6 (<i>γ-linolênico</i>)	1,50	3,16	2,45	0,97	n.d.*	n.d.*	n.d.*
C18:3N-3 (<i>α-linolênico</i>)	1,09	0,83	0,85	0,58	1,07	0,54	1,36
C20:4N-6 (<i>ARA</i>)	22,74	41,58	31,30	12,95	n.d.*	n.d.*	n.d.*
C22:6N-3 (<i>DHA</i>)	n.d.*	n.d.*	10,07	30,18	21,79	39,41	n.d.*
DHA/ARA**	-	-	0,32	2,33	-	-	-

*“n.d.” não detectado (abaixo do limite de detecção da técnica empregada)

** Calculado somente para as emulsões em que ambos os ácidos foram detectados.

5.3 Análise das artêmias enriquecidas

As diferentes emulsões foram capazes de produzir artêmias com perfis lipídicos distintos, atendendo aos objetivos do enriquecimento. O teor de ARA de cada emulsão refletiu-se nas artêmias ($p < 0,05$). As que receberam o tratamento T2, que continha maior concentração de ARA, apresentaram maior teor deste ácido, $8,60\% \pm 1,04$. A segunda maior concentração de ARA foi do T3, que recebeu uma emulsão que continha 75% de ARASCO (na porcentagem total de óleos que compõem a emulsão), seguida pelo T1 que apresentou $5,56 \pm 1,66$ de ARA, como mostrado na Tabela 3. Os ácidos da família N-6 não são os principais constituintes das artêmias e seus conteúdos se mantêm relativamente

constantes entre os tratamentos que não incluem o araquidônico (Zhukova et al., 1998).

Os níveis de DHA nas artêmias acompanharam os das emulsões experimentais ($p < 0,05$), tendo o maior teor sido observado no T6 (6,64 % $\pm 0,13$), tratamento no qual as artêmias receberam a emulsão que continha maior participação deste ácido em sua composição. O segundo em concentração de DHA foi o tratamento T4 (5,61 $\pm 0,09$), que foi seguido pelo T5 (2,88 $\pm 0,08$), e T3 (1,74 $\pm 0,08$), que também refletiram o teor de DHA das emulsões que receberam durante o enriquecimento.

Apesar de nenhuma das emulsões experimentais conterem EPA (ácido eicosapentaenóico), o teor deste ácido nas artêmias parece ter, de certa forma, acompanhado o aumento dos níveis de DHA nas mesmas, tendo o maior teor sido observado nas artêmias do tratamento T6 ($p < 0,05$). Navarro et al. (1999), utilizando DHA marcado, puderam demonstrar claramente que ocorria uma retroconversão metabólica de parte do DHA em EPA nas artêmias. No estudo em questão, os autores, após um enriquecimento de 24 horas, recuperaram 20% do material marcado com isótopo radioativo como ácido eicosapentaenóico e cerca de 67% como DHA. A taxa de converção de 1 DHA para 0,3 EPA, relatada na pesquisa Navarro et al. (1999), foi ligeiramente maior do que a encontrada por Han et al. (2001), em que a razão de conversão foi de 1DHA para 0,22 EPA.

TABELA 3 Teor de alguns ácidos graxos (%) na fração lipídica de artêmias enriquecidas com as diferentes emulsões experimentais e náuplios recém-eclodidos

Ácidos Graxos	Náuplio	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
		ARA 0,5	ARA 1,0	ARA/ DHA 3:1	ARA/ DHA 1:3	DHA 0,5	DHA 1,0	Oléico
C16:0 (<i>Palmitico</i>)	9,78 b	10,15 ± 0,12 ab	10,86 ± 0,48 a	10,32 ± 0,05 ab	10,44 ± 0,18 ab	10,15 ± 0,26 ab	10,58 ± 0,26 ab	10,54 ± 0,49 ab
C18:0 (<i>Estearico</i>)	9,64 d	12,94 ± 1,50 c	14,06 ± 0,95 abc	15,35 ± 0,53 ab	13,36 ± 0,13 bc	15,70 ± 0,61 a	10,27 ± 0,47 d	5,27 ± 0,25 e
C18:1n-9 (<i>Oléico</i>)	19,64 b	18,69 ± 1,20 bc	13,81 ± 2,25 de	11,57 ± 0,49 e	14,73 ± 0,29 d	16,36 ± 0,63 cd	18,68 ± 1,18 bc	34,45 ± 0,62 a
C18:2n-6 (<i>Linoléico</i>)	5,40 d	7,57 ± 0,37 c	7,77 ± 0,27 bc	9,69 ± 0,01 a	7,60 ± 0,12 c	7,75 ± 0,17 bc	7,59 ± 0,58 c	8,66 ± 0,67 b
C18:3n-3 (<i>linolênico</i>)	27,86 a	22,84 ± 0,20 b	23,07 ± 0,05 b	22,72 ± 0,03 b	17,39 ± 0,26 c	23,35 ± 0,95 b	22,60 ± 0,81 b	22,12 ± 0,31 b
C20:4n-6 (<i>ARA</i>)	0,52 d	5,56 ± 1,66 bc	8,60 ± 1,04 a	7,43 ± 0,09 ab	5,33 ± 0,03 c	0,63 ± 0,22 d	0,41 ± 0,04 d	0,43 ± 0,06 d
C20:5n-3 (<i>EPA</i>)	1,03 e	2,00 ± 0,13 c	1,99 ± 0,11 c	2,26 ± 0,05 bc	2,43 ± 0,01 b	2,30 ± 0,09 b	2,81 ± 0,03 a	1,53 ± 0,20 d
C22:6n-3 (<i>DHA</i>)	0,03 e	0,13 ± 0,03 e	0,23 ± 0,08 e	1,74 ± 0,08 d	5,61 ± 0,09 b	2,88 ± 0,08 c	6,64 ± 0,13 a	0,04 ± 0,03 e

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

O maior teor de ácido oléico foi encontrado no T7 (34,45% \pm 0,62) onde as artêmias receberam a emulsão que continha maior concentração de óleo de oliva.

De forma geral, o enriquecimento das artêmias produziu perfis lipídicos que refletiram os das emulsões utilizadas no enriquecimento, principalmente com relação aos ácidos DHA e ARA. Os valores apresentados para os ácidos graxos estudados aproximam-se dos encontrados por Cho et al. (2001), exceto para o EPA, para o qual os autores encontraram valores entre 0,34 e 0,47. Os teores dos ácidos graxos nas artêmias variam fortemente segundo uma série de fatores que incluem cepa, local de procedência, condições do enriquecimento (estágio inicial de desenvolvimento do náuplio, tempo, dose e tipo de emulsão, etc.), dentre outras (Han et al., 2000). Harel et al. (2002), em um estudo de enriquecimento, puderam observar valores de EPA variando de 3,7%, para um tratamento com óleo de oliva, até 9,3% para um preparado comercial para uso em aquicultura, o DHA-selco.

A ausência de tratamentos com os ácidos linolênico (C18:3n-3) e linoléico (C18:2n-6) no enriquecimento foi, de certa maneira, contornado pelos elevados teores destes ácidos naturalmente encontrados nas artêmias, principalmente do C18:3n-3, que pôde ser encontrado em níveis em torno de 22%.

A maior relação n-3/n-6 nas artêmias enriquecidas foi encontrada nas que receberam o tratamento T6 (3,64% \pm 0,29) e a menor foi encontrada nas artêmias que receberam o T2 (1,38% \pm 0,12) (Tabela 4).

TABELA 4 Relações entre alguns ácidos graxos das artêmias enriquecidas

Relações e grupos de ácidos graxos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	ARA 0,5	ARA 1,0	ARA/ DHA 3:1	ARA/ DHA 1:3	DHA 0,5	DHA 1,0	Oléico
Σ N-3	24,97 ± 0,05 d	25,29 ± 0,10 d	26,72 ± 0,08 c	25,43 ± 0,17 d	28,53 ± 0,85 b	32,05 ± 0,87 a	23,69 ± 0,44 e
Σ N-6	14,66 ± 1,48 c	18,42 ± 1,52 a	19,08 ± 0,10 a	14,27 ± 0,17 b	9,25 ± 0,04 c	8,83 ± 0,53 c	9,70 ± 0,68 c
N-3/N-6	1,71 ± 0,17 d	1,38 ± 0,12 e	1,40 ± 0,00 e	1,78 ± 0,01 d	3,09 ± 0,10 b	3,64 ± 0,29 a	2,45 ± 0,13 c
Mono-Insatur.	22,71 ± 0,92 b	18,11 ± 2,50 c	15,58 ± 0,52 d	18,28 ± 0,36 c	20,79 ± 0,72 b	23,14 ± 1,35 b	38,67 ± 0,83 a
Saturados	23,86 ± 1,40 b	25,84 ± 1,27 a	26,87 ± 0,47 a	27,57 ± 0,39 a	27,28 ± 0,93 a	23,60 ± 0,40 b	16,46 ± 0,70 c
ARA/EPA	2,75 ± 0,62 b	4,34 ± 0,66 a	3,29 ± 0,04 b	2,19 ± 0,01 c	0,27 ± 0,09 d	0,15 ± 0,01 d	0,28 ± 0,05 d
DHA/EPA	0,06 ± 0,01 e	0,12 ± 0,04 d	0,77 ± 0,02 c	2,31 ± 0,04 a	1,25 ± 0,03 b	2,36 ± 0,07 a	0,03 ± 0,02 e
DHA/ARA	0,02 ± 0,00 c	0,03 ± 0,01 c	0,23 ± 0,00 c	1,05 ± 0,02 c	5,08 ± 2,10 b	16,19 ± 1,91 a	0,09 ± 0,07c

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). “Σ N-3” refere-se à soma das porcentagens de C18:3n-3; C20:5n-3 e C22:6n-3. “Σ N-6” refere-se à soma de C18:2n-6; C18:3n-6; C20:3n-6 e C20:4n-6. “N-3/N-6” refere-se à razão entre Σ N-3 e Σ N-6 “Mono-Insatur” refere-se à soma de C14:1; C16:1; C18:1n-9 e C20:1. “Saturados” refere-se à soma de C14:0; C16:0; C18:0 e C20:0.

As relações entre os ácidos DHA/ARA, nas artêmias enriquecidas com os tratamentos T3 e T4, foram menores do que nas emulsões utilizadas. No T3, a relação foi 0,23 nas artêmias e 0,32 na emulsão. No T4, a emulsão apresentou uma relação DHA/ARA de 2,33 e o perfil lipídico gerado na artêmia apresentou uma relação de 1,05. Estas alterações nas relações se devem ao fato de que o ácido araquidônico se mantém relativamente estável no metabolismo da artêmia, enquanto que o DHA é ativamente catabolizado (Han et al., 2000). Em um experimento sobre enriquecimento, Han et al. (2001) observaram que a relação DHA/ARA foi convertida de 4,7 e 2,3, na emulsão, para 2,1 e 1,4, respectivamente, nos náuplios. Os autores também observaram, neste estudo, que a presença de ARA em combinação com 50% DHA parece ter melhorado a incorporação de ARA em relação a emulsões elaboradas com ARA e óleo. Essa pode ser a razão pela qual o tratamento T4, cuja emulsão continha 12,95% de ARA e 30,18% de DHA, tenha incorporado, aparentemente, a mesma quantidade de ARA que o tratamento T1, que continha quase o dobro (22,74%) de ARA.

5.4 Análise das larvas de curimba

Os dados da cromatografia das larvas coletadas na amostragem intermediária mostram que oito dias foram suficientes para produzir variações significativas nos teores de alguns ácidos graxos (Tabela 5). As larvas, de maneira geral, variaram seu perfil lipídico de acordo com o encontrado nas artêmias que lhe foram fornecidas, atestando a viabilidade do enriquecimento. Os níveis de DHA mais altos foram encontrados nos tratamentos T6, T5 e T4 (9,98%±1,48, 8,58%±0,7 e 8,29% ±0,65, respectivamente), que receberam artêmia contendo os níveis mais altos deste ácido.

TABELA 5 Teor de alguns ácidos graxos na fração lipídica de larvas de *Prochilodus lineatus* alimentadas com *artêmia* enriquecida, com diferentes emulsões, ao oitavo dia de experimento (coleta intermediária)

Ácidos Graxos (%)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	ARA 0,5	ARA 1,0	ARA/ DHA 3:1	ARA/ DHA 1:3	DHA 0,5	DHA 1,0	Oléico
C16:0 (<i>Palmitico</i>)	20,70 ± 1,88 a	19,97 ± 0,63 a	18,65 ± 1,01 a	19,65 ± 0,72 a	19,18 ± 0,42 a	18,97 ± 1,77 a	19,02 ± 0,88 a
C18:0 (<i>Estearico</i>)	14,43 ± 0,44 ab	14,80 ± 0,16 ab	15,09 ± 0,50 a	14,35 ± 0,23 ab	14,28 ± 0,23 ab	14,02 ± 0,82 b	14,30 ± 0,62 ab
C18:1N-9 (<i>Oléico</i>)	19,75 ± 1,38 a	17,78 ± 0,34 c	18,17 ± 0,88 bc	19,63 ± 0,84 ab	19,72 ± 0,58 ab	18,46 ± 0,29 abc	19,80 ± 0,59 a
C18:2 N-6 (<i>Linoléico</i>)	4,34 ± 0,30 b	3,97 ± 0,13 c	3,97 ± 0,20 c	4,55 ± 0,07 b	4,42 ± 0,11 b	4,20 ± 0,20 bc	5,12 ± 0,14 a
C18:3N-3 (<i>linolênico</i>)	5,48 ± 0,67 ab	5,31 ± 0,65 ab	5,19 ± 0,30 b	6,12 ± 0,15 a	6,12 ± 0,29 a	5,95 ± 0,33 ab	5,87 ± 0,12 ab
C20:4N-6 (<i>ARA</i>)	8,01 ± 0,44 c	10,93 ± 0,40 a	10,07 ± 0,27 b	5,77 ± 0,22 d	4,68 ± 0,30 e	4,46 ± 0,70 e	4,64 ± 0,19 e
C20:5N-3 (<i>EPA</i>)	2,23 ± 0,26 b	1,85 ± 0,18 b	2,10 ± 0,29 b	3,08 ± 0,33 a	3,57 ± 0,20 a	3,30 ± 0,26 a	3,27 ± 0,15 a
C22:6N-3 (<i>DHA</i>)	5,53 ± 1,67 d	5,86 ± 0,42 d	6,64 ± 1,04 bcd	8,29 ± 0,65 abc	8,58 ± 0,77 ab	9,98 ± 1,48 a	6,23 ± 0,29 cd

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nas larvas dos tratamentos nos quais as artêmias foram enriquecidas com emulsões que continham DHA, puderam ser observados teores de EPA (ácido eicosapentaenóico) mais elevados do que para as larvas que receberam artêmias tratadas com as demais emulsões.

As concentrações de araquidônico nas larvas com oito dias de alimentação experimental tiveram uma relação com os perfis de ácidos graxos das artêmias ainda mais clara, refletindo um aumento de ARA (C20:4n-6) à medida que se aumentou o nível deste ácido no enriquecimento. O tratamento T2, em que a fração óleo da emulsão foi 100% constituída por ARASCO e se produziram os maiores níveis de ARA nas artêmias, obteve-se os mais elevados teores deste ácido nas larvas (10,93% \pm 0,40). No T3, obteve-se o segundo valor mais alto, 10,07% \pm 0,27; no T1, encontrou-se o terceiro maior valor (8,01% \pm 0,44) e no T4, o quarto (5,77% \pm 0,22). Para os demais tratamentos, não houve alterações significativas nos valores de araquidônico (ARA).

As larvas coletadas no final do experimento (16° dia de alimentação) apresentaram variações semelhantes às encontradas na amostragem intermediária (oitavo dia), em função das diferentes dietas experimentais (Tabela 6). O ácido docosaexaenóico esteve presente em maior concentração nos tratamentos à base de DHASCO, tendo o T6, juntamente com o T5 e T4, obtido os níveis mais elevados (8,26 % \pm 1,41; 8,52% \pm 0,21; 9,07% \pm 1,33, respectivamente). Os demais tratamentos não se diferenciaram de forma significativa ($p \leq 0,05$). No T6, assim como na coleta intermediária, pôde ser observado o nível mais elevado de ácido eicosapentaenóico.

TABELA 6 Teor de alguns ácidos graxos na fração lipídica de larvas de *Prochilodus lineatus* alimentadas com artêmia enriquecida com diferentes emulsões ao décimo sexto dia de experimento (coleta final).

Ácidos Graxos (%)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	ARA 0,5	ARA 1,0	ARA/ DHA 3:1	ARA/ DHA 1:3	DHA 0,5	DHA 1,0	Oléico
C16:0 (Palmítico)	14,50 ± 3,93 a	14,88 ± 3,21 a	14,30 ± 3,75 a	12,09 ± 1,58 a	11,35 ± 0,67 a	11,53 ± 0,48 a	14,23 ± 2,49 a
C18:0 (Estearico)	14,19 ± 0,76 a	14,68 ± 1,27 a	14,62 ± 2,02 a	13,07 ± 0,94 a	12,75 ± 0,83 a	11,27 ± 1,87 a	14,96 ± 1,91 a
C18:1N-9 (Oléico)	12,74 ± 3,52 a	14,17 ± 2,84 a	12,24 ± 3,29 a	10,97 ± 1,39 a	10,54 ± 1,24 a	11,69 ± 0,84 a	15,07 ± 2,01 a
C18:2 N-6 (Linoléico)	4,03 ± 0,21 cd	3,51 ± 0,16 d	3,66 ± 0,21 cd	5,50 ± 0,95 a	4,93 ± 0,36 ab	4,47 ± 0,26 bc	5,24 ± 0,37 ab
C18:3N-3 (Linolênico)	4,35 ± 0,90 a	4,42 ± 0,76 a	4,18 ± 1,01 a	3,80 ± 0,21 a	3,62 ± 0,20 a	3,65 ± 0,52 a	4,85 ± 0,48 a
C20:4N-6 (ARA)	9,10 ± 0,44 c	12,97 ± 1,04 a	11,16 ± 0,82 b	7,54 ± 0,23 d	5,57 ± 0,52 e	6,24 ± 0,43 e	5,25 ± 0,10 e
C20:5N-3 (EPA)	3,59 ± 0,94 b	3,23 ± 1,31 bc	1,67 ± 0,37 c	2,37 ± 0,55 bc	2,31 ± 0,26 bc	4,91 ± 1,13 a	3,40 ± 0,37 b
C22:6N-3 (DHA)	6,00 ± 0,80 c	6,03 ± 0,51 c	6,96 ± 0,82 bc	8,26 ± 1,41 ab	8,52 ± 0,21 ab	9,07 ± 1,33 a	5,83 ± 0,87 c

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha são estatisticamente semelhantes, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Assim como na coleta intermediária, o efeito das artêmias enriquecidas sobre o perfil lipídico das larvas foi mais claro para o ácido araquidônico. Os quatro níveis de inclusão de ARASCO nas emulsões, 25% 50% 75% e 100%, referentes aos tratamentos T4, T1, T3, e T2 respectivamente, foram capazes de gerar teores crescentes significativamente distintos de ARA nas larvas.

Houve alterações significativas no perfil lipídico das larvas dentro de cada tratamento, em função do momento de coleta das amostras (Tabela 7).

Pôde ser observada, na coleta final, uma redução significativa ($p \leq 0,05$) no teor de C16:0 e C18:1n-9, em relação à coleta intermediária e ou inicial, na maioria dos tratamentos. Esta redução está, provavelmente, associada ao jejum de 24 horas a que os animais foram submetidos antes da coleta final. Segundo Tocher (2003), os ácidos C16:0 e C18:1n-9 são pesadamente catabolizados para geração de energia durante o desenvolvimento dos peixes. A concentração de C18:2n-6 foi maior na coleta final, para todos os tratamentos, exceto para o T2. O C18:3n-3 reduziu em relação à coleta intermediária, porém, se manteve mais elevado que na inicial em todos os tratamentos. A redução na coleta final também pode estar associada ao jejum. Pode ocorrer a oxidação do C18:3n-3 nos tecidos para a produção de energia, limitando sua disponibilidade para a alongação e a dessaturação em C20 e C22- HUFAs (Ruyter et al., 2000).

O ácido araquidônico, nos tratamentos T2 e T3, mostrou um progressivo acúmulo com o passar do tempo, tendo os níveis observados na coleta final se sobressaído em relação aos encontrados na intermediária e inicial. No T1, houve uma queda nos teores de C20:4n-6 da coleta inicial para a coleta intermediária. Na coleta final, a concentração deste ácido retornou aos valores encontrados na inicial. Nos demais tratamentos, também houve, no final, uma recuperação em relação à coleta intermediária, porém, ao contrário do que ocorreu no T1, estes valores não alcançaram os níveis iniciais deste ácido.

TABELA 7 Teor de alguns ácidos graxos na fração lipídica de larvas de *Prochilodus lineatus*, em três diferentes fases do experimento.

TRAT FASE	C16:0 Palmitico	C18:0 Estearico	C18:1N-9 Oléico	C18:2N-6 Linoléico	C18:3N-3 Linolênico	C20:4N-6 ARA	C20:5N-3 EPA	C22:6N-3 DHA
INICIAL*	18,45 b	13,90 a	14,34 b	2,79 b	2,25 c	9,47 a	0,25 c	7,96 a
T1 INTER.	20,70 ± 1,68 a	14,43 ± 0,39 a	19,75 ± 1,24 a	4,34 ± 0,27 a	5,48 ± 0,60 a	8,01 ± 0,40 b	2,23 ± 0,24 b	5,53 ± 1,50 b
T1 FINAL	14,50 ± 3,51 c	14,19 ± 0,68 a	12,74 ± 3,15 c	4,03 ± 0,19 a	4,35 ± 0,80 b	9,10 ± 0,40 a	3,19 ± 0,41 a	6,00 ± 0,72 b
INICIAL*	18,45 b	13,90 a	14,34 b	2,79 c	2,25 c	9,47 c	0,25 b	7,96 a
T2 INTER.	19,97 ± 0,56 a	14,80 ± 0,14 a	17,78 ± 0,31 a	3,97 ± 0,11 a	5,31 ± 0,58 a	10,93 ± 0,36 b	1,85 ± 0,16 a	5,86 ± 0,37 b
T2 FINAL	14,88 ± 2,87 c	14,68 ± 1,14 a	14,17 ± 2,54 b	3,51 ± 0,14 b	4,42 ± 0,68 b	12,97 ± 0,93 a	2,42 ± 0,33 a	6,03 ± 0,46 b
INICIAL*	18,45 a	13,90 a	14,34 b	2,79 b	2,25 c	9,47 b	0,25 b	7,96 a
T3 INTER.	18,65 ± 0,90 a	15,09 ± 0,45 a	18,17 ± 0,79 a	3,97 ± 0,18 a	5,19 ± 0,27 a	10,07 ± 0,24 b	2,10 ± 0,26 a	6,64 ± 0,93 b
T3 FINAL	14,30 ± 3,35 b	14,62 ± 1,81 a	12,24 ± 2,94 b	3,66 ± 0,19 a	4,18 ± 0,90 b	11,16 ± 0,73 a	1,67 ± 0,33 a	6,96 ± 0,73 ab

Continua...

TABELA 7 Continuação

TRAT FASE	C16:0	C18:0	C18:1N-9	C18:2N-6	C18:3N-3	C20:4N-6	C20:5N-3	C22:6N-3
INICIAL*	18,45 a	13,90 a	14,34 b	2,79 c	2,25 c	9,47 a	0,25 b	7,96 a
T4 INTER.	19,65 ±0,65 a	14,35 ±0,20 a	19,63 ±0,75 a	4,55 ±0,06 b	6,12 ±0,14 a	5,77 ±0,19 c	3,08 ±0,29 a	8,29 ±0,58 a
T4 FINAL	12,09 ±1,42 b	13,07 ± 0,84 a	10,97 ± 1,25 c	5,50 ± 0,85 a	3,80 ± 0,19 b	7,54 ± 0,20 b	2,82 ± 0,61 a	8,26 ± 1,26 a
INICIAL*	18,45 a	13,90 ab	14,34 b	2,79 c	2,25 c	9,47 a	0,25 c	7,96 a
T5 INTER.	19,18 ±0,37 a	14,28 ±0,20 a	19,72 ±0,52 a	4,42 ±0,10 b	6,12 ±0,26 a	4,68 ±0,27 c	3,57 ±0,18 a	8,58 ±0,69 a
T5 FINAL	11,35 ±0,60 b	12,75 ±0,75 b	10,54 ±1,11 c	4,93 ±0,33 a	3,62 ±0,18 b	5,57 ±0,46 b	2,73 ±0,69 b	8,52 ±0,19 a
INICIAL*	18,45 a	13,90 a	14,34b	2,79b	2,25c	9,47 a	0,25c	7,96b
T6 INTER.	18,97 ±1,58 a	14,02 ±0,73 a	18,46 ±0,26 a	4,20 ±0,18 a	5,95 ±0,30 a	4,46 ±0,62 c	3,30 ±0,23 b	9,98 ±1,33 a
T6 FINAL	11,53 ±0,43 b	11,27 ±1,68 b	11,69 ±0,75 c	4,47 ±0,24 a	3,65 ±0,46 b	6,24 ±0,38 b	4,91 ±1,01 a	9,07 ±1,19 ab
INICIAL*	18,45 a	13,90 a	14,34 b	2,79 b	2,25 c	9,47 a	0,25b	7,96 a
T7 INTER.	19,02 ±0,79 a	14,30 ±0,56 a	19,80 ±0,53 a	5,12 ±0,13 a	5,87 ±0,10 a	4,64 ±0,17 b	3,27 ±0,14 a	6,23 ±0,26 b
T7 FINAL	14,23 ±2,23 b	14,96 ±1,71 a	15,07 ±1,80 b	5,24 ±0,33 a	4,85 ±0,43 b	5,25 ±0,09 b	3,40 ±0,33 a	5,83 ±0,78 b

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna do mesmo tratamento, são estatisticamente semelhantes, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

TABELA 8 Relações entre alguns ácidos graxos de interesse das larvas de curimba ao 16º dia (coleta final)

Relações entre ácidos graxos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
	ARA 0,5	ARA 1,0	ARA/ DHA 3:1	ARA/ DHA 1:3	DHA 0,5	DHA 1,0	Oléico
EPA/ARA	0,35 ± 0,05 d	0,19 ± 0,02 e	0,15 ± 0,02 e	0,37 ± 0,09 d	0,50 ± 0,16 c	0,78 ± 0,13 a	0,65 ± 0,06 b
N-3/N6	0,94 ± 0,09 e	0,72 ± 0,04 f	0,79 ± 0,08 f	1,08 ± 0,06 d	1,30 ± 0,13 b	1,52 ± 0,12 a	1,18 ± 0,08 c
ARA/20:3	13,46 ± 1,92 a	16,45 ± 2,29 a	15,38 ± 2,83 a	15,82 ± 1,65 a	10,39 ± 0,53 b	16,61 ± 9,45 a	6,46 ± 0,38 c
DHA/EPA	1,91 ± 0,39 d	2,53 ± 0,35 c	4,25 ± 0,50 a	3,11 ± 1,17 b	3,28 ± 0,71 b	1,87 ± 0,17 d	1,71 ± 0,13 d
DHA/ARA	0,66 ± 0,06 c	0,47 ± 0,02 d	0,62 ± 0,04 c	1,09 ± 0,15 b	1,54 ± 0,11 a	1,45 ± 0,13 a	1,11 ± 0,15 b
18:3N-3/EPA	1,39 ± 0,36 c	1,83 ± 0,15 b	2,50 ± 0,16 a	1,42 ± 0,40 c	1,39 ± 0,32 c	0,76 ± 0,12 d	1,43 ± 0,03 c
18:2N-6/ARA	0,44 ± 0,04 d	0,27 ± 0,01 f	0,33 ± 0,01 e	0,73 ± 0,11 c	0,89 ± 0,04 b	0,72 ± 0,03 c	1,00 ± 0,06 a

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O ácido eicosapentaenóico parece ter aumentado em concentração para todos os tratamentos com o passar do tempo, ou seja, a coleta inicial apresentou valores inferiores aos das coletas intermediária e final, exceto para o tratamento T5, no qual a coleta inicial sobressaiu-se à intermediária que, por sua vez, foi superada pela final.

O ácido docosaexaenóico teve valores, na coleta final, iguais ou superiores aos iniciais em todos os tratamentos, exceto no T7, onde ocorreu uma redução na concentração deste ácido.

5.5 Avaliação do desempenho das larvas de curimba

O comprimento padrão (C.P.) das larvas, ao oitavo dia de alimentação, parece ter sido influenciado pelos tratamentos, como mostrado na Tabela 9. As larvas que receberam artêmias enriquecidas com as emulsões T1 e T6 tiveram um desempenho significativamente inferior às demais. No T1, o C.P. foi de $7,33 \pm 0,25$ mm e, no T6, de $7,51 \pm 0,55$ mm. Os maiores valores numéricos para o comprimento padrão puderam ser observados nos tratamentos T2 ($7,93 \pm 0,24$ mm), T3 ($8,00 \pm 0,31$ mm), T4 ($7,96 \pm 0,27$ mm), T5 ($8,00 \pm 0,18$ mm) e T7 ($7,74 \pm 0,20$ mm). Aparentemente, não há fatores em comum que possam colocar o T1 e o T6 em igual situação de desvantagem, porém, existem fatores distintos que, tomados separadamente, podem explicar o pior resultado destes tratamentos. O teor de DHA encontrado nas larvas do tratamento T6 pode ter sido excessivo para as larvas. A fração fosfolipídica poderia estar sendo ocupada de sobremaneira pelos ácidos DHA e EPA, uma vez que o ácido eicosapentaenóico também se encontra em abundância, prejudicando a produção de eicosanóides oriundos do araquidonato. O C20:5n-3 compete com o C20:3n-6 e com o C18:2n-6 pela Δ -6 dessaturase na produção de eicosanóides (Ghioni, 2002). Segundo Tocher (2000), as prostaglandinas oriundas do araquidonato teriam um papel importantíssimo no crescimento celular. Em experimentos *in*

vitro, com células de carpa (*Cyprinus carpio*), a deficiência de araquidônico seria responsável por baixas taxas de crescimento celular, mesmo se tratando de espécies tropicais com conhecida capacidade de transformação de ácidos graxos de 18C, em produtos 20 e 22C.

O fato de o tratamento T1 ter desempenho inferior ao T2 e T3 não pode ser explicado pela simples superioridade no teor de ARA dos tratamentos T2 e T3, uma vez que, nos tratamentos em que não houve suplementação com araquidônico, os resultados foram semelhantes ao T2. O efeito negativo sofrido por este tratamento também não pode ser atribuído à presença do óleo de oliva, pois, nos outros tratamentos em que se fez uso deste óleo, os resultados foram bons. Seriam necessárias outras pesquisas para estudar de forma mais aprofundada quais as causas do baixo desempenho observado no tratamento T1, pois, no presente trabalho, não se obteve uma resposta conclusiva para esta questão.

A relação entre ácidos graxos n-3/n-6, comumente utilizada como único parâmetro norteador do balanceamento lipídico de dietas para peixes de água doce, parece não ser válido para as fases iniciais do desenvolvimento da curimba. As larvas do tratamento T1 foram alimentadas com artêmias enriquecidas que continham a mesma relação n-3/n-6 do que o alimento destinado às larvas do T4, porém, as últimas tiveram um desempenho claramente superior.

Os resultados observados na coleta intermediária para o comprimento das larvas não se repetiram ao 16º dia, na coleta final. Os tratamentos T1 e T6 se nivelaram aos demais, enquanto o T4 e o T5 se sobressaíram ($p \leq 0,07$). Relatos de efeitos positivos da inclusão de ácidos graxos HUFA na dieta de espécies tropicais de água doce são mais raros do que para os peixes de águas salgadas, talvez por se tratarem de efeitos mais sutis que, muitas vezes, se perdem na variação natural de desempenho observada na larvicultura.

A coleta final revela semelhanças interessantes entre os tratamentos T4 e T5, que podem ser a reposta para o desempenho superior observado nestes tratamentos. As artêmias enriquecidas dos tratamentos T4, T5 e T6 apresentam relações entre DHA/EPA mais elevadas que os demais tratamentos (2,31; 1,25; 2,36, respectivamente). O resultado desta relação nas larvas foi T4 = 3,11; T5 = 3,28 e T6 = 1,87 (Tabela 8). Como o DHA e o EPA disputam pelas mesmas enzimas para realizar sua esterificação na estrutura dos fosfolípidios, é extremamente importante que estes ácidos estejam em equilíbrio na alimentação das larvas. O excesso de um deles irá, necessariamente, causar uma redução do outro na fração fosfolipídica (Copeman et al., 2002; Sargent et al., 1999a,b). O ácido eicosapentaenóico desempenha um papel central na modulação da produção de eicosanóides, gerando compostos biologicamente menos potentes.

O DHA é, naturalmente, achado em elevadas concentrações no tecido neural. Acredita-se que ele desempenhe uma função primordial nas membranas especializadas deste tecido. Nos mamíferos, a deficiência de DHA provoca perda da acuidade visual e redução de capacidade de aprendizado (Lauritzen et al., 2001). Nas larvas de peixes, grande parte da massa corporal é formada pelo tecido neural e pelos olhos, portanto, qualquer deficiência em DHA, durante o desenvolvimento embrionário e larval, tem severas conseqüências para os sofisticados hábitos de predação das larvas. Com a visão e o desenvolvimento motor comprometidos, a capacidade de se alimentar e de fugir dos predadores é prejudicada.

Ruyter et al. (2000), ao fornecerem uma dieta contendo 1% de DHA e EPA para salmão-do-atlântico, observaram que os peixes detinham teores de aproximadamente 30% de C22:6n-3 no fígado e nos fosfolípidios do sangue, enquanto que os juvenis, tratados com 1% de C18:3n-3 na dieta, tiveram apenas 26% de DHA nestes tecidos. A disponibilidade de C18:3n-3 não implica em incrementos satisfatórios nos teores de DHA, embora ocorra, sim, uma

apreciável elevação do EPA. Estes resultados indicam que a produção endógena de DHA, nas fases iniciais do desenvolvimento, não são compatíveis com as necessidades das larvas. Por isso, a relação DHA/EPA é tão importante. Tanto o C18:3n-3 como o C24:5n-3 são substratos para Δ -6 dessaturase. Como resultado, o C18:3n-3 competitivamente deprime a conversão do EPA para DHA. É provável, portanto, que, mesmo com a habilidade inata de converter EPA em DHA, esta conversão não seja suficiente nas larvas alimentadas com fontes ricas de ácidos C18 (Sargent et al., 1997). A relação DHA /C18:3N-3 foi mais alta nos tratamentos T4 (0,32), T5(0,12) e T6(0,29). É provável que esta relação tenha contribuído para o resultado encontrado. Chou & Shiau (1999) puderam constatar maior ganho de peso ($p < 0,05$) nos juvenis híbridos de tilápia (*O. niloticus* X *O. aureus*) tratados com óleo de fígado de bacalhau do que nos que receberam óleos vegetais. A tilápia, assim como o salmão e outras espécies de água doce, possuem comprovada atividade enzimática para alongar e dessaturar os ácidos de 18 carbonos.

O peso (matéria natural) das larvas teve diferença significativa apenas na amostragem intermediária (Tabela 10), em que o T3, T4, T5 e T7 se destacaram dos demais por terem gerado as larvas mais pesadas. Os tratamentos T3, T4 e T5 são os grupos que contêm os teores de ácidos graxos saturados mais elevados. O T7 apresenta um teor bastante expressivo de oléico. O grupo que obteve maior peso na coleta intermediária foi o que, em tese, conteve maior disponibilidade de energia. É possível que a disponibilidade energética também tenha contribuído para os resultados de comprimento final observados nos tratamentos T4 e T5.

Na coleta final não foi possível detectar diferenças de peso entre os tratamentos, mas o tratamento T4 e o T5 obtiveram maiores médias (não significativo). Talvez o benefício da energia mais prontamente disponível nos tratamentos que obtiveram o maior peso na coleta intermediária não tenha sido suficientemente vantajoso para manter o peso em superioridade até o final do

experimento. O crescimento não se sustenta por muito tempo em um desequilíbrio de ácidos graxos essenciais.

O peso natural talvez esteja mais sujeito a erros de aferição, devido à dificuldade de se padronizar a quantidade de água aderida superficialmente nas larvas. Uma secagem excessiva também induz a resultados equivocados, porque as larvas perdem, com muita facilidade, a sua umidade interna característica. Os procedimentos de secagem do excesso de água, por mais meticulosamente executados que possam ser, ainda embutem um considerável erro nos dados de pesagem. Apesar das limitações da técnica adotada, o peso não contrariou os resultados da medição.

TABELA 9 Comprimento padrão médio (mm) das larvas de curimba nas fases inicial (1° dia), intermediária (8° dia) e final (16° dia).

Tratamento	Fase de coleta		
	Inicial (1° dia)	Intermediária (8° dia) **	Final (16° dia) ***
T1 (ARA 0,5)	5,63 ± 0,29	7,33 ± 0,25 b	8,76 ± 0,35 b
T2 (ARA 1,0)	5,63 ± 0,29	7,93 ± 0,24 a	8,88 ± 0,17 b
T3 (ARA/DHA 3:1)	5,63 ± 0,29	8,00 ± 0,31 a	9,07 ± 0,47 b
T4 (ARA/DHA 1:3)	5,63 ± 0,29	7,96 ± 0,27 a	9,36 ± 0,34 a
T5 (DHA 0,5)	5,63 ± 0,29	8,00 ± 0,18 a	9,27 ± 0,23 a
T6 (DHA 1,0)	5,63 ± 0,29	7,51 ± 0,55 b	8,83 ± 0,48 b
T7 (Oléico)	5,63 ± 0,29	7,74 ± 0,20 a	9,04 ± 0,12 b

** Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

*** Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p = 0,0636$).

As relações entre peso e comprimento variam durante o desenvolvimento larval e é natural que diferenças entre o resultado da medição e o da pesagem ocorram. Guevara (2003), ao trabalhar com alimentos vivos na

larvicultura de curimba, obteve resultados positivos de crescimento acompanhados de resultados negativos de ganho de peso. Fracalossi (1998) afirma que, metabolicamente, os peixes nas fases iniciais do desenvolvimento dão prioridade ao crescimento em comprimento e, posteriormente, ao aumento de peso.

TABELA 10 Peso médio (matéria natural) das larvas de curimba nas fases intermediária (8° dia) e final (16° dia).

Tratamento	Fase de coleta	
	Intermediária (8° dia) **	Final (16° dia)***
T1 (ARA 0,5)	3,36 ± 0,65 b	9,74 ± 2,04 a
T2 (ARA 1,0)	3,96 ± 0,49 b	10,44 ± 1,02 a
T3 (ARA/DHA 3:1)	4,45 ± 0,71 a	11,81 ± 2,96 a
T4 (ARA/DHA 1:3)	4,26 ± 0,85 a	13,05 ± 2,26 a
T5 (DHA 0,5)	4,58 ± 0,74 a	13,02 ± 2,24 a
T6 (DHA 1,0)	3,77 ± 1,10 b	10,25 ± 2,73 a
T7 (Oléico)	5,09 ± 0,53 a	11,45 ± 1,49 a

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Com base nos relatos de Nakatani et al (2001), foi feito um acompanhamento do desenvolvimento larval, em que as larvas coletadas ao final do experimento ($n=200$) foram divididas em três grupos (pré-flexão, flexão e pós-flexão), conforme o estágio de desenvolvimento em que se encontravam. A separação foi feita com base na amplitude de comprimento padrão por classe apresentada por estes autores. Na Tabela 11, pode-se observar esta distribuição.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos quanto ao número de larvas que se encontravam nas fases de pré-flexão e flexão, porém, nos tratamentos T4 e T5, ocorreu em maior frequência, a presença de larvas em pós-flexão ($p \leq 0,08$), podendo-se observar que 18,24% e 18,13% dos animais

apresentavam, respectivamente, as características necessárias para serem enquadradas neste grupo. Os tratamentos T1, T2, T3, T6 e T7 (7,80%; 8,10%; 13,00%; 10,70% e 12,50%, respectivamente) não se distinguiram significativamente.

TABELA 11 Distribuição percentual das larvas, ao 16º dia de experimento, em três diferentes fases do desenvolvimento larval

Tratamento	Fase do desenvolvimento larval		
	Pré-flexão	Flexão	Pós-flexão
T1 (ARA 0,5)	4,20 ± 6,29 a	88,00 ± 4,57 a	7,80 ± 3,77 b
T2 (ARA 1,0)	0,80 ± 0,57 a	91,10 ± 3,27 a	8,10 ± 3,19 b
T3 (ARA/DHA 3:1)	0,90 ± 1,24 a	86,10 ± 7,97 a	13,00 ± 9,00 b
T4 (ARA/DHA 1:3)	0,24 ± 0,33 a	81,52 ± 8,79 a	18,24 ± 8,51 a
T5 (DHA 0,5)	0,88 ± 0,96 a	81,00 ± 6,08 a	18,13 ± 6,68 a
T6 (DHA 1,0)	3,70 ± 4,01 a	85,60 ± 6,77 a	10,70 ± 7,77 b
T7 (OLIVA)	2,00 ± 1,54 a	85,50 ± 4,77 a	12,50 ± 3,82 b

Médias seguidas de letras iguais, na mesma coluna, são estatisticamente semelhantes, pelo teste de Scott-knott ($P < 0,08\%$)

Bransden et al. (2005) puderam constatar os efeitos de variações no perfil lipídico sobre o desenvolvimento de *latris lineata*. Os autores observaram que os animais que receberam níveis adequados de DHA entravam em metamorfose mais cedo que os demais. A fase na qual se dá a metamorfose da larva é bastante crítica e a mortalidade se concentra em torno deste período. Dhert et al. (1990) constataram que o seabass asiático, suplementado com dietas deficientes, ou não, em HUFA, não diferiam em crescimento ou em sobrevivência até o momento da metamorfose (26-28 dias). A partir desta fase, os autores constataram mortalidade total do grupo tratado com dieta deficiente

em n-3HUFA, enquanto o outro grupo, com dieta rica nestes ácidos graxos, completou com sucesso a metamorfose.

A sobrevivência final das larvas parece não ter sido influenciada pelo tratamento a elas ministrado (Tabela 11). Os valores encontrados estão de acordo com os relatados para a espécie por Guevara (2003).

TABELA 12 Sobrevivência final das larvas submetidas aos diferentes tratamentos

Tratamento	Sobrevivência Média (%)
T1 (ARA 0,5)	92,40 ± 2,31 a
T2 (ARA 1,0)	92,32 ± 7,78 a
T3 (ARA/DHA 3:1)	82,65 ± 10,55 a
T4 (ARA/DHA 1:3)	81,70 ± 9,22 a
T5 (DHA 0,5)	86,21 ± 7,16 a
T6 (DHA 1,0)	86,22 ± 4,34 a
T7 (OLIVA)	90,12 ± 12,65 a

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As variações de desempenho são conseqüências de complexas interações entre os ácidos graxos e seus derivados metabólicos. A simples prevalência de um ácido, tomada sozinha, não é capaz de explicar as diferenças entre os tratamentos. Nas últimas décadas, houve grandes esforços de pesquisadores devotados em desvendar o metabolismo dos ácidos graxos nos peixes. Muitas questões foram esclarecidas, porém, ainda são muitas as lacunas a serem preenchidas.

Houve interferência significativa da variação do perfil lipídico sobre o crescimento e o desenvolvimento das larvas de curimba *Prochilodus lineatus*. Esta interferência foi além da relação n-3/n-6 das dietas, comprovando que, mesmo se tratando de uma espécie supostamente capaz de alongar e dessaturar ácidos graxos C18 em seus respectivos correspondentes C20 e C22, existe a necessidade de um correto balanceamento dos ácidos graxos essenciais para a espécie. O presente trabalho não aponta qual é esta relação, mas fornece alguns indícios e tendências que podem ser úteis no planejamento de estudos mais específicos. Os tratamentos T4 e T5, que obtiveram melhor desempenho, poderiam ser utilizados como ponto de partida em tais pesquisas.

A literatura acerca do metabolismo dos lipídeos na larvicultura apenas recentemente voltou sua atenção para a importância do ácido araquidônico. Os efeitos obtidos com sua suplementação são bastante diversificados. O estudo dos seus efeitos na larvicultura das espécies tropicais ainda encontra-se em seus primeiros passos.

Como sugestão para futuras pesquisas, não só com o *Prochilodus lineatus*, como também com as outras espécies de nossa abundante ictiofauna, seria bastante valioso que se fizesse um acompanhamento mais profundo da produção de eicosanóides, em função do conteúdo lipídico da dieta. Seria muito

interessante também uma avaliação dos parâmetros de resposta ao estresse, principalmente do cortisol.

7 CONCLUSÕES

As sete emulsões foram igualmente capazes de produzir variações significativas no perfil lipídico das artêmias por meio de um enriquecimento de 16 horas, comprovando a viabilidade das emulsões e a adequação da duração do processo de enriquecimento. Os resultados confirmam a capacidade das artêmias de catabolizar o DHA fornecido, aumentando os valores de EPA proporcionalmente ao aumento de DHA na emulsão. A presença de DHA nas emulsões parece ter favorecido a incorporação de ARA nas artêmias indicando um possível sinergismo entre estes ácidos.

O perfil lipídico das larvas de curimba foi alterado em função das dietas, refletindo os teores de DHA e ARA das artêmias enriquecidas. O fornecimento de artêmias enriquecidas contendo 5,61% de DHA e 5,33% de ARA (T4) ou 2,88% de DHA (T5) foi superior às demais dietas testadas em promover o desenvolvimento, proporcionando um maior número de larvas em pós-flexão e, também, um maior crescimento em comprimento padrão após 16 dias de tratamento.

Ao contrário do que acontece na larvicultura das espécies marinhas, o fornecimento de DHA e ARA por meio de alimento vivo enriquecido para espécies de água doce é pouco praticado, talvez por não apresentar efeitos tão marcantes como no primeiro grupo. Os resultados obtidos para as larvas de curimba mostram que tal prática não é isenta de efeitos, e deve ser mais estudada, principalmente nas espécies tropicais, em que a larvicultura é mais difícil.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANA, L. V. **Manual de producción da artêmia (quistes e biomassa) en módulos de cultivo**. México, 1999. 78 p.
- BEERLI, E. L. **Alimentação e comportamento de pós-larvas de Pacu**. 2002. 51 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BELL, J. G.; SARGENT, J. R. Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities **Aquaculture**, Amsterdam, v. 218, n. 1/4, p. 491–499, Mar. 2003
- BLAIR, T. et al. Evaluation of micro diets versus live feeds on growth survival and fatty acid composition of larval haddock (*melanogrammus aeglefinus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 25, n. 4, p. 51-461, July 2003.
- BRANSDEN, M. P.; BATTAGLENE, S. C.; MOREHEAD, D. T.; DUNSTAN, G. A.; NICHOLS, P. D. Effect of dietary 22:6n-3 on growth, survival and tissue fatty acid profile of striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae fed enriched Artemia **Aquaculture**, Amsterdam, v. 243, p. 331-344, 2005.
- BRANSDEN M. P.; COBRICOFT, J. M.; BATTAGLENE, S. C.; DUNSTAN, G. A.; NICHOLS, P. D.; BELL, J. G. Dietary arachidonic acid alters tissue fatty acid profile, Whole body eicosanoid production and resistance to hypersaline challenge in larvae of the temperate marine fish, Striped Trumpeter (*Latris lineata*). **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 30, p. 241-256, Sept. 2004.
- BRASH, A. R. Arachidonic acid as a bioactive molecule. **The Journal of Clinical Investigation**, Michigan, v. 107, n. 11, p. 1339-1345, June 2001.
- BRETT, M.; MÜLLER-NAVARRA, D. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes **Freshwater Biology**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 483-499, Dec. 1997.
- CAHU, C. L; ZAMBONINO INFANTE, J. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 200, n. 1/2, p. 161–180, Aug. 2001

CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, Edinburgh, v. 75, n. 3, p. 197-202, Sept. 2006.

CAROLSFELD, J. et al. **Migratory Fishes of South America**: biology, fisheries and conservation status. Victoria: World Fisheries Trust, International Development Research Centre and World Bank, 2003. 372 p.

CHO, S. H.; HUR, S. B.; JO, J. Y. Effect of enriched live feeds on survival and growth rates in larval Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* Hilgendorf. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, n. 3, p. 199-208, Mar. 2001.

CHOU, B. S.; SHIAU, S. Y. Both n-6 and n-3 Fatty Acids Are Required for Maximal Growth of Juvenile Hybrid Tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, Bethesda, v. 61, n. 1, p. 13-20, Jan. 1999.

COMPANHIA ENERGETICA DE MINAS GERAIS-CEMIG/CETEC. **Guia Ilustrado de Peixes da Bacia do Rio Grande**. Belo Horizonte, 2000. 144 p

COPEMAN, L. A.; PARRISH, C. C.; BROWN, J. A.; HAREL, M. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 210, n. 1/4, p. 285-304, July 2002.

FERNANDO, C. H. Zooplankton, fish and fisheries in tropical freshwaters. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 272, n. 1/3, p. 105-123, Jan. 1994.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In. REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA., 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FRACALOSSO, D. M. Doenças Nutricionais em peixes. In SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2., 1998, Piracicaba. **Anais...** Campinas: CNBA, 1998. 198 p.

FURUYA, W. M. **Espécies nativas**: fundamentos da moderna aquicultura. Canoas, RS: Ed. ULBRA, 2001. Cap. 10, p. 59-90.

- GAPASIN, R. S. J.; DURAY M. N Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milkfish (*Chanos chanos*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. v. 193, n. 1/2, p. 49–63, Feb. 2001.
- GHIONI, C.; PORTER, A. E. A.; TAYLOR, G. W.; TOCHER, D. R. Metabolism of 18:4n-3 (stearidonic acid) and 20:4n-3 in salmonid cells in culture and inhibition of the production of prostaglandin F2 α (PGF2 α) from 20:4n-6 (arachidonic acid). **Fish physiology and biochemistry**, Dordrecht, v. 28, n. 1/2, 2002.
- GUEVARA, M. J. P. **Enriquecimento de zooplâncton com óleo de peixe na larvicultura de pacu, *Piaractus mesopotamicus* e curimatá *Prochilodus lineatus***. 2003. 106 p. Dissertação (Mestrado em zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- HAN, K. M.; GEURDEN, I.; SORGELOOS, P. Enrichment strategies for Artêmia using emulsions providing different levels of n3 highly unsaturated fatty acids. **Aquaculture**, Amsterdam v. 183, n. 3/4, p. 335–347, Mar. 2000.
- HAN, K. M.; GEURDEN, I.; SORGELOOS, P. Fatty acid changes in enriched and subsequently starved Artêmia franciscana nauplii enriched with different essential fatty acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 199, p. 93–105, 2001.
- HAREL, M. Advanced DHA, EPA and ArA enrichment materials for marine aquaculture using single cell heterotrophs. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 213, n. 1/2, p. 347–362, July 2002.
- HORTON, H. R. et al. **Principles of biochemistry**. 3. ed. Prentice-Hall, 2002.
- JOMORI, R. K. **Desenvolvimento, sobrevivência e aspectos econômicos da produção de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Homberg, 1887) diretamente em viveiros ou com diferentes períodos de cultivo inicial de larvas em laboratório**. 2001. 69 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Centro de Aquicultura, Jaboticabal, SP.
- KOLKOVSKI, S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implication and applications to formulated diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 200, n. 1/2, p. 181-201, Aug. 2001.
- KOLKOVSKI, S.; CZESNY, S.; YACKEY, C.; MOREASU, R.; CIHLA, F.; MAHAN, D.; DABROWSKI, K. The effect of vitamin C and E in (n-3) highly unsaturated fatty acids-enriched *Artêmia* nauplii on growth, survival, and stress

resistance of fresh water walleye *stizostedion vitreum* larvae. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, n. 3, p. 199-206, Sept. 2000.

KOVEN, W.; BORR, Y.; LUTZ, KY, S.; BEN-ATIA, I.; WEISS, R.; BEHRENS, P.; TANDLER, A. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 193, n. 1/2, p. 107-122, Feb. 2001.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes**. Piracicaba: ESALQ, 1997. 74 p.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes cultivados**. Campo Grande, Mato Grosso do Sul: Projeto Pacu/Agropeixe, 1998. 108 p.

KUROKAWA, T.; SHIRAIISHI, M.; SUZUKI, T. Quantification of exogenous protease derived from zooplankton in the intestine of Japanese sardine (*sardinops melanotictus*) larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, n. 1/4, p. 491-499, Feb. 1998.

LANGDON, C. Microparticle types for delivering nutrients to marine fish larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 227, n. 1/4, p. 259-275, Nov. 2003.

LAURITZEN, L.; HANSEN, H. S.; JÜRGENSEN, M. H.; MICHAELSEN, K. F. The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 40, p. 1-94, 2001.

LAVENS, P.; LOOS, P. The history, present status and prospects of the availability of *Artêmia* cysts for aquaculture. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 181, n. 3/4, p. 397-403, Jan. 2000.

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. Manual on the production and use of live food for aquaculture. Rome: FAO, 1996. 295 p. (FAO Fisheries Technical Paper, n. 361).

LAVENS, P.; SORGELOOS, P. **Present status and prospects of the use of artêmia cyst and biomass in shrimp forming**. Recife: ABRAq, 1998. v. 1, p. 147-159. (Brasil 98: Aquicultura)

LAZZARO, X. A review of planktivorous fishes: Their evolution, feeding behaviours, selectivities, and impacts. **Hydrobiologia**, Dordrecht, v. 146, n. 2, p. 97-167, Mar. 1987.

LEE, S. M. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegeli*). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, p. 8-17, Dec. 2001. supplement.

LENINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. Tradução de W. R Loodi e A. A. Simões. São Paulo: Sarvier, 1995. 839 p. Tradução de: Principles of biochemistry.

LIM, L. C.; CHO, J. L.; DHERT, P.; WONG, C. C.; NELIS, H.; SORGELOOS, P. Use of decapsulated artêmia cysts in ornamental fish culture. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 33, n. 8, p. 575-589, July 2002.

LIN, X. W.; VOLKOFF, H.; NARNAWARE, Y.; BERNIER, N. J.; PEYON, P.; PETER, R. E. Review: Brain regulation of feeding behavior and food intake in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, v. 126, n. 4, p. 415-434, Aug. 2000.

LOVELL, R. T. Dietary Nutrient allowances for fish. **Feedstuffs**, Minneapolis, v. 70, n. 30, p. 88-94, July 1998.

LUO, M. Metabolism of arachidonic acid to eicosanoids within the nucleus. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1761, n. 5/6, p. 618-625, May/June 2006.

LUTHRIA D. L.; MOHAMMED B. S.; SPRECHER H. Regulation of the biosynthesis of 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 271, n. 27, p. 16020-16025, July 1996

McKEE, T.; McKEE, J. R. **Biochemistry: the molecular basis of life**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 2003. p. 200-33

MCKENZIE, D. J.; DAVID, J. Review: Effects of dietary fatty acids on the respiratory and cardiovascular physiology of fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, New York, v. 128, n. 3, p. 607-621, Mar. 2001.

McEVOY, L. A. Autoxidation of oil emulsions during the Artemia enrichment process. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 134, n. 1/2, p. 101-112, July 1995.

- MOTTA, V. T.; VALTER, T. **Bioquímica**. Caxias do Sul: Educs, 2005. 332 p.
- NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: Ed. Eduem, 2001. 378 p.
- NAVARRO, J. C.; HENDERSON, R. J.; MCEVOY, L. A.; BELL, M. V.; CUNAT, F. Lipid conversion during enrichment of *Artêmia*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 174, n. 1/2, p. 155–166, Apr. 1999.
- OSSE, J. W. M. et al. Priorities during early growth of fish larvae. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 155, n. 1/4, p. 249-258, Sept. 1997
- PECK, M. D. Interactions of lipids with immune function I: biochemical effects of dietary lipids on plasma membranes **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 5, p. 466-478, 1994a.
- PECK, D. M. Interactions of lipids with immune function II: Experimental and clinical studies of lipids and immunity. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Woborn, v. 5, n. 10, p. 514-521, Oct. 1994b.
- PEDERSEN, B. H. The cost of growth in young fish larvae, a review of new hypotheses. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 155, n. 1/4, p. 259-269, Sept. 1997.
- PERSON-LE RUYET, J.; BOENF, G. marine fish larvae feeding: formulated diet or live pray. **Journal of World Aquaculture Society**, Amsterdam, v. 24, n. 3, p. 211-224, 1993.
- RAINUZZO, J. R.; REITAN, K. I.; OLSEN, Y. The significance of lipids at the early stages of marine fish: a review. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 155, n. 1/4, p. 103-105, Sept. 1997.
- RIBEIRO, P. A. P. **Teor de ácidos graxos poliinsaturados e composição bromatológica dos files de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantida em diferentes sistemas de cultivo**. 2003. 56 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- RICHARDS, J. G.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; WOOD, C. M. Glycogen Phosphorylase and Pyruvate Dehydrogenase Transformation in White Muscle of Trout During High-Intensity Exercise. **American Journal of Regulatory Integrative Comparative Physiology**, Bethesda, v. 282, N. 3, p. 828-836, Mar. 2002a.

RICHARDS, J. G.; MERCADO, A. J.; CAYTON, C. A.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; WOOD, C. M. Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 205, n. 14, p. 2067-2077, July 2002b.

ROBIN, J. H.; VINCENT, B. Microparticulate diets as first food for gilthead sea bream larva (*Sparus aurata*): study of fatty acid incorporation. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 225, n. 1/4, p. 463-474, July 2003.

RUBIN, D.; LAPOSATA, M. Cellular interactions between n-6 and n-3 fatty acids: a mass analysis of fatty acid elongation/desaturation, distribution among complex lipids, and conversion to eicosanoids. **Journal of Lipid Research**, Bethesda, v. 33, n. 10, p. 1431-1440, Oct. 1992.

RUYTER, B.; ROSJO, C.; EINEN, O.; THOMASSEN, M. S. Essential fatty acids in Atlantic salmon: effects of increasing dietary doses of n-6 and n-3 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 6, n. 2, p. 119-127, June 2000.

SARGENT, J.; BELL, G.; McEVOY, L.; TOCHER, D.; ESTEVEZ, A. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 177, n. 1/4, p. 191-199, July 1999a.

SARGENT, J.; McEVOY, L.; ESTEVEZ, A.; HENDERSON, J.; TOCHER, D. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 179, n. 1/4, p. 217-229, Sept. 1999b.

SARGENT, J. R.; McEVOY, L. A.; BELL, J. G. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in larval feeds marine fish **Aquaculture**, Amsterdam, v. 155 p.117-127, 1997

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos**. São Carlos: RIMA, 2003. 106 p.

SIVASUNDAR, A. et al. Population structure and biogeography of migratory freshwater fishes (Prochilodus: Characiformes) in major South American rivers. **Molecular Ecology**, v. 10, p. 407-417, 2001.

SMITH, W. L. REVIEW ARTICLE The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. **Biochemical Journal**, London, v. 259, n. 2, p. 315-324, Apr. 1989.

SNYDER, D. E.; ROBERT, T. M. **Catostomid Fish Larvae and Early Juveniles of the Upper Colorado River Basin – Morphological Descriptions, Comparisons, and Computer-Interactive Key**. Colorado: Colorado Division of Wildlife, 2004. 122 p. (Technical Publication n. 42,

SORGELOOS, P. A. P.; DHERT, A.; CANDREVA, P. use of the brine shrimp, *Artémia sp.* In marine fish larviculture. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 200, n. 1/2, p. 147-159, Aug. 2001

SPRECHER, H. Metabolism of highly unsaturated *n*-3 and *n*-6 fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta**, Budapest, v. 1486, p. 219-231, 2000.

STOTTRUP J. G. The elusive copepods: Their production and suitability in marine aquaculture. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 31, n. 8/9, p. 703-711, Aug./Sept. 2000.

TAMARU, C. S.; AKO, H.; PANG, L. **Enrichment of artémia for use in freshwater ornamental fish production. center for tropical and subtropical aquaculture**. 1999. (CTSA Publication, n. 133) Disponível em: <<http://library.kcc.hawaii.edu/CTSA/publications/Artémia.htm>>. Acesso em: 21 Jan. 2005.

TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S. Nutritional assessment and feed intake of microparticulate diets in crustaceans and fish. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 31, n. 8/9, p. 691-702, Aug./Sept. 2000.

TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, Boca Raton, v. 11, n. 2, p. 107-184, 2003.

TOCHER, D. R.; AGABA M.; HASTINGS N.; TEALE A.J. Biochemical and molecular studies of the polyunsaturated fatty acid desaturation pathway in fish The Big Fish Bang. In: ANNUAL LARVAL FISH CONFERENCE, 26., 2003. **Proceedings...** 2003.

TOCHER, D. R.; DICK J. R. Essential fatty acid deficiency in freshwater fish: the effects of linoleic, α -linolenic, γ -linolenic and stearidonic acids on the metabolism of [1-14C]18:3n-3 in a carp cell culture model. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 22, n. 1, p. 67-75, Jan. 2000.

TOCHER, D. R.; DICK J. R. Polyunsaturated fatty acid metabolism in a cell culture model of essential fatty acid deficiency in a freshwater fish, carp (*Cyprinus carpio*) **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 21, n. 3, p. 257–267, Oct. 1999.

VOLKOFF, H.; KELLY, S. P.; PETER, R. E; CANOSA, L. F.; UNNIAPPAN, S.; CERDA-REVERTER, J. M.; BERNIER, N. J. Review Neuropeptides and the control of food intake in fish. **General and Comparative Endocrinology**, San Diego, v. 142, n. 1/2, p. 3-19, May 2005.

WALFORD, J.; LAM, T. J., Development of the digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 109, n. 2, p. 187-205, Jan. 1992.

WATANABE, T. **Fish nutrition and mariculture**. Tokyo, 1988. 233 p.

ZAMBONINO INFANTE, J. L.; CAHU, C. L. Review Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, New York, v. 130, n. 4, p. 477-487, Dec. 2001.

ZHUKOVA, N. V.; IMBS, A. B.; YI, L. F. Diet-induced changes in lipid and fatty acid composition of *Artêmia salina*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, New York, n. 3, p. 499–506, July 1998.

ANEXOS

ANEXO A		Página
PROTOCOLO 1A	Protocolo de extração lipídica.....	66
PROTOCOLO 2A	Protocolo de esterificação	67
ANEXO B		Página
QUADRO A1	Quadro descritivo do manejo experimental de enriquecimento.....	68
ANEXO C		Página
FIGURA 1C	Representação esquemática do manejo experimental de enriquecimento	69
FIGURA 2 C	Cópia do laudo apresentado pela Martek para o “Arasco”	70
FIGURA 3 C	Cópia do laudo apresentado pela Martek para o “Dhasco”	71
ANEXO D		Página
TABELA 1D	Teor (%) na fração lipídica de alguns ácidos graxos, omitidos na tabela de resultados, de artêmias enriquecidas com diferentes emulsões, por 16 horas	72
TABELA 2D	Teor (%) na fração lipídica de alguns ácidos graxos, omitidos na tabela de resultados, de larvas de curimba alimentadas com artêmia enriquecida com diferentes emulsões, ao oitavo dia de experimento (coleta intermediária)	73

TABELA 3D	Teor na fração lipídica de alguns ácidos graxos, omitidos na tabela de resultados, de larvas de curimba alimentadas com artêmia enriquecida com diferentes emulsões, ao décimo sexto dia de experimento (coleta final) 74
TABELA 4D	Análises de variância das relações de interesse entre ácidos graxos em Artêmias 75
TABELA 5D	Análises de variância do comprimento padrão final 79
TABELA 6D	Análises de variância do comprimento padrão final 79
TABELA 7D	Análises de variância do peso intermediário 79
TABELA 8D	Análise de variância do peso final..... 80
TABELA 9D	Análises de variância das fases de desenvolvimento 81
TABELA 10D	Análises de variância dos ácidos graxos das larvas de curimba no 16° dia 82
TABELA 11D	Análises de variância dos ácidos graxos nas artêmias enriquecidas..... 88

PROTOCOLO 1A Protocolo de extração lipídica

1. Pesar e macerar 0,011g de amostra liofilizada, em balança de precisão (0,1mg).
2. Adicionar 0,5ml de H₂O, 1,5ml de metanol, 0,8ml de clorofórmio e transferir para o tubo de 10ml com tampa roscável.
3. Agitar 30 segundos no vórtex.
4. Colocar no banho ultrasônico, por 15 minutos, a 40°C.
5. Adicionar 0,7ml de clorofórmio e 0,7ml de H₂O.
6. Agitar, por 30 segundos, no vortex.
7. Centrifugar, a 3.500 rpm, por 15 minutos.
8. Solução trifásica: descartar o sobrenadante (H₂O + metanol).
9. Romper a massa de amostra com pipeta pasteur e pipetar, com cuidado, a parte do clorofórmio.
10. Reservar o material coletado, protegendo da luz e do calor, para posterior filtragem.
11. Repetir todo o processo com o resto de amostra que sobrou no tubo.
12. Filtrar o material com papel filtro apropriado para C.G e secar o material com ar de nitrogênio.


PROTOCOLO 2A Protocolo de esterificação

1. Adicionar 2 ml de NaOH 0,5M em metanol ao estrato de lipídeos.
2. Colocar em banho fervente por 5 minutos (vedar a tampa do tubo com fita teflon) e depois resfriar com água gelada.
3. Adicionar 2,5 ml de reagente esterificante (10g de cloreto de amônio, 15ml H₂SO₄, 300ml metanol).
4. Colocar em banho fervente por 5 minutos e, depois, resfriar com água gelada.
5. Adicionar 2ml de solução de NaCl saturada e agitar no vórtex, por 10 segundos.
6. Adicionar 2,5ml de hexano e agitar, por 10 segundos, no vórtex.
7. Centrifugar a 3.000rpm, por 10 minutos, para separação;
8. Filtrar a mistura de hexano e lipídeos, e transferir para frasco âmbar.
9. Secar a mistura de hexano com ácidos graxos esterificados em ar de nitrogênio.
10. Adicionar 0,6ml de hexano no frasco.
11. Injetar 1µL no cromatógrafo e fazer a leitura.

QUADRO 1B Quadro descritivo do manejo experimental de enriquecimento

Item	DIA 1												DIA 2											
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22
INC. A	I												F/I											
INC. B											I												F/I	
E1-I	I									F/I						F/I								F/I
E2-I	I									F/I						F/I								F/I
E3-I	I									F/I						F/I								F/I
E4-I	I									F/I						F/I								F/I
E5-I	I									F/I						F/I								F/I
E6-I	I									F/I						F/I								F/I
E7-I	I									F/I						F/I								F/I
E1-II					I								F/I									F/I		
E2-II					I								F/I									F/I		
E3-II					I								F/I									F/I		
E4-II					I								F/I									F/I		
E5-II					I								F/I									F/I		
E6-II					I								F/I									F/I		
E7-II					I								F/I									F/I		

89

Barra de progresso: (início) I  (fim) F

E1-I enriquecimento de náuplios do tratamento 1 na bateria I

INC.A incubadora de eclosão

FIGURA 1C Representação esquemática do manejo experimental de enriquecimento

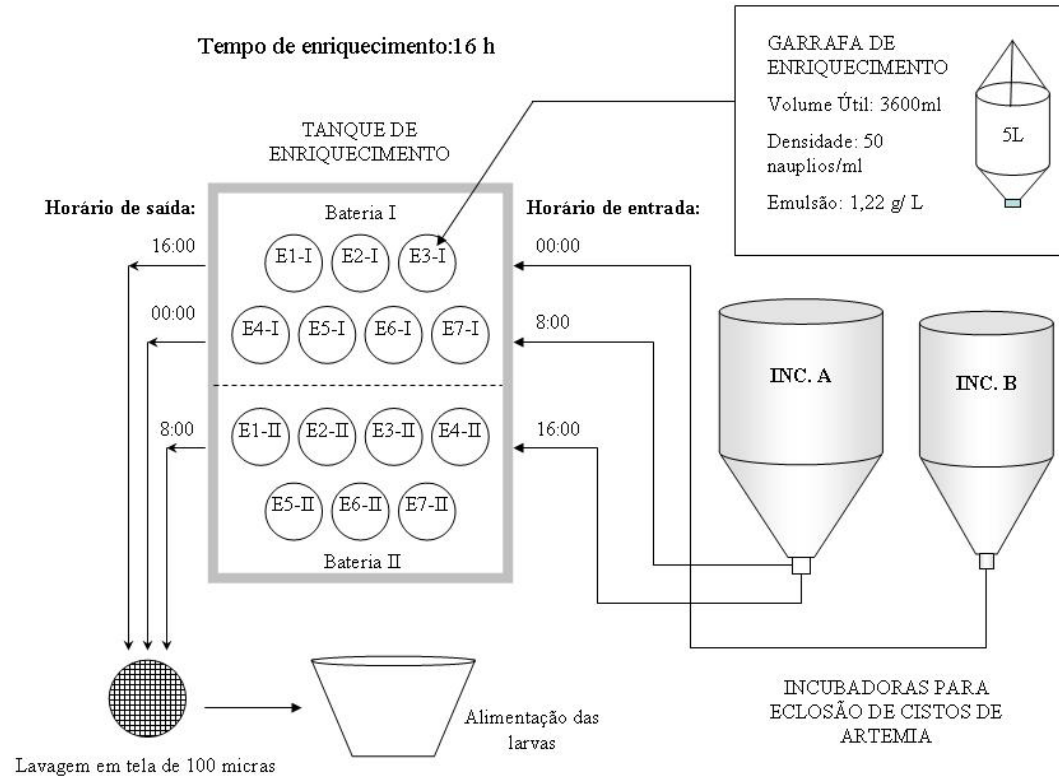


FIGURA2 C Cópia do laudo apresentado pela Martek para o “Arasco”



ARASCO®
5700003276

Description: Refined, Bleached, Deodorized ARASCO®, with antioxidants

FATTY ACID PROFILE

8:0	< 0.1 %
10:0	< 0.1 %
12:0	< 0.1 %
13:0	< 0.1 %
14:0	0.67 %
14:1	< 0.1 %
15:0	< 0.1 %
16:0	12.34 %
16:1	0.12 %
17:0	0.40 %
17:1	< 0.1 %
18:0	8.98 %
18:1n-9t	0.12 %
18:1n-9c	13.76 %
18:1n-7	0.41 %
18:2n-6t	< 0.1 %
18:2n-6c	7.08 %
18:3n-6	3.14 %
18:3n-3	< 0.1 %
20:0	0.81 %
20:1n-9	0.37 %
20:2n-6	0.54 %
20:3n-6	3.82 %
20:4n-6	43.43 %
20:5n-3	0.14 %
22:0	1.52 %
24:0	1.52 %
24:1	0.13 %
Others	0.70 %

Analysis Completed By: Central Analytical Laboratory

Analytical Review By: Michael Shepherd

Product Release By: Walter M. Pusley

Manufacturing Location: Kingstree, SC

Date: 8-8-05

Date: 8-9-05

Martek Biosciences Corporation
6480 Dobbin Road
Columbia, MD 21045
(443) 542-2560
Customer Service

Martek Biosciences Boulder Corporation
4909 Nautilus Court North
Boulder, CO 80301
(303) 381-8100
Research and Development

Martek Biosciences Kingstree Corporation
1416 N. Williamsburg County Highway
Kingstree, SC 29556
(843) 382-9485
Manufacturing

Martek Biosciences Corporation
555 Rolling Hills Lane
Winchester, KY 40391
(859) 744-0920
Manufacturing

FIGURA3 C Cópia do laudo apresentado pela Martek para o “Dhasco”



DHASCO[®]

Lot Number: **5800003226C**

Description: Refined, Bleached, Deodorized DHASCO[®], with antioxidants

FATTY ACID PROFILE

8:0	0.38 %
9:0	< 0.1 %
10:0	1.16 %
11:0	< 0.1 %
12:0	4.23 %
13:0	< 0.1 %
14:0	10.26 %
14:1	0.11 %
16:0	7.99 %
16:1	1.80 %
17:0	< 0.1 %
17:1	< 0.1 %
18:0	0.94 %
18:1n-9	26.57 %
18:1n-7	0.17 %
18:2n-6	2.11 %
18:3n-3	< 0.1 %
20:0	0.12 %
20:1n-9	< 0.1 %
20:2n-6	< 0.1 %
20:3n-6	< 0.1 %
20:4n-6	< 0.1 %
20:5n-3	< 0.1 %
22:0	0.28 %
22:5n-3	0.39 %
22:6n-3	42.97 %
24:0	0.16 %
24:1	< 0.1 %
Others	0.36 %

Analysis Completed By: Central Analytical Laboratory

Analytical Review By: *Maria Smith*

Date: 8/23/05

Product Release By: *Joe Sumner*

Date: 8/25/05

Manufacturing Location: Winchester, KY

Martek Biosciences Corporation
6480 Dobbin Road
Columbia, MD 21045
(443) 542-2560
Customer Service

Martek Biosciences Boulder Corporation
4909 Nautilus Court North
Boulder, CO 80301
(303) 381-8100
Research and Development

Martek Biosciences Kingstree Corporation
1416 N. Williamsburg County Highway
Kingstree, SC 29556
(843) 382-8485
Manufacturing

Martek Biosciences Con
555 Rolling Hills Lane
Winchester, KY 40391
(859) 744-0920
Manufacturing

TABELA 1D Teor (%) na fração lipídica de alguns ácidos graxos, omitidos na tabela de resultados, de artêmias enriquecidas com diferentes emulsões, por 16 horas.

Ácidos graxos	Náuplios	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
C14:0	0,71cd	0,56 ±0,04 cd	0,67 ±0,04 cd	1,06 ±0,01 c	3,46 ±0,08 a	1,24 ±0,07 c	2,65 ±0,63 b	0,36 ±0,22 d
C14:1	0,22 a	0,15 ±0,03 bc	0,17 ±0,03 ab	0,12 ±0,01 bc	0,03 ±0,01 d	0,15 ±0,04 bc	0,10 ±0,01 c	0,14 ±0,03 bc
C16:1	4,03 a	3,08 ±0,12 cd	3,24 ±0,11 bc	3,07 ±0,04 cd	2,81 ±0,06 d	3,43 ±0,09 b	3,52 ±0,11 b	3,22 ±0,21 bc
C18:3N-6	0,97 b	1,02 ±0,08 b	1,32 ±0,13 a	1,29 ±0,01 a	0,88 ±0,02 bc	0,77 ±0,03 c	0,74 ±0,02 c	0,46 ±0,04 d
C20:0	0,12 a	0,20 ±0,17 a	0,24 ±0,16 a	0,15 ±0,01 a	0,30 ±0,01 a	0,20 ±0,14 a	0,10 ±0,01 a	0,28 ±0,07 a
C20:1	0,92 a	0,79 ±0,18 a	0,89 ±0,15 a	0,82 ±0,00 a	0,71 ±0,01 a	0,85 ±0,09 a	0,83 ±0,11 a	0,86 ±0,07 a
C20:2	0,19 b	0,26 ±0,07 ab	0,31 ±0,03 a	0,31 ±0,01 a	0,24 ±0,01 ab	0,22 ±0,02 ab	0,21 ±0,03 b	0,17 ±0,02 b
C20:3N-6	0,13 c	0,51 ±0,10 ab	0,74 ±0,10 a	0,68 ±0,01 ab	0,46 ±0,01 b	0,10 ±0,01 c	0,10 ±0,01 c	0,15 ±0,20 c

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

TABELA 2D Teor (%) na fração lipídica de alguns ácidos graxos, omitidos na tabela de resultados, de larvas de curimba alimentadas com artêmia enriquecida com diferentes emulsões, ao oitavo dia de experimento (coleta intermediária)

Ácidos Graxos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
C14:0	0,40±0,20 b	0,46±0,05 b	0,35±0,07 b	0,56±0,13 ab	0,56±0,08 ab	0,69±0,07 a	0,45±0,05 b
C14:1	0,18±0,07 a	0,13±0,03 a	0,12±0,03 a	0,17±0,03 a	0,16±0,04 a	0,19±0,08 a	0,13±0,02 a
C16:1	0,78±0,30 a	0,72±0,18 a	0,76±0,14 a	0,93±0,27 a	0,71±0,04 a	1,20±0,45 a	0,94±0,09 a
C18:3N-6	0,83±0,12 abc	0,77±0,02 abc	0,73±0,09 bc	0,93±0,08 ab	0,62±0,03 c	0,80±0,13 abc	1,07±0,35 a
C20:0	0,48±0,05 a	0,41±0,03 a	0,50±0,12 a	0,39±0,04 a	0,47±0,07 a	0,56±0,23 a	0,50±0,05 a
C20:1	0,70±0,08 b	0,74±0,03 b	0,77±0,05 ab	0,69±0,02 b	0,74±0,02 b	0,89±0,14 a	0,76±0,06 ab
C20:2	0,46±0,07 a	0,50±0,02 a	0,53±0,05 a	0,45±0,03 a	0,50±0,02 a	0,60±0,17 a	0,56±0,05 a
C20:3N-6	1,02±0,07 a	1,08±0,06 a	1,02±0,07 a	0,85±0,05 a	0,93±0,02 a	1,02±0,31 a	1,06±0,06 a

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

TABELA 3D Teor na fração lipídica de alguns ácidos graxos, omitidos na tabela de resultados, de larvas de curimba alimentadas com artêmia enriquecida com diferentes emulsões, ao décimo sexto dia de experimento (coleta final)

Ácidos Graxos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
C14:0	1.09±0.92 a	0.35±0.09 b	0.52±0.17 ab	0.51±0.09 ab	0.82±0.09 ab	0.57±0.16 ab	0.38±0.07 ab
C14:1	0.71±0.57 a	0.47±0.30 a	0.57±0.60 a	1.08±0.24 a	1.07±0.09 a	1.11±0.42 a	0.67±0.46 a
C16:1	1.95±0.95 a	1.46±0.90 a	1.44±1.02 a	2.23±0.21 a	2.30±0.06 a	2.39±0.57 a	1.81±0.89 a
C18:3N-6	0.60±0.07 a	0.60±0.12 a	0.62±0.12 a	0.25±0.11 b	0.49±0.19 ab	0.36±0.16 ab	0.57±0.13 a
C20:0	2.48±1.92 a	2.12±1.54 a	2.08±2.21 a	3.84±0.53 a	4.14±0.37 a	4.58±0.90 a	2.26±1.57 a
C20:1	0.45±0.07 ab	0.58±0.18 ab	0.47±0.32 ab	0.80±0.07 a	0.53±0.23 ab	0.32±0.11 b	0.32±0.11 b
C20:2	0.42±0.04 ab	0.33±0.09 b	0.40±0.08 ab	0.23±0.08 ab	0.49±0.07 a	0.40±0.11 ab	0.49±0.04 ab
C20:3N-6	0.69±0.15 ab	0.80±0.13 a	0.75±0.17 ab	0.48±0.06 b	0.54±0.05 ab	0.49±0.25 b	0.81±0.06 a

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

TABELA 4D Análises de variância das relações de interesse entre ácidos graxos em Artêmias

Variável analisada: SOMA N-3

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	142,974077	23,829013	97,339
erro	14	3,427249	0,244803	
Total corrigido	20	146,401326		
CV (%) =	1,86			
Média geral:	26,6709190	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: SOMA N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	334,770867	55,795145	74,326
erro	14	10,509474	0,750677	
Total corrigido	20	345,280341		
CV (%) =	6,44			
Média geral:	13,4579143	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: N-3/N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	13,927353	2,321226	105,314
erro	14	0,308574	0,022041	
Total corrigido	20	14,235927		
CV (%) =	6,73			
Média geral:	2,2074714	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Continua...

TABELA 4D Continuação.

Variável analisada: MONO. INSATURADOS

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	1049,130176	174,855029	116,282
erro	14	21,051937	1,503710	
Total corrigido	20	1070,182113		
CV (%) =	5,46			
Média geral:	22,4694238	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: SATURADOS

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	271,236738	45,206123	58,210
erro	14	10,872545	0,776610	
Total corrigido	20	282,109283		
CV (%) =	3,60			
Média geral:	24,4963571	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: ARA/EPA

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	51,066071	8,511012	71,561
erro	14	1,665067	0,118933	
Total corrigido	20	52,731138		
CV (%) =	18,20			
Média geral:	1,8952952	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Continua...

TABELA 4D Continuação.

Variável analisada: DHA/EPA

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	18,855004	3,142501	2175,561
erro	14	0,020222	0,001444	
Total corrigido	20	18,875226		
CV (%) =	3,86			
Média geral:	0,9856952	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: EPA/18:3

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	0,010369	0,001728	50,579
erro	14	0,000478	0,000034	
Total corrigido	20	0,010847		
CV (%) =	5,80			
Média geral:	0,1008381	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: DHA/18:3

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	0,337095	0,056182	1640,249
erro	14	0,000480	0,000034	
Total corrigido	20	0,337574		
CV (%) =	4,91			
Média geral:	0,1191905	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

Continua...

TABELA 4D Continuação.

Variável analisada: DHA/ARA

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	646,782100	107,797017	93,779
erro	14	16,092701	1,149479	
Total corrigido	20	662,874801		
CV (%) =	33,07			
Média geral:	3,2418048	Número de observações: 21		
Pr>Fc =	0,0000			

TABELA 5D Análise de variância do comprimento padrão final

Variável analisada: C.P.(MM)

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	1,513329	0,252222	2,289
erro	28	3,085172	0,110185	
Total corrigido	34	4,598501		
CV (%) =	3,68			
Média geral:	9,0280000	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0636			

TABELA 6D Análise de variância do comprimento padrão final

Variável analisada: C.P.(MM)

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	2,041933	0,340322	3,597
erro	28	2,649105	0,094611	
Total corrigido	34	4,691038		
CV (%) =	3,95			
Média geral:	7,7917057	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0091			

TABELA 7D Análise de variância do peso intermediário

Variável analisada: peso INTERMEDIÁRIO (mg)

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	9,776037	1,629340	2,913
erro	28	15,663905	0,559425	
Total corrigido	34	25,439942		
CV (%) =	17,74			
Média geral:	4,2157343	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0246			

TABELA 8D Análise de variância do peso final

Variável analisada: Peso FINAL(mg)

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	58,098087	9,683014	1,904
erro	28	142,369005	5,084607	
Total corrigido	34	200,467092		
CV (%) =	19,58			
Média geral:	11,5165971	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,1152			

TABELA 9D Análises de variância das fases de desenvolvimento

Variável analisada: %PRE-Flexão				
FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	72,590400	12,098400	1,390
erro	28	243,721440	8,704337	
Total corrigido	34	316,311840		
CV (%) =	162,46			
Média geral:	1,8160000	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,2533			
Variável analisada: %FLEXÃO				
FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	370,117897	61,686316	1,554
erro	28	1111,711520	39,703983	
Total corrigido	34	1481,829417		
CV (%) =	7,37			
Média geral:	85,5462857	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,1977			
Variável analisada: %POS-FLEXÃO				
FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	547,030840	91,171807	2,146
erro	28	1189,539520	42,483554	
Total corrigido	34	1736,570360		
CV (%) =	51,57			
Média geral:	12,6380000	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0793			

TABELA 10D Análises de variância dos ácidos graxos das larvas de curimba no 16º dia

Variável analisada: C14:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	2,097596	0,349599	2,632
erro	28	3,719356	0,132834	
Total corrigido	34	5,816951		
CV (%) =	60,13			
Média geral:	0,6060943	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0376			

Variável analisada: C14:1

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	2,162403	0,360400	2,041
erro	28	4,944838	0,176601	
Total corrigido	34	7,107241		
CV (%) =	51,76			
Média geral:	0,8119743	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0933			

Variável analisada: C16:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	71,070741	11,845124	1,687
erro	28	196,647713	7,023133	
Total corrigido	34	267,718454		
CV (%) =	19,97			
Média geral:	13,2700257	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,1613			

Continua...

TABELA 10D Continuação.

Variável analisada: C16:1

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	4,562346	0,760391	1,358
erro	28	15,677034	0,559894	
Total corrigido	34	20,239380		
CV (%) =	38,55			
Média geral:	1,9411057	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,2656			

Variável analisada: C18:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	54,197894	9,032982	4,205
erro	28	60,152665	2,148309	
Total corrigido	34	114,350559		
CV (%) =	10,74			
Média geral:	13,6476857	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0039			

Variável analisada: C18:1N-9

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	81,589407	13,598234	2,407
erro	28	158,175701	5,649132	
Total corrigido	34	239,765108		
CV (%) =	19,03			
Média geral:	12,4889343	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0530			

Continua...

TABELA 10D Continuação.

Variável analisada: C18:2N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	18,236896	3,039483	15,687
erro	28	5,425210	0,193758	
Total corrigido	34	23,662106		
CV (%) =	9,83			
Média geral:	4,4759200	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C18:3N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	0,624838	0,104140	5,752
erro	28	0,506970	0,018106	
Total corrigido	34	1,131809		
CV (%) =	27,00			
Média geral:	0,4983371	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0005			

Variável analisada: C18:3N-3

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	6,256335	1,042723	2,443
erro	28	11,950348	0,426798	
Total corrigido	34	18,206683		
CV (%) =	15,85			
Média geral:	4,1215971	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0502			

Continua...

TABELA 10D Continuação.

Variável analisada: C20:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	34,506765	5,751127	2,759
erro	28	58,357337	2,084191	
Total corrigido	34	92,864102		
CV (%) =	47,04			
Média geral:	3,0692514	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0310			

Variável analisada: C20:1

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	0,830355	0,138393	4,391
erro	28	0,882570	0,031520	
Total corrigido	34	1,712925		
CV (%) =	35,79			
Média geral:	0,4960971	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0030			

Variável analisada: C20:2

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	0,111448	0,018575	3,022
erro	28	0,172123	0,006147	
Total corrigido	34	0,283572		
CV (%) =	19,13			
Média geral:	0,4099229	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0209			

Continua...

TABELA 10D Continuação.

Variável analisada: C20:3N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	0,645342	0,107557	5,517
erro	28	0,545870	0,019495	
Total corrigido	34	1,191212		
CV (%) =	21,41			
Média geral:	0,6522429	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0.0007			

Variável analisada: C20:4N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	261,081360	43,513560	123,874
erro	28	9,835603	0,351272	
Total corrigido	34	270,916964		
CV (%) =	7,17			
Média geral:	8,2624429	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C20:5N-3

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	30,300023	5,050004	11,951
erro	28	11,831806	0,422565	
Total corrigido	34	42,131829		
CV (%) =	21,53			
Média geral:	3,0197429	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0000			

Continua...

TABELA 10D Continuação.

Variável analisada: C22:6N-3

FV	GL	SQ	QM	Fc
TRAT	6	55,472043	9,245340	10,586
erro	28	24,454029	0,873358	
Total corrigido	34	79,926072		
CV (%) =	12,91			
Média geral:	7,2387257	Número de observações: 35		
Pr>Fc =	0,0000			

TABELA 11D Análises de variância dos ácidos graxos nas artêmias enriquecidas

Variável analisada: C14:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	26,163466	3,737638	63,963
erro	16	0,934952	0,058435	
Total corrigido	23	27,098418		
CV (%) =	18,05			
Média geral:	1,3392667	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C14:1

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	0,065573	0,009368	18,774
erro	16	0,007983	0,000499	
Total corrigido	23	0,073556		
CV (%) =	16,43			
Média geral:	0,1359917	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C16:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	2,289011	0,327002	3,765
erro	16	1,389593	0,086850	
Total corrigido	23	3,678604		
CV (%) =	2,85			
Média geral:	10,3523208	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0133			

Continua...

TABELA 11D Continuação.

Variável analisada: C16:1

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	2,861107	0,408730	32,783
erro	16	0,199481	0,012468	
Total corrigido	23	3,060588		
CV (%) =	3,38			
Média geral:	3,2998292	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C18:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	256,844922	36,692132	71,183
erro	16	8,247440	0,515465	
Total corrigido	23	265,092362		
CV (%) =	5,95			
Média geral:	12,0748000	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C18:1N-9

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	1033,491418	147,641631	126,959
erro	16	18,606563	1,162910	
Total corrigido	23	1052,097981		
CV (%) =	5,83			
Média geral:	18,4923792	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Continua...

TABELA 11D Continuação.

Variável analisada: C18:2N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	30,541474	4,363068	33,855
erro	16	2,061976	0,128874	
Total corrigido	23	32,603451		
CV (%) =	4,63			
Média geral:	7,7523167		Número de observações: 24	
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C18:3N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	1,724531	0,246362	70,859
erro	16	0,055629	0,003477	
Total corrigido	23	1,780160		
CV (%) =	6,34			
Média geral:	0,9304375		Número de observações: 24	
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C18:3N-3

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	167,016230	23,859461	101,498
erro	16	3,761182	0,235074	
Total corrigido	23	170,777412		
CV (%) =	2,13			
Média geral:	22,7437667		Número de observações: 24	
Pr>Fc =	0,0000			

Continua...

TABELA 11D Continuação.

Variável analisada: C20:0

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	0,116244	0,016606	1,688
erro	16	0,157368	0,009836	
Total corrigido	23	0,273612		
CV (%) =	49,95			
Média geral:	0,1985667	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,1823			

Variável analisada: C20:1

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	0,087441	0,012492	1,253
erro	16	0,159558	0,009972	
Total corrigido	23	0,246999		
CV (%) =	11,98			
Média geral:	0,8337625	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,3326			

Variável analisada: C20:2

FV	GL	SQ	QM	Fc
N1	7	0,053446	0,007635	6,570
erro	16	0,018593	0,001162	
Total corrigido	23	0,072039		
CV (%) =	14,33			
Média geral:	0,2378292	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0009			

Continuação...

TABELA 11D Continuação.

Variável analisada: C20:3N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
Nl	7	1,539809	0,219973	29,390
erro	16	0,119755	0,007485	
Total corrigido	23	1,659564		
CV (%) =	24,17			
Média geral:	0,3579250	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C20:4N-6

FV	GL	SQ	QM	Fc
Nl	7	254,814870	36,402124	74,860
erro	16	7,780361	0,486273	
Total corrigido	23	262,595231		
CV (%) =	19,30			
Média geral:	3,6129708	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Variável analisada: C20:5N-3

FV	GL	SQ	QM	Fc
Nl	7	14,884644	2,126378	199,896
erro	16	0,170199	0,010637	
Total corrigido	23	15,054843		
CV (%) =	5,36			
Média geral:	1,9229500	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			

Continua...

TABELA 11D Continuação.

Variável analisada: C22:6N-3

FV	GL	SQ	QM	Fc
Nl	7	148,615650	21,230807	4175,993
erro	16	0,081344	0,005084	
Total corrigido	23	148,696994		
CV (%) =	3,30			
Média geral:	2,1634167	Número de observações: 24		
Pr>Fc =	0,0000			