

Eduardo Kenyu Okido Matsumoto

**Cultivo em laboratório de *Cymadusa filosa* Savigny, 1816
(Crustacea: Amphipoda) para potencial uso na aquicultura**

São Vicente - SP

2024

Eduardo Kenyu Okido Matsumoto

**Cultivo em laboratório de *Cymadusa filosa* Savigny, 1816
(Crustacea: Amphipoda) para potencial uso na aquicultura**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Câmpus do
Litoral Paulista, como parte dos requisitos para
obtenção do Grau de Bacharel em Ciências
Biológicas, com habilitação em Biologia
Marinha.

Orientadora: Prof^a Dr^a Tânia Marcia Costa

Coorientadores: Dr. Caio Akira Miyai

São Vicente – SP

2024

M434c	Matsumoto, Eduardo
	Cultivo em laboratório de <i>Cymadusa filosa</i> Savigny, 1816 (Crustacea: Amphipoda) para potencial uso na aquicultura / Eduardo Matsumoto. -- São Vicente, 2024 24 p.
	Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente Orientadora: Tânia Marcia Costa Coorientador: Caio Akira Miyai
	1. Alimento artificial. 2. Alimento natural. 3. Anfípode. 4. Performance. 5. Spirulina. I. Título.

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e pela confiança depositada neste projeto. Agradeço imensamente à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Tânia Marcia Costa, por sua orientação, paciência e dedicação durante todo o processo de desenvolvimento deste trabalho. Aos meus coorientadores, Dr. Alexandre Luiz Arvigo, Dr. Caio Akira Miyai e Dr. Glauco Barreto de Oliveira Machado, agradeço pelas valiosas contribuições, sugestões e pelo apoio contínuo. Sem a colaboração e o conhecimento de vocês, este trabalho não seria possível. Agradeço também à Ana Caroline Oliveira Bastos pela participação ativa e pela ajuda na execução do projeto. Sua dedicação e esforço foram essenciais para o andamento deste trabalho. Finalmente, gostaria de agradecer a todos os membros do Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal (LABECOM) pelo apoio, amizade e pelas discussões enriquecedoras ao longo deste projeto. A convivência com vocês foi uma fonte constante de aprendizado e motivação.

1. Resumo

Atualmente, o aumento na produção aquícola tem intensificado a demanda por insumos alimentares, como a de alimentos vivos. Os anfípodes são um grupo que estão se popularizando como alimento vivo. Estes pequenos crustáceos atendem a vários requisitos de interesse para a aquicultura, como crescimento rápido, tolerância a flutuações ambientais e bom perfil nutricional. Entretanto, a obtenção e alimentação desses animais para cultivo geralmente depende da disponibilidade na natureza, tanto de anfípode como de alga, tornando-se necessário o desenvolvimento de metodologias de cultivo para diminuir impactos extrativistas e produzir suprimentos constantes e padronizados de alimento vivo. Dessa forma, uma possível solução para o cultivo desse crustáceo é o uso de alimento artificial. Nesse caso, algumas características importantes do alimento artificial precisam ser consideradas, como sua composição, formulação (*e.g.* concentração de spirulina) e a morfologia, pois podem influenciar no custo e na performance do organismo cultivado. Nesta circunstância, avaliamos o cultivo do anfípode marinho *Cymadusa filosa* em laboratório como uma possível fonte de alimento vivo. Para tal, realizamos um experimento de performance, analisando a sobrevivência, o crescimento e o potencial reprodutivo dos anfípodes alimentados com dieta natural (alga parda *Sargassum filipendula*) e dietas artificiais (3 diferentes rações). As rações variavam em sua composição, formulação (concentrações de spirulina de 36% ou 40%), e nos formatos (grânulo ou flocos). A alimentação com ração em grânulo com 36% de spirulina da marca Tropical, modelo Tropical Super Spirulina Forte Granulat, melhorou o potencial reprodutivo e manteve igual a sobrevivência e crescimento em relação a dieta natural. Os diferentes modelos de rações testados não alteraram efetivamente a performance do anfípode. Assim, mostramos que a alimentação com dieta artificial substituiu com sucesso o alimento natural, o que pode reduzir impactos extrativistas e produzir suprimentos constantes de alimento vivo. Portanto, *C. filosa* é uma espécie viável e aplicável como fonte alternativa de alimento vivo cultivado para a aquicultura.

Palavras-chaves: Alimento artificial; Alimento natural; Anfípode; Performance; Spirulina.

2. Introdução

A aquicultura é uma das principais atividades associadas à produção global de recursos pesqueiros, representando 49% do total de 178 milhões de toneladas produzidas em 2020 (FAO 2022). No entanto, o aumento da atividade aquícola nos últimos anos não foi acompanhado pela disponibilidade de insumos alimentares essenciais na produção animal, intensificando a demanda por fontes alternativas para a fabricação de rações com baixo custo (Olsen & Hasan 2012; Ashour *et al.*, 2021). Em razão ao descompasso entre produção e disponibilidade de insumos, tem aumentado a demanda por alimentos vivos (Ajiboye *et al.*, 2011; Brüggemann 2012; Yoshimatsu & Hossain 2014; Bengtson *et al.*, 2018; Llagostera *et al.*, 2019). Estes se caracterizam por sua alta taxa de crescimento, fácil cultivo, valor nutricional equilibrado e boa palatabilidade (Kolanowski *et al.*, 2007; Hyne *et al.*, 2009). Ainda, devido ao tamanho reduzido, esses organismos são comumente empregados na aquicultura ornamental (*e.g.* aquarismo) (Petersen *et al.*, 2008; Hill *et al.*, 2020) e na produção aquícola comercial como importantes fontes alimentares (Sorgeloos *et al.*, 2001; Focken *et al.*, 2006; Rasdi & Qin 2016; Zahedi *et al.*, 2020).

Um grupo de animais que está se popularizando recentemente como alimento vivo na aquicultura são os anfípodes (Woods 2016; Harlioğlu & Farhadi 2018; Ashour *et al.*, 2021). Encontrados em abundância, os anfípodes são um grupo diverso de crustáceos no qual as espécies apresentam morfologias variadas e grande importância ecológica em comunidades bentônicas (Duffy & Hay 2000; Machado *et al.*, 2017), sendo presas naturais para diversos animais (Woods 2002; Dubiaski-Silva & Masunari 2008; Baeza-Rojano *et al.*, 2010), constituindo um importante elo trófico entre produtores primários e níveis tróficos mais elevados. Os anfípodes atendem certos requisitos de interesse para a aquicultura, uma vez que 1) são animais pequenos que apresentam desenvolvimento direto, o que facilita sua manutenção em laboratório (Baeza-Rojano *et al.*, 2013); 2) têm um rápido crescimento, alta fecundidade e ciclo de vida curto, podendo atingir elevadas densidades (Baeza-Rojano *et al.*, 2011; Abo-Taleb *et al.*, 2020); 3) apresentam um bom perfil nutricional e demonstraram melhorias no crescimento, na sobrevivência, na resistência a estresse e no aumento da resposta imune em peixes (Coman *et al.*, 2003; Ananthi *et al.*, 2011; Rufchaei *et al.*, 2017). Nesse contexto, *Cymadusa filosa* Savigny, 1816 é uma espécie de anfípode herbívoro da família Ampithoidae que ocorre em associação com várias espécies de algas (Machado *et al.*, 2019-a). Tal anfípode é generalista quanto ao hábito alimentar, apresenta distribuição cosmopolita tropical e temperado quente e tem sido usado com sucesso como organismo modelo em experimentos de

laboratório (Machado *et al.*, 2017, 2019 a-b). Este anfípode atende as características de interesse para a aquicultura, atingindo uma alta biomassa e apresentando boa adaptação quando cultivados em condições laboratoriais.

Na maioria dos estudos que envolvem o uso de anfípodes como alimento, a obtenção desses animais para potencial uso na aquicultura depende de sua disponibilidade na natureza (Appadoo & Saudagur 2007; Jiménez-Prada *et al.*, 2018, 2021). Mesmo nos casos em que os anfípodes são cultivados em laboratório, ainda há dependência do ambiente natural para a obtenção do alimento para esses animais (*e.g.* algas) (Alberts-Hubatsch *et al.*, 2019), tornando a atividade extrativista frequente, o que pode impactar negativamente o ecossistema. A coleta frequente de algas para uso como alimento pode reduzir sua densidade e, conseqüentemente, afetar a fauna associada a alga (Machado *et al.*, 2019 a-b). Embora os anfípodes sejam encontrados em elevadas densidades em seu habitat natural, se faz importante estabelecer uma metodologia de cultivo adequada para diminuir impactos ambientais e produzir suprimentos constantes de alimento, o que é difícil de garantir apenas com populações selvagens (Baeza-Rojano *et al.*, 2013).

Uma das formas de garantir suprimentos constantes de alimento vivo é o seu cultivo utilizando alimentação artificial. O uso de rações tem sido extensivamente explorado, tanto para o cultivo, como para o melhoramento na qualidade nutricional do alimento vivo (Eryalçın 2019; Kandathil *et al.*, 2020). Alguns dos importantes aspectos dos alimentos artificiais são sua composição, por exemplo, a concentração de spirulina (Rosas *et al.*, 2019), que influenciam na performance e no custo para o cultivo dos organismos de interesse (Eryalçın 2019; Ragaza *et al.*, 2020), e a sua morfologia, uma vez que cada grupo ou espécie de animais apresentam diferentes hábitos alimentares (*e.g.* alimentadores de fundo), podendo apresentar preferências distintas por ração em pellet, em grânulo ou em flocos (Harpaz *et al.*, 2005; Aaqillah-Amr *et al.*, 2021). Dessa forma, o presente trabalho busca investigar o efeito de diferentes dietas (naturais e artificiais) sobre a performance de *C. filosa*, para potencial uso na aquicultura. Assim, com as dificuldades na geração de alimento vivo para a aquicultura e o potencial cultivo de *C. filosa*, é esperado que o anfípode consuma o alimento artificial e que este promova uma performance similar ao regime alimentar com dieta natural. Dessa forma, é esperada a geração de informações zootécnicas básicas e inéditas para a espécie. Nesse sentido, busca-se viabilizar a aplicabilidade da espécie na aquicultura por meio de seu cultivo em laboratório de forma independente do meio natural e, por conseguinte, reduzir os gastos envolvidos no seu cultivo e na exploração de recursos naturais.

3. Material e Método

3.1 Coleta e manutenção dos organismos

As algas e os indivíduos de *Cymadusa filosa* foram coletados na região do infralitoral do costão rochoso na Praia da Fortaleza (23° 32 'S, 45° 10' O), em Ubatuba, São Paulo. A alga parda *Sargassum filipendula* e sua fauna associada foram coletadas por mergulhos livres (profundidade de 1 a 2 metros). A macroalga submersa foi envolvida em sacos de tecido, para evitar o escape da fauna associada, e raspadas do substrato da rocha. Após a coleta, as macroalgas foram colocadas em bandejas de plástico para remoção manual da fauna, por lavagens sucessivas em água do mar. Algas e anfípodes foram posteriormente armazenados em caixas térmicas para o transporte até o laboratório.

Em laboratório, os indivíduos de *S. filipendula* e *C. filosa* foram mantidos separadamente em aquários de 20 litros, com água do mar filtrada do local de coleta. A temperatura foi mantida em 23°C constantes com a utilização de termostatos de 25 Watts. O oxigênio dissolvido foi mantido perto da saturação com a utilização de aeração contínua e o fotoperíodo controlado com 12 horas claro / 12 horas escuro (adaptado de Machado *et al.*, 2017, 2019a). Durante o período de aclimação, os anfípodes foram alimentados com *S. filipendula*, uma vez que essa alga representa uma dieta natural e de alta qualidade para essa espécie (Machado *et al.*, 2019a).

3.2 Delineamento experimental

Para avaliar a viabilidade do anfípode *C. filosa* na aquicultura, realizamos um experimento com juvenis, testando diferentes tipos de alimentos. A qualidade e o sucesso dos indivíduos foram analisados por meio de três parâmetros: a sobrevivência, como indicador do valor nutricional dos alimentos e de sua capacidade de suprir as funções vitais; o crescimento, para avaliar a eficiência da dieta em promover o aumento do comprimento; e o potencial reprodutivo medido pela quantidade e volume dos ovos.

Foram utilizadas três diferentes rações comerciais para avaliar seus efeitos na performance da espécie. As rações apresentavam variações quanto sua porcentagem de spirulina em sua formulação (36% ou 40%) e quanto ao seu formato (grânulos ou flocos). Desta forma, foi realizado um experimento em condições laboratoriais utilizando indivíduos juvenis criados em uma das seguintes dietas: A) Sem alimento (Controle Negativo - CN; n = 38); B) Alimento natural *S. filipendula* (Controle Positivo – CP; n = 38); C) Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara, com 40% de spirulina, marca Poytara e modelo 40% Blackline (RGP; n = 38); D) Ração de Spirulina em Flocos da Tropical, 36% de spirulina, marca Tropical e modelo Tropical

Super Spirulina Forte Flakes (RFT; n = 38); E) Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical, 36% de spirulina, marca Tropical e modelo Tropical Super Spirulina Forte Granulat (RGT; n =38). Assim temos um delineamento com 1 fator (alimento) e 5 níveis (tratamentos).

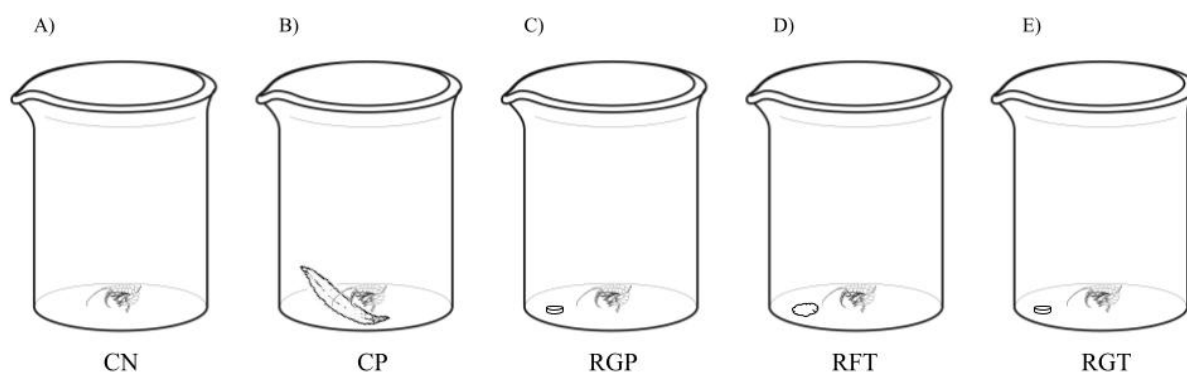


Figura 1 – Representação de cada um dos tratamentos com trinta e oito réplicas para cada. A) Controle Negativo (CN); B) Controle Positivo (CP); C) Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP); D) Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT); E) Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT). Adaptado de Peart & Hughes (2014).

3.3 Procedimentos

3.3.1 Teste de alimentação

Foram utilizados juvenis de anfípodes obtidos a partir de fêmeas de cultura em laboratório. As fêmeas da cultura com massa de ovos foram selecionadas e separadas em béqueres de 100ml, até o nascimento dos filhotes. Foram selecionados 5 indivíduos juvenis de cada fêmea, de um total de 38 fêmeas, um para cada tratamento, para controlar possíveis efeitos hereditários, com no máximo 3 dias de diferença de idade. Os indivíduos foram mantidos individualizados em béqueres de 100ml com água do mar, temperatura de 23°C e fotoperíodo 12 horas claro / 12 horas escuro. Os béqueres foram lavados e a água substituída a cada 5 dias para a remoção de pellets fecais e manutenção da qualidade da água. Os anfípodes foram alimentados *ad libitum* em cada tratamento e observados diariamente para verificar a mortalidade e a presença de fêmeas ovígeras. O experimento foi encerrado quando ao menos três fêmeas de todos os tratamentos apresentaram ovos (Machado *et al.*, 2017).

3.3.2 Variáveis analisadas

3.3.2.1 Sobrevivência

A sobrevivência foi calculada como a porcentagem de anfípodes vivos a cada dia. A contagem da sobrevivência teve como início o dia zero (0), dia anterior ao início do

experimento, e se encerrou no dia em que ao menos três fêmeas de todos os tratamentos apresentaram ovos, o que levou 42 dias (Machado *et al.*, 2017).

3.3.2.2 Crescimento

O crescimento foi mensurado como a razão entre o tamanho do anfípode (comprimento) e sua idade. Todos os anfípodes que sobreviveram até o fim do experimento foram medidos em estereomicroscópio e escala de 1 mm de comprimento. Foram realizados os registros das imagens no estereomicroscópio para sua posterior análise de comprimento no software de imagem ImageJ utilizando a ferramenta “measure”. O comprimento foi medido a partir da base do rostrum até a base do télson.

3.3.2.3 Potencial reprodutivo

O potencial reprodutivo foi avaliado pelo número de ovos produzidos pelas fêmeas e pelo volume desses ovos. Para isso, realizamos inicialmente a sexagem dos indivíduos, onde estes foram identificados com base no dimorfismo sexual do segundo par de gnatópodes. Nas fêmeas, os dois pares de gnatópodes apresentam tamanhos iguais, enquanto nos machos, o segundo par é hipertrofiado em relação ao primeiro (Appadoo & Myers 2004).

Após a sexagem de todos os anfípodes que sobreviveram até o fim do experimento, as fêmeas de cada tratamento foram observadas em estereomicroscópio e escala de 1 mm de comprimento. Delicadamente, as fêmeas ovíferas tiveram seus ovos removidos do marsúpio, com o auxílio de uma pinça. Os ovos foram colocados próximos um do outro na placa de Petri para o registro das imagens. Posteriormente, todos os registros foram analisados no software de imagem ImageJ. A contagem dos ovos foi realizada com a ferramenta ‘Multi-point tool’ e para o diâmetro médio de cada ovo foi utilizada a ferramenta ‘measure’. Os valores médios do diâmetro de cada ovo, para cada tratamento, foram registrados em planilhas para o cálculo do volume, dado por: $V = (\pi/6) \cdot d^3$, onde “V” representa o volume e “d” o diâmetro.

3.3.3 Análise estatística

O efeito da dieta sobre o crescimento e o potencial reprodutivo de *C. filosa* foram avaliadas quanto as premissas de normalidade e homoscedasticidade de variâncias, respectivamente, pelos testes de Shapiro-Wilk’s W e Levene, e testadas por Modelos Lineares Generalizados (GLMs). Quando significativo ($p < 0.05$), realizamos o teste post hoc de Tukey para avaliar a diferença entre os tratamentos. Para mensurar a sobrevivência foi calculada a curva de sobrevivência de *C. filosa* em seus respectivos tratamentos. As curvas foram comparadas entre as dietas por meio do teste de Log-rank utilizando o pacote survival no R

(Therneau & Grambsch 2000, Therneau 2020). Foi feita uma comparação par-a-par posteriormente (Fox 2001). As análises estatísticas foram realizadas no software R (versão 4.3.2), utilizando o pacote ggplot2 (Wickham *et al.*, 2023) para gerar as visualizações gráficas.

4. Resultados

4.1 Sobrevivência

A sobrevivência foi contabilizada até o dia 42. Os indivíduos de *Cymadusa filosa* diferiram na taxa de sobrevivência de acordo com a dieta ofertada (Log-rank test; $X^2 = 127$, $df = 4$, $p < 0.001$). A taxa de sobrevivência no Controle Positivo (CP) foi de 86.843%, sendo similar aos tratamentos Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT) e Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT), ambas com 78.948% (Figura 2). Entretanto, o tratamento Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP) obteve uma taxa de sobrevivência significativamente inferior ao Controle Positivo (CP), com 71.053% (Figura 2). A morte de todos os indivíduos do tratamento Controle Negativo (CN) ocorreram até o oitavo dia de experimentação.

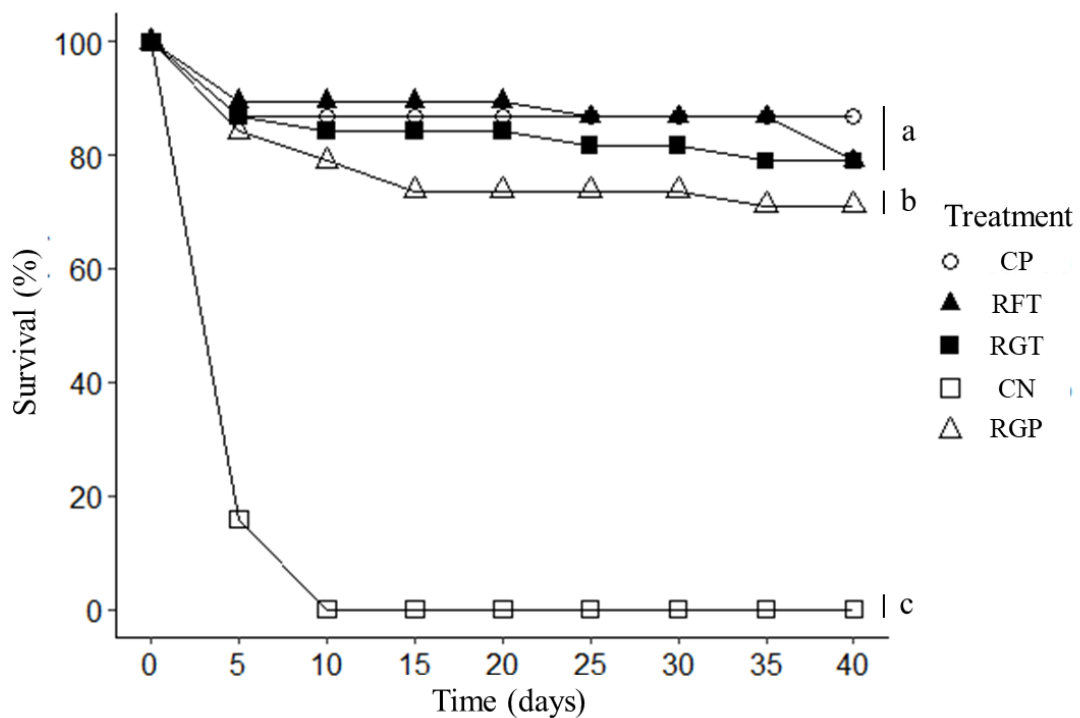


Figura 2. Taxa de sobrevivência (%) de *Cymadusa filosa* alimentados com diferentes dietas: Controle Negativo (CN, $n = 38$), Controle Positivo (CP, $n = 38$), Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP, $n = 38$), Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT, $n = 38$) e Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT, $n = 38$). O eixo vertical (y) corresponde a porcentagem de anfípodes vivos para cada tratamento, enquanto o eixo horizontal (x)

corresponde ao tempo de experimentação em intervalos de cinco dias. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0.05$).

4.2 Crescimento

O crescimento apresentou diferença estatística entre as dietas utilizadas (GLM: $df = 3$; deviance = 0.22768; $p < 0.01$). Os tratamentos Controle Positivo (CP) e Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT) resultaram em maior crescimento quando comparada aos tratamentos Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT) e Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP). O teste a posteriori de Tukey indicou que os tratamentos Controle Positivo (CP) e Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT) foram semelhantes (Tukey, $Z = 0.869$; $p > 0.05$), mas que ambos foram superiores aos tratamentos Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT) e Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP), onde estes foram iguais entre si (Tukey, $Z = 0.397$; $p > 0.05$). Devido a morte de todos os indivíduos do tratamento Controle Negativo (CN) estes não foram considerados na análise.

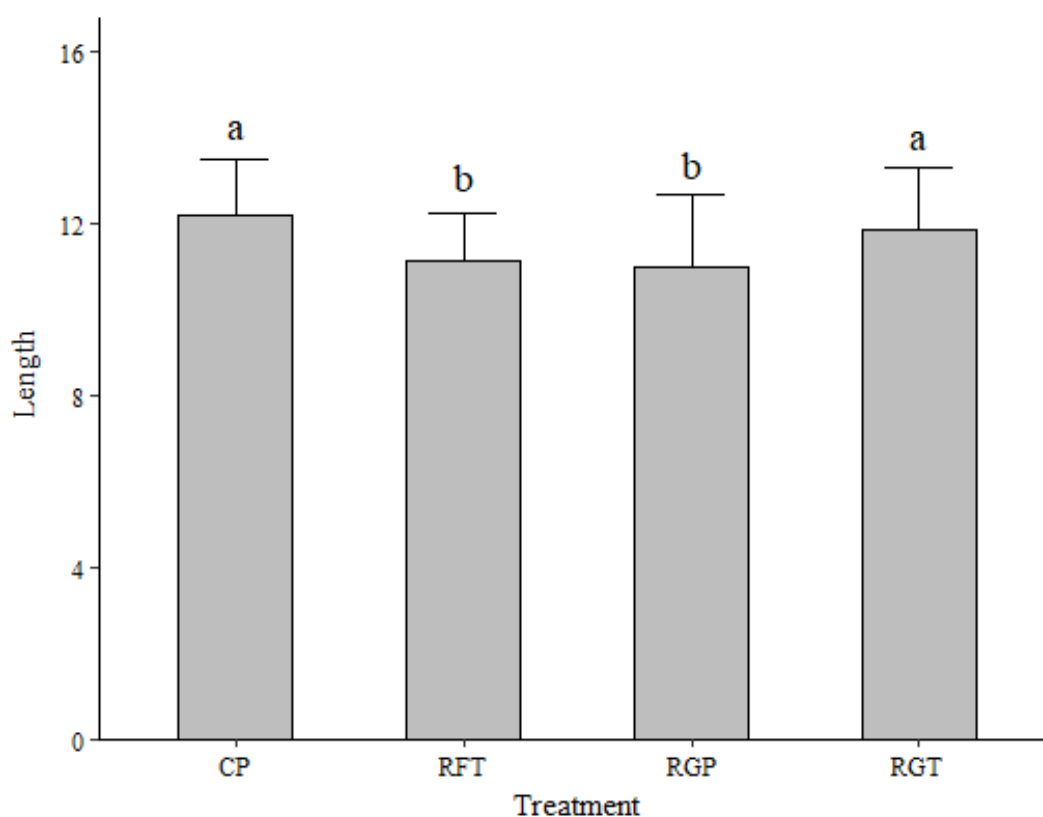


Figura 3. Crescimento em milímetros (mm) de *Cymadusa filosa* em diferentes tratamentos, Controle Positivo (CP), Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP), Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT) e Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT), $n = 38$ para cada tratamento. O eixo vertical (y) corresponde ao comprimento do anfípode medido em

milímetros, enquanto o eixo horizontal (x) corresponde aos tratamentos. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0.05$).

4.3 Potencial reprodutivo

Ao realizar a sexagem dos anfípodes, identificamos 21 fêmeas para o tratamento Controle Positivo (CP); 12 fêmeas para o tratamento Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP); 11 fêmeas para o tratamento Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT); e 18 fêmeas para o tratamento Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT). Não foram observadas diferenças na quantidade de fêmeas entre os tratamentos (GLM: $df = 3$; deviance = 2.2828; $p = 0.5158$). Do total de fêmeas, 5 foram ovígeras no tratamento CP e RFT; 3 para o tratamento RGP; e 7 no RGT. Quanto ao potencial reprodutivo, foram contabilizados 167 ovos no tratamento CP; 4 ovos no tratamento RGP; 56 ovos no tratamento RFT; e 87 ovos no tratamento RGT. O número de ovos das fêmeas entre os tratamentos foi similar (GLM: $df = 3$; deviance = 4.2592; $p = 0.2348$). Entretanto, o volume de ovos apresentados pelas fêmeas em cada um dos tratamentos foi diferente (GLM: $df = 3$; deviance = 0.29155; $p < 0.001$). O volume do tratamento CP foi menor que a dos tratamentos RFT (Tukey; $Z = 7.118$; $p < 0.001$), RGP (Tukey; $Z = 2.559$; $p < 0.05$) e RGT (Tukey; $Z = 11.345$; $p < 0.001$). Os tratamentos RFT, RGP e RGT apresentaram volume de ovos similares entre si. O tratamento Controle Negativo (CN) não foram considerados na análise devido a morte de todos os indivíduos.

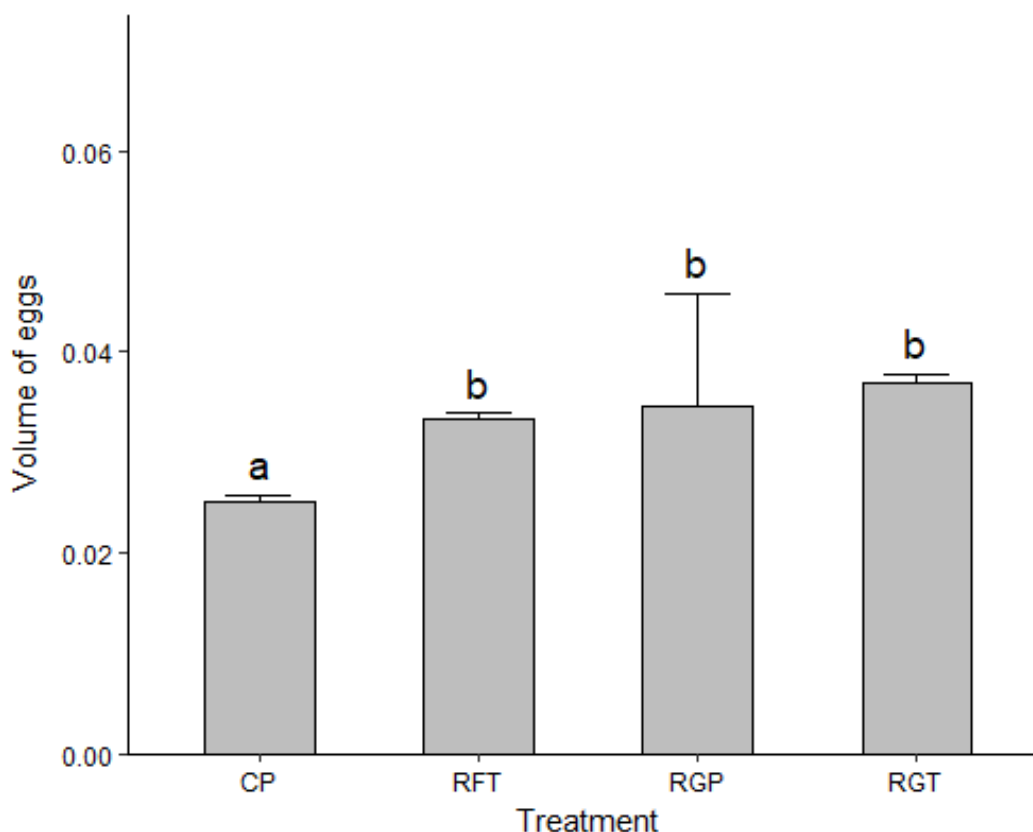


Figura 4. Média do volume dos ovos (milímetros cúbicos) de *Cymadusa filosa* para os tratamentos Controle Positivo (CP) (n = 38), Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP) (n = 38), Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT) (n = 38) e Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT) (n = 38). O eixo vertical (y) corresponde ao volume dos ovos em milímetros cúbicos, enquanto o eixo horizontal (x) corresponde aos tratamentos. Letras diferentes representam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0, 05$).

5. Discussão

A alimentação com dieta artificial se demonstrou eficiente em relação a performance de *C. filosa*, com a Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT) apresentando o melhor resultado entre as rações. A sobrevivência similar entre os tratamentos Controle Positivo (CP), Ração de Spirulina em Flocos da Tropical (RFT) e Ração de Spirulina em Grânulos da Tropical (RGT) indica que os valores nutricionais dos alimentos testados foram eficientes para suprir as funções vitais do anfípode, e que a qualidade do alimento contribuiu para o seu crescimento, onde foram observadas um maior incremento do comprimento nos tratamentos CP e RGT. A alimentação com a ração, em comparação com o alimento natural, melhorou o potencial reprodutivo da espécie, uma vez que foram observadas o aumento no volume dos ovos para todos os tratamentos com rações, sugerindo uma melhora na qualidade dos ovos.

A substituição do alimento natural por dietas artificiais tem sido realizada com sucesso (Verhoef *et al.*, 1998; Kanghae *et al.*, 2014). Entretanto, essa substituição pode reduzir o crescimento e a sobrevivência dos organismos cultivados, devido à ausência de compostos específicos presentes no alimento natural (Carvalho *et al.*, 2006; Domingues *et al.*, 2008; Walsh *et al.*, 2015). No presente trabalho, o uso de dietas artificiais resultou em crescimento e sobrevivência semelhantes, além de otimizar o potencial reprodutivo quando comparado à alimentação natural, indicando uma melhora na performance. O potencial reprodutivo da espécie foi mais eficiente com a dieta artificial, uma vez que foi observado um aumento no volume dos ovos em todos os tratamentos com rações. Isso sugere uma melhoria na qualidade dos ovos, possivelmente devido ao maior acúmulo de vitelo, resultando em filhotes de maior tamanho após a eclosão (Wilhelm & Schindler 2000).

A spirulina tem sido amplamente utilizada na aquicultura como uma fonte de suplementação ou aditivo alimentar, o qual tem mostrado desempenhar melhoras no crescimento, nas respostas imunes e na pigmentação, em cultivos de peixes e crustáceos (Teimouri *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2022). A adição de spirulina em diferentes concentrações na formulação, muitas vezes como substituto a proteína de farinha de peixe, tem mostrado resultados melhores do que uma alimentação sem spirulina ou com farinha de peixe (Nandeesh *et al.*, 2001; Ragaza *et al.*, 2020; Güroy *et al.*, 2022). Peixes-palhaços (*Amphiprion ocellaris*) exibiram melhoras no crescimento e na intensidade de cor com concentrações de spirulina a 15%, quando comparada a alimentação com 30% de spirulina ou sem spirulina (Güroy *et al.*, 2022).

A morfologia da ração também tem se demonstrado um importante fator na otimização da performance de organismos cultivados (Harpaz *et al.*, 2005; Welker *et al.*, 2018). *Cymadusa filosa* é um anfípode herbívoro generalista construtor de tubo que ocorre em associação com várias espécies de alga (Machado *et al.*, 2019b). A construção de tubos de seda ocorre pela secreção de um “cimento mucóide” a partir de seus pereópodes (Appadoo & Myers 2003; Machado *et al.*, 2019a). Durante a construção dos tubos é comum o uso de algas como substrato, a qual age tanto como alimento quanto proteção contra predadores, devido, muitas vezes, as algas utilizadas apresentarem compostos dissuasores (Duffy & Hay 1994; Appadoo & Myers 2003). Dessa forma, esperava-se que o anfípode faria o melhor uso da ração em flocos quando comparada com a ração grânulos, devido sua semelhança com o formato de lâminas de algas encontradas em seu ambiente natural para a construção de tubos. Foi observado um maior uso da ração em flocos para a construção de tubos (observação pessoal), entretanto, não encontramos melhora na performance de *C. filosa* entre as duas morfologias de rações

artificiais, o que sugere que o formato da ração pode não ser um fator importantes para o cultivo da espécie. Entretanto, a Ração de Spirulina em Grânulos da Poytara (RGP) exibiu os piores resultados entre as rações. Isso pode ter ocorrido devido à baixa padronização das rações em termos de flutuabilidade, o que pode ter comprometido a disponibilidade do alimento pelo anfípode e facilitado a lixiviação dos nutrientes.

Nossos resultados fornecem informações zootécnicas sobre a espécie de anfípode *C. filosa* sendo cultivada com alimento artificial, demonstrando resultados promissores como uma nova opção de alimento vivo para a aquicultura. Este crustáceo representa uma possível fonte barata de proteína e de lipídios essenciais (Zaid *et al.*, 2016) e seu uso como alimento vivo em substituição às espécies comumente empregadas na aquicultura, (*e.g. Artemia salina*), demonstra uma melhor composição nutricional (Baeza-Rojano *et al.*, 2010, 2013; Vargas-Abúndez *et al.*, 2018, 2021). Ainda, o uso de ração possibilita que gastos envolvidos com coleta, limpeza, transporte e manutenção do alimento natural possam ser reduzida. A alimentação com ração também pode diminuir a ocorrência de introdução de patógenos, o que atualmente representa um sério problema de biossegurança (Tacon 2017). Além disso, os impactos ao ecossistema devido a retirada de anfípodes e de algas para alimento, serão reduzidos, uma vez que estes atuam como importante substrato para uma variedade de organismos e aqueles apresentam papéis chaves ao ambiente (Duffy & Hay 2000; Machado *et al.*, 2019 a,b). Assim, concluímos que *C. filosa* demonstra ser uma espécie viável e aplicável como fonte alternativa de alimento vivo cultivado em laboratório para a aquicultura, entretanto, mais estudos são necessários para explorar a produção em média e grande escala, além de complementar informações zootécnicas e nutricionais para seu real uso na aquicultura.

6. Referências Bibliográficas

AAQILLAH-AMR, Mohd Amran et al. Use of pelleted diets in commercially farmed decapods during juvenile stages: A review. **Animals**, v. 11, n. 6, p. 1761, 2021.

A ABO-TALEB, Hamdy et al. Isolation and cultivation of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (Linnaeus, 1758), with an evaluation of its chemical and nutritional content. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 24, n. 2, p. 69-82, 2020.

AJIBOYE, Olufemi. et al. A review of the use of copepods in marine fish larviculture. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 21, p. 225-246, 2011.

ALBERTS-HUBATSCH, Hilke; SLATER, Matthew James; BEERMANN, Jan. Effect of diet on growth, survival and fatty acid profile of marine amphipods: implications for

utilization as a feed ingredient for sustainable aquaculture. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 11, p. 481-491, 2019.

ANANTHI, P. et al. Production and utilization of marine copepods as live feed for larval rearing of tiger shrimp *Penaeus monodon* with special emphasis on astaxanthin enhancement. **Indian Journal of Natural Sciences International Bimonthly ISSN**, p. 0976-0997, 2011.

APPADOO, C; SAUDAGUR, R. A. Low Cost Amphipod-Based Feed for Rearing of Ornamental Aquarium Fish, *Poecilia reticulata* (Peters). **University of Mauritius Research Journal**, v. 13, p. 123-135, 2007.

APPADOO, Chandani; MYERS, Alan A. Observations on the tube-building behaviour of the marine amphipod *Cymadusa filosa* Savigny (Crustacea: Ampithoidae). **Journal of Natural History**, v. 37, n. 18, p. 2151-2164, 2003.

APPADOO, Chandani; MYERS, Alan A. Reproductive bionomics and life history traits of three gammaridean amphipods, *Cymadusa filosa* Savigny, *Ampithoe laxipodus* Appadoo and Myers and *Mallacoota schellenbergi* Ledoyer from the tropical Indian Ocean (Mauritius). **Acta Oecologica**, v. 26, n. 3, p. 227-238, 2004.

ASHOUR, Mohamed et al. Valorization use of amphipod meal, *Gammarus pulex*, as a fishmeal substitute on growth performance, feed utilization, histological and histometric indices of the gut, and economic revenue of grey mullet. **Journal of Marine Science and Engineering**, v. 9, n. 12, p. 1336, 2021.

BAEZA-ROJANO, Elena et al. A preliminary study of the *Caprella scaura* amphipod culture for potential use in aquaculture. **Journal of Sea Research**, v. 83, p. 146-151, 2013.

BAEZA-ROJANO, Elena et al. Life history of *Caprella grandimana* (Crustacea: Amphipoda) reared under laboratory conditions. **Marine Biology Research**, v. 7, n. 1, p. 85-92, 2011.

BAEZA-ROJANO, Elena et al. Use of Amphipods as alternative prey to culture cuttlefish (*Sepia officinalis*) hatchlings. **Aquaculture**, v. 300, n. 1-4, p. 243-246, 2010.

BAEZA-ROJANO, Elena; HACHERO-CRUZADO, Ismael; GUERRA-GARCÍA, José M. Nutritional analysis of freshwater and marine amphipods from the Strait of Gibraltar and potential aquaculture applications. **Journal of Sea Research**, v. 85, p. 29-36, 2014.

BENGTSON, David A.; LÉGER, Philippe; SORGELLOOS, Patrick. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. In: **Artemia biology**. CRC Press, 2018. p. 255-286.

BRÜGGEMANN, Jens. Nematodes as live food in larviculture—a review. **Journal of the world aquaculture society**, v. 43, n. 6, p. 739-763, 2012.

CARVALHO, António Paulo; ARAÚJO, Leonor; SANTOS, Miguel M. Rearing zebrafish (*Danio rerio*) larvae without live food: evaluation of a commercial, a practical and a purified starter diet on larval performance. **Aquaculture Research**, v. 37, n. 11, p. 1107-1111, 2006.

COMAN, Francis E.; CONNOLLY, Rod M.; PRESTON, Nigel P. Zooplankton and epibenthic fauna in shrimp ponds: factors influencing assemblage dynamics. **Aquaculture Research**, v. 34, n. 5, p. 359-371, 2003.

COOK, Elizabeth J. et al. Fatty acid composition as a dietary indicator of the invasive caprellid, *Caprella mutica* (Crustacea: Amphipoda). **Marine Biology**, v. 157, p. 19-27, 2010.

DOMINGUES, Pedro et al. Growth, absorption and assimilation efficiency by mature cuttlefish (*Sepia officinalis*) fed with alternative and artificial diets. **Aquaculture International**, v. 16, p. 215-229, 2008.

DUBIASKI-SILVA, Janete; MASUNARI, Setuko. Natural diet of fish and crabs associated with the phytal community of *Sargassum cymosum* C. Agardh, 1820 (Phaeophyta, Fucales) at Ponta das Garoupas, Bombinhas, Santa Catarina State, Brazil. **Journal of Natural History**, v. 42, n. 27-28, p. 1907-1922, 2008.

DUFFY, J. Emmett; HAY, Mark E. Herbivore resistance to seaweed chemical defense: the roles of mobility and predation risk. **Ecology**, v. 75, n. 5, p. 1304-1319, 1994.

DUFFY, J. Emmett; HAY, Mark E. Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. **Ecological monographs**, v. 70, n. 2, p. 237-263, 2000.

ERYALÇIN, Kamil Mert. Nutritional value and production performance of the rotifer *Brachionus plicatilis* Müller, 1786 cultured with different feeds at commercial scale. **Aquaculture International**, v. 27, n. 3, p. 875-890, 2019.

FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. **Towards Blue Transformation**. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.

FERNANDEZ-GONZALEZ, Victoria et al. Harvesting amphipods applying the integrated multitrophic aquaculture (IMTA) concept in off-shore areas. **Aquaculture**, v. 489, p. 62-69, 2018.

FERREIRA, Ana Paula. **Comunidade de macroalgas e sua fauna associada em um cenário de mudanças no clima: efeitos sobre a diversidade, comportamento e fisiologia: Macroalgal community and associated fauna in a climate change scenario: effects on diversity, behavior and physiology**. 2021. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas.

FM, Wilhelm; DW, Schindler. Reproductive strategies of *Gammarus lacustris* (Crustacea: Amphipoda) along an elevation gradient. **Functional Ecology**, v. 14, n. 4, p. 413-422, 2000.

FOCKEN, Ulfert et al. *Panagrellus redivivus* mass produced on solid media as live food for *Litopenaeus vannamei* larvae. **Aquaculture Research**, v. 37, n. 14, p. 1429-1436, 2006.

GUERRA-GARCÍA, José Manuel et al. Towards integrated multi-trophic aquaculture: lessons from caprellids (Crustacea: Amphipoda). **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0154776, 2016.

GÜROY, Derya et al. Color intensity and growth performance of common clownfish (*Amphiprion ocellaris*) enhanced by dietary Spirulina (*Arthrospira platensis*). **Aquaculture International**, v. 30, n. 4, p. 1855-1868, 2022.

HARLIOĞLU, Muzaffer Mustafa; FARHADI, Ardavan. Importance of Gammarus in aquaculture. **Aquaculture International**, v. 26, p. 1327-1338, 2018.

HARPAZ, Sheenan; SLOSMAN, Tatiyana; SEGEV, Ran. Effect of feeding guppy fish fry (*Poecilia reticulata*) diets in the form of powder versus flakes. **Aquaculture Research**, v. 36, n. 10, p. 996-1000, 2005.

HILL, Matthew; PERNETTA, Angelo; CROOKS, Neil. Size Matters: A Review of Live Feeds Used in the Culture of Marine Ornamental Fish. **Asian Fisheries Science**, v. 33, n. 2, 2020.

HYNE, Ross V. et al. Fatty acid composition of the estuarine amphipod, *Melita plumulosa* (Zeidler): link between diet and fecundity. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 28, n. 1, p. 123-132, 2009.

JIMÉNEZ-PRADA, P.; HACHERO-CRUZADO, I.; GUERRA-GARCÍA, J. M. Aquaculture waste as food for amphipods: the case of *Gammarus insensibilis* in marsh ponds from southern Spain. **Aquaculture International**, v. 29, p. 139-153, 2021.

JIMÉNEZ-PRADA, Pablo et al. Crustacean amphipods from marsh ponds: a nutritious feed resource with potential for application in Integrated Multi-Trophic Aquaculture. **PeerJ**, v. 6, p. e4194, 2018.

KANDATHIL RADHAKRISHNAN, Divya et al. Improvement of nutritional quality of live feed for aquaculture: An overview. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 1, p. 1-17, 2020.

KANGHAE, Hirun et al. Is artificial feed suitable for juvenile green turtles (*Chelonia mydas*)?. **Aquaculture**, v. 428, p. 97-103, 2014.

KOLANOWSKI, Wojciech; STOLYHWO, Andrzej; GRABOWSKI, Michal. Fatty acid composition of selected fresh water gammarids (Amphipoda, Crustacea): a potentially innovative source of omega-3 LC PUFA. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, p. 827-833, 2007.

LI, Ling et al. Effect of spirulina meal supplementation on growth performance and feed utilization in fish and shrimp: a meta-analysis. **Aquaculture Nutrition**, v. 2022, 2022.

LLAGOSTERA, P. Ferrer et al. The use of insect meal as a sustainable feeding alternative in aquaculture: Current situation, Spanish consumers' perceptions and willingness to pay. **Journal of Cleaner Production**, v. 229, p. 10-21, 2019.

MACHADO, Glaucio Barreto De Oliveira; SIQUEIRA, Silvana Gomes Leite; LEITE, Fosca Pedini Pereira. Abundance, performance, and feeding preference of herbivorous amphipods associated with a host alga-epiphyte system. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 486, p. 328-335, 2017.

MACHADO, Glaucio BO; FERREIRA, Ana P.; LEITE, Fosca PP. Testing the importance of predation refuge vs. food quality in determining the use of macroalgal hosts by a generalist marine mesograzer. **Marine Biology**, v. 166, n. 5, p. 1-12, 2019. (a)

MACHADO, Glaucio BO et al. Effects of macroalgal host identity and predation on an amphipod assemblage from a subtropical rocky shore. **Hydrobiologia**, v. 836, p. 65-81, 2019. (b).

NANDEESHA, M. C. et al. Growth performance of two Indian major carps, catla (Catlacatla) and rohu (Labeorohita) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 80, n. 2, p. 117-120, 2001.

OLSEN, Ragnar L.; HASAN, Mohammad R. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. **Trends in Food Science & Technology**, v. 27, n. 2, p. 120-128, 2012.

PARENRENGI, A. et al. The consumption rate of tiger prawns (*Penaeus monodon*) on alive Amphipod-Crustacean. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2020. p. 012087.

PEART, R. A.; HUGHES, L. E. Amphipod amphipods from the South Pacific: Papua New Guinea, French Polynesia and New Caledonia. **Journal of Natural History**, v. 48, n. 13-14, p. 739-861, 2014.

PETERSEN, Dirk; WIETHEGER, Anne; LATERVEER, Michaël. Influence of different food sources on the initial development of sexual recruits of reef building corals in aquaculture. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 174-178, 2008.

PROMTHALE, Phennapa et al. Nutritional value of the amphipod *Bemlos quadrimanus* sp. grown in shrimp biofloc ponds as influenced by different carbon sources. **Aquaculture**, v. 533, p. 736128, 2021.

RAGAZA, Janice Alano et al. A review on Spirulina: alternative media for cultivation and nutritive value as an aquafeed. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 4, p. 2371-2395, 2020.

RASDI, Nadiah W.; QIN, Jian G. Improvement of copepod nutritional quality as live food for aquaculture: a review. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 1, p. 1-20, 2016.

ROSAS, Victor T. et al. Feasibility of the use of *Spirulina* in aquaculture diets. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 4, p. 1367-1378, 2019.

RUFCHAEI, Rudabeh et al. Dietary administration of *Pontogammarus maeoticus* extract affects immune responses, stress resistance, feed intake and growth performance of Caspian roach (*Rutilus caspicus*) fingerlings. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 63, p. 196-200, 2017.

SORGELOOS, Patrick; DHERT, Philippe; CANDREVA, P. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. **Aquaculture**, v. 200, n. 1-2, p. 147-159, 2001.

SZÉCHY, MARIA TERESA M.; PAULA, ÉDISON J. Padrões estruturais quantitativos de bancos de *Sargassum* (Phaeophyta, Fucales) do litoral dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 23, p. 121-132, 2000.

TACON, Albert GJ. Biosecure shrimp feeds and feeding practices: guidelines for future development. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 48, n. 3, p. 381-392, 2017.

TEIMOURI, Mahdi; AMIRKOLAIE, Abdolsamad Keramat; YEGANEH, Sekineh. The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 396, p. 14-19, 2013.

VARGAS-ABÚNDEZ, Jorge Arturo et al. Marine amphipods (*Parhyale hawaiiensis*) as an alternative feed for the lined seahorse (*Hippocampus erectus*, Perri, 1810): nutritional value and feeding trial. **PeerJ**, v. 9, p. e12288, 2021.

VARGAS-ABÚNDEZ, Jorge Arturo; SIMÕES, Nuno; MASCARÓ, Maite. Feeding the lined seahorse *Hippocampus erectus* with frozen amphipods. **Aquaculture**, v. 491, p. 82-85, 2018.

VERHOEF, Geoffrey D.; JONES, Paul L.; AUSTIN, Christopher M. A comparison of natural and artificial diets for juveniles of the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 29, n. 2, p. 243-248, 1998.

WALSH, Michelle L. et al. The effects of live and artificial diets on feeding performance of winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, in the hatchery. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 46, n. 1, p. 61-68, 2015.

WELKER, T. L. et al. Effects of feed processing method (extrusion and expansion-compression pelleting) on water quality and growth of rainbow trout in a commercial setting. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 30, n. 2, p. 97-124, 2018.

WOODS, Chris MC. Caprellid amphipods: an overlooked marine finfish aquaculture resource?. **Aquaculture**, v. 289, n. 3-4, p. 199-211, 2009.

WOODS, Chris MC. Natural diet of the seahorse *Hippocampus abdominalis*. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 36, n. 3, p. 655-660, 2002.

YOSHIMATSU, Takao; HOSSAIN, M. Amzad. Recent advances in the high-density rotifer culture in Japan. **Aquaculture international**, v. 22, p. 1587-1603, 2014.

YU, Wei et al. Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, hematological and serum biochemical parameters, hepatic antioxidant status, immune responses and disease resistance of Coral trout *Plectropomus leopardus* (Lacepede, 1802). **Fish & shellfish immunology**, v. 74, p. 649-655, 2018.

ZAHEDI, Mohammad Reza et al. Effects of feeding *Artemia franciscana* enriched with HUFA, vitamins C and E on growth performance, survival and stress resistance of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) (Ehrenberg, 1831). **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v. 19, n. 2, p. 681-697, 2020.

ZAID, Mohamed MA et al. Biochemical composition and fatty acid, amino acid analysis of *Cymadusa filosa* (Amphipod; Gammarids) in the Red Sea-Egypt. **International Innovative Studies in Aquatic Biology and Fisheries**, v. 2, p. 6-13, 2016.

PARECER FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Discente: EDUARDO KENYU OKIDO MATSUMOTO

Título: "Cultivo em laboratório de *Cymadusa filosa Savigny, 1816* (Crustacea: Amphipoda) para potencial uso na aquicultura"

Orientador: Profa. Dra. Tânia Marcia Costa

Curso/Habilitação: Bacharelado em Ciências Biológicas/Biologia Marinha

COMISSÃO EXAMINADORA	CONCEITO
Profa. Dra. Tânia Marcia Costa	APROVADO
Prof. Dr. Rodrigo Egidio Barreto	APROVADO

PARECER:

O DISCENTE APRESENTOU UM ÓTIMO TRABALHO ESCRITO E TEVE UM DESEMPENHO EXCELENTE DURANTE A ARGUMENTAÇÃO

CONCEITO FINAL:

A Comissão Examinadora abaixo assinada conclui que o discente **Eduardo Kenyu Okido Matsumoto** obteve o seguinte conceito:

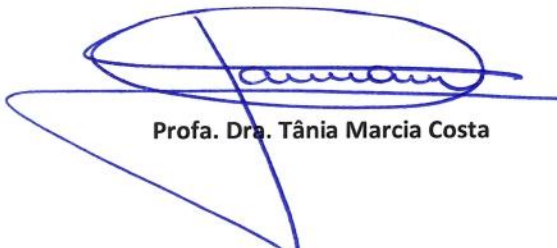


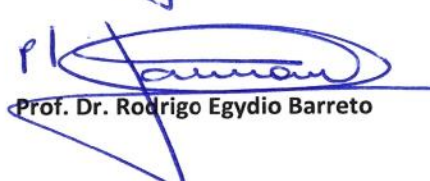
APROVADO



REPROVADO

São Vicente, 03 de dezembro de 2024.


Profa. Dra. Tânia Marcia Costa


Prof. Dr. Rodrigo Egidio Barreto