

CRESCIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DE JUVENIS DO LINGUADO *Paralichthys orbignyanus*: EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO DA ARTEMIA SP. COM N-3 HUFA

RICARDO VIEIRA RODRIGUES¹, LUCIANO SIQUEIRA FREITAS¹, RICARDO BERTEAUX ROBALDO² E LUÍS ANDRÉ SAMPAIO¹

¹Universidade Federal do Rio Grande – Instituto de Oceanografia, Estação Marinha de Aquicultura, Rua do Hotel 2, Cassino, Rio Grande - RS – Brasil. CEP: 96210-030 – vr.ricardo@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – UFPEL, Instituto de Biologia, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, CP 354, Pelotas – RS, CEP 96010-900, Brasil

RESUMO

O linguado *Paralichthys orbignyanus* é um forte candidato para a aquicultura na América do Sul e a produção de juvenis é uma das etapas cruciais para a sua produção em larga escala. Sabe-se que o enriquecimento da *Artemia* com ácidos graxos altamente insaturados (n-3 HUFA) pode otimizar a produção de muitos peixes marinhos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar os benefícios do enriquecimento da *Artemia* com n-3 HUFA para a produção de juvenis de *P. orbignyanus*. Juvenis recém-assentados de linguado foram transferidos para seis unidades experimentais, onde foram alimentados com náuplios de *Artemia* ou *Artemia* enriquecida. Os peixes foram alimentados ad libitum à temperatura e salinidade de 24°C e 32, respectivamente. Os linguados alimentados com *Artemia* enriquecida cresceram significativamente mais e tiveram maior sobrevivência ($P < 0,05$) que os linguados alimentados com *Artemia* não enriquecida. Contudo, a taxa de pigmentação foi similar entre linguados alimentados com *Artemia* enriquecida e não enriquecida. Conclui-se que a produção de juvenis de *P. orbignyanus* pode ser otimizada através do enriquecimento da *Artemia* com emulsões comerciais ricas em n-3 HUFA.

PALAVRAS CHAVE: piscicultura marinha, ácidos graxos, linguado

ABSTRACT

Growth and survival of juvenile Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*: effects of N-3 HUFA *Artemia* sp. enrichment

The Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* is a candidate for aquaculture in South America and the healthy juvenile production is the major bottleneck for its mass production. Enrichment of *Artemia* with highly unsaturated fatty acids (n-3 HUFA) improves the output of most marine fish larviculture. Therefore, the aim of this work was to verify the benefits of using enriched *Artemia* on the production of *P. orbignyanus*. Early juvenile flounder were transferred from a larviculture tank to six experimental units, where they were fed either enriched or non-enriched *Artemia*. Fish were fed ad libitum at temperature and salinity 24°C and 32, respectively. Furthermore, flounder fed enriched *Artemia* had significantly ($P < 0.05$) higher survival and growth. However, the percentage of well pigmented flounder was similar when they were fed *Artemia* nauplii or enriched *Artemia*. In conclusion, the production of Brazilian flounder juveniles can be improved through the enrichment of *Artemia* with commercial emulsions of n-3 HUFA.

KEYWORDS: marine fish culture, fatty acids, flatfish

INTRODUÇÃO

O linguado *Paralichthys orbignyanus* é encontrado ao longo de águas costeiras e estuarinas do Brasil, Uruguai e Argentina (Lema *et al.* 1980), sendo um importante recurso pesqueiro nestas áreas. Esta espécie tem recebido atenção para o desenvolvimento da aquicultura no extremo sul do Brasil, nos últimos anos, especialmente pelo seu elevado valor de mercado e tolerância a parâmetros físicos e químicos, como compostos nitrogenados (Bianchini *et al.* 1996), pH (Wasielesky *et al.* 1997), temperatura (Wasielesky *et al.* 1998) e salinidade (Sampaio *et al.* 2001; Sampaio & Bianchini 2002; Sampaio *et al.* 2007). O desenvolvimento da metodologia para a produção de juvenis vem sendo aprimorada (Sampaio *et al.*, 2008; Bianchini *et al.*, 2010), mas algumas questões ainda são limitantes, entre elas a alimentação e nutrição de larvas e juvenis.

Watanabe *et al.* (1983) relataram que durante os primeiros estádios de desenvolvimento dos peixes, mortalidades elevadas ou taxas de crescimento

reduzidas podem ocorrer, normalmente relacionadas a uma nutrição inadequada. Deficiências nutricionais também podem causar a problemas de pigmentação em juvenis de linguado (Venizelos & Benetti 1999).

Estudos sobre a qualidade nutricional do alimento vivo demonstraram a importância dos ácidos graxos altamente insaturados (n-3 HUFA), para o desenvolvimento de larvas de peixes marinhos, pois estes ácidos graxos são considerados essenciais (AGE) para estas larvas (Watanabe *et al.* 1983; Léger *et al.* 1986). Como os peixes marinhos possuem limitada capacidade de sintetizar estes ácidos graxos “de novo” (Kanazawa 1997), torna-se necessário adicionar ao alimento algum ingrediente que seja rico nesses ácidos graxos. Os AGE são parte importante de sua dieta, pois eles são os maiores componentes dos fosfolípidos das membranas celulares e das membranas do sistema nervoso, sendo muito importantes para o crescimento e o desenvolvimento normal dos peixes (Sargent *et al.* 1995).

Náuplios de *Artemia* são amplamente utilizados na aquicultura mundial como alimento vivo para a

produção de peixes marinhos. Contudo, um dos maiores problemas com a utilização da *Artemia* é seu reduzido valor nutricional, especialmente em relação aos ácidos graxos altamente insaturados, como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosaheptaenóico (DHA) (Ando *et al.* 2004). Estes ácidos graxos são indicadores da qualidade nutricional da *Artemia* (Sorgeloos *et al.* 1998). Entretanto, de acordo com a sua origem geográfica a concentração desses ácidos graxos nos náuplios de *Artemia* pode ser baixa ou extremamente variável (Léger *et al.* 1986; Sorgeloos *et al.* 2001). Para resolver este problema, métodos para o enriquecimento da *Artemia* com HUFA têm sido desenvolvidos, entre eles, o uso de microalgas, produtos micro-encapsulados, fermento, preparações emulsificadas e produtos micro-particulados. Contudo, os maiores níveis de enriquecimento da *Artemia* com n-3 HUFA são obtidos com a utilização de produtos emulsificados (Sorgeloos *et al.* 2001).

Para diferentes espécies de linguado, tais como *Paralichthys dentatus*, *Psetta maxima* e *Solea senegalensis*, o enriquecimento do alimento vivo com n-3 HUFA proporcionou efeitos positivos sobre a sobrevivência, o crescimento e a pigmentação (Reitan *et al.* 1994; Baker *et al.* 1998; Morais *et al.* 2004).

O objetivo do presente trabalho foi determinar os efeitos do enriquecimento da *Artemia* com n-3 HUFA sobre o crescimento, a sobrevivência, e a pigmentação dos juvenis do linguado *P. orbignyanus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Reprodutores de *P. orbignyanus* foram capturados na Praia do Cassino, no extremo sul do Brasil (Rio Grande – RS) e transportados para o Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. A reprodução artificial foi realizada através da metodologia descrita por Sampaio *et al.* (2008).

As larvas foram criadas, desde a eclosão, em um tanque cilíndrico de 200 L, com uma densidade de 30 larvas/L, iluminação constante e intensidade lumínica de 100 lux. A temperatura da água do tanque e a salinidade foram mantidas em 24°C e 32, respectivamente. A primeira alimentação, fornecida três dias após eclosão (DAE), foi constituída de

rotíferos *Brachionus plicatilis* (10-20 rotíferos/mL) até o 14º DAE. Durante o período de alimentação com rotíferos, foi utilizada a técnica da “água verde”, obtida através da adição da microalga *Nannochloropsis oculata*, numa concentração de 500.000 células/mL. Após quinze DAE teve início o período de co-alimentação das larvas, com a utilização de rotífero e náuplios de *Artemia* recém-eclodidos. Este período de transição teve duração de quatro dias, quando então, as larvas foram alimentadas exclusivamente com *Artemia*.

No vigésimo DAE todas as larvas completaram o assentamento. A partir desse dia, os juvenis (n = 70) foram individualmente contados e transferidos para suas respectivas unidades experimentais, compostas por seis tanques de 15 L, sob iluminação constante. A temperatura da água dos tanques foi mantida em 24 ± 0,5°C, com auxílio de um sistema de aquecimento constituído de aquecedores (Visi-Therm®, Modelo Deluxe) e a salinidade foi mantida em 32.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia. Foram testados dois tratamentos (juvenis de linguado alimentados com náuplios de *Artemia* recém-eclodidos e juvenis de linguado alimentados com meta-náuplios de *Artemia* enriquecidos com n-3 HUFA), com três repetições cada.

Biometrias para a verificação do comprimento total e do peso dos linguados realizadas a cada 10 dias. Para as biometrias, os linguados foram previamente anestesiados com benzocaína (50 ppm). Após a anestesia, foram medidos com auxílio de um ictiômetro e pesados em balança (Sartorius, Modelo AC 210 S), com precisão de 1 mg.

Os rotíferos *B. plicatilis* foram cultivados em tanques de fibra cilíndrico-cônicos de 150 L, com água a 28°C, salinidade 25, iluminação e aeração constantes. A densidade máxima de estocagem foi de 800 rotíferos/mL. Durante o cultivo eles foram alimentados seis vezes ao dia com Selco 3000 (Inve®) na proporção de 0,4 g de Selco para cada 1 milhão de rotíferos. Previamente à adição nos tanques de larvicultura, os rotíferos foram concentrados em malha de 25 µm e limpos em água salgada filtrada.

Cistos de *Artemia sp.* (Great Salt Lake, Inve®, Estados Unidos) foram eclodidos em tanques de fibra

cilíndrico-cônicos, com volume útil de 35 L e aeração contínua durante 24 h. A temperatura e a salinidade foram mantidas em 29°C e 30, respectivamente. Para a eclosão manteve-se uma taxa de iluminação superior a 2000 lux. Os náuplios recém-eclodidos foram coletados em malha de 125 µm e limpos com água salgada filtrada. Para o enriquecimento, foram estocados em tanques de 35 L (200.000 náuplios/L), onde receberam a emulsão comercial DC DHA Selco (Inve®, Estados Unidos) por 24 h em água na salinidade 30 e temperatura de 26 °C. Os protocolos para cultivo de rotífero e enriquecimento da *Artemia* foram realizados de acordo com as instruções sugeridas pelo fabricante.

A análise da pigmentação dos juvenis de *P. orbignyanus* foi realizada no final do experimento. Foi realizada uma amostragem aleatória de 20 juvenis de cada tratamento, que foram submetidos a uma avaliação da pigmentação. A classificação da pigmentação foi realizada de acordo Reitan *et al.* (1994), sendo constituída da seguinte forma: (1) completamente pigmentados, (2) parcialmente pigmentados e (3) não pigmentados.

Os efeitos do enriquecimento da *Artemia* sobre o crescimento e a sobrevivência dos juvenis de linguado foram avaliados através do teste “t” de Student com nível de significância de 95%. Os resultados do experimento estão expressos em média \pm erro padrão. Os dados em porcentagem foram previamente transformados em arco-seno. As análises foram realizadas utilizando o “software” Statistica 7.0®.

RESULTADOS

Os juvenis alimentados com *Artemia* enriquecida apresentaram sobrevivência significativamente superior ($P < 0,05$), quando comparados aos juvenis alimentados com náuplios recém-eclodidos de *Artemia* (Figura 1). A sobrevivência dos juvenis alimentados com *Artemia* enriquecida foi de 42 ± 8 %, enquanto que a dos linguados alimentados com náuplios de *Artemia* foi de 20 ± 3 %.

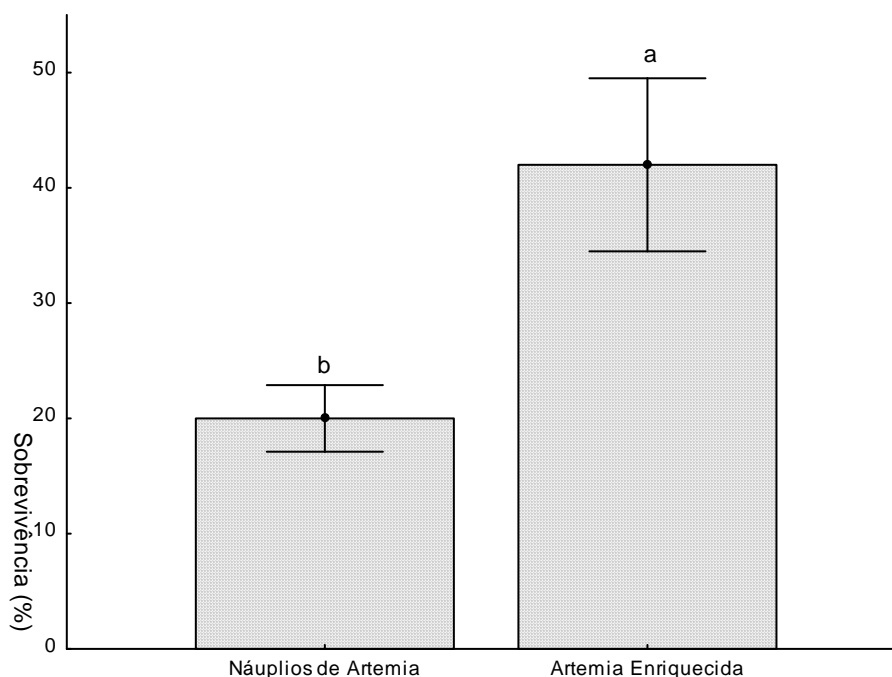


FIGURA 1 – Sobrevivência de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* alimentados com náuplios de *Artemia* ou *Artemia* enriquecida com n-3 HUFA. Letras diferentes sobre cada barra indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

O crescimento dos juvenis alimentados com *Artemia* enriquecida, também foi significativamente superior ($P < 0,05$) ao dos juvenis alimentados com náuplios de *Artemia* (Figuras 2 e 3). Ao término do experimento o peso dos linguados alimentados com náuplios de *Artemia* foi $94,2 \pm 6,3$ mg enquanto que

aqueles alimentados com *Artemia* enriquecida atingiram $154,9 \pm 10,3$ mg. O comprimento total dos juvenis alimentados com náuplios de *Artemia* foi igual a $20,7 \pm 0,6$ mm enquanto os alimentados com *Artemia* enriquecida atingiram $24,6 \pm 0,7$ mm.

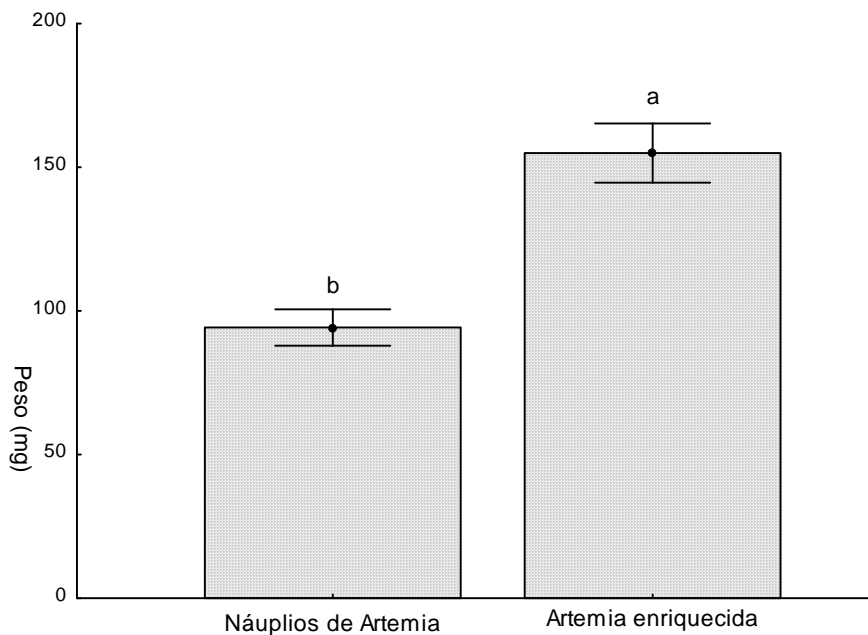


FIGURA 2 – Peso final de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* alimentados com náuplios de *Artemia* ou *Artemia* enriquecida com n-3 HUFA. Letras diferentes sobre cada barra indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

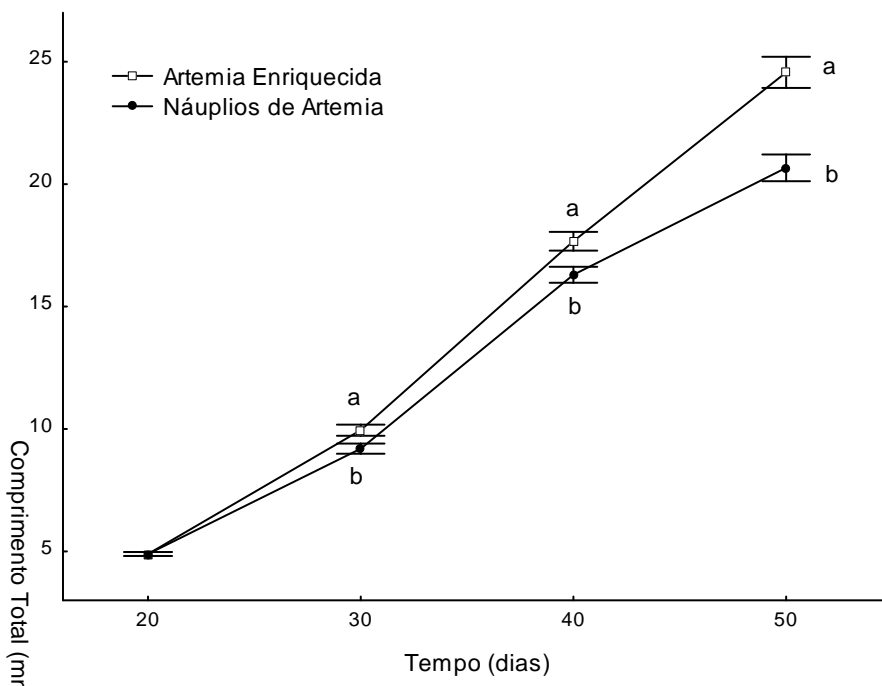


FIGURA 3 – Comprimento total de juvenis do linguado *Paralichthys orbignyanus* alimentados com náuplios recém-eclodidos de *Artemia* ou metanáuplios de *Artemia* enriquecidos com n-3 HUFA. Letras diferentes a cada tempo indicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

Quanto à pigmentação, os resultados foram semelhantes entre os tratamentos. Foi encontrado um maior percentual de linguados com pigmentação parcial, sendo 60% e 55% para os linguados alimentados com náuplios de *Artemia* e *Artemia* enriquecida, respectivamente. Os resultados demonstraram também que o percentual de juvenis com pigmentação completa foi de 20% para os linguados alimentados com náuplios de *Artemia* e 25% para os alimentados com *Artemia* enriquecida. Enquanto que para os juvenis totalmente desprovidos de pigmentação foi observada uma equidade de 20%, entre os tratamentos.

DISCUSSÃO

Observou-se que juvenis de *P. orbignyanus* alimentados com *Artemia* enriquecida com n-3 HUFA apresentaram taxa de sobrevivência superior aos alimentados com náuplios recém-eclodidos de *Artemia* sem a presença de n-3 HUFA (Figura 1). Furuita *et al.* (1999) analisando diferentes níveis de n-3 HUFA no alimento vivo para larvas do linguado *Paralichthys olivaceus*, obtiveram taxa de sobrevivência e crescimento superiores, quando comparadas às larvas alimentadas com ácido oléico (18:1n-9), ou seja, com reduzidos níveis de n-3 HUFA. Resultados similares foram encontrados por Hamre & Harboe (2008) que observaram uma sobrevivência elevada em juvenis do linguado *Hippoglossus hippoglossus* alimentados com *Artemia* enriquecida com n-3 HUFA. Estes resultados comprovaram a necessidade da utilização de dietas iniciais enriquecidas com n-3 HUFA para diferentes espécies de linguado, uma vez que espécies marinhas de peixes são incapazes de sintetizar os ácidos graxos de cadeia longa (n-3 HUFA) (Kanazawa, 1997), sendo, portanto, fundamental incluí-los na dieta através de uma fonte rica nesses ácidos graxos.

De uma forma geral os linguados ao permanecerem por longos períodos em dietas deficientes em n-3 HUFA apresentam altas taxas de mortalidade, como foi o caso do “turbot” *P. maxima* (Bell *et al.* 1985) e do linguado *Limanda ferruginea* (Copeman *et al.* 2002).

Os melhores resultados de crescimento também foram observados para os linguados alimentados com *Artemia* enriquecida n-3 HUFA, quando comparado com a utilização de náuplios de *Artemia* recém-eclodidos (Figuras 2 e 3). Para os linguados *P. dentatus* (Baker *et al.* 1998), *Paralichthys olivaceus* (Furuita *et al.* 1998) e *H. hippoglossus* (Hamre & Harboe 2008) e outras espécies de peixes como o “Korean rockfish” *Sebastes schlegeli* (Cho *et al.* 2001) e o bijupirá *Rachycentron canadum* (Faulk & Holt, 2005) o enriquecimento do alimento vivo com n-3 HUFA também proporcionou melhor crescimento. O menor crescimento observado nos juvenis alimentadas com *Artemia* não enriquecida demonstram uma vez mais que esses ácidos graxos são essenciais para o bom desenvolvimento de juvenis do *P. orbignyanus* criados em cativeiro.

A importância dos ácidos graxos n-3 HUFA como componentes da dieta para o aumento do sucesso da pigmentação tem sido relatada para várias espécies de linguados (Kanazawa *et al.* 1991; Baker *et al.* 1998; Estévez *et al.* 1999; Bolker & Hill 2000). Entretanto, os índices de albinismo são muito variáveis entre diferentes espécies de linguado. O percentual de albinismo encontrado (20%) no presente estudo encontra-se dentro da faixa descrita para outras espécies de linguado. Reitan *et al.* (1994), por exemplo, encontraram taxas inferiores a 10% de albinismo para *P. maxima*, enquanto que para *Limanda ferruginea* este índice foi de 34% (Purchase *et al.* 2002).

A similaridade entre os níveis de pigmentação encontrados neste trabalho para os linguados alimentados com ou sem suplementação de n-3 HUFA pode ser parcialmente explicada pelo manejo alimentar. Os rotíferos utilizados na alimentação das larvas de linguado neste experimento não foram enriquecidos com n-3 HUFA, portanto os linguados receberam alimento enriquecido somente após o final da metamorfose. Desse modo, é possível que o período crítico para pigmentação normal de *P. orbignyanus* ocorra antes da metamorfose, o que já foi descrito para outras espécies de linguado (Kanazawa 1991; Reitan *et al.* 1994; Copeman *et al.* 2002).

Por outro lado, os parâmetros ambientais empregados durante este experimento podem ter influenciado a pigmentação dos linguados. Venizelos & Benetti (1999) reportaram que a intensidade luminosa inadequada durante a produção de diferentes espécies de linguado pode afetar a pigmentação dos peixes. Nesse experimento foi utilizada uma intensidade luminosa de 100 lux durante 24 h por dia. Contudo a intensidade luminosa adequada para esta espécie ainda não foi determinada.

Portanto, para que sejam produzidos linguados bem pigmentados é muito importante definir com precisão o momento exato do fornecimento do alimento enriquecido para *P. orbignyanus*. Além disso, o papel da intensidade luminosa na pigmentação sobre esta espécie deve ser mais aprofundado através de novos estudos com vistas a esclarecer os diversos pontos ainda pouco conhecidos.

CONCLUSÃO

Os resultados desse trabalho mostram, que existe efeito benéfico do enriquecimento da *Artemia* com ácidos graxos altamente insaturados sobre a sobrevivência e o crescimento dos juvenis de *P. orbignyanus*. Dessa forma o uso da *Artemia* enriquecida com n-3 HUFA deve ser empregado para que juvenis de melhor qualidade sejam produzidos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) e ao CNPq pelo financiamento deste trabalho. Ricardo V. Rodrigues é bolsista DTI 2 do CNPq e Luís André Sampaio é bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq (308013/2009-3).

REFERÊNCIAS

ANDO, Y; H SAMOTO & Y MURAYAMA. 2004. Positional distribution of DHA and EPA in trycyl-sn-glycerols (TAG) of *Artemia franciscana* nauplii enriched with fish oils ethyl esters and TAG. *Aquaculture*, 233: 321-335.

BAKER, EP; D ALVES & DA BENGTON. 1998. Effect of rotifer and *Artemia* fatty-acid enrichment on survival, growth and pigmentation of summer flounder *Paralichthys dentatus* larvae. *J. World Aquacult. Soc.*, 29: 494-498.

BELL, MV; RJ HENDERSON; BJS PIRIE & JR SARGENT. 1985. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies on

mortality, growth and gill structure in the turbot, *Scophthalmus maximus*. *J. Fish Biol.*, 26: 181-191.

BIANCHINI, A; W WASIELESKY JR & KC MIRANDA-FILHO. 1996. Toxicity of nitrogenous compounds to juveniles of flatfish *Paralichthys orbignyanus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 453-459.

BIANCHINI, A; LA SAMPAIO & RB ROBALDO. 2010. Cultivo de linguado *Paralichthys orbignyanus*. In: BALDISSEROTTO, B & LC GOMES. (eds.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Editora UFSM, 2ª edição, Santa Maria, Brasil. Cap. 22: 559-587

BOLKER, JA & CR HILL. 2000. Pigmentation development in hatchery-reared flatfishes. *J. Fish Biol.*, 56: 1029-1052.

CHO, SH; SB HUR & J-Y JO. 2001. Effect of enriched live feeds on survival and growth rates in larval Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* Hilgendorf. *Aquacult. Res.*, 32: 199-208.

COPEMAN, LA; CC PARRISH; JA BROWN & M HAREL. 2002. Effect 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*, 210: 285-304.

ESTÉVEZ, A, LA MCEVOY; JG BELL & JR SARGENT. 1999. Growth, survival, lipid composition and pigmentation of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae fed live-prey enriched in Arachidonic and Eicosapentaenoic acids. *Aquaculture*, 180: 321-343.

FAULK, CK & GJ HOLT. 2005. Advances in rearing cobia *Rachycentron canadum* larvae in recirculating aquaculture systems: live prey enrichment and greenwater culture. *Aquaculture*, 249: 231-243.

FURUITA, H; T TAKEUCHI & K UEMATSU. 1998. Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on growth, survival and brain development of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 161: 269-279.

FURUITA, H; K KONISHI & T TAKEUCHI. 1999. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia nauplii* on growth, survival and salinity tolerance of larvae of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 170: 59-69.

HAMRE, K & T HARBOE. 2008. *Artemia* enriched with high n-3 HUFA may give a large improvement in performance of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. *Aquaculture*, 277: 239-243.

KANAZAWA, A. 1991. Nutritional mechanisms causing abnormal pigmentation in cultured marbled solea larvae, *Limanda yokohamae* (Heterosomata). In: LAVENS, P; P SORGELOOS, E JASPERS & F OLIVIER. (eds.). Larvi'91, Fish and Crustacean Larviculture Symposium. Gent, Belgium, Special Publication: 20-22.

KANAZAWA, A. 1997. Effect of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. *Aquaculture*, 155: 129-134.

LEGÉR, P; DA BENGTON; KL SIMPSON & P SORGELOOS. 1986. The use and nutritional values of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol.*, 24: 521-623.

LEMA, T; MFT OLIVEIRA & CAS LUCENA. 1980. Levantamento preliminar dos Pleuronectiformes do extremo sul do Brasil ao Rio de la Plata. *Iheringia*, 56: 25-52.

- MORAIS, S; L NARCISO; E DORES & P POUSÃO-FERREIRA. 2004. Lipid enrichment for (*Solea senegalensis*) larvae: effect on larval growth, survival and fatty acid profile. *Aquacult. Int.*, 12: 281-298.
- PURCHASE, CF; DL BOYCE & JA BROWN. 2002. Occurrence of hypomelanization in cultured yellowtail flounder *Limanda ferruginea*. *Aquacult. Res.*, 33: 1191-1193.
- REITAN, IK; JR RAINUZZO & Y OLSEN. 1994. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquacult. Int.*, 2: 33-48.
- SAMPAIO, LA & A BIANCHINI. 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 269: 187-196.
- SAMPAIO, LA; A BIANCHINI & VR CERQUEIRA. 2001. Growth of juvenile Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, cultured at different salinities. *J. Appl. Aquacult.*, 11: 67-75.
- SAMPAIO, LA; LS FREITAS; MH OKAMOTO; LR LOUZADA; RV RODRIGUES & RB ROBALDO. 2007. Effects of salinity on Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus* from fertilization to juvenile settlement. *Aquaculture*, 262: 340-346.
- SAMPAIO, LA; RB ROBALDO & A BIANCHINI. 2008. Hormone induced ovulation, natural spawning and larviculture of Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Aquacult. Res.*, 39: 712-717.
- SARGENT, JR. 1995. Origins and functions of egg lipids. In: BROMAGE, NR & RJ ROBERTS. (eds.). *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford, Inglaterra, Chap. 14: 353-372.
- SORGELOOS, P; P COUTTEAU; P DHERT; G MERCHIE & P LAVENS. 1998. Use of brine shrimp, *Artemia* spp., in larval crustacean nutrition: a review. *Rev. Fish. Sci.*, 6: 55-68.
- SORGELOOS, P; P DHERT & P CANDREVA. 2001. Use of brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 200: 147-159.
- VENIZELOS, A & D BENETTI. 1999. Pigment abnormalities in flatfish. *Aquaculture*, 176: 181-188.
- WASIELESKY JR, W, A BIANCHINI, MH SANTOS & LH POERSCH. 1997. Tolerance of juvenile flatfish *Paralichthys orbignyanus* to acid stress. *J. World Aquacult. Soc.*, 28: 202-204.
- WASIELESKY JR, W, K MIRANDA-FILHO & A BIANCHINI. 1998. Tolerancia a la temperatura de juveniles de linguado *Paralichthys orbignyanus*. *Frente Marit.*, 17: 43-48.
- WATANABE, T, C KITAJIMA & S FUJITA. 1983. Nutritional values of live food organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, 34: 115-143.

Submetido – 21/12/2011

Aceito – 06/03/2012

