



Efeito da água de coco (*Cocos nucifera* L.) diluída no meio de cultivo para a sobrevivência e reprodução de *Daphnia magna* (Strauss). Effect of coconut water (*Cocos nucifera* L.) diluted in the culture medium on the survival and reproduction of *Daphnia magna* (Straus).

Karissa Conceição Souza¹, Adrian Gustavo Araújo Silva¹, Beatriz Barroso Gomes², [Erlei Cassiano Keppeler](#)^{3*}

¹- Discente do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Acre – *Campus Floresta* – Brasil.

²- Discente do Curso de Bacharelado em Engenharia Agrônoma – Universidade Federal do Acre – *Campus Floresta* – Brasil.

^{3*}- Docente dos Cursos de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas, Engenharia Agrônoma e Engenharia Florestal. Universidade Federal do Acre – *Campus Floresta* – Brasil. Email: erlei.keppeler@ufac.br

Resumo

Daphnia magna é uma espécie extensamente estudada e para uma boa reprodução é necessário o fornecimento de alimentação adequada, sendo importante conhecer e manejar as diferentes técnicas de cultivo de alimentos que permitam obter um alimento com alto teor nutricional. O presente estudo investigou a eficácia na utilização de um meio de cultivo alternativo para *Daphnia magna* preparado com água de coco, em uma de suas fases (verde), oriunda do coqueiro que é uma das plantas arbóreas mais úteis do mundo. Os resultados indicam uma ótima sobrevivência e nascimento de neonatos com água de coco diluída, mostrando que recursos naturais são também podem ser utilizados para enriquecimento do meio de culturas de cladóceros, representando um meio de baixo custo.

Palavras-chave: Cladocera. Enriquecimento. Neonatos.

Abstract

Daphnia magna is a species that has been extensively studied and, in order to reproduce properly, it is necessary to provide it with adequate food. It is therefore important to know and manage the different food cultivation techniques that allow us to obtain food with a high nutritional content. This study investigated the effectiveness of using an alternative culture medium for *Daphnia magna* prepared with coconut water in one of its phases (green), which comes from the coconut palm, one of the most useful tree plants in the world. The results indicate optimum survival and birth of neonates with diluted coconut water, showing that natural resources can also be used to enrich the medium for cladoceran cultures, representing a low-cost medium.

Keywords: Cladocera. Enrichment. Neonates.

Introdução

Para o desenvolvimento da Aquicultura, principalmente voltada para espécies de importância comercial de peixes, moluscos e crustáceos sob condições controladas para a produção e alta sobrevivência de sementes em sistemas de cultivo semi-intensivo e intensivo, é necessário conhecer as diferentes alternativas para produção de alimentos vivos em larga escala, uma vez que é difícil substituir os alimentos naturais (GUEVARA, 2006). As dietas artificiais geralmente causam alta mortalidade por deficiências nutricionais quando não são balanceadas e não resolvem o problema que é a demanda constante por alimentos vivos (GUEVARA, 2006). Segundo esta mesma autora, uma alternativa a esta situação é baseada no conhecimento, otimização e automação dos sistemas de cultivo fitoplancônico e zooplancônico, para levá-los a níveis massivos de produção semi-contínua ou contínua.

É importante conhecer e manejar as diferentes técnicas de cultivo de alimentos vivos para estabelecer as condições mais adequadas, que permitam obter um alimento com alto teor nutricional, principalmente rico em aminoácidos e ácidos graxos essenciais entre outros nutrientes, que favorecem o desenvolvimento e sobrevivência das diferentes espécies de plantas, crustáceos, moluscos e peixes que são obtidos pela aquicultura (BLANCO; TACON, 1989).

Existem diferentes técnicas que permitem obter esse enriquecimento, desde a manipulação de parâmetros físicos, como temperatura e fotoperíodo; parâmetros químicos como a concentração e tipo de macronutrientes, e até mesmo a adição de fontes orgânicas (aminoácidos, vitaminas, etc.) em baixas concentrações (BLANCO; TACON, 1989). Considerando que, o uso de alimento vivo tem sido recomendado na fase de larvicultura de várias espécies de peixes, por proporcionar melhores resultados de sobrevivência e crescimento, quando comparados aos obtidos com utilização de dietas artificiais (BEZERRA, 2017).

A composição química do meio afeta a sobrevivência e reprodução para microcrustáceos de água doce (ELENDET; BIAS, 1990). No estudo de Elendt e Bias (1990), o meio M4 permitiu o cultivo com uma taxa média de reprodução de cerca de 140 progênie/dafinida parental foi calculada a partir de 19 experimentos não simultâneos. Portanto, pesquisas relacionadas ao meio de *Daphnia* para serem usadas como alimento vivo na larvicultura são imprescindíveis para melhorar a produção de larvas e alevinos de peixes nativos e ornamentais. Assim, o objetivo da pesquisa foi avaliar o crescimento populacional e reprodução de *Daphnia magna* por 18 dias cultivada com água de coco (verde), que segundo Aragão et al. (2001) ela é uma solução estéril que contém sais, proteínas, álcoois de açúcares, vitaminas, fatores de crescimento e gorduras neutras, possui em média 20,0 calorias/100 g e pertence a um sistema capaz de gerar um sistema autossustentável de exploração, como ocorre em vários países, principalmente no continente asiático.

Este trabalho consiste em avaliar recursos naturais, como Coco na fase verde, para cultivar *Daphnia magna*, considerando que o crescimento populacional da espécie será testado em diferentes concentrações, contribuindo para a elaboração de meios de baixo custo, avaliando as variáveis de sobrevivência de *Daphnia magna* sob diferentes concentrações de coco verde.

Material e métodos

A presente pesquisa foi desenvolvida no laboratório de Limnologia e Análises de água, do prédio do Instituto da Biodiversidade, da Universidade Federal do Acre (UFAC), Campus de Cruzeiro do Sul. A cultura de *Daphnia magna* já é mantida no laboratório com alimentação de *Chlorella sorokiniana* e com fornecimento de determinada iluminação artificial (lâmpadas fluorescentes de 24

watts, cultivada em água natural e temperatura constante a 25°C com o seu pH neutro. Na lâmina contendo *Chlorella sorokiniana* é realizada a contagem de células da alga para determinação da densidade celular média por mL de cada frasco que será realizada em uma câmara de Neubauer. A densidade celular foi expressa em número de células por mililitro de cultivo (células mL⁻¹). Com os dados experimentais de densidade celular, foram elaborados gráficos que representam as curvas de crescimento.

As culturas foram mantidas com base na norma NBR 12713 (ABNT, 2016) e norma ISO 6341 (ISO, 1996). As culturas serão mantidas em béqueres com 1,0 litro de água artificial contendo aproximadamente 20 indivíduos em cada. A manutenção das culturas foi realizada de uma a duas vezes por semana, sendo que o meio de cultivo foi trocado uma vez por semana e filtrado nas demais. A cada manutenção do cultivo neonatos foram contados (BEATRICI et al., 2006). O primeiro tratamento foi realizado utilizando meio EPA, contemplando as condições estabelecidas pela norma (WEBER, 1993) dissolvendo, 96 mg de NaHCO₃, 60 mg de CaSO₄, 60 mg de MgSO₄, e 4 mg de KCl em um litro de água natural. Este controle com Meio EPA será o cultivo A. Para os outros tratamentos foi utilizada água de coco, obtida do coqueiro da espécie *Cocos nucifera* diluída em água natural.

Foram realizados cultivos em paralelo que receberam tratamentos diferentes, identificados como: cultivo B (água natural com coco verde), cultivo C (água natural com coco seco). Todos os cultivos foram desdobrados em diferentes concentrações logarítmicas de diferentes percentuais. A sobrevivência foi estimada, a partir da contagem de organismos no meio de cultivo. Quanto à fertilidade de *D. magna*, para cada meio de cultivo, foi estimada a partir do número médio de neonatas produzidas por fêmea viva/dia. Os dados foram analisados estatisticamente através da Análise de Variância complementada pelo Ensaio de Comparações Múltiplas de Dunnett, em nível de significância de 5%, considerando cada dia como uma repetição do experimento, resultando para cada dieta um total de 18 repetições com 4 réplicas em cada tratamento. Com base nos dados coletados, as variáveis de sobrevivência foram derivadas, de acordo com Krebs (1985), a saber: Tempo de vida média, Expectativa de vida, Taxa bruta de reprodução, Taxa reprodutiva líquida, Tempo de Geração e Taxa de crescimento populacional por dia. Com base nos dados coletados, as variáveis de sobrevivência foram derivadas, de acordo com Krebs (1985), a saber: Tempo de vida média, Expectativa de vida, Taxa bruta de reprodução, Taxa reprodutiva líquida, Tempo de Geração e Taxa intrínseca de crescimento populacional por dia.

Foram realizados cálculos relacionados à tabela de vida demográfica, utilizando as seguintes fórmulas:

$$\text{Tempo médio de vida: } L_x = \frac{n_x1 + n_x2}{2}$$

$$\text{Esperança de vida: } e_x = \frac{T_x}{n_x}$$

$$\text{Taxa bruta de reprodução: } R = \sum_0^{\infty} m_x$$

$$\text{Taxa líquida de reprodução: } R_0 = \sum_0^{\infty} l_x \cdot m_x$$

$$\text{Tempo de geração: } T = \frac{\sum_0^{\infty} l_x \cdot m_x \cdot x}{R_0}$$

$$\text{Taxa intrínseca de crescimento populacional por dia: } \sum_{x=w}^n e^{-rx} \cdot l_x m_x = 1$$

Onde l = Proporção de sobreviventes no início da idade x (dias), m = Progenie produzida pela fêmea na idade x, T = Número cumulativo de indivíduos desde a idade até a idade máxima, n = número de indivíduos vivos no início da idade x.

Para testar a ocorrência de diferenças entre os tratamentos (Controle, 0,1 e 0,2% de água de coco) utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey. Quando os pressupostos da ANOVA não foram seguidos (Normalidade e Homogeneidade de variâncias utilizou-se a transformação $\log(x + 1)$). Os testes estatísticos foram realizados de acordo com (ZAR, 2010), sendo apresentadas as médias $\pm$ desvio padrão.

Resultados e discussão

As maiores taxas de sobrevivência ocorreram no tratamento de 0,1%, comparando as curvas de sobrevivência do controle e em tratamentos com os meios diluídos com água de coco, a 0,1 e 0,2% (Figuras 1a, 1b e 1c). Maiores mortalidades ocorreram nos dias 6 e 10, nos tratamentos 0,1 e 0,2%, respectivamente. Como exemplo de outro meio de cultivo artificial, vale a pena mencionar, os resultados da pesquisa de Carvalho-Pereira et al. (2015) que indicaram que o meio de cultivo NR10 (10 mg. COD. L⁻¹) acelerou o ciclo de vida das fêmeas de *Latonopsis australis*, que reproduziram mais, porém tiveram uma longevidade menor em comparação aos grupos controle. Esses mesmos autores ainda afirmaram que essa resposta pode estar relacionada a efeitos semelhantes a hormônios, e fato similar possivelmente ocorreu nesse estudo.

A fertilidade diária dos três tratamentos em *Daphnia magna* produziu neonatos durante a maior parte do seu ciclo de vida, todavia o número de neonatos por episódio reprodutivo foi baixo (Figuras 2a, 2b e 2c). Em geral, para *D. magna*, o maior incremento com água de coco resultou em diminuição na sobrevivência, o que foi evidenciado no tratamento com 0,2% de água de coco.

Os padrões de fertilidade de *D. magna* mostraram uma diminuição na produção de filhotes com o aumento da concentração de água de coco. Em geral, a produção de descendentes foi maior durante as duas primeiras semanas e, depois, diminuiu.

Todos os seis fatores analisados têm valores p abaixo de 0,05, indicando que há diferenças significativas entre as médias dos tratamentos, com a Taxa de reprodução líquida apresentando o menor valor $P = 0,000103$, indicando uma diferença muito significativa (Tabela 1). As tabelas evidenciam diferenças estatisticamente significativas entre vários tratamentos em relação a diversos parâmetros populacionais avaliados (Tabela 2). O valor médio da taxa intrínseca de crescimento populacional ($r = 0,3531$), no tratamento 2, apresentou valor próximo aquele reportado por Osorio Trevino et al. (2022) para o cladóceros *Allona guttata*, $r = 0,2656$. As curvas de esperança de vida de *D. magna* assinalaram diminuição da sobrevida com o aumento da idade da coorte.

Tabela 1 – Resultados da ANOVA

Fator	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	Estatística F	Valor P
Duração média de vida	2	7,9716	3,9858	6,576	0,0173*
Esperança de vida	2	7,9716	3,9858	6,576	0,0173*
Taxa bruta de reprodução	2	4201,22	2100,61	20,34	0,0004*
Tempo de geração	2	4,8720	2,43604	10,14	0,00494*
Taxa de reprodução líquida	2	4557,22	2278,61	30,15	0,000103*
Taxa intrínseca de crescimento populacional	2	0,148966	0,074483	14,3	0,001716*

*Indica diferença significativa entre os tratamentos. C- Controle; T- Tratamento.

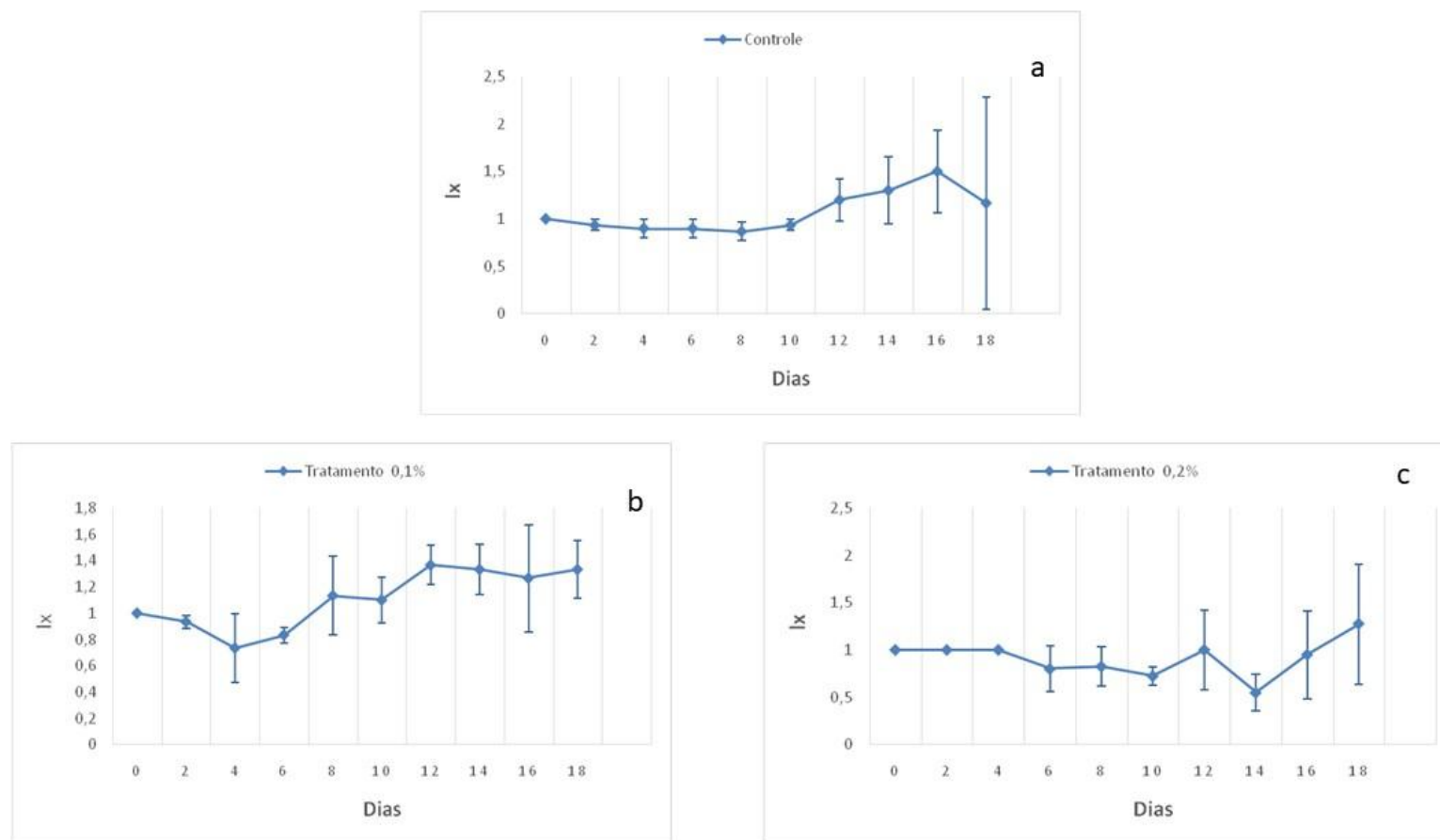


Figura 1 – Sobrevivência (lx) de *Daphnia magna* cultivada em meio EPA (a) e diluída em água de coco a 0,1 e 0,2% (b, c). Barras de erros representam o desvio padrão. Todos os experimentos foram realizados com quatro réplicas (n=4).

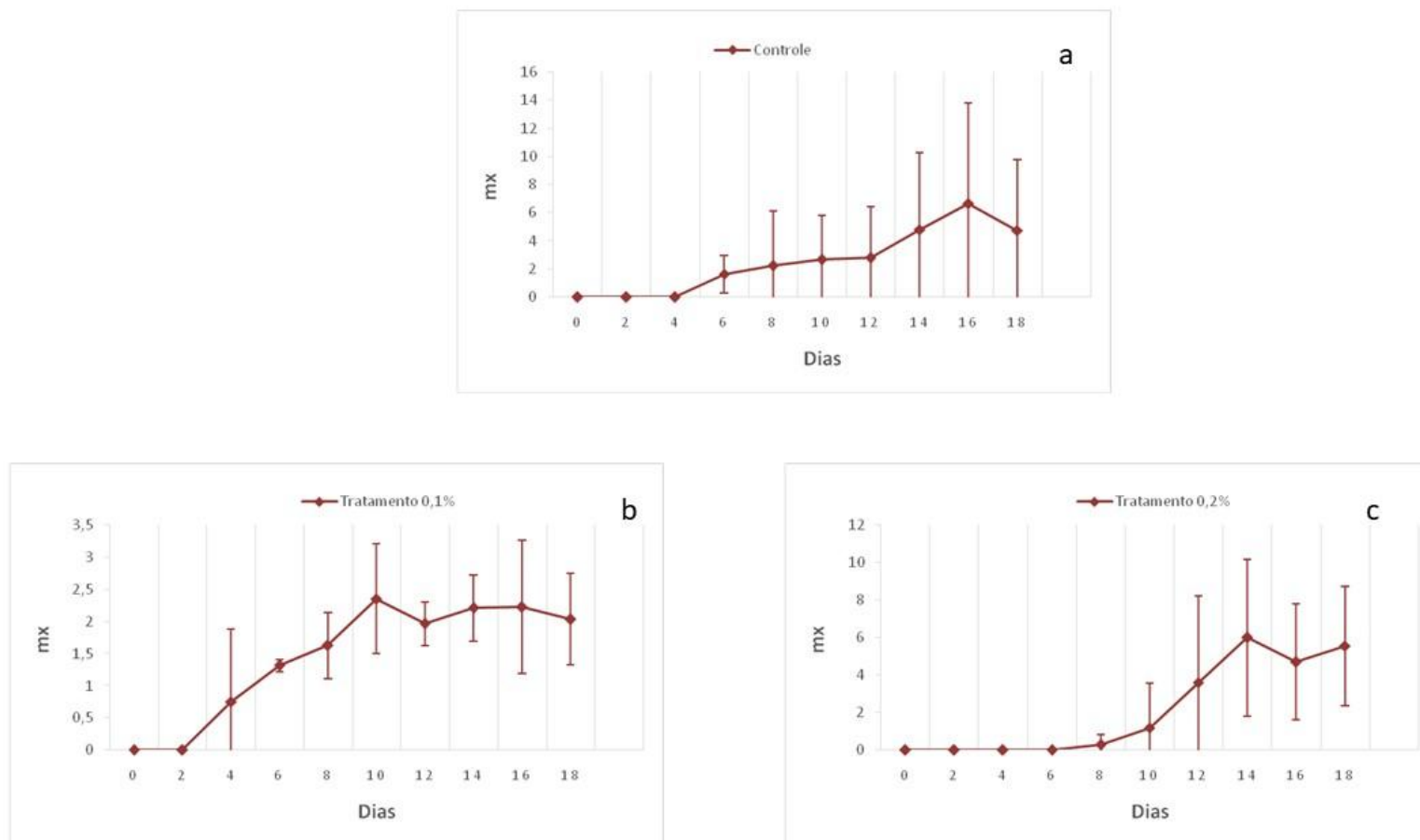


Figura 2 - Fertilidade (mx) de *Daphnia magna* cultivada em meio EPA (a) e diluída em água de coco a 0,1 e 0,2% (b, c). Barras de erros representam o desvio padrão. Todos os experimentos foram realizados com quatro réplicas (n=4).

Tabela 2 – Resultados do teste de Tukey

Duração média de vida			
	C	T-0,1%	T-0,2%
C		0,8733	0,0449*
T- 0,1%	0,7065		0,0206*
T- 0,2%	4,0460	4,753	
Esperança de vida			
	C	T-0,1%	T-0,2%
C		0,8733	0,0449*
T-0,1%	0,7065		0,0206*
T-0,2%	4,0460	4,753	
Taxa bruta de reprodução			
	C	T-0,1%	T-0,2%
C		0,0005*	0,0019*
T-0,1%	8,407		0,6136
T-0,2%	7,037	1,37	
Tempo de geração			
	C	T-0,1%	T-0,2%
C		0,8389	0,0146*
T-0,1%	0,8066		0,0062*
T-0,2%	5,068	5,875	
Taxa de reprodução líquida			
	C	T-0,1%	T-0,2%
C		0,000217*	0,000237*
T-0,1%	9,565		0,9967
T-0,2%	9,456	0,1093	
Taxa intrínseca de crescimento populacional por dia			
	C	T-0,1%	T-0,2%
C		0,0163*	0,0014*
T-0,1%	4,968		0,2657
T- 0,2%	7,339	2,371	

*Indica diferença significativa entre os tratamentos. C- Controle; T- Tratamento.

Conclusão

Os resultados indicam uma ótima sobrevivência e nascimento de neonatos com água de coco diluída, mostrando que recursos naturais são também podem ser utilizados para enriquecimento do meio de culturas de cladóceros, representando um meio de baixo custo. A água de coco também será testada em algas, a espécie *Chlorella sorokiniana*, visando abranger diferentes níveis tróficos.

Conflitos de interesse

Não houve conflito de interesses dos autores.

Contribuição dos autores

Karissa Conceição Souza – coleta de dados, interpretação dos resultados e escrita; Adrian Gustavo Araújo Silva – coleta de dados e interpretação de resultados; Beatriz Barroso Gomes – coleta de dados; Erlei Cassiano Keppeler – ideia original, escrita, correção e revisão do texto.

Apoio financeiro

Ao PIBITI – CNPq, pela concessão da bolsa, através da Diretoria de Pesquisa, pertencente à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/UFAC.

Agradecimentos

A Universidade Federal do Acre, Centro Multidisciplinar, pelo uso do laboratório do prédio do Instituto da Biodiversidade.

Referências bibliográficas

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera)**. Rio de Janeiro: ABNT NBR 12713, 2016, 27p.
- ARAGÃO, W. M.; ISBERNER, I. V.; CRUZ, E. M. O. **Água-de-coco**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2001, 32p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos, 24). <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/370873/agua-de-coco>
- BEATRICI, A. C.; ARENZON, A.; COIMBRA, N. J.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. Fertilidade e sensibilidade de *Daphnia similis* e *Daphnia magna* submetidas a diferentes cultivos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 2, p. 123-126, 2006. <https://doi.org/10.5132/jbse.2006.02.006>
- BEZERRA, G. S. **Produção de biomassa e teor proteico de *Daphnia magna* (Straus, 1820) submetida à três diferentes dietas**. 30f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2017. <https://tede.unioeste.br/handle/tede/4245>
- BLANCO, L.; TACON, A. **La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura una diagnosis**. FAO-Itália, 1989, 81p.
- CARVALHO-PEREIRA, T. S. A.; SANTOS, T. S.; PESTANA, E. M. S.; SOUZA, F. N.; LAGE, V. M. G. B.; NUNESMAIA, B. J. B.; SENA, P. T. S.; MARIANO-NETO, E.; SILVA, E. M. Natural humic substances effects on the life history traits of *Latonopsis australis* SARS (1888) (Cladocera – Crustacea). **Chemosphere**, v. 120, p. 165-170, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.025>
- ELENDT, B.-P.; BIAS, W.-R. Trace nutrient deficiency in *Daphnia magna* cultured in standard medium for toxicity testing. Effects of the optimization of culture conditions on life history parameters of *D. magna*. **Water Research**, v. 24, n. 9, 1157-1167, 1990. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90180-E](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90180-E)
- GUEVARA, M. J. P. Alimento vivo y su importancia en acuicultura. **Revista Electronica de Ingenieria en Produccion Acuicola**, 2006. https://www.academia.edu/51377895/Alimento_vivo_y_su_importancia_en_acuicultura
- ISO. International Organization for Standardization. **Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test**. ISO 6341, 1996, 12p.
- KREBS, C. J. **Ecology: The Experimental Analysis of Distribution and Abundance**. Nova Iorque: Harper & Row, 1985, 678p.
- OSORIO-TREVINO, O. C.; ARZATE-CARDENAS, M. A.; RICO-MARTINEZ, R. Effect of diet and temperature on the culture of *Alona guttata* (Sars, 1862) (Cladocera: Chydoridae) under laboratory conditions. **Hidrobiológica**, v. 32, n. 2, p. 81-91, 2022. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2022v32n2/Arzate>
- WEBER, C. I. **Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms**. 4th edition. Cincinnati, Ohio: United States Environmental Protection Agency, 1993, 275p.
- ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 5th edition. New Jersey: Prentice Hall, 2010, 944p.

Recebido em 27 de abril de 2024

Retornado para ajustes em 19 de novembro de 2024

Recebido com ajustes em 30 de dezembro de 2024

Aceito em 31 de dezembro de 2024