



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**DESENVOLVIMENTO DE LARVAS DO PEIXE-PALHAÇO**  
*Amphiprion clarkii*: EFEITO DA SALINIDADE E DA  
TEMPERATURA

Dissertação submetida ao Programa  
de Pós Graduação em Aquicultura  
da Universidade Federal de Santa  
Catarina, para obtenção do grau de  
Mestre em Aquicultura.

Orientadora: Mônica Yumi Tsuzuki

Ane Felice Frâncio de Medeiros

Florianópolis – SC  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Frâncio-Medeiros, Ane Felice

Desenvolvimento de larvas do peixe palhaço *Amphiprion clarkii*: efeito da salinidade e da temperatura / Ane Felice Frâncio-Medeiros ; orientadora, Mônica Yumi Tsuzuki - Florianópolis, SC, 2013.

43 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Peixes ornamentais. 3. Fatores abióticos. 4. Larvicultura. 5. Maricultura. I. Tsuzuki, Mônica Yumi. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Desenvolvimento de larvas do peixe palhaço *Amphiprion clarkii*:  
efeito da salinidade e da temperatura**

Por

ANE FELICE FRÂNCIO DE MEDEIROS

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de  
Pós-Graduação em Aqüicultura.

---

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki – *Orientadora*

---

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez

---

Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana

---

Dr. Marcelo Roberto Pereira Shei



## AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que fizeram parte desse capítulo da minha vida. Em especial:

À minha família, pelo apoio e incentivo em todos os momentos, sem o amor, o carinho e a compreensão deles, nada disso teria um significado ou mesmo acontecido. Obrigada por ser quem são e estarem comigo sempre. Amo vocês!

À minha orientadora, professora Mônica, por ter me aceito em sua equipe, colaborando com o meu desenvolvimento profissional, sendo compreensiva mesmo quando minhas condições físicas não me deixaram ser tão presente. Minha profunda gratidão.

Ao pessoal do LAPMAR: querido amigo Sayão, sempre disposto a ajudar e conversar, insubstituível. Vanessa, parceira, amiga para todas as horas, sem você teria sido muito difícil, você é realmente incrível. Cris (Cristina), que sem qualquer pretensão ou interesse, dispôs do seu tempo com tanta paciência com essa amiga que em muitos momentos precisava da sua segurança. Kat, sempre linda com alto astral, tenho certeza que foi um início de uma grande amizade. Dani, querida, amiga e prestativa. E aos colegas Wesley, Nana, Danilo, Raoani, Renata, Cris, Maik, Gabriel, Fábio(s), Marco, Virgínia, Salete e a todos os estagiários, obrigada por todos os momentos de risos, de trabalho, companheirismo e todos os churras, que ficarão sempre gravados em minha memória.

Ao Jonas e a Neotropical, pela amizade e conhecimento proporcionado. Devo a ele toda a base do meu conhecimento e interesse pelos peixes ornamentais marinhos. Ao Igor e ao Peixepalhaço.com, pela grande amizade, incentivo, troca de experiências e pelos livros que emprestou e doou contribuindo para a finalização dos meus estudos.

Ao LMM, por serem sempre amigos e disponibilizarem equipamentos fundamentais para as análises.

Ao Carlito, que disponibilizou seu tempo para me ajudar com muita paciência.

Finalmente, ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa.



## RESUMO

A salinidade e a temperatura são fatores abióticos importantes para a manutenção de organismos aquáticos. O efeito combinado destes parâmetros ainda não foi avaliado na larvicultura do peixe palhaço *Amphiprion clarkii*. O presente estudo testou a interação das salinidades 20 e 30 ‰ e das temperaturas 26 e 30°C sobre a sobrevivência, o crescimento e a metamorfose das larvas desta espécie. O experimento teve duração de 17 dias. Cada tratamento foi realizado com seis repetições. Nos parâmetros de sobrevivência, crescimento (comprimento total, peso, ganho de peso, taxa de crescimento específico e taxa de crescimento diário) e metamorfose (início da metamorfose, duração larval pelágica e taxa de desenvolvimento), a interação salinidade-temperatura não foi significativa, exceto para a taxa de crescimento diário. A salinidade e a temperatura não influenciaram a sobrevivência (20 e 30‰ - 53,0±13,0 % e 46,0±15,0%; 26°C e 30°C - 50,0±17,4% e 49,0±10,6%, respectivamente) das larvas, mas ambas influenciaram o crescimento ( $P < 0,05$ ). O comprimento total, peso e ganho de peso foram maiores ( $P < 0,05$ ) em 20 ‰ (10,13±1,22 mm; 15,93±5,66 mg; 15,23±5,66 mg, respectivamente), entretanto foram semelhantes ( $P > 0,05$ ) nas duas temperaturas. Por outro lado, a taxa de crescimento específico foi maior a 30°C (21,43±2,62 %·dia<sup>-1</sup>), mas semelhante ( $P > 0,05$ ) nas duas salinidades. A taxa de crescimento diário foi maior ( $P < 0,05$ ) em 30°C (0,39±0,08 mm·dia<sup>-1</sup>) quando as temperaturas foram comparadas na salinidade 30 ‰, porém, em 20 ‰ as temperaturas apresentaram um efeito similar. A taxa de crescimento diário foi maior na salinidade 20 ‰ (0,34±0,07 mm·dia<sup>-1</sup>), somente na temperatura 26°C, no entanto, a 30°C as salinidades também apresentaram um efeito similar. A metamorfose iniciou mais cedo (8,8±0,87 DAE) em larvas mantidas a 30°C, assim como a duração da fase larval foi menor (12,7±1,15 dias) ( $P < 0,05$ ). O parâmetro de metamorfose não foi influenciado pela salinidade. Através deste estudo, recomenda-se a utilização de 20 ‰ e 30°C. Nesta temperatura, as larvas apresentaram um melhor desenvolvimento, e menor tempo de duração larval. Já na salinidade mais baixa, obteve-se maior crescimento final.

**Palavras-chaves:** 1. aquicultura ornamental 2. fatores abióticos 3. larvicultura 4. peixes ornamentais marinhos 5. peixe-anêmona





## ABSTRACT

Salinity and temperature are important abiotic factors for the maintenance of aquatic organisms. The combined effects of these parameters have not been evaluated during the larval rearing of the clown fish *Amphiprion clarkii*. The present study tested the interaction of two different salinities (20 and 30 ‰) and two temperatures (26 and 30°C) on the survival, growth and metamorphosis of larvae of this fish. The experimental period was 17 days. Each treatment was carried out with six replicates. For the parameters of survival, growth (total length, weight, weight gain, specific growth rate and daily growth rate) and metamorphosis (onset of metamorphosis, pelagic larval duration and rate of development), the interaction of salinity and temperature was not significant, except for the daily growth rate. Salinity and temperature did not affect larval survival (20 e 30‰ - 53,0±13,0 % e 46,0±15,0%; 26°C e 30°C – 50,0±17,4% e 49,0±10,6%, respectively), but both influenced ( $P<0.05$ ) growth. Total length, weight and weight gain were greater ( $P<0.05$ ) at 20 ‰ (10.13±1.22 mm, 15.93±5.66 mg, 15.23±5.66 mg, respectively) however were similar ( $P>0.05$ ) at the two temperatures. Furthermore, the specific growth rate was higher at 30°C (21.43±2.62 %·dia<sup>-1</sup>), but was similar ( $P>0.05$ ) at both salinities. The daily growth rate was higher ( $P<0.05$ ) at 30°C (0.39±0.08 mm·day<sup>-1</sup>) when the temperatures were compared at 30 ppt salinity, however, at 20 ‰ both temperatures showed similar effect. The daily growth rate was higher at 20 ‰ (0.34 ± 0.07 mm·day<sup>-1</sup>), but only at 26°C, however, at 30°C, the salinities showed a similar effect. The metamorphosis started earlier (8.8 ± 0.87 DAH), and the duration of the larval phase was shorter (12.7 ± 1.15 days) in larvae maintained at 30°C ( $P<0.05$ ). The parameters of metamorphosis were not affected by salinity. Through this study, it is recommended to use 20 ‰ and 30°C. At this temperature, the larvae showed a better development, and a shorter larval duration.

**Keywords:** 1. abiotic factors 2. anemonefish 3. hatchery 4. ornamental marine fish 5. ornamental aquaculture.



## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>Situação da exportação e importação de peixes ornamentais no Brasil e no Mundo</b> .....	13
<b>Aquicultura de peixes ornamentais marinhos no Brasil e no Mundo</b> .....	14
<b>O peixe-palhaço <i>Amphiprion clarkii</i></b> .....	15
<b>Efeitos da salinidade e da temperatura na larvicultura de peixes marinhos</b> .....	17
<b>OBJETIVOS</b> .....	19
<b>Objetivo Geral</b> .....	19
<b>Objetivos Específicos</b> .....	19
<b>Desenvolvimento de Larvas do Peixe-palhaço <i>Amphiprion clarkii</i>: Efeito da Salinidade e da Temperatura</b> .....	19
<b>RESUMO</b> .....	19
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	21
<b>2.1. Reprodutores e condição geral de manutenção</b> .....	21
<b>2.2. Delineamento experimental</b> .....	22
<b>2.3. Manutenção e alimentação das larvas</b> .....	23
<b>2.4. Amostragem e parâmetros avaliados</b> .....	25
<b>2.6. Análise estatística</b> .....	26
<b>3. RESULTADOS</b> .....	26
<b>3.1. Qualidade de água</b> .....	26
<b>3.2. Efeito da interação salinidade x temperatura</b> .....	27
<b>3.3. Sobrevivência</b> .....	27
<b>3.4. Crescimento larval</b> .....	28
<b>3.5. Metamorfose</b> .....	29

<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>40</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

### Situação da exportação e importação de peixes ornamentais no Brasil e no Mundo

A exportação brasileira de peixes ornamentais, marinhos e dulcícolas, no acumulado de 2009 foi em torno de 100 toneladas totalizando 7 milhões de dólares (BRASIL, 2013a). Nesse mesmo período, registrou-se a importação de 8 toneladas de peixes ornamentais, somando US\$ 179 mil, sendo um total de 530 espécies permitidas pela legislação brasileira (BRASIL, 2013a, 2008a). O volume de peixes ornamentais representou 1% do total de pescado exportado. Observou-se uma queda na exportação no ano de 2009, em relação ao ano anterior, representando o maior recuo nas vendas de peixes ornamentais com uma redução de 26% do volume exportado. Entretanto, verificou-se que houve um aumento no faturamento de 25% em dólares, nesse mesmo período, pois houve também um aumento do preço dos produtos de 70%. Os três principais compradores de peixes ornamentais brasileiros no ano de 2007 foram o Japão (13%), EUA (6%) e a Alemanha (5%) (BRASIL, 2013a).

O Brasil é um dos cinco maiores exportadores de peixes ornamentais tropicais e, a partir do final da década de 90, observou-se um aumento considerável no interesse em organismos ornamentais marinhos (GASPARINI, 2005). São permitidas a captura, o transporte e a comercialização de 136 espécies marinhas brasileiras (BRASIL, 2008a). Em 2007, 10 espécies *Holacanthus ciliaris*, *Pomacanthus paru*, *H. tricolor*, *P. arcuatus*, *Centropyge aurantonotus*, *Acanthurus coeruleus*, *Bodianus pulchellus*, *B. rufus*, *Hippocampus reidi* e *Halichoeres cyanocephalus* foram as mais representativas no mercado de exportação totalizando 70% de peixes comercializados internacionalmente (BRASIL, 2008b).

Em 2003, no mercado mundial, a espécie marinha ornamental com maior demanda foi o peixe-palhaço *Amphiprion ocellaris*, representando mais de 15% do valor total de exportação e acima de 25% somente para os países europeus (FAO, 2001; WABNITZ et al., 2003). Atualmente, nos Estados Unidos, 50% do volume importado são peixes da família Pomacentridae, entre os 20 mais requisitados estão os peixes-palhaços *A. ocellaris*, *A. percula*, *Premnas biacuelatus* e *A. frenatus*. Do total de peixes marinhos tropicais importados para os EUA, somente 5% são provenientes de cultivos (THORNHILL, 2012).

## **Aquicultura de peixes ornamentais marinhos no Brasil e no Mundo**

Segundo Sampaio e Ostrensky (2013), os organismos ornamentais marinhos no Brasil são desprovidos de uma legislação que cumpra com sua função de preservar os estoques naturais, pois a mesma ainda possui pouco embasamento técnico e científico, necessários para um manejo adequado. Neste sentido, a aquicultura pode contribuir com um futuro mais promissor auxiliando na redução da pressão sobre os estoques naturais, bem como no conhecimento bioecológico de peixes ornamentais marinhos, podendo ser uma solução sustentável a longo prazo para o setor. Porém, para tanto, é necessário que seja uma atividade abrangente nos aspectos sociais e econômicos, com incentivos para pequenos criadores, que permita uma competição justa com os produtos selvagens capturados. Além disso, é preciso ter condições legais, pesquisas que refinem a tecnologia atual, monitoramento do comércio de organismos ornamentais marinho, e ainda incentivo ao consumidor para que ele prefira organismos cultivados (POMEROY; PARKS; BALBOA, 2006).

Estima-se que 1,5 a 2 milhões de famílias, em todo mundo, mantenham aquários marinhos em casa, sendo que somente nos Estados Unidos são 800 mil famílias. O comércio global movimentava cerca de US\$ 200 a 330 milhões, incluindo peixes, corais, esponjas, anêmonas, moluscos, crustáceos e rochas vivas. São comercializadas 1500 espécies de peixes, 500 de invertebrados e 200 de corais, entre organismos capturados e cultivados. No entanto, somente 40 espécies comercializadas são provenientes de fazendas de criação, constituindo apenas 1 a 2% do comércio global (WABNITZ et al., 2003). Portanto, ainda é limitado o número de fazendas de criação de espécies ornamentais marinhas. A pioneira na produção de peixes ornamentais marinhos foi a Aqualife Research em Bahamas, na década de 70, com o peixe-palhaço *A. ocellaris*. Mais tarde outras empresas também se estabeleceram na Flórida e em Porto Rico. Além disso, alguns criadores amadores surgiram nos EUA e na Europa (OLIVIER, 2003). Novamente, as principais espécies de peixes cultivadas são os peixes-palhaços.

Na Flórida, está sendo investigado e produzido em escala limitada outras variedades de espécies de peixes marinhos ornamentais, como da família Gobiidae, da família Pseudochromidae, da família Pomacentridae, da família Balistidae, da família Pomacanthidae, da família Syngnathidae e camarões ornamentais (PUTNAM; KNICKERBOCKER, 2013).

Atualmente no Brasil, existem 180 produtores de organismos ornamentais, entre marinhos e dulcícolas, registrados no Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2013b). A produção brasileira de ornamentais marinhos ainda é de pequena escala e não quantificada, caracterizada por pequenos produtores, com a produção bastante tímida, se comparada a outros países, como por exemplo, as produções mais representativas do setor são da Peixepalhaço.com, Azul Fish Farm, Ari dos Palhaços, Eco Reef e Aqua King, localizadas no estado de São Paulo.

Um estudo mostrou a viabilidade econômica da criação de peixes-palhaço *A. ocellaris* em sistemas de recirculação (KODAMA, 2011), o que incentiva novos empreendimentos da aquicultura ornamental no Brasil. Entretanto, ainda são necessárias maiores pesquisas que objetivem otimizar a produtividade das criações através da diminuição das taxas de mortalidade e aumento das taxas de crescimento. Poucas são as instituições de ensino que estudam a produção de ornamentais marinhos, entre elas a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

### **O peixe-palhaço *Amphiprion clarkii***

Os peixes-palhaços são peixes recifais originários do Indo-Pacífico, extremamente populares em aquários (THORNHILL, 2012). A família Pomacentridae é composta por 30 espécies catalogadas, 29 do gênero *Amphiprion* e apenas 1 do gênero *Premnas* (THORNHILL, 2012). São também conhecidos como “anemonefish” pois desenvolvem uma relação simbiótica com algumas famílias de anêmonas marinhas (Actiniidae, Thalassianthidae e Stichodactylidae). Essa relação determina não só a distribuição geográfica dos peixes palhaços como também sua população (WILKERSON, 2003). Os peixes-anêmonas podem viver até 30 anos (THORNHILL, 2012).

*Amphiprion clarkii*, também conhecido como Clark ou peixe-palhaço de cauda amarela (“yellowtail”), distribui-se naturalmente desde as Ilhas das regiões de Micronésia e Melanésia no Pacífico, até Golfo Persa, e da Austrália ao Japão (THORNHILL, 2012). É uma das espécies sobre-explotadas na região das Maldivas desde a década de 80. A coleta dessa espécie, assim como de outros organismos ornamentais era realizada por pescadores que utilizavam cianeto, químico altamente

prejudicial ao ambiente, hoje considerado uma prática ilegal. O declínio desta espécie e de outras espécies de ornamentais marinhos levou a criação de áreas e grupos de espécies protegidas, com restrições de coleta, entre elas o peixe-palhaço Clark (THORNHILL, 2012).

Essa espécie (Figura 1) possui coloração altamente variável, podendo ser amarela ou marrom ou até mesmo próxima ao negro, e quando adultos podem ter de duas a três faixas de coloração branca ou acinzentada perpendiculares ao corpo. Quando as fêmeas amadurecem sexualmente, a nadadeira caudal muda da coloração amarela para a branca (WILKERSON, 2003).

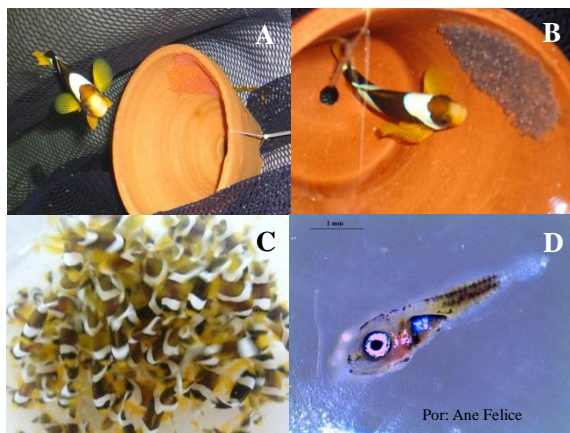


Figura 1. *Amphiprion clarkii* em cativeiro. A) Postura dos ovos; B) Macho protegendo os ovos; C) juvenis; D) larva com 2 dias após a eclosão.

Possuem apetite voraz, são agressivos e territorialistas. Quanto à reprodução, são hermafroditas protândricos, produzem desovas regulares de ovos demersais e adesivos ao substrato, com a fecundação e o desenvolvimento ocorrendo no meio externo. Um casal pode desovar de quatrocentos até mil e quinhentos ovos, por cada postura (WILKERSON, 2003). A quantidade de ovos está relacionada ao tamanho e a idade da fêmea (DHANEESH; KUMAR; SHUNMUGARAJ, 2009). Os machos são responsáveis por cuidar dos ovos durante a incubação promovendo sua ventilação de forma vigorosa (WILKERSON, 2003).

As larvas recém-eclodidas apresentam comportamento voraz e exigem água de excelente qualidade até a fase de metamorfose. Esses dois fatores são considerados limitantes para a larvicultura e conseqüentemente para o cultivo do *A. clarkii* (WILKERSON, 2003). De



acordo com Anto, Majoris e Turingan (2009), as larvas de *A. clarkii* selecionam suas presas pelo tamanho conforme o desenvolvimento dos aparatos alimentares (maxilar, pré-maxilar, dentes, por exemplo), podendo se alimentar de náuplios de artêmia já com 5 DAE. Após o processo de metamorfose os peixes são considerados resistentes e crescem de forma rápida, podendo ser comercializados com 3 a 4 meses de idade (WILKERSON, 2003).

Apesar de muito cultivado, ainda são escassas as pesquisas identificando os parâmetros ambientais ideais para o meio de cultivo principalmente na fase de larvicultura, que é considerada o período crítico para a sobrevivência dos peixes marinhos em geral, inclusive do *A. clarkii*.

### **Efeitos da salinidade e da temperatura na larvicultura de peixes marinhos**

A salinidade e a temperatura são fatores abióticos dos mais importantes para a manutenção de organismos aquáticos, no entanto, as faixas ideais ou ótimas são espécie-específicas e dependem das etapas de desenvolvimento do animal (BALDISSEROTTO; MANCERA; KAPOOR, 2007; BOEUF; PAYAN, 2001).

Peixes marinhos, principalmente os teleósteos, são animais hiposmóticos à água do mar, desta forma a regulação iônica e osmótica pode gerar um gasto energético, assim como uma economia de energia metabólica pode ocorrer em meios isosmóticos (BALDISSEROTTO; MANCERA; KAPOOR, 2007; BRIX, 2002; SCHMIDT-NIELSEN, 2002; HOLLIDAY, 1969). A temperatura apresenta um papel importante na regulação iônica e osmótica, pois afeta a difusão de íons através das membranas (BALDISSEROTTO; MANCERA; KAPOOR, 2007).

A maioria dos peixes são organismos cuja temperatura corporal está em conformidade com a temperatura do ambiente, ficando ligeiramente acima (0,5°C) da temperatura ambiente (FRY, 1971). Uma elevação da temperatura pode acelerar a maioria dos processos metabólicos dos peixes. Em geral, o aumento de 10°C provoca aumento de 2 a 3 vezes no consumo de oxigênio, por exemplo. Altas temperaturas também podem provocar a morte dos peixes devido a desnaturação de proteínas, coagulação térmica ou inativação térmica de enzimas. No entanto, com a aclimatação, os peixes conseguem compensar as mudanças de temperatura por alterações apropriadas nas taxas metabólicas (SCHMIDT-NIELSEN, 2002).

Em peixes, de forma isolada ou combinada, a salinidade e a temperatura, podem afetar diretamente o crescimento e a sobrevivência larval (OBLING, 2002; BOEUF; PAYAN, 2001); a taxa de desenvolvimento de ovos, embriões e larvas (OBLING, 2002; HOLLIDAY, 1969; GRACIA-LÓPEZ; KIEWEK-MARTÍNEZ; MALDONADO-GARCÍA, 2004); a utilização do saco vitelínico, a metamorfose (GREEN; FISHER, 2004, LE et al., 2011, HOLLIDAY, 1969; OBLING, 2002); a ingestão alimentar, balanço energético, conversão alimentar (BOEUF; PAYAN, 2001, LE et al., 2011, HOLLIDAY, 1969); adaptações fisiológicas, estruturais e anormalidades (MOUSTAKAS; WATANABE; COPELAND, 2004; HOLLIDAY, 1969; OBLING, 2002); a insuflação da bexiga natatória (FIELDER et al., 2005; TANDLER; ANAV; CHOSHNIK, 1995); consumo de oxigênio (SCHMIDT-NIELSEN, 2002); o comportamento e natação (GREEN; FISHER, 2004, OBLING, 2002).

Em relação aos peixes-palhaço, estudos recentes, porém ainda escassos, têm sido realizados para analisar os efeitos da salinidade e da temperatura na larvicultura do *Amphiprion melanopus* (GREEN; FISHER, 2004); do *A. akallopisos* (DHANEESH et al., 2012); e do *A. clarkii* (LE et al., 2009; LE et al., 2011).

A interação de temperaturas elevadas e menores salinidades, pode melhorar o desempenho larval, como é o caso do pargo vermelho *Pagrus pagrus* (OSTROWSKI et al., 2011). A utilização de salinidades mais baixas pode auxiliar os cultivos localizados fora da costa marinha, que necessitam da aquisição de água salgada ou sal marinho artificial, além de poder minimizar a incidência de doenças e parasitas nos peixes marinhos (DHANEESH et al., 2012, HOLLIDAY, 1969).

No entanto, o efeito combinado da salinidade e da temperatura ainda não foi avaliado na larvicultura do *A. clarkii*. Segundo Boueuf; Payan (2001), a interação destes fatores pode aumentar ou diminuir seus efeitos isolados sobre o crescimento e a sobrevivência. Desta forma, a temperaturas e salinidades mais adequadas em sistemas de criação podem melhorar a eficiência da maricultura ornamental. Em virtude de um maior e mais rápido crescimento larval, mais rapidamente poderá ser a obtenção de formas jovens prontas para a comercialização. Logo, o estudo da interação desses dois parâmetros ambientais é importante, pois auxiliará na viabilidade produtiva e econômica deste mercado promissor no Brasil.

O presente trabalho será submetido à publicação na Revista Aquaculture

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Determinar de melhores condições de larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*.

### Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito combinado da temperatura e da salinidade na sobrevivência e no crescimento de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*.
- Verificar o tempo desenvolvimento do peixe-palhaço da eclosão até a metamorfose.

## ARTIGO

### Desenvolvimento de Larvas do Peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*: Efeito da Salinidade e da Temperatura

#### RESUMO

A salinidade e a temperatura são fatores abióticos importantes para a manutenção de organismos aquáticos. O efeito combinado destes parâmetros ainda não foi avaliado na larvicultura do peixe palhaço *Amphiprion clarkii*. O presente estudo testou a interação das salinidades 20 e 30 ‰ e das temperaturas 26 e 30°C sobre a sobrevivência, o crescimento e a metamorfose das larvas desta espécie. O experimento teve duração de 17 dias. Cada tratamento foi realizado com seis repetições. Nos parâmetros de sobrevivência, crescimento (comprimento total, peso, ganho de peso, taxa de crescimento específico e taxa de crescimento diário) e metamorfose (início da metamorfose, duração larval pelágica e taxa de desenvolvimento), a interação salinidade-temperatura não foi significativa, exceto para a taxa de crescimento diário. A salinidade e a temperatura não influenciaram a sobrevivência (20 e 30‰ - 53,0±13,0 % e 46,0±15,0%; 26°C e 30°C - 50,0±17,4% e 49,0±10,6%, respectivamente) das larvas, mas ambas influenciaram ( $P<0,05$ ) o crescimento. O comprimento total, peso e ganho de peso foram maiores ( $P<0,05$ ) em 20 ‰ (10,13±1,22 mm; 15,93±5,66 mg; 15,23±5,66 mg, respectivamente), entretanto foram semelhantes

( $P > 0,05$ ) nas duas temperaturas. Por outro lado, a taxa de crescimento específico foi maior a  $30^{\circ}\text{C}$  ( $21,43 \pm 2,62 \text{ \%} \cdot \text{dia}^{-1}$ ), mas semelhante ( $P > 0,05$ ) nas duas salinidades. A taxa de crescimento diário foi maior ( $P < 0,05$ ) em  $30^{\circ}\text{C}$  ( $0,39 \pm 0,08 \text{ mm} \cdot \text{dia}^{-1}$ ) quando as temperaturas foram comparadas na salinidade 30 ‰, porém, em 20 ‰ as temperaturas apresentaram um efeito similar. A taxa de crescimento diário foi maior na salinidade 20 ‰ ( $0,34 \pm 0,07 \text{ mm} \cdot \text{dia}^{-1}$ ), somente na temperatura  $26^{\circ}\text{C}$ , no entanto, a  $30^{\circ}\text{C}$  as salinidades também apresentaram um efeito similar. A metamorfose iniciou mais cedo ( $8,8 \pm 0,87 \text{ DAE}$ ) em larvas mantidas a  $30^{\circ}\text{C}$ , assim como a duração da fase larval foi menor ( $12,7 \pm 1,15 \text{ dias}$ ) ( $P < 0,05$ ). O parâmetro de metamorfose não foi influenciado pela salinidade. Através deste estudo, recomenda-se a utilização de 20 ‰ e  $30^{\circ}\text{C}$ . Nesta temperatura, as larvas apresentaram um melhor desenvolvimento, e menor tempo de duração larval. Já na salinidade mais baixa, obteve-se maior crescimento final.

**Palavras-chaves:** 1. aquicultura ornamental. 2. larvicultura. 3. peixes ornamentais marinhos 4. peixe-anêmona

## 1. INTRODUÇÃO

A salinidade e a temperatura são fatores abióticos importantes para a manutenção de organismos aquáticos, no entanto, as faixas ideais ou ótimas são espécie-específicas e dependem das etapas de desenvolvimento do animal (Baldisserotto et al., 2007; Boeuf e Payan, 2001).

Peixes marinhos, principalmente os teleósteos, são animais hiposmóticos à água do mar e desta forma a regulação iônica e osmótica gera um gasto energético, assim como uma economia de energia metabólica pode ocorrer em meio isosmótico (Baldisserotto et al., 2007; Brix, 2002; Schmidt-Nielsen, 2002; Holliday, 1969).

A temperatura possui um papel importante na regulação iônica e osmótica, pois afeta a difusão de íons através das membranas (Baldisserotto et al., 2007). Podendo também afetar diretamente o metabolismo, por exemplo, o aumento de  $10^{\circ}\text{C}$  provoca um aumento de 2 a 3 vezes no consumo de oxigênio. Além disso, altas temperaturas podem provocar a morte dos peixes devido à desnaturação de proteínas, coagulação térmica ou inativação térmica de enzimas (Schmidt-Nielsen, 2002).

De forma isolada ou combinada, a salinidade e a temperatura, podem afetar diretamente o crescimento e a sobrevivência larval (Obling,

2002; Boeuf e Payan, 2001); a taxa de desenvolvimento de ovos, embriões e larvas (Obling, 2002; Holliday, 1969; Gracia-López et al., 2004); a utilização do saco vitelínico e a metamorfose (Green e Fisher, 2004; Le et al., 2011; Holliday, 1969; Obling, 2002); a ingestão alimentar, balanço energético, conversão alimentar (Boeuf e Payan, 2001; Le et al., 2011, Holliday, 1969); as adaptações fisiológicas, estruturais e anormalidades (Moustakas et al., 2004; Holliday, 1969; Obling, 2002); o consumo de oxigênio (Schmidt-Nielsen, 2002); o comportamento e natação (Green e Fisher, 2004; Obling, 2002).

Peixes-palhaço são recifais e extremamente populares na aquariofilia. Estudos recentes, porém ainda escassos, têm sido realizados para verificar o efeito da salinidade e da temperatura na larvicultura do *Amphiprion melanopus* (Green e Fisher, 2004); do *A. akallopisos* (Dhaneesh et al., 2012a); e do *A. clarkii* (Le et al., 2009; Le et al., 2011).

A interação de temperatura elevada e menor salinidade pode melhorar o desempenho larval de peixes de regiões temperadas, como é o caso do pargo vermelho *Pagrus pagrus* (Ostrowski et al., 2011). A utilização de salinidades mais baixas pode auxiliar cultivos localizados fora da costa marinha, que necessitam da aquisição de água salgada ou sal marinho artificial, além de poder minimizar a incidência de doenças e parasitas nos peixes marinhos (Dhaneesh et al., 2012a, Holliday, 1969).

Segundo Boueuf e Payan (2001), a interação da salinidade e da temperatura pode potencializar ou diminuir o efeito isolado destes fatores sobre o crescimento e a sobrevivência. Desta forma, a temperaturas e salinidades mais adequadas em sistemas de criação podem melhorar a eficiência da maricultura ornamental. Em virtude de um maior e mais rápido crescimento larval, pode-se obter formas jovens prontas para a comercialização em menor tempo de cultivo.

Uma vez que a interação desses fatores ambientais ainda não foi avaliada em *A. clarkii*, o objetivo deste estudo foi verificar o seu efeito combinado na larvicultura desta espécie.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Reprodutores e condição geral de manutenção**

Um casal de peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* foi mantido em um tanque-rede (1 m<sup>3</sup> total - 0,55 m<sup>3</sup> úteis) dentro de um tanque retangular de cimento de 8.000 L, no Laboratório de Piscicultura Marinha II (LAPMAR II), Barra da Lagoa, Universidade Federal de

Santa Catarina (UFSC). O sistema foi mantido em fluxo aberto, com água do mar a uma temperatura de 25 - 27°C e salinidade 33 - 35‰. Antes de entrar no tanque a água passava por filtro de bolsa de náilon com 100 µm, skimmer, filtro biológico (rocha artificial) e filtro ultravioleta (UV). Os reprodutores foram alimentados até a saciedade aparente, 3 vezes ao dia, com ração comercial para peixes ornamentais marinhos Tetra Marine (Alemanha) e por um mix ou patê composto por molusco bivalve, lula, peixe e camarão marinho frescos.

Dentro do tanque-rede foi colocado um vaso de barro para abrigo permanente do casal e postura dos ovos. Após a desova, os ovos fertilizados eram incubados pelo macho durante 7 dias, posteriormente o vaso era retirado do tanque dos reprodutores e transferido para uma caixa preta de 30 L, onde após 2 horas em escuridão, ocorria a eclosão das larvas. A temperatura e a salinidade da água na caixa de eclosão foram de 26°C e 25 ‰, respectivamente. Testes preliminares mostraram a eficiência da eclosão nessa temperatura e salinidade.

A salinidade foi diminuída para 25 ‰ para ficar em um nível médio de salinidade em relação aos tratamentos testados, a fim de haver um aumento ou diminuição deste parâmetro em níveis iguais (5 ‰).

## **2.2. Delineamento experimental**

O experimento foi conduzido entre julho e agosto de 2012, com duração total de 17 dias. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 2x2 (salinidade x temperatura), sendo quatro tratamentos, com 6 réplicas cada. Foram testadas as salinidades 20 e 30‰ e as temperaturas 26 e 30°C.

Quarenta e duas larvas recém-eclodidas foram transferidas para cada unidade experimental, que consistiu em recipientes cilíndricos de vidro transparente com volume útil de 2,5 L cada, dotados de suave aeração. Os recipientes ficaram imersos, em banho termostatizado com temperatura controlada por aquecedores e termostatos (Modelo MT 511Ri Full Gauge precisão de 0,01°C), dentro de caixas de PVC brancas de 200 L, com volume útil de 50 L, forradas internamente com papel autoadesivo preto para diminuir o estresse causado pela incidência de luz nas laterais e fundos dos vidros e para aumentar o contraste entre a larva e presa (Wittenrich, 2007). Os tratamentos com temperatura 30°C (20 e 30‰) permaneceram na mesma caixa, assim como os da temperatura 26°C (20 e 30‰) em outra caixa, totalizando 12 recipientes por caixa.

As larvas recém-eclodidas (0 DAE – Dias Após a Eclusão) foram transferidas, 6 horas após a eclusão, para as unidades experimentais nas mesmas condições do tanque onde ocorreu a eclusão (26°C e 25‰) para não haver choque térmico e osmótico. Após a transferência, a temperatura das unidades experimentais dos tratamentos com 30°C foi ajustada gradativamente (aumento de 0,5°C.h<sup>-1</sup>). A salinidade foi ajustada no 1º dia após a eclusão (1º DAE) com trocas parciais de 25%, já com as respectivas concentrações (20 e 30‰), a cada duas horas até atingir as salinidades do experimento.

O fim do período experimental foi fixado quando mais de 70% das larvas atingiram sua completa metamorfose, ajustado diariamente a partir do aparecimento do primeiro juvenil (Início da Metamorfose), em cada unidade experimental. Desta forma, o período experimental variou entre os diferentes tratamentos testados.

O início do processo de metamorfose é perceptível quando a pigmentação das larvas torna-se mais escura, indo do marrom ao preto, aparecendo a primeira banda branca, mas não totalmente pigmentada. Portanto, a metamorfose foi definida quando a larva passou de sua fase pelágica para fase juvenil, observada com a pigmentação das bandas brancas e pigmentação enegrecida do corpo.

### **2.3. Manutenção e alimentação das larvas**

As larvas foram mantidas em água clara (sem adição de microalgas), alimentadas primeiramente com rotífero (*Brachionus* sp.), a uma densidade de 10 - 20 ind.mL<sup>-1</sup>, até o 8º DAE (Figura 2). A partir do 6º DAE foi iniciado o fornecimento de náuplios de artêmia (*Artemia* sp. - Inve Aquaculture) (2-5 ind.mL<sup>-1</sup>) juntamente com o rotífero. Do 8º até o 12º DAE, além de náuplios de artêmia foram oferecidos metanáuplios enriquecidos com ácidos graxos (Easy DHA Selco – Inve Aquaculture) na porção de 1:1 de náuplios e metanáuplios na concentração total de 2-5 ind.mL<sup>-1</sup>. No 10º DAE, iniciou-se a oferta de ração (Otohime TDO-A 250µm – Proteína Bruta 52%, Lipídio Bruto 12%, Fibra Bruta 3,5%, Cinza Bruta 15%, Cálcio 2%, Fósforo 2%, Umidade 6,5%) na proporção de 7% da biomassa dividida em 4 porções ao dia, juntamente com náuplios e metanáuplios de artêmia enriquecidos. A partir do 13º DAE até o final do experimento, foram ofertados apenas metanáuplios de artêmia enriquecidos e ração. Este protocolo alimentar foi utilizado em todos os tratamentos, independentemente do tamanho larval.

A concentração do alimento vivo (rotífero e artêmia), assim como quantidade de ração ofertada às larvas foram determinadas em ensaios previamente realizados. Todos os dias de manhã, eram contados os residuais de rotífero e artêmia de cada unidade experimental os quais eram repostos para mantê-los dentro da densidade definida. As contagens ocorriam antes da renovação diária de água, a fim de estimar o consumo pelas larvas. Com a renovação de água, retira-se 90% do alimento residual, posteriormente sendo fornecido um alimento vivo novo e enriquecido. O alimento vivo foi oferecido duas vezes ao dia: o rotífero era fornecido na quantidade de  $10 \text{ ind.mL}^{-1}$  de manhã, e o restante para completar  $20 \text{ ind.mL}^{-1}$ , à tarde, de acordo com o residual; a artêmia era fornecida na quantidade de  $1 \text{ ind.mL}^{-1}$  de manhã e o restante para completar  $5 \text{ ind.mL}^{-1}$ , à tarde, de acordo com o residual.

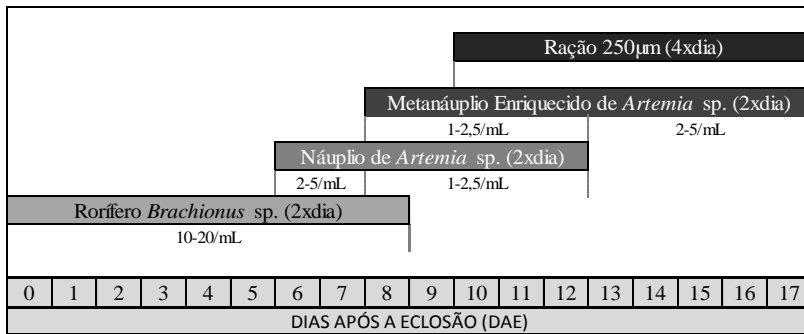


Figura 1. Protocolo de alimentação fornecido às larvas e juvenis do *Amphiprion clarkii*, no período de experimentação.

Nos primeiros dias foi renovado cerca de 30% do volume de água de cada unidade experimental, com água previamente preparada na salinidade e temperatura de cada tratamento. A taxa de renovação foi aumentando gradativamente a cada dois dias até chegar a 100% no final do experimento. A renovação ocorria sempre no período da manhã, após a avaliação da temperatura e salinidade das unidades experimentais. A partir da renovação de 70% até 100%, as trocas parciais foram divididas em duas partes iguais ocorrendo pela manhã e a tarde. A água utilizada para a renovação de cada unidade experimental era filtrada por filtro de bolsa e filtro UV.

A intensidade luminosa foi mantida em 2000 Lux, a um fotoperíodo de 16Luz:8Escuro. As temperaturas foram aferidas diariamente com os termostatos utilizados no banho termostatizado e as



salinidades com refratômetro (Modelo RTS-101 ATC) com precisão de 1 ‰. Os parâmetros de pH, amônia e nitrito foram monitorados durante a primeira semana (dias 0, 2, 5 e 8) e no último dia de experimento, através de kits colorimétricos (Alcon®).

O rotífero *Brachionus* sp. fornecido às larvas foi cultivado a 25‰ e 26°C de temperatura com microalga *Nannochloropsis oculata* (100.000 a 150.000 cél.ind<sup>-1</sup>).

Os náuplios de artêmia foram oriundos de cistos colocados para eclosão, a 29°C e 35‰, no dia anterior ao fornecimento. Os metanáuplios foram provenientes a partir de náuplios enriquecidos com ácidos graxos (Easy DHA Selco - Inve Aquaculture) durante 24 h.

## 2.4. Amostragem e parâmetros avaliados

Dezesseis larvas recém-eclodidas foram amostradas aleatoriamente no 0 DAE para posterior mensuração de comprimento total (CT em mm) e peso úmido (P em mg), em microscópio estereoscópio (Olympus SZ40) e balança de precisão (Shimadzu AUW220D). O CT e P inicial foram comuns a todos os tratamentos.

No final do experimento cinco juvenis, logo após sofrerem a metamorfose, foram amostrados aleatoriamente em cada unidade experimental para determinar CT e o P final. Todas as amostras foram fixadas em formalina 5% antes da mensuração dos parâmetros.

Além do CT e P, foram também analisados os seguintes parâmetros relacionados ao crescimento: a taxa de crescimento diário (TCD) em comprimento, taxa de crescimento específico (TCE) em peso e ganho de peso (GP).

- $TCD \text{ (mm.dia}^{-1}\text{)} = (CT_f - CT_i)/t$

Onde CT<sub>f</sub> é o comprimento total final, CT<sub>i</sub> é o comprimento total inicial, e t é o tempo de duração do experimento, de cada tratamento.

- $TCE \text{ (%.d}^{-1}\text{)} = 100 \times (\ln Pf - \ln Pi)/t$

Onde Pf é o peso final, Pi é o inicial e t é o tempo de duração de cada tratamento.

- $GP \text{ (mg)} = Pf - Pi$

O número de larvas mortas foi contabilizado diariamente. O aparecimento do primeiro juvenil, em cada unidade experimental, foi considerado o Início da Metamorfose. A partir desse evento, todos os dias foram contadas as larvas metamorfoseadas em cada unidade experimental, a fim de definir de duração larval pelágica (DLP), ou seja,

tempo de duração de cada tratamento e o tempo de larvicultura da espécie.

Foi avaliada a sobrevivência, assim como parâmetros relacionados à metamorfose: início da metamorfose (dia no qual se observou o primeiro juvenil de cada tratamento), duração larval pelágica (duração em dias do período larval de cada tratamento) e taxa de desenvolvimento.

A sobrevivência foi calculada a partir de:

- $S (\%) = 100 \times (N_i - N_m) / N_i$

Onde  $N_i$  é o número inicial de larvas recém-eclodidas,  $N_m$  é o número de mortos durante o experimento.

A taxa de desenvolvimento (TD) foi calculada a partir de:

- $TD = 1/D$

Onde D representa os dias de duração da larva pelágica de cada unidade experimental.

## 2.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos à Análise de Variância Bifatorial (ANOVA Fatorial) e comparação de médias pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%. Nas análises de variância foi verificada a homocedasticidade e a normalidade dos dados. Aos dados em percentual (taxa de sobrevivência e crescimento específico) foi aplicado a transformação angular, antes de serem analisados (Centeno, 1999). A análise estatística foi realizada através do software Statistic 2007. Os resultados estão apresentados como Média±Desvio Padrão.

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Qualidade de água

No tratamento 20‰-26°C, a salinidade e temperatura foram mantidas em 19,99±0,16‰ e 25,77±0,21°C, respectivamente, no de 20‰-30°C, mantidas em 19,83±0,39‰ e 29,79±0,32°C, no de 30‰-26°C, mantidas em 29,96±0,21‰ e 25,80±0,22°C, e no de 30‰-30°C, mantidas em 29,76±0,49‰ e 29,82±0,33°C.

No dia da transferência das larvas (0 DAE), o pH, e as concentrações de amônia total e nitrito foram de 8,0 mg.L<sup>-1</sup> e 0 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, sendo iguais para todos os tratamentos. Durante o período experimental o pH, em média, permaneceu em 8±0,1 em todos

tratamentos. O nitrito ( $\text{NO}_2$ ) conservou-se nulo na primeira semana, porém no último dia de experimento variou de 0,1 a 0,3  $\text{mg.L}^{-1}$ . A fração de amônia não ionizada ( $\text{NH}_3$ ) variou de 0 a 0,06  $\text{mg.L}^{-1}$  nos tratamentos testados.

### 3.2. Efeito da interação salinidade x temperatura

A interação entre a salinidade e a temperatura foi significativa ( $P < 0,05$ ) apenas a taxa de crescimento diário. Desta forma, os resultados desta taxa serão apresentados com a combinação dos dois fatores. Como para os demais parâmetros a interação não foi significativa ( $P > 0,05$ ) serão apresentados separadamente para os dois fatores: salinidade e temperatura.

### 3.3. Sobrevivência

Ao final do experimento, a sobrevivência (%) (Tabela 1) das larvas do peixe-palhaço foi similar ( $P > 0,05$ ) para os tratamentos nas diferentes salinidades, assim como para os tratamentos das diferentes temperaturas.

Tabela 1. Parâmetros zootécnicos (média±DP) da larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* analisados em salinidades e temperaturas distintas.

Parâmetros	Salinidade (‰)		Temperatura (°C)	
	20	30	26	30
Taxa de Sobrevivência (%)	53,0±13,0	46,0±15,0	50,0±17,4	49,0±10,6
Comprimento Total (mm)	10,13±1,22a	9,27±0,99b	9,63±1,25	9,77±1,13
Peso úmido (mg)	15,93±5,66a	12,98±4,42b	14,20±5,23	14,71±5,35
Ganho de peso (mg)	15,23±5,66a	12,29±4,42b	13,50±5,23	14,02±5,35
Taxa de crescimento específico (%/dia)	19,25±2,70	20,04±3,30	17,86±2,26a	21,43±2,62b
Início da Metamorfose (DAE)	9,50±1,00	9,40±1,31	10,20±0,94a	8,80±0,87b
Duração larval pelágica (dia)	14,50±1,62	13,80±1,86	15,60±0,67a	12,70±1,15b
Taxa de desenvolvimento larval	0,070±0,008	0,074±0,011	0,064±0,003a	0,080±0,008b

Letras diferentes em uma mesma linha, entre o mesmo fator, salinidade ou temperatura, indicam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ).

### 3.4. Crescimento larval

As larvas recém-eclodidas apresentavam comprimento total de  $4,4 \pm 0,32$  mm e peso de  $0,69 \pm 0,02$  mg.

O comprimento total, peso e ganho de peso dos juvenis ao final do experimento apresentaram um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) quando submetidos à salinidade de 20‰ em relação a 30‰ (Tabela 1). A taxa de crescimento específico não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) em relação à salinidade (Tabela 1).

As temperaturas testadas não afetaram o crescimento em CT, P e GP dos juvenis do peixe-palhaço, porém nos tratamentos com 30°C obteve-se, uma TCE significativamente maior ( $P < 0,05$ ) do que com 26°C (Tabela 1).

A taxa de crescimento diário (TCD,  $\text{mm} \cdot \text{dia}^{-1}$ ) (Figura 2) na salinidade 30‰ foi significativamente maior ( $P < 0,05$ ) na temperatura de 30°C em relação à temperatura 26°C. Porém não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as temperaturas testadas (26 e 30°C) na salinidade 20‰.

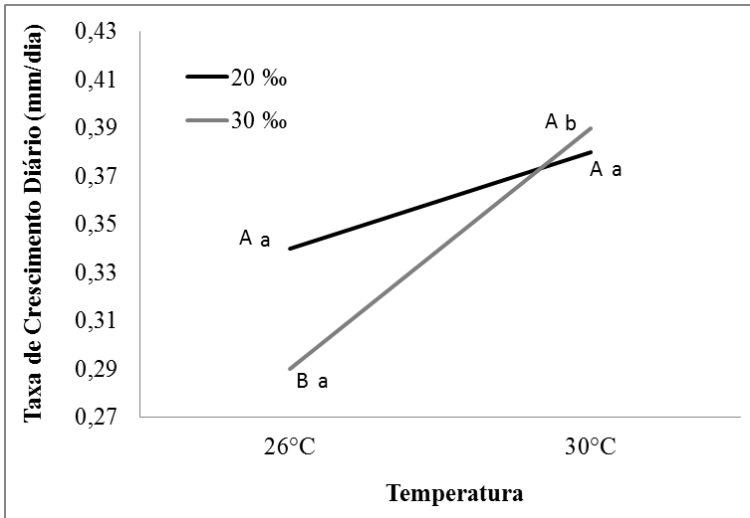


Figura 2. Taxa de crescimento diário, de larvas do peixe-palhaço, em duas salinidades e duas temperaturas. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as temperaturas testadas. E letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as salinidades testadas.

Na temperatura 26°C, a TCD foi significativamente maior ( $P < 0,05$ ) na salinidade 20‰. No entanto, na temperatura 30°C a TCD não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as salinidades (20 e 30‰).

### 3.5. Metamorfose

A salinidade não influenciou significativamente ( $P > 0,05$ ) o dia de início da metamorfose, a duração larval pelágica, assim como a taxa de desenvolvimento das larvas (Tabela 1).

No entanto, foi observado um início significativamente tardio da metamorfose ( $P < 0,05$ ), das larvas mantidas na temperatura 26°C em relação a 30°C (Tabela 1). Similarmente, o tempo de duração larval pelágica em dias foi significativamente maior ( $P > 0,05$ ) para os tratamentos com temperatura 26°C, ao contrário da taxa de desenvolvimento que foi significativamente maior na temperatura 30°C ( $P < 0,05$ ).

Durante o experimento, observou-se que o processo de metamorfose é relativamente rápido, pois a partir do aparecimento da primeira e segunda banda ao longo do corpo, as larvas apresentavam comportamento diferenciado, indo ao fundo do recipiente, deitando de lado, alterando a cor do abdômen prateado, e logo no dia seguinte ou na mesma tarde estavam completamente transformadas em juvenis, com movimentação suave da nadadeira caudal, natação rápida, mostrando-se altamente vorazes.

## 4. DISCUSSÃO

Em geral, peixes-palhaços são sensíveis à baixa qualidade de água, não tolerando concentrações de amônia ionizada e nitrito acima de 0,3 mg.L<sup>-1</sup> e 5 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente (Wilkerson, 2003). Neste estudo, a amônia não ionizada (0 a 0,06 mg.L<sup>-1</sup>) e nitrito (0,1 a 0,3 mg.L<sup>-1</sup>) apresentaram níveis aceitáveis para o bom desenvolvimento das larvas desta espécie. Em relação ao pH, os valores ficaram em torno de 8, semelhante ao encontrado nos ambientes marinhos (pH 7,5 a 8,4) (Poxton e Allouse, 1982).

No presente estudo, a sobrevivência das larvas de *Amphiprion clarii* não foi influenciada por esses dois fatores ficando as taxas próximas a 50% ao final do experimento. As maiores mortalidades foram observadas na primeira semana, principalmente no 3º dia após a eclosão, diminuindo gradativamente até a metamorfose. Mortalidades,

neste mesmo período, também foram observadas nas larviculturas dos peixes-palhaços *A. akallopisos* (Dhaneesh, 2012a) e *A. percula* (Dhaneesh et al., 2009; Dhaneesh et al., 2012b). Nos dois primeiros dias os autores observaram mortalidade entre 10 e 20%. As hipóteses levantadas por eles para elevadas mortalidades na primeira semana foram o estresse da transferência das larvas do tanque dos reprodutores para o tanque de larvicultura, e os períodos de transição de alimento rotífero para náuplios de artêmia.

Estudos realizados por Le et al. (2009) com larvas de *A. clarkii*, demonstraram taxas de sobrevivência maiores que 48% nas larviculturas realizadas em salinidades entre 15 e 20‰. Já nas larviculturas realizadas em salinidades maiores que 25‰ as taxa de sobrevivência foram menores que 29%. Outros autores relataram sobrevivência de 54% nas larviculturas de *A. clarkii* em água salobra (26‰) (Ghosh et al., 2012). No entanto, quando a temperatura é diferente, há influência na taxa de sobrevivência (29°C ~70% sobrevivência; 26°C ~60%; e 23°C ~25%) das larvas desta espécie como observado por Le et al. (2011).

No presente estudo, o crescimento dos peixes-palhaços foi influenciado pela salinidade e temperatura. Este trabalho demonstrou que o crescimento em comprimento total (CT), peso (P) e ganho de peso (GP) de larvas do *A. clarkii* durante a criação para o comércio ornamental pode ser otimizado utilizando salinidade 20‰. Estudos de Le et al. (2009), corroboram com nossos resultados pois também obtiveram maior crescimento das larvas de *A. clarkii* cultivadas em salinidades entre 10 e 25‰. Estes autores observaram ao final de 25 dias, que os peixes atingiram 11,30 mm de comprimento total utilizando salinidade 20‰, valor semelhante ao encontrado aqui na mesma salinidade, entretanto ao final de 14,5 dias.

Resultados semelhantes de larviculturas realizadas em salinidades mais baixas foram relatados para outras espécies marinhas como a garoupa leopardo *Mycteroperca rosacea* (Gracia-López et al., 2004) e o pargo europeu *Sparus aurata* (Tandler et al., 1995). Alguns autores (Boeuf e Payan, 2001; Baldisserotto et al., 2007) indicam que as salinidades mais altas haveria um aumento do gasto energético para a osmorregulação, levando a uma diminuição do crescimento.

Embora nosso estudo tenha demonstrado que peixes cultivados em 26 ou 30°C não apresentaram diferenças no comprimento total, peso ou ganho de peso, de acordo com Le et al. (2011) o crescimento (CT e P) dos juvenis recém-metamorfoseados de *A. clarkii*, em idades distintas, é maior nas temperaturas entre 23 e 26°C em relação aos cultivados em 29°C.

No atual estudo, houve interação da salinidade e da temperatura somente para o parâmetro taxa de crescimento diário, sendo que, quanto menor a salinidade e maior a temperatura, maior é a taxa. As taxas de crescimento diário encontradas na larvicultura de *A. clarkii* por Le et al. (2011) (entre 0,29 e 0,56mm.dia<sup>-1</sup>) estão de acordo aos encontrados no atual estudo.

Já a taxa de crescimento específico dos peixes mantidos a 30°C foi maior que a dos peixes mantidos a 26°C, corroborando com resultados encontrados por Le et al. (2011) para este parâmetro de crescimento. Certamente, esse maior valor para esta taxa é em função da menor duração larval pelágica, visto que o fim de cada tratamento ocorreu em períodos diferentes.

O início da metamorfose, a duração larval pelágica e a taxa de desenvolvimento dos peixes foram influenciados somente pela temperatura. Na temperatura de 30°C, a metamorfose iniciou mais cedo nas larvas, tal qual, a duração larval pelágica em dias foi menor e a taxa de desenvolvimento foi maior.

Nossos resultados mostram que as larvas de *A. clarkii* cultivadas a 30°C podem iniciar a metamorfose até 7 dias mais cedo que larvas da mesma espécie e até 10 dias antes do que larvas de outras espécies de peixes-palhaços, criadas em temperaturas e salinidades distintas, como encontrado por outros autores (Tabela 2).

Para a maricultura ornamental, o tempo de duração larval pelágica tem grande importância, pois é o período necessário para a obtenção de formas jovens que irão ser comercializadas. Neste estudo a duração ocorreu quando 70% dos peixes em cada tratamento havia sofrido a completa metamorfose. Desta forma, com o aumento da temperatura, encontramos uma diferença de 3 dias, da duração larval pelágica, entre as temperaturas testadas, sendo 12,7 dias na temperatura 30°C e 15,6 dias na temperatura 26°C.

Comparando com estudos de larvicultura do *A. clarkii* (Tabela 2), pode-se observar que no presente estudo tivemos em média 3,5 dias de redução da duração larval na temperatura 30°C. Assim como, na temperatura 30°C, as larvas de *A. clarkii* alcançaram a completa metamorfose (duração larval pelágica) em média de 5 dias desde o início da metamorfose, ao contrário dos demais estudos com a mesma espécie, que demoraram em média 8 dias. Apesar das diferenças encontradas, não há causas claras para isto. O metabolismo pode ter sido aumentado decorrente da alta temperatura (Obting, 2002; Schmidt-Nielsen, 2002), no entanto, os estudos possuem distintos protocolos de larvicultura, dificultando uma comparação aprofundada.

Tabela 2. Influência de diferentes salinidades e temperaturas em experimento de larviculturas de distintos peixes-palhaços.

Espécies	Salinidade (‰)	Temperatura (°C)	Início da Metamorfose (DAE)	Duração Larval Pelágica (DAE)	Referências
<i>A. clarkii</i>	20	26 - 30	9,5	14,5**	Presente estudo
	30	26 - 30	9,4	13,8**	
	20 - 30	26	10,2	15,6**	
	20 - 30	30	8,8	12,7**	
<i>A. clarkii</i>		23	-	24,7**	Le et al., 2011
	20 a 25	26 *	-	16**	
		29 *	-	11,3**	
<i>A. clarkii</i>	10 e 15*		7 - 8	15 - 16	Le et al., 2009
	20* e 25	26 - 27,5	8	17 - 19	
	30 e 35		9	19 - 21	
<i>A. clarkii</i>	26*	-	15	25	Ghosh et al., 2012
<i>A. clarkii</i>	30	28	12	13	Olivotto et al., 2008a, 2008b, 2010
<i>A. melanopus</i>	-	25	-	12,3**	Green e Fisher, 2004
		28	-	9**	
<i>A. melanopus</i>	33	-	-	8 - 10	Arvedlund et al., 2000
<i>A. ocellaris</i>	32 a 35	24 - 28	9 - 10	15 - 17	Madhu et al., 2006
<i>A. ocellaris</i>	30	28	9 - 12	-	Olivotto et al., 2011
<i>A. sebae</i>	26	28	15 - 17	20	Divya et al., 2011
<i>A. sebae</i>	22 a 24*	28	15 - 18	18 - 20	Kumar et al., 2010
<i>A. sebae</i>	33 a 35	28 - 32	10	12 - 15	Ignatus et al., 2001
<i>A. akallopisos</i>	24 a 26	27	-	15 - 16	Dhaneesh et al., 2012a
<i>A. percula</i>	24*	27	-	13 - 15	Dhaneesh et al., 2012b
<i>A. polymmus</i>	30	26	-	8 - 10	Olivotto et al., 2012
<i>A. crysogaster</i>	-	-	-	12-15	Gopakumar et al., 2001

\* Valores testados e recomendado pelos autores. \*\* Quando mais que 70% das larvas sofreram metamorfose. (-) Não informado pelos autores.

Em relação a salinidade, para a maricultura ornamental, este trabalho pode auxiliar empreendimentos localizados longe da costa, havendo uma economia na obtenção de água marinha, além de poder minimizar a incidência de doenças e parasitas.

Sugere-se a necessidade complementar de estudos relacionando os fatores abióticos estudados às respostas fisiológicas de osmorregulação e suas taxas metabólicas, para melhorar o conhecimento da influência desses fatores na sobrevivência, no crescimento e na metamorfose dos peixes ornamentais marinhos. Adicionalmente,



análises de eficiência alimentar e de frequência alimentar, em diferentes salinidades e temperatura, podem ser incluídas.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que a sobrevivência não foi afetada pelas diferentes salinidades e temperaturas, estando dentro da faixa esperada para a espécie como observada em outros trabalhos, assim como o crescimento. No entanto, o crescimento teve influência de ambos os fatores.

Demonstrou-se uma otimização do desenvolvimento larval na temperatura de 30°C, com uma maior taxa de desenvolvimento, levando a antecipação do início da metamorfose (8,8 DAE) e menor duração larval (12,7 dias). Portanto, nas condições utilizadas, a larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* poderá ser maximizada em temperaturas mais altas (30°C) e salinidades mais baixas (20‰).

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arvedlund, M., McCormick, M.I., Ainsworth, T., 2000. Effects of Photoperiod on Growth of Larvae and Juveniles of the Anemonefish *Amphiprion melanopus*. *Naga: The ICLARM Quarterly*, 23, 2,18-23.
- Baldisserotto, B., Mancera, J. M., Kapoor, B. G., 2007. Fish Osmoregulation. Science Publishers, Enfield.
- Boeuf, G., Payan, P., 2001. How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry and Physiology, Parte C*, 130, 411-423.
- Brix, O., 2002. The Physiology of Living in Water. In: Hart, P. J. B.; Reynolds, J. D. (Org.). *Handbook of Fish Biology and Fisheries: Fish biology*. Blackwell Publishing, Malden. Cap. 4, pp. 71 - 96.
- Centeno, A. J., 1999. Curso de estatística aplicada à biologia. Ufg, Goiânia.
- Dhaneesh, K.V., Kumar, T. T. A., Shunmugaraj, T., 2009. Embryonic development of *Percula Clownfish, Amphiprion percula*

(Lacepede, 1802). Middle-east Journal Of Scientific Research, 4, 84-89.

Dhaneesh, K.V., Nanthini Devi, K., Kumar, T. T. A., Balasubramanian, T., Tissera, K., 2012a. Breeding, embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*. Journal of King Saud University: Science, 24, 201-209.

Dhaneesh, K. V., Kumar, T. T. A., Ghosh, S. Balasubramanian, T., 2012b. Breeding and mass scale rearing of clownfish *Amphiprion percula*: feeding and rearing in brackishwater. Chinese Journal Of Oceanology And Limnology, 30,528-534.

Divya, S. P., Kumar, T. T. A., Rajasekaran, R., Balasubramanian, T., 2011. Larval rearing of clownfish using *Brachionus plicatilis* rotifer as starter food. Science Asia, 37, 179-185.

Ghosh, S., Kumar, T. T. A., Nanthinidevi, K., Balasubramanian, T., 2012. Reef fish breeding and hatchery production using brackishwater, a sustainable technology with special reference to clark's clownfish, *Amphiprion Clarkii* (Bennett, 1830). International Journal Of Environmental Science And Development, 3, 56-60.

Gopakumar, G., George, R. M., Jasmine, S., 2001. Hatchery production of the clownfish *Amphiprion chrysogaster*. In: Menon, N. G.; Pillai, P. P. (Comp.). Perspectives in mariculture. The Marine Biological Association Of India, Tatapuram, pp. 305-310.

Gracia-López, V., Kiewek-Martínez, M., Maldonado-García, M., 2004. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. Aquaculture, 237, 485-498.

Green, B.S., Fisher, R., 2004. Temperature influences swimming speed, growth and larval duration in coral reef fish larvae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 299, 115-132.

- Holliday, F. G. T., 1969. The effects of salinity on the eggs and larvae of teleosts. In: Hoar, W. S.; Randall, D. J. (Ed.). Fish physiology: Excretion, Ionic Regulation, and Metabolism. Academic Press, London, pp. 293 - 311.
- Ignatius, B., Rathore, G., Jagadis, I., Kandasami, D., Victor, A. C. C., 2001. Spawning and larval rearing technique for tropical clown fish *Amphiprion sebae* under captive condition. Journal Of Aquaculture In The Tropics, 16, 241-249.
- Kumar, T. T. A. Setu, S. K., Murugesan, P., Balasubramanian, T., 2010. Studies on captive breeding and larval rearing of clownfish, *Amphiprion sebae* (Bleeker, 1853) using estuarine water. Indian Journal Of Marine Sciences, 39, 114-119.
- Le, Y., Sheng-Yun, Y., Yu, W., Kai-Chang, W., 2009. Effects of salinity on the survival activity and larvicultura of anemonefish (*Amphiprion clarkii*). Journal of Anhui Agricultural Sciences, 37, 162-164.
- Le, Y., Sheng-Yun, Y., Xiao-Ming, Z., Min, L., Jing-Yi, L., Kai-Chang, W., 2011. Effects of temperature on survival, development, growth, and feeding of larvae of Yellowtail clownfish *Amphiprion clarkii* (Pisces: Perciformes). Acta Ecologica Sinica, 31, 241-245.
- Madhu, K., Madhu, R., Krishnan, L., Sasidharan, C. S., Venugopalan, K. M., 2006. Spawning and larval rearing of *Amphiprion ocellaris* under captive condition. Marine Fisheries Information Service, 188, 1-5.
- Moustakas, C. T., Watanabe, W. O., Copeland, K. A., 2004. Combined effects of photoperiod and salinity on growth, survival, and osmoregulatory ability of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. Aquaculture, 229, 159-179.
- Obling, M., 2002. Environmental Factors and Rates of Development and Growth. In: Hart, P. J. B.; Reynolds, J. D. (Eds.), Handbook of Fish Biology and Fisheries: Fish biology. Blackwell Publishing, Malden, pp. 97 - 122.

- Olivotto, I., Buttino, I., Borroni, M., Piccinetti, C. C., Malzonone, M. G., Carnevali, O., 2008a. The use of the mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. *Aquaculture*, 284, 211-216.
- Olivotto, I., Capriotti, F., Buttino, I., Avella, A. M., Vitiello, V., Maradonna, F., Carnevali, O., 2008b. The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: Effects on larval survival and growth. *Aquaculture*, 274, 347-352.
- Olivotto, I., Tokle, N. E., Nozzi, V., Cossignani, L., Carnevali, O., 2010. Preserved copepods as a new technology for the marine ornamental fish aquaculture: A feeding study. *Aquaculture*, 308, 124-131.
- Olivotto, I., Stefano, M., Rosetti, S., Cossignani, L., Pugnaroni, A., Giantomassi, F., Carnevali, O., 2011. Live prey enrichment, with particular emphasis on HUFAs, as limiting factor in false percula clownfish (*Amphiprion ocellaris*, Pomacentridae) larval development and metamorphosis: Molecular and biochemical implications. *Comparative Biochemistry And Physiology Parte A*, 159, 207-218.
- Olivotto, I., Gaiot, G., Holste, L., Tulli, F., Cardinaletti, G., Piccinetti, C. C., Gioacchini, G., Carnevali, O., 2012. Are *Acartia tonsa* cold-stored eggs a suitable food source for the marine ornamental species *Amphiprion polymnus*? A feeding study. *Aquaculture Nutrition*, 18, 685-696.
- Ostrowski, A. D., Watanabe, W. O., Montgomery, F. P., Rezek, T. C., Shafer, T. H., Morris, J. A. Jr., 2011. Effects of salinity and temperature on the growth, survival, whole body osmolality, and expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA in red porgy (*Pagrus pagrus*) larvae. *Aquaculture*, 314, 193-201.
- Poxton, M. G.; Allouse, S. B., 1982. Water quality criteria for marine fisheries. *Aquaculture Engineering*, 1, 153-191.
- Schmidt-Nielsen, K., 2002. *Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente*. Livraria e Editora Santos, São Paulo.

- Tandler, A., Anav, F. A., Choshniak, I., 1995. The effect of salinity on growth rate, survival and swimbladder inflation in gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae. *Aquaculture*, 135, 343-353.
- Wilkerson, J. D., 2003. Clownfishes: A guide to their captive care, breeding & natural history. Microcosm, Charlotte.
- Wittenrich, M. L., 2007. The complete illustrated breeder's guide to marine aquarium fishes. T.F.H. Publications, Neptune.

## ANEXO

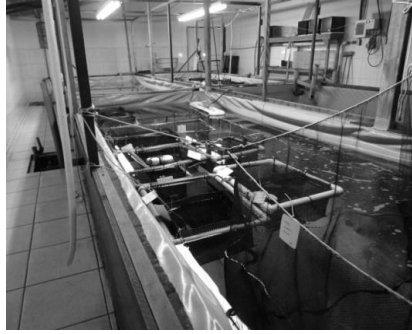


Figura. Tanque retangular de cimento, de 8.000L. O tanque-rede suspenso que aparece na imagem é o do casal de *Amphiprion clarkii*.

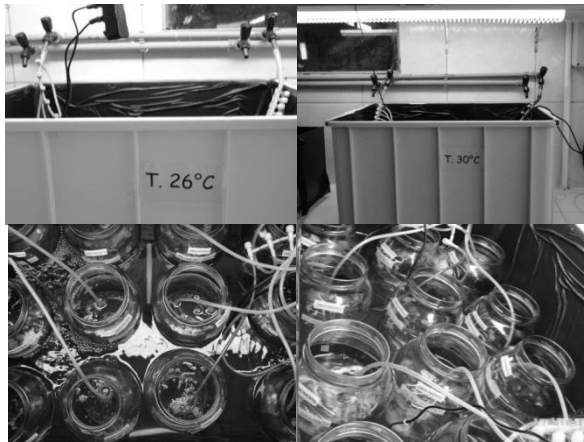


Figura. Caixas de experimentação e unidades experimentais.

### Observações do residual de alimento vivo

A partir do residual de alimento vivo contabilizado diariamente, pôde-se estimar indiretamente o consumo alimentar das larvas nos diferentes tratamentos. Foi considerado o residual de rotífero do 1º a 9ºDAE e o residual de náuplios e metanáuplios, sem distinção, do 7ºDAE ao último dia de experimentação.

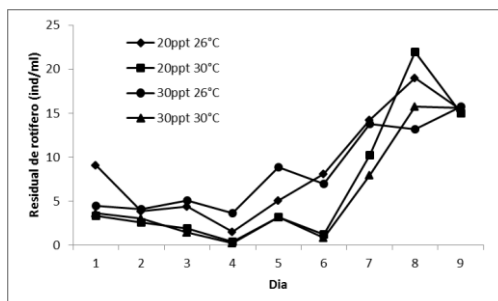


Figura. Residual de rotífero ao longo do período experimental, para os diferentes tratamentos de salinidade e temperatura na larvicultura do *Amphiprion clarkii*.

Observou-se que o número residual de rotífero assim como de artêmia, foi menor para os tratamentos com maior temperatura durante todo período experimental. Quando houve sobreposição do alimento vivo (rotífero com artêmia), o residual de rotífero aumentou em todos os tratamentos, indicando que as larvas passaram a se alimentar também de náuplios de artêmia, como previsto. Ao longo do tempo, foi observado um aumento no consumo dos náuplios e metanáuplios de artêmia para todos os tratamentos.

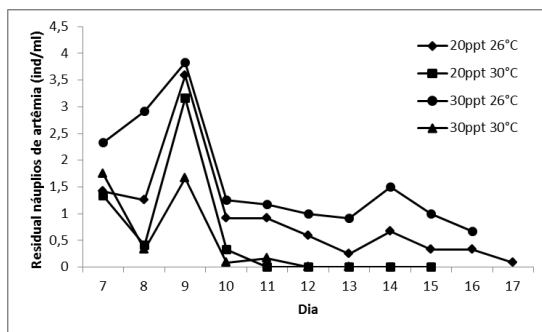


Figura. Residual de náuplios/metanáuplios de artêmia ao longo do período experimental, para os diferentes tratamentos de salinidade e temperatura na larvicultura do *Amphiprion clarkii*.

Adicionalmente, o consumo do alimento vivo foi maior com o aumento da temperatura, corroborando o encontrado por Le et al., (2011) que além do aumento significativo do consumo, mostraram que há também melhor conversão alimentar em temperaturas mais altas para larvas do *Amphiprion clarkii*, além de uma correlação positiva com a taxa de crescimento específico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ANTO, J.; MAJORIS, J.; TURINGAN, R. G.. Prey selection and functional morphology through ontogeny of *Amphiprion clarkii* with a congeneric comparison. **Journal of Fish Biology**. p. 575-590. 2009.

BALDISSEROTTO, B.; MANCERA, J. M.; KAPOOR, B. G.. **Fish Osmoregulation**. Enfield: Science Publishers, 2007.

BOEUF, G.; PAYAN, P.. How should salinity influence fish growth? **Comparative Biochemistry and Physiology**, parte C, v. 130, p. 411-423, 2001.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº202, de 22 de outubro de 2008. Dispõe sobre normas, critérios e padrões para a exploração com finalidade ornamental e de aquariofilia de peixes nativos ou exóticos de água marinhas e estuarinas. **Diário Oficial [da] República Federativa** do Brasil, Brasília, DF, 24, out., 2008a.

\_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Diagnóstico geral das práticas de controle ligadas a exploração, captura, comercialização, exportação e uso de peixes para fins ornamentais e aquariofilia**. Relator Herique Anatole. Brasília, DF: Diretoria de Uso Sustentável da Biodiversidade e Florestas. ago. 2008b.

\_\_\_\_\_. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da Pesca e Aquicultura: Brasil 2008 - 2009**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura>> Acesso em: 21 mai. 2013a.

\_\_\_\_\_. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Ornamentais**. [mensagem pessoal] Mensagem recebida por: <anefelice@yahoo.com.br>. em: 12 jul. 2013b.

BRIX, O.. The Physiology of Living in Water. In: HART, P. J. B.; REYNOLDS, J. D. (Org.). **Handbook of Fish Biology and Fisheries: Fish biology**. Malden: Blackwell Publishing, 2002. Cap. 4, p. 71 - 96.



DHANEESH, K.V.; KUMAR, T. T. A.; SHUNMUGARAJ, T.. Embryonic development of Percula Clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802). **Middle-east Journal Of Scientific Research**, Dubai, v. 4, p. 84-89. 2009.

\_\_\_\_\_. Breeding, embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*. **Journal Of King Saud University: Science**, Riyadh, v. 24, p. 201-209. 2012.

**FAO**. The ornamental fish market. v. 67, p. 2-91, 2001.

FIELDER, D. Stewart et al. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. **Aquaculture**, v. 250, p.201-214, 2005.

FRY, F. E. J.. The effect of environmental factors on the physiology of fish. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.. **Fish physiology: Environmental Relations and Behavior**. VI London: Academic Press, 1971. Cap. 1, p. 1-98.

GASPARINI, J.L. et al. Marine Ornamental Trade in Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 14, p. 2883-2899, 2005.

GRACIA-LÓPEZ, V.; KIEWEK-MARTÍNEZ, M.; MALDONADO-GARCÍA, M.. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. **Aquaculture**, v. 237, p.485-498, 2004.

GREEN, B.S., FISHER, R.. Temperature influences swimming speed, growth and larval duration in coral reef fish larvae. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v. 299, p. 115-132, 2004.

HOLLIDAY, F. G. T.. The effects of salinity on the eggs and larvae of teleosts. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. (Ed.). **Fish physiology: Excretion, Ionic Regulation, and Metabolism**. London: Academic Press, 1969. Cap. 4, p. 293 - 311.

KODAMA, G. et al. Viabilidade econômica do cultivo do peixe palhaço, *Amphiprion ocellaris*, em sistema de recirculação. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 1, n. 37, p.61-72, 2011.

LE, Y. et al.. Effects of salinity on the survival activity and larvicultura of anemonefish (*Amphiprion clarkii*). **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, v. 37, n. 1, p. 162-164, 2009.

\_\_\_\_\_. Effects of temperature on survival, development, growth, and feeding of larvae of Yellowtail clownfish *Amphiprion clarkii* (Pisces: Perciformes). **Acta Ecologica Sinica**, v. 31, p. 241-245, 2011.

MOUSTAKAS, C. Th.; WATANABE, W. O.; COPELAND, K. A.. Combined effects of photoperiod and salinity on growth, survival, and osmoregulatory ability of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. **Aquaculture**, v. 229, p.159-179, 2004.

OBLING, M.. Environmental Factors and Rates of Development and Growth. In: HART, P. J.b.; REYNOLDS, J. D. (Ed.). **Handbook of Fish Biology and Fisheries: Fish biology**. Malden: Blackwell Publishing, 2002. Cap. 5, p. 97 - 122.

OLIVIER, K.. World Trade in Ornamental Species. In: CATO, J. C.; BROWN, C. L. (Org.). **Marine Ornamental Species: Collection, Culture & Conservation**. Ames: Iowa State Press, 2003. p. 49-63.

OSTROWSKI, A. D. et al. Effects of salinity and temperature on the growth, survival, whole body osmolality, and expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA in red porgy (*Pagrus pagrus*) larvae. **Aquaculture**, v. 314, p.193-201, 2011.

POMEROY, R. S.; PARKS, J. E.; BALBOA, C. M.. Farming the reef: is aquaculture a solution for reducing fishing pressure on coral reefs? **Marine Policy**, Cardiff, p. 111-130. 2006.

PUTNAM, A. H.; KNICKERBOCKER, K. (Org.). **Marine Ornamental Species and Live Rock**. Disponível em: <[http://www.floridaaquaculture.com/bad/aquaproducts\\_ornamentals.htm](http://www.floridaaquaculture.com/bad/aquaproducts_ornamentals.htm)>. Acesso em: 25 maio 2013.

SAMPAIO, F. D. F.; OSTRENSKY, A.. Brazilian environmental legislation as tool to conserve marine ornamental fish. **Marine Policy**, Cardiff, p. 280-285. 2013.

SCHMIDT-NIELSEN, K.. **Fisiologia Animal: Adaptação e Meio Ambiente**. 5. ed. São Paulo: Livraria e Editora Santos, 2002. 609 p.

TANDLER, A.; ANAV, F. A.; CHOSHNIAK, I.. The effect of salinity on growth rate, survival and swimbladder inflation in gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae. **Aquaculture**, v. 135, p.343-353, 1995.

THORNHILL, D. J.. **Ecological Impacts and Practices of the Coral Reef Wildlife Trade**. Defenders Of Wildlife, 2012.

WABNITZ, C. et al. From ocean to aquarium the global trade in marine ornamental species. **UNEP-WCMC**, Cambridge, p. 64, 2003.

WILKERSON, J. D. **Clownfishes: a guide to their captive care, breeding & natural history**. Charlotte: Microcosm, 2003.