



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

Efeito da antecipação da oferta de *Artemia* na larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de mestre em Aquicultura

Orientadora: Mônica Yumi Tsuzuki

DANILO HENRIQUE NASS

Florianópolis
2013

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

Nass, Danilo Henrique

Efeito da antecipação da oferta de Artemia na
larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* / Danilo
Henrique Nass ; orientadora, Mônica Yumi Tsuzuki -
Florianópolis, SC, 2013.

41 p.

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

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. Peixe ornamental. 3. Larvicultura.
I. Tsuzuki, Mônica Yumi . II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III.
Título.

Efeito da antecipação da oferta de Artemia na larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*

Por

DANILO HENRIQUE NASS

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. Jean Christophe Joyeux

Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana

AGRADECIMENTOS:

Gostaria de agradecer todas as pessoas que tornaram essa conquista possível, em especial:

Minha família, principalmente minha mãe Denise Nass, meu pai Newton Nass e meu irmão Dennis Nass, pelo apoio, compreensão e confiança.

Minha namorada Gabriella Prado, que também é minha melhor amiga e meu refúgio. Obrigado pela paciência, conselhos e principalmente por não me deixar desanimar nem por um segundo.

Minha orientadora Mônica Yumi Tsuzuki, por estar sempre presente, me mostrando o melhor caminho e sempre contribuindo com o trabalho.

Meus colegas de laboratório Sayão, Raoani, Cristieli, Daniela, Wesley, Vanessa, Ane, Maik e Salete que sempre estiveram presentes, dispostos a ajudar com boas conversas e sugestões.

E a CAPES pelo fornecimento da bolsa, sem a qual não teria sido possível a conclusão do trabalho.

EPÍGRAFE:

*Eu sou a voz dos que não têm voz,
por mim os mudos hão de falar,
até o mundo tão surdo ouvir,
o grito dos fracos, dos sem lugar.
(Ella Wheeler Wilcox)*

RESUMO:

O sucesso do cultivo de algumas espécies de peixes marinhos está diretamente ligado ao bom desempenho da larvicultura que, por sua vez, é influenciada principalmente pela alimentação. Rotífero é largamente utilizado como primeira alimentação e, quando a larva já consegue capturar alimentos maiores, inicia-se o fornecimento de náuplios de artemia. Quando analisada a produção de *Amphiprion clarkii*, percebe-se uma divergência entre os autores quanto ao dia em que se deve parar de fornecer o rotífero e iniciar o fornecimento de artemia. Sabendo disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar qual o melhor momento para iniciar o fornecimento de náuplios de artemia para as larvas de *A. clarkii*. Para isso foram testados três tratamentos: T2 iniciou o fornecimento de artemia no 2º dia após a eclosão (DAE) das larvas, T4 recebeu artemia no 4º DAE e T6 (Controle) no 6º DAE. Foram analisados o crescimento, o ganho de peso, a sobrevivência, a metamorfose e o tamanho da boca das larvas no dia em que começaram a receber artemia. Embora não tenha havido diferença da sobrevivência entre os tratamentos, observou-se que algumas larvas de *A. clarkii* já tinham capacidade de capturar náuplios de artemia no 2º DAE, fazendo com que o T2 crescesse de $3,78 \pm 0,02$ mm (Média \pm EP) no dia da eclosão para $8,33 \pm 0,22$ mm no 13º DAE, sendo significativamente maior que o T6 o qual mediu $7,43 \pm 0,15$ mm no mesmo período de tempo. Além do comprimento, o peso do T2 ($16,5 \pm 0,8$ mg) também foi significativamente maior que T4 e T6 que apresentaram $14,1 \pm 0,6$ mg e $12,5 \pm 0,4$ mg, respectivamente no final do experimento. Quanto a metamorfose, o T2 teve as primeiras larvas metamorfoseadas um dia antes dos demais tratamentos. Esses resultados foram semelhantes e até superiores a resultados encontrados em outros trabalhos que também utilizaram *A. clarkii* iniciando o fornecimento de artemia mais tarde, mostrando que a antecipação de artemia para o 2º DAE é viável podendo inclusive melhorar o desempenho larval.

ABSTRACT:

The successful cultivation of marine fish is directly related to the good performance of the larviculture, which is influenced primarily by feeding. Rotifer is widely used in aquaculture as the starting food and, when the larva is able to capture larger prey, the artemia nauplii supply begins. Analyzing the production of *Amphiprion clarkii*, it is noticed a conflict between the authors about the day to stop providing rotifers and start supplying artemia. Knowing this, the main objective of this paper was to evaluate the best moment to start providing artemia's nauplii for *A. clarkii* larvae. For this, three treatments were tested: T2 began the artemia supply on the 2nd day after hatching (DAH) of larvae, T4 received artemia on the 4th DAH and T6 (Control) at 6th DAH. Growth, weight, survival, metamorphosis and mouth size of the larvae were analyzed by the time they started receiving artemia. Although there was no difference in survival between the treatments, it was observed that some *A. clarkii* larvae already had the ability to capture artemia in the 2nd DAH, resulting in increasing growth at T2 from 3.78 ± 0.02 mm (Mean \pm SE) at hatching to 8.33 ± 0.22 mm at the 13th DAH, significantly bigger than T6, with 7.43 ± 0.15 mm in the same period. Besides the length, the weight of T2 (16.5 ± 0.8 mg) was also significantly higher than T4 and T6, which showed 14.1 ± 0.6 mg and 12.5 ± 0.4 mg, respectively, at the end of the experiment. In relation to the metamorphosis, T2 had the first larvae metamorphosed, one day before the other treatments. These results were similar or even superior to the results found in other studies with *A. clarkii* that started supplying artemia later, showing that the anticipation of artemia for the 2nd DAH is viable and may even improve larval performance.

SUMÁRIO:

INTRODUÇÃO GERAL	15
MERCADO DE PEIXES ORNAMENTAIS	15
AQUICULTURA ORNAMENTAL	16
PEIXES PALHAÇOS	17
ALIMENTO VIVO	17
SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E METAMORFOSE DO PEIXE PALHAÇO <i>Amphiprion clarkii</i> ALIMENTADO COM ARTEMIA EM DIFERENTES IDADES LARVAIS	21
RESUMO.....	21
INTRODUÇÃO	22
MATERIAL E MÉTODOS	24
Origem e manutenção dos reprodutores.....	24
Obtenção das larvas	25
Cultivo de alimento vivo.....	25
Delineamento experimental	25
Análise estatística.....	27
RESULTADOS	28
DISCUSSÃO	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
CONSIDERAÇÕES FINAIS:.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO:.....	38

INTRODUÇÃO GERAL:

Mercado de peixes ornamentais

O aquarismo é um hobby que tem se popularizando rapidamente nos últimos anos, principalmente nos países desenvolvidos como EUA e países da União Europeia. Calcula-se que aproximadamente 2 milhões de pessoas no mundo mantenham aquários marinhos em suas casas, movimentando aproximadamente 300 milhões de dólares anualmente (WABNITZ et al., 2003).

A exploração e o comércio de peixes para fins ornamentais teve início na década de 30, em pequena escala, quando os peixes eram coletados e armazenados em barcos de carga (WOOD, 2001). Segundo o mesmo autor, essa exploração foi aumentando gradativamente na década de 50 e, nos anos 80, estimava-se que o comércio de peixes ornamentais movimentava entre 24 e 40 milhões de dólares anualmente.

Segundo Ribeiro (2008), a exportação mundial de peixes ornamentais – marinhos e de água doce – apresentou um aumento de 11,6% entre 2002 e 2006, sendo Cingapura o líder isolado responsável por 22% das exportações mundiais.

Neste cenário, o Brasil, que é conhecido pela riqueza de sua biodiversidade, apresentando organismos com grande variedade de formas e cores, características que despertam a atenção de aquaristas do mundo inteiro (SAMPAIO & NOTTINGHAM, 2008), exportou em 2006 cerca de US\$ 4,1 milhões, perdendo apenas para a Colômbia entre os países da América do Sul (RIBEIRO, 2008).

Diferente dos peixes ornamentais de água doce, onde mais de 90% dos peixes são provenientes de cultivos, a grande maioria dos peixes ornamentais marinhos são capturadas diretamente da natureza, estimando-se que apenas 25 das 800 espécies comercializadas no mundo sejam comercialmente produzidas (FAO, 2005).

Para essa captura, muitas vezes são empregadas técnicas de coleta inescrupulosas e até mesmo ilegais, como por exemplo utilização de substâncias tóxicas, que afetam muitas outras espécies que não são o alvo dos pescadores, o que acaba levando o desaparecimento de muitas populações selvagens (LIVENGOOD & CHAPMAN, 2007).

Outra questão relacionada à coleta de organismos da natureza é o fato de selecionar, muitas vezes, organismos jovens que ainda não atingiram sua maturidade sexual, o que pode levar ao declínio dos estoques naturais dessas espécies (SAMPAIO & ROSA, 2003). Além disso, segundo os mesmos autores, algumas vezes ocorre a constante

coleta de peixes que já apresentam declínio populacional, uma vez que estudos com relação a pressão e fiscalização sobre essas espécies são escassas.

Porém, quando a coleta de peixes ornamentais da natureza ou a produção em cativeiro é realizada com base em princípios ecológicos, é possível ter uma indústria sustentável e auto-suficiente (LIVENGOOD & CHAPMAN, 2007).

Aquicultura de peixes ornamentais

A produção de peixes ornamentais marinhos em cativeiro é uma alternativa de geração de renda para pequenos empreendedores, levando em consideração que utilizam pequenas áreas e geram produtos com elevado valor de mercado (KODAMA et al., 2011).

Além disso, quando bem organizado, a produção de peixes ornamentais em cativeiro pode representar uma grande renda ao país, como é o caso de Cingapura que, em 2000, exportou quase 45 milhões de dólares em peixes ornamentais produzidos em suas mais de 60 fazendas (LING & LIM, 2006). Nos EUA a produção de peixes ornamentais é o 4º maior setor dentro da aquicultura, perdendo apenas para a produção de catfish, truta e salmão (TLUSTY, 2002).

Além do aspecto econômico, a piscicultura ornamental ainda pode contribuir para a conservação das espécies e para o desenvolvimento sustentável desta atividade (CÔRTEZ, 2009), uma vez que, em muitos lugares do mundo, a sobrepesca, a captura inadequada e a seleção de organismos jovens tem comprometido muitas populações selvagens (LIVENGOOD & CHAPMAN, 2007; SAMPAIO & ROSA, 2003).

Apesar dos benefícios da produção de peixes ornamentais em cativeiro, apenas peixes de água doce são cultivados em grandes quantidades, os peixes marinhos são praticamente todos coletados da natureza, isso porque para este último grupo ainda não existem muitas pesquisas básicas para a viabilização da produção desses animais em cativeiro.

Sabendo disso, os trabalhos que visem a produção ou a otimização da produção de peixes ornamentais marinhos em cativeiro são muito importantes, pois buscam uma atividade mais sustentável gerando renda principalmente para pequenos produtores.

Peixes-palhaço

Entre as poucas espécies de peixes ornamentais marinhos produzidos está o grupo dos peixes-palhaço. Esses peixes pertencem à subfamília Amphiprioninae que está classificada dentro da família Pomacentridae (FAUTIN & ALLEN, 1992).

A família apresenta dois gêneros: *Amphiprion* com 27 espécies identificadas e *Premnas* apresentando apenas 1 espécie (WILKERSON, 2003).

Esses peixes atingem aproximadamente 100 mm de comprimento, podendo variar de acordo com a espécie (ALAVA & GOMES, 1989). Sua distribuição é exclusiva de águas tropicais, ocorrendo nas regiões sul e central da parte oeste do Oceano Pacífico, todo Oceano Índico e no Mar Vermelho (WILKERSON, 2003).

Segundo Matias (2011), alguns aspectos precisam ser levados em consideração na hora de escolher uma espécie para aquicultura, como por exemplo a necessidade de mercado, o valor da espécie, aspectos biológicos e técnicas de produção disponíveis.

Neste sentido, os peixes-palhaço apresentam grande potencial para cultivo, levando em consideração que são os peixes ornamentais tropicais mais populares entre os aquaristas devido ao seu pequeno tamanho, cores atrativas, grande adaptabilidade em cativeiro e comportamento de se associar a anêmonas (SAHANDI, 2011). Além disso, espécies como *Amphiprion clarkii* e *Amphiprion ocellaris* já tem sua reprodução descrita há bastante tempo (ALAVA & GOMES, 1989).

Alimento vivo

A larvicultura de peixes marinhos é uma etapa fundamental no processo de produção, pois nela ocorre elevada mortalidade. Conhecer a demanda nutricional das espécies nesta fase é muito importante para o sucesso do empreendimento (SARGENT, 1997).

Segundo Olivotto et al. (2011), um dos maiores obstáculos para a larvicultura é a transição do alimento endógeno (i.e., saco vitelino) para o alimento exógeno. Considerando-se que as larvas de muitas espécies de peixes marinhos não conseguem digerir ração industrializada, é necessário o uso de alimento vivo para melhorar a sobrevivência durante a larvicultura (BENGTSON, 2003).

A utilização de alimento vivo na larvicultura interfere na atividade das enzimas digestivas das larvas. Existem duas teorias para

essa interferência: a primeira estabelece que as larvas de algumas espécies conseguem aproveitar as enzimas provenientes deste tipo de alimento, principalmente nos primeiros dias de vida, quando suas próprias enzimas ainda não estão sendo produzidas em grande quantidade. A segunda hipótese estabelece que os nutrientes presentes nos alimentos vivos estimulam a produção de enzimas digestivas da própria larva (MUNILLA-MORAN et al., 1990; GALVÃO et al., 1997; KOLKOVSKI et al. 1997).

Contudo, a questão da digestibilidade não é a única razão que faz com que o alimento vivo melhore a sobrevivência durante a larvicultura. Este tipo de alimento está constantemente nadando na coluna d'água, conseqüentemente sempre disponível para as larvas, enquanto que rações tendem a ficar flutuando ou ir rapidamente para o fundo. O alimento vivo também pode estimular as larvas de peixes a predar, levando em consideração que evolutivamente as espécies se adaptaram a capturar presas em movimento. Por fim, o alimento vivo pode ser mais palatável do que rações comerciais, e isto é muito importante na larvicultura, uma vez que muitas larvas de peixes capturam o alimento e, dependendo da palatabilidade, podem rejeitar ou aceitar o mesmo (BENGTSON, 2003).

A seleção do alimento vivo pelas larvas varia entre as espécies e para a escolha do alimento vivo nas diferentes fases da larvicultura é necessário levar em consideração todos os aspectos da biologia larval (ANTO et al. 2009).

Segundo a revisão de Olivotto et al. (2011) o ideal para uma larvicultura é mimetizar a alimentação que a larva tem na natureza, e analisando o conteúdo estomacal de larvas selvagens, é encontrado principalmente ovos e náuplios de copépodes.

Já se sabe que, quando náuplios de copépodes são fornecidos durante a primeira alimentação de *Amphiprion clarkii*, a sobrevivência e o crescimento aumentam significativamente (OLIVOTTO et al. 2008a; OLIVOTTO et al. 2008b; OLIVOTTO et al. 2009). Um estudo com Neon Gobi *Elacatinus figaro* também mostrou que larvas que receberam zooplâncton selvagem composto principalmente por náuplios de copépodes também apresentaram crescimento e sobrevivência significativamente maiores do que as larvas que não foram alimentados com esse alimento (CÔRTEZ, 2009).

Contudo, apesar de ser conhecido a superioridade nutricional dos copépodes, poucos trabalhos tem sido realizados para melhorar e viabilizar a produção desse alimento vivo em grande escala, isso porque a demanda por alimento vivo na aquicultura tem crescido rapidamente

fazendo com que as pesquisas se foquem principalmente nos alimentos cuja tecnologia de produção já bem desenvolvida, como rotíferos e artemia (STOTTRUP, 2003).

Os rotíferos são intensamente usados durante a primeira alimentação de larvas de peixes marinhos por apresentarem tamanho reduzido (90-350 μm dependendo da espécie e estágio de desenvolvimento) e sua técnica de cultivo ser bem dominada, sendo produzidos facilmente, com baixos custos e em altas densidades, sendo os mais utilizados os *Brachionus* spp. (LUBZENS & ZMORA, 2003).

Quando as larvas já conseguem capturar alimentos maiores, normalmente os rotíferos são substituídos pela artemia que, quando recém eclodida, mede entre 400–500 μm . Seus cistos são vendidos comercialmente, sendo facilmente eclodidos em laboratório. Este alimento vivo normalmente é fornecido até que as larvas dos peixes consigam capturar e digerir alimentos inertes industrializados (DHONT & VAN STAPPEN, 2003).

Contudo, tanto os rotíferos quanto a artemia, não são nutricionalmente completos para suprir as necessidades das larvas sendo necessário o enriquecimento principalmente com vitaminas e ácidos graxos altamente insaturados (HUFA), os mais utilizados são DHA e EPA (OLIVOTTO et al., 2011; LUBZENS & ZMORA, 2003; DHONT & VAN STAPPEN, 2003).

Um exemplo da necessidade de enriquecimento é com o peixe *Pseudochromis flavivertex* que não sobrevive mais de 7 dias alimentados apenas com rotíferos não enriquecidos, porém, quando enriquecidos com DHA, a sobrevivência aumenta significativamente (OLIVOTTO et al., 2006).

Outro fato observado em peixes ornamentais alimentados com rotíferos e artemia não enriquecidos é a má pigmentação. Avella et al. (2007) constataram que peixes-palhaço da espécie *Amphiprion ocellaris* não completam algumas de suas bandas (fenômeno conhecido como “miss-band”) quando alimentados com rotíferos não enriquecidos, enquanto que, quando enriquecidos com ácidos graxos altamente insaturados, a porcentagem de “miss-band” diminui significativamente. Isso é importante porque peixes que apresentam esse fenômeno são menos valorizados no mercado ornamental.

A transição do rotífero para artemia no dia certo é de extrema importância para a larvicultura, pois existirá um momento em que a larva gastará tanta energia capturando pequenos rotíferos, que não será compensado pela energia contida neste alimento, desta forma, se há um

atraso no fornecimento de alimentos maiores como a artemia, pode ocorrer um atraso no desenvolvimento da larva (CÔRTEZ, 2009).

Em um experimento feito com larvicultura de neon gobi *Elacatinus figaro*, observou-se que quando se inicia o fornecimento de artemia para as larvas no 12º dia de vida, elas cresceram mais e completaram a metamorfose 10 dias mais rápido do que as larvas que receberam artemia com 18 dias de vida (SOUZA, 2012).

Sabendo disso, o atual trabalho teve como objetivo verificar qual o dia mais eficiente de fornecimento de artemia para o peixe-palhaço *A. clarkii*, e assim contribuir para a elaboração de um protocolo alimentar que otimize a produção dessa espécie.

SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E METAMORFOSE DO PEIXE PALHAÇO *Amphiprion clarkii* ALIMENTADO COM ARTEMIA EM DIFERENTES IDADES LARVAIS

Danilo Henrique Nass; Mônica Yumi Tsuzuki.

Laboratório de peixes ornamentais marinhos (LAPOM) - Universidade Federal de Santa Catarina – Rua Admar Gonzaga 1346, Caixa postal 476, CEP 88040-970, Florianópolis, SC, Brasil.

Resumo

O sucesso do cultivo de peixes marinhos está diretamente ligado ao bom desempenho da larvicultura que, por sua vez, é influenciado principalmente pela alimentação. Os rotíferos são largamente utilizados na aquicultura como primeiro alimento e, quando a larva já consegue capturar alimentos maiores, inicia-se o fornecimento de náuplios de artemia. Quando analisada a produção de *Amphiprion clarkii*, percebe-se uma divergência entre os autores quanto ao dia em que se deve parar de fornecer o rotífero e iniciar o fornecimento de artemia. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar qual o melhor momento para iniciar o fornecimento de náuplios de artemia para as larvas de *A. clarkii*. Para isso foram utilizados três tratamentos: T2 iniciou o fornecimento de artemia no 2º dia após a eclosão (DAE) das larvas, T4 recebeu artemia no 4º DAE e T6 no 6º DAE. Foram analisados o crescimento, o ganho de peso, a sobrevivência, a metamorfose e o tamanho da boca das larvas no dia em que começaram a receber artemia. Embora não tenha havido diferença da sobrevivência entre os tratamentos, observou-se que algumas larvas de *A. clarkii* já tinham capacidade de capturar artemia no 2º DAE, fazendo com que o T2 crescesse de $3,78 \pm 0,02$ mm (Média \pm EP) no dia da eclosão para $8,33 \pm 0,22$ mm no 13º DAE, sendo significativamente maior que o T6 o qual mediu $7,43 \pm 0,15$ mm no mesmo período de tempo. Além do comprimento, o peso em T2 ($16,5 \pm 0,8$ mg) também foi significativamente maior que T4 e T6 que apresentaram $14,1 \pm 0,6$ mg e $12,5 \pm 0,4$ mg, respectivamente, no final do experimento. Quanto à metamorfose, o T2 apresentou as primeiras larvas metamorfoseadas um dia antes dos demais tratamentos. Esses resultados foram semelhantes e até superiores aos encontrados em outros trabalhos que também utilizaram *A. clarkii* iniciando o fornecimento de artemia mais tarde, mostrando que a antecipação de artemia para o 2º DAE é viável podendo inclusive melhorar o desempenho larval.

Introdução

Entre as poucas espécies de peixes ornamentais marinhos reproduzidas em cativeiro estão os peixes palhaços.

O *Amphiprion clarkii* é uma espécie de peixe-palhaço muito produzida e popular no mercado de peixes ornamentais marinhos. Apresenta coloração normalmente preta com tonalidades de laranja na cabeça, parte ventral e nadadeiras, apresenta três faixas brancas, uma na cabeça, uma no corpo e outra na base da nadadeira caudal, podendo atingir até 14 cm de comprimento (Fautin and Allen, 1992).

Apesar de ter sua reprodução já dominada há algum tempo (Alava and Gomes, 1989), ainda é observada certa divergência durante a produção dessa espécie, principalmente com relação à larvicultura.

A larvicultura é uma das fases mais importantes do processo de criação de peixes marinhos pois é nesse período que ocorrem maiores taxas de mortalidade, portanto, entre outros aspectos, é extremamente importante conhecer a demanda nutricional das espécies durante essa fase para sucesso do empreendimento (Sargent, 1997).

O maior obstáculo para a larvicultura de peixes marinhos é a transição do alimento endógeno para o alimento exógeno, i.e. quando a larva deixa de consumir seu saco vitelíneo e passa a se alimentar do alimento disponível no ambiente (Olivotto et al. , 2011).

O problema está principalmente no fato de que muitas larvas não conseguem digerir alimento industrializado, exigindo a produção de alimento vivo de tamanhos adequados, fornecido na quantidade correta e que possuam os nutrientes necessários para as larvas se desenvolverem (Bengtson, 2003).

Já é conhecido que, durante a larvicultura, os alimentos vivos trazem muitos benefícios para as larvas, melhorando principalmente a sobrevivência e o crescimento. Isto porque em alguns casos as larvas conseguem aproveitar as enzimas digestivas presentes no alimento vivo, principalmente nas primeiras fases de desenvolvimento, quando as larvas ainda não conseguem produzir suas próprias enzimas em grandes quantidades (Munilla-Moran et al., 1990; Galvão et al., 1997). Os nutrientes nos alimentos vivos também podem estimular a produção de enzimas digestivas da própria larva, melhorando assim a absorção de nutrientes desses organismos (Kolkovski et al. 1997).

Além de melhorar a digestibilidade, outros fatores podem estar relacionados ao melhor desempenho larval quando alimentados com alimento vivo. Um deles é o fato deste alimento estar constantemente disponível na coluna d'água, enquanto que ração tende a afundar

rapidamente ou ficar na superfície da água. Além disso, alimentos vivos podem estimular as larvas a predarem, isso porque evolutivamente alguns peixes se adaptaram a capturar presas que se movimentam. Ainda com relação aos benefícios do alimento vivo, eles podem ser mais palatáveis, isso é importante porque larvas de peixes podem recusar ou aceitar o alimento dependendo da palatabilidade (Bengtson, 2003).

Sabendo das vantagens da utilização de alimento vivo durante a larvicultura, Olivotto et al. (2011) afirmaram em sua revisão que o ideal para a larvicultura é mimetizar a alimentação que as larvas tem na natureza. Segundo os mesmos autores, analisando o conteúdo estomacal de larvas selvagens é encontrado principalmente náuplios e ovos de copépodes.

Alguns trabalhos mostram a superioridade dos copépodes para a larvicultura de *Amphiprion clarkii* (Olivotto et al. 2008a; 2008b) e neon gobi *Elacatinus figaro* (Côrtes, 2009) onde conseguiram melhorar a sobrevivência, o crescimento e ainda anteciparam a metamorfose dessas espécies. Contudo, apesar dos benefícios proporcionados pelos copépodes, devido ao rápido crescimento da demanda de alimento vivo, as pesquisas são focadas principalmente na otimização da produção de alimentos vivos que já possuem uma tecnologia de produção já bem desenvolvida como os rotíferos e a artemia (Stottrup, 2003).

Rotíferos são largamente produzidos no mundo inteiro como primeira alimentação de larvas de peixes marinhos por apresentarem pequenas dimensões (90 - 350 μm dependendo da espécie e estágio de desenvolvimento) e sua produção muito bem dominada (Lubzens and Zmora, 2003). Quando as larvas já tem capacidade de capturar alimentos maiores normalmente os rotíferos são substituídos por artemia as quais são maiores (400 – 500 μm quando recém eclodida) e seus cistos são vendidos comercialmente e eclodidos facilmente em laboratório (Dhont and Van Stappen, 2003).

A transição do rotífero para artemia no dia exato é de extrema importância para a larvicultura, pois existirá um momento em que a larva gastará tanta energia capturando rotíferos que não será compensado pela energia contida neste alimento, desta forma, se há um atraso no fornecimento de artemia, pode ocorrer um atraso no desenvolvimento da larva (Côrtes, 2009).

Analisando a produção de *Amphiprion clarkii*, verifica-se certa divergência em relação ao protocolo alimentar utilizado, principalmente com relação ao dia do fornecimento de náuplios de artemia. Ghosh et al. (2012) por exemplo alimentaram as larvas de *A. clarkii* apenas com rotíferos até o 11º dia, quando então iniciou o fornecimento de artemia,

obtendo uma sobrevivência de 53% e início de metamorfose no 15º dia. Já Olivotto et al. (2008a; 2008b) forneceram rotífero como primeira alimentação apenas até o 7º dia de larvicultura, quando iniciou o fornecimento de artemia, obtendo uma sobrevivência de 42% e o início da metamorfose no 12º dia. Le et. al. (2011) não definiram um dia específico, iniciando o fornecimento de artemia quando as larvas atingiram 6mm de comprimento total, neste caso no 6º dia, com isso sua sobrevivência variou entre 25% e 75% dependendo da temperatura. Sahandi (2011) iniciando o fornecimento de artemia para a larvicultura de *Amphiprion clarkii* no 5º dia conseguiu o início de metamorfose no 12º dia. E por fim, Anto et al. (2009) mostraram que peixes palhaços da espécie *Amphiprion clarkii* já tem capacidade de capturar náuplios de artemia desde o primeiro dia de vida, embora tenham preferência por alimentos menores como rotíferos e zooplâncton selvagem.

Uma vez que há considerável divergência em relação ao protocolo alimentar de *A. clarkii*, o atual trabalho teve como objetivo verificar qual o dia mais eficiente de fornecimento de artemia para o peixe-palhaço *A. clarkii*, e assim contribuir para a elaboração de um protocolo alimentar que otimize a produção dessa espécie.

Material e Métodos

Origem e manutenção dos reprodutores

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Barra da Lagoa, Florianópolis.

Um casal de *Amphiprion clarkii* foi mantido em um tanque rede com capacidade de 100 litros dentro de um tanque maior de concreto com capacidade de 8000 litros. Este tanque possuía um sistema de circulação aberta, onde a água passava por um filtro bag, skimmer e por último um filtro de ultra violeta antes de entrar no tanque dos peixes. A água do tanque foi mantida a temperatura de 27º C através de termostato e aquecedor, e a salinidade foi de 35 ‰. A temperatura e a salinidade foram medidas diariamente com termômetro de mercúrio (precisão de 1ºC) e refratômetro óptico (precisão de 1‰), respectivamente.

A alimentação dos reprodutores foi realizada duas vezes ao dia até a saciedade aparente dos peixes. Utilizou-se uma dieta variada que incluiu ração comercial para peixes ornamentais marinhos (Tetra, Alemanha) e uma mistura de camarão, peixe e moluscos frescos batidos no liquidificador com astaxantina, óleo de fígado de bacalhau, pré-mix comercial e gelatina sem sabor para dar consistência. Duas vezes por

semana o tanque de 8000 litros era sifonado para a retirada de sobras de alimentos e fezes.

Dentro do tanque-rede dos reprodutores foi colocado um vaso de barro servindo como substrato para a desova. Esse substrato era observado diariamente para verificar a ocorrência de desovas.

Obtenção das larvas

Após a confirmação da desova no substrato, foi prevista a data de eclosão (aproximadamente 7 dias após a desova em temperatura de 27°C), desta forma, na data prevista, o substrato contendo os ovos foi transferido para um tanque cilíndrico com capacidade de 100 litros com as mesmas características da água do tanque dos reprodutores, onde ocorreu a eclosão das larvas. Neste tanque havia um aquecedor de 200W com termostato que manteve a temperatura da água controlada, uma aeração suave que foi posicionada abaixo da desova para simular o cuidado parental.

Cultivo de alimento vivo

O cultivo de rotíferos do gênero *Brachionus* sp foi feito em uma caixa branca com capacidade de 60 litros. A alimentação foi composta de S-Parkle (INVE Co, Bélgica) fornecida duas vezes ao dia, de manhã e de tarde, para crescimento e enriquecimento com ácido graxo. A temperatura foi mantida em 25°C e salinidade de 26‰.

Cistos de artemia foram colocados para eclodir em uma garrafa com capacidade de 5 litros em água a 35 ‰ de salinidade e 28°C. Após 24 horas os náuplios foram coletados. Os metanáuplios de artemia foram enriquecidos com DHA comercial Super Selco DHA (INVE Co, Bélgica)

Delineamento experimental

No dia da eclosão, a água do tanque foi gradativamente diluída com água doce de clorada até que a salinidade chegasse a 30 ‰.

As larvas então foram transferidas com auxílio de um béquer para aquários de 15 litros, contendo rotíferos a uma densidade de 15 rot./ml e microalgas *Nannochloropsis oculata* em 5×10^5 cel./ml. A densidade de larvas por unidade experimental dentro de cada tratamento foi de 75 indivíduos (5 larvas por litro). No dia da transferência e no 1º dia após eclosão, as larvas que morreram pelo manejo foram repostas, só sendo contabilizada a mortalidade a partir do 2º dia após eclosão, por ser o dia em que o primeiro tratamento começou a receber artemia.

Para verificar a influência do dia de entrada da artemia na sobrevivência, no crescimento e no dia do início da metamorfose das larvas, foram utilizados três tratamentos em triplicata:

Tratamento 1 (T2): artemia fornecida a partir do 2º DAE.

Tratamento 2 (T4): artemia fornecida a partir do 4º DAE.

Tratamento 3 (controle- T6): artemia fornecida a partir do 6º DAE.

O T6 foi considerado controle pois é no 6º dia que a artemia começa a ser fornecida no protocolo utilizado no laboratório da UFSC.

Cada unidade experimental (aquários) continha aeração suave para evitar a estratificação da água e aquecedores de 30 W ligados a termostatos para manter constante a temperatura em 26°C.

No dia da eclosão, foram coletadas 10 larvas aleatoriamente do tanque de eclosão e, com auxílio de uma balança analítica com precisão de 0,0001g e um microscópio estereoscópio (Olympus SZ-CTV, Japão) com micrômetro foram pesados e medidos o comprimento total, a largura da boca e a altura da abertura da boca das larvas, para isso foram utilizadas pinças para a manipulação das larvas.

O protocolo alimentar para T2, T4 e T6 estão representados na figura 1.

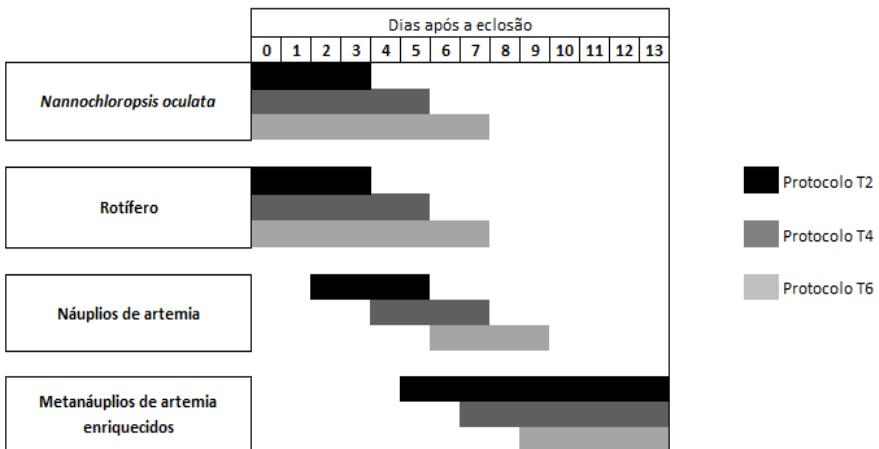


Figura 1: Protocolo alimentar de T2, T4 e T6.

Diariamente, 50% da água era sifonada do fundo dos aquários para a remoção de matéria orgânica e a contagem dos organismos

mortos para a determinação da taxa de sobrevivência. Após remoção das larvas mortas e da matéria orgânica, o volume retirado era repostado.

Depois da troca de água era realizada a contagem dos rotíferos que sobraram em cada tratamento e, quando necessário, fornecida a quantidade desse alimento vivo para manter sempre a densidade em 15 rot./ml. Junto com a reposição de rotíferos também era adicionado microalgas *Nannochloropsis oculata* na densidade de 5×10^5 cel./ml.

Diariamente, foi contabilizado o número de peixes metamorfoseados. Foi considerada metamorfose quando as larvas apresentavam pigmentação semelhante ao adulto (faixas brancas). Conhecendo-se a sobrevivência e o número de peixes metamorfoseados foi possível saber a porcentagem de peixes metamorfoseados por tratamento.

Quando todos os aquários apresentaram mais de 70% de larvas metamorfoseadas, o experimento foi interrompido e 10 larvas de cada aquário foram selecionadas aleatoriamente, anestesiadas com benzocaína (Reagen Quimibrás) na concentração de 12,9 mg/L, pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g e medidas com paquímetro.

No final de cada dia, foram analisados nitrito, a amônia tóxica e o pH utilizando kits comerciais (Labcon, Brasil).

Para determinar a dimensão da boca das larvas no início de cada tratamento, em um aquário extra de 15 litros com as mesmas características físico-químicas da água dos tratamentos utilizados foram colocadas 75 larvas (5 larvas por litro) e alimentadas apenas com rotíferos em uma densidade de 15 rot./ml e *Nannochloropsis oculata* na densidade de 5×10^5 cel./ml. Nos dias 2, 4 e 6 após a eclosão, 10 larvas foram coletadas aleatoriamente deste aquário para novas medições de comprimento total, largura e altura da abertura da boca utilizando para isso uma lupa com régua e pinças.

Análise estatística

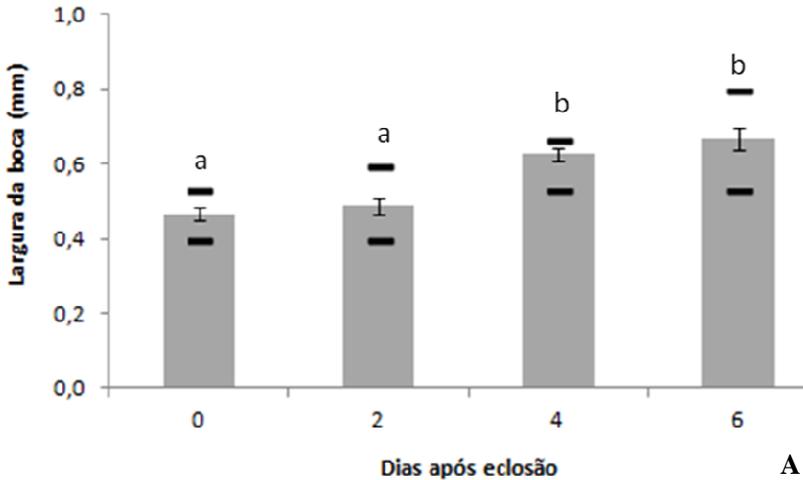
Utilizou-se Análise de Variância (ANOVA) com nível de significância de 5%, após testados os pressupostos de normalidade e homocedasticidade. Os tratamentos que apresentaram diferença significativa tiveram as médias comparadas pelo teste de Tukey. Para a sobrevivência e a metamorfose, foi realizada transformação angular para as comparações. Os dados foram apresentados como médias e erro padrão.

Resultados

Os parâmetros de qualidade da água não mostraram variações significativas entre os tratamentos ao longo do experimento. A temperatura manteve-se em $26,0 \pm 0,04^{\circ}\text{C}$ (Média \pm EP), a salinidade em $30,0 \pm 0,1\text{‰}$ e o pH ficou em $8,0 \pm 0,0$. A amônia tóxica e o nitrito ficaram próximas a zero.

A sobrevivência ao final do experimento não variou entre os tratamentos, sendo $60,0 \pm 4,4\%$, $66,0 \pm 7,8\%$ e $61,0 \pm 6,3\%$ para T2, T4 e T6, respectivamente ($P > 0,05$).

A largura da boca não apresentou diferença significativa até o 2º DAE, porém a partir do 4º DAE a largura foi significativamente mais alta que os primeiros dias. Com relação a altura da abertura da boca, os 4 primeiros dias tiveram resultados significativamente iguais, apenas no 6º DAE a abertura da boca foi significativamente maior que os dois primeiros dias (Fig. 2).



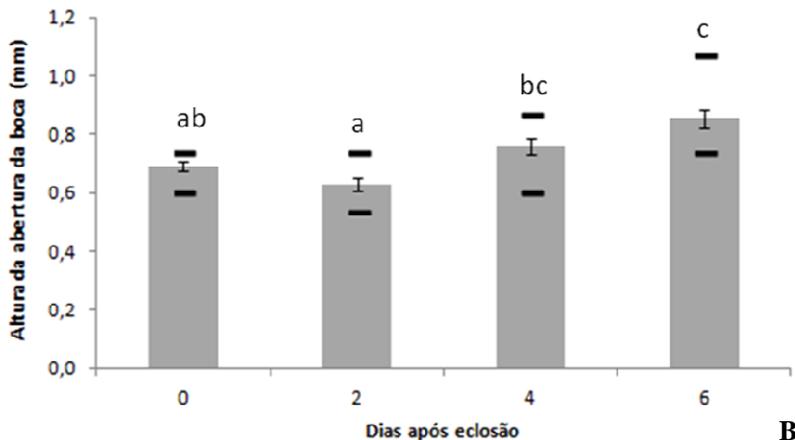


Figura 2. Largura (A) e altura (B) da abertura da boca das larvas de *Amphiprion clarkii* nos dias 0, 2, 4 e 6 após a eclosão. – representa os valores máximos e mínimos encontrados em cada dia. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os dias após a eclosão ($P < 0,05$).

No atual trabalho a artemia recém eclodida fornecida como alimento vivo variou entre 0,3 mm e 0,6 mm apresentando uma média de 0,5mm de comprimento.

Com relação ao crescimento, observou-se que T2 cresceu significativamente mais do que T6, e não apresentou diferença significativa com relação ao T4 (Fig. 03).

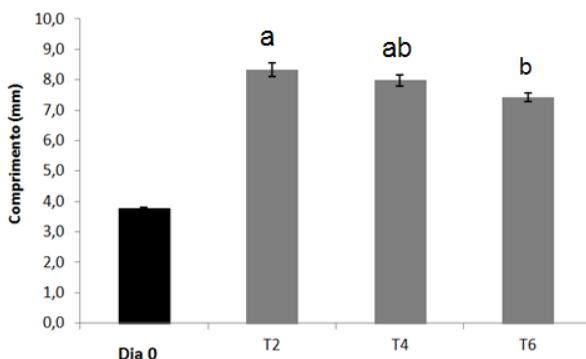


Figura 3. Comprimento das larvas de *Amphiprion clarkii* no 13° DAE. T2 = Início da artemia no 2° dia após eclosão; T4 = Início da artemia no 4° dia após eclosão; T6 Início da artemia no 6° dia após eclosão. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

O peso do T2 no final do experimento foi significativamente mais alto que T4 e T6 (Fig. 4).

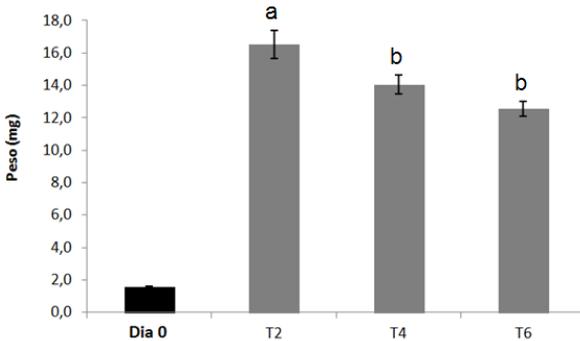


Figura 4. Peso das larvas de *Amphiprion clarkii* no 13° DAE. T2 = Início da artemia no 2° dia após eclosão; T4 = Início da artemia no 4° dia após eclosão; T6 Início da artemia no 6° dia após eclosão. Letras diferentes indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

A figura 5 mostra a porcentagem cumulativa de peixes metamorfoseados. No 9° e no 10° DAE o T2 apresentava uma porcentagem significativamente mais alta que o T6. A partir do 11° DAE, os tratamentos não apresentavam diferenças significativas com relação a porcentagem de larvas metamorfoseadas.

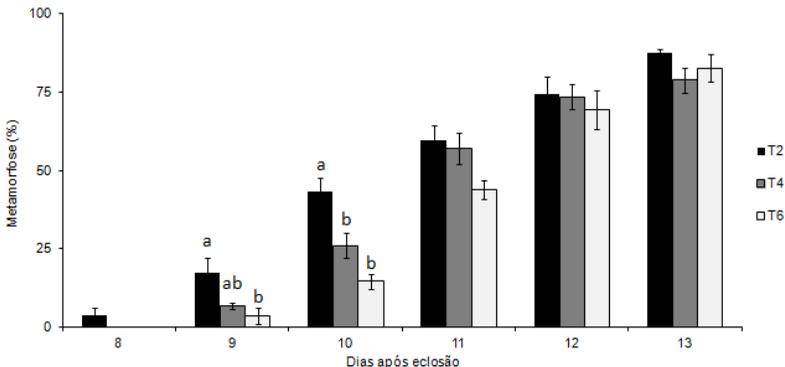


Figura 5. Porcentagem cumulativa de indivíduos metamorfoseados ao longo do experimento. T2 = Início do fornecimento de artemia no segundo dia; T4 = Início do fornecimento de artemia no quarto dia; T6 Início do fornecimento de artemia no sexto dia. Letras diferentes em cada tratamento dentro da mesma idade indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

Discussão

O presente estudo mostrou bons resultados de sobrevivência (60-66%) comparado a outros trabalhos feitos com a mesma espécie. Olivotto et al. (2008a; 2008b; 2009) alimentando larvas de *Amphiprion clarkii* com artemia a partir do 8º DAE, tiveram sobrevivência próxima a 42% no 11º DAE. Já Le et al. (2011) também iniciaram o fornecimento de artemia no 8º dia e tiveram uma sobrevivência de quase 60% no 16º dia após eclosão. Essa diferença pode estar relacionada com a salinidade utilizada uma vez que Olivotto et al. (2008a; 2008b; 2009) utilizaram salinidades entre 28 e 30 ‰ e Le et al. (2011) utilizaram 20 ‰. Segundo estes últimos autores, 20 ‰ é a melhor salinidade para larvicultura de *A. clarkii*. Porém, a salinidade do atual estudo foi de 30 ‰ e apresentou uma sobrevivência semelhante ao de Le et al. (2011), mostrando que a antecipação da artemia também pode ter contribuído positivamente com a sobrevivência dessa espécie durante a larvicultura.

Neste trabalho observou-se que nos 6 primeiros dias de vida houve uma variação entre 0,4 e 0,8 mm e 0,6 e 1,07 mm para largura e altura da boca, respectivamente. Anto et al. (2009) medindo a boca de larvas da mesma espécie nos 10 primeiros dias de vida obteve uma variação entre 0,4 e 1,0 mm tanto para a altura quanto para a largura da boca, um resultado muito parecido ao deste estudo.

Segundo Shirota (1978), o tamanho aparentemente ideal de presa precisa medir até 50% da altura da boca larval. Neste estudo, no início do fornecimento de artemia no T2, os menores náuplios de artemia mediam 45% da altura da boca das larvas com as maiores dimensões bucais, no T4 os menores náuplios mediam 38% e no T6 mediam 30%, dessa forma, pode-se afirmar que algumas larvas de *A. clarkii* já conseguem capturar artemia desde o segundo dia de vida, o que pode ter refletido no maior crescimento do T2 quando comparado ao T6 e ao ganho de peso maior no T2 comparado aos demais tratamentos. Anto et al. (2009) constataram que no primeiro dia de vida algumas larvas de *A. clarkii* já tinham capacidade de capturar náuplios de artemia, embora tivessem preferência em capturar alimentos menores, principalmente zooplâncton selvagem.

Em relação ao crescimento, o trabalho atual apresentou bons resultados, principalmente no T2 e T4, quando comparado a outros trabalhos realizados com a mesma espécie que receberam artemia mais tarde.

Neste estudo, no 13º dia já existiam peixes com mais de 1 cm de comprimento total, enquanto que Ghosh et al. (2012) iniciando o

fornecimento de artemia no 11º DAE, obtiveram esse comprimento com 45 dias, uma diferença de mais de um mês para obter o mesmo comprimento.

Sahandi (2011) e Le et al. (2011) alimentaram as larvas de *A. clarkii* com artemia a partir do 5º e 8º dia de vida, respectivamente, e obtiveram um crescimento semelhante ao do presente estudo, mostrando que a antecipação deste alimento para o 2º DAE não afeta negativamente o crescimento dessa espécie. Esta informação é importante porque a partir do momento em que as larvas estão aptas a capturar artemia, o fornecimento de rotíferos pode ser gradativamente reduzido até cessar completamente. A diminuição ou ausência do suprimento de rotíferos no cultivo pode reduzir significativamente o manejo e conseqüentemente os gastos com a produção deste alimento, bem como a produção de microalgas que normalmente está associada ao cultivo de rotíferos.

Com relação ao peso, os resultados deste estudo mostram que a antecipação da artemia para o 2º DAE pode aumentar em até 2,5 vezes o peso quando comparado com trabalhos que iniciaram o fornecimento de artemia no 8º DAE (Olivotto et al. 2009; 2008a; 2008b; Le et al. 2011).

Apesar de todos os tratamentos terem apresentado uma porcentagem significativamente igual de peixes metamorfoseados no 13º dia, pode-se observar uma antecipação da metamorfose quando comparado a outros trabalhos com *Amphiprion clarkii* que foram alimentados com artemia mais tarde. Enquanto que no atual trabalho a primeira larva metamorfoseada foi observada no 8º DAE para o T2 e no 9º dia para os demais tratamentos, Ghosh et al. (2012) e Olivotto et al. (2008a) iniciando o fornecimento de artemia no 11º e 8º DAE, respectivamente, obtiveram a primeira larva metamorfoseada no 15º dias e 12º DAE. Comparativamente, no atual trabalho, no 11º DAE o T2 e o T4 já apresentavam 59 e 57% de larvas metamorfoseados, respectivamente, e no 13º dia todos os tratamentos já tinham pelo menos 70% de juvenis.

Levando em consideração que a ração de desmame pode ser fornecida no momento em que ocorre a metamorfose e que o T2 teve um desenvolvimento larval mais rápido, esse tratamento poderia receber ração mais cedo, possivelmente refletindo em um maior crescimento e obtenção de animais com tamanho comercial mais rapidamente.

Os bons resultados de sobrevivência, crescimento e redução da fase larval observados no presente estudo possivelmente estão relacionados com a capacidade prematura dessa espécie de capturar alimentos maiores que rotíferos (Anto et al. 2009). Isso ocorre também

com *Amphiprion melanopus*, que já consegue receber náuplios de artemia no 3º DAE e apresentar sobrevivências superiores a 70% (Green and Fischer, 2004).

Grandes presas possuem quantidades maiores de energia, sendo mais vantajoso para as larvas capturar poucos alimentos grandes do que vários pequenos, além de ser necessário maior gasto energético para procurar e predar alimentos menores. Essa energia economizada pode ser direcionada para o crescimento larval. Com *Solea senegalensis*, foi evidenciado um aumento da energia disponível para crescimento quando esta espécie passou da alimentação exclusiva de rotíferos para náuplios de artemia (Parra and Yúfera, 2001).

Segundo Côrtes (2009), nos protocolos tradicionais de larvicultura de peixes marinhos, o início da utilização de náuplios de artemia é indicado quando as larvas estão aptas a predar alimentos maiores que os rotíferos. É importante que a introdução de um alimento maior no cultivo seja ofertada no tempo certo, isto porque, existe um momento em que a utilização de rotíferos não é mais benéfica para as larvas. Este momento ocorre quando o gasto de energia que a larva utiliza para capturar o alimento não é compensado pela energia contida neste. É possível que, quando há um atraso muito grande no fornecimento da artemia, as larvas atrasem seu desenvolvimento (Côrtes, 2009).

Os bons resultados ainda podem estar relacionados com a contribuição de enzimas digestivas proporcionada pela artemia, isso porque com o aumento do tamanho da presa pode aumentar a quantidade de enzimas digestivas presentes no trato digestório das larvas. Enzimas exógenas auxiliam na digestão, favorecendo o desenvolvimento larval. Segundo Souza (2012), proteases alcalinas provenientes da artemia contribuíram para um acréscimo de 67% dessas enzimas presentes nas larvas de *Elacatinus figaro*, o que pode ter refletido em melhores resultados de crescimento, ganho de peso, sobrevivência e metamorfose para as larvas que receberam artemia no 12º dia de vida quando comparado às larvas que receberam artemia com 18 dias de vida.

Em conclusão, pode-se afirmar que é possível antecipar o fornecimento de náuplios de artemia para o 2º DAE para a espécie *Amphiprion clarkii* uma vez que os resultados de crescimento e ganho de peso do T2 foram melhores quando comparados principalmente com o T6. A antecipação da metamorfose quando comparado a outros trabalhos que iniciaram o fornecimento de artemia mais tardiamente

também é uma informação muito importante pois, quanto antes os peixes metamorfosearem, antes eles poderão ser vendidos pelo produtor.

Referências Bibliográficas

- Alava, V.R. and Gomes, L.A.O. 1989. Breeding marine aquarium animals: the anemonefish. Naga ICLARM Quarterly 12 (4): 12–13.
- Anto, J.; Majoris, J. and Turingan, R. G. 2009. Prey selection and functional morphology through ontogeny of *Amphiprion clarkii* with a congeneric comparison. Journal of Fish Biology 75: 575–590.
- Bengtson, D.A. 2003. Status of marine aquaculture in relation to live prey: Past, Present, Future. Pages 1–16 in Stotrup, J. G. and McEvoy, L. A. Live Feeds in Marine Aquaculture. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Côrtes, G.F. 2009. Produção e utilização de diferentes fontes de alimento vivo na fase inicial de larvicultura do neon gobi (*Elacatinus figaro*). Master's dissertation. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
- Dhont, J. and Van Stappen, G. 2003. Biology, Tank Production and Nutritional Value of artemia. Pages 65–121 in Stotrup, J. G. and McEvoy, L. A. Live Feeds in Marine Aquaculture. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Fautin, D.G. and Allen, G.R. 1992. Field guide to anemone fishes and their host sea anemones. Western Australian Museum. Australia.
- Galvão, M.S.N.; Yamanaka, N.; Fenerich-verani, N. and Pimentel, C.M.M. 1997. Estudos preliminares sobre enzimas digestivas proteolíticas da tainha *Mugil planatus* Günther, 1880 (Osteichthyes, mugilidae) durante as fases larval e juvenil. Boletim do Instituto de Pesca 24: 101–110.
- Ghosh, S.; Kumar, T.T.A.; Nanthinidevi, K. and Balasubrananian, 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(1): 56–60.
- Green, B.S. and 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.

- Kolkovski, S.; Koven, W. and Tandler, A. 1997. The mode of action of artemia in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. *Aquaculture* 155 (4): 193–205.
- Le, Y.; Sheng-Yun, Y.; Xiao-Ming, Z.; Min, L.; Jing-Yi, L. and 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.
- Lubzens, E. and Zmora, O. 2003. Production and nutritional value of rotifers. Pages 17–64 in Stotrup, J.G. and McEvoy, L.A. *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Munilla-Moran, R.; Stark, J.R. and Barbour, A. 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L). *Aquaculture* 88: 337–350.
- Olivotto, I.; Planas, M.; Simões, N.; Holt, G. J.; Avella, M. A. and Calado, R. 2011. Advances in Breeding and Rearing Marine Ornamentals. *Journal of the world aquaculture society* 42 (2): 135–166.
- Olivotto, I.; Avella, M.A.; Buttino, I.; Cutignano, A. and Carnevali, O. 2009. Calanoid copepod administration improves yellow tail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture: biochemical and molecular implications. *AACL Bioflux* 2 (3): 355–367.
- Olivotto, I.; Capriotti, F.; Buttino, I.; Avella, A.M.; Vitiello, V.; Maradonna, F. and Carnevali, O. 2008a. The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: Effects on larval survival and growth. *Aquaculture* 274: 347–352.
- Olivotto, I.; Buttino, I.; Borroni, M.; Piccinetti, C.C.; Malzone, M.G. and Carnevali, O. 2008b. The use of the Mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in Yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. *Aquaculture* 284: 211–216.
- Parra, G. and Yúfera, M. 2001. Comparative Energetics During Early Development of Two Marine Species, *Solea senegalensis* (Kaup) and *Sparus Aurata* (L.). *The Journal of Experimental Biology* 204: 2175–2183.
- Sahandi, J. 2011. Reproduction of Persian Gulf anemone fish (*Amphiprion clarkii*) in captive system. *AACL Bioflux* 4 (5): 704–708.
- Sargent, J.R.; McEvoy, L.A. and Bell, J.G. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155: 117–127.

- Shirota, A. 1978. Studies on the Mouth Size of Fish Larvae II: Specific Characteristics of the Upper Jaw Length. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 44(11): 1171–1177.
- Souza, M.F.S. 2012. Proteases Alcalinas e Manejo Alimentar na Larvicultura do Neon Gobi (*Elacatinus figaro*). Master's dissertation. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
- Stotrup, J.G. 2003. Production and Nutritional Value of Copepods. Pages 145–205 in Stotrup, J.G. and McEvoy, L.A. Live Feeds in Marine Aquaculture. Blackwell Science, Oxford, UK.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Por existirem poucas espécies de peixes ornamentais produzidas comercialmente, trabalhos que procurem aprimorar o cultivo e viabilizar a produção dessas espécies são muito importantes.

O atual trabalho apresentou bons resultados, contribuindo para a elaboração de um protocolo alimentar mais eficiente uma vez que o desempenho larval deste trabalho foi melhor que outros trabalhos realizados com a mesma espécie mas introduzindo artemia na alimentação das larvas mais tardiamente.

Como sugestão fica a possibilidade de testar o fornecimento de artemia já no dia da eclosão, levando em consideração que as dimensões bucais são muito parecidas entre o dia da eclosão e o 2º DAE (dia em que o T2 começou a receber artemia).

Para constatar se o fornecimento de artemia influencia na metamorfose, fica a possibilidade de testar um tratamento onde não ocorra o fornecimento de artemia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO:

ALAVA, V. R.; GOMES, L. A. O. Breeding marine aquarium animals: the anemonefish. **Naga ICLARM Quarterly**, v. 12, n. 4, p. 12 – 13. 1989.

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**, v.75, p. 575 – 590. 2009.

AVELLA, M.A.; OLIVOTTO, I.; GIOACCHINI, G.; MARADONNA, F.; CARNEVALI, O. The role of fatty acids enrichments in the larviculture of false percula clownfish *Amphiprion ocellaris*. **Aquaculture**, v.273, p. 87 – 95. 2007.

BENGSTSON, D.A. Status of marine aquaculture in relation to live prey: Past, Present, Future, In: STOTRUP, J. G.; MCEVOY, L. A. **Live Feeds in Marine Aquaculture**. Blackwell Science, Oxford-UK:, 2003, p. 1 – 16.

CORTÊS, G.F. **Produção e utilização de diferentes fontes de alimento vivo na fase inicial de larvicultura do neon gobi (*Elacatinus figaro*)**. Florianópolis/SC. 2009. 53 páginas. Dissertação (mestrado em aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

DHONT, J.; VAN STAPPEN, G. Biology, Tank Production and Nutritional Value of artemia, In: STOTRUP, J. G.; MCEVOY, L. A. **Live Feeds in Marine Aquaculture**. Blackwell Science, Oxford-UK, 2003, p. 65 – 121.

FAO. **Ornamental fish**. Fisheries and Aquaculture Department. Rome. 2005.

FAUTIN, D. G.; ALLEN, G. R. **Field guide to anemone fishes and their host sea anemones**. Western Australian Museum. Australia. 1992.

GALVÃO, M.S.N.; YAMANAKA, N.; FENERICH-VERANI, N.; PIMENTEL, C.M.M. Estudos preliminares sobre enzimas digestivas proteolíticas da tainha *Mugil planatus* Günther, 1880 (Osteichthyes,

mugilidae) durante as fases larval e juvenil. **Boletim do Instituto de Pesca**, n.24, p. 101 – 110. 1997.

KODAMA, G.; ANNUNCIACÃO, W. F.; SANCHES, E. G.; GOMES, C. H. A. M.; TSUZUKI M. Y. Viabilidade econômica do cultivo de peixe palhaço em sistema de recirculação, *Amphiprion ocellaris*, **Bol. Inst. Pesca**, v.37, n.1, p. 61 – 72. 2011.

KOLKOVSKI, S.; KOVEN, W.; TANDLER, A. The mode of action of artemia in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream *Sparus aurata* larvae. **Aquaculture**, v. 155, n. 4, p. 193 – 205. 1997.

LING, K.H.; LIM, L.Y. The Status of Ornamental Fish Industry in Singapore, **Singapore J Pri Ind**, v.32, p. 59 – 69. 2006.

LIVENGOOD, E.J.; CHAPMAN, F.A. **The Ornamental Fish Trade: An Introduction with Perspectives for Responsible Aquarium Fish Ownership**. University of Florida. USA. 2007.

LUBZENS, E.; ZMORA, O. Production and nutritional value of rotifers, In: STOTRUP, J. G.; MCEVOY, L. A. **Live Feeds in Marine Aquaculture**. Blackwell Science, Oxford-UK, 2003, p. 17 – 64.

MATIAS, V.F. **Efeito da intensidade luminosa na coloração do peixe-palhaço Clarkii (*Amphiprion clarkii*)**. Leiria – Portugal. 2011. 39 páginas. Dissertação (mestrado em aquicultura). Escola superior de turismo e tecnologia do mar – Instituto politécnico de Leiria.

MUNILLA-MORAN, R.; STARK, J.R.; BARBOURB, A. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L). **Aquaculture**, n.88, p.337-350. 1990.

OLIVOTTO, I.; PLANAS, M.; SIMÕES, N.; HOLT, G. J.; AVELLA, M. A.; CALADO, R. Advances in Breeding and Rearing Marine Ornamentals. **Journal of the world aquaculture society**, v. 42, n. 2, p. 135 – 166. 2011.

OLIVOTTO, I.; AVELLA, M.A.; BUTTINO, I.; CUTIGNANO, A.; CARNEVALI, O. Calanoid copepod administration improves yellow

tail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture: biochemical and molecular implications. **AAFL Bioflux**, v.2, n.3, p. 355 – 367. 2009.

OLIVOTTO, I.; CAPRIOTTI, F.; BUTTINO, I.; AVELLA, A. M.; VITIELLO, V.; MARADONNA, F.; CARNEVALI, O. The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: Effects on larval survival and growth. **Aquaculture**, n. 274, p. 347 – 352. 2008a.

OLIVOTTO, I.; BUTTINO, I.; BORRONI, M.; PICCINETTI, C. C.; MALZONE, M. G.; CARNEVALI, O. The use of the Mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in Yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. **Aquaculture**, n. 284, p. 211 – 216. 2008b.

OLIVOTTO, I.; ROLLO, A.; SULPIZIO, R.; AVELLA, M.; TOSTI, L.; CARNEVALI, O. Breeding and rearing the Sunrise Dottyback *Pseudochromis flavivertex*: the importance of live prey enrichment during larval development. **Aquaculture**, v.255, p.480 – 487. 2006.

RIBEIRO, F.A.S. Panorama mundial do mercado de peixes ornamentais. **Panorama da aquicultura**, v.18, n.108, p.32–37. 2008.

SAHANDI, J. Reproduction of Persian Gulf anemone fish (*Amphiprion clarkii*) in captive system. **AAFL Bioflux**, v.4, n. 5, p. 704 – 708. 2011.

SAMPAIO, C. L. S.; NOTTINGHAM, M.C. **Guia para Identificação de PEIXES ORNAMENTAIS BRASILEIROS: Espécies Marinhas**. Ibama. Brasília. 2008.

SAMPAIO, C. L.S.; ROSA, I.L. Comércio de peixes ornamentais marinhos na Bahia: passado, presente e futuro. **Boletim Sociedade Brasileira de Ictiologia**, v.71, p. 3 – 6. 2003.

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

SOUZA, M.F.S. **Proteases Alcalinas e Manejo Alimentar na Larvicultura do Neon Gobi (*Elacatinus figaro*)**. Florianópolis/SC.

2012. 63 páginas. Dissertação (mestrado em aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

STOTRUP, J. G. Production and Nutritional Value of Copepods, In: STOTRUP, J. G.; MCEVOY, L. A. **Live Feeds in Marine Aquaculture**. Blackwell Science, Oxford-UK:, 2003, p. 145 – 205.

TLUSTY, M. The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade **Aquaculture**, n. 205, p. 203 – 219. 2002.

WABNITZ, C.; TAYLOR, M.; GREEN, E.; RAZAK, T. **From Ocean to Aquarium**. UNEP-WCMC, Cambridge, UK. 2003.

WILKERSON, J.D. **Clownfishes: a guide to their captive care, breeding and natural history**. Charlotte, U.S.A. 2003.

WOOD, E.M.. **Collection of coral reef fish for aquaria: global trade, conservation issues and management strategies**. Marine Conservation Society, UK. 2001.