



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

**FOTOPERÍODO E INTENSIDADE LUMINOSA NA
SOBREVIVÊNCIA E NO CRESCIMENTO DE LARVAS DO
PEIXE-PALHAÇO *Amphiprion clarkii* (BENNETT 1830)**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós Graduação em Aquicultura da
Universidade Federal de Santa
Catarina, para a obtenção do Grau de
Mestre em Aquicultura.

Orientadora: Mônica Yumi Tsuzuki

RAOANI CRUZ MENDONÇA

Florianópolis/SC
2014

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

Mendonça, Raoani Cruz

FOTOPERÍODO E INTENSIDADE LUMINOSA NA SOBREVIVÊNCIA E
NO CRESCIMENTO DE LARVAS DO PEIXE-PALHAÇO *Amphiprion
clarkii* (BENNETT 1830) / Raoani Cruz Mendonça ; orientador,
Mônica Yumi Tsuzuki - Florianópolis, SC, 2014.

63 p.

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

Inclui referências

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

Fotoperíodo e intensidade luminosa na sobrevivência e no crescimento de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* (Bennett 1830)

Por

RAOANI CRUZ MENDONÇA

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 Programa

Banca Examinadora:

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki – *Orientadora*

Dr. Evoy Zaniboni Filho

Dr. Fabrício Pereira Rezende

Dr. Luiz Alejandro Vinatea Arana

Dedico este trabalho a minha família, em especial meus avós, Antônio Mendonça e Hermínia, por terem construído e guiado uma família tão linda!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço incondicionalmente a minha Família.

A meu pai Gilson Teles de Mendonça e minha mãe Sidinéia Cruz Mendonça. Amo vocês...

Ao meu irmão Ivo, que apesar das diferenças, sempre foi um ótimo irmão e sempre esteve ao meu lado em todos momentos.

A minha orientadora, professora Mônica, pela oportunidade de fazer parte do laboratório de peixes e ornamentais marinhos (LAPOM). Aprendi muito!

Aos amigos, Michel e Jefferson, pessoas maravilhosas que conheci na ilha, não tem palavras para agradecer vocês.

Ao pessoal do Lapmar I, Gabriel, Fábio, Virginia, Marcos e a Cristina sempre cedendo rotífero nos momentos de desespero.

Ao pessoal do Lapom (Daner, Caro, Wesley, Maik, Dani, Renata's (aluna e técnica), Ana Cristina "chefinha", Marina, Danilo, Vanessa, Redna e) vai meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma contribuíram para meu amadurecimento conhecimento e ajudaram nos meus experimentos.

Amigos que a pós me possibilitou conhecer e faço questão de citá-los, porque de alguma forma fizeram parte dessa história (Gicella, Túlio, Miguelito, Carlos Henrique "tatu", Emilio).

Ao Antônio Carlos Garcia Sayão "meu guru" com ele aprendi tudo que era necessário saber para tocar um laboratório da melhor forma possível. Obrigado mestre!

A minha amiga irmã Cris "estepozita" pela força, companheirismo, pelas "brigas" (faz parte rs) parceria e tanta coisa que vivemos nesses dois anos.

Ao nosso grande Carlito, que mesmo com suas pilhas de papéis, sempre encontra um tempinho para nos atender. Obrigado!!!

E a nossa querida Sassá, não só pela pessoa maravilhosa que é, mas também pelos cafezinhos que nos abasteciam e nos mantinham ativos.

A UFSC pelo ótimo programa de pós-graduação, e a CAPES, por financiar este estudo.

*“Todas as graças da mente e do coração se
escapam quando o propósito não é firme.”*
(William Shakespeare)

RESUMO

O fotoperíodo e a intensidade luminosa são parâmetros importantes para o desenvolvimento e a sobrevivência de larvas de peixes. O objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento e a sobrevivência de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* submetidas a quatro regimes de fotoperíodo: 10Luz:14Escuro, 14L:10E, 18L:6E e 24L:0L a uma intensidade de 500 lux, do 1º ao 17º dia após eclosão (DAE) (experimento 1), e quatro intensidades luminosas 200, 500, 1000 e 2000lux com fotoperíodo de 18L:6E, do 1º ao 15º (DAE) (experimento 2), ambos com três repetições. A temperatura utilizada foi 26,5°C e a salinidade 25. No experimento 1, as larvas submetidas aos fotoperíodos 10L:14E, 18L:6E e 24L:0E apresentaram maior ($P<0,05$) sobrevivência ($84,3 \pm 4,16\%$; $86,3 \pm 1,15\%$ e $80,3 \pm 3,06\%$; média \pm desvio padrão, respectivamente). Para comprimento total, peso úmido, ganho de peso, taxa de crescimento específico e taxa de crescimento diário, as larvas submetidas aos fotoperíodos de 14L:10E, 18L:6E e 24L:0E cresceram mais nestes tratamentos, em comparação com o menor fotoperíodo testado, mas não diferiram entre si ($P>0,05$). O coeficiente de variação em comprimento (mm) foi menor para os tratamentos 14L:10E e 18L:6E ($3,246 \pm 0,104$ mm e $3,036 \pm 0,133$ mm) e o dobro para o tratamento de 24L:0E ($6,877 \pm 0,473$ mm). O tratamento submetido ao fotoperíodo de 18L:6E foi primeiro a apresentar 100% das larvas metamorfoseadas. No experimento 2, as larvas submetidas a intensidade luminosa de 2000lux apresentaram menor ($P<0,05$) sobrevivência ($66,18 \pm 4,41\%$), em relação aos demais tratamentos que não diferiram entre si (taxas de sobrevivência acima de 86,76%). As larvas submetidas a 2000lux foram significativamente maiores em comprimento total ($10,95 \pm 0,27$ mm) em relação aos demais tratamentos. Porém o peso úmido, ganho de peso e taxa de crescimento específico das larvas do tratamento de 2000lux foram significativamente maiores ($P<0,05$) somente quando comparados com o tratamento de 1000lux. A taxa de crescimento diário foi maior para larvas submetidas a intensidade luminosa de 2000lux ($0,43 \pm 0,02$ mm.dia⁻¹). O menor coeficiente de variação foi obtido para larvas submetidas a 200 e 500 lux ($1,450 \pm 0,021$ mm e $1,360 \pm 0,018$ mm). No 9º dia de experimento, surgiram as primeiras larvas metamorfoseadas para os tratamentos de 500,1000 e 2000 lux, ainda sem diferença significativa entre si. Ao final do experimento (15º DAE), a porcentagem de larvas metamorfoseadas foi maior ($P<0,05$) para os tratamentos 200 e 2000lux e apresentaram valores de $90,53 \pm 4,78$ e 100%, respectivamente. Quando levamos em consideração todos os

parâmetros avaliados, conclui-se que o melhor fotoperíodo e a melhor intensidade luminosa a ser utilizado na larvicultura do *A. clarkii* de é 18L:6E e 500lux.

Palavras chaves: 1. Maricultura ornamental. 2. Fatores abióticos. 3. Larvicultura. 4. Metamorfose. 5. Pomacentridae.

ABSTRACT

The photoperiod and light intensity are important for development and survival of fish larvae parameters. The aim of this study was to evaluate the growth and survival of larvae of clownfish *Amphiprion clarkii* exposed to four photoperiod treatments: 10 light: 14 Dark, 14L: 10D, 18L: 6D and 24L: 0D and light intensity 500lux, from 1st to 17th day after hatch (DAH) (experiment 1) and four light intensities 200, 500, 1000 and 2000Lux and photoperiod of the 18L: 6D, from the 1st to the 15th DAH (experiment 2), both with three replicates. The temperature used was 26,5°C and salinity 25. In experiment 1, larvae subjected to photoperiods of 10L: 14D 18L: 6D and 24L: 0D showed higher ($P < 0.05$) survival ($84.3 \pm 4.16\%$; $86.3\% \pm 1.15$ and $80.3 \pm 3.06\%$, mean \pm standard deviation, respectively). Total length, wet weight, weight gain, specific growth rate and daily growth rate of the larvae subjected to photoperiods of 14L: 10D 18L: 6D and 24L: 0D were higher for these treatments, in comparison with the lowest photoperiod tested, and did not differ among them ($P > 0.05$). The coefficient of variation in length (mm) was lower for treatments 14L: 10D and 18L: 6D (1.360 ± 0.018 mm and 1.561 ± 0.024 mm) and double for the treatment of 24L: 0D (6.877 ± 0.473 mm). Treatment subjected to a photoperiod of 18L: 6D was the first to present 100% of larvae metamorphosed. In experiment 2, larvae subjected to 2000 lux light intensity had lower survival ($P < 0.05$) ($66.18 \pm 4.41\%$) in relation to the other treatments, that did not differ among them (survival rates above 86.76%). Larvae at 2000lux (10.95 ± 0.27 mm) were significantly higher in overall length compared to the other treatments. Wet weight, weight gain and specific growth rate values of larvae at the 2000lux treatment were significantly higher when compared to 1000lux. The daily growth rate was significantly higher in larvae subjected to the light intensity of 2000lux (0.43 ± 0.02 mm.day⁻¹). The lowest coefficient of variation was obtained in larvae at 200 and 500lux (1.450 ± 0.021 mm e 1.360 ± 0.018 mm, respectively). On the 9th day of the experiment, the first metamorphosed larvae appeared at treatments 500, 1000 and 2000lux, with no difference among them. At the end of the experiment (15 DAH), the percentage of metamorphosed larvae was higher ($P < 0.05$) at the treatments 200 and 2000lux, (90.53 ± 4.78 and 100%, respectively). When we take into account all parameters, it is concluded that the best photoperiod and light intensity to be best used in larval rearing of *A. clarkii* de are 18L: 6D and 500lux.

Keywords: 1. Ornamental mariculture. 2. Abiotic factors. 3. Larviculture. 4. metamorphosis 5. Pomacentridae.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	17
Comércio e produção de peixes ornamentais marinhos	17
Peixe-palhaço <i>Amphiprion clarkii</i>	18
Larvicultura “gargalo”	19
Efeito do fotoperíodo na larvicultura de peixes marinhos	19
Efeito da intensidade luminosa na larvicultura de peixes marinhos ...	21
OBJETIVOS	22
Objetivo geral.	22
Objetivos específicos	22
Efeito do fotoperíodo e da intensidade luminosa no crescimento e sobrevivência de larvas do peixe-palhaço <i>Amphiprion clarkii</i> (Bennett,1830)	23
RESUMO	23
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAIS E MÉTODOS	27
2.1. Manutenção dos reprodutores.	27
2.2. Incubação dos ovos	28
2.3. Condições gerais de manutenção nos experimentos	28
2.4. Delineamento experimental	29
2.5. Alimentação das larvas	30
2.6. Qualidade de água	31
2.7. Parâmetros avaliados	31
2.8. Análise estatística	32
3. RESULTADOS (experimento 1)	32
3.1. Sobrevivência	33
3.2. Crescimento larval	33

3.3. Metamorfose.....	37
3. RESULTADOS (experimento 2)	38
3.4. Sobrevivência	38
3.5. Crescimento larval.....	39
3.6. Metamorfose.....	42
4. DISCUSSÃO.....	42
5. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXOS.....	55
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	57

INTRODUÇÃO GERAL

Comercio e produção de peixes ornamentais marinhos

Apesar do foco da aquicultura mundial estar voltado para a produção de peixes de corte, o cultivo de peixes ornamentais é um importante setor da atividade que vem ganhando cada vez mais espaço em várias nações (PALMA et al., 2008). Segundo Tlustý (2002), nos Estados Unidos, a produção de peixes ornamentais é o quarto maior setor dentro da aquicultura, ficando atrás apenas do cultivo do bagre, truta e salmão. Estima-se que aproximadamente dois milhões de pessoas no mundo possuam aquários marinhos, movimentando um mercado de aproximadamente US\$ 300 milhões ao ano (WABNITZ et al., 2003).

Segundo Gasparini et al., (2005), o Brasil é um dos cinco maiores países exportadores de peixes ornamentais tropicais e, ao final da década de 90, observou-se um aumento considerável no interesse em organismos ornamentais marinhos. Existem aproximadamente 800 espécies de peixes ornamentais marinhos comercializadas no mundo, a grande maioria é capturada diretamente da natureza, diferentemente dos peixes ornamentais de água doce, onde mais de 90% dos peixes são provenientes de cultivo (FAO, 2005).

A aquicultura pode ser uma ferramenta para minimizar a pressão de coleta dos estoques naturais e atender à crescente demanda destes organismos pelo mercado mundial da aquariofilia. Além de ser uma solução sustentável, o cultivo destes organismos possuem a vantagem de utilizarem pequenas áreas e produzirem um produto com alto valor de mercado (KODAMA et al., 2011).

Segundo Arvedlund et al., (2000), aproximadamente 84 espécies de peixes ornamentais marinhos são cultivadas, e destas, 26 pertencem à família Pomacentridae, a qual, estão inseridos os peixes-palhaço. Estes são cultivados desde 1950 (WITTENRICH, 2007), no entanto, tiveram sua produção intensificada ao longo dos últimos 25 anos (ARVEDLUND et al., 2000). O peixe-palhaço *Amphiprion ocellaris* é o peixe ornamental com maior demanda, representando mais de 15% do valor total de exportação mundial (WABNITZ et al., 2003). Além de ser importante para o comércio de peixes ornamentais, o peixe-palhaço é também um grande objeto de investigação (FAUTIN, 1991).

Peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*

Os peixes-palhaços são peixes recifais originários do Indo-Pacífico. Possuem 30 espécies catalogadas, sendo 29 do gênero *Amphiprion* e apenas uma do gênero *Premnas* (THORNHILL, 2012). São conhecidos como “anemonefish” por apresentar uma relação simbiótica com algumas famílias de anêmonas marinhas.

A espécie *Amphiprion clarkii* (Figura 1) também é conhecido como “Clark” ou peixe-palhaço de cauda amarela “yellowtail”. Possui coloração altamente variável, podendo ser amarela ou marrom ou até mesmo próxima ao negro. Quando adultos podem ter de duas a três bandas de coloração branca, perpendiculares ao corpo (WILKERSON, 2003). Segundo Olivotto et al., (2008), o *A. clarkii* está entre as espécies de peixes ornamentais marinhos mais populares no comércio de peixes recifais.



Figura 1. Exemplar adulto da espécie *Amphiprion clarkii* (fonte: Google imagens).

São hermafroditas protândricos e vivem em grupos sociais em que há uma dominância baseada no tamanho corporal, onde o maior animal do grupo geralmente é uma fêmea e os restantes são machos, e na ocasião da remoção desta fêmea, o maior macho do grupo sofre inversão sexual para ocupar a posição de dominante (KOBAYASHI et al., 2010; LE et al., 2011). Possuem frequência regular entre as desovas (no laboratório a cada dez dias), com fecundação e desenvolvimento ocorrendo no meio externo. A taxa de fecundidade está relacionada com a idade e nutrição dos reprodutores e pode chegar a cerca de 2000 ovos. Os machos são responsáveis por cuidar dos ovos durante a incubação, promovendo a oxigenação dos mesmos de forma vigorosa. As larvas recém-eclodidas apresentam comportamento voraz e já iniciam a alimentação exógena (WILKERSON, 2003).

Larvicultura “gargalo”

Em cativeiro, a larvicultura é considerada como o grande gargalo. A fase larval do ciclo de vida dos teleósteos é considerada como sendo a que mais sofre com estressores ambientais (BERLINSKY et al., 2004). No entanto, o desenvolvimento desta etapa em laboratório tem possibilitado a identificação das características biológicas importantes para o aumento da sobrevivência e do crescimento (ZANIBONI FILHO, 2000). Muitos estudos sobre o desenvolvimento de larvas de peixes ornamentais têm sido realizados para permitir uma produção mais eficiente em cativeiro (HOLT, 2003; OLIVOTTO et al., 2003; OLIVOTTO et al., 2008; NASS, 2013; ROTTA, 2014; LE et al., 2009; LE et al., 2011).

Segundo Hart et al., (1996), a determinação dos melhores parâmetros ambientais para o cultivo de larvas pode contribuir com o crescimento e a sobrevivência larval, com a redução do período de larvicultura e os custos de produção. A temperatura, a salinidade e o fotoperíodo são parâmetros variáveis e críticos considerados como os mais importantes na ontogenia de peixes em laboratório (HART et al., 1996; KAMLER, 2002). Esses têm sido investigados para avaliar os impactos na sobrevivência, crescimento, natação e metamorfose na larvicultura das espécies do gênero *Amphiprion* (ARVEDLUND et al., 2000; GREEN et al., 2004; LE et al., 2009; FRANCIO-MEDEIROS, 2013).

Parâmetros físicos, como a temperatura e a salinidade já foram investigados individualmente (LE et al., 2009; LE et al., 2011) e em combinação (FRANCIO-MEDEIROS, 2013) para verificar a melhor sobrevivência, crescimento, e metamorfose na larvicultura do *A. clarkii*. No entanto, o efeito do fotoperíodo e a intensidade luminosa, ainda são desconhecidos para esta espécie.

A relação entre as respostas comportamentais de larvas de peixes marinhos é fortemente afetada pelas condições de iluminação (VILLAMIZAR et al., 2011) uma vez que estas são predadoras visuais, principalmente as que habitam as zonas pelágicas, e necessitam de luz para capturar suas presas (BLAXTER, 1986).

Efeito do fotoperíodo na larvicultura de peixes marinhos

O fotoperíodo é um parâmetro importante que determina diretamente o desenvolvimento de larvas e juvenis de peixes (HART et al., 1996.; FIELDER et al., 2002), e que pode afetar diretamente os

ritmos circadianos e a liberação de vários hormônios, principalmente a somatotropina e os hormônios tireoidianos, relacionados com o crescimento (BOEUF e LE BAIL, 1999). Nesse sentido, a manipulação do regime de luz exerce um efeito endógeno e pode regular funções fisiológicas de peixes como crescimento, sobrevivência, maturação gonadal, metabolismo e reprodução (TAYLOR et al., 2006; BJÖRNSSON et al., 2000; GINÉS et al., 2003; BONNET et al., 2007).

Em geral, fotoperíodos mais longos, podem melhorar o crescimento das larvas de peixes, provavelmente pelo aumento do tempo de disponibilidade do alimento (BOEUF e LE BAIL, 1999). Por outro lado, o período escuro é importante, porque é nesta fase que ocorre a produção de alguns hormônios que estão associados ao crescimento e aos ritmos circadianos, como a melatonina, que tem sua maior concentração no plasma durante a noite (EKSTRÖM e MEISSI, 1997). Entretanto, o fotoperíodo ideal para conseguir melhor sobrevivência e crescimento, varia não só entre as espécies, mas também com seu estágio de desenvolvimento (DOWNING e LITVAK, 1999; KAMLER, 2002).

Muitas espécies têm apresentado melhor sobrevivência e crescimento larval em fotoperíodo estendido, como por exemplo, larvas de linguado japonês *Paralichthys olivaceus* (DOU et al., 2003), larvas de *Siganus guttatus* (DURAY e KOHNO, 1988), larvas de robalo Europeu *Dicentrarchus labrax* (VILLAMIZAR et al., 2009) e larvas de baiacu *Takifugu obscurus* (SHI et al., 2010). No entanto, o fotoperíodo de 24L:0E ou 15L:9E não afetou o crescimento nem a sobrevivência de larvas de arinca *Melanogrammus aeglefinus* (DOWNING e LITVAK, 1999). Para outras espécies, como por exemplo, larvas de *Morone saxatilis*, o ideal foram poucas horas de luz 8L:16E (MARTIN-ROBICHAUD e PETERSON, 1998).

Existem poucos trabalhos em relação ao efeito do fotoperíodo em larvas do gênero *Amphiprion*, entre eles estão os de ARVEDLUND et al., 2000 e VINOOTH et al., 2010, que trabalharam com larvas de *Amphiprion melanopus* e *A. percula*, respectivamente. No ambiente natural, larvas de *A. clarkii* estão expostas a longos períodos de luz e a alta incidência de raios solares sob a superfície da água, uma vez que sua distribuição se dá nas regiões subtropicais e principalmente nas tropicais.

Efeito da intensidade luminosa na larvicultura de peixes marinhos

A intensidade luminosa é outro fator importante a ser considerado na larvicultura de peixes marinhos, estando relacionada com a localização, captura e ingestão de presas, que também é pouco estudado para o gênero *Amphiprion*. Pode estar associada ao estresse (BOEUF e LE BAIL, 1999), a atividade de natação e alimentação (PETRELL e ANG, 2001; ALMAZA'N-RUEDA et al., 2004; RODRIGUES et al., 2009), ao canibalismo (HECHT e PIENAAR, 1993; GARDNER E MAGUIRE, 1998; KESTEMONT et al., 2003), a cor da pele (ROTLLANT et al., 2003), aos hormônios fisiológicos (BOEUF e LE BAIL, 1989), ao metabolismo (APPELBAUM e KAMLER, 2000) e a metamorfose (EAGLES et al., 1986.; PUVANENDRAN e BROWN, 2002).

Larvas de peixes, em especial as de habitat pelágicas, são alimentadores visuais e usam a visão como o principal sentido para localizar a presa (BLAXTER, 1986), ou seja, precisam de um ambiente bem iluminado nos primeiros dias de vida (BLAXTER e STAINES, 1970). A criação das larvas sob a faixa ótima de intensidade luminosa pode melhorar as taxas de crescimento e sobrevivência (CHATAIN e GUSCHEMANN, 1991). Em geral, para o cultivo de larvas de peixes marinhos, normalmente a intensidade da luz é mantida dentro de 250 a 2.000 lux (SWEETMAN, 1992; PLANAS e CUNHA, 1999). Entretanto a intensidade luminosa também é um parâmetro espécie-específica, além de variar com cada estágio de desenvolvimento do peixe (BOEUF e LEBAIL, 1999).

Algumas espécies, particularmente bentônicas ou aquelas que vivem em águas muito turvas, são capazes de se alimentar, desenvolver e crescer em intensidades luminosas muito baixas (<1lux) (DOWNING e LITVAK, 1999) ou até mesmo na ausência de luz como observado em larvas de *Mylio macrocephalus* (KIYONO e HIRANO, 1981) e striped bass *Morone saxatilis* (CHESNEY, 1989), que se alimentam normalmente na presença ou ausência de luz, usando quimio e/ou mecanorreceptores para a localização da presa. Em contraste, intensidades de luz mais altas, proporcionaram melhor sobrevivência e crescimento em larvas de *Plectropomus leopardos* - 3000 lux (YOSEDA et al., 2008), Bacalhau-do-atlântico *Gadus morhua* - 2400 lux (PUVANENDRAN e BROWN, 2002) e larvas de linguado *Scophthalmus maximus* - 6.000 a 12.000 lux (PERSON-LE RUYET et al., 1991). Contudo, a luz muito intensa pode ser estressante, levando a

um crescimento reduzido ou até mesmo a morte em algumas espécies (BARAHONA - FERNANDES, 1979 e BOEUF e LE BAIL, 1999).

Para larvas do linguado *Paralichthys lethostigma*, a intensidade luminosa em uma gama de 340-1600 lux, não afetou o crescimento, nem a metamorfose (DANIELS et al. , 1996). Resultados semelhantes foram obtidos por, STEFANSSON et al., (1990), onde larvas de salmão do Atlântico *Salmo salar* não tiveram diferença nas taxas de crescimento entre os grupos submetidos a intensidades de luz que variaram entre 27-1400 lux.

Sabendo que parâmetros físicos mais adequados em sistemas de criação como, o fotoperíodo e a intensidade luminosa podem melhorar a eficiência da piscicultura ornamental, o presente trabalho teve como objetivo avaliar estes dois parâmetros na larvicultura do *A. clarkii*, a fim de estabelecer o mais adequado para aumentar as taxas de crescimento e sobrevivência e diminuir o período larval.

Este capítulo será submetido ao journal of the world aquaculture society.

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Verificar o desempenho zootécnico de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* submetidas a diferentes condições de fotoperíodos e intensidades luminosas.

Objetivos específicos

- Avaliar o crescimento e sobrevivência de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* sobre diferentes condições de fotoperíodo.

- Avaliar o crescimento e sobrevivência de larvas do peixe palhaço *Amphiprion clarkii* sobre diferentes condições de intensidades luminosas (lux).

ARTIGO

Fotoperíodo e intensidade luminosa na sobrevivência e no crescimento de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* (BENNETT 1830)

Resumo

O fotoperíodo e a intensidade luminosa são parâmetros importantes para o desenvolvimento e a sobrevivência de larvas de peixes. O objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento e a sobrevivência de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii* submetidas a quatro regimes de fotoperíodo: 10Luz:14Escuro, 14L:10E, 18L:6E e 24L:0L a uma intensidade de 500 lux, do 1º ao 17º dia após eclosão (DAE) (experimento 1), e quatro intensidades luminosas 200, 500, 1000 e 2000lux com fotoperíodo de 18L:6E, do 1º ao 15º (DAE) (experimento 2), ambos com três repetições. A temperatura utilizada foi 26,5°C e a salinidade 25. No experimento 1, as larvas submetidas aos fotoperíodos 10L:14E, 18L:6E e 24L:0E apresentaram maior ($P < 0,05$) sobrevivência ($84,3 \pm 4,16\%$; $86,3 \pm 1,15\%$ e $80,3 \pm 3,06\%$; média \pm desvio padrão, respectivamente). Para comprimento total, peso úmido, ganho de peso, taxa de crescimento específico e taxa de crescimento diário, as larvas submetidas aos fotoperíodos de 14L:10E, 18L:6E e 24L:0E cresceram mais nestes tratamentos, em comparação com o menor fotoperíodo testado, mas não diferiram entre si ($P > 0,05$). O coeficiente de variação em comprimento (mm) foi menor para os tratamentos 14L:10E e 18L:6E ($3,246 \pm 0,104$ mm e $3,036 \pm 0,133$ mm) e o dobro para o tratamento de 24L:0E ($6,877 \pm 0,473$ mm). O tratamento submetido ao fotoperíodo de 18L:6E foi primeiro a apresentar 100% das larvas metamorfoseadas. No experimento 2, as larvas submetidas a intensidade luminosa de 2000lux apresentaram menor ($P < 0,05$) sobrevivência ($66,18 \pm 4,41\%$), em relação aos demais tratamentos que não diferiram entre si (taxas de sobrevivência acima de 86,76%). As larvas submetidas a 2000lux foram significativamente maiores em comprimento total ($10,95 \pm 0,27$ mm) em relação aos demais tratamentos. Porém o peso úmido, ganho de peso e taxa de crescimento específico das larvas do tratamento de 2000lux foram significativamente maiores ($P < 0,05$) somente quando comparados com o tratamento de 1000lux. A taxa de crescimento diário foi maior para larvas submetidas a intensidade luminosa de 2000lux ($0,43 \pm 0,02$ mm.dia⁻¹). O menor coeficiente de variação foi obtido para larvas submetidas a 200 e 500 lux ($1,450 \pm 0,021$ mm e $1,360 \pm 0,018$ mm). No

9º dia de experimento, surgiram as primeiras larvas metamorfoseadas para os tratamentos de 500,1000 e 2000 lux, ainda sem diferença significativa entre si. Ao final do experimento (15º DAE), a porcentagem de larvas metamorfoseadas foi maior ($P < 0,05$) para os tratamentos 200 e 2000lux e apresentaram valores de $90,53 \pm 4,78$ e 100%, respectivamente. Quando levamos em consideração todos os parâmetros avaliados, conclui-se que o melhor fotoperíodo e a melhor intensidade luminosa a ser utilizado na larvicultura do *A. clarkii* de é 18L:6E e 500lux.

Palavras chaves: 1. Maricultura ornamental. 2. Fatores abióticos. 3. Larvicultura. 4. Metamorfose. 5. Pomacentridae.

1. INTRODUÇÃO

Apesar do foco da aquicultura mundial estar voltado para a produção de peixes de corte, o cultivo de peixes ornamentais é um importante setor da atividade que vem ganhando cada vez mais espaço (PALMA et al., 2008). Estima-se que aproximadamente dois milhões de pessoas no mundo possuam aquários marinhos, movimentando um mercado de aproximadamente US\$ 300 milhões ao ano (WABNITZ et al., 2003).

Entre as poucas espécies de peixes ornamentais marinhos produzidas em cativeiro, estão os peixes-palhaço. O *Amphiprion clarkii* é uma espécie de peixe-palhaço muito cultivada e popular no mercado de peixes ornamentais marinhos. Apesar de sua produção ocorrer de forma intensiva, ainda são necessários estudos que definam parâmetros ambientais ideais para o seu cultivo, principalmente na fase de larvicultura, que é considerada a fase mais crítica (TUCKER et al., 1998). Um dos problemas mais comuns nesta fase é a adaptação ao primeiro alimento, logo após a exaustão do vitelo. Alguns parâmetros físicos podem ter grande importância neste momento, sendo a luz uma delas, uma vez que as larvas são predadoras visuais e necessitam de luz para capturar suas presas (BLAXTER, 1966).

A manipulação do regime de luz exerce um efeito endógeno e pode regular funções fisiológicas nos peixes, afetando assim o metabolismo, o crescimento, a sobrevivência (TAYLOR et al., 2006), a reprodução (BJÖRNSSON et al, 2000; GINÉS et al., 2003; BONNET et al., 2007) e a capacidade das larvas de insuflar a bexiga natatória (RONZANI CERQUEIRA e CHATAIN, 1991).

Em geral, em cultivos intensivos, fotoperíodos mais longos, em comparação com aqueles experimentados por larvas de peixes em ambientes naturais, podem melhorar o crescimento, provavelmente pelo aumento do tempo de disponibilidade do alimento (BOEUF e LE BAIL, 1999). No entanto, na fase escura, ocorre a maior produção de alguns hormônios que estão associados ao crescimento e aos ritmos circadianos, como a melatonina, que tem sua maior concentração no plasma durante a noite (EKSTRÖM e MEISSI, 1997).

Períodos constantes de luz são utilizados em larviculturas de algumas espécies de peixes ornamentais marinhos recifais, como *Chrysiptera parasema*, *Gobiosoma evelynae* e *Centropyge flavissimus* (OLIVOTTO et al., 2003, 2005, 2006). Entretanto, algumas espécies como, *Siganus guttatus* (DURAY e KOHNO, 1988) e o baiacu *Takifugu obscurus* (SHI et al., 2010) apresentaram maior crescimento sob

fotoperíodo intermediário 16L:8E. Para outras espécies, como por exemplo, larvas de *Morone saxatilis*, o ideal foram poucas horas de luz 8L:16E. Desta forma, deve-se considerar que o melhor fotoperíodo na larvicultura de peixes marinhos é espécie-específico, e deve estar associado à variáveis como a intensidade luminosa e o espectro luminoso, além de variar com cada estágio do desenvolvimento e com (BOEUF e LE BAIL, 1999; DOWNING e LITVAK, 1999; TROTTER et al., 2003).

A intensidade luminosa é outro fator importante para o sucesso da primeira alimentação, pois está relacionada com a localização, captura e ingestão de presas. Este parâmetro é pouco estudado para o gênero *Amphiprion* e pode ser um fator limitante no cultivo. Pode estar associada à atividade de natação e alimentação (PETRELL e ANG, 2001; ALMAZA'N-RUEDA et al., 2004), ao canibalismo (HECHT e PIENAAR, 1993; GARDNER e MAGUIRE, 1998; KESTEMONT et al., De 2003), a cor da pele (ROTLLANT et al., 2003), a hormônios fisiológicos (BOEUF e LE BAIL, 1999), ao metabolismo (APPELBAUM e KAMLER, 2000) e a metamorfose (EAGLES et al, 1986.; PUVANENDRAN e BROWN, 2002).

De acordo com Blaxter (1968), 500 lux seriam adequados para proporcionar uma boa condição de primeira alimentação para larvas de peixes marinhos em laboratório, mas, assim como o fotoperíodo, a intensidade luminosa também apresenta respostas diferentes entre as espécies e para cada estágio de desenvolvimento (BOEUF e LEBAIL, 1999).

Larvas de algumas espécies podem crescer e se desenvolver melhor em baixa intensidade de luz, tais como observado em stripped bass *Morone saxatilis* (1lux) (CHESNEY, 1989) e em arenque do Atlântico, *Clupea harengus* inferior a 1lux (BLAXTER, 1975). Por outro lado, algumas espécies aumentam seu crescimento e sua sobrevivência em níveis de luz muito intensa, como nas larvas de *Plectropomus leopardos* (3000lux) (YOSEDA et al., 2008) e do Bacalhau-do-atlântico *Gadus morhua* (2400lux) (PUVANENDRAN e BROWN, 2002). No entanto, a intensidade de luz muito alta pode ser estressante, levando a um crescimento reduzido ou até mesmo a morte em algumas espécies (BARAHONA - FERNANDES, 1979 e BOEUF e LE BAIL, 1999). Para outras, o maior crescimento e sobrevivência foram encontrados em intensidades intermediárias, como é o caso pargo europeu *Sparus aurata* (600–1300 lux) (TANDLER e MASON, 1983) e *Siganus guttatus* (1000lux) (DURAY e KOHNO, 1988).

Segundo Hart et al. (1996), a determinação dos melhores parâmetros ambientais para o cultivo de larvas pode contribuir com o crescimento larval, melhorando assim, as taxas de sobrevivência e reduzindo o período de larvicultura e os custos de produção. Visto que estes parâmetros de iluminação ainda não foram investigados para larvas de *A. clarkii*, o objetivo do presente trabalho foi verificar o melhor fotoperíodo e a melhor intensidade luminosa na larvicultura desta espécie.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Manutenção dos reprodutores

Um casal de reprodutores da espécie *A. clarkii* mantidos no Laboratório de Peixes e Ornamental Marinhos (LAPOM) foi utilizado para o fornecimento de ovos e larvas para este estudo. O casal era mantido em um tanque-rede (1m³) submerso em um tanque de concreto com capacidade de 8000L, em fluxo contínuo de água a uma taxa de renovação de 0,13m³. h⁻¹. A água que abastecia o sistema era captada diretamente do mar e tratada com filtração mecânica (sacos de polipropileno - “Bag” de 100µm), filtro biológico (anéis de cerâmica) e esterilizador Ultra Violeta 11w.

Os peixes eram alimentados duas vezes ao dia (8:00 e 16:00h) até a saciedade aparente, com uma dieta formulada através da mistura de 50% de ração comercial para peixes marinhos (NRD, INVE, Bélgica - 59% proteína bruta e 16% lipídios) e 49% de lula, mexilhão e camarão frescos (mesma proporção de cada item), suplementada com 1% de premix vitamínico e mineral. A mistura era homogeneizada e ofertada em tamanho adequado aos peixes.

A temperatura da água foi mantida em $26,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (média \pm desvio padrão) mensurada duas vezes ao dia com termômetro de mercúrio (precisão de 0,1°C). A salinidade foi 35, medida uma vez ao dia utilizando refratômetro (Modelo RTS-101 ATC), pH em 8,0 - 8.2 monitorado a cada três dias com o kit comercial de análise (Alcon Labcon®) e o fotoperíodo foi mantido em 14Luz:10Escuro.

Dentro do tanque-rede foi colocado um vaso de cerâmica como substrato para a postura dos ovos, a uma profundidade de aproximadamente 25 cm da superfície da água. No LAPOM, a taxa de fecundidade deste casal é de 1500 - 2000 ovos, com frequência de desova a cada 10 dias.

Os ovos são aderentes e os pais realizam cuidado parental, onde principalmente o macho utiliza suas nadadeiras peitorais para oxigenar os ovos por toda fase embrionária. Isto ocorre por um período de sete dias, tempo correspondente ao desenvolvimento completo dos embriões desta espécie. Após o sétimo dia, a desova que no começo apresenta uma cor que varia de laranja a salmão, passa a ter um aspecto brilhante, decorrente da pigmentação dos olhos dos embriões. Nesta fase, os ovos deixam de ser incubados pelos pais, sendo retirados para eclosão.

2.2. Incubação dos ovos

O vaso de cerâmica com a desova foi retirado as 16:00h (horário no qual ocorreu a postura sete dias antes), sendo transferidos para um tanque de fibra de vidro circular, com capacidade de 80L. A água utilizada para incubação foi retirada do tanque dos pais, esterilizada com hipoclorito de sódio (20mL) por um período de 1h e neutralizada com tiosulfato de sódio (5g).

Uma característica das larvas de peixes-palhaços no ambiente natural é eclodir no final do dia, ao escurecer (WILKERSON, 2003). A fim de simular esta situação, o tanque foi coberto com uma lona “blackout” por aproximadamente quatro horas. Uma pedra porosa proporcionou aeração suave sobre os ovos. Após a eclosão, a salinidade da água foi reduzida gradualmente (aproximadamente duas partes por hora) por gotejamento de água doce até chegar em 25, salinidade demonstrada em estudo por Le et al. (2009), na qual larvas de *A. clarkii* apresentaram maior crescimento. A temperatura se manteve em $27 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ e o pH 8,2 durante todo o processo de incubação.

2.3. Condições gerais de manutenção nos experimentos

As larvas foram transferidas para aquários (25x25x35cm) com 15 litros de volume de água (unidades experimentais) um dia após eclosão (DAE). O sistema utilizado para os experimentos era estático, sendo necessário diariamente realizar trocas parciais de água sempre que havia sobra do alimento vivo e/ou matéria orgânica decantada no fundo, com trocas de 30% iguais para todas as unidades experimentais. Os experimentos foram realizados em “água clara”, sem adição de microalgas. Os aquários tinham os lados pretos para reduzir a reflexão da luz e fundo branco, para aumentar contraste presa-predador e melhor visualização das larvas. Cada unidade experimental contava com um aquecedor de 30 watts ligado a um termostato (Modelo MT 511RI

FULL GAUGE precisão de $0,01^{\circ}\text{C}$) e aeração moderada localizada no centro do aquário, a fim de manter os níveis de oxigênio ótimo e uma boa distribuição do alimento vivo na coluna de água.

Os aquários de cada tratamento foram completamente isolados com estruturas de PVC em formato de caixa ($80 \times 80 \times 40\text{cm}$), cobertos com lona blackout para que a luz de um tratamento não interferisse no outro. As estruturas só eram abertas para o manejo diário.

Diariamente, contabilizou-se o número de larvas mortas em cada aquário, as quais eram removidas. As larvas que completavam metamorfose também eram contabilizadas.

Neste estudo, o final do processo de metamorfose, foi representado pelo aparecimento das três bandas que surgem ao longo do processo. A primeira banda a surgir encontra-se na parte posterior da cabeça passando por trás dos olhos, seguida da segunda e da terceira que estão localizadas na região central do corpo e no pedúnculo caudal da larva, respectivamente (Figura 2). Assim que aparecem, as bandas apresentam um aspecto transparente, que com o passar do tempo vão ganhando uma tonalidade branca, ficando mais sólida ao final da metamorfose. Logo, o final do processo de metamorfose para este experimento, foi caracterizado quando as três bandas apresentavam cores brancas bem definidas.

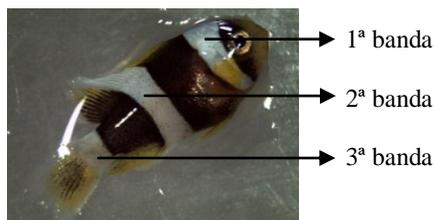


Figura 2: Larva metamorfoseada com as três bandas bem definidas.

2.4. Delineamento Experimental

Foram realizados dois experimentos (fotoperíodo e intensidade luminosa) entre dezembro de 2013 e fevereiro de 2014. Os experimentos foram finalizados quando pelo menos um tratamento apresentou 100% das larvas metamorfoseadas.

Experimento 1: Efeito do fotoperíodo na sobrevivência, no crescimento e na metamorfose de larvas de A. clarkii.

Neste experimento avaliaram-se quatro regimes de luz: 10L:14E, 14L:10E, 18L:6E e 24L:0E, com três réplicas por tratamento.

Utilizou-se 100 larvas por unidade experimental (6,7 larvas . L⁻¹). Para regular o fotoperíodo, utilizou-se timer analógico. A intensidade luminosa foi de 500lux, fornecidas através de lâmpadas fluorescentes de 9 watts, numa altura de 25cm da lâmina de água e aferida com luxímetro digital (INSTRUTHERM, LD-240, Brasil) . O experimento foi finalizado no 16º dia de experimento (larvas com 17 dias após a eclosão - DAE). No início do experimento, as larvas apresentaram comprimento total de $4,94 \pm 0,26$ mm e peso úmido de $1,52 \pm 0,21$ mg.

Experimento 2: Efeito da intensidade luminosa na sobrevivência, no crescimento e na metamorfose de larvas de A. clarkii.

Neste experimento avaliaram-se quatro intensidades luminosas (lux): 200lux, 500lux, 1000lux e 2000lux, com três réplicas por tratamento.

Foram utilizadas 70 larvas por unidade experimental (4,7 larvas . L⁻¹). O lux desejado foi obtido através de lâmpadas fluorescentes, com diferentes potências e alturas da lâmina de água. Para checar a intensidade luminosa, utilizou-se luxímetro digital (INSTRUTHERM, LD-240, Brasil) e o fotoperíodo utilizado foi o que apresentou melhor resultado no experimento anterior (18L:6E). O experimento foi finalizado no 14º dia de experimento (idade larval de 15 DAE). Neste experimento a densidade de larvas foi menor, devido a disponibilidade de larvas. No início do experimento, as larvas apresentaram comprimento total de $4,96 \pm 0,24$ mm e peso úmido de $1,58 \pm 0,24$ mg.

2.5. Alimentação das larvas

Para alimentação das larvas de *A. clarkii*, rotíferos *Brachionus* sp. foram cultivados utilizando o produto comercial S. parkle (INVE, Bélgica), de acordo com as instruções do fabricante. Os parâmetros foram mantidos em salinidade de 25, temperatura de 26°C e fotoperíodo de 12L:12E. A artemia *Artemia* sp. foi adquirida através da eclosão de cistos da empresa (INVE Aquaculture, EUA) em recipientes cônicos de 2 litros, com água do mar (salinidade 35 e pH 8,2) a uma densidade de 1-2 g cistos por litro de água, a temperatura de incubação foi de 28°C.

As larvas foram alimentadas duas vezes ao dia, as 8:00 e 16:00 horas durante a fase clara para todos tratamentos, com rotíferos (15 ind.mL⁻¹) até o 7º DAE, seguido de náuplios de artemia recém-eclodidos

(1 - 3 ind.L⁻¹) (5 - 7° DAE) e metanúplio de artemia (3 - 5 ind.mL⁻¹) do (7° DAE até o final dos experimentos). Rotíferos e metanúplios foram enriquecidos por um período de 3 e 5 horas, respectivamente, com o produto comercial S.presso (INVE tecnologia, Bélgica), de acordo com as instruções do fabricante. Antes de serem ofertados as larvas, os rotíferos enriquecidos eram filtrados em tela de 60µm e lavados com água limpa, na mesma temperatura e salinidade que foram cultivados para retirar o excesso de resíduo do enriquecedor. Já as artemias foram filtradas em tela de 500µm e lavadas com água doce corrente por aproximadamente 20 segundos, com o mesmo intuito.

2.6. Qualidade de água

A temperatura da água durante os experimento foi $26,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (experimento 1) e $26,3 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ (experimento 2), registrada 2x ao dia, e a salinidade mantida em 25 (experimento 1 e 2) (monitorada 1x ao dia). O oxigênio dissolvido ficou em $6,3 \pm 0,5$ (experimento 1) e $6,5 \pm 0,5$ (experimento 2), aferido diariamente com sonda (Alfakit, AT155, Brasil). O pH manteve-se entre 8,0 e 8,2 e a amônia tóxica (NH₃) e o nitrito (NO₂) mantiveram-se menor que 0,005 mg. L⁻¹ e em 0 mg L⁻¹, respectivamente, para ambos experimentos, monitorados a cada três dias com o kit comercial de análise (Alcon Labcon®).

2.7. Parâmetros avaliados

No início de cada experimento foram coletadas aleatoriamente 20 larvas para mensurar o comprimento total (CT em mm) e peso úmido (P em mg). No final de cada experimento, 60 indivíduos de cada tratamento (20/réplica) foram capturados aleatoriamente para analisar os mesmos parâmetros. Para isto, utilizou-se um microscópio estereoscópio (Olympus SZ40) e balança analítica (Shimadzu AUW220D, com precisão de 0,0001g). Antes de realizar a biometria, os peixes foram anestesiadas com benzocaína (Reagen®/Brasil) a uma concentração de 0,5 mg.L⁻¹ e postas sobre papel toalha para retirar o excesso de água.

Além do CT e P, foram também analisados os seguintes parâmetros relacionados ao crescimento:

- Taxa de crescimento diário (TCD) em comprimento:

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

- Taxa de crescimento específico (TCE) em peso:

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

- Ganho de peso (GP).

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

Onde CTf é o comprimento total final, CTi é o comprimento total inicial, Pf é o peso final, Pi é o peso inicial e t é o tempo entre as duas biometrias (dia).

Também foram calculados, a taxa de sobrevivência e o coeficiente de variação (para avaliar o lote mais homogêneo em comprimento):

- Taxa de sobrevivência (TS)

$$\text{TS } (\%) = 100 \times (\text{Ni} - \text{Nm}) / \text{Ni}$$

Onde Ni é o número inicial de larvas, Nm é o número total de mortos durante o experimento.

- Coeficiente de variação (CV)

$$\text{CV} = 100 \times S / \bar{X}$$

Onde S é o desvio padrão e \bar{X} é a média dos dados do comprimento.

2.8. Análise estatística

Para constatar a ocorrência de diferenças significativas entre os tratamentos, utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA), com nível de significância de 5%. Quando constatada diferença, aplicou-se o teste de Tukey para comparação entre médias. A homocedasticidade dos dados foi testada através do teste de Levene e as médias de sobrevivência e metamorfose foram transformadas em arco-seno.

3. RESULTADOS

Experimento 1: Efeito do fotoperíodo na sobrevivência, no crescimento e na metamorfose de larvas de A. clarkii.

3.1. Sobrevivência

A taxa de sobrevivência, ao final do experimento, foi significativamente maior ($P < 0,05$) para larvas submetidas aos fotoperíodos de 18L:6E ($84,3 \pm 4,16\%$) e 24L:0E ($86,3 \pm 1,15\%$), somente quando comparada com o tratamento 14L:10E ($74,3 \pm 4,93\%$). (Figura 3).

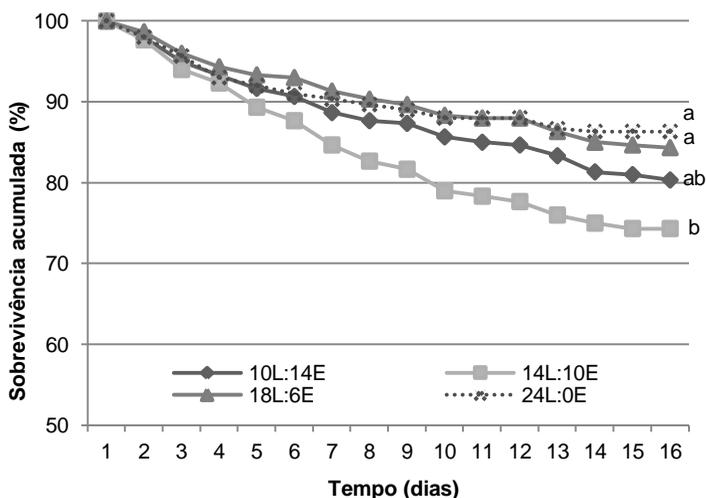


Figura 3. Sobrevivência média acumulada (%) das larvas de *A. clarkii* cultivadas em diferentes regimes de fotoperíodo ao longo de 16 dias de experimento. Letras diferentes em cada tratamento ao final do experimento indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

3.2. Crescimento larval

Ao final do experimento, o comprimento total foi significativamente maior ($P < 0,05$) para larvas submetidas aos fotoperíodos de 14L:10E ($12,28 \pm 0,40\text{mm}$) e 18L:6E ($12,52 \pm 0,38\text{mm}$), somente quando comparado ao tratamento 10L:14E ($10,21 \pm 0,50\text{mm}$) (Figura 4).

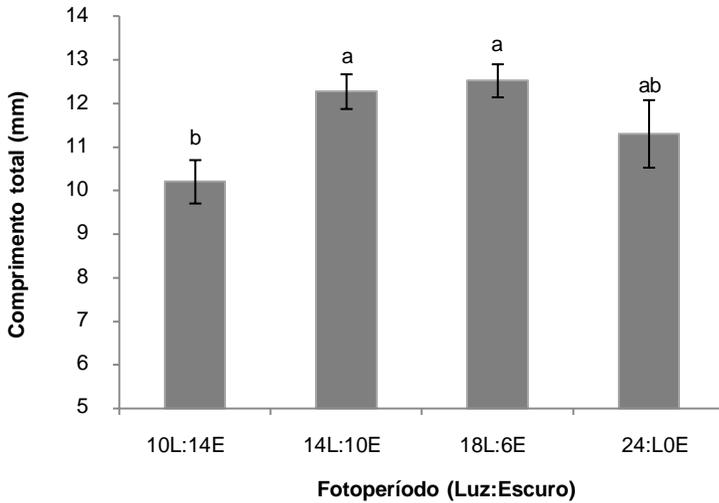


Figura 4. Comprimento total final (média \pm DP, n=60/tratamento) de larvas de *A. clarkii* cultivadas em diferentes fotoperíodos ao final de 16 dias de experimento. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$).

O peso úmido, ao final do experimento, foi significativamente menor ($P < 0,05$) para larvas submetidas ao fotoperíodo de 10L:14E ($19,08 \pm 4,07$ mg) em relação aos tratamentos 14L:10L ($28,93 \pm 2,89$ mg), 18L:6E ($31,21 \pm 2,67$ mg) e 24L:0E ($29,89 \pm 3,10$ mg) que não apresentaram diferença significativa entre si (Figura 5).

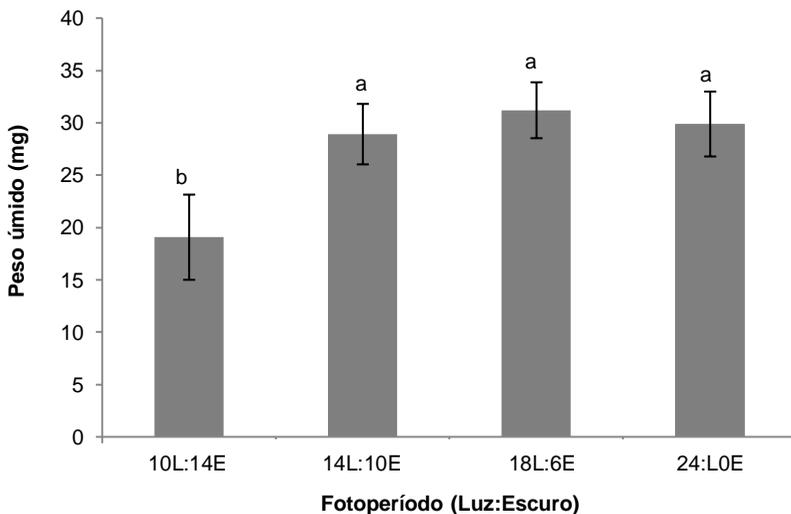


Figura 5. Peso úmido (média \pm DP, $n=60$ /tratamento) das larvas de *A. clarkii* cultivadas em diferentes fotoperíodos ao final de 16 dias de experimento. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($P<0,05$).

O ganho de peso e a taxa de crescimento específico (TCE) foram significativamente menores ($P<0,05$) para larvas submetidas ao fotoperíodo de 10L:14E em relação aos demais tratamentos, que não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1). A taxa de crescimento diário (TCD), foi significativamente maior ($P<0,05$) para larvas submetidas a 14L:10E e 18L:6E, somente quando comparada a larvas do tratamento a 10L:14E e não diferiram em relação ao tratamento 24L:0E (Tabela 1).

O coeficiente de variação, ao final do experimento, mostrou que larvas submetidas aos fotoperíodos de 14L:10E e 18L:6E apresentaram menor heterogeneidade em relação aos demais tratamentos, sendo os valores mais do que a metade do tratamento 24L:0E ($P<0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros zootécnicos (média±DP, n=60/tratamento) de larvas do peixe-palhaço *A.clarkii* cultivadas em diferentes regimes de fotoperíodo ao final de 16 dias de experimento (17DAE).

Tratamentos (Luz:Escuro)	Ganho de peso (mg)	Taxa de crescimento específico (% dia ⁻¹)	Taxa de crescimento diário (mm.dia ⁻¹)	Coefficiente de variação (mm)
10L:14E	17,56 ± 4,07 ^b	16,17 ± 1,22 ^b	0,29 ± 0,03 ^b	4,887 ± 0,241 ^b
14L:10E	27,41 ± 2,89 ^a	18,59 ± 0,58 ^a	0,41 ± 0,02 ^a	3,246 ± 0,104 ^a
18L:6E	29,69 ± 2,67 ^a	19,03 ± 0,48 ^a	0,42 ± 0,03 ^a	3,036 ± 0,133 ^a
24L:0E	28,37 ± 3,10 ^a	18,78 ± 0,60 ^a	0,35 ± 0,04 ^{ab}	6,877 ± 0,473 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (P<0,05) para os diferentes fotoperíodos.

3.3. Metamorfose

No 9º dia de experimento (10º DAE), começaram a surgir as primeiras larvas metamorfoseadas para os tratamentos submetidos aos fotoperíodos de 14L:10E, 18L:6E e 24L:0E, ainda sem diferença significativa entre eles ($P < 0,05$). O tratamento 10L:14E, tardou dois dias em relação aos demais (12º DAE), para o surgimento das primeiras larvas metamorfoseadas, e a taxa de metamorfose permaneceu significativamente menor ($P < 0,05$) em relação aos demais tratamentos, durante todo experimento. No 16º dia (fim do experimento), o tratamento 18L:6E apresentou 100% das larvas metamorfoseadas, contra 24L:0E ($89,6 \pm 4,18\%$), 14L:10E ($74,9 \pm 9,22\%$) e 10L:14E ($47,1 \pm 9,29\%$) ($P < 0,05$) (Figura 6).

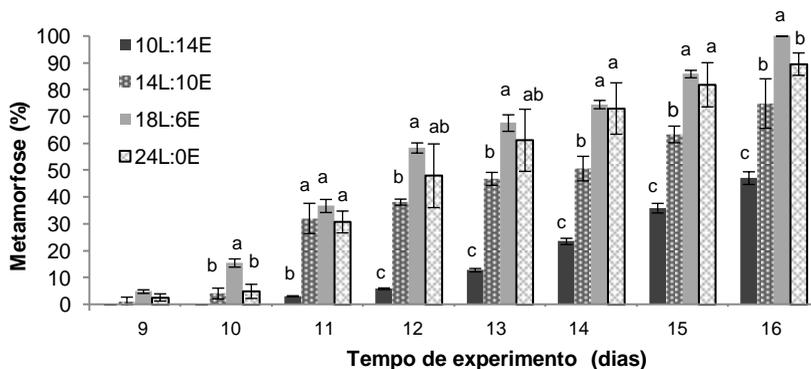


Figura 6. Porcentagem cumulativa de indivíduos metamorfoseados ao longo do experimento. Letras diferentes no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Ao final do experimento foi observado também um padrão diferenciado de pigmentação das larvas metamorfoseadas nos diferentes fotoperíodos, onde a intensidade de pigmentação apresentou uma relação direta com o número de horas de luz.



Figura 7: Coloração das larvas metamorfoseadas ao final de 16 dias de experimento em cada tratamento.

Assim, larvas submetidas aos menores fotoperíodos, apresentaram pigmentação do corpo mais enegrecida e nadadeiras menos alaranjadas e à medida que as horas de luz aumentavam, mais alaranjado era o corpo e as nadadeiras (Figura 7).

Experimento 2: Efeito da intensidade luminosa na sobrevivência, no crescimento e na metamorfose de larvas de A. clarkii.

3.4. Sobrevivência

A taxa de sobrevivência, ao final do experimento, foi significativamente menor ($P < 0,05$) para larvas submetidas à intensidade luminosa de 2000lux ($66,2 \pm 4,41\%$) em relação aos tratamentos 200lux ($86,8 \pm 5,09\%$), 500lux ($89,2 \pm 3,70\%$) e 1000lux ($89,7 \pm 3,89\%$), que não apresentaram diferença significativa entre si (Figura 8). Embora não esteja expressa no gráfico, somente a partir do 4º dia de experimento a diferença significativa na sobrevivência das larvas do tratamento de 2000lux foi notada em relação aos demais tratamentos ($P < 0,05$).

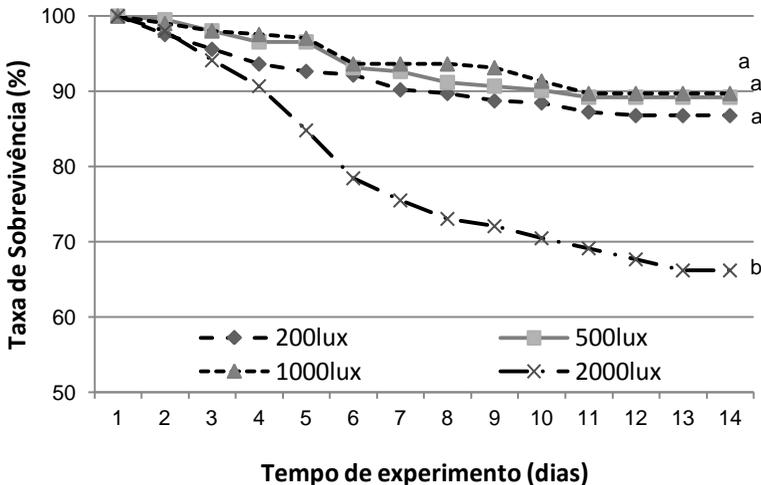


Figura 8. Sobrevivência média acumulada (%) das larvas de *A. clarkii* cultivadas em diferentes intensidades luminosas ao longo de 14 dias de experimento. Letras diferentes em cada tratamento ao final do experimento indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

3.5. Crescimento larval

O comprimento total, ao final do experimento, foi significativamente maior ($P < 0,05$) para larvas submetidas à intensidade luminosa de 2000lux ($10,95 \pm 0,27\text{mm}$) em relação às larvas dos tratamentos 200lux ($10,30 \pm 0,15\text{mm}$), 500lux ($10,39 \pm 0,14\text{mm}$) e 1000lux ($10,38 \pm 0,16\text{mm}$), que não diferiram entre si (Figura 9).

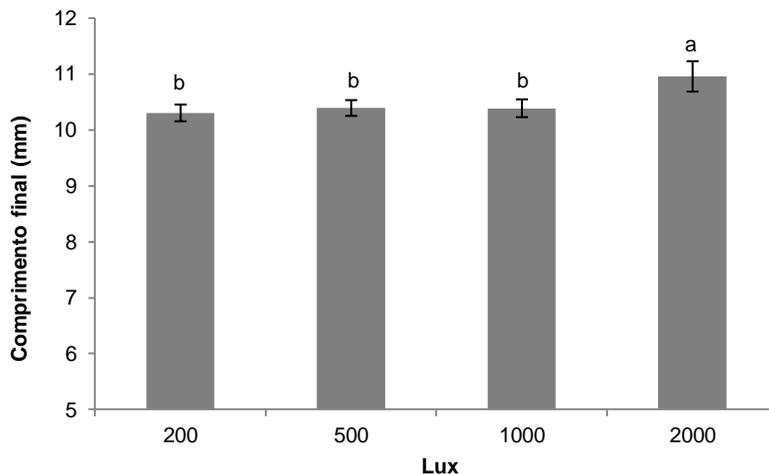


Figura 9. Comprimento total (média \pm DP, $n=60/\text{tratamento}$) de larvas de *A. clarkii* cultivadas em diferentes intensidades luminosas ao final de 14 dias de experimento. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Após 14 dias de experimento, o peso úmido foi significativamente maior ($P < 0,05$) para larvas expostas à intensidade luminosa de 2000lux ($21,28 \pm 1,02$ mg), somente quando comparado ao tratamento de 1000lux ($17,50 \pm 1,59$ mg), porém não diferiu significativamente dos tratamentos de 200lux ($18,56 \pm 0,66$ mg) e 500lux ($18,77 \pm 0,65$ mg) (Figura 10).

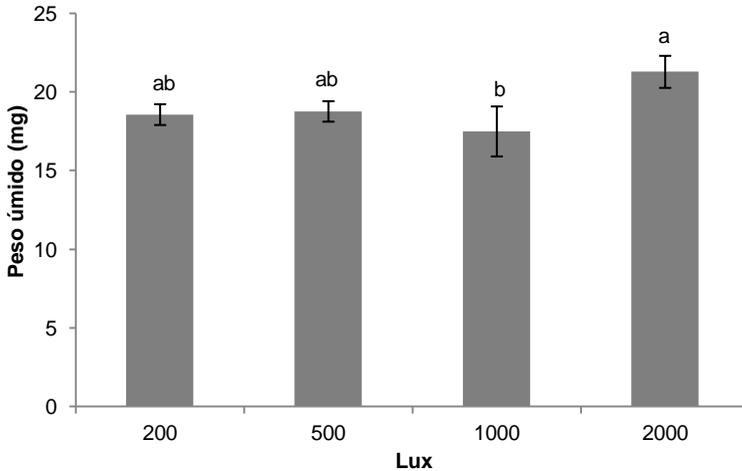


Figura 10. Peso úmido (média \pm DP, n=60/tratamento) das larvas de *A. clarkii* cultivadas em diferentes intensidades luminosas ao final de 14 dias de experimento. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$).

O ganho de peso e a taxa de crescimento específico (TCE), foram significativamente maiores ($P < 0,05$) para larvas submetidas à intensidade luminosa de 2000lux, somente quando comparados ao tratamento 1000lux, no entanto, estas taxas não foram diferentes a nível estatístico em relação aos demais tratamentos. A taxa de crescimento diário (TCD) foi maior ($P < 0,05$) para 2000lux ($0,43 \pm 0,02 \text{ mm.dia}^{-1}$) em relação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si (Tabela 2).

O coeficiente de variação, ao final do experimento, mostrou que larvas submetidas a 2000lux apresentaram maior heterogeneidade de tamanho, enquanto, larvas do tratamento de 500lux, apresentaram menor heterogeneidade, mas somente quando comparado ao tratamento de 1000 e 2000lux (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros zootécnicos (média±DP, n=60/tratamento) das larvas do peixe-palhaço *A. clarkii* cultivadas em diferentes intensidades luminosas (lux) ao final de 14 dias de experimento (15DAE).

Treatamento (Lux)	Ganho de peso (mg)	Taxa decrescimento específico (% dia ⁻¹)	Taxa de crescimento diário (mm.dia ⁻¹)	Coefficiente de variação (mm)
200	17,04 ± 0,66 ^{ab}	17,87 ± 0,25 ^{ab}	0,38 ± 0,01 ^b	1,450 ± 0,021 ^{ab}
500	17,25 ± 0,65 ^{ab}	17,95 ± 0,25 ^{ab}	0,39 ± 0,01 ^b	1,360 ± 0,018 ^a
1000	17,65 ± 1,59 ^b	17,43 ± 0,65 ^b	0,39 ± 0,01 ^b	1,561 ± 0,024 ^b
2000	20,46 ± 1,02 ^a	18,84 ± 0,35 ^a	0,43 ± 0,02 ^a	2,416 ± 0,061 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (P<0,05) para as diferentes intensidades luminosas.

3.6. Metamorfose

No 9º dia de experimento começaram a surgir às primeiras larvas metamorfoseadas nos tratamentos submetidos às intensidades luminosas de 500, 1000 e 2000lux, sem diferença significativa na porcentagem entre eles ($P < 0,05$). O tratamento de 200lux que tardou um dia em relação aos demais para surgir às primeiras larvas metamorfoseadas chegou ao final do experimento com ($90,53 \pm 4,78\%$), sem diferença estatística em porcentagem de larvas metamorfoseadas em relação ao tratamento de 2000lux, que apresentava 100% dos indivíduos metamorfoseados. O tratamento 2000lux foi o único que apresentava 100% das larvas metamorfoseadas, em relação à 500lux ($87,84 \pm 3,69\%$) e 1000lux ($79,73 \pm 1,86\%$) que apresentaram as menores taxas (Figura 11).

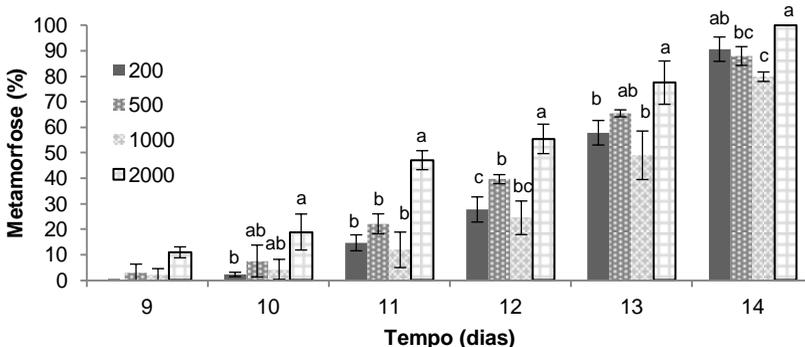


Figura 11. Porcentagem cumulativa (média \pm DP) de indivíduos metamorfoseados ao longo do experimento. Letras diferentes no mesmo dia indicam diferença estatística entre os tratamentos ($P < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

O fotoperíodo e a intensidade luminosa influenciaram o crescimento, a sobrevivência, o tempo de metamorfose e a homogeneidade das larvas de *Amphiprion clarkii*. A luz tem papel fundamental nesta fase de desenvolvimento, pois está relacionada com a localização, captura e ingestão de presas, já que a maioria das larvas são predadoras visuais (DOWNING e LITVAK, 1999).

Segundo Boeuf e Le Bail (1999), períodos mais longos de luz, do que os encontrados no ambiente natural podem melhorar a sobrevivência e crescimento das larvas de peixes, provavelmente pelo

aumento do tempo de disponibilidade do alimento. Neste estudo, houve um aumento da sobrevivência com o aumento do fotoperíodo, com exceção do tratamento 14L:10E que apresentou menor sobrevivência quando comparado ao tratamento de 10L:14E. Não ficou implícito o provável motivo deste resultado. As taxas de sobrevivência encontradas, foram consideradas boas para todos os tratamentos em comparação com outros estudos com a mesma espécie e com outras do gênero *Amphiprion* (Tabela 3).

As respostas de crescimento mostraram que períodos prolongados de luz (14,18 e 24 horas de luz) resultaram em um maior crescimento e melhor desenvolvimento (menor tempo para metamorfose) das larvas de *A. clarkii* do que as submetidas a 10 horas de luz. Neste sentido, horas máximas de alimentação (24L:0E) não é necessariamente o fator mais importante para o maior crescimento de larvas de *A. clarkii*. Trabalhos também tem mostrado que fotoperíodo contínuo pode levar a taxa de consumo de alimento tão alto, que o tempo de evacuação intestinal do alimento passa a ser mais rápida, tornando as taxas de assimilação mais baixas, reduzindo o crescimento (HOWELL et al., 1998).

Foi observado que durante a fase escura, as larvas nos primeiros dias de vida eram menos ativas, e a partir do início do processo de metamorfose, ficavam no fundo dos aquários em repouso, inativas. Desta forma, presume-se que na fase escura haja uma economia de energia por parte das larvas que pode se equiparar ao alto gasto energético durante uma alimentação prolongada. Contudo, no período mais curto de luz 10L:14E, houve um prejuízo no crescimento e no início do processo de metamorfose das larvas. Estes resultados estão de acordo com dois estudos que trabalharam com *A. melanopus* (ARVEDLUND et al., 2000) e *A. percula* (VINOTH et al., 2010), no qual o fotoperíodo intermediário (16L:8E), promoveu maior crescimento e menor duração da fase larval em relação a regimes com 12 e 24 horas de luz.

O coeficiente de variação do comprimento, ao final do experimento, mostrou que larvas submetidas aos fotoperíodos de 14L:10E e 18L:6E apresentaram menor heterogeneidade de tamanho do lote em relação aos demais tratamentos, sendo os valores a metade do tratamento 24L:0E. É interessante manter a homogeneidade das larvas de peixes marinhos, uma vez que o alimento vivo é ofertado de acordo com seu tamanho, logo, se estes apresentarem padrão heterogêneo, isto implica em mais trabalho e gasto para o produtor em ofertar dois organismos (rotífero e artemia) por um período prolongado. Além disso,

a heterogeneidade no tamanho resultou em dominância alimentar e agressividade.

A maioria das espécies de peixes deve atingir um determinado tamanho antes que eles possam metamorfosear em um juvenil, sendo o comprimento e/ou taxa de crescimento de larvas de peixes ósseos um dos fatores mais importantes que determina o desenvolvimento e o aparecimento da metamorfose (YOUSON, 1988). O surgimento das primeiras larvas metamorfoseadas (10° DAE) ocorreu primeiro nos tratamentos 14L:10E, 18L:6E e 24L:0E e tardiamente (12° DAE) no 10L:14E.

A obtenção de larvas saudáveis que irão metamorfosear com sucesso para suas formas jovens é fundamental para esta fase tão crítica (HOLT, 2003). Neste sentido, quanto mais rápido as larvas apresentarem a metamorfose, melhor será para o produtor, pois, além de serem mais resistentes, é nesta fase que começam a serem comercializadas. A antecipação da metamorfose pode ser um fator favorável no comércio de peixes ornamentais, pois a diminuição do período larval implica também em menores custos no cultivo e em maior quantidade de ciclos produtivos (ROTTA, 2014).

Baseado nos fatos acima citados sugere-se a utilização do fotoperíodo de 18L:6E, pois, além de apresentar bons resultados de crescimento, tempo de metamorfose e homogeneidade das larvas, resultaria numa economia com alimento e energia elétrica em relação a luz contínua (24L:0E).

Embora não tenha sido quantificado, o padrão de coloração das larvas foi influenciado pelos diferentes fotoperíodos, sendo evidente a olho nu que larvas submetidas aos menores regimes de luz, apresentavam pigmentação do corpo mais enegrecida e nadadeiras menos alaranjadas, e à medida que as horas de luz aumentavam, mais alaranjado era o corpo e as nadadeiras. Sugerem-se assim, mais estudos para avaliar a relação entre horas de luz e produção de pigmentos nas larvas de *A. clarkii*.

Tabela 3: Resultados de sobrevivência e os parâmetros físicos utilizados em larviculturas de espécies do gênero *Amphiprion*

Fotoperíodo (Luz:Escuro)	Intensidade luminosa (lux)	Temperatura (°C)	Salinidade	Tempo de experimento (DAE)	Sobrevivência (%)	Referências
18L:6E	500	26	25	17	84,3%	Presente estudo (experimento 1)
24L:0E					86,3%	
10L:14E					80,3%	
14L:10E					74,3%	
18L:6E	200	26	25	15	86,7%	
	500				89,2%	
	1000				89,7%	
	2000				66,2%	
16L:8E	2000	26 -30	20	20	53%	Medeiros, 2013
14L:10E	1200	26	25	8	72,6%	Rotta, 2014
24L:0E	-	28	30	15	55%	Olivotto et al., 2008a
24L:0E	-	28	30	11	90%	Olivotto et al., 2008b
24L:0E	-	26	30	13	66%	Nass, 2014
-	1000-2000	29	20-25	11	87,3%	Le et al., 2011
12L:12E	-	-	26	22	53,6%	Ghosh et al., 2012
16L:8E	-	-	33	25	70%	Arvedlund et al., 2000
12L:12E	600	27	25	25	53%	Dhaneesh et al., 2012
24L:0E	-	28	30	15	58%	Olivotto et al., 2011
12L:12E	800	28	26	38	68%	Divya et al., 2011

(-) não informado pelo autor

Vários estudos têm demonstrado que a intensidade da luz pode afetar o crescimento e a sobrevivência de larvas de peixes marinhos (BARAHONA-FERNADES, 1979; KIYONO e HIRANO, 1981; CHESNEY, 1989; MARTIN- ROBICHAUD e PETERSON, 1998; DOWNING e LITVAK, 1999; VILLAMIZAR et al., 2009).

As taxas de sobrevivência encontradas no experimento 2 (intensidade luminosa) foram semelhantes as do experimento 1 (fotoperíodo) (Tabale 3). Segundo Boeuf e Le Bail, (1999) a luz muito intensa pode ser estressante, ou até mesmo letal. Isto provavelmente reflete as altas mortalidades encontradas nas larvas submetidas a 2000 lux.

Em 2000 lux, as larvas eram visivelmente mais ativas, fato que pode ter refletido num alto gasto energético, podendo ser outro fator para a alta mortalidade obtida neste tratamento. Segundo Batty (1987), a intensidade luminosa influi no aumento da atividade larval e na velocidade de natação, o que pode ser positivo por aumentar a capacidade de captura do alimento, mas da mesma forma pode ser negativo, devido ao grande gasto energético. Efeitos similares foram relatados por Lin (2009), no qual juvenis de cavalo marinho (*Hippocampus erectus*) cultivados em alta intensidade luminosa (3000lux) eram mais ativos, o que ocasionou maior mortalidade, sendo sugerido pelo autor, que o provável motivo foi o alto gasto energético. Barahona - Fernandes (1979) confirmou que fortes intensidades de luz podem ser letais para a fase inicial de larvas de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), que apresentaram melhor crescimento, entretanto menor sobrevivência.

Segundo Parra e Yu'fera (2000) o sucesso da primeira alimentação é influenciado pela capacidade de larvas para capturar presas. A maior mortalidade no tratamento de 2000lux fez o alimento vivo tornar-se mais abundante devido a menor densidade e menor taxa de predação larval. A maior disponibilidade do alimento faz com que as larvas gastem menos energia para capturar sua presa. Neste sentido, larvas de *A. clarkii* cultivadas nesta intensidade, cresceram mais, provavelmente pela maior disponibilidade do alimento.

O maior comprimento das larvas do tratamento 2000 lux, possivelmente favoreceu a maior capacidade de predação e de captura de organismos maiores como a artemia. Isto pode ser atribuído a vantagens morfológicas, como maior tamanho da boca, maior capacidade de intestino e melhor acuidade visual.

Larvas no tratamento de 2000 lux foram as primeiras com 100% das larvas metamorfoseadas, refletido possivelmente pelo maior crescimento, uma vez que o comprimento e/ou taxa de crescimento de larvas de peixes ósseos é um dos fatores mais importantes que determina o desenvolvimento e o aparecimento da metamorfose (YOUSON, 1988). Neste mesmo tratamento também foi observado uma maior heterogeneidade no comprimento larval.

Recomenda-se utilizar uma intensidade intermediária de 500lux, enquanto estiverem sendo ofertados rotíferos, pois, larvas submetidas a 200lux tiveram seu desenvolvimento inicial comprometido. Estas atrasaram um dia para iniciar a metamorfose em relação aos demais tratamentos. No entanto, quando as larvas ficaram maiores (visão mais desenvolvida) e também com a introdução da artemia, as mesmas alcançaram os melhores resultados de sobrevivências e porcentagem de indivíduos metamorfoseados ao final do experimento. A hipótese levantada para esse atraso no desenvolvimento pode estar associado à dificuldade das larvas visualizarem os rotíferos.

Ablett e Richards, (1980) relataram que larvas de linguado (*Solea solea*) tiveram dificuldade para visualizar rotíferos, por serem menores e mais transparentes que náuplios de artemia e foram ineficientes como alimento, possivelmente por serem menos visíveis. Intensidades baixas de luz podem restringir a função visual e levar à má alimentação, menor crescimento e sobrevivência (BLAXTER, 1986), embora seja preferível para algumas espécies como “stripped bass” (*Morone saxatilis*) (1 lux) (CHESNEY, 1989).

Faz necessários mais estudos para avaliar o efeito da intensidade luminosa em cada fase do desenvolvimento larval do *A. clarkii*, visto que é um fator limitante na aquicultura, e tem respostas diferentes para cada estágio de desenvolvimento.

5. CONCLUSÃO

As condições de iluminação ideais para aumentar o crescimento e sobrevivência e diminuir o período larval, assim como produzir larvas mais homogêneas de *A. clarkii* é um fotoperíodo de 18L:6E e uma intensidade luminosa de 500lux.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ABLETT, R.F.; R.H. RICHARDS. Suitability of twenty-four-hour and forty-eight-hour unfed *Artemia* as an early foodstuff for '0' group Dover sole (*Solea solea* L.) production. **Aquaculture**, v.19, p.371-377, 1980.

ALMAZA N-RUEDA, P.; SCHRAMA, J.W.; VERRETH, J.A.J. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. **Aquaculture**, v.231, p.347– 359, 2004.

APPELBAUM, S.; KAMLER, E. Survival, growth, metabolism and behaviour of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) early stages under different light conditions. **Aquac. Eng.**, v. 22, p.269-287, 2000.

ARVEDLUND, M.; LARSEN, K.; WINSOR, H. The embryonic development of the olfactory system in *Amphiprion melanopus* (Perciformes: Pomacentridae) related to the host imprinting hypothesis. **J. Mar. Biol. Assoc. UK**, p.1103-1109, 2000.

BARAHONA-FERNANDES, M. L. Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae *Dicentrarchus labrax* (L.) reared at the Centre Oceanologique de Bretagne. **Aquaculture**, v.17, p.311-321, 1979.

BATTY, R.S. Effect of light intensity on activity and food-searching of larval herring, *Clupea harengus*: a laboratory study. **Mar. Biol.**, V.94, p.323–327, 1987.

BJÖRNSSON, B.T.; HEMRE, G.I.; BJØRNEVIK, M.; HANSEN, T. Photoperiod regulation of plasma growth hormone levels during induced smoltification of underyearling Atlantic salmon. **Gen. Comp. Endocrinol.** 119, 17–25, 2000.

BLAXTER, J. H. S. The eyes of larval fish. In: **Vision in Fishes, New Approaches in Research**, ed. M. A. Ali. Plenum Press, New York, 1975, p.427-443.

BLAXTER, J.H.S. Rearing herring larvae to metamorphosis and beyond. **J. Mar. Biol. Assoc. UK**, v. 48, p.17-28, 1968.

BLAXTER, J.H.S. Visual thresholds and spectral sensitivity of flatfish larvae. *J. Exp. Biol.*, v.51, p.221–230, 1986.

BOEUF, G.; LE BAIL, P.Y. Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, v.177, p.129– 152, 1999.

BONNET, E.; MONTFORT, J.; ESQUERRE, D.; HUGOT, K.; FOSTIER, A.; BOBE, J. Effect of photoperiod manipulation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg quality: a genomic study. *Aquaculture*, v.268, p.13–22, 2007.

CERQUEIRA, V. R.; CHATAIN, B. Photoperiodic effects on the growth and feeding rhythm of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, larvae in intensive rearing. In: Larvi '91 - Fish and Crustacean Larviculture Symposium, eds. P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jaspers, F. Ollevier. *European Aquaculture Society, Special Publication*, v.15, p.304-306, 1991.

CHESNEY JR, E. J. Estimating the Food Requirements of Striped Bass Larvae *Morone saxatilis*: Effects of Light, Turbidity and Turbulence. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, v.53, p.191-200, 1989.

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

DIVYA, S. P., KUMAR, T. T. A., RAJASEKARAN, R., BALASUBRAMANIAN, T. Larval rearing of clownfish using *Brachionus plicatilis* rotifer as starter food. *Science Asia*, v.37, p.179-185, 2011.

DOWNING, G.; LITVAK, M.K. The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquac. Int.*, v.7, p.369–382, 1999.

DURAY, M.; KOHNO, H. Effects of continuous lighting on growth and survival of first-feeding larval rabbitfish, *Siganus guttatus*. *Aquaculture*, v.72, p.73-79, 1988.

EAGLES, M.D.; AIKEN, D.E.; WADDY, S.L. Influence of light and food on larval American lobsters *Homarus americanus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v.43, p.2303-2310, 1986.

EKSTRÖM, P.; MEISSI, H. The pineal organ of teleost fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.* v.7, p.199–284, 1997.

GARDNER, C.; MAGUIRE, G.B. Effect of photoperiod and light intensity on survival, development and cannibalism of larvae of the Australian giant crab *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture*, v.165, p.51– 63, 1998.

GINÉS, R.; AFONSO, J.M.; ARGÜELLO, A.; ZAMORANO, M.J.; LÓPEZ, J.L. Growth in adult gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) as a result of interference in sexual maturation by different photoperiod regimes. *Aquac. Res.*, v.34, p.73–83, 2003.

GHOSH, S., KUMAR, T. T. A., NANTHINIDEVI, K., BALASUBRAMANIAN, T. 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*. v.3, p. 56-60, 2012.

HECHT, T.; PIENAAR, A.G. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. *J. World Aquac. Soc.*, v.24, p.246–261, 1993.

HOLT, G.J. Research on culturing the early life history stages of marine ornamental species. In: Cato, J.C., Brown, C.L. (Eds.), *Marine Ornamental Species: Collection, Culture and Conservation*. **Iowa State Press**, p.251–254, 2003.

HOWELL, B.R.; DAY, O.J.; ELLIS, T.; BAYNES, S.M. Early life stages of farmed fish. In: BLACK, K.; PICKERING, A. (Ed.). **Biology of farmed fish**. Sheffield, England: Sheffield Academic Press, 1998. p.27-66.

KESTEMONT, P.; JOURDAN, S.; HOUBART, M.; MELARD, C.; PASPATIS, M.; FONTAINE, P.; CUVIER, A.; KENTOURI, M.; BARAS, E. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured

predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. **Aquaculture**, v.227, p.333–356, 2003.

KIYONO, M.; HIRANO, R. (1981), Effects of Light on the Feeding and Growth of Black Porgy, *Mylio macrocephalus* (Basilewsky), Postlarvae and Juveniles. **In: The Early Life History of Fish: Recent Studies**, eds. R. Lasker, K. Sherman, 334-336.

LE, Y.; SHENG-YUN, Y.; XIAO-MING, Z.; MIN, L.; JING-YI, L.; KAI-CHANG, W. 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.

LIN Q, ZHANG D, LIN J. Effects of light intensity, stocking density, feeding frequency and salinity on the growth of sub-adult seahorses *Hippocampus erectus* Perry, 1810. **Aquaculture**, v.292, p.111–116, 2009.

MARTIN-ROBICHAUD, D.J.; PETERSON, R.H. Effects of light intensity, tank colour and photoperiod on swimbladder inflation success in larval striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum). **Aquac. Res.**, V.29, p.539–547, 1998.

MEDEIROS, A. F. **Desenvolvimento de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*: efeito da salinidade e da temperatura**. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

NASS, D. H. **Efeito da antecipação da oferta de Artemia na larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii***. Dissertação (Mestrado em aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

OLIVOTTO, I.; BUTTINO, I.; BORRONI, M.; PICCINETTI, C. C.; MALZONONE, M. G.; CARNEVALI, O. The use of the mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. **Aquaculture**, v.284, p.211-216, 2008b.

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**, v.274, p.347-352, 2008a.

OLIVOTTO, I.; CARDINALI, M.; BARBARESI, L.; MARADONNA, F.; CARNEVALI, O. Coral reef fish breeding: the secrets of each species. **Aquaculture**, v.224, p.69–78, 2003.

OLIVOTTO, I.; HOLT, S.; CARNEVALI, O.; HOLT, J. Spawning, early development and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. **Aquaculture**, v.253, p.270-278, 2006.

OLIVOTTO, I., STEFANO, M., ROSETTI, S., COSSIGNANI, L., PUGNALONI, A., GIANTOMASSI, F., CARNEVALI, O. 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**, v.159, p.207-218, 2011

OLIVOTTO, I.; ZENOBI, A.; ROLLO, A.; MIGLIARINI, B.; AVELLA, M.; CARNEVALI, O. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. **Aquaculture**, v.250, p.175–182, 2005.

PALMA, J.; STOCKDALE, J.; CORREIA, M.; ANDRADE, J. P. Growth and survival of adult long snout seahorse (*Hippocampus guttulatus*) using frozen diets. **Aquaculture**, v.278, p.55–59, 2008.

PARRA, G.; YUFERA, M. Feeding, physiology and growth responses in first-feeding gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae in relation to prey density. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.243, p. 1-15, 2000.

PETRELL, R.J.; ANG, K.P. Effects of pellet contrast and light intensity on salmonid feeding behaviours. **Aquac. Eng.**,v.25, p.175-186, 2001.

PUVANENDRAN, V.; BROWN, J.A. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. **Aquaculture**, v.214, p.131– 151, 2002.

ROTTA, C.S. **Efeito da pigmentação de rotíferos *Brachionus sp.* na larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii***. Dissertação (Mestrado em aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

SHI, Y. H.; ZHANG G. Y.; ZHU, Y. Z.; LIU, J. Z. Effects of photoperiod, temperature, and salinity on growth and survival of obscure puffer, *Takifugu obscurus* larvae. **Aquaculture**, v.309, p.103–108, 2010.

TANDLER, A.; MASON, C. Light and Food Density Effects on Growth and Survival of Larval Gilthead Seabream (*Sparus aurata*, Linnaeus; Sparidae). **Proceedings of Warmwater Fish Culture Workshop**. Louisiana State University, Baton Rouge, p.103-116, 1983.

TAYLOR, J.F.; NORTH, B.P.; PORTER,; M.J.R.; BROMAGE, N.R.; MIGAUD, H. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v.256, p.216–234, 2006.

TROTTER, A. J.; BATTAGLENE, S. C.; PANKHURST, P. M. Effects of photoperiod and light intensity on initial swim bladder inflation, growth and post-inflation viability in cultured striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae. **Aquaculture** 224, 141–158, 2003.

TUCKER JR., J.W. **Marine fish culture**. Norwell: Kluwer Academic Press, 1998. 750p.

VILLAMIZAR, N.; GARCÍA-ALCAZAR, A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Aquaculture**, v.292, p.80–86. 2009.

VINOTH, R.; AJITHKUMAR, T.T.; GOPI, M. Photoperiod induced larval growth of anemonefish *Amphiprion percula*. **World Applied Sciences Journal**, v.10, n. 3, p.283- 286, 2010.

WABNITZ, C.; TAYLOR, M.; GREEN, E.; RAZAK, T. **From Ocean to Aquarium the global trade in marine ornamental species**. UNEP-WCMC, Cambridge, UK. 2003.

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

YOSEDA, K.; YAMAMOTO, K., ASAMI, K.; CHIMURA, M.; HASHIMOTO K.; KOSAKA, S. Influence of light intensity on feeding, growth, and early survival of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*) larvae under mass-scale rearing conditions. **Aquaculture**, v.279, p. 55–62, 2008.

YOUSON, J. H. First metamorphosis. *In* W. S. HOAR AND D. J. RANDALL (eds.). **Fish physiology**: The physiology of developing fish, San Diego, Academic Press, 1988. pp. 135-196.

ANEXO



Figura. Larva de *A. clarkii* com 4 dias após eclosão (DAE).



Figura. Tanque utilizado para eclosão, coberto com a lona “blackout”.



Figura. Vaso de cerâmica com a desova, antes e depois da eclosão.



Figura. Estruturas onde foram realizados ambos os experimentos.



Figura. Tanque retangular de concreto, de 8.000L. O casal de *A. clarkii*, era mantido no tanque-rede suspenso.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ALMAZA N-RUEDA, P.; SCHRAMA, J.W.; VERRETH, J.A.J. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. **Aquaculture**, v.231, p.347–359, 2004.

APPELBAUM, S.; KAMLER, E. Survival, growth, metabolism and behaviour of *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) early stages under different light conditions. **Aquac. Eng.**, v. 22, p.269-287, 2000.

ARVEDLUND, M.; LARSEN, K.; WINSOR, H. The embryonic development of the olfactory system in *Amphiprion melanopus* (Perciformes: Pomacentridae) related to the host imprinting hypothesis. **J. Mar. Biol. Assoc. UK**, p.1103-1109, 2000.

BARAHONA-FERNANDES, M. L. Some effects of light intensity and photoperiod on the sea bass larvae *Dicentrarchus labrax* (L.) reared at the Centre Oceanologique de Bretagne. **Aquaculture**, v.17, p.311-321, 1979.

BERLINSKY, D.L.; TAYLOR, J.C.; HOWELL, R.A.; BRADLEY, T.M.; SMITH, T.I.J. The effects of temperature and salinity on early life stages of black sea bass *Centropristis striata*. **J. World Aquac. Soc.**, v.35, p.335–344, 2004.

BJÖRNSSON, B.T.; HEMRE, G.I.; BJØRNEVIK, M.; HANSEN, T. Photoperiod regulation of plasma growth hormone levels during induced smoltification of underyearling Atlantic salmon. **Gen. Comp. Endocrinol.** 119, 17–25, 2000.

BLAXTER, J.H.S. Visual thresholds and spectral sensitivity of flatfish larvae. **J. Exp. Biol.**, v.51, p.221–230, 1986.

BLAXTER, J.H.S.; STAINES, M. Pure-cone retinæ and retinomotor responses in larval teleost. **J. Mar. Biol. Assoc. U. K.** v.50, p.449–460, 1970.

BOEUF, G.; LE BAIL, P.Y. Does light have an influence on fish growth? **Aquaculture**, v.177, p.129–152, 1999.

BONNET, E.; MONTFORT, J.; ESQUERRE, D.; HUGOT, K.; FOSTIER, A.; BOBE, J. Effect of photoperiod manipulation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg quality: a genomic study. **Aquaculture**, v.268, p.13–22, 2007.

CHATAIN, B.; GUSCHEMANN, O. The Relationships Between Light and Larvae of *Sparus aurata*. In: Larvi '91 - Fish and Crustacean Larviculture Symposium, eds. P. Lavens, P. Sorgeloos, E. Jaspers, F. Ollevier. **European Aquaculture Society, Special Publication**, v.15, p.310-313, 1991.

CHESNEY JR, E. J. Estimating the Food Requirements of Striped Bass Larvae *Morone saxatilis*: Effects of Light, Turbidity and Turbulence. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v.53, p.191-200, 1989.

DANIELS, H.V.; BERLINSKY, D.L.; HODSON, R.G.; SULLIVAN C.V. Effects of stocking density, salinity, and light intensity on growth and survival of southern flounder *Paralichthys lethostigma* larvae. **Journal of the World Aquaculture Society**. v.27, p.153-159, 1996.

DOU S., MASUDA R.; TANAKA M.; TSUKAMOTO K. Identification of factors affecting the growth and survival of the settling Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 218, p.309-327, 2003.

DOWNING, G.; LITVAK, M.K. The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. **Aquac. Int.**, v.7, p.369–382, 1999.

DURAY, M.; KOHNO, H. Effects of continuous lighting on growth and survival of first-feeding larval rabbitfish, *Siganus guttatus*. **Aquaculture**, v.72, p.73-79, 1988.

EAGLES, M.D.; AIKEN, D.E.; WADDY, S.L. Influence of light and food on larval American lobsters *Homarus americanus*. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v.43, p.2303-2310, 1986.

EKSTRÖM, P.; MEISSI, H. The pineal organ of teleost fishes. **Rev. Fish Biol. Fish.** v.7, p.199–284, 1997.

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.

FIELDER, D.S.; BARDSLEY, W.J.; ALLAN, G.L.; PANKHURST, P.M. Effect of photoperiod on growth and survival of snapper *Pagrus auratus* larvae. **Aquaculture**, v.211, p.135–150, 2002.

GARDNER, C.; MAGUIRE, G.B., Effect of photoperiod and light intensity on survival, development and cannibalism of larvae of the Australian giant crab *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). **Aquaculture**, v.165, p.51–63, 1998.

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

GINÉS, R.; AFONSO, J.M.; ARGÜELLO, A.; ZAMORANO, M.J.; LÓPEZ, J.L. Growth in adult gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) as a result of interference in sexual maturation by different photoperiod regimes. **Aquac. Res.**, v.34, p.73–83, 2003.

GHOSH, S., KUMAR, T. T. A., NANTHINIDEVI, K., BALASUBRAMANIAN, T. 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**. v.3, p.56-60, 2012.

GREEN, B.S.; FISHER, R. Temperature influences swimming speed, growth and larval duration in coral reef fish larvae. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, v.299, n.1, p.115–132, 2004.

HART, P.R.; HUTCHINSON, W.G.; PURSER, G.J. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder *Rhombosolea tapirina* (Günther, 1862). **Aquaculture**, v.144, p.303-311, 1996.

HECHT, T.; PIENAAR, A.G. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. **J. World Aquac. Soc.**, v.24, p.246–261, 1993.

HOLT, G.J. Research on culturing the early life history stages of marine ornamental species. In: Cato, J.C., Brown, C.L. (Eds.), *Marine Ornamental Species: Collection, Culture and Conservation*. **Iowa State Press**, p.251–254, 2003.

KAMLER, E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. **Rev. Fish Biol. Fish.** v.12, p.79–103, 2002.

KESTEMONT, P.; JOURDAN, S.; HOUBART, M.; ME LARD, C.; PASPATIS, M.; FONTAINE, P.; CUVIER, A.; KENTOURI, M.; BARAS, E. Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. **Aquaculture**, v.227, p.333– 356, 2003.

KIYONO, M.; HIRANO, R. Effects of Light on the Feeding and Growth of Black Porgy, *Mylio macrocephalus* (Basilewsky), Postlarvae and Juveniles. In: **The Early Life History of Fish: Recent Studies**, eds. R. Lasker, K. Sherman, 1981, p.334-336.

KOBAYASHI, Y. et al. Sex and tissue-specific expression of P450 aromatase in the yellowtail clownfish, *Amphiprion clarkii*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, part.A, vol. 155, p.237-244, 2010.

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.

LE, Y.; SHENG-YUN, Y.; YU, W.; KAI-CHANG, W. 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.

LE, Y.; SHENG-YUN, Y.; XIAO-MING, Z.; MIN, L.; JING-YI, L.; KAI-CHANG, W. 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.

MARTIN-ROBICHAUD, D.J.; PETERSON, R.H. Effects of light intensity, tank colour and photoperiod on swimbladder inflation success in larval striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum). **Aquac. Res.**, V.29, p.539–547, 1998.

MEDEIROS, A. F. **Desenvolvimento de larvas do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*: efeito da salinidade e da temperatura.** Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

NASS, D. H. **Efeito da antecipação da oferta de *Artemia* na larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii*.** Dissertação (Mestrado em aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

OLIVOTTO, I.; BUTTINO, I.; BORRONI, M.; PICCINETTI, C. C.; MALZONONE, M. G.; CARNEVALI, O. The use of the mediterranean calanoid copepod *Centropages typicus* in yellowtail clownfish (*Amphiprion clarkii*) larviculture. **Aquaculture**, v.284, p.211-216, 2008.

OLIVOTTO, I.; CARDINALI, M.; BARBARESI, L.; MARADONNA, F.; CARNEVALI, O. Coral reef fish breeding: the secrets of each species. **Aquaculture**, v.224, p.69-78, 2003.

PALMA, J.; STOCKDALE, J.; CORREIA, M.; ANDRADE, J. P. Growth and survival of adult long snout seahorse (*Hippocampus guttulatus*) using frozen diets. **Aquaculture**, v.278, p.55–59, 2008.

PERSON-LE RUYET, J.; BAUDIN-LAURENCIN, F.; DEVAUCHELLE, N.; MÉTAILLER, R.; NICOLAS, J. L.; ROBIN, J.; GUILLAUME, J. Culture of Turbot *Scophthalmus maximus*. In: **Handbook of Mariculture: Finfish Aquaculture**, ed. J.P. McVey. CRC Press Inc., Boca Raton, p.21-42, 1991.

PETRELL, R.J.; ANG, K.P. Effects of pellet contrast and light intensity on salmonid feeding behaviours. **Aquac. Eng.**, v.25, p.175-186, 2001.

PLANAS, M.; CUNHA, I. Larviculture of marine fish: problems and perspectives. **Aquaculture**, v.177, p.171-190, (1999).

PUVANENDRAN, V.; BROWN, J.A. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different light intensities and photoperiods. **Aquaculture**, v.214, p.131-151, 2002.

RODRIGUES, R.V.; FREITAS, L. S. E SAMPAIO, L. A. Efeito da intensidade luminosa sobre a capacidade de predação de larvas do peixe-rei marinho *Odontesthes argentinensis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n. 1, p.246-249, 2009.

ROTLANT, J.; TORT, L.; MONTEROC, D.; PAVLIDIS, M.; MARTINEZ, M.; WENDELAAR BONGAE, S.E.; BALME, P.H.M. Background colour influence on the stress response in cultured red porgy *Pagrus pagrus*. **Aquaculture**, v.223, p.129-139, 2003.

ROTTA, C.S. **Efeito da pigmentação de rotíferos *Brachionus sp.* na larvicultura do peixe-palhaço *Amphiprion clarkii***. Dissertação (Mestrado em aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

SHI, Y. H.; ZHANG G. Y.; ZHU, Y. Z.; LIU, J. Z. Effects of photoperiod, temperature, and salinity on growth and survival of obscure puffer, *Takifugu obscurus* larvae. **Aquaculture**, v.309, p.103-108, 2010.

STEFANSSON S.O.; NASVDAL G. & HANSEN T. Growth of different families of Atlantic salmon (*Salmo salar*) under three experimental photoperiods. **Aquaculture**, v.86, 271-281, 1990.

SWEETMAN, J. W. Larviculture of Mediterranean Marine Fish Species: Current Status and Future Trends. **J. World Aquac. Soc.**, v.23, p.330-337, 1992.

TAYLOR, J.F.; NORTH, B.P.; PORTER, M.J.R.; BROMAGE, N.R.; MIGAUD, H. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v.256, p.216-234, 2006.

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

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

VILLAMIZAR, N.; GARCÍA-ALCAZAR, A.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Aquaculture**, v.292, p.80–86, 2009.

VILLAMIZAR, N.; GARCÍA-MATEOS, G.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F.J. Behavioral responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae and *Artemia* sp. exposed to constant light or darkness vs. light/dark cycles of white, red or blue wavelengths. **Aquaculture**, v.317, p.197–202, 2011.

VINOTH, R.; AJITHKUMAR, T.T., GOPI, M. Photoperiod induced larval growth of anemonefish *Amphipriom percula*. **World Applied Sciences Journal**, v.10, n. 3, p.283- 286, 2010.

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**. Microcosm, Charlotte. 2003.

WITTENRICH, M. L. **The complete illustrated breeder's guide to marine aquarium fishes**. T.F.H. Publications, Neptune. 2007.

YOSEDA, K.; YAMAMOTO, K., ASAMI, K.; CHIMURA, M.; HASHIMOTO K.; KOSAKA, S. Influence of light intensity on feeding, growth, and early survival of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*) larvae under mass-scale rearing conditions. **Aquaculture**, v.279, p. 55–62, 2008.

ZANIBONI FILHO, E. Larvicultura de peixes de água doce. **Revista Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, 21(203), p. 69-77, 2000.