

**Raoani Cruz Mendonça**

**Aspectos da biologia reprodutiva e do desenvolvimento das fases iniciais de vida dos “peixes-anjo anão” *Centropyge aurantonotus*, *Centropyge bicolor* e *Centropyge bispinosa*.**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do Grau de doutor em Aquicultura.

**Orientadora:** Dra. Mônica Yumi Tsuzuki

Florianópolis - SC  
2018

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

Mendonça, Raoani Cruz

Aspectos da biologia reprodutiva e do desenvolvimento das fases iniciais de vida dos "peixes-anjo anão" *Centropyge aurantonotus*, *Centropyge bicolor* e *Centropyge bispinosa*. / Raoani Cruz Mendonça ; orientador, Mônica Yumi Tsuzuki, 2018.

97 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Aquicultura ornamental. 3. peixe-anjo marinho. 4. ontogenia. 5. fatores abióticos. I. Tsuzuki, Mônica Yumi . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Aspectos da biologia reprodutiva e do desenvolvimento das fases iniciais de vida dos "peixes-anjo anão" *Centropyge aurantonotus*, *Centropyge bicolor* e *Centropyge bispinosa***

Por

RAOANI CRUZ MENDONÇA

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de

**DOUTOR EM AQUICULTURA**

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



---

Profa. Leila Hayashi, Dra.  
Coordenadora do PPG em Aquicultura

Banca Examinadora:



---

Dra. Mônica Yumi Tsuzuki - Orientadora



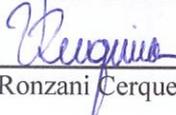
---

Dr. Douglas da Cruz Mattós - IFES



---

Dra. Renata Ávila Ozório - UFSC



---

Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira - UFSC



*Este trabalho é dedicado a minha família,  
em especial, aos meus pais e irmão,  
que sempre me apoiaram nessa jornada.*



## AGRADECIMENTOS

Não poderia deixar de agradecer primeiramente a minha família, por todo carinho, atenção e sempre presentes nas horas que mais precisei. Vocês são a peça-chave para eu ter chegado até aqui. Amo vocês!!

A Prof.<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mônica por confiar no meu trabalho e me orientar nessa jornada que já se vão seis anos e meio. Obrigado por tudo!!!

Um agradecimento MUITO especial ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, que nesses seis anos me proporcionou muito conhecimento, oportunidades, etc.

Ao nosso querido Carlito, Santo resolvidor de nossos problemas. Aproveito a oportunidade para pedir desculpas pelas dores de cabeças que lhe causei.

Ao pessoal do LAPOM e LAPMAR, pelo convívio nos momentos de trabalhos, festas, etc. Não irei citar nomes, mas sei que cada um sabe a intensidade do sentimento que tenho por cada um (rsrs). Vlw galera!!

Gostaria também de fazer um agradecimento especial a técnica do nosso laboratório, Renata, por ser a “Carlita” do lab e resolver nossos problemas e zelar pela união entre todos do LAPOM.

Aos amigos que sempre se preocuparam e estiveram dispostos a ajudar para o acontecimento desta tese, e não poderia deixar de citar ao pessoal do LMM, com o fornecimento de alga. Obrigado Carlos Henrique “Tatu” e Jaqueline.



“Um passo à frente,  
e você não está mais no mesmo lugar.”

(Chico Science)



## RESUMO

A família Pomacanthidae, cujas espécies são conhecidas como “peixes-anjo” está listada entre as dez famílias de peixes que compõem o comércio internacional da aquariorfilia marinha. Dentro da família, espécies do gênero *Centropyge* (peixes-anjo anão), estão entre os peixes mais populares no mercado da aquariorfilia e são altamente valorizados. Contudo, o mercado de peixes ornamentais marinhos no Brasil e no mundo é quase totalmente abastecido por peixes provenientes da extração do ambiente natural. Técnicas para coleta são altamente destrutivas e algumas espécies são altamente coletadas. A aquicultura é, portanto, considerada uma alternativa sustentável para suprir indústria de aquários marinhos, além de gerar informações sobre a biologia destas espécies. A larvicultura de peixes marinhos é considerada como o maior gargalo para a produção em laboratório. Para os peixes-anjo, isto se deve ao pequeno tamanho das larvas e suas exigências com relação ao tamanho e nutrição adequados dos itens alimentares. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar aspectos da biologia reprodutiva e de fases iniciais de vida de três espécies de peixes-anjo anão, bem como a influência da temperatura no embrião de *C. aurantonotus*. No primeiro estudo, foi descrito o comportamento reprodutivo, desenvolvimento embrionário e de fases iniciais de larvas de *C. aurantonotus*. Ainda foram feitas tentativas de larvicultura utilizando o rotífero como alimento vivo, e como resultado foi observado que larvas apresentaram abertura de boca entre 122 a 137 $\mu$ m e não foram aptas a capturar este alimento vivo nessa fase de vida. No segundo estudo, foi descrito o desenvolvimento embrionário e larval do *C. bicolor* e *C. bispinosa*, e foi encontrado um padrão semelhante morfológica e cronologicamente entre as espécies, no entanto, o padrão de pigmentação foi a característica que mais variou entre elas. No terceiro estudo, avaliou-se o efeito da temperatura no desenvolvimento embrionário e no tempo e sucesso de eclosão de ovos fertilizados de *C. aurantonotus* e verificou que a temperatura influenciou significativamente no tempo de eclosão e dentro da faixa de 24 a 28 °C, obteve-se melhores resultados quando avaliados a taxa de eclosão, viabilidade de larva 24h após eclosão e mortalidade total.

**Palavras chave:** Aquicultura; aquicultura ornamental; peixe-anjo marinho; ontogenia; fatores abióticos.



## ABSTRACT

The Pomacanthidae family, whose species are known as "angelfish" is listed among the ten fish families that make up the international trade in marine aquarium species. Species of the genus *Centropyge* are among the most popular fish in the aquarium market and are highly valued. However, the market for ornamental marine fish in Brazil and in the world is almost entirely supplied by fish from the extraction of the natural environment. Collection techniques are highly destructive and some species are highly collected. Aquaculture is therefore considered a sustainable alternative to supply marine aquarium industry, in addition to generating information on the biology of these species. Marine fish larviculture is considered as the biggest bottleneck for laboratory production. For angelfish, this is due to the small size of the larvae and their requirements regarding the proper size and nutrition of food items. Thus, the objective of this work was to evaluate the reproductive biology and early life stages of the dwarf angelfish, as well as the influence of temperature on the embryo of *C. aurantonotus*. In the first study, the reproductive behavior, embryonic development and early stages of *C. aurantonotus* larvae were described. Attempts to larviculture were made using rotifer as a live food, and as a result it was observed that larvae had a mouth gape between 122 - 137 $\mu$ m and the larvae were not able to capture this live food in this life stage. In the second study, the embryonic and larval development of *C. bicolor* and *C. bispinosa* was described, and a similar pattern was found morphologically and chronologically among the species, however, the pattern of pigmentation was the most variable feature among them. In the third study, the effect of temperature on the embryonic development and on the time and success of hatching of *C. aurantonotus* eggs was evaluated, and it was verified that the temperature influenced significantly the hatching time and within the range of 24 to 28 °C was obtained best results when evaluating the hatch rate, 24 h larvae viability after hatching and total mortality.

**Keywords:** Aquaculture; ornamental aquaculture; marine angelfish; ontogeny; abiotic factors.



## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>   | <b>19</b> |
| 1.1 REVISÃO DA LITERATURA .....   | 19        |
| 1.1.1 Situação do comércio de peixes ornamentais marinhos .....   | 19        |
| 1.1.2 Família Pomacanthidae .....   | 20        |
| 1.1.3 Biologia reprodutiva e desenvolvimento embrionário e larval de peixes-anjo .....  | 21        |
| 1.1.4 Cultivo do peixe-anjo e seus principais entraves .....  | 22        |
| 1.2 OBJETIVOS .....   | 23        |
| 1.2.1 Objetivo geral .....  | 23        |
| 1.2.2 Objetivos específicos .....   | 24        |
| 1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO .....   | 24        |
| <b>2 CAPÍTULO 1</b>   |           |
| <b>COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E DESCRIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FASES INICIAIS LARVAIS DO PEIXE-ANJO ANÃO <i>Centropyge aurantonotus</i> EM CATIVEIRO .....</b> | <b>25</b> |
| RESUMO .....  | 25        |
| ABSTRACT .....  | 26        |
| 2.1. INTRODUÇÃO .....   | 27        |
| 2.2 MATERIAL E MÉTODOS .....  | 28        |
| 2.2.1 Peixes e condições gerais de manutenção .....   | 29        |
| 2.2.2 Comportamento reprodutivo, desova e amostras de ovos e larvas .....   | 29        |
| 2.2.3 Cultivo do alimento vivo e larvicultura de <i>C. aurantonotus</i> .....   | 30        |
| 2.3 RESULTADOS .....  | 31        |
| 2.3.1 Corte e desova .....  | 31        |
| 2.3.2 Desenvolvimento embrionário .....   | 33        |
| 2.3.3 Desenvolvimento larval .....  | 35        |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.4 Cultivo de larvas de <i>C. aurantonotus</i> ..... | 37 |
| 2.4. DISCUSSÃO .....                                    | 37 |
| 2.5. CONCLUSÃO .....                                    | 49 |
| AGRADECIMENTOS .....                                    | 40 |
| 2.6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....                     | 41 |

### **3 CAPÍTULO 2**

#### **DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DOS PEIXES-ANJO *Centropyge bispinosa* E *Centropyge bicolor* .....**

|   |    |
|---|----|
| RESUMO .....                                      | 47 |
| ABSTRACT .....                                    | 48 |
| 3.1 INTRODUÇÃO .....                              | 49 |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....                      | 50 |
| 3.3 RESULTADOS .....                              | 51 |
| 3.3.1 Característica dos ovos .....               | 51 |
| 3.3.2 Desenvolvimento embrionário .....           | 52 |
| 3.3.3 Período de clivagem .....                   | 52 |
| 3.3.4 Período de blástula .....                   | 52 |
| 3.3.5 Período de gástrula .....                   | 52 |
| 3.3.6 Período de segmentação e organogênese ..... | 54 |
| 3.3.7 Início do Período larval .....              | 55 |
| 3.4 DISCUSSÃO .....                               | 59 |
| AGRADECIMENTOS .....                              | 61 |
| 3.6 REFERÊNCIA .....                              | 61 |

### **4 CAPÍTULO 3**

#### **EFEITO DA TEMPERATURA NAS FASES INICIAIS DE DESENVOLVIMENTO DO PEIXE-ANJO ANÃO *Centropyge aurantonotus* .....**

|                       |    |
|-----------------------|----|
| 4.1. INTRODUÇÃO ..... | 67 |
|-----------------------|----|

|  |           |
|--|-----------|
| 4.2. MATERIAL E MÉTODOS .....                | 69        |
| 4.3. RESULTADOS .....                        | 71        |
| 4.4. DISCUSSÃO .....                         | 74        |
| AGRADECIMENTOS .....                         | 76        |
| 4.5 REFERÊNCIA .....                         | 76        |
| <b>5. CONCLUSÕES GERAIS .....</b>            | <b>81</b> |
| <b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>         | <b>83</b> |
| <b>REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL .....</b> | <b>85</b> |
| <b>APÊNDICE .....</b>                        | <b>93</b> |



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1 REVISÃO DA LITERATURA

#### 1.1.1 Situação do comércio de peixes ornamentais marinhos

O comércio mundial de peixes ornamentais marinhos começou por volta de 1930, no Sri Lanka, mas hoje é uma indústria em rápida expansão que envolve pelo menos 45 países exportadores em todo o mundo (WOOD, 2001; RHYNE et al., 2017). Os avanços na tecnologia do aquarismo marinho, a partir da década de 1990, fizeram com que houvesse um aumento da popularidade deste hobby (WABNITZ et al., 2003; RHYNE et al., 2012, 2017; BIONDO, 2017). Estima-se que o comércio de peixes ornamentais marinhos movimente cerca de US\$ 1,5 bilhão anualmente (SMITH et al., 2008; MONTICINI, 2010; LEAL et al., 2015; RHYNE et al., 2012, 2017; BIONDO, 2017). O comércio de organismos aquáticos, juntamente com equipamentos e acessórios, tornou-se uma indústria multibilionária (LARKIN, 2003; WABNITZ et al., 2003; PRANG, 2007). Globalmente, mais de 1 bilhão de peixes ornamentais, compreendendo aproximadamente 4000 espécies de água doce e 1800 espécies marinhas, são comercializados a cada ano (FAO, 2012; RHYNE et al., 2012).

Dados mais recentes sobre a quantidade de peixes ornamentais brasileiros exportados são inexistentes. De acordo com os últimos dados publicados, no Brasil eram permitidas a captura, o transporte e a comercialização de 136 espécies ornamentais marinhas (BRASIL, 2008). De acordo com essa mesma estatística, as 10 espécies mais representativas no mercado da exportação em 2007 foram o *Holacanthus ciliaris*, *Pomacanthus paru*, *H. tricolor*, *P. arcuatus*, *Centropyge aurantonotus*, *Acanthurus coeruleus*, *Bodianus pulchellus*, *B. rufus*, *Hippocampus reidi* e *Halichoeres cyanocephalus*, totalizando 70% dos peixes ornamentais marinhos para exportação.

Ao contrário das espécies ornamentais de água doce, onde mais de 90% das espécies de peixes são atualmente produzidas em cativeiro, a grande maioria dos peixes marinhos são capturados na natureza (WABNITZ et al., 2003). No entanto, a indústria da aquariofilia vem ameaçando a biodiversidade associada aos recifes de corais devido à colheita insustentável, à expansão do volume de comércio e aos valores de mercado dos peixes que são inferiores aos peixes de produção. Neste cenário, existe uma grande preocupação devido aos métodos destrutivos (ex: cianetos, explosivos) utilizados para coleta destes organismos e a

extração desordenada sem controle da população. No ponto de coleta, o uso desses métodos destrutivos matam os recifes de coral e outros peixes sem interesse de coleta, juntamente com a espécie-alvo (RUBEC et al., 2001; WOOD, 2001). Em adição, estima-se que da captura até as lojas, até 80% dos animais morrem durante o processo que envolve a captura, o manejo e o transporte devido aos produtos usados para coleta (ex: cianetos), manejo precário e doenças (WABNITZ et al. 2003). A exploração continuada de recifes de uma forma destrutiva, mal gerida, tem sido relatada como reduzindo os rendimentos de peixes ornamentais e de peixes recifais de pesca, afetando a capacidade dos recifes explorados de se recuperarem (RUBEC et al., 2001; ZIEMANN, 2001). A coleta destas espécimes tem sido diretamente ligada ao declínio de populações no ambiente natural de várias espécies ornamentais populares (LUBBOCK e POLUNIN, 1975; ZIEMANN, 2001; SHUMAN et al., 2005).

#### 1.1.2 Família Pomacanthidae

A família Pomacanthidae está listada entre as dez famílias de peixes que compõem o comércio internacional de espécies destinada para o mercado da aquariofilia (GREEN, 2003). Muitas espécies desta família são altamente procuradas entre os aquaristas, sendo amplamente coletadas, respondendo por cerca de 8% do comércio total de peixes de ornamentais marinhos no mundo (GREEN, 2003).

O gênero *Centropyge* é o maior desta família em números, compreendendo um total de 32 espécies descritas, e um dos mais populares e altamente comercializados por apresentar cores brilhantes, tamanho pequeno na idade adulta e resistência às condições de cativeiro (PYLE, 2003). Espécies deste gênero ocorrem geralmente no Indo-Pacífico, mas três são encontradas no Atlântico, *C. resplendens* no Sudeste do Atlântico, *C. argi* no Caribe, e *C. aurantonotus* no Brasil e no sul do Caribe.

O “flameback angelfish” ou peixe-anjo-anão, *C. aurantonotus*, é uma espécie nativa do lado Ocidental do Oceano Atlântico, ocorrendo desde o sul das ilhas do Caribe até São Paulo, Brasil (FISHBASE, 2016), sendo também observado em Santa Catarina, Sul do Brasil (ANDERSON et al., 2015) e única do gênero encontrado na costa brasileira. Descrita por BLASIOLA Jr. (1976), apresenta corpo azul-escuro, e amarelo-alaranjado na parte que compreende a cabeça e segue na parte superior até o final da nadadeira dorsal (Figura 1). As bordas das nadadeiras apresentam azul mais claro e reluzente. É encontrado em

profundidades que variam de 6 a 24m e temperaturas entre 20 a 25 °C, sendo observados sozinhos ou em pequenos grupos, com indivíduos dos grupos mantendo alguma distância um dos outros. De acordo com dados do IBAMA (2007), 6.381 indivíduos selvagens desta espécie foram exportados do Brasil em 2006, estando no 5º lugar na lista de peixes marinhos ornamentais brasileiros exportados. O *C. bicolor* é amplamente distribuído pelo Indo-Pacífico (PYLE, 2001). Encontra-se geralmente em profundidades que variam de 1-25 m. O *C. bispinosa*, também conhecido como “Coral Beauty” é amplamente disperso na região tropical do Indo-Pacífico. Pode ser encontrado na África Oriental (Tanzânia, Moçambique, África do Sul) até as Ilhas Tuamotu (Polinésia Francesa) no Pacífico Sul, estendendo-se para o norte até as Ilhas Izu (Japão) e até a ilha Lord Howe (Austrália) (PYLE, 2001). Estas duas espécies são muito populares e frequentemente exportadas pela indústria do aquarismo (PYLE, 2001).

### 1.1.3 Biologia reprodutiva e desenvolvimento embrionário e larval de peixes-anjo

*Centropyge* são bons candidatos como modelo para estudos biológicos, por se reproduz diariamente e gerar numerosos descendentes.

Estudos sobre a biologia reprodutiva de espécies dos peixes-anjo anões foram realizados por (HIOKI e SUZUKI, 1987, HIOKI et al., 1990, SAKAI et al., 2003; OLIVOTTO et al., 2006). Até o presente momento, todas as espécies de *Centropyge* estudadas são hermafroditas protogínicos (DELBELIUS et al., 2003) e os machos tendem a ser maiores que as fêmeas (MOYER et al., 1983). O tamanho do território e número de fêmeas do grupo pode variar entre espécies (BAUER e BAUER, 1981; SAKAI e KOHDA, 1997; BAENSCH, 2002), mas geralmente varia de uma a quatro fêmeas para cada macho. Os mesmos autores relatam que os *Centropyge* possuem rituais de desova crepuscular todos os dias, e que quase sempre resulta em desova. Cada fêmea pode gerar diariamente entre 100 a 1.000 ovos, durante todo o ano.

Estudos ontogenéticos são importantes para o entendimento dos aspectos fisiológicos do embrião, gerando informações para a conservação de populações de peixes e aprimoramento de técnicas de cultivo (GODINHO et al. 2003). Informações sobre o desenvolvimento embrionário e larval de espécies do gênero *Centropyge* foram descritas por alguns autores (HIOKI e SUZUKI, 1987; HIOKI et al., 1990;

BAENSCH, 2003; SAKAI et al, 2003; Baensch, 2006; Olivotto et al., 2006). Baensch, (2006) descreveu o desenvolvimento desde ovo até a fase juvenil de sete espécies de *Centropyge* (*C. fisheri*, *C. loriculus*, *C. flavissima*, *C. multicolor*, *C. interrupta*, *C. resplendens*, e *C. colini*) e do *Paracentropyge multifasciatus*. Em geral, larvas recém-eclodidas deste gênero são pouco desenvolvidas, sem olhos funcionais, contendo boca e sistema digestório em formação (BAENSCH, 2006).

#### 1.1.4 Cultivo do peixe-anjo e seus principais entraves

A produção em cativeiro de espécies marinhas desejáveis é cada vez mais vista como uma alternativa sustentável para aliviar a captura de estoques selvagens tanto para a indústria de pescados, como para o comércio de aquários (KLINE e LAIDLEY, 2015). Em adição, os peixes criados em cativeiro oferecem outros benefícios, como: maior adaptabilidade ao cativeiro, comportamento menos agressivo e menor susceptibilidade às doenças, comparado aos animais selvagens (WITTENRICH, 2007).

O conhecimento sobre os aspectos essenciais para o cultivo de peixes-anjo são escassos, e desta forma informações sobre o crescimento, reprodução, alimentação, exigências nutricionais e o efeito de parâmetros bióticos e abióticos no desenvolvimento destes animais são insuficientes para a elaboração de um protocolo de cultivo. No Brasil, até o presente momento, não se tem trabalhos que envolvam a produção destes peixes.

Dentro do cultivo de peixes marinhos, a larvicultura é uma das etapas mais delicadas onde são observadas as maiores taxas de mortalidade (BELL et al., 2003). O início da alimentação exógena é um momento crucial para o desenvolvimento de larvas de peixes marinhos. Após o esgotamento das reservas nutricionais (vitelo), a alta mortalidade está associada a qualidade inadequada dos alimentos e manejos utilizados nestes peixes (YÚFERA e DARIAS, 2007). Para larvas pelágicas, o insucesso nesta etapa é atribuído à disponibilidade limitada de itens alimentares pequenos (<50micron), que sejam altamente nutritivos e facilmente cultiváveis (OSTROWSKI e LAIDLEY, 2001). Muitas espécies marinhas, particularmente as que vivem associadas aos recifes de corais, geram larvas que são pequenas demais para serem cultivadas com alimentos vivos tradicionalmente usados, como os rotíferos *Brachionus* sp. e *Artemia* sp. (OSTROWSKI e LAIDLEY, 2001).

Resultados positivos estão sendo atribuídas ao uso de náuplios de copépodes na larvicultura destas espécies que geram larvas muito pequenas. Recentemente, algumas espécies calanóides têm sido identificadas como grandes candidatas para a aquicultura, incluindo *Acartia tonsa*, *A. sinjiensis* e *Parvocalanus crassirostris*, que foram cultivadas ao longo de várias gerações em laboratórios e instalações de aquicultura (KLINE e LAIDLEY, 2015). Depois de alguns anos de pesquisa com copépodes, particularmente, os náuplios de copépodes calanóides são geralmente aceitos por apresentarem tamanho adequado e valor nutricional necessária para apoiar o período crítico de alimentação de muitas das espécies desafiadoras de peixes (PEPIN e PENNEY, 1997; MCKINNON et al., 2003; DRILLET et al., 2006).

*Parvocalanus crassirostris* é um pequeno copépode herbívoro e paracalanóide encontrado em águas tropicais e subtropicais em todo o mundo (MCKINNON e KLUMPP, 1997; BRADLEY et al., 2013). As fêmeas desovam de forma contínua em lotes de quatro ovos. Os ovos medem aproximadamente 60 µm de diâmetro e levam 6,75h a 25°C para eclodir em náuplios na fase 1 (49 µm de largura, 77 µm de comprimento)(KLINE, 2011). Larvas de peixes criadas com sucesso usando náuplios de *P. crassirostris* como alimentação, incluem o “flame angelfish” (*Centropyge loriculus*, SHIELDS e LAIDLEY, 2003), o “Bluefin trevally” (*Caranx melampygus*, LAIDLEY et al., 2004), cioba (*Lutjanus campechanus*, SHIELDS et al., 2005); “blue tang” (*Paracanthurus hepatus*, DIMAGGIO et al., 2017) e “yellow tang” (*Zebrasoma flavescens*, PEREIRA-DAVISON e CALLAN, 2017). Apesar de alguns estudos abordarem aspectos iniciais do cultivo de algumas espécies do gênero *Centropyge*, trabalhos com a espécie brasileira *C. aurantonotus* são inexistentes, e muito superficialmente estudados para os *C. bicolor* e *C. bispinosa*.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 OBJETIVO GERAL

- Descrever aspectos da biologia reprodutiva e do desenvolvimento de fases iniciais da vida de três espécies de *Centropyge* (*C.aurantonotus*, *C. bicolor* e *C. bispinosa*).

### 1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o comportamento reprodutivo (formação de casal, corte e ritual de desova), desempenho reprodutivo (taxa de fecundidade, fertilidade e eclosão e frequência de desova), bem como o desenvolvimento embrionário e de fases iniciais de larvas do *C. aurantonotus*.

- Descrever o desenvolvimento embrionário dos peixes-anjo *C. bicolor* e *C. bispinosa*;

- Avaliar o efeito da temperatura no desenvolvimento embrionário e no sucesso de incubação de embriões de *C. aurantonotus*.

### 1.3 ESTRUTURA DO TRABALHO

A tese foi organizada com a introdução geral referente à revisão de literatura dos capítulos, e mais três capítulos seguintes correspondentes aos artigos científicos. O capítulo 1 foi formatado conforme as normas da revista Boletim do Instituto de Pesca (B1); capítulo 2 foi formatado conforme normas da revista Zygote (B2) e capítulo 3 foi formatado como nota (short communication) para a revista Journal of Applied Ichthyology (B1).

## CAPÍTULO 1

### **COMPORTAMENTO REPRODUTIVO E DESCRIÇÃO DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FASES INICIAIS LARVAIS DO PEIXE-ANJO ANÃO *Centropyge aurantonotus* EM CATIVEIRO**

Raoani Cruz MENDONÇA, Douglas da Cruz MATTOS, Ana Paula Lira de SOUZA, Mônica Yumi TSUZUKI

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Centro de Ciências Agrárias – CCA, Departamento de Aquicultura – AQI, Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos, Servidão Beco dos Coroas, 503 – CEP 88061-600 – Barra da Lagoa – Florianópolis/SC – Brasil. E-mail:

raoani@hotmail.com (autor correspondente).

#### RESUMO

O presente trabalho descreveu o comportamento reprodutivo, o desenvolvimento embrionário e as fases iniciais de larvas do peixe-anjo anão *Centropyge aurantonotus* em cativeiro. Um harém de indivíduos adultos selvagens (1 macho: 3 fêmeas) foi acondicionado e mantido em um tanque de 8.000L. Filmagens foram feitas para avaliar o comportamento reprodutivo. Para a descrição do desenvolvimento embrionário, ovos foram amostrados em intervalos regulares. O tempo de incubação foi de 13 horas a 26,5°C. Na larvicultura, o primeiro alimento vivo ofertado foi o rotífero *Brachionus rotundiformis*. A desova foi iniciada 3 meses após a formação do harém e ocorreram diariamente durante os 90 dias de estudo com valores médios do número de ovos dia<sup>-1</sup> de 1.701 (intervalo 975 – 4022), taxa de fertilização de 74,6% (46,4 - 97%) e a taxa de eclosão de 88% (80 - 97%). Os ovos pelágicos apresentaram diâmetro médio de 670 µm. Larvas recém-eclodidas mediam cerca de 1,2 mm de comprimento total e apresentavam grande volume de vitelo e presença de uma gota de óleo. Com 72 HAE (Horas Após Eclosão), as larvas apresentaram boca aberta e olhos pigmentados, além das nadadeiras peitorais evidentes. Observou-se através do trato digestório vazio que, as larvas não foram

hábeis para ingerir rotíferos, e por este fato, as mesmas sobreviveram até o esgotamento do vitelo e não ultrapassaram de 96 HAE.

**Palavras-chave:** aquicultura marinha; piscicultura ornamental; Pomacanthidae.

## ABSTRACT

This study described the reproductive behavior, the embryonic development and the early development of larvae of the dwarf angelfish *Centropyge aurantonotus* in captivity. A harem of wild *C. aurantonotus* (1 male: 3 females) was conditioned and kept in a 8,000L tank. The reproductive behavior was evaluated by filming. For description of the embryonic development, eggs were sampled at regular intervals. The incubation time was 13 hours at 26.5 °C. During larviculture, the first live feed offered was the rotifer *Brachionus rotundiformis*. The spawning was initiated 3 months after harem formation and occurred daily during the 90 days of study with mean values of number of eggs.day<sup>-1</sup> of 1,701 (range 975-4022), fertilization rate of 74.6% (46.4 - 97%) and hatching rate of 88% (80-97%). Pelagic eggs presented an average diameter of 670 µm. Newly hatched larvae were about 1.2 mm in total length and had a large volume of yolk and a drop of oil. Seventy two hours post hatching (HPH), larvae presented open mouth, pigmented eyes and evident pectoral fins. By the digestive tract observations, larvae were not able to ingest rotifers, and because of this, they survived until the complete yolk sac depletion, not overcoming more than 96 HAH.

**Key words:** marine aquaculture; ornamental; Pomacanthidae.

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os recifes de corais abrigam uma infinidade de peixes que impressionam devido aos seus formatos, cores e comportamentos. A procura por esses organismos pelo mercado da aquariofilia tem crescido cada vez mais nos últimos anos (Prang, 2007; Wittington e Chong, 2007) mostrando ser um setor promissor, principalmente devido ao alto valor desses espécimes. Para suprir essa demanda, estima-se que mais de 90% desses peixes são provenientes da extração no ambiente natural (Wabnitz et al., 2003), contudo, existe uma grande preocupação com os métodos destrutivos (ex: cianetos, explosivos) utilizados para coleta destes organismos e a extração desordenada sem controle populacional. Em adição, calcula-se que, da coleta até as lojas, durante o processo que envolve a captura, o manejo e o transporte, até 80% dos animais morrem devido aos produtos usados para coleta (ex: cianetos), manejo precário e doenças (Wabnitz et al., 2003). Para mudar este cenário, o desenvolvimento de tecnologias para a criação destes organismos em cativeiro, poderia ser uma solução para aliviar a pressão de pesca sobre os estoques naturais. Além do que, os peixes criados em cativeiro oferecem outros benefícios, como maior adaptabilidade ao cativeiro, comportamento menos agressivo e maior controle de doenças, comparado aos animais selvagens (Wittenrich, 2007).

A família Pomacanthidae está listada entre as dez famílias de peixes que compõem o comércio internacional de espécies para a aquariofilia (Green, 2003). Muitas espécies desta família conhecida como peixes-anjo são amplamente coletadas, respondendo por cerca de 8% do comércio total de peixes de ornamentais marinhos no mundo (Green, 2003). A grande procura associada ao elevado valor de cada espécime tem encorajado pesquisas para a produção em cativeiro destes peixes. Isto tem sido observado devido ao incremento de pesquisas nos últimos 35 anos focadas em resolver os desafios relacionados com a desova e a criação de larvas de peixes-anjo em cativeiro (Moe Jr. 1976; Suzuki et al., 1979; Bauer e Bauer, 1981; Hioki et al., 1982, 1990; Hioki e Suzuki 1987, 1995a,b; Arai 1994; Hioki et al., 1995; Holt e Riley, 2001; Baensch 2002, 2003; Sakai et al., 2003 Olivotto et al., 2006, Baensch e Tamaru 2009a, 2009b; Leu et al., 2009, 2010; Callan et al., 2011, 2014; Leu et al., 2015). No entanto, como para a maioria dos peixes marinhos, o maior gargalo para a produção de peixes-anjo em cativeiro tem sido a fase de larvicultura, que segundo Baensch e Tamaru (2009a) tem se mostrado ser tecnicamente exigente. Até o presente momento os avanços alcançados para produção de peixes-anjo em

cativeiro são bastante limitados sendo observado baixos índices de sobrevivência ou mortalidade total nos primeiros dias de vida das larvas.

O gênero *Centropyge* é o maior da família Pomacanthidae em número, compreendendo um total de 32 espécies descritas, e um dos mais populares e altamente comercializados. Isto se deve, principalmente, por apresentar cores brilhantes, tamanho pequeno na idade adulta e resistência às condições de cativeiro (Pyle, 2003). O peixe-anjo anão *Centropyge aurantonotus* é uma espécie que é encontrada do lado Ocidental do Oceano Atlântico, que compreende a região desde o sul das ilhas do Caribe até São Paulo, Brasil (Fishbase, 2016) e também com descrição de ocorrência em Santa Catarina, Sul do Brasil (Anderson et al., 2015) e única do gênero encontrado na costa brasileira. Descrita por Blasiola Jr. (1976), apresenta corpo azul-escuro, e amarelo-alaranjado na parte que compreende a cabeça e segue na parte superior até o final da nadadeira dorsal. As bordas das nadadeiras apresentam azul mais claro e reluzente. É encontrado em profundidades que variam de 6 a 24m, e temperaturas entre 20 a 25°C, sendo observados sozinhos ou em pequenos grupos, com indivíduos dos grupos mantendo alguma distância uns dos outros. De acordo com dados do IBAMA (2007), encontra-se no 5º lugar na lista de peixes marinhos ornamentais brasileiros mais exportados.

Tendo em vista sua expressiva contribuição no mercado de ornamentais marinhos, e escassez de trabalhos na literatura, particularmente sobre aspectos reprodutivos, estágios embrionários e fase inicial larval do peixe-anjo anão *C. aurantonotus*, este estudo teve como objetivo descrever pela primeira vez o comportamento reprodutivo, o desenvolvimento embrionário e inicial de larvas, a fim de gerar informações que possam auxiliar no desenvolvimento de pacote tecnológico para a futura produção desta espécie em cativeiro.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado entre fevereiro e maio de 2016 no Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

### 2.2.1. Peixes e condições gerais de manutenção

Peixes adultos foram capturados do ambiente natural no município de Guarapari, Espírito Santo (autorização SISBIO/ICMBio nº 46575-3) e para realização dos experimentos com a devida autorização do Comitê de Ética e Uso de Animais CEUA – UFSC nº 8650270218. Foram utilizados quatro indivíduos com tamanho entre 5,2 - 7,3cm de comprimento total. Embora não tenha sido observado dimorfismo sexual, mas sabendo-se que os *Centropyge* formam harém e são hermafroditas protogínicos, foi colocado um indivíduo com tamanho superior a 7 cm (suposto macho) e os demais com tamanho inferior a 5,7cm (supostas fêmeas). Os peixes foram mantidos em um tanque retangular (4,0x 15x1,0) de 8.000 litros.

O tanque possuía sistema aberto de água com taxa de renovação de 10L min<sup>-1</sup>. A captação de água era feita diretamente do mar e bombeada para o laboratório, na qual, passavam por um sistema de tratamento de água que contava com sacos bag de 10µm, skimmer, filtro UV 55w e filtragem biológica com mídias de cerâmica. Dentro dos tanques foram colocados canos de PVC utilizados como refúgio dos peixes. Os animais eram alimentados três vezes ao dia até a saciedade aparente, com 50% de ração comercial para peixes marinhos (59% proteína bruta e 16% lipídios-NRD, INVE, Bélgica) e de 50% de uma mistura formulada a base de pescados (lula, mexilhão, salmão, ovas de peixe, ostra e camarão), suplementada com 1% de premix vitamínico e mineral. A temperatura da água variou entre 24,2 - 28,5°C durante todo experimento, salinidade 33 ppm, pH 8,2, NO<sub>2</sub> e NO<sub>3</sub> <0,025. O fotoperíodo durante o estudo foi controlado para 14L:10E.

### 2.2.2 Comportamento reprodutivo, desova e amostras de ovos e larvas

Foram realizadas filmagens durante 10 dias, com auxílio de uma câmera digital submersa, por 90 minutos, antes do pôr-do-sol, horário em que foram observadas as desovas segundo observações prévias realizadas no LAPOM, e de acordo com Olivotto et al. (2006). Estas filmagens foram posteriormente analisadas em computador para avaliação quanto ao comportamento reprodutivo, corte e desova.

Após a desova, ovos recém-fertilizados coletados com tela de 250µm foram identificados com auxílio de microscópio estereoscópio. O número de ovos foi estimado de forma volumétrica em três amostras de 10 mL. Uma sub amostra foi colocada em um Becker de 1L para quantificar a viabilidade dos mesmos. Apenas os ovos que permaneciam

flutuantes na coluna de água foram considerados viáveis e a taxa de eclosão foi avaliada pelo número de larvas eclodidas, dividido pelo número de ovos viáveis.

Para a descrição do desenvolvimento embrionário e larval, ovos foram mantidos em incubadoras experimentais confeccionadas com tubos de PVC com tela de 250 $\mu$ m na parte inferior inseridas em uma aquário com aeração e temperatura controlada para 26,5°C. Amostras de ovos e larvas foram coletadas com auxílio de uma pipeta e colocadas sobre uma lâmina de vidro (n=10). Os principais estágios de desenvolvimento foram fotografados em intervalos regulares (determinados por observações prévias), com auxílio de uma câmera acoplada a um microscópio óptico com a objetiva 10x (Leica, DM750). As larvas foram anestesiadas com benzocaína (Reagen®/Brasil) a uma concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup>. As medições dos ovos e larvas foram realizadas com o programa Leica laz ez. Para medir a abertura de boca e investigar o conteúdo intestinal foram utilizadas 10 larvas que foram anestesiadas e analisadas imediatamente em microscópio óptico com a objetiva 10x (Leica, DM750). A abertura de boca foi calculada usando a fórmula:

$$AB = \sqrt{(CMS^2 + CMI^2)}$$

Onde: AB = abertura de boca; CMS = comprimento da mandíbula superior; e CMI = comprimento da mandíbula inferior.

### 2.2.3 Cultivo do alimento vivo e larvicultura de *C. aurantonotus*

Os rotíferos da espécie *Brachionus rotundiformis* com comprimento que variou entre 110 e 220 $\mu$ m foram cultivados em caixas de 60L com aeração moderada a 26°C, salinidade de 25ppm e alimentados com microalga *Nannochloropsis oculata* ofertada a uma densidade de aproximadamente 1 10<sup>5</sup> a 1 10<sup>6</sup> células mL<sup>-1</sup>, diariamente. Foram realizadas diversas tentativas (aproximadamente 50) de larvicultura em aquários de 20L estocados com 500 ovos fertilizados (25 ovos L<sup>-1</sup>). Os aquários tinham laterais de cor preta e fundo branco e a água foi mantida em 26,0  $\pm$  0,5°C, salinidade 33ppm, com uma leve aeração. A iluminação foi fornecida por duas lâmpadas fluorescentes tubulares de 36w suspensa a 70 cm dos aquários, com intensidade luminosa em torno de 1000lux, com fotoperíodo de 18L:06E. Após 72 HAE, momento em que as larvas apresentavam a boca aberta, foram ofertados os rotíferos (10 a 20 indivíduos.mL<sup>-1</sup>). A larvicultura foi

realizada em sistema de água verde, onde a microalga *Nannochloropsis oculata* foi adicionada a uma densidade de  $(1 \cdot 10^4$  a  $1 \cdot 10^5$  células mL<sup>-1</sup>).

## 2.3 RESULTADOS

### 2.3.1 Corte e desova

O *C. aurantonotus* apresentou desova espontânea em cativeiro. A hipótese de que o maior peixe era o suposto macho foi confirmada com as observações de desova. A primeira desova foi observada após dez meses da chegada dos peixes ao laboratório e três meses da formação do harém. Este período coincide com a estação mais quente do ano, o verão, quando as temperaturas da água chegaram a 28,5°C. Foram observadas desovas diárias durante toda fase do estudo (fevereiro a maio de 2016).

Através de observações diárias, foi visto pouca interação entre o macho e as fêmeas durante o dia (período de luz), no entanto, quando o horário do ritual de corte se aproximava, o macho dava início a uma natação com o corpo posicionado lateralmente, em movimentos circulares.

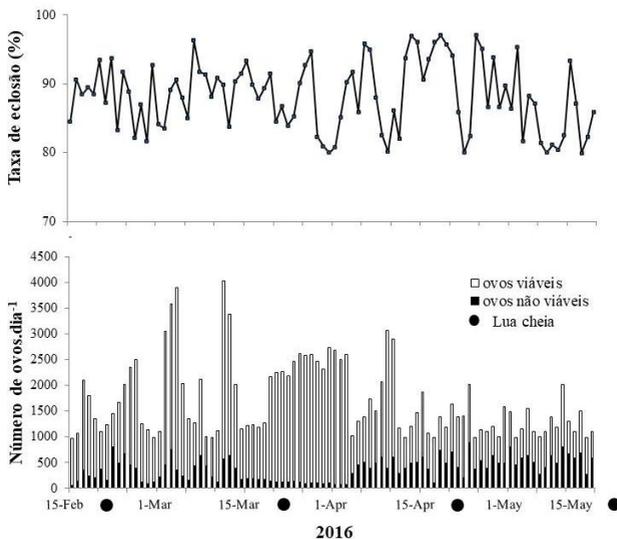
Foi observada uma alteração no padrão de coloração de escuro à claro em uma das fêmeas e do macho. Em geral, a fêmea maior impunha dominância sobre as menores, tanto na alimentação, quanto na desova. O início do ritual de corte e a desova ocorreram num intervalo de 52 a 82 minutos e 35 a 50 min antes do pôr-do-sol (escuridão total), respectivamente. Foi observado que os exemplares de *C. aurantonotus* durante o processo de desova realizam natação ascendente que duravam cerca de 4 segundos e percorria uma altura inferior a 30 cm. Este processo foi repetido sucessivas vezes e nele ocorre tanto a liberação dos ovócitos e quanto dos espermatozoides (Figura 1).



Fonte: autor, 2016.

**Figura 1.** Movimento do ritual de desova no qual o macho utiliza seu focinho para realizar compressão na barriga da fêmea (próximo a região do orifício genital) para liberação dos ovos.

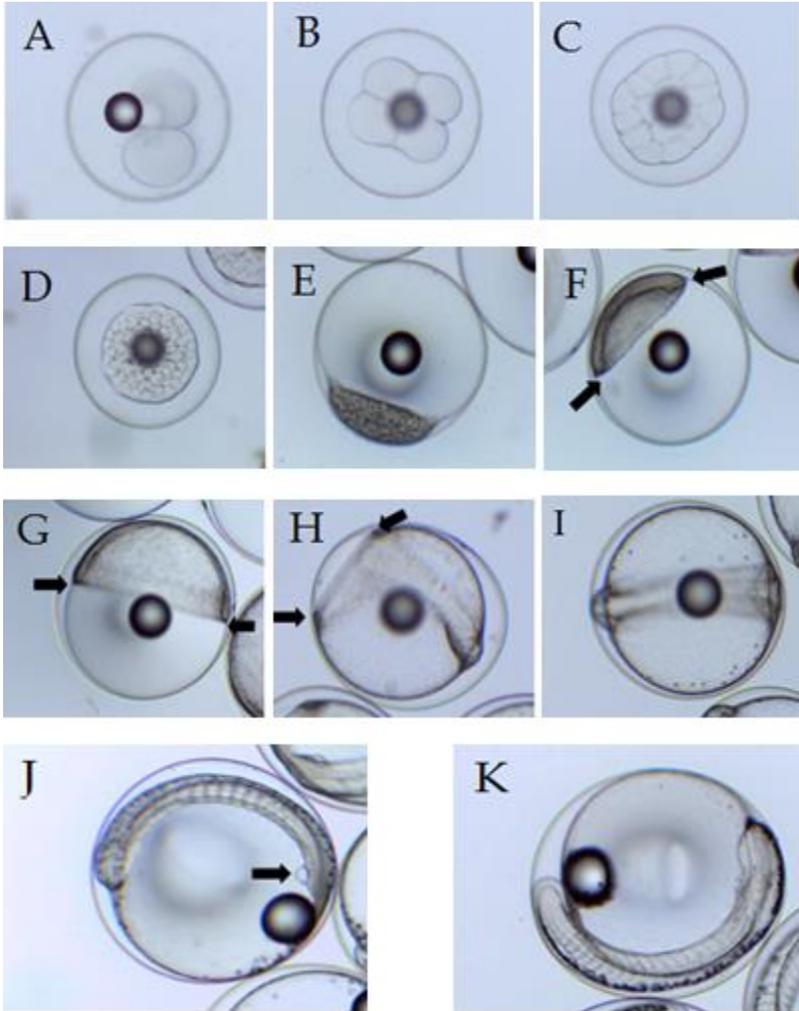
O harém de *C. aurantonotus* nesse tempo de estudo produziu um número médio de ovos.dia<sup>-1</sup> de 1.701 (intervalo 975 – 4.022), com taxa de fertilização média de 74,6% (46,4- 97%) e taxa de eclosão média de 88% (80 -97%) (Figura 2).



**Figura 2.** Número de ovos diários do harém (1 macho e 3 fêmeas) de *Centropyge aurantonotus* e taxa de eclosão durante os 90 dias de estudo.

### 2.3.2 Desenvolvimento embrionário

Ovos fertilizados de *C. aurantonotus* são transparentes, esféricos e pelágicos, medindo entre 0,64 e 0,72 mm ( $0,67 \pm 0,02$  mm- média  $\pm$  SD, n=15) de diâmetro, apresentando espaço perivitelínico estreito, córion liso e fino, um vitelo homogêneo e não segmentado e uma única gota de óleo medindo entre 0,16 e 0,18mm ( $0,17 \pm 0,01$ mm, n=15). A temperatura durante a incubação foi mantida em 26,5°C. A primeira divisão celular ocorreu 10 min pós-fertilização (pf) e resultou em duas células (Figura 3A). O estágio de quatro células foi alcançado em 17min pf (Figura 3B), o estágio de 16 células em 30 min pf. (Figura 3C). Aproximadamente 3horas pf, o estágio de gástrula foi alcançado (Figura 3F), e 7h 30min pf, iniciou a presença de melanóforos (Figura 3I). Em 9h pf, foi possível diferenciar a cabeça da cauda, surgimento da primórdio óptico e a vesícula de Kupffer's evidente na região posterior do embrião (Figura 3J). As eclosões iniciaram com 13h pf e as larvas tinham cerca de 17 somitos e presença de melanóforos na cabeça, corpo, saco vitelínico e gota de óleo (Figura 3K). As larvas eclodiram num intervalo de 13 - 14h pf.



**Figura 3.** Desenvolvimento embrionário no período de clivagem, blástula, gástrula e diferenciação do eixo embrionário de *Centropyge aurantonotus*. (A) Ovo recém-fertilizado com dois blastômeros (10 min). (B) 4 blastômeros (17 min). (C) 16 blastômeros (30 min). (D) 64 blastômeros. (E) Blástula (estágio inicial). (F) Gástrula (estágio inicial). (G) Gástrula 40%. (H) Gástrula 90%. (I) Diferenciação do eixo embrionário. (J) embrião com 17 somitos; seta indica vesícula de Kupfer's. (K) Embrião (último estágio).

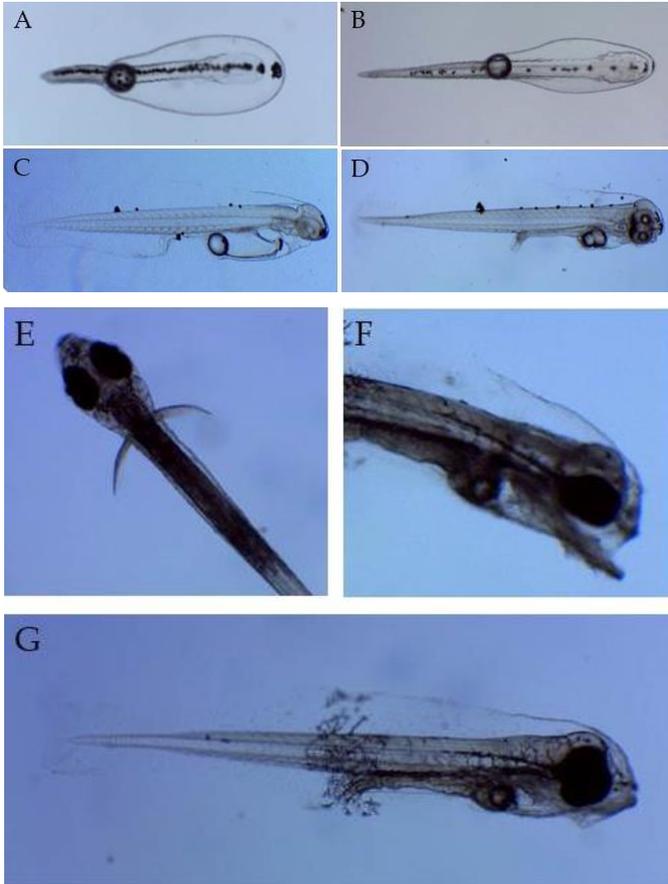
### 2.3.3 Desenvolvimento larval

Larvas recém-eclodidas mediram entre 1,15 e 1,27mm ( $1,22 \pm 0,04$ mm,  $n = 10$ ) em comprimento total (CT), com um grande saco vitelínico de forma elíptica que ultrapassa o focinho. Possuem uma única gota de óleo localizada na parte posterior do vitelo, medindo entre 0,16 e 0,18mm ( $0,17 \pm 0,01$ mm,  $n = 10$ ) de diâmetro (Figura 4A). As larvas apresentavam vesícula óptica, entretanto pouco desenvolvida. Também foi possível observar as vesículas óticas, mas sem presença de otólitos. A pigmentação era presente ao longo de todo o corpo, com exceção da ponta da notocorda.

Quando completou 24 HAE, as larvas mediam entre 2,17 e 2,46mm ( $2,27 \pm 0,10$ mm,  $n = 10$ ) em comprimento total (CT) e tinham 23 somitos. O saco vitelínico foi reduzido em aproximadamente dois terços e a gota de óleo também havia sido reduzida (Figura 4B). Em 48 HAE, as larvas mediam entre 2,31 e 2,60mm ( $2,50 \pm 0,10$ mm,  $n = 10$ ) CT, apresentavam saco vitelínico residual e gota de óleo com 0,12 – 0,14mm ( $0,13 \pm 0,01$ mm,  $n = 10$ ) (Figura 4C).

Com 72 HAE, as larvas mediam 2,50 – 2,72mm ( $2,63 \pm 0,10$ mm,  $n = 10$ ) CT, com saco vitelínico e gota de óleo bastante reduzidos. Surgiram numerosos melanóforos ramificados na região central do peixe que estendiam-se dorso ventralmente e na região do sistema digestório. A boca e ânus estavam abertos e observou-se a presença de nadadeira peitoral. Os olhos estavam completamente pigmentados, e pareciam ser funcionais devido aos visíveis ataques às presas e o saco vitelínico tinha sido quase totalmente absorvido (Figuras 4 D, E, F). A abertura de boca mediu entre 122 e 137 $\mu$ m.

As larvas sobreviveram até 96 HAE e apresentavam natação ativa e orientada por toda coluna d'água. Após este período não foi possível acompanhar o desenvolvimento larval, devido à mortalidade total que ocorreu, possivelmente pela falta de alimento com tamanho adequado.



**Figura 4.** Desenvolvimento de larvas de *Centropyge aurantonotus*: (A) larvas recém-eclodidas. (B) larvas com 8HAE. (C) 24 HAE com vitelo reduzido e formação do olho visível. (D) 48 HAE com sistema digestório primitivo e visível. (E) larvas com 72HAE com presença de nadadeiras peitorais (F) boca aberta. (G) ramificações dos melanóforos e olhos bem pigmentados.

**Tabela 1.** Estágios de desenvolvimento de embriões e larvas de *Centropyge aurantonotus* a 26,5°C.

|                           | Estágio            | Tempo (pós fertilização)                | Descrição - Embriões   |
|---------------------------|--------------------|---|--|
|                           | Recém-fertilizados | 0                                       |  |
| <b>Clivagem do zigoto</b> | 2 células          | 10 min                                  |  |
|                           | 4 células          | 17 min                                  |  |
|                           | 16 células         | 30 min                                  |  |
|                           | 32 células         | 45 min                                  |  |
|                           |                    | 1h 30min – 2h                           |  |
| <b>Blástula</b>           | 128 -1028 células  | 45min                                   |  |
| <b>Gástrula</b>           | 10%                | 3h 30min                                |  |
|                           | 50%                | 6h                                      |  |
|                           | 90%                | 7h:00                                   |  |
|                           | 95%                | 7h 30min                                | Início do fechamento do blastóporo, presença de melanóforos no vitelo  |
| <b>Organogênese</b>       | 6- somitos         | 7h 30min                                | Blastóporo fechado   |
|                           | 9-somitos          | 9h                                      | Possível diferenciar cabeça e cauda, vesícula de Kupffer's, surgimento do primórdio óptico e aumento dos melanóforos distribuídos ao longo do eixo embrionário |
|                           | Estágio            | Tempo (pós eclosão)                     | Descrição - Larvas   |
| <b>Larva</b>              | 13-somitos         | 10h                                     | Maior pigmentação ao longo do eixo embrionário e somitos se organizando em "V"   |
|                           | Período de eclosão | 13h                                     | Vesícula óptica pouco desenvolvida, vesículas óticas sem presença de otólitos  |
|                           | 19-somitos         | 21h 30min                               | Batimento cardíaco e começo da circulação. Vesícula óptica bem evidente vesicular óptica? com otólitos.  |
|                           | 23-somitos         | 37h                                     | Redução do saco vitelínico em dois terços  |
|                           |                    | 60h                                     | Vitelo residual. Olho mais pigmentado  |
|                           |                    | 84h                                     | Boca e anéis abertos. Presença da nadadeira peitoral. Olhos funcionais.  |
|                           | 96h                | Consumo total do vitelo e gota de óleo. |  |

### 2.3.4 Cultivo de larvas de *C. aurantonotus*

Apesar de serem observadas frequentes tentativas de ataque às presas, concluiu-se que as larvas foram incapazes de ingerir o rotífero *B. rotundiformis*, pois não foi encontrado no trato digestório evidências deste alimento em nenhuma das larvas analisadas.

## 2.4 DISCUSSÃO

Bauer e Bauer (1981) descreveram o comportamento de desova de seis espécies do gênero *Centropyge* em laboratório e no ambiente

natural durante um período de 4 a 7 anos. Nesse estudo eles observaram que as espécies do gênero *Centropyge* possuem ritual de desova crepuscular diário. Em cativeiro, as cortes eram iniciadas cerca de 1 hora e meia antes que as luzes se apagassem e se tornavam mais intensas antes de iniciar a liberação de gametas. No campo, eles observaram um padrão semelhante onde a corte começou no crepúsculo e a desova ao pôr do sol. Em nosso estudo, o horário e o comportamento de corte e desova foram semelhantes aos descritos por estes autores.

Acredita-se que peixes do gênero *Centropyge* podem reproduzir durante todo o ano com pico de desovas nos meses mais quentes. Este fato está de acordo com o observado para *C. aurantonotus*, no qual, a primeira desova foi observada no verão que compreende estação com temperaturas mais elevadas no laboratório (26,5 - 28,5°C), e seguiram diariamente pelos 90 dias de estudo. Resultados semelhantes foram encontrados para *C. flavissimus*, que teve atividade de desova iniciada no final da primavera e atingiu o pico máximo no verão, quando as temperaturas da água ultrapassaram 27°C (Olivotto et al., 2006).

A influência lunar parece variar para cada espécie, por exemplo, Lobel (1978) relata que *Centropyge potteri* desova apenas durante a semana que antecede a lua cheia em ambiente natural. Já para *Centropyge loriculus*, as desovas ocorreram por períodos prolongados (>2anos) em cativeiro, tendo sua produção máxima na fase de lua nova (Callan, 2007). Bauer e Bauer (1981) observaram que três espécies do gênero *Centropyge* (*C. argi*, *C. flavissimus* e *C. bicolor*) no ambiente natural desovaram ao longo do ano sem interferência lunar sobre as desovas. Um padrão semelhante foi observado para o *C. aurantonotus*, no presente estudo, os peixes desovaram sem apresentar uma correlação com as fases lunares.

O padrão de coloração alterado que foi observado no presente estudo em uma das fêmeas e no macho, também foi relatado por Bauer e Bauer (1981), onde seis espécies do gênero *Centropyge* alteraram sua coloração durante o momento da corte e desova. Outra observação foi o comportamento de dominância da maior fêmea sobre as menores, principalmente na hora de alimentação e corte. Sakai e Kohda (1997) reportam comportamento similar, onde foi observado em um estudo de campo, uma correlação positiva entre o número de ataques e o tamanho das fêmeas de *Centropyge ferrugatus*. Contudo, na maior parte do dia (horas de luz) houve pouca interação social, período no qual os peixes ficavam forrageando o fundo e as paredes do tanque, com apenas algumas perseguições aleatórias entre os indivíduos.

Segundo Baensch (2003), para uma propagação bem-sucedida dos peixes-anjo, devem ser seguidos: a) duas a três alimentações diárias de alta qualidade; b) longo comprimento de dia (14 – 16 horas de luz); c) temperatura da água entre 26 e 28°C; d) tanque com tamanho adequado (>300L) com pelo menos 50 cm de profundidade para permitir a subida para a desova; e e) excelente qualidade de água. No presente trabalho, os bons resultados de taxas de fecundidade, fertilização e eclosão, provavelmente são o reflexo do cumprimento dos requisitos acima apontados.

Embora não tenha sido possível identificar quantas fêmeas desovavam por dia, ou ainda a taxa de fecundidade por fêmea, quando se analisa o total de ovos produzidos por esse harém, as taxas de viabilidade dos ovos e de eclosão das larvas obtidos neste estudo, podem ser consideradas altas quando comparadas com outras espécies do gênero, como por exemplo *C. flavissimus* (Olivotto et al., 2006); *C. debelius* (Baensch e Tamuru, 2009a) e *Centropyge fisheri* x *C. resplendens* (Baensch e Tamuru, 2009b).

Ovos e fases iniciais de larvas de peixes-anjo anão são bastante semelhantes às descritas para a família Pomacanthidae (Hioki e Suzuki, 1987). Leu et al. (2009) resumiram em tabela uma comparação de ovos e larvas recém-eclodidas de 16 espécies de peixes anjos, no qual fica evidente essa semelhança no padrão. O diâmetro dos ovos fertilizados (0,64 – 0,72 mm) ficou dentro da média para outros pomacantídeos, assemelhando-se a outros peixes do gênero *Centropyge* como *C. interruptus* (0,68 – 0,70 mm) (Hioki e Suzuki, 1987); *C. fisheri*, *C. loricula*, *C. multicolor* (0,7 mm) (Baensch, 2002, 2003) e *C. flavissimus* 0,70mm (Olivotto et al., 2006).

As larvas de *C. aurantonotus* examinadas neste estudo mostram muitas características comuns às outras espécies de peixes-anjo, incluindo a presença de uma única gota de óleo situada na extremidade posterior do saco vitelino, corpo moderado e lateralmente comprimido com a ponta da notocorda estreita e fortemente pigmentada com melanóforos escuros uniformes. A presença de otólitos foi visível 8HAE, que aumentou de tamanho até o período mixotrófico de natação orientada e exaustão do vitelo. O otólito tem papel importante na transdução do som e do equilíbrio (Gauldie e Nelson, 1988), e desempenha um papel importante na natação das larvas e na captura de presas. O número de sômitos é espécie-específico, e larvas de *C. aurantonotus* apresentavam 23 sômitos ao final do das 96 HAE. O número de sômitos é geralmente utilizado para definir os estádios de desenvolvimento (Gorodilov, 2004).

No presente estudo, não foi possível manter as larvas vivas por mais de 96 HAE, possivelmente devido à falta de um alimento vivo de tamanho adequado. Diversas tentativas de alimentação com o rotífero da espécie *Brachionus rotundiformis* foram realizadas, no entanto sem êxito. O rotífero *B. rotundiformis* é comumente utilizado como alimentação inicial para muitas espécies de peixes marinhos (Lee e Ostrowski, 2001; Leu et al., 2003). No entanto, parece que estes rotíferos não podem ser utilizados para a alimentação inicial de *C. aurantonotus* pela limitação da abertura de boca dessas larvas.

O tamanho da boca é um fator importante na criação de larvas, limitando o tamanho máximo da presa que pode ser consumida tendo em vista que deve ter em média de 20 a 50% da abertura da boca (Shirota, 1970). Vários estudos têm mostrado que o sucesso na primeira alimentação de larvas de peixes-anjos está ligado ao uso específico do copépode, *Parvocalanus* spp. devido ao pequeno tamanho dos náuplios (70x45µm) ou do zooplâncton selvagem (Baensch, 2002, 2003; Olivotto et al. 2006). Outros autores também citam que o uso de ciliados como primeiro alimento em larvas de peixes-anjo podem aumentar as taxas de sobrevivência (Nagano et al., 2000a, b; Yoo e Hur 2002; Olivotto et al. 2005; Leu et al., 2015).

Dessa forma, pressupõe-se que, para avançar no cultivo de larvas do peixe-anjo *C. aurantonotus*, seja necessário a utilização de organismos com tamanho e composição adequada para as larvas, como é o caso de determinados grupos de copépodes, ou como também o uso de ciliados que ainda podem facilmente ser enriquecidos com algas ou produtos comerciais.

## 2.5 CONCLUSÃO

O peixe-anjo *Centropyge aurantonotus* selvagem apresentou fácil adaptação às condições de cativeiro. Este estudo mostrou pela primeira vez o comportamento de desova, desenvolvimento embrionário e primeiros estágios larvais desta espécie em condições controladas. Larvas de *C. aurantonotus* não foram aptas a ingerir rotíferos da espécie *Brachionus rotundiformis*, logo após a abertura de boca.

## AGRADECIMENTOS

O autor (R.C.M.) foi financiado pela Agência Federal de Apoio e Avaliação de Pós-Graduação em Educação (Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES).

## 2.6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Anderson, A. B.; Carvalho-Filho, A.; Morais, R. A.; Nunes, L. T., Quimbayo, J. P.; Floeter, S. R. 2015. Brazilian tropical fishes in their southern limit of distribution: checklist of Santa Catarina's rocky reef ichthyofauna, remarks and new records. *Check List*, 11(4): 1-25. <http://dx.doi.org/10.15560/11.4.1688>.

Arai, H. 1994. Spawning behavior and early ontogeny of a pomacanthid fish, *Chaetodontoplus duboulayi*, in an aquarium. *Japanese Journal of Ichthyology*, 41(2): 181-187. <http://doi.org/10.11369/jji1950.41.181>.

Baensch, F. 2002. The culture and larval development of three pygmy angelfish species: *Centropyge fisheri*, *Centropyge loriculus* and *Centropyge flavissimus*. *Freshwater and Marine Aquarium*, 25(12): 4-12.

Baensch, F. 2003. Marine copepods and the culture of two new pygmyangelfish species. *Freshwater and Marine Aquarium*, 26(7): 156-162.

Baensch, F.; Tamaru, C.S. 2009a. Spawning and development of larvae and juveniles of the rare blue Mauritius angelfish, *Centropyge debelius* (1988), in the hatchery. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(4): 425–439. <http://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00273.x>.

Baensch, F.; Tamaru, C.S. 2009b. Captive hybridization of two geographically isolated pygmy angelfish species, *Centropyge fisheri* and *Centropyge resplendens*. *Journal of Fish Biology*, 75(10): 2571–2584. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02452.x>.

Bauer, J.A.; Bauer, S. E. 1981. Reproductive biology of pigmy angelfishes of the genus *Centropyge*. *Bulletin of Marine Science*, 31(3): 495- 513.

Blasiola Jr., C. G. 1976. *Centropyge aurantonotus* BURGESS, 1974 (*Pisces: Chaetodontidae*): range, extension, and redescription. *Bulletin of Marine Science*, 26(4): 564-568.

Callan, C.K. 2007. *Assessment of the flameangelfish (Centropyge loriculus) as a model species in studies on egg and larval quality in marine fishes*. Orono. 217 f. (PhD Theses, The University of Maine).

Disponível em:  
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=4B0EC4102973DF934DF253AFDC8D0C0E?doi=10.1.1.427.9378&rep=rep1&type=pdf>  
 Acesso em 16 jul. 2017.

Callan, C. K.; Laidley, C. W.; Forster, I. P.; Liu, K. M.; Kling, J. L.; Place, A. R. 2011. Examination of broodstock diet effects on egg production and egg quality in flame angelfish (*Centropyge loriculus*). *Aquaculture Research*, 43(5): 696-705. **<http://doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02877.x>**.

Callan, C.K.; Laidley, C.W.; Kling, J. L.; Breen, N. E.; Rhyne, A. L. 2014. The effects of dietary HUFA level on flame angelfish (*Centropyge loriculus*) spawning, egg quality and early larval characteristics. *Aquaculture Research*, 45(7): 1176–1186. **<http://doi.org/10.1111/are.12063>**.

FISHBASE. *Centropyge aurantonotus* Burgess, 1974. Disponível em: <http://www.fishbase.org/summary/Centropyge-aurantonotus.html>  
 Acesso em: 18 jul. 2017.

Gauldie, R.W.; Nelson, D.G.A. 1988. Aragonite twinning and neuroprotein secretion are the cause of daily growth rings in fish otoliths. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 90(3): 501–6. **[http://doi.org/10.1016/0300-9629\(88\)90227-7](http://doi.org/10.1016/0300-9629(88)90227-7)**

Gorodilov, Y. N. 2004. Studies of temporal and spatial peculiarities of somitogenesis in fish embryos. *Russian Journal of Developmental Biology*, 35(2): 92–105. **<http://doi.org/10.1023/B:RUDD.0000022351.34366.6a>**.

Green, E. 2003. International trade in marine aquarium species: using the global marine aquarium database. In: CATO, J.; BROWN, C. *Marine ornamental species: collection, culture and conservation*. Iowa State Press, Iowa, USA. p. 31–48.

Hioki, S.; Suzuki, K. 1987. Reproduction and early development of the angelfish, *Centropyge interruptus*, in an aquarium. *Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University*, 24(1): 133-140.

Hioki, S.; Suzuki, K. 1995a. Spawning behavior, eggs, and larvae of the angelfish, *Chaetodontoplus mesoleucus*, in the aquarium. Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University, 0(39): 195-205.

Hioki, S.; Suzuki, K. 1995b. Spawning behavior, eggs, and larvae of the angelfish, *Apolemichthys trimaculatus*, in captivity. Bulletin of Institute of Oceanic Research and Development, Tokai University, 0(16): 13-22.

Hioki, S.; Suzuki, K.; Tanaka, Y. 1982. Spawning behavior, egg and larval development, and sex succession of the hermaphroditic pomacanthine, *Genicanthus melanospilos*, in the aquarium. Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University, 15(1): 359-366.

Hioki, S.; Suzuki, K.; Tanaka, Y. 1990. Development of eggs and larvae in the angelfish, *Centropyge ferrugatus*. Japanese Journal of Ichthyology, 37(1): 34-38.

Hioki, S.; Tanaka, Y.; Suzuki, K. 1995. Reproductive behavior, egg, larvae, and sexuality of two angelfishes, *Genicanthus watanabei* and *G. bellus*, in an aquarium. Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University, 0(40) : 151-171.

Holt, G.J.; Riley, C.M. 2001. Laboratory spawning of coral reef fishes: effects of temperature and photoperiod. 28th U.S.–Japan natural resources aquaculture panel: spawning and maturation of aquaculture species. U.S.–Japan Cooperative Program in Natural Resources (UJNR), Technical Report 28: 33–38.

IBAMA. Estatística de peixes ornamentais. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-recursos-pesqueiros/estatistica-peixes-ornamentais>. Acesso em 9 dez. 2016.

Lee, C. S.; Ostrowski, A.C. 2001. Current status of marine finfish larviculture in the United States. Aquaculture, 200(1-2): 89-109. [http://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00695-0](http://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00695-0).

Leu, M. Y.; Chen, I H.; Fang, L. S. 2003. Natural spawning and rearing of mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*, larvae in captivity. The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh, 55(1): 22-30.

Leu, M. Y.; Liou, C. H.; Wang, W. H.; Yang, S. D.; Meng, P. J. 2009. Natural spawning, early development, and first feeding of the semicircle angelfish [*Pomacanthus semicirculatus* (Cuvier, 1831)] in captivity. *Aquaculture Research*, 40(9): 1019–1030. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02192.x>.

Leu, M. Y.; Meng, P. J.; Huang, C. S.; Tew, K.S.; Kuo, J.; Liou, C. H. 2010. Spawning behaviour, early development and first feeding of the bluestriped angelfish [*Chaetodontoplus septentrionalis* (Temminck & Schlegel, 1844)] in captivity. *Aquaculture Research*, 41(9): 39–52. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02454.x>.

Leu, M. Y.; Sune, Y H.; Meng, P. J. 2015. First results of larval rearing and development of the bluestriped angelfish *Chaetodontoplus septentrionalis* (Temminck & Schlegel) from hatching through juvenile stage with notes on its potential for aquaculture. *Aquaculture Research*, 46(5): 1087–1100. <http://doi.org/10.1111/are.12265>.

Lobel, P.S. 1978. Diel, lunar, and seasonal periodicity in the reproductive behavior of a pomacanthid fish, *Centropyge potteri*, and some other reef fishes in Hawaii. *Pacific Science*, 32(2): 193–207.

Moe, Jr. M.A. 1976. Rearing Atlantic angelfish. *Marine Aquarist*, 7(1): 17–26.

Nagano, N.; Iwatsuki, Y.; Kamiyama, T.; Nakata, H. 2000a. Effects of marine ciliates on survivability of the first-feeding larval surgeonfish, *Paracanthurus hepatus*: laboratory rearing experiments. *Hydrobiologia*, 432(1-3): 149–157. <https://doi.org/10.1023/A:1004094825739>.

Nagano, N.; Iwatsuki, Y.; Kamiyama, T.; Shimizu, H.; Nakata, H. 2000b. Ciliated protozoans as food for first feeding larval grouper, *Epinephelus septemfasciatus*: laboratory experiment. *Plankton Biology and Ecology*, 47(2): 93–99.

Olivotto, I.; Zenobi, A.; Rollo, A.; Migliarini, B.; Avella, M; Carnevali, O. 2005. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. *Aquaculture*, 250(1-2): 175–182. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.057>.

Olivotto, I.; Holt, S. A.; Carnevali, O.; Holt, G.J. 2006. Spawning, early development, and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture*, 253(1-4): 270-278.  
**<http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.009>**.

Prang, G. 2007. An industry analysis of the freshwater ornamental fishery with particular reference to the supply of brazilian freshwater ornamentals to the UK market. *Uakari*, 3(1): 7–51.

Pyle, R. L. 2003. Chapter 3. *Taxonomic revision of the genus Centropyge (Pisces: Perciformes: Pomacanthidae), Honolulu, USA*. Honolulu, Hawaii. Xxxf. (PhD Theses, University of Hawaii, Honolulu). Disponível em:  
[https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/6906/.../uhm\\_ph\\_d\\_4412\\_r.pdf](https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/6906/.../uhm_ph_d_4412_r.pdf). Acesso em: 10 jul 2017.

Sakai, Y.; Kohda, M. 1997. Harem structure of the protogynous angelfish, *Centropyge ferrugatus* (Pomacanthidae). *Environmental Biology of Fishes*, 49(3): 333–339.

Sakai, Y.; Karino, K.; Kuwamura, T.; Nakashima, Y.; Maruo, Y. 2003. Sexually dichromatic protogynous angelfish *Centropyge ferrugata* males can change back to females. *Zoological Science*, 20(5): 627– 633.  
**<http://doi.org/10.2108/zsj.20.627>**.

Shirota, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 36(6): 353-368.  
**<http://doi.org/10.2331/suisan.36.353>**.

Suzuki, K.; Hioki, S.; Tanaka, Y.; Iwasa, K. 1979. Spawning behavior, eggs, larvae, and sex reversal of two pomacanthine fish, *Genicanthus lamarck* and *G. semifasciatus*, in the aquarium. *Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University*, 12(1): 149-165.

Wabnitz, C.; Taylor, M.; Green, E.; Razak, T. 2003. *From Ocean to Aquarium: The Global Trade in Marine Ornamental Species*. Cambridge: UNEP-WCMC. 64p.

Wittenrich, M. L. 2007. *The complete illustrated breeders guide to marine aquarium fishes: mating, spawning and rearing methods for over 90 species*. Neptune City: TFH Publications. 304p.

Wittington, R. J.; Chong, R. 2007. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. *Preventive Veterinary Medicine*, 81(1-3): 92–116. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.04.007>.

Yoo, J. H.; Hur, S. B. 2002. Evaluation of ciliate *Euplotes sp.* as a live food for marine fish larvae. *Journal of the Korean Fisheries Society*, 35(5): 542–544. <http://doi.org/10.5657/kfas.2002.35.5.542>.

## CAPÍTULO 2

### **Desenvolvimento embrionário dos peixes-anjo *Centropyge bispinosa* e *Centropyge bicolor***

Raoani Cruz Mendonça<sup>a</sup>, Chaoshu Zeng<sup>b</sup>, Mônica Yumi Tsuzuki<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Centro de Ciências Agrárias – CCA, Departamento de Aquicultura – AQI, Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos, Servidão Beco dos Coroas, 503 – CEP 88061-600 – Barra da Lagoa – Florianópolis/SC – Brasil.

<sup>b</sup>Marine Biology and Aquaculture, College of Science and Engineering, James Cook University, Townsville, QLD 4811, Australia.

E-mail: raoani@hotmail.com (autor correspondente).

#### **Resumo**

Peixes da família Pomacanthidae (peixes-anjo) estão entre os mais procurados pela indústria da aquariofilia. Para entender aspectos da biologia destas espécies, estudos em laboratório são necessários. O objetivo deste estudo foi descrever o desenvolvimento embrionário de duas espécies de peixes-anjo (*C. bicolor* e *C. bispinosa*) e o tempo em que esses eventos ocorrem. Para descrever os estágios embrionário e iniciais larvais, as observações foram feitas em períodos regulares, sob microscópio acoplado a uma câmera. A temperatura utilizada para incubação dos ovos foi de  $26,0 \pm 0,2$  °C. Ovos fertilizados de ambas espécies são transparentes, esféricos e pelágicos, medindo em diâmetro  $703,6 \pm 7,8\mu\text{m}$  (média  $\pm$  SD, n=15) para o *C. bicolor* e  $627,6 \pm 7,8\mu\text{m}$  para o *C. bispinosa*, apresentando espaço perivitelínico estreito, córion liso e fino, um vitelo homogêneo e não segmentado e uma única gota de óleo medindo  $177,5 \pm 6,5\mu\text{m}$  para o *C. bicolor* e  $172,7 \pm 8,1\mu\text{m}$  para o *C. bispinosa*. Eventos importantes no desenvolvimento embrionário e larval são descritos, como o fechamento do blastóporo, que ocorreu às 7h: 30min após fertilização (AF); tempo de eclosão às 13h: 30min (AF); abertura na boca às 72h após eclosão (AE) para o *C. bicolor* e 96h AE para o *C. bispinosa*.

**Palavras-chave:** Peixe-anjo, Embrião, Larvas, Ontogenia, Organogênese.

## Abstract

Fish of Pomacanthidae family (angelfish) are among the most sought by the aquarium industry. To understand aspects of the biology of these species, laboratory studies are needed. The objective of this study was to describe the embryonic development of two species of angelfish (*C. bicolor* and *C. bispinosa*) and the time at which these events occur. To describe the embryonic and early larvae stages, observations were made at regular intervals, under a microscope coupled to a camera. The temperature used for egg incubation was  $26.0 \pm 0.2$  °C. Fertilized eggs of both species are transparent, spherical and pelagic, measuring in diameter  $703.6 \pm 7.8\mu\text{m}$  (mean  $\pm$  SD, n = 15) for *C. bicolor* and  $627.6 \pm 7.8\mu\text{m}$  for *C. bispinosa*, with a narrow perivitellinic space, smooth and thin chorion, a homogenous and non-segmented calf and a single drop of oil measuring  $177.5 \pm 6.5 \mu\text{m}$  for *C. bicolor* and  $172.7 \pm 8.1 \mu\text{m}$  for *C. bispinosa*. Important facts on embryonic and larval development are described, such as the closure of the blastopore, which occurred at 7h:30min after fertilization (AF); hatching time at 1h:30min (AF); mouth opening at 72h after hatching (AH) for *C. bicolor* and 96h (AH) for *C. bispinosa*.

**Key words:** Angelfish, Embryo, Larvae, Ontogeny, Organogenesis.

### 3.1 Introdução

Globalmente, 1,5 bilhão de peixes ornamentais abrangendo aproximadamente 4.000 espécies de água doce e 1.800 espécies marinhas são comercializados a cada ano (Rhyne *et al.*, 2012; Stevens *et al.*, 2017). Ao contrário das espécies de água doce, das quais a maioria é cultivada em cativeiro, praticamente todos os peixes marinhos são coletados do ambiente natural (recifes de coral). Recifes de coral estão entre os ecossistemas mais diversos do mundo, mas globalmente ameaçados (Hughes *et al.*, 2017; Triki *et al.*, 2017). Enquanto os efeitos das coletas continuadas de peixes ornamentais marinhos em ecossistemas de recifais são amplamente desconhecidos devido à falta de dados confiáveis (Olivier, 2001; Rhyne *et al.*, 2012), a aquicultura aparece como uma alternativa sustentável de abastecimento para indústria da aquariorfilia (Olivotto *et al.*, 2011; Zeng *et al.* 2018).

A família Pomacanthidae (peixes-anjo) está listada entre as dez famílias de peixes que compõem o comércio internacional de espécies de aquários marinhos, com uma contribuição de 8% do valor total de peixes marinhos de aquário (Green, 2003) são encontrados em ambientes de latitudes tropicais e subtropicais em todo o mundo (Pyle, 2003). Apresenta cerca de 84 espécies associadas aos recifes divididos em sete gêneros (Allen *et al.*, 1998 e Pyle, 2003), dentre eles o dos peixes-anjo anões (gênero *Centropyge*), que respondem por cerca de um quarto das exportações do Pacífico insular, região onde mais se coletam estes peixes no mundo (Pyle, 2003). Isto se deve às suas cores vibrantes, pequeno tamanho na fase adulta e rápida adaptação as condições de cativeiro.

*Centropyge* é o gênero mais rico em espécies, e é distinguido pela forma e espinhação da superfície pré-orbital, relativo pequeno tamanho do corpo, o último dando origem ao seu nome comum, o de peixes-anjo anões (Gaither *et al.*, 2014). De acordo com Pyle (2003), 32 espécies de *Centropyge* são reconhecidas com base na morfologia, geografia e coloração. O *C. bicolor* é amplamente distribuído pelo Indo-Pacífico (Pyle, 2001). Encontra-se geralmente em profundidades que variam de 1-25 m. O *C. bispinosa*, também conhecido como “Coral Beauty” é amplamente disperso na região tropical do Indo-Pacífico. Pode ser encontrado na África Oriental (Tanzânia, Moçambique, África do Sul) até as Ilhas Tuamotu (Polinésia Francesa) no Pacífico Sul, estendendo-se para o norte até as Ilhas Izu (Japão) e até a ilha Lord Howe (Austrália) (Pyle, 2001). Estas duas espécies são muito populares e frequentemente exportadas pela indústria do aquarismo (Pyle, 2001).

A biologia reprodutiva é muito similar (comportamento reprodutivo, horário e frequência de desova, encontrados em pares ou harens, hermafroditismo protogínico) entre as espécies dentro do gênero *Centropyge* (Moyer & Nakazono, 1978; Bauer & Bauer, 1981; Thresher, 1985; Moyer *et al.*, 1983; Moyer & Zaiser, 1984; Hioki & Suzuki, 1987; Hioki *et al.*, 1990, Olivotto *et al.*, 2006, Baensch, 2002, 2003; Baensch & Tamuru, 2009, Callan *et al.*, 2011, 2014). Informações do desenvolvimento embrionário e larval já foram descritas para algumas espécies deste gênero, como para: *C. argi*, *C. fisheri*, *C. flavissimus*, *C. acanthops*, *C. argi* e *C. fisheri* (Bauer & Bauer, 1981); *C. interruptus* (Hioki & Suzuki, 1987); *C. ferrugatus* (Hioki *et al.*, 1990); *C. fisheri*, *C. lorriculus* e *C. flavissima* (Baensch, 2002); *C. multicolor* e *C. interruptus* (Baensch, 2003); *C. flavissima* (Olivotto *et al.*, 2006); *C. debelius* (Baensch *et al.* 2009). Embora o *C. bispinosa* esteja inserido na lista acima, o desenvolvimento embrionário e larval para esta espécie não se encontra detalhado (Bauer & Bauer, 1981). Já para o *Centropyge bicolor*, ainda não foi descrito até o presente momento.

O conhecimento das fases iniciais de vida dos peixes é essencial para a compreensão dos aspectos fisiológicos dos embriões e larvas, gerando informações para conservação de populações de peixes e aprimoramento de técnicas de cultivo. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo descrever as principais características morfológicas dos estágios de desenvolvimento embrionário de duas espécies de peixes-anjo anões (*Centropyge bispinosa* e *Centropyge bicolor*) em cativeiro.

### 3.2 Material e Métodos

Os ovos usados para descrever o desenvolvimento embrionário foram obtidos através de desova natural de um casal de cada espécie (*Centropyge bispinosa*: macho: CT = 10,1cm e P = 23,9g / fêmea: CT = 8,5cm e P = 17,2g; *Centropyge bicolor*: macho: CT = 11,5cm e P = 40,6g / fêmea: CT = 9,2cm e P = 21,0g) nas Instalações de Pesquisa Marinha e Aquicultura (Marine and Aquaculture Research Facilities Unit (MARFU), School of Marine and Tropical Biology, James Cook University, Townsville, Queensland, Austrália.

Os pares foram mantidos em tanques cilíndricos, volume útil de 1.000L, ligados a um sistema de recirculação com biofiltros, 2 bags de 50µm, 80w ultra violeta e Skimmer. A temperatura era mantida entre 26 – 28 °C através de um trocador de calor (aquecedor/chiller). Os peixes estavam em uma estufa com cobertura de cor branca, conseqüentemente,

expostos a um fotoperíodo natural. A salinidade foi controlada para ficar próxima a 33.

Ovos fertilizados flutuantes, foram coletados próximo ao entardecer ( $\pm 30$  min antes do escurecer) usando um coletor (balde de 15L com uma malha de 250  $\mu\text{m}$  nas laterais), situado externamente na saída de água do tanque e transferidos para beckers de vidro de 500mL (unidade experimental), em triplicata para cada espécie. Os beckers foram mantidos em banho-maria em caixas plásticas, com aeração e aquecedores termostatos ( $\pm 0,2$  °C) para manter a temperatura constante durante todo experimento. A temperatura de incubação foi  $26,0 \pm 0,2$  °C, salinidade 33, pH=7,8 e oxigênio dissolvido foi  $7,2 \pm 0,1$  mg/L.

Amostras de ovos e larvas foram coletadas com auxílio de uma pipeta e colocadas sobre uma lâmina de vidro (n=10). Os principais estágios de desenvolvimento (clivagem, blástula, gástrula, segmentação e organogênese) foram fotografados em intervalos regulares (determinados por observações prévias), de acordo com a fase ontogenética, com auxílio de uma câmera acoplada a um microscópio óptico com a lente objetiva 10x (Olympus DP 73). A classificação dos eventos foi baseada nas características morfológicas de acordo com a metodologia usada por Fujimoto et al. (2004).

### 3.3 Resultados

De forma geral, o desenvolvimento embrionário de *Centropyge bispinosa* e *C. bicolor* foi bastante similar quanto ao tempo dos eventos observados. Desta forma, os resultados serão referentes às duas espécies, entretanto, sendo discriminados somente os aspectos distintos para cada uma.

#### 3.3.1 Característica dos ovos

Ovos fertilizados de ambas espécies são transparentes, esféricos e pelágicos, medindo em diâmetro  $703,6 \pm 7,8\mu\text{m}$  (média  $\pm$  SD, n=15) para o *C. bicolor* e  $627,6 \pm 7,8\mu\text{m}$  para o *C. bispinosa*. Apresentam espaço perivitelínico estreito, córion liso e fino, um vitelo homogêneo e não segmentado e uma única gota de óleo medindo  $177,5 \pm 6,5\mu\text{m}$  para o *C. bicolor* e  $172,7 \pm 8,1\mu\text{m}$  para o *C. bispinosa*.

### 3.3.2 Desenvolvimento embrionário

O desenvolvimento embrionário foi dividido dentro dos períodos de clivagem, blástula, gástrula, segmentação/organogênese e eclosão. Estágios de desenvolvimento foram nomeados com base nas características morfológicas, de acordo com Fujimoto et al. (2004).

#### 3.3.3 Período de clivagem

A clivagem pode ser definida como o período em que os blastômeros se dividem sequencialmente, dobrando o número de células em cada divisão até o blastodisco ter 64 blastômeros (Fujimoto et al., 2004). O padrão de clivagem observado nos embriões de *C. bispinosa* e *C. bicolor*, assim como em outros teleósteos, foi meroblástico.

Os padrões de clivagem para ambas espécies foram iguais da primeira até a sexta clivagem. A primeira clivagem ocorreu 20 min após fertilização (AF), dando origem a duas células (Fig. 1A), o estágio de 4 células ocorreu em 35 min AF (Fig. 1B), 8 células (50min AF) (Fig. 1C), 16 células (1h AF) (Fig. 1D), 32 células (1h:15min AF) (Fig. 1E) e 64 células (1h:20min AF) (Fig. 1F).

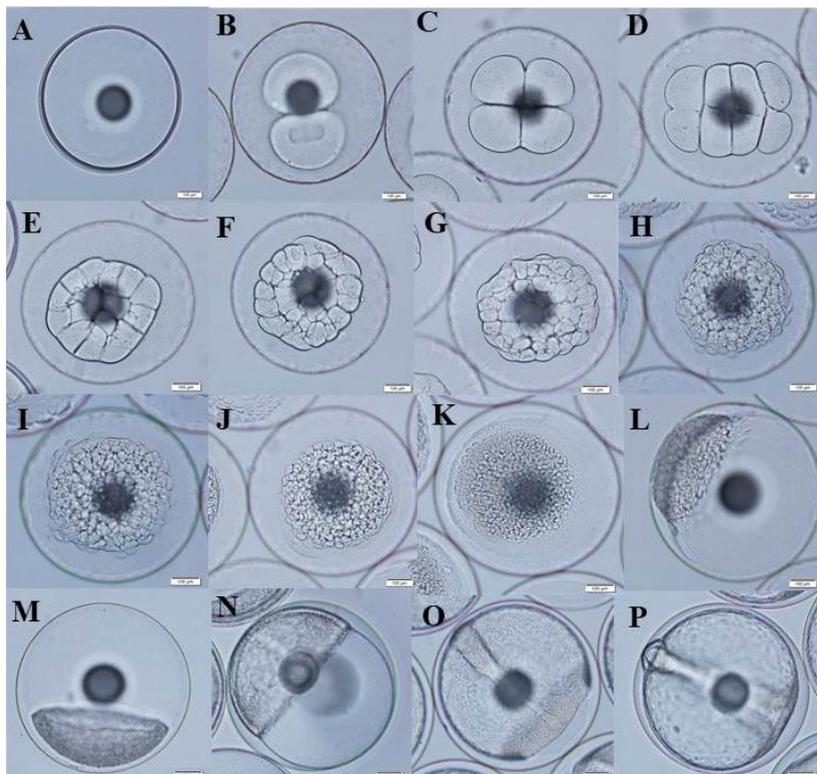
#### 3.3.4 Período de blástula

O período da blástula, para ambas espécies teve duração de 1h:15min. De acordo com a descrição de Fujimoto *et al.* (2004), este período ocorre a partir da sétima clivagem, quando 128 blastômeros formam o blastodisco (Fig. 1G) que adota uma forma esférica e se desenvolvem até 1024 blastômeros, vistos no polo animal (Fig. 1J). No estágio de 256 células (Fig. 1H), 1h:30min AF, a camada sincicial do vitelo era discernível entre o periblasto e a borda do blastodisco e foi claramente visível no estágio de 512 células (Fig. 1I).

#### 3.3.5 Período de gástrula

A característica mais marcante do estágio de gástrula é o processo de epíbole, que ocorre gradualmente com o avanço do blastoderma no saco vitelino, até que este esteja completamente coberto; momento em que o fechamento do blastóporo é evidente. Nesta etapa, ocorre um espessamento da crista marginal do blastodisco, formando uma camada interna denominada de anel germinativo. Um crescimento celular ocorre

cobrindo a massa do vitelo, num movimento do blastodisco denominado epibolia.



**Figura 1.** Estágios de desenvolvimento de embriões de *Centropyge bicolor* durante o período de clivagem, blástula, gástrula a 26°C. **A**, ovos recém-fertilizados; **B**, 2 células (20min AF); **C**, 4 células (35min AF); **D**, 8 células (50min AF); **E**, 16 células (1h AF); **F**, 32 células (1h:15min AF); **G**, 64 células (1h: 20min AF); **H**, 128 células (1h:30min AF); **I**, 256 células (1h: 40min); **J**, 512 células (2h AF); **K**, 1024 células (2h: 30min AF); **L**, início da gastrulação (2h: 40min AF); **M**, 20% epibolia (4h: 30min AF); **N**, 50% epibolia (6h AF); **O**, 90% epibolia (7h AF); **P**, fechamento do blastóporo (7h: 30min AF).

O período de gástrula para ambas espécies teve início cerca de 2h: 40 min AF. Em 4h: 30min AF, 20% do vitelo estava coberto. Metade do saco vitelino foi coberto pelo blastoderma 6h AF. O

desenvolvimento da gástrula atingiu 90% à 7h AF. Para ambas espécies, quando a gástrula estava 90% coberta, observou-se a diferenciação do eixo embrionário, definindo-se assim, a posição do embrião (Fig. 1O). O eixo diferia do resto do embrião, aparecendo como uma linha mais escura que se assentava ao longo do vitelo, no espaço perivitelino. O blastóporo foi fechado em 7h: 30min AF, quando as bordas da blastoderme se fundiram, cobrindo completamente o vitelo.

### 3.3.6 Período de segmentação e organogênese

Com o fechamento do blastóporo, ficou mais evidente a diferença entre as regiões cefálica e caudal. Neste ponto, 4 pares de somitos foram contados e a porção anterior do eixo embrionário foi mais proeminente, tornando clara a distinção entre as duas extremidades. Em 9h:30min AF, o primórdio óptico era visível e aparecia como duas vesículas arredondadas, resultante de uma evaginação na região cefálica do eixo do embrião (Fig. 2C).

A aparição dos somitos marcou a transição para o período de segmentação. A somitogênese nesse período estendeu-se do final da epibolia até logo antes da eclosão. Os somitos foram vistos pela primeira vez em cerca de três pares, 7h: 30min AF. No decorrer do desenvolvimento, os somitos aumentaram em número e metade mudaram a forma para algo que se assemelha a um "V" (Fig. 2B). Em 10h: 30min AF os embriões apresentavam 16 pares de somitos. A formação de 'V' nos somitos foi vista inicialmente em 10h AF no *C. bicolor* e 10h:30min AF no *C. bispinosa*

Os primeiros sinais de pigmentação embrionária ocorreram a 9h: 30min AF para ambas espécies, no entanto, a intensificação da pigmentação de embriões foi maior para o *C. bispinosa*, que a partir de 10h:30min AF já estavam mais fortemente pigmentados até o momento da eclosão, sendo que os melanóforos apresentaram-se mais concentrados na porção dorsal da gema e na base ventral do embrião. A diferença na pigmentação entre as duas espécies está ilustrada nas Figs. 2E e 2F, e começaram a ser aparentes nos embriões em 10h:30min AF.

Os primeiros movimentos dos embriões foram observados cerca de 11h: 30min AF. As 13h AF, foi possível observar um coração rudimentar, com um movimento promotor de dilatação da artéria axial semelhante ao peristaltismo.

### 3.3.6 Início do período larval

O início da eclosão ocorreu por volta das 13h: 30min AF, e em um período de 40 min, todas as larvas já haviam eclodido.

Para o *C. bicolor*, o primórdio ótico emergiu como uma estrutura circular rudimentar a 11h: 40min AF, em uma posição posterior à vesícula óptica e uma hora depois nos embriões de *C. bispinosa*. Para o *C. bicolor* foram observados dois pares de otólitos, localizados dentro da vesícula ótica, logo após a eclosão. Os otólitos são estruturas feitas de carbonato de cálcio que são responsáveis pela transdução de som no ouvido interno (Fig. 2D). Contudo, essa estrutura não foi observada para o *C. bispinosa* até o momento de eclosão, não sendo possível portanto, registrar o momento exato do surgimento dessa estrutura para esta espécie.

Logo após a eclosão, as larvas com comprimento total de  $1,52 \pm 0,2$ mm para *C. bicolor* e  $1,25 \pm 0,2$ mm para *C. bispinosa* eram bastante primitivas, apresentando olhos não pigmentados, sem boca e sistema digestório funcionais (Fig. 3A). Da eclosão até a abertura da boca houve uma diferença de 24h entre as espécies. Larvas de *C. bicolor*, 72h após eclosão (AE), apresentaram as seguintes características: pigmentação dos olhos, capacidade de natação orientada, abertura de boca, pouca quantidade de vitelo, trato digestório rudimentar, presença de nadadeira peitoral e comprimento total de  $2,63 \pm 0,84$ mm. Para o *C. bispinosa*, as características descritas acima, só foram alcançadas em 96h AE, com comprimento total de  $2,56 \pm 0,42$ mm (Fig 3A, B). Neste ponto de desenvolvimento, embora o vitelo tivesse sido consumido quase que por inteiro, a gota de óleo, tinha sido consumida apenas pela metade. As larvas não foram estudadas após a exaustão do vitelo. Um resumo dos eventos de desenvolvimento embrionário e larval está listado na Tabela 1.

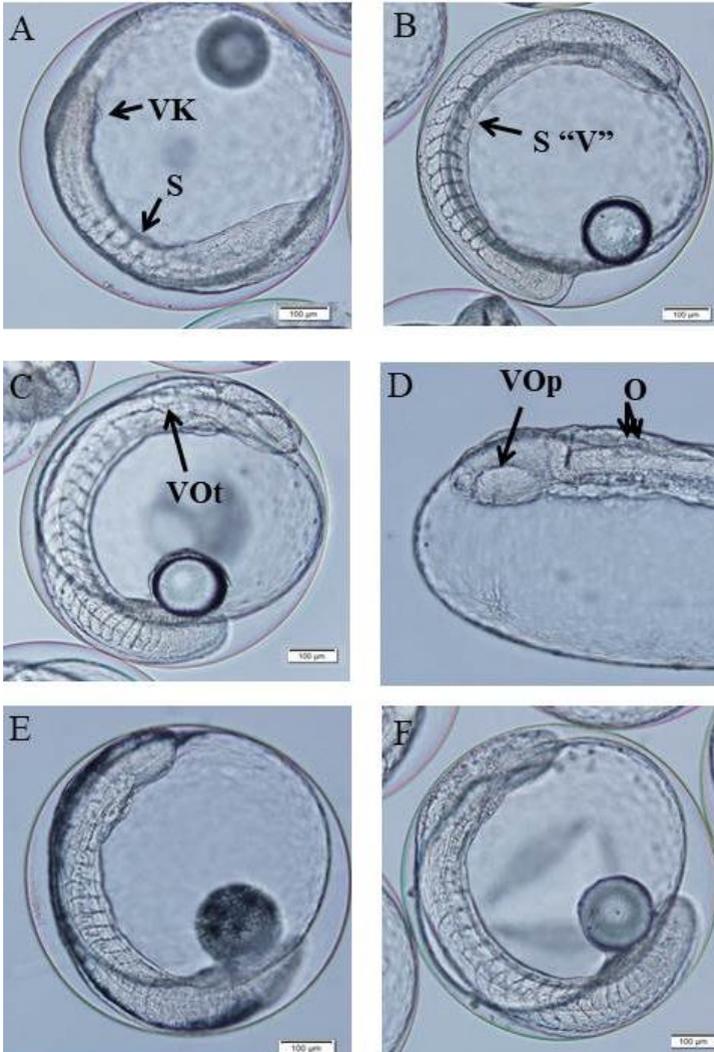


Figura 2. Estágios de desenvolvimento durante o período segmentação/organogênese e padrão de coloração. **A**, Somitos rudimentar e presença da vesícula de Kupffer (VK); **B**, somitos em forma de “V”; **C**, vesícula ótica; **D**, otólito (O) presente na vesícula ótica (VOt) e vesícula óptica (VOp); **E**, embrião de *Centropyge bispinosa* com densa concentração de melanóforos na área dorsal da notocorda e na gota de óleo. **F**, embrião de *Centropyge bicolor* com pobre número de melanóforos.

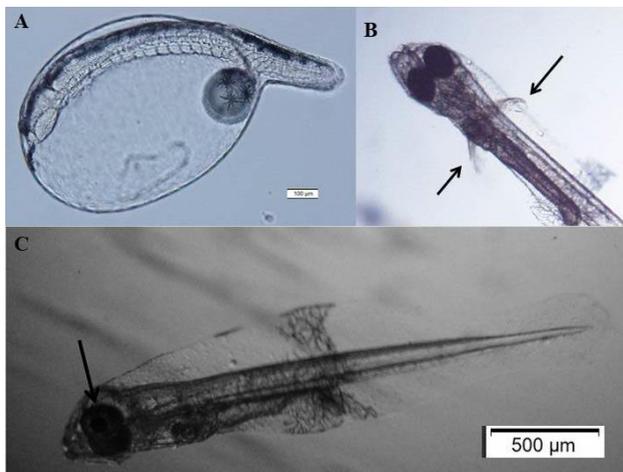


Figura 3. Características de larvas selecionadas a partir do *Centropyge bispinosa*. **A**, larva recém-eclodida; **B**, larva com presença de nadadeira peitoral (96h AE); **C**, larva com olhos pigmentados e melanóforos na região da metade do corpo (96h AE).

Tabela 1: Eventos e tempo dos eventos morfológicos.

| Nome do estágio       | Tempo (AF) | Características   | Nº figura |
|-----------------------|------------|---|-----------|
| Período de clivagem   |            |   |           |
| Ovo recém-fertilizado | 0          | Espaço perivitelínico estreito, córion liso e fino, uma única gota de óleo  | 1A        |
| 2 células             | 20min      | Primeira divisão mitótica   | 1B        |
| 4 células             | 35min      | Separara na metade os dois primeiros blastômeros  | 1C        |
| 8 células             | 50min      | Terceira divisão formando eixo 4 x 4  | 1D        |
| 16 células            | 1h         | Quarta divisão mitótica   | 1E        |
| 32 células            | 1h:15min   | Quinta divisão formando um aglomerado de blastômeros  | 1F        |
| 64 células            | 1h: 20min  | Sexta divisão e fim do período de clivagem  | 1G        |
| Período de blástula   |            |   |           |
| 128 células           | 1h:30min   | Início da formação do blastodisco   | 1H        |
| 256 células           | 1h: 40min  | Camada sincicial de gema era discernível entre o periblasto e a borda do blastodisco  | 1I        |
| 512 células           | 2h         | Camada sincicial mais claramente visível  | 1J        |
| 1024 células          | 2h: 30min  | Blastômeros vistos no polo animal   | 1K        |
| Período de gastrula   |            |   |           |
| Início da gastrulação | 2h: 40min  | Início da formação do blastodisco   | 1L        |
| 20% de epibolia       | 4h: 30min  | Aumento do blastodisco através do crescimento celular.  | 1M        |
| 50% de epibolia       | 6h         | Metade da cobertura da reserva vitelina pelo blastoderma  | 1N        |
| 90% de epibolia       | 7h         | Diferenciação das extremidades do eixo (cabeça e cauda)   | 1O        |
| 100% de epibolia      | 7h: 30min  | Cobertura completa da célula vitelina pelo blastoderma, botão da cauda  | 1P        |
| Organogênese          |            |   |           |
| 4 somitos             | 7h: 30min  | Fechamento do blastóporo; diferenciação entre cabeça e cauda, vesícula de kuppfer   | 2A        |
| Primórdio óptico      | 9h:30min   | Estrutura circular na região cefálica do embrião  | 2B        |
| Somitos em "V"        | 10h: 00min | Somitos se apresentam em forma de "V" (C. bicolor)  | 2B        |
| Somitos em "V"        | 10h: 30min | Somitos se apresentam em forma de "V" (C. bispiosa)   | -         |
| 19 somitos            | 10h: 40min | Última contagem de somitos antes da eclosão   | -         |
| Movimento do embrião  | 11h: 30min | Contrações do embrião dentro do ovo   | 2C        |
| Primórdio ótico       | 11h: 40min | Estrutura circular na região dorsal do embrião (C. bicolor)   | -         |
| Primórdio ótico       | 12h: 40min | Estrutura circular na região dorsal do embrião (C. bispiosa)  | -         |
| Batimento cardíaco    | 13h        | Coração rudimentar  | -         |
| Eclosão               | 13h: 30min | Larva recém-eclodida pouco desenvolvida e com grande vitelo   | 3A        |
| Larvas                | 72h AE     | Pigmentação dos olhos; capacidade de natação orientada; abertura de boca; restos mínimos de vitelo; trato digestório rudimentar; presença de nadadeira peitoral | -         |
| Larvas                | 96h AE     | Pigmentação dos olhos; capacidade de natação orientada; abertura de boca; restos mínimos de vitelo; trato digestório rudimentar; presença de nadadeira peitoral | 3B, C     |
| (C. bispiosa)         |            |   |           |

### 3.4 Discussão

Espécies do gênero *Centropyge* são agrupadas em três subgêneros com base na espinhação pré-orbital, corpo, forma e coloração: *Centropyge* (26 espécies); *Paracentropyge* (3 espécies); *Xiphypops* (5 espécies) (Pyle, 2003). Este mesmo autor, ainda distribui esses peixes em seis complexos (*aurantia*, *bicolor*, *bispinosa*, *colini*, *flavissima* e *multicolor*) e para isto, concilia aspectos como morfologias, cores, ecologia, comportamento e outras características entre esses grupos. O presente trabalho mostra características morfológicas do desenvolvimento de fases iniciais de vida de duas espécies de *Centropyge*, agrupadas no mesmo subgênero, no entanto, em diferentes complexos.

Ovos e larvas de Pomacanthidae têm sido bem descritos para os gêneros: *Apolemichthys* (Hioki & Suzuki, 1995a), *Chaetodontoplus* (Fujita & Mito, 1960; Arai, 1994; Hioki & Suzuki, 1995b; Leu *et al.*, 2010; Leu *et al.*, 2015), *Genicanthus* (Suzuki *et al.*, 1979; Hioki *et al.*, 1982; Hioki *et al.*, 1995), superficialmente em *Pomacanthus* (Moe, 1976; Kelley, 1995; Leu *et al.*, 2009) e *Centropyge* (Bauer & Bauer, 1981; Hioki & Suzuki, 1987; Hioki *et al.*, 1990; Baensch, 2002, 2003; Olivotto *et al.*, 2006; Baensch & Tamaru, 2009). Leu *et al.* (2015), compilaram, características (diâmetro do ovo, comprimento total da larva recém-eclodida, tempo de absorção do vitelo, comprimento total de larva após consumo do vitelo) de 27 espécies de peixe-anjo. Ovos fertilizados e larvas recém-eclodidas de *C. bicolor* e *C. bispinosa* foram muito similares quando comparado a estas espécies e o diâmetro dos ovos ficou dentro da faixa encontrada para outras espécies de *Centropyge* (de 0,58mm para 0,75mm) e foram menores do que os descritos para as espécies dos gêneros *Genicanthus* (0,71 – 0,83mm) e *Chaetodontoplus* (0,80 - 1,05mm).

No presente estudo, a ontogenia inicial assemelhou-se muito entre as duas espécies, no entanto, alguns eventos ocorreram em momentos distintos. Da fertilização até o início da segmentação os eventos ocorreram concomitantemente, mas, a partir da segmentação, alguns eventos ocorreram em diferentes tempos, como por exemplo, somitos em forma de “V”, vesícula ótica e otólitos. Em geral, o desenvolvimento embrionário seguiu um padrão similar quando comparado à outras espécies de *Centropyge*. Olivotto *et al.* 2006, descreveram para o *C. flavissimus* os eventos de 16 células (1h AF), início da gástrula (3h AF), início da organogênese (8h AF) e eclosão (15h AF) a 26°C. Bauer & Bauer, (1981), relatam o desenvolvimento de

6 espécies de peixes-anjo anão (*C. argi*, *C. fisheri*, *C. flavissimus*, *C. acanthops*, *C. bispinosus*, *C. loriculus*), 16 células (1h:30min AF), blástula (4-9h AF); nêurula – linha primitiva (15h AF), segmentação (22h AF) e eclosão (30h AF) entre 20 - 24 °C. O tempo mais elevado para o desenvolvimento destas últimas espécies foi mais elevado provavelmente pela baixa temperatura utilizada para incubação. Vários trabalhos têm mostrado que a temperatura é um dos fatores ambientais que mais influenciam no tempo de desenvolvimento embrionário de peixes marinhos (Kamler, 2002; Yang e Chen, 2005; Shi et al. 2010).

O padrão de pigmentação é a característica que mais parece variar entre ovos e larvas de peixes-anjo. No presente estudo, a diferença no padrão de pigmentação começou a aparecer 10h:40min AF e ficou mais evidente próximo a eclosão, fazendo com que fosse possível distinguir as duas espécies. Bauer & Bauer, (1981), descrevendo o padrão de pigmentação de embriões de quatro espécies (*C. argi*, *C. fisheri*, *C. flavissimus*, *C. acanthops*), observaram que *C. argi* e *C. fisheri* apresentaram densa concentração de pigmentos ao longo da área da notocorda dorsal, enquanto pigmentos eram esparsamente distribuídos em *C. flavissimus* e em *C. acanthops* esta distribuição foi intermediária. Neste mesmo estudo, os autores relatam que, para nenhuma das espécies estudadas houve pigmentação do vitelo, o que está de acordo com o observado no presente estudo com o *C. bicolor*. No entanto, para o *C. bispinosa* foram observados alguns melanóforos no vitelo. Desta forma, o padrão de pigmentação dos embriões parece não ser um parâmetro para diferenciar espécies dentro de subgêneros de *Centropyge*.

Determinar o momento da exaustão do vitelo e da gota de óleo é fundamental para cada espécie, pois é a partir deste tempo que a larva deve iniciar a alimentação exógena e há a necessidade de ofertar o alimento-vivo. Quando as larvas de *C. bicolor* e *C. bispinosa* ainda apresentavam vestígios de vitelo, e gota de óleo, os olhos tornaram-se mais pigmentados e o desenvolvimento da mandíbula e da nadadeira peitoral foi perceptível, a natação tornou-se mais ativa e orientada, o intestino apresentava-se reto e contínuo da boca até o ânus. O tempo para cada espécie atingir essa fase foi de 72h (*C. bicolor*) e 96h AE (*C. bispinosa*) a 26 ± 0,2 °C e está dentro do tempo observado para outras espécies do gênero *Centropyge*, como para *C. flavissimus* (Olivotto et al., 2006), *C. debelius* (Baensch & Tamuru, 2009) e *Centropyge ferrugatus* (Hioki et al., 1990).

Foi observado também que quando o vitelo estava quase esgotado, a gota de óleo ainda estava com a metade do diâmetro inicial. A taxa de utilização mais lenta da gota de óleo, em relação ao saco

vitelínico, condiz com sua função como fonte primária de energia para a larva em desenvolvimento (Fyhn & Govoni, 1995; Williams *et al.*, 2004). Outra função da gota de óleo está relacionada com o mecanismo de flutuabilidade, o que confere às larvas uma maior capacidade de orientação vertical na coluna de água nos estágios iniciais, quando a visão ainda não está completamente desenvolvida (Leu *et al.*, 2015). O fim das reservas endógenas das larvas em conjunto com as características que as tornam hábeis à capturar presas, marca o ponto de transição entre a alimentação endógena e exógena.

Em conclusão, o desenvolvimento de ovos e larvas de *C. bicolor* e *C. bispinosa* foi muito semelhante em características morfológicas e cronológicas em relação à outras espécies de peixes-anjo, com exceção no padrão de pigmentação.

### **Agradecimentos**

O autor (R.C.M.) foi financiado pela Agência Federal de Apoio e Avaliação de Pós-Graduação em Educação (Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES) e recebeu auxílio no financiamento da pesquisa e da bolsa de doutorado sanduíche dentro do projeto “Sustentabilidade e inovação de espécies marinhas nativas”- CIÊNCIAS DO MAR 2 nº 43/2013, CAPES.

### **3.6 Referências bibliográficas**

Allen, G.R., Steene, R., & Allen, M., (1998). A Guide to Angelfishes and Butterflyfishes. Odyssey Publishing, Perth.

Arai, H. (1994). Spawning behavior and early ontogeny of a Pomacanthid fish, *Chaetodontoplus duboulayi*, in an aquarium. *Japanese Journal of Ichthyology* **41**, 181–187.

Baensch, F. & Tamaru, C.S. (2009). Spawning and development of larvae and juveniles of the rare blue Mauritius angelfish, *Centropyge debelius* (1988), in the hatchery. *Journal of the World Aquaculture Society* **40**, 425–439.

Baensch, F. (2002). The culture and larval development of three pygmy angelfish species: *Centropyge fisheri*, *Centropyge loriculus* and *Centropyge flavissimus*. *Freshwater and Marine Aquarium* **25**, 4–12.

Baensch, F. (2003). Marine copepods and the culture of two new pygmy angelfish species. *Freshwater and Marine Aquarium* **26**, 156–162.

Bauer, J.A. Jr & Bauer, S.E. (1981). Reproductive biology of pigmy angelfishes of the genus *Centropyge*. *Bulletin of Marine Science* **31**, 495–513.

Callan, C.K., Laidley, C.W., Kling, J.L., Breen, N.E., & Rhyne, A.L. (2014). The effects of dietary HUFA level on flame angelfish (*Centropyge loriculus*) spawning, egg quality and early larval characteristics. *Aquaculture Research* **45**, 1176–1186. <https://doi.org/10.1111/are.12063>

Callan, C.K., Laidley, C.W., Forster, I.P., Liu, K.M., Kling, J.L., & Place, A.R. (2011). Examination of broodstock diet effects on egg production and egg quality in flame angelfish (*Centropyge loriculus*). *Aquaculture Research* **43**, 696-705. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02877.x>

Fujimoto, T., Kataoca, T., Otani, S., Saito, T., Aita, T., Yamaha, E. & Arai, K. (2004). Embryonic stages from cleavage to gastrula in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Zool. Sci.* **21**, 747–55.

Fujita, S., & Mito, S. (1960). Egg development and hatched larvae of a Chaetodontid fish, *Chaetodontoplus septentrionalis*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **26**, 227–226.

Fyhn, H.J. & Govoni, J.J. (1995). Endogenous nutrient mobilization during egg and larval development in two marine fishes—Atlantic menhaden and spot. *ICES Journal of Marine Science* **201**, 64–69.

Gaither, M.R., Schultz, J.K., Bellwood, D., Rocha, L., Pyle, R.L., Di Battista, J.D., & Bowen, B.W. (2014). Evolution of the pygmy angelfishes: recent divergences, introgression, and the usefulness of color as a taxonomic trait. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **74**, 38–47. doi: 10.1016/j.ympev.2014.01.017.

GREEN, E. (2003). International trade in marine aquarium species: using the global marine aquarium database. In: CATO, J.; BROWN, C. *Marine ornamental species: collection, culture and conservation*. Iowa State Press, Iowa, USA. p. 31–48.

Hioki, S. & Suzuki, K. (1987). Reproduction and early development of the angelfish, *Centropyge interruptus*, in an aquarium. *Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University* **24**, 133–140.

Hioki, S. & Suzuki, K. (1995a). Spawning behavior, eggs, and larvae of the angelfish, *Apolemichthys trimaculatus*, in captivity. *Bulletun of Institute of Oceanic Research and Development, Tokai University* **16**, 13–22.

Hioki, S. & Suzuki, K. (1995b). Spawning behavior, eggs, and larvae of the angelfish, *Chaetodontoplus mesoleucus*, in the aquarium. *Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University* **39**, 195–205.

Hioki, S., Suzuki, K. & Tanaka, Y. (1982). Spawning behavior, egg and larval development, and sex succession of the hermaphroditic Pomacanthine, *Genicanthus melanospilos*, in the aquarium. *Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University* **15**, 359–366.

Hioki, S., Suzuki, K. & Tanaka, Y. (1990). Development of eggs and larvae in the angelfish, *Centropyge ferrugatus*. *Japanese Journal of Ichthyology* **37**, 34–38.

Hioki, S., Tanaka, Y. & Suzuki, K. (1995). Reproductive behavior, egg, larvae, and sexuality of two angelfishes, *Genicanthus watanabei* and *G. bellus*, in an aquarium. *Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University* **40**, 151–171.

Hughes, T.P., Barnes, M.L., Bellwood, D.R., Cinner, J.E., Cumming, G.S., Jackson, J.B. C., Kleypas, J., Van de Leemput, I.A., Lough, J.M., Morrison, T.H., Palumbi, S.R., Van Nes, E.H. & Scheffer, M. (2017). Climate change promotes parasitism in a coral symbiosis. *Nature* **546**, 82–90. <https://doi.org/10.1038/nature22901>.

Kamler, E. (2002). Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **12**, 79–103. doi:10.1023/A:1022603204337

Kelley, S. (1995). Pigmentation, squamation and the osteological development of larval and juvenile gray angelfish, *Pomacanthus arcuatus* (Pomacanthidae: Pisces). *Bulletin of Marine Science* **56**, 826–848.

Leu, M.Y., Liou, C.H., Wang, W.H., Yang, S.D. & Meng, P.J. (2009). Natural spawning, early development, and first feeding of the semicircle angelfish [*Pomacanthus semicirculatus* (Cuvier, 1831)] in captivity. *Aquaculture Research* **40**, 1019–1030.

Leu, M.Y., Meng, P.J., Huang, C.S., Tew, K.S., Kuo, J. & Liou, C.H. (2010). Spawning behaviour, early development and first feeding of the bluestriped angelfish [*Chaetodontoplus septentrionalis* (Temminck & Schlegel, 1844)] in captivity. *Aquaculture Research* **41**, 39–52.

Leu, M.Y., Sune, Y.H. & Meng, P.J. (2015). First results of larval rearing and development of the bluestriped angelfish *Chaetodontoplus septentrionalis* (Temminck & Schlegel) from hatching through juvenile stage with notes on its potential for aquaculture. *Aquaculture Research* **46**, 1087–1100.

Moe, M.A. Jr (1976). Rearing Atlantic Angelfish. *Marine Aquarist* **7**, 17–26.

Moyer, I.T. & Nakazono, A. (1978). Population structure, reproductive behavior and protogynous hermaphroditism in the angelfish, *Centropyge interruptus*, at Miyake-jima. *Journal from the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University* **25(1)**, 25–39.

Moyer, J.T. & Zaiser, M.J. (1984). Early sex change: a possible mating strategy of *Centropyge* angelfishes (Pisces: Pomacanthidae). *Journal of Ethology*, **2**, 63–67.

Moyer, R., Thresher, R. & Colin, P. (1983). Courtship, spawning and in-familial social organization of American angelfish (Genera: *Pomacanthus*, *Holocanthus*, and *Centropyge*; Pomacanthidae). *Environmental Biology of Fishes*, **9**, 25–39.

Olivotto, I., Holt, S.A., Carnevali, O. & Holt, G.J. (2006). Spawning, early development, and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture* **253**, 270–278.

Pyle, R.L. (2001). Family Pomacanthidae. In KE Carpenter, VH Niem, eds. Species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the western central Pacific. Bony fishes part 3 (Menidae to Pomacentridae). Rome: Food and Agricultural Organization, pp. 3266-3286.

Pyle, R. & Myers, R. (2010). *Centropyge bispinosa*. The IUCN Red List. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/165871/0>.  
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T165871A6153518.en>.

Pyle, R. L. (2003). Chapter 3. *Taxonomic revision of the genus Centropyge (Pisces: Perciformes: Pomacanthidae), Honolulu, USA*. Honolulu, Hawaii. Xxxf. (Tese de Doutorado, University of Hawaii, Honolulu). Disponível em: [https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/6906/.../uhm\\_ph\\_d\\_4412\\_r.pdf](https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/6906/.../uhm_ph_d_4412_r.pdf). Acesso em: 10 jul 2017.

Pyle, R., Myers, R. & Rocha, L.A. (2010). *Centropyge bicolor*. The IUCN Red List. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/165902/0>.  
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T165902A6161394.en>.

Ryhne, A.L., Tlustý, M.F., Schofield, P.J., Kaufman, L., Morris, J.A. Jr & Bruckner, A.W. (2012). Revealing the appetite of the marine aquarium fish trade: the volume and biodiversity of fish imported into the United States. PLoS ONE 7, e35808. doi:10.1371/journal.pone.0035808.

Shi, Y., Zhang, G., Zhu, Y., Liu, J. & Zang, W. (2010). Effects of temperature on fertilized eggs and larvae of tawny puffer *Takifugu flavidus*. *Aquaculture Research* **41**, 1741-1747. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02460.x

Stevens, C.H., Croft, D.P., Paull, G.C., Tyler, C.R. (2017). Stress and welfare in ornamental fishes: what can be learned from aquaculture? *J. Fish. Biol.* **91**, 409-428. <https://doi.org/10.1111/jfb.13377>.

Suzuki, K., Hioki, S., Tanaka, Y. & Iwasa, K. (1979). Spawning behavior, eggs, larvae, and sex reversal of two pomacanthine fish, *Genicanthus lamarck* and *G. semifasciatus*, in the aquarium. *Journal of*

*the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University* **12**, 149–165.

Thresher, R.E. & Brothers, E.B. (1985). Reproductive ecology and biogeography of Indo-West Pacific angelfishes (Pisces: Pomacanthidae). *Evolution* **39**, 878–887.

Triki, Z., Wismer, S., Levorato, E. & Bshary, R., (2017). A decrease in the abundance and strategic sophistication of cleaner fish after environmental perturbations. *Global Change Biol.* **24**, 481-489. <https://doi.org/10.1111/gcb.13943>.

Williams, K., Papanikos, N., Phelps, R.P. & Shardo, J.D. (2004). Development, growth, and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus campechanus* larvae. *Marine Ecology Progress Series* **275**, 231–239.

Yang, Z. & Chen, Y.F. (2005). Effect of temperature on incubation period and hatching success of obscure puffer *Takifugu obscurus* (Abe) eggs. *Aquaculture* **246**, 173-179. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.030>

### Capítulo 3

#### **EFEITO DA TEMPERATURA NAS FASES INICIAIS DE DESENVOLVIMENTO DO PEIXE-ANJO ANÃO *Centropyge aurantonotus***

R. C. MENDONÇA\*, S. P. IKEBATA, S. L. ARAÚJO-SILVA, J. V. A. MANHÃES e M. Y. TSUSUKI

Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, Florianópolis - SC - CEP 88034-001 – Brasil.

E-mail: raoani@hotmail.com (autor correspondente).

#### **4.1 INTRODUÇÃO**

Os peixes-anjo, pertencentes a família Pomacanthidae, são constituídos por cerca de 84 espécies divididas em sete gêneros, encontrados em ambientes tropicais e sub-tropicais, com ocorrência no oceano Atlântico, Índico e principalmente no lado ocidental do Pacífico. O gênero *Centropyge*, conhecido como “peixe-anjo anão” é o maior em número, com 34 espécies descritas (Gaither et al., 2014). Devido às cores brilhantes, pequeno tamanho na idade adulta e resistência às condições de cativeiro, estes peixes são bastante apreciados e valorizados pelo comércio da aquariofilia (Pyle, 2003). Podem custar milhares de dólares americanos, como o “Blue Mauritius angelfish” *Centropyge debelius* com preço que pode variar entre US\$ 5.000,00 a US\$ 7.000,00 a unidade (Baensch e Tamuru, 2009) e o “Peppermint angelfish” *Centropyge boylei*, que chega a custar US\$ 30.000,00 no mercado internacional.

A maior parte das espécies de *Centropyge* habitam águas do oceano Indo-Pacífico, no entanto, três podem ser encontradas no Atlântico. Uma delas é o “Flameback Pygmy angelfish” *Centropyge aurantonotus* que tem ocorrência no Brasil e sudeste do Caribe (Fishbase, 2018). Embora tenha sido descrita até o litoral de São Paulo, há relatos de ocorrência no litoral do estado de Santa Catarina (Anderson et al., 2015). De acordo com os últimos dados publicados, o

*C. aurantonotus* foi a 5ª espécie mais exportada do Brasil, com 6.328 exemplares em 2006 (Ibama, 2007), todos capturados do ambiente natural e destinados ao mercado da aquariofilia. A pesca desordenada para abastecer este mercado e a degradação ambiental podem colocar os estoques dessa espécie em risco. Além disso, prevê-se que os organismos tropicais sejam especialmente sensíveis ao aquecimento porque eles evoluíram dentro de uma faixa térmica estreita e estável (Tewksbury et al., 2008).

O interesse pela aquariofilia, aliado ao elevado valor de mercado, fazem do *C. aurantonotus* um candidato com potencial para aquicultura. A aquicultura vem sendo apontada como uma alternativa sustentável para atender este mercado. No entanto, aspectos de cultivo nunca foram estudados para esta espécie, e desta forma, pouco se conhece sobre fatores ambientais ideais para a manutenção e propagação do *C. aurantonotus*.

A reprodução em cativeiro tem sido reportada para várias espécies do gênero, como para *C. argi*, *C. acanthops*, *C. bispinosus*, *C. fisheri*, *C. flavissimus*, *C. loriculus* (Bauer e Bauer, 1981); *C. flavissimus* (Olivotto et al., 2006); *Centropyge debelius* (Baensch e Tamuru, 2009) e *C. loriculus* (Callan et al., 2010, 2011, 2014). Para *C. aurantonotus*, desovas regulares, tanto para casais como para haréns (1 macho: 3-4 fêmeas), têm sido observadas em laboratório (observações pessoais). No entanto, o desenvolvimento de métodos de cultivo intensivo de larvas com pequeno tamanho e bastante frágeis ao eclodir, como no caso dos peixes-anjo, ainda constitui o principal gargalo (Holt, 2003). Isto está evidente pela escassez de trabalhos com espécies de *Centropyge* que obtiveram sucesso na larvicultura destes peixes (Baensch, 2002, 2003; Baensch e Tamuru, 2009a, b), ainda que, com limitada quantidade de forma jovens produzidas.

Estudos ontogenéticos são importantes para o entendimento dos aspectos fisiológicos do embrião, gerando informações para o aprimoramento de técnicas de cultivo (Godinho et al., 2003) e para o manejo do uso e da conservação de espécies no ambiente natural. Da mesma forma, determinar fatores ambientais que levem a um melhor desempenho nas fases iniciais de vida é decisivo para o sucesso do cultivo, especialmente para espécies que apresentam desova pelágica.

A temperatura é uma das variáveis ambientais que mais afetam a ontogenia nos primeiros estágios de vida de peixes (Brännäs, 1987; Beacham e Murray, 1990; Blaxter, 1991; Bermudes e Ritar, 1999; Kamler, 2002) e influencia diretamente a condição larval no momento da eclosão no que diz respeito à quantidade de recursos endógenos

remanescentes no saco vitelino (Kamler, 2008). O efeito da temperatura sobre a ontogenia é determinado pela taxa de reações enzimáticas (Blaxter, 1969) que irá influenciar diretamente a taxa de desenvolvimento. Muitos estudos mostram que a temperatura afeta fortemente a ontogenia (Kamler, 2002, 2008; Gracia-López et al., 2004; Yang e Chen, 2005; Uehara e Mitani, 2009; Shi et al., 2010).

Desta forma, compreender o efeito da temperatura nas fases iniciais de vida dos peixes na aquicultura, bem como entender como mudanças deste parâmetro, especialmente relacionadas ao aquecimento global podem afetar negativamente a reprodução e o recrutamento da espécie em ambiente natural é essencial.

O objetivo do presente estudo foi determinar o efeito da temperatura no desenvolvimento embrionário, tempo de incubação e sucesso na eclosão de ovos fertilizados e viabilidade de larvas 24h após eclosão do peixe-anjo não *Centropyge aurantonotus*.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos (LAPOM), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Peixes adultos selvagens capturados no município de Guarapari, Espírito Santo (autorização SISBIO/ICMBio nº 46575-3) foram utilizados para a formação de reprodutores em laboratório e para realização dos experimentos com a devida autorização do Comitê de Ética e Uso de Animais CEUA – UFSC nº 8650270218.

Seis pares de *C. aurantonotus* (machos ~ 7 cm; fêmeas ~ 5,7cm) foram mantidos em caixas de 1.000 litros em sistema fechado de recirculação que contava com um filtro mecânico (bag – 5micras) e um biológico (mídias de cerâmica), além de filtro UV de 55Watts. A temperatura foi mantida entre 24,2 - 28,5°C, salinidade 33 ppm, pH 8,2, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e NH<sub>3</sub> <0,025ppm. O fotoperíodo foi ajustado para 14Luz:10Escuro.

Os ovos usados para a realização dos experimentos foram obtidos por desova natural, e o horário de desova foi previamente determinado por desovas anteriores ocorridas no laboratório (aproximadamente 30min antes do anoitecer). Para a coleta dos ovos (ovos flutuantes), utilizou-se um coletor externo localizado na saída de água dos tanques dos reprodutores, confeccionado de PVC com aberturas com malha de 250µm.

Para certificar-se que os ovos utilizados no experimento foram recém-fertilizados, uma amostra (n=10) foi analisada em microscópio estereoscópio, sendo confirmados através da ausência da primeira divisão celular. Após a confirmação, os ovos recém-fertilizados foram homogeneizados e distribuídos aleatoriamente nas unidades experimentais, que consistiam de recipientes de plástico com volume de 500 mL, onde foram estocados 50 ovos por pote (0,1 ovo.mL<sup>-1</sup>). Utilizou-se uma baixa densidade de estocagem dos ovos para a manutenção dos parâmetros de qualidade de água ótimos. A água utilizada no experimento (salinidade 33) foi previamente esterilizada com hipoclorito de sódio (20 mL) por um período de 4h e neutralizada com tiosulfato de sódio (5g).

O método estático (sem troca de água) foi utilizado para a incubação dos ovos. Não utilizou-se aeração. Para a manutenção das temperaturas, a sala foi climatizada em 19°C e as temperaturas dos tratamentos foram mantidas usando termostatos aquecedores ( $\pm 0,3$  °C) configuradas para 20, 22, 24, 26, 28, 30°C, em triplicata. Todas as unidades experimentais tinham temperatura inicial de 26 °C, e foram ajustadas gradualmente por imersão em banho-maria, com todas as temperaturas alcançadas dentro de um intervalo de 2 horas.

Para cada tratamento foram utilizadas quatro unidades experimentais, no qual três usadas para avaliação da taxa de eclosão, viabilidade das larvas 24h após eclosão (HAE), mortalidade total e tempo de incubação, e uma para amostragem e observação do desenvolvimento embrionário. As observações foram realizadas em intervalos que variaram de acordo com a fase ontogenética. Devido a rapidez das divisões celulares, ao final da distribuição dos ovos nas unidades experimentais, os embriões já apresentavam 8 células. A partir deste ponto, até o fechamento do blastóporo, foram feitas observações em intervalos de 15min, e do fechamento do blastóporo até a eclosão, em intervalos de 1 hora. Para cada observação, ovos foram coletados com auxílio de uma pipeta e colocadas sobre uma lâmina de vidro (n=5) e imediatamente fotografados com auxílio de uma câmera acoplada a um microscópio óptico com a objetiva 10x (Leica, DM750). As larvas foram anestesiadas com benzocaína (Reagen®/Brasil) a uma concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup>.

A taxa de fertilização dos ovos foi de 95%. O tempo de incubação foi definido como o período entre a ativação do ovo até que 50% dos ovos fertilizados eclodissem (Kamler, 2002). A cada hora foram retirados embriões mortos (ovos que estavam no fundo com aspecto esbranquiçados) para não influenciar a qualidade de água. A

taxa de eclosão total foi determinada como a porcentagem de estoque de ovos fertilizados que eclodiram. A viabilidade de larvas 24h após eclosão foi determinada como a porcentagem de larvas que estavam normalmente desenvolvidas (definido como notocorda sem deformidades e movimentos natatórios) após este período. Para determinar a viabilidade, as larvas recém-eclodidas foram mantidas nos recipientes de incubação e 24h após a eclosão, as larvas deformadas foram contadas. A taxa de mortalidade total foi representada pela porcentagem combinada de ovos mortos e larvas mortas, deformadas (Yang & Chen 2005).

Após transformação de dados em arcos seno em caso de porcentagens, as diferenças entre as médias de taxa de eclosão, viabilidade de larvas 24h após eclosão, mortalidade total e tempo de incubação foram testadas através one-way ANOVA. Para verificar o efeito da temperatura na taxa de eclosão, viabilidade de larvas 24h após eclosão, mortalidade total utilizou-se regressão quadrática com 95% de confiança. Os valores do tratamento de 20 °C não foram utilizados por haver mortalidade total dos embriões e os valores terem sido zero. Todos os testes estatísticos foram analisados usando o software Statistica versão 7.0 e dados são apresentados no texto como média ± desvio padrão.

### 4.3 RESULTADOS

Ovos fertilizados de *C. aurantonotus* são transparentes, esféricos e pelágicos, medindo entre 0,64 a 0,72 mm de diâmetro, apresentando espaço perivitelínico estreito, córion liso e fino, um vitelo homogêneo e não segmentado e uma única gota de óleo medindo entre 0,16 – 0,18mm (Fig. 1). Devido ao início do desenvolvimento embrionário ser muito rápido, os padrões de clivagem, bem como contabilização do número de blastômeros para cada tratamento nos primeiros estágios de divisão, não puderam ser realizados. Assim, quando a distribuição dos ovos nas unidades experimentais foi finalizada, foi observado que os mesmos já estavam no estágio de 8 células. Por causa da rápida divisão celular, especialmente nas temperaturas mais altas, só foi possível iniciar as observações para todos tratamentos a partir de 64 células. Os principais eventos ocorridos nos estágios do desenvolvimento embrionário, entre 64 células até a eclosão, estão descritos na Tabela 1.

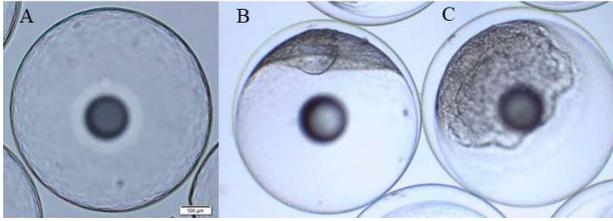


Figura 1: A) Ovo recém-fertilizado de *Centropyge aurantonotus*; B) Ovo em normal desenvolvimento a 26 °C; C) Ovo com divisões irregulares expostos a 20 °C.

Tabela 1: Estágios do desenvolvimento embrionário de *Centropyge aurantonotus* em diferentes temperaturas, em horas, de 64 células até a eclosão.

| Estágio de desenvolvimento   | 20°C | 22 °C | 24 °C | 26 °C | 28 °C | 30 °C |
|------------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 64 células                   | 2,45 | 2,03  | 1,55  | 1,08  | 0,63  | 0,38  |
| 128 células                  | 2,80 | 2,30  | 1,90  | 1,50  | 0,87  | 0,75  |
| 20 % de epibolia             | -    | 7,65  | 7,20  | 6,82  | 6,45  | 5,90  |
| 50% de epibolia              | -    | 11,88 | 9,83  | 7,52  | 7,03  | 6,70  |
| 90 % de epibolia             | -    | 14,20 | 11,52 | 8,20  | 7,50  | 7,03  |
| Fechamento do blastóporo     | -    | 14,45 | 11,85 | 8,42  | 7,68  | 7,25  |
| 6 Somitos                    | -    | 14,87 | 12,10 | 9,55  | 8,08  | 7,70  |
| Melanóforos                  | -    | 17,15 | 13,02 | 10,75 | 9,25  | 8,11  |
| Vesícula de Kuppfer          | -    | 17,25 | 13,18 | 10,90 | 9,38  | 8,25  |
| Diferenciação cabeça e cauda | -    | 17,25 | 13,18 | 10,90 | 9,38  | 8,25  |
| Eclosão                      | -    | 25,13 | 20,09 | 15,82 | 13,59 | 12,58 |

Ovos expostos a 20 °C apresentaram divisões celulares comprometidas (divisões irregulares) e a partir de 8h após a fertilização foi possível constatar 100% de mortalidade dos embriões (Fig. 1C). Aproximadamente 50% das larvas com 24HAE, expostas na temperatura 22°C, apresentaram-se vivas (batimento cardíaco), mas com deformidades, sendo consideradas como não viáveis (Fig. 2A). A figura 2B, representa uma larva normal com 24HAE.

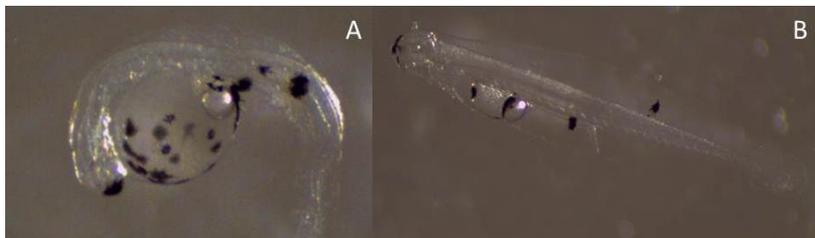


Figura 2: Ilustra comparação entre larva deformada e normal. A – larva deformada de *Centropyge aurantonotus* com 24 HAE na temperatura de 22 °C; B – Larva normal com 24HAE a 26 °C.

O tempo de incubação aumentou significativamente com a diminuição da temperatura ( $P < 0,05$ ), sendo que este dobrou de 30 para 22°C. As taxas de eclosão nas temperaturas de 24, 26 e 28°C foram significativamente superiores ( $P < 0,05$ ) em relação à 22 e 30 °C. A viabilidade das larvas 24HAE foi maior ( $P < 0,05$ ) para 24, 26, 28 e 30 °C (aprox.86%) em relação à 22°C. Menores taxas de mortalidade total (~30%) foram observadas em 26 e 28°C, em relação as demais temperaturas (Tabela 2).

Tabela 2: Tempo de incubação, taxa de eclosão, viabilidade de larvas 24h após eclosão e taxa de mortalidade total (Média  $\pm$  Desvio padrão,  $n = 3$ ) de *Centropyge aurantonotus* em diferentes temperaturas.

| Tratamento (°C) | Taxa de eclosão (%)           | Viabilidade de larvas 24h após eclosão (%) | Taxa de mortalidade total (%)  | Tempo de incubação (horas)    |
|-----------------|-------------------------------|--|--------------------------------|-------------------------------|
| 20              | -                             | -  | 100                            | -                             |
| 22              | 64,33 $\pm$ 3,62 <sup>b</sup> | 35,88 $\pm$ 2,76 <sup>b</sup>              | 76,86 $\pm$ 4,28 <sup>c</sup>  | 25,13 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup> |
| 24              | 76,73 $\pm$ 2,61 <sup>a</sup> | 83,20 $\pm$ 2,49 <sup>a</sup>              | 36,10 $\pm$ 3,98 <sup>ab</sup> | 20,09 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup> |
| 26              | 78,77 $\pm$ 2,76 <sup>a</sup> | 88,33 $\pm$ 2,29 <sup>a</sup>              | 30,40 $\pm$ 3,51 <sup>a</sup>  | 15,82 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup> |
| 28              | 77,53 $\pm$ 2,98 <sup>a</sup> | 88,87 $\pm$ 3,06 <sup>a</sup>              | 31,16 $\pm$ 2,10 <sup>a</sup>  | 13,59 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup> |
| 30              | 68,30 $\pm$ 3,23 <sup>b</sup> | 84,30 $\pm$ 3,32 <sup>a</sup>              | 42,52 $\pm$ 1,02 <sup>b</sup>  | 12,58 $\pm$ 0,07 <sup>e</sup> |

Valores médios dentro de uma coluna seguidos por letras diferentes foram significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

A figura 3, mostra a relação entre a temperatura e a taxa de eclosão, viabilidade de larvas 24h após eclosão e mortalidade total. A partir destas equações observa-se que a maior taxa de eclosão, a melhor

viabilidade das larvas 24HAE e a menor taxa de mortalidade tendem a ocorrer entre 24 a 28 °C.

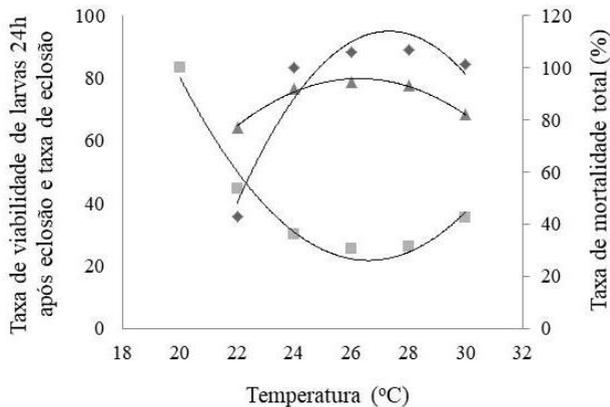


Figura 3: Análise das equações da regressão quadrática indicando a relação entre temperatura e taxa de eclosão, viabilidade de larvas 24h após eclosão e taxa de mortalidade total (▲ taxa de eclosão:  $y = -93,3 + 43,646x - 0,831x^2$ ,  $r^2 = 0,9845$ ; ◆ viabilidade de larvas 24h após eclosão:  $y = -1349,8 + 105,75x - 1,9351x^2$ ,  $r^2 = 0,9227$ ; ■ taxa de mortalidade total:  $y = 1168,3 - 85,9x + 1,6149x^2$ ,  $r^2 = 0,9775$ ). Os dados são apresentados como média, ( $n = 3$ ).

#### 4.4 DISCUSSÃO

*Centropyge aurantonotus* pode ser encontrado em uma faixa que abrange zonas tropicais e sub-tropicais do Oceano Atlântico (IUCN, 2015) (Pyle et al., 2010), na qual existe uma variação de temperatura considerável. No presente estudo, o desenvolvimento dos embriões de *C. aurantonotus* mostrou ser fortemente influenciado por este parâmetro físico. Maiores taxas de eclosão foram obtidas no intervalo entre 24 - 28°C, que coincide com as temperaturas encontradas no ambiente natural desta espécie e assim, foi mais adequadas para a eclosão. Os tempos de incubação neste intervalo foram similares aos encontrados para espécies do mesmo gênero, como para o *Centropyge argi* cujos ovos eclodiram 18h após fertilização (AF) a 24 °C (Holt e Riley, 2001), *Centropyge flavissimus*, com eclosão 15h AF a 26 °C (Olivotto et al.,

2006) e *Centropyge ferrugatus*, 16h: 10min AF a 26 °C (Hioki et al., 1990).

Ovos expostos a temperatura mais baixa (20 °C), apresentaram mortalidade total dos embriões antes da eclosão. Na temperatura de 22 °C foi observada taxa de eclosão significativamente menor e menor viabilidade de larvas 24 HAE, quando comparadas às temperaturas mais elevadas (24, 26 e 28 °C). Além disto, o tempo de eclosão foi consideravelmente maior (25h), possivelmente, devido a taxa metabólica e desenvolvimento embrionário baixos. Condições abaixo das ideais também podem aumentar a ocorrência de deformidades e mortalidades (Bermudes e Ritar, 1999), como aqui observado, no qual maiores taxas de mortalidade total (ovos e larvas mortas, deformadas e/ou moribundas) foram observadas a 20 - 22 °C. Isto sugere que a incubação de ovos em temperaturas abaixo de 22 °C não são adequadas para esta espécie.

Da mesma forma, a temperatura mais alta (30 °C) influenciou na taxa de eclosão, que diminuiu aproximadamente 15% em relação a 26°C e a taxa de mortalidade total aumentou significativamente (~28% em comparação a 26 °C). Isto pode servir como alerta, uma vez que devido ao aquecimento global, as populações naturais podem ser diretamente comprometidas. As melhores estimativas do aquecimento médio dos oceanos no final do século XXI são de cerca de 0,6 ° C a 2,0 °C, nos primeiros 100 m de profundidade em relação à média de 1986 a 2005 (IPCC, 2014). Sendo ectotérmicos, os peixes são sensíveis a esse aquecimento, uma vez que características fenológicas críticas, como a duração da incubação e o tempo da primeira alimentação, são diretamente influenciadas pela temperatura da água.

Estudos recentes também mostram que a reprodução de peixes recifais é altamente sensível à temperatura da superfície do mar, podendo afetar na formação de casais, resultar em menor fecundidade e menor produção de ovos e larvas, ou até em uma completa interrupção de desovas com aumentos significativos no clima de 1,5 a 3 °C (Pratchett, Wilson e Munday, 2015). Assim, essas mudanças podem afetar negativamente a reprodução e o recrutamento de espécies no ambiente natural, fazendo com que a aquisição de evidências empíricas sobre a influência da temperatura no desenvolvimento de ovos e na condição larval de espécies-chave seja um pré-requisito para a compreensão dos impactos fenológicos da mudança climática (Peck et al., 2012).

Em conclusão, a temperatura da água influenciou o desenvolvimento embrionário do *C. aurantonotus*. De acordo com a

porcentagem total de eclosão observada, porcentagem de deformidade, viabilidade de larvas 24h após eclosão e porcentagem de mortalidade total, podemos concluir que, a faixa de temperatura ideal para incubação dos ovos desta espécie é de 24 à 28°C. Temperaturas inferiores a 22°C e superiores a 30 °C, podem prejudicar o sucesso na incubação dos embriões.

## AGRADECIMENTOS

O autor (R.C.M.) foi financiado pela Agência Federal de Apoio e Avaliação de Pós-Graduação em Educação (Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES).

## 4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, A. B., Carvalho-Filho, A., Morais, R.A., Nunes, L.T., Quimbayo, J. P., & Floeter, S. R. (2015). Brazilian tropical fishes in their southern limit of distribution: Checklist of Santa Catarina's rocky reef ichthyofauna, remarks and new records. *Check List*, 11(4), 1688. doi: 10.15560/11.4.1688

Baensch, F., & Tamaru, C. S. (2009a). Spawning and development of larvae and juveniles of the rare blue Mauritius angelfish, *Centropyge debelius* (1988), in the hatchery. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40, 425–439. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00273.x>

Baensch F. U., & Tamaru C. S. (2009b). Captive hybridization of two geographically isolated pygmy angelfish species, *Centropyge fisheri* and *Centropyge resplendens*. *Journal of Fish Biology*, 75, 2571–2584. doi: 10.1111/j.1095-8649.2009.02452.x.

Baensch, F. (2002). The culture and larval development of three pygmy angelfish species. *Freshwater and Marine Aquarium Magazine*, 25(12), 4–12.

Baensch, F. (2003). Marine copepods and the culture of two new pygmy angelfish species. *Freshwater and Marine Aquarium Magazine*, 26(7), 156–162.

Bauer Jr., J. A. & Bauer, S. E. (1981). Reproductive biology of pygmy angelfishes of the genus *Centropyge* (Pomacanthidae). *Bulletin of Marine Sciences* 31(3), 494–513.

Beacham, T. D., & Murray, C. B. (1990). Temperature, egg size, and development of embryos and alevins of five species of Pacific salmon: a comparative analysis. *Transactions of the American Fisheries Society*, 119, 927–945. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1990\)119<0927:TESADO>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1990)119<0927:TESADO>2.3.CO;2)

Bermudes, M., & Ritar, A. J. (1999). Effects of temperature on the embryonic development of the striped trumpeter (*Latris lineata* Bloch and Schneider, 1801). *Aquaculture*, 176, 245–255. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00117-9

Blaxter, J. (1991). "The effect of temperature on larval fishes." *Netherlands Journal of Zoology* 42(2), 336-357. DOI: 10.1163/156854291X00379

Blaxter, J. H. S. (1969). *Development: eggs and larvae*. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*, vol. 3. Academic Press, New York, pp. 178–252.

Brännäs, E. (1987). Influence of photoperiod and temperature on hatching and emergence of *Baltic salmon* (*Salmo salar* L.). *Canadian Journal of Zoology*, 65, 1503–1508. <https://doi.org/10.1139/z87-232>

Callan, C. K., & Laidley C. W. (2010). The effects of water source and secondary water treatment on flame angelfish (*Centropyge loriculus*) reproduction. *Aquaculture Research*, 41, 537-544. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02525.x

Callan, C. K., Laidley, C. W., Forster, I. P., Liu, K. M., Kling, J. L., & Place, A. R. (2011). Examination of broodstock diet effects on egg production and egg quality in flame angelfish (*Centropyge loriculus*). *Aquaculture Research*, 43, 696-705. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02877.x>

Callan, C. K., Laidley, C. W., Kling, J. L., Breen, N. E., & Rhyne, A. L. (2014). The effects of dietary HUFA level on flame angelfish (*Centropyge loriculus*) spawning, egg quality and early larval

characteristics. *Aquaculture Research*, 45, 1176–1186.  
<https://doi.org/10.1111/are.12063>

FISHBASE. *Centropyge aurantonotus* Burgess, 1974. Disponível em:  
<<http://www.fishbase.org/summary/Centropyge-aurantonotus.html>>  
Acesso em: 18 jul. 2018.

Gaither, M. R., Schultz, J. K., Bellwood, D., Rocha, L., Pyle, R. L., Di Battista, J. D., & Bowen, B. W. (2014). Evolution of the pygmy angelfishes: recent divergences, introgression, and the usefulness of color as a taxonomic trait. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 74, 38–47. doi: 10.1016/j.ympev.2014.01.017

Godinho, H. P., Santos, J. E. & Sato, Y. (2003). Ontogênese larval de cinco espécies de peixes do São Francisco, pp.133–148. In H.P. Godinho & A.L. Godinho (eds.). *Águas, Peixes e Pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte: PUC Minas, 468 pp.

Hioki, S., Suzuki, K., & Tanaka, Y. (1990). Development of eggs and larvae in the angelfish, *Centropyge ferrugatus*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 37, 34–38.

Holt, G. J. (2003). Research on culturing the early life stages of marine ornamental fish. In: *Marine Ornamental Species Collection, Culture & Conservation* (ed. by J.C. Cato & C.L. Brown), pp. 251–254. Iowa State Press, Ames, IA, USA.

Holt, G. J., & Riley, C. M. (2001). Laboratory spawning of coral reef fishes: effects of temperature and photoperiod. 28th U.S.–Japan natural resources aquaculture panel: spawning and maturation of aquaculture species. U.S.–Japan Cooperative Program in Natural Resources (UJNR), Technical Report 28: 33–38.

IBAMA. Estatística de peixes ornamentais. Disponível em:  
<http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-recursos-pesqueiros/estatistica-peixes-ornamentais>. Acesso em 9 dez. 2016.

IPCC. (2014). Summary for policymakers. In C.B. Field, V.R. Barros, D.J. Dokken, K.J. Mach, M.D. Mastrandrea, T.E. Bilir, M. Chatterjee et al., eds. *Climate Change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectoral aspects. Contribution of Working Group II*

to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK and New York, USA, Cambridge University Press. pp. 1–32.

Kamler, E. (2002). Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, *12*, 79–103. DOI:10.1023/A:1022603204337

Kamler, E. (2008). Resource allocation in yolk-feeding. *Reviews in Fish biology and Fisheries*, *18*, 143-200. DOI: 10.1007/s11160-007-9070-x

Olivotto, I., Holt, S. A., Carnevali, O., & Holt, G. J. (2006). Spawning, early development, and first feeding in the lemonpeel angelfish *Centropyge flavissimus*. *Aquaculture*, *253*, 270-278. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.12.009

Peck, M. A., Huebert, K. B., & Llopiz, J. K. (2012). Intrinsic and extrinsic factors driving match-mismatch dynamics during the early life history of marine fishes. *Advances in Ecological Research*, *47*, 177–302. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-398315-2.00003-X>.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398315-2.00003-X>

Pratchett, M. S., Wilson, S. K. & Munday, P. L. (2015). Effects of climate change on coral reef fishes. In C. Mora, ed. *Ecology of fishes on coral reefs*. Cambridge, UK, Cambridge University Press. pp. 127–134. <https://doi.org/10.1017/CBO9781316105412.015>

Pyle, R., Myers, R., Rocha, L. A. & Craig, M. T. (2010). *Centropyge aurantonotus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T165865A6152213. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-4.RLTS.T165865A6152213.en>

Pyle, R. L. (2003). A systematic treatment of the reef-fish family Pomacanthidae (Pisces: Perciformes). Ph.D. Dissertation, University of Hawai'i, Honolulu, p. 422.

Shi, Y., Zhang, G., Zhu, Y., Liu, J. & Zang, W. (2010). Effects of temperature on fertilized eggs and larvae of tawny puffer *Takifugu flavidus*. *Aquaculture Research*, *41*, 1741-1747. doi:[10.1111/j.1365-2109.2009.02460.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02460.x)

Tewksbury, J.J., Huey, R.B. & Deutsch, C.A., 2008. Putting the heat on tropical animals. *Science*, 320, 1296–1297. DOI: 10.1126/science.1159328

Uehara, S. & Mitani, T. (2009). Effect of temperature on the development of eggs and the daily pattern of spawning of round herring *Etrumeus teres*. *Fisheries Science*, 75, 159- 165. DOI: 10.1007/s12562-008-0014-8

Yang, Z. & Chen, Y. F. (2005). Effect of temperature on incubation period and hatching success of obscure puffer *Takifugu obscurus* (Abe) eggs. *Aquaculture*, 246, 173- 179. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.030>

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

As três espécies de *Centropyge* estudadas, mostraram fácil adaptação as condições de cativeiro com presença de desovas diárias, no entanto, com grande oscilação na qualidade e quantidade de ovos. Geram pequenos ovos e larvas, o que tem sido responsável pelo limitado avanço no cultivo dos peixes-anjo.

Foi observado que larvas de *C. aurantonotus*, no momento em que abrem a boca, não apresentam abertura suficiente para capturar o rotífero *B. rotundiformis*. Sendo indispensável o uso de outra fonte de alimento que seja adequado quanto ao tamanho e composição nutricional, como os náuplios de copépodes de grupos específicos (Ex: Calanoida, gênero *Parvocalanus*), por exemplo.

Aspectos da biologia reprodutiva e do desenvolvimento embrionário e larval entre as três espécies estudadas foram similares as de outras espécies do gênero *Centropyge* e da família Pomacanthidae.

A temperatura apresentou forte influência no tempo e sucesso de incubação de embriões de *C. aurantonotus*.



## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ainda são muitos os desafios para estabelecer uma produção efetiva de peixes-anjo em cativeiro. Contudo, nosso estudo gerou informações que podem servir para futuras pesquisas, e aqui serão relatadas:

- O tamanho do tanque dos reprodutores, mostrou ser muito limitante para desovas diárias em quantidade e qualidade, uma vez que na chegada dos reprodutores ao laboratório, eles foram mantidos em bombonas de 200L (Apêndice C), onde foram tido várias perdas devido a briga, mostrando o comportamento territorialista da espécie. Inicialmente foram estocadas 10 bombonas com *C. aurantonotus*, onde apenas dois casais foram formados, dos quais apresentaram frequência de desova, quantidade e qualidade de ovos muito inferior aos peixes estocados em tanques de 1000 ou 8000L (Apêndice D).

- Embora as desovas aconteçam diariamente, existe uma grande oscilação na quantidade e qualidade. Quando a desova era de baixa qualidade, as larvas não sobreviviam mais do que um ou dois dias, ou seja, não dava tempo de abrir a boca. Desta forma, para realização de experimentos que envolvam larvicultura, sugerimos que larvas sejam mantidas em ambiente separado (ex: balde, aquário, etc) das unidades experimentais, até que fique evidente a qualidade da mesma. A larva de boa qualidade, no 3º dia após eclosão, vai se apresentar ativa, geralmente nadando próximo a superfície da água. Desta forma é possível fazer a transferência (com muita aclimação e cuidado) dessas larvas com o auxílio de um Becker pequeno para as unidades experimentais. Este procedimento pode evitar muito esforço em vão, como por exemplo tentativas desgastantes que envolvem o preparado das unidades experimentais, alimento-vivo, etc.

- As larvas apresentam fototaxia positiva, por isso, aconselhamos usar aquário/tanque que possuam os lados pretos.

-Infelizmente não tivemos tempo hábil testar o copépode *P. crassirostris* como alimento vivo de larvas de *Centropyge aurantonotus*, contudo, conseguimos estabelecer o cultivo do copépode no LAPOM.



## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ALLEN, D.M.; JOHNSON, W.S.; OGBURN-MATTHEWS, V. Trophic relationships and seasonal utilization of salt-marsh creeks by zooplanktivorous fishes. **Environ. Biol. Fish**, v. 42, p. 37–50, 1995.

ANDERSON, A.B.; CARVALHO-FILHO, A.; MORAIS, R.A.; NUNES, L.T., QUIMBAYO, J.P.; FLOETER, S.R. Brazilian tropical fishes in their southern limit of distribution: checklist of Santa Catarina's rocky reef ichthyofauna, remarks and new records. **CHECK LIST**, v. 11(4), p. 1688, 2015.

BAENSCH, F. The culture and larval development of three pygmy angelfish species: *Centropyge fisheri*, *Centropyge loriculus* and *Centropyge flavissimus*. **Freshwater and Marine Aquarium**, v.25, p. 4-12, 2002.

BAENSCH, F. Marine copepods and the culture of two new pygmyangelfish species. **Freshwater and Marine Aquarium**, v. 26, p. 156-162, 2003

BAENSCH, F. Similarities and differences in ontogeny, growth and settlement times of eight pygmy angelfish species (Genus: *Centropyge* and *Paracentropyge*). Poster presented at: Marine Ornamentals 2006. Las Vegas, NV. Fevereiro p. 13-16, 2006.

BAENSCH, F. The culture and larval development of three pygmy angelfish species: *Centropyge fisheri*, *Centropyge loriculus* and *Centropyge flavissimus*. **Freshwater and Marine Aquarium Magazine**, v. 25 (Nº. 12), p. 4-12, 2002.

BAENSCH, F. The culture and larval development of three pygmy angelfish species: *Centropyge fisheri*, *Centropyge loriculus* and *Centropyge flavissima*. In: Delbelius, H., Tanaka, H., Kuitert, R.H., 2003. Angelfishes: A comprehensive guide to Pomacanthidae. *TMC Publishing, Chorleywood, UK*. 208p, 2003.

BASKETT, M.L.; NISBET, R.M.; KAPPEL, C.V.; MUMBY, P.J. AND GAINES, S.D. Conservation management approaches to protecting the capacity for corals to respond to climate change: a theoretical comparison. **Global Change Biology**, v. 16, p. 1229–1246, 2010

BAUER, J.A, BAUER, S.E. Reproductive biology of pigmy angelfishes of the Genus *Centropyge* (Pomacanthidae). **Bulletin of Marine Science** v. 31, p. 495-513, 1981.

BELL, J.G.; McEVOY, L.A.; ESTEVEZ, A.; SHIELDS, R.J.; SARGENT, J.R. Optimizing lipid nutrition in first-feeding flat fish larvae. *Aquaculture*, v. 227, p. 211-220, 2003.

BIONDO, M.V. Quantifying the trade in marine ornamental fishes into Switzerland and an estimation of imports from the European Union. **Global Ecology and Conservation**, v. 11, p. 95–105, 2017.

BLASIOLA JR., C.G. *Centropyge aurantonotus* BURGESS, 1974 (*Pisces: Chaetodontidae*): range, extension, and redescription. **Bulletin of Marine Science**, v. 26(4), p. 564-568, 1976

BRADLEY, C.J.; STRICKLER, J.R; BUSKEY, E.J.; LENZ, P.H. Swimming and escape behavior in two species of calanoid copepods from nauplius to adult. **Journal of Plankton Research**, v. 35(1), p. 49–65, 2013.

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

CALLAN, C.K. 2007 *Assessment of the flameangelfish (Centropyge loriculus) as a model species in studies on egg and larval quality in marine fishes*. Orono. 217 f. (Tese de Doutorado. The University of Maine). Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=4B0EC4102973DF934DF253AFDC8D0C0E?doi=10.1.1.427.9378&rep=rep1&type=pdf>> Acessado em 16 jul. 2017.

DEBELIUS, H.; TANAKA, H.; KUITER, R.H. 2003. Angelfishes, a Comprehensive Guide to Pomacanthidae. TMC Publishing, Chorley, UK.

DELBELIUS, H.; TANAKA, H.; KUITER, R.H. *Angelfishes: A comprehensive guide to Pomacanthidae*. TMC Publishing, Chorleywood, UK. 208p. 2003.

DIMAGGIO, M.A.; CASSIANO, E.J.; BARDEN, K.P.; RAMEE, S. W.; OHS, C.L.; WATSON, C.A First Record of Captive Larval Culture and Metamorphosis of the Pacific Blue Tang, *Paracanthurus hepatus*. **J. World Aquacult. Soc.**, v. 48, p. 393-401, 2017.

DRILLET, G.; JØRGENSEN, N.; SØRENSEN, T.F.; RAMLØV, H.; HANSEN, B.W. Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as life feed organisms in marine larviculture. **Aquac. Res.**, v. 37, p. 756–772, 2006.

FAO, 2012. Fisheries & aquaculture - ornamental fish. Retrieved from <http://www.fao.org/fishery/topic/13611/en>.

FISHBASE. *Centropyge aurantonotus* Burgess, 1974. Disponível em: <<http://www.fishbase.org/summary/Centropyge-aurantonotus.html>> Acesso em: 18 jul. 2018.

GODINHO, H.P.; SANTOS, J.E.; SATO, Y. Ontogênese larval de cinco espécies de peixes do São Francisco, pp.133–148. In H.P., 2003.

GREEN, E. International trade in marine aquarium species: using the global marine aquarium database. In: CATO, J.; BROWN, C. *Marine ornamental species: collection, culture and conservation*. Iowa State Press, Iowa, USA. p. 31–48, 2003

HIOKI, S., SUZUKI, K. Reproduction and early development of the angelfish, *Centropyge interruptus*, in an aquarium. **Journal of the Faculty of Marine Science and Technology, Tokai University**, v. 24, p. 133-140, 1987.

HIOKI, S., SUZUKI, K., TANAKA, Y. Development of eggs and larvae in the angelfish *Centropyge ferrugatus*. **Japanese Journal of Ichthyology**, v. 37, p. 34-38, 1990.

KLINE, M.D.; LAIDLEY, C.W. Development of intensive copepod culture technology for *Parvocalanus crassirostris*: Optimizing adult density. **Aquaculture**, v. 435(0), p. 128–36, 2015.

KLINE, M.D., Development of Intensive Copepod Culture Technology for *Parvocalanus crassirostris*: Optimizing Adult Density MS Thesis Hawai'i Pacific University, (Print), 2011.

LAIDLEY, C.W.; BURNELL, A.F.; SHIELDS, R.J.; MOLNAR, A.; KOTANI, T. Marine ornamentals: captive culture progress at Oceanic Institute. **Glob. Aquac. Advocate**, v. 4, p. 53–54, 2004.

LARKIN, S.L. The U.S. wholesale marine ornamental market: Trade, landings, and market opinions, pp. 77–89. In: Marine Ornamental Species: Collection, Culture and Conservation (Cato, J. C., and C. L. Brown, Eds.). Ames, Iowa: Iowa State Press, 2003.

LEAL, M.C.; VAZ, M.C.M.; PUGA, J.; ROCHA, R.J.M.; BROWN, C.; ROSA, R. Marine ornamental fish imports in the European Union: an economic perspective. **Fish. Fish**, v. 17, p. 459-468, 2015.

LUBBOCK, H.R.; POLUNIN, N.V.C. Conservation and the tropical marine aquarium trade. **Environ. Conserv.**, v. 2, p. 229–232, 1975.

KLINE, M.D.; LAIDLEY, C.W. Development of intensive copepod culture technology for *Parvocalanus crassirostris*: optimizing adult density. **Aquaculture**, v. 435, p. 128-136, 2015.

MC KINNON, A.D, KLUMPP, D.W. Mangrove zooplankton of North Queensland, Australia. **Hydrobiologia**. v. 362(1–3), p. 127–43, 1997.

MC KINNON, A., DUGGAN, S., NICHOLS, P.D., RIMMER, M.A., SEMMENS, G.L., ROBINO, B. The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. **Aquaculture**, v. 223, p. 89–106, 2003.

MONTICINI, P., 2010. The Ornamental Fish Trade. Production and Commerce of Ornamental Fish: Technical-managerial and Legislative Aspects. FAO GLOBEFISH Research Programme, p. 102. Available: <http://www.fao.org/3/a-bb206e.pdf>

MOYER, J.; THRESEHER, R.; COLIN, P. Courtship, spawning and inferred social organization of American angelfishes (Genera *Pomacanthus*, *Holocanthus* and *Centropyge*; *Pomacanthidae*). **Environmental Biology of Fishes**, v. 9, p. 25-39, 1983.

OLIVIOTTO, 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.

OSTROWSKI, A.C.; LAIDLEY, C.W. Application of marine foodfish techniques in marine ornamental aquaculture: Reproduction and larval first feeding. **Aquarium Sciences and Conservation**, v. 3, p. 191-204, 2001.

PAULAY, G. 1997. Diversity and distribution of reef organisms. In: Birkeland C (ed) *Life and Death of Coral Reefs*. New York: Chapman & Hall, p. 298–345.

PEPIN, P.; PENNEY, R.W. Patterns of prey size and taxonomic composition in larval fish: are there general size-dependent models? **J. Fish Biol.**, v. 51, p. 84–100, 1997.

PEREIRA-DAVISON, E.; CALLAN, C.K. Effects of photoperiod, light intensity, turbidity and prey density on feed incidence and survival in first feeding yellow tang (*Zebrasoma flavescens*)(Bennett). **Aquac Res.**, v. 49, p. 890–899, 2018.

PRANG, G. An industry analysis of the freshwater ornamental fishery with particular reference to the supply of brazilian freshwater ornamentals to the UK market. *Uakar*, v.3, p. 7–51, 2007.

PYLE, R. L. 2003 Chapter 3. *Taxonomic revision of the genus Centropyge (Pisces: Perciformes: Pomacanthidae), Honolulu, USA*. Honolulu, Hawaii. Xxxf. (Tese de Doutorado, University of Hawaii, Honolulu). Disponível em: [https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/6906/.../uhm\\_phd\\_4412\\_r.pdf](https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/6906/.../uhm_phd_4412_r.pdf). Acesso em: 10 jul 2017.

RHYNE, A.L.; TLUSTY, M.F.; SCHOFIELD, P.J.; KAUFMAN, L.; MORRIS, J.A. JR; Bruckner, A.W. (2012). Revealing the appetite of the marine aquarium fish trade: the volume and biodiversity of fish imported into the United States. *PLoS ONE* 7, e35808.

RHYNE, A.L.; TLUSTY, M.F.; SZCZEBAK, J.; HOLMBERG, R.J.; 2017. Expanding our understanding of the trade in marine aquarium animals. *PeerJ* 5, e2949.

RUBEC, P.J.; CRUZ, F.; PRATT, V.; OELLERS, R.; MCCULLOUGH, B.; LALLO, F. Cyanide-free net-caught fish for the marine aquarium trade. **Aquarium Sci. Conserv.**, v. 3, p. 37–51, 2001.

SAKAI, Y.; KARINO, K.; KUWAMURA, T.; NAKASHIMA, Y., MARUO, Y. Sexually dichromatic protogynous angelfish *Centropyge ferrugata* (Pomacanthidae) males Can change back to females. **Zoological Science**, v. 20, p. 627-633, 2003.

SAKAI, Y., KOHDA, M. Harem structure of the protogynous angelfish, *Centropyge ferrugatus* (Pomacanthidae). **Environmental Biology of Fishes**. v. 49, p. 333-339, 1997.

SELIG, E.R.; BRUNO, J.F., 2010. A global analysis of the effectiveness of marine protected areas in preventing coral loss. *PLoS One* 5:9278

SHIELDS, R.J., KOTANI, T., MOLNAR, A., MARION, K., KOBASHIGAWA, J., TANG, L., 2005. Intensive cultivation of a subtropical paracalanid copepod, *Parvocalanus* sp., as prey for small marine fish larvae. In: Lee, C.S., O'Bryen, P.J., Marcus, N.H. (Eds.), *Copepods in Aquaculture*. Blackwell Publishing, Iowa, USA, pp. 209–223.

SHIELDS, R.J.; LAIDLEY, C.W. Intensively cultured paracalanid copepods — a high quality diet for small tropical marine fish larvae. **Glob. Aquac. Advocate**, v. 6, p. 80–81, 2003.

SHUMAN, C.S.; HODGSON, G.; AMBROSE, R.F. Population impacts of collecting sea anemones and anemonefish for the aquarium trade in the Philippines. **Coral Reefs**, v. 24, p. 564–573, 2005.

SMITH, K.F.; BEHRENS, M.D.; MAX, L.M.; DASZAK, P.U.S. Drowning in unidentified fishes: scope, implications, and regulation of live fish import. **Conserv. Lett.**, v. 1, p. 103-109. 2008.

VAN DER MEEREN T, OLSEN RE, HAMRE K, FYHN HJ. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. **Aquaculture**, v. 274(2–4), p. 375–97, 2008.

WABNITZ, C.; TAYLOR, M.; GREEN, E.; RAZAK, T. *From Ocean to Aquarium: The Global Trade in Marine Ornamental Species*. Cambridge: UNEP-WCMC. 64p, 2003.

WITTINGTON, R. J.; CHONG, R. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 81, p. 92–116, 2007.

WOOD, E. Global advances in conservation and management of marine ornamental resources. **Aquarium Sci. Conserv.**, v. 3, p. 65–77, 2001.

YÚFERA, M., AND M. J. DARIAS. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. **Aquaculture**, v. 268, p. 53–63, 2007.

ZIEMANN, D. A. The potential for the restoration of marine ornamental fish populations through hatchery releases. **Aquarium Sci. Conserv.**, v. 3, p. 107–117, 2001.



## APÊNDICE

### APÊNDICE A

#### **Influência do copépode *Parvocalanus crassirostris* como alimento-vivo na larvicultura do peixe-anjo anão *Centropyge bicolor*.**

Raoani Cruz Mendonça<sup>a</sup>, Chaoshu Zeng<sup>b</sup>, Mônica Yumi Tsuzuki<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Peixes e Ornamentais Marinhos, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Rodovia Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, Florianópolis - SC - CEP 88034-001 – Brasil.

<sup>b</sup>Marine Biology and Aquaculture, College of Science and Engineering, James Cook University, Townsville, QLD 4811, Australia.

#### **Reprodutores**

Um casal de cada espécie (*Centropyge bispinosa* e *Centropyge bicolor*) foram mantidos nas Instalações de Pesquisa Marinha e Aquicultura (Marine and Aquaculture Research Facilities Unit (MARFU)), School of Marine and Tropical Biology, James Cook University, Townsville, Queensland, Austrália. O comprimento total (CT) e o peso (P) dos reprodutores foi: *C. bicolor* (macho: CT = 11,5cm e P = 40,6g / fêmea: CT = 9,2cm e P = 21,0g) (Fig. 1).



Fig. 1: reprodutor de *Centropyge bicolor*. Fonte: autor, 2017.

## Cultivo de copépodes

Nas instalações da James Cook University, Queensland, o *P. crassirostris* foi isolado da natureza e cultivado como uma população fechada por mais de 2 anos. Os copépodes *P. Crassisrostris* foram mantidos em temperatura de 26°C, salinidade em 22ppt e fotoperíodo 12h de luz:12h de escuro. As culturas receberam aeração suave para facilitar a mistura de troca de gases e eram alimentadas com uma dieta ideal a partir da combinação de *Isochrysis* sp. e da diatomácea *Chaetoceros muelleri* em uma proporção de (razão 1: 1) que equivale a  $1000\mu\text{gCL}^{-1}$ , com base nos métodos descritos em (Alajmi e Zeng, 2013). Os tanques utilizados para as culturas eram cilíndrico-cônicos com capacidade de 250 litros (Fig. 2).



Fonte: autor, 2017.

Fig. 2: Tanque para cultivo do cultivo do copépode *Parvocalanus crassirostris* nas instalações da MARFU – JCU, Austrália.

Para o cultivo das larvas foram utilizadas unidades experimentiais descritas por (Moorhead, 2015) (Fig. 3). Foram realizadas diversas tentativas de larvicultura. As larvas apresentavam mortalidades em massa no momento em que as reservas endógenas eram esgotadas. O melhor resultado obtido foi quando as larvas alcançaram 14 dias de vida. A Fig. 4 mostra o desenvolvimento da larva de *C. bicolor* até o 14 dia de vida. O copépode foi usado na densidade de dois náuplios. $\text{mL}^{-1}$ . A temperatura era controlada para ficar entre 24 – 26°C, salinidade 33 e fotoperíodo 16h luz: 08 escuro. Os níveis de amônia ( $\text{NH}_3$ ), nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) foram mantidos próximo a zero.

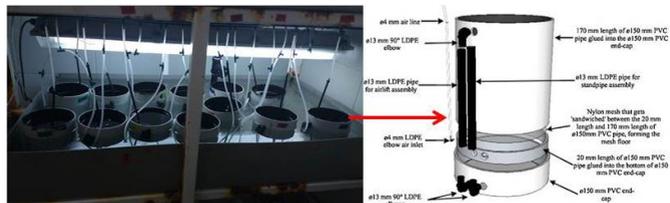
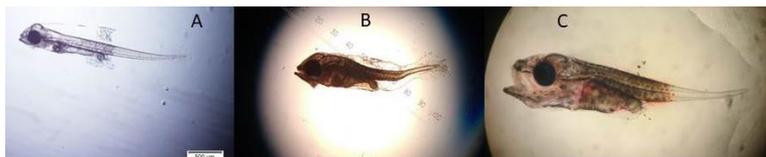


Fig 3: Tanque de 3L utilizados para realizar as larviculturas de *Centropyge bicolor*.



Fonte: autor, (2017).

Fig. 4: Diferentes fases de larvas de *Centropyge bicolor*. A) larva 3º dia após eclosão (AE); B) larva 9º dia AE e C) 14º dia AE.

#### Apêndice B: Exemplar adulto de *Centropyge aurantonotus*.



Foto: autor (2016).

**Apêndice C:** Primeiro sistema dos reprodutores de *C. aurantonotus* (bombonas de 200L).



Foto: autor, (2016).

**Apêndice D:** Tanque de 8.000L e o harém de *Centropyge aurantonotus* (1 macho: 4 fêmeas).



Foto: autor, (2016).

**Apêndice E:** Copépode *Parvocalanus crassirostris* (Adulto e náuplio) cultivado no LAPOM.



Foto: autor, (2018).