

Sara Patrício Canhoto

**Identificação e Produção de Larvas de Peixes do
Indo-Pacífico no Oceanário de Lisboa**



Universidade do Algarve
Faculdade de Ciências e Tecnologia
2017

Sara Patrício Canhoto

**Identificação e Produção de Larvas de Peixes do
Indo-Pacífico no Oceanário de Lisboa**

Mestrado em Aquacultura e Pescas

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Alexandra Teodósio

Nuno Rodrigues



Universidade do Algarve

Faculdade de Ciências e Tecnologia

2017

Identificação e Produção de Larvas de Peixes do Indo-Pacífico no Oceanário de Lisboa

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Assinatura:

Copyright Sara Patrício Canhoto

A Universidade do Algarve reserva para si o direito, em conformidade com o disposto no Código do Direito de Autor e dos Direitos Conexos, de arquivar, reproduzir e publicar a obra, independentemente do meio utilizado, bem como de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição para fins meramente educacionais ou de investigação e não comerciais, conquanto seja dado o devido crédito ao autor e editor respetivos.

Resumo

A perda de biodiversidade a nível global é um fenómeno que instituições como o Oceanário de Lisboa pretendem combater, através de acções de conservação diversas. Esta instituição, em conjunto com diversas outras semelhantes europeias e mundiais, está seriamente empenhada em promover a aquacultura ornamental como forma de preservação dos ecossistemas recifais, actualmente alvo de diversas ameaças, como as alterações climáticas, destruição de habitats, poluição e sobrepesca. Tal permitirá um aumento do conhecimento sobre os requisitos biológicos de muitas espécies ornamentais (algumas cujo estudo *in-situ* pode ser complexo), diminuir a sua extração do meio natural através da troca de animais criados em cativeiro entre instituições semelhantes e, em última análise, reintrodução de animais no meio natural. Posto isto, este trabalho teve como objetivos a produção e identificação de larvas de peixes do Indo-Pacífico e a determinação da influência da fase lunar (quanto ao número de ovos libertados), do tipo de dieta e da cor do tanque (escuro *vs.* transparente), relativamente ao desenvolvimento das mesmas (através do comprimento total).

Neste projeto, foram recolhidos e cultivados ovos do tanque do Indo-Pacífico (T6), do ODL, com o objetivo de se identificarem as espécies. Relativamente ao teste da dieta, três diferentes organismos foram usados em três dietas diferentes: *Oxyrrhis marina*, *Brachionus rotundiformis* e *Brachionus plicatilis*. Em todas as dietas, *O. marina* foi o primeiro organismo a ser dado às larvas. Na fase de transição, a primeira dieta foi *O. marina* + *B. rotundiformis*, a segunda *O. marina* + *B. plicatilis*, e a terceira *O. marina* + *B. rotundiformis* + *B. plicatilis*. Para se testar a influência da cor do tanque, foram usados seis tanques (10 L), nos quais, três eram pretos e três eram transparentes. Tendo em conta que o espaço onde se localiza o T6 apresenta um teto envidraçado, foi anotado o número de ovos recolhidos e a percentagem visível da Lua. Por último, foi possível cultivar larvas de *Amblyglyphidodon aureus*. Estas larvas foram submetidas a duas dietas (com e sem enriquecimento), baseadas em *B. rotundiformis* + *B. plicatilis*, inicialmente, *B. plicatilis* + náuplios de *Artemia* sp., na fase de transição, e por fim, apenas náuplios de *Artemia* sp., com o intuito de perceber se o enriquecimento influencia o desenvolvimento larvar (através do comprimento total).

Foram capturadas quatro espécies de larvas diferentes. Uma foi identificada como *Scolopsis bilineata*, outra como *Bodianus* spp. e as duas restantes pertencem à família Labridae. Independentemente das espécies, os rotíferos não foram consumidos, tornando impossível a obtenção de resultados no teste da dieta. Os tanques pretos e transparentes não promoveram qualquer diferença no desenvolvimento larvar. Relativamente à influência lunar, é possível confirmar que o número de ovos libertados está associado à proporção visível da Lua ($\rho \approx$

0,552, p -value $\approx 0,008$ para $\alpha = 0,05$). Quanto às larvas de *A. aureus*, ocorreu uma redução de 10%, relativamente ao comprimento total, nas larvas alimentadas sem enriquecimento.

Com este projeto é possível compreender que espécies (ou famílias) podem ser capturadas e produzidas, do tanque do Indo-Pacífico, e que fases lunares promovem a desova destas espécies. Deverão ser realizados mais testes para determinar que condições promovem um desenvolvimento larvar saudável.

Palavras-chave: influência lunar; produção peixes tropicais; *Amblyglyphidodon aureus*; *Scolopsis bilineata*; *Bodianus* spp.

Abstract

The loss of biodiversity at a global level is a phenomenon that institutions such as the Oceanário de Lisboa intend to combat, through various conservation actions. This institution, along with a several other similar European and world-wide ones, are seriously committed to promoting ornamental aquaculture as a way of preserving reef ecosystems, which are currently the target of various threats such as climate change, habitat destruction, pollution and overfishing. This will allow an increasement in the knowledge about the biological requirements of many ornamental species (some of which may be complex *in-situ* studies), decrease their extraction from the natural environment through the exchange of captive-bred animals between similar institutions and, ultimately, the reintroduction of animals into the natural environment. Therefore, the objectives of this work were to produce and identify fish larvae from the Indo-Pacific and to determine the influence of the lunar phase (number of released eggs), diet type and tank color (dark vs. transparent) in relation to their development (through the total length).

In this project, eggs from the Indo-Pacific tank (T6), from ODL, were collected and produced to indentify the species. Regarding the diet test, three different organisms were used for three different diets: *Oxyrrhis marina*, *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. For all the diets, *O. marina* was the first organism given to the larvae. In the transition phase, the first diet was *O. marina* + *B. rotundiformis*, the second *O. marina* + *B. plicatilis*, and the third *O. marina* + *B. rotundiformis* + *B. plicatilis*. To test the tank's colour influence, six tanks (10 L) were used, in which, three were transparent and three were black. Considering that the T6's ceiling is glazed, the number of the collected eggs and the visible proportion of the Moon (in %) was noted. Finally, it was possible to produce *Amblyglyphidodon aureus* larvae. These larvae were submitted to two diets (with and without enrichment), based on *B. rotundiformis* + *B. plicatilis* (initially), *B. plicatilis* + nauplii of *Artemia* sp. (in the transition phase) and finally only nauplii of *Artemia* sp., to understand if the enrichment influences the larval development (through larvae total length).

Four different larvae were captured. One larvae correspond to *Scolopsis bilineata*, another is a *Bodianus* spp. and the other two are from the family Labridae. Independently of the species, the rotifers were not consumed, being impossible to obtain results in the diet test. The black and transparent tanks did not promote any difference in larval development. Regarding the lunar influence, it is possible to confirm that the number of the released eggs is associated with the visible proportion of the Moon ($\rho \approx 0,552$, p -value $\approx 0,008$ for $\alpha = 0,05$).

Relatively to larvae of *A. aureus*, there was a 10% reduction in total length in the larvae fed without enrichment.

With this project, it is possible to understand which species (or families) could be captured and produced from T6 and which moon phases promote the spawning of these species. More tests should be performed to determine which conditions promote a healthy larvae development.

Keywords: lunar influence; tropical fish production; *Amblyglyphidodon aureus*; *Scolopsis bilineata*; *Bodianus* spp.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Professora Elsa Cabrita, por não me ter deixado desistir e por acreditar em mim e nas minhas capacidades. Muito obrigado.

Queria agradecer à minha orientadora, Professora Alexandra Teodósio, do CCMAR, por estar sempre disposta a ajudar, orientar e apoiar, pacientemente, em todas as minhas dúvidas. Muito obrigado.

Um grande obrigado à Doutora Núria Baylina e ao meu supervisor Nuno Rodrigues, por me terem dado a oportunidade de realizar este meu projeto no Oceanário de Lisboa e por me apoiarem sempre que precisei.

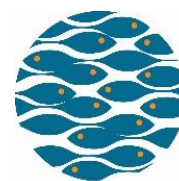
Obrigada à Professora Laura Ribeiro, do IPMA, por me ter fornecido os organismos de que necessitei e por me ter ajudado sempre que foi preciso.

Obrigada a todos da EPPO que estiveram envolvidos, de alguma forma, na obtenção dos organismos de que tanto precisei.

Gostava também de agradecer à Professora Ana Faria, do ISPA, por todo o apoio relativamente às larvas e à sua identificação e pela sua disponibilidade de se encontrar comigo.

Um especial obrigado a todos os colaboradores do Oceanário de Lisboa, por me terem aturado diariamente, por me ajudarem sempre que foi necessário, pelo companheirismo e boa disposição, mesmo nos dias menos bons. Um obrigada ainda mais especial à Margarida Ferreira, Margarida Fernandes, Carlos Cunha, Jorge Carmo e à Patrícia Napier, pela cumplicidade e apoio diário, pelas piadas, pelos desabafos e pela boa disposição. Vou sentir muitas saudades vossas.

Finalmente, e não menos importante, à minha família, namorado e amigos, que nunca desistiram de mim, que me apoiaram em todas as alturas, que acreditaram em mim e por me terem ajudado a ser quem sou hoje. Muito obrigado.



Oceanário de Lisboa

Índice

Declaração de autoria de trabalho	V
Resumo.....	VII
Abstract	IX
Agradecimentos.....	XI
Lista de Figuras	XVII
Lista de Tabelas.....	XXI
Lista de Abreviações	XXIII
1 Introdução	1
1.1 Peixes tropicais e a região do Indo-Pacífico.....	1
1.1.1 Taxonomia.....	3
1.1.2 Captura de peixes tropicais e impactos nos recifes de coral	4
1.1.3 Medidas de gestão sustentável dos peixes tropicais.....	5
1.2 Importações e exportações de peixes ornamentais	6
1.3 Aquacultura	9
1.3.1 Produção de peixes tropicais	10
1.3.2 Alimentação	12
1.3.3 Identificação e desenvolvimento larvar.....	16
1.4 Aquários públicos	17
1.5 Objetivos.....	19
2 Materiais e Métodos.....	21
2.1 Local de trabalho e origem do material biológico.....	21
2.2 Cultura de Fito e Zooplâncton	21
2.2.1 <i>Rhodomonas</i> sp.	22
2.2.2 <i>Oxyrrhis marina</i>	22
2.2.3 <i>Brachionus rotundiformis</i> (tipo-SS) e <i>Brachionus plicatilis</i> (tipo-L).....	23
2.2.4 Náuplios de <i>Artemia</i> sp.	24
2.3 Desenho experimental	25
2.3.1 Larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)	25
2.3.2 Larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6): <i>A. aureus</i>	27

2.4	Recolha, separação e contagem dos ovos do tanque do Indo-Pacífico (T6)	28
2.5	Recolha dos ovos das galerias do Indo-Pacífico (I6): <i>A. aureus</i>	29
2.6	Rotinas	30
2.6.1	Rotinas diárias	30
2.6.2	Rotinas periódicas	32
2.7	Esquema da dieta	32
2.7.1	Larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)	32
2.7.2	Larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6): <i>A. aureus</i>	33
2.8	Tratamento de dados	33
3	Resultados	35
3.1	Influência da percentagem visível da Lua, na recolha dos ovos de peixes do Indo-Pacífico	35
3.2	Condições de produção que favorecem o desenvolvimento larvar	36
3.3	Desenvolvimento larvar	37
3.3.1	Registo do crescimento	37
3.3.2	Morfologia larvar	40
3.3.1	Famílias excluídas	44
3.4	Identificação das larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)	44
4	Discussão	45
4.1	Influência da fase lunar na recolha dos ovos de peixes do Indo-Pacífico	45
4.2	Condições de produção que favorecem o desenvolvimento larvar	46
4.3	Identificação das larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)	49
4.4	Caracterização de <i>A. aureus</i>	52
5	Considerações finais	55
6	Referências	57
7	Anexos	65
7.1	Testes prévios	65
7.1.1	Produção de larvas de peixes do Indo-Pacífico	65
7.1.2	Separação e contagem das larvas mortas	65

7.2	Protocolo: contagem de ovos numa caixa de Petri	65
7.3	Protocolo de contagem numa câmara de <i>Sedgewick Rafter</i>	66
7.4	Protocolo de contagem numa caixa de Petri com grelha de contagem	66
7.5	Protocolo de cultura.....	66
7.5.1	Esterilização da água para as culturas	66
7.5.2	<i>Rhodomonas</i> sp.	67
7.5.3	<i>Oxyrrhis marina</i>	68
7.5.4	<i>Brachionus plicatilis</i> e <i>Brachionus rotundiformis</i>	69
7.5.5	Náuplios de <i>Artemia</i> sp.	72
7.6	Lista de espécies do Indo-Pacífico presentes no tanque do Indo-Pacífico (T6).....	73
7.7	Lista de espécies do Indo-Pacífico presentes nas galerias do Indo-Pacífico (I6).....	75
7.8	Características das ordens e famílias presentes no tanque do Indo-Pacífico (T6) e nas galerias do Indo-Pacífico (I6).....	76

Lista de Figuras

Figura 1. Mapa no qual a região biogeográfica do Indo-Pacífico é representada através da zona sombreada. (retirada de http://earthsky.org/earth/persistent-hunting-can-help-win-the-war-on-lionfish , novembro 2016).	1
Figura 2. Representação das principais comunidades de peixes tropicais, segundo a família. Imagem adaptada de McConnell e Lowe-McConnell (1987).	2
Figura 3. Representação das vinte espécies mais importadas para os EUA, em 2005 (Rhyne <i>et al</i> , 2012).	8
Figura 4. Fases do desenvolvimento larvar de <i>Diplodus sargus</i> . O círculo azul destaca a zona onde ocorre a flexão da notocorda. Imagem adaptada de http://www.astrosurf.com/re/ichtyo_bio.html	17
Figura 5. Exposição do <i>habitat</i> do Índio-Pacífico (T6).	19
Figura 6. Placa de Petri com grelha de contagem, numa lupa binocular.	22
Figura 7. Culturas de <i>Rhodomonas</i> sp. em <i>erlenmeyer</i> de 2 L.	22
Figura 8. Cultura de <i>Oxyrrhis marina</i> num <i>erlenmeyer</i> de 2 L.	23
Figura 9. Cultura de <i>Brachionus plicatilis</i> em <i>erlenmeyer</i> de 2 L (A), em balão de 5 L (B) e num tanque de 100 L (C).	24
Figura 10. Cultura de <i>Brachionus rotundiformis</i> em <i>erlenmeyer</i> de 2 L (A), em balão de 5 L (B) e num tanque de 100 L (C).	24
Figura 11.A e 11.B. Distribuição dos tanques e sistema do desenho experimental.	26
Figura 12.A e 12.B. Rede coletora colocada à superfície, fixada à ponte.	28
Figura 13. A. Ovo viável; B. Ovo não viável.	29
Figura 14. Tubo com os ovos das larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6), no tanque com uma cortina de arejamento.	29
Figura 15. Registo fotográfico das larvas do Indo-Pacífico.	31
Figura 16. Número de ovos recolhidos no tanque do Indo-Pacífico (T6), tendo em conta a percentagem visível da Lua, durante os meses de abril, maio e junho.	35
Figura 17. Relação entre o número de dias máximo de sobrevivência das quatro espécies do T6, em relação aos dois tipos de tanque: escuro e transparente. As linhas representam o erro padrão.	36

Figura 18. Registo do crescimento larvar (em mm) das quatro espécies de larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6) até aos 6 DAE.....	39
Figura 19. Relação entre o crescimento das larvas do I6 (em mm) até aos 20 DAE, entre os tanques L4, L6 e L2. O círculo azul destaca o DAE em que as larvas do L6 foram transferidas para o L4.....	40
Figura 20. Larvas da espécie 1 com 1 DAE (A) e 3 DAE (B). A larva da figura 18.B. está morta.	41
Figura 21. Larvas da espécie 2 com 1 DAE (A), 3 DAE (B), 5 DAE (C).	41
Figura 22. Larvas da espécie 3 com 4 DAE (A) e 5 DAE (B).	42
Figura 23. Larva da espécie 4 com 3 DAE.	42
Figura 24. Larvas de <i>A. aureus</i> com 0 DAE (A), 1 DAE (B), 2 DAE (C), 7 DAE (D), 11 DAE (E), 17 DAE (F), 20 DAE (G). As setas indicam a barbatana dorsal, caudal e anal. O círculo azul destaca as barbatanas pélvicas com pigmentação.....	43
Figura 25. Larva de um labrídeo da sub-família Julidinae. A. 1,8 mm; B. 2,7 mm (intestino começa a enrolar); C. 3,9 mm; D. 5,1 mm.	50
Figura 26. A. <i>Cheilinus undulatus</i> . Imagem adaptada de: https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/napoleao ; B. <i>Coris formosa</i> . Imagem adaptada de: http://www.fishbase.org/photos/PicturesSummary.php?ID=7736&what=species ; C. <i>Coris gaimard</i> . Imagem adaptada de: http://www.ryanphotographic.com/labridae.htm ; D. <i>Thalassoma lutescens</i> . Imagem adaptada de: https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/bodiao-amarelo-castanho ; E. <i>Labroides dimidiatus</i> . Imagem adaptada de: https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/bodiao-limpador	50
Figura 27. A. <i>Bodianus mesothorax</i> . Imagem adaptada de: https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/bodiao-bicolor ; B. <i>Bodianus opercularis</i> . Imagem adaptada de: https://reefapp.net/en/lex/details/bodianus-opercularis	51
Figura 28. Desenvolvimento larvar de um nemipterídeo. A. 3 mm; B. 4,1 mm; C. 5,1 mm; D. 11,5 mm.....	52
Figura 29. <i>Scolopsis bilineata</i> (Imagem adaptada de: https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/pargo-de-duas-linhas). .	52

Figura 30. *Amblyglyphidodon aureus*. Imagem adaptada de:
<https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/donzela-dourada>..... 53

Figura 31. Desenvolvimento larvar de um pomacentrídeo, da sub-família Pomacentrinae. A. 3,1 mm; B. 4,3 mm; C. 8,7 mm; D. 11,5 mm. Imagem adaptada de Leis & Carson-Ewart (2004).
..... 53

Lista de Tabelas

Tabela 1. <i>Top</i> cinco dos países da UE que importam de países não pertencentes à UE, em 2015.	7
Tabela 2. <i>Top</i> cinco países, não pertencentes à UE, responsáveis pela importação de peixes ornamentais pela UE (2015)......	7
Tabela 3. <i>Top</i> cinco países, não pertencentes à UE, responsáveis pela importação de peixes ornamentais marinhos pela UE (2015)......	8
Tabela 4. Distribuição e concentração da alimentação, tendo em conta a cor do tanque (escuro vs. transparente) e os dias após a eclosão dos ovos (DAE)......	26
Tabela 5. Distribuição e concentração da alimentação, tendo em conta o tanque e os dias após a eclosão dos ovos.	27
Tabela 6. Distribuição das duas dietas (simples e com enriquecimento) nos três tanques: L6, L4 e L2. A seta indica o momento em que ocorreu a transferência das larvas do L6 para o L4... 28	
Tabela 7. Plano de análises laboratoriais a realizar nos diferentes recipientes por ensaio.	32
Tabela 8. Teste de Mann-Whitney para análise comparativa do número de dias de sobrevivência máximo, nas quatro espécies, entre os tanques escuros e transparentes.	37

Lista de Abreviações

- CT – Comprimento Total
- DAE – Dias Após a Eclosão
- DHA – Ácido Docosahexaenóico
- EPA – Ácido Eicosapentaenóico
- EPPO – Estação Piloto de Piscicultura de Olhão
- EUA – Estados Unidos da América
- HUFA – Ácidos Gordos Altamente Insaturados
- IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera
- LEOA – Laboratório Experimental de Organismos Aquáticos
- OATA – Ornamental Aquatic Trade Association
- ODL – Oceanário de Lisboa
- UE – União Europeia
- UTMSI – *University of Texas Marine Science Institute*

1 Introdução

1.1 Peixes tropicais e a região do Indo-Pacífico

As comunidades de peixes tropicais, sejam de água doce ou salgada, são tipicamente ricas em espécies, comparando com outras comunidades em *habitats* semelhantes, mas em zonas temperadas. Deste modo, estas comunidades representam os mais diversos conjuntos de vertebrados na Terra (Lowe-McConnell, 1987).

A fauna mais rica do mundo, relativamente aos peixes, encontra-se na zona da Indonésia, no Indo-Pacífico. A zona à volta da Nova Guiné, é constituída por mais de mil espécies, pertencendo a cerca de duzentas e quarenta e uma famílias. O Indo-Pacífico é uma região biogeográfica que compreende as águas tropicais do Oceano Índico, a região oeste e central do Oceano Pacífico e os mares que conectam estes dois oceanos, na região da Indonésia. No entanto, não inclui as regiões temperadas e polares do Índico e Pacífico, respetivamente; a zona tropical (Este) do Pacífico, ao longo da costa das Américas é um domínio marinho distinto (**Figura 1**).

Esta região biogeográfica conta com cerca de dez mil, quatrocentas e noventa espécies de peixe, correspondendo a quase 32% da ictiofauna da Terra (Hubert *et al*, 2010; WizScience.com, 2015).

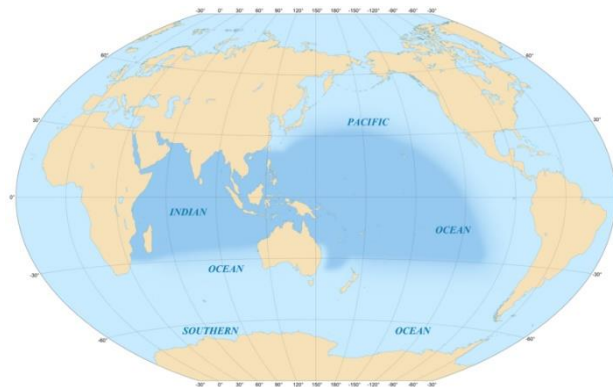


Figura 1. Mapa no qual a região biogeográfica do Indo-Pacífico é representada através da zona sombreada. (retirada de <http://earthsky.org/earth/persistent-hunting-can-help-win-the-war-on-lionfish>, novembro 2016).

A comunidade dos peixes tropicais pode ser representada pelas seguintes famílias de peixes: (a) Clupeidae; (b) Mormyridae; (c) Characidae; (d) Siluridae; (e) Exocoetidae; (f) Aulostomidae; (g) Pomacentridae; (h) Serranidae; (i) Lutjanidae; (j) Haemulidae; (k) Carangidae; (l) Scaridae; (m) Acanthuridae; (n) Scombridae; (o) Gobiidae; (p) Balistidae; (q) Tetraodontidae (**Figura 2**) (McConnell & Lowe-McConnell, 1987).

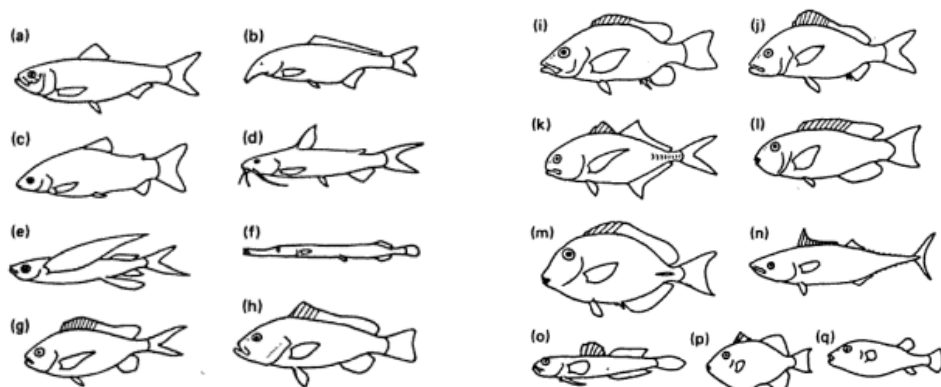


Figura 2. Representação das principais comunidades de peixes tropicais, segundo a família. Imagem adaptada de McConnell e Lowe-McConnell (1987).

Algumas espécies de peixes de recifes de coral, como *Thalassoma bifasciatum* ou *Amphiprion melanopus*, apresentam uma taxa de crescimento mais rápida e, conseqüentemente, uma fase larval pelágica mais curta, perante temperaturas mais altas, relativamente a espécies de peixes de zonas temperadas (Green & Fisher, 2004; Sponaugle *et al*, 2006). Este fenómeno ocorre devido a pequenas mudanças de temperatura (que ocorrem em sistemas tropicais) e que promovem um maior impacto em larvas de peixes tropicais do que em larvas de peixes de sistemas temperados, que possuem grandes variações de temperatura (Green & Fisher, 2004).

Sabe-se que a época de reprodução dos peixes tropicais é determinada por fatores como a temperatura, chuva, nível de água, disponibilidade de oxigénio, condutividade elétrica, pH da água (alcalinidade), nutrientes, acessibilidade do alimento, ciclo lunar e menos importante, o fotoperíodo (Munro *et al*, 1990; Pankhurst & Porter, 2003; Baumgartner *et al*, 2008). Estes fatores para além de atrasarem ou adiantarem o processo de reprodução, afetam a incubação dos ovos, o desenvolvimento e sobrevivência larvar (Baumgartner *et al*, 2008; Hilder & Pankhurst, 2003; Takemura *et al*, 2004).

Deste modo, a reprodução de muitas espécies de peixes tropicais está sincronizada com a sazonalidade ambiental (que é mais reduzida que em zonas temperadas), garantindo condições favoráveis para a sobrevivência de ovos e larvas. Cada espécie requer assim uma combinação única de fatores ambientais para promover a desova (Baumgartner *et al*, 1997; Baumgartner *et al*, 2008).

Por outro lado, os peixes possuem uma fase larvar planctónica muito mais longa do que muitos invertebrados, resultando no fato de que poucas espécies foram criadas em aquário, com sucesso (Sweetman, 1988). Perante esta dificuldade de cultivo, a taxonomia das espécies de

peixes do Indo-Pacífico é uma área pouco desenvolvida, especialmente nas fases larvares que não estão descritas.

1.1.1 Taxonomia

Normalmente, nas larvas de peixe, as grandes mudanças morfológicas estão associadas à transição entre a fase pelágica e a fase demersal. Devido à variabilidade entre *taxa*, relativamente ao desenvolvimento, realizaram-se várias tentativas para criar terminologias que descrevam estas mudanças ontogenéticas (Kendall *et al*, 1984; Leis, 2015).

As larvas apresentam poucas semelhanças com o seu estado adulto por duas grandes razões: as larvas, inicialmente, têm o seu desenvolvimento incompleto e carecem de estruturas que se encontram nos adultos (como as escamas e barbatanas); e porque, frequentemente, possuem especializações para a sua existência pelágica, sendo estas posteriormente perdidas ao longo do desenvolvimento da larva. Posto isto, larvas de várias espécies e de *taxa* superiores permanecem não descritas (Leis, 2015). No entanto, as formas larvares podem fornecer informações que permitem a distinção entre *taxa* (Osse, 1990).

Durante os séculos XIX e XX, as larvas de peixes do Indo-Pacífico foram descritas como espécies ou (até mesmo) géneros distintos (como os acanturídeos e holocentrídeos). Os autores mais reconhecidos, quanto à descrição destas larvas, são japoneses e indianos. Os ictiólogos japoneses têm uma longa tradição de pesquisa sobre larvas de peixes marinhos e foram os primeiros a produzir um guia de identificação, composto por vários autores, para ovos e larvas de peixe do Indo-Pacífico - neste caso, das águas japonesas (Leis, 2015).

Em 1981, a literatura sobre o desenvolvimento e identificação de larvas de peixes do Indo-Pacífico era dispersa, de qualidade desigual e por vezes correspondia a relatórios de expedição. Existem exemplos onde as larvas eram descritas em linguagens que tornavam grande parte do conteúdo inacessível a muitos usuários interessados no tema (Leis, 2015).

Após a primeira conferência de peixes do Indo-Pacífico (IPFC), que aconteceu em 1981, durante a década de 80, apareceram vários guias de identificação de larvas escritos por americanos, australianos, japoneses, entre outros, expandindo a informação disponível deste tema (Leis, 2015).

Quanto às espécies do Indo-Pacífico, um dos mais recentes livros corresponde ao de Leis e Carson-Ewart (2004): *The larvae of Indo-Pacific coastal fishes*, sendo uma edição do livro de 2000, com algumas correções. Neste livro são descritas dezassete ordens e cento e vinte e quatro famílias (Leis, 2015).

Em 2014, larvas de 83% das famílias de peixes do Indo-Pacífico, que possuam fase larvar, foram descritas (Leis, 2015). Apesar da falta de informação quanto às descrições larvares

ou classificações taxonômicas, a percentagem de peixes capturados no Indo-Pacífico é cada vez maior, sendo estes capturados no seu *habitat* natural, com o objetivo de ser vendido como ornamentação (OATA, 2016).

1.1.2 Captura de peixes tropicais e impactos nos recifes de coral

A pesca nos recifes de coral é uma indústria multimilionária que apoia milhares de pescadores em países em desenvolvimento e providencia mais de mil e quatrocentas espécies de peixes marinhos àqueles que têm como *hobby* a aquariofilia. Esta indústria começou no Sri Lanka (1930's) com pequenas pescas para exportação, sendo as coleções depois transportadas em tanques, no convés de navios de transporte de passageiros (Chapman *et al*, 1997; Wood, 2001).

Os juvenis são os mais capturados devido ao baixo custo de transporte, à sua sobrevivência (tendo em conta que possuem um tamanho reduzido) e à sua coloração, normalmente mais forte, comparando com os adultos. Dentro dos adultos, os machos são os mais escolhidos, pois possuem uma coloração mais vibrante que as fêmeas (Bruckner, 2005; Wabnitz *et al*, 2003).

Embora os herbívoros sejam o grupo trófico dominante na comercialização de peixes ornamentais, grupos como os planctívoros (*Chromis* spp.), peixes que se alimentam de corais (*Chaetodon* spp.), piscívoros (*Epinephelus* spp.) e peixes limpadores (*Gobiosoma* spp.) também são bastante procurados (Bruckner, 2005).

Os recifes de coral são ecossistemas produtivos e biologicamente diversos que, embora cubram apenas 0,2% do fundo oceânico, suportam cerca de 25% de toda a vida marinha (incluindo mais de quatro mil espécies de peixe, setecentas espécies de coral e milhares de outras formas de vida) (Cesar *et al*, 2003; Spalding *et al*, 2001). Estes ecossistemas têm evoluído nos últimos duzentos e quarenta milhões de anos, estimando-se que lhes estão associados mais de um milhão de espécies de animais e de plantas (Cesar *et al*, 2003). No entanto, estes ecossistemas encontram-se com um nível de degradação elevado (mundialmente), nível este que já conseguiu destruir 27% dos recifes de coral, através da combinação de impactos naturais e humanos (Cesar *et al*, 2003; Hoegh-Guldberg *et al*, 2007; Leal *et al*, 2014; Pandolfi *et al*, 2005; Thornhill, 2012).

Mais especificamente, a destruição dos recifes de coral é principalmente devido à poluição (como a escorrência de resíduos industriais), sobrepesca, desenvolvimento do turismo, branqueamento, mudanças climáticas, etc. (Cesar *et al*, 2003; Wood, 2001). Os impactos ambientais e biológicos já foram reconhecidos há alguns anos, particularmente em países com grande taxa de exportação, como a Indonésia. Estes impactos estão associados à sobre-

exploração de espécies-chave; degradação de recifes de coral (associados aos instrumentos de pesca utilizados); uso de cianeto de sódio e outros venenos (como a quinaldina e toxinas de plantas); mudanças na ecologia dos recifes devido à coleção de grupos tróficos específicos (como os herbívoros); à perda da biodiversidade, resultante da remoção de espécies raras e à taxa de mortalidade pós-captura (Bruckner, 2005; Cesar *et al*, 2003; Pandolfi *et al*, 2005; Thornhill, 2012; Wabnitz *et al*, 2003; Wood, 2001; Ziemann, 2001).

O cianeto de sódio, por exemplo, é dissolvido na água e utilizado (ilegalmente) para que os peixes fiquem atordoados (efeito narcótico), tornando-se mais fácil a captura dos indivíduos. Lamentavelmente, esta prática apresenta várias consequências: a morte dos indivíduos, tanto durante a recolha como pouco tempo depois da compra (devido a danos no fígado), o que incentiva a captura de um número maior que o necessário para cobrir a procura destas espécies; a danificação dos recifes de coral, pois algumas estruturas são danificadas para retirar os indivíduos dos seus esconderijos; e a morte ou sofrimento de outras espécies (que não são alvo de captura) como os invertebrados e corais, por propagação deste veneno (Bruckner, 2005; Lecchini *et al*, 2006; Rhyne *et al*, 2012; Wabnitz *et al*, 2003).

Cerca de 60% dos recifes de coral encontram-se seriamente em risco, fruto das atividades humanas, sendo expectável que certas espécies desapareçam antes de serem identificadas (Cesar *et al*, 2003).

Tendo em conta que a biodiversidade se encontra em declínio, torna-se imperativo que, de alguma forma, se aumente a sustentabilidade da indústria ornamental, de modo a respeitar o equilíbrio natural dos *stocks* destes organismos e dos ecossistemas associados.

1.1.3 Medidas de gestão sustentável dos peixes tropicais

Embora se tenha tentado diminuir todos os impactos (descritos na secção 1.1.2) através de uma gestão mais sustentável, a escassez de informação sobre o recurso, da quantidade que foi comercializada e da própria biologia das espécies em questão não tem permitido grandes avanços. Existe um vasto número de medidas que podem ser aplicadas com o intuito de assegurar que os recursos ornamentais, e respetivos *habitats*, sejam conservados e sustentavelmente geridos, como: medidas de gestão de pescas; aperfeiçoamento dos padrões da indústria, tanto pesqueira como da comercialização dos organismos; desenvolvimento de alternativas à captura de organismos selvagens e restrições de comércio internacional (Bruckner, 2005).

Governos, organizações não-governamentais e outras partes interessadas esforçam-se para desenvolver práticas, políticas e outros meios de forma a criar sustentabilidade no comércio ornamental marinho tropical. Pescarias de pequena escala baseadas na captura e

cultura pós-larval (com posterior cultura) prometem contribuir para a sustentabilidade pois podem: eliminar o risco de danificar os corais (aquando a recolha de adultos de espécies-alvo) através da recolha de pós-larvas com armadilhas de luz, redes e abrigos temporários, construídos para a fase em que as larvas transitam do plâncton para o substrato; e transformar as altas taxas de mortalidade das pós-larvas (quando se estabelecem) em altas taxas de sobrevivência, quando cultivadas (Bell *et al*, 2009).

Por outro lado, estas entidades oferecem treinos para as comunidades de pesca, abordando os seguintes temas: o uso de redes para a recolha dos peixes, sem danificar os corais (Anónimo, 1998; Rubec *et al*, 2001); a identificação de reformas políticas como a introdução de testes para certificar que os espécimes foram capturados sem o uso de cianeto (Anónimo, 1998; Barber & Pratt, 1997; Rubec *et al*, 2001, 2003), a restrição da exportação de espécies especialmente vulneráveis, a regulação da importação, distribuição e uso de cianeto, etc.. Além dos treinos, foram também estabelecidos incentivos para a recolha de peixes sem o uso de cianeto, como o aumento do valor recebido pela captura (Barber & Pratt, 1997; Dalabajan, 2005). Por fim, foram promovidos preços mais altos para peixes capturados em redes (Anónimo, 1998; Barber & Pratt, 1997; Rubec *et al*, 2001, 2003). Estas e outras medidas são fortemente desenvolvidas e/ou apoiadas por várias organizações, como a *Ornamental Aquatic Trade Association* (OATA).

Apesar da evidente destruição dos recifes de coral, a maioria dos peixes ornamentais comercializados são capturados precisamente nessas regiões e *habitats* relacionados, como as pradarias marinhas, mangais, lagoas, entre outros (Bruckner, 2005; Wood, 2001).

1.2 Importações e exportações de peixes ornamentais

Sabe-se que países do Indo-Pacífico, como a Indonésia, estão entre os principais países exportadores (Wood, 2001; Wabnitz *et al*, 2003; Rhyne *et al*, 2012b; OATA, 2016) e que os EUA, a UE e o Japão são os principais países importadores (OATA, 2016; Wabnitz *et al*, 2003).

Apesar da grande procura de peixes ornamentais, o valor total das importações para a União Europeia (UE) tem sofrido declínio ao longo da última década, havendo um pico em 2006 (93,4 milhões de euros) e diminuindo cerca de 22,6% até 2014 (72,3 milhões de euros). No entanto, em 2015 o valor total de importações subiu 8% em relação a 2014 (OATA, 2016).

O Reino Unido continua a ser o maior importador (por valor) na UE, importando cerca de 28% do total importado. Segue a Alemanha com 18,8 %, a Holanda com 13,6%, a França com 8,7% e a Itália com 6,4%, em 2015 (**Tabela 1**). Estes 5 países principais representam 75,3 % do total de importações para a UE (OATA, 2016).

Ainda no ano de 2015, 82,1 % das importações correspondem à importação de espécies de água doce para a UE e os restantes 17,9 % a espécies marinhas. Dentro da importação das espécies marinhas, os cinco países com maior volume de importações mencionados na **Tabela 1** representam 85,3% do total de importações para a UE (OATA, 2016). Os dados apresentados na **Tabela 1** correspondem às importações realizadas por países não pertencentes à UE para a UE.

Tabela 1. Top cinco dos países da UE que importam de países não pertencentes à UE, em 2015.

País	2015	
	€ (000s)	% do total de importações pela UE
Reino Unido	21.720	27,8
Alemanha	14.707	18,8
Holanda	10.652	13,6
França	6.812	8,7
Itália	4.979	6,4
Subtotal (1-5)	58.870	75,3

A principal fonte de peixes ornamentais para a UE continua a ser Singapura. Cerca de 69% do valor de peixes ornamentais que entram na UE são originários de apenas cinco países: Singapura (22,6%), Israel (14,3%), Indonésia (13,8%), Japão (12%) e Tailândia (6,7%). Estes países exportam para a UE cerca de 51% do total importado, o que corresponde a 54.242.000 € (**Tabela 2**) (OATA, 2016).

Tabela 2. Top cinco países, não pertencentes à UE, responsáveis pela importação de peixes ornamentais pela UE (2015).

País de origem	Valor (€ 000s)	% do total de importações pela UE
Singapura	17.654	22,6
Israel	11.194	14,3
Indonésia	10.811	13,8
Japão	9.376	12,0
Tailândia	5.207	6,7
Subtotal 1-5	54.242	69,3

Quanto aos peixes ornamentais marinhos, o top cinco de países (não pertencentes à UE) representa 78,8 % do valor total de importações, correspondendo a 11.027.000 € (**Tabela 3**), sendo o principal país a Indonésia (OATA, 2016).

Tabela 3. Top cinco países, não pertencentes à UE, responsáveis pela importação de peixes ornamentais marinhos pela UE (2015).

País	Valor (€ 000s)	% total de importações pela UE
Indonésia	5.557	39,7
EUA	2.064	14,8
Filipinas	1.499	10,7
Sri Lanka	1.084	7,7
Quênia	823	5,9
Subtotal 1-5	11.027	78,8

Nos EUA, em 2015, apenas vinte espécies corresponderam a 52% do total de indivíduos importados. Dez das vinte espécies mais importadas foram peixes-donzela e peixes-das-anêmonas (sendo os dois da família Pomacentridae). As duas espécies mais importadas foram *Chromis viridis* e *Chrysiptera cyanea* (**Figura 3**) (Rhyne *et al.*, 2012).

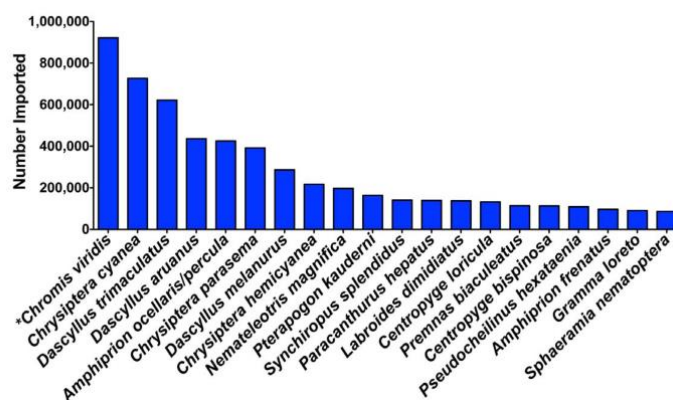


Figura 3. Representação das vinte espécies mais importadas para os EUA, em 2005 (Rhyne *et al.*, 2012).

Relativamente ao Havai, o cirurgião-amarelo é a espécie mais recolhida, sendo esta uma das grandes exportações deste país (Hoover, 1993; Tissot *et al.*, 2004). Em 1995, esta espécie cobriu 52% do total de espécies de aquário recolhidas (Thornhill, 2012). Espécies como *Chaetodon quadrimaculatus*, *Chaetodon unimaculatus*, *Chaetodon multicinctus*, *Naso literatus* e *Acanthurus achilles* encontram-se no top 10 das espécies mais recolhidas (Ogawa & Brown, 2001; Walsh *et al.*, 2003).

No geral, peixes-donzela (Pomacentridae) correspondem a quase 50% das espécies comercializadas, correspondendo os peixes-cirurgião (Acanthuridae), bodiões (Labridae), cabozes (Gobiidae) e os peixes-borboleta (Chaetodontidae) a outros 25-30%. As espécies mais vendidas são *Chromis viridis*, *Amphiprion ocellaris*, *Dascyllus aruanus*, *Chrysiptera cyanea* e *Dascyllus trimaculatus* (Wabnitz *et al.*, 2003).

Perante estes valores, é de extrema importância encontrarem-se alternativas com menos impactos negativos e que permitam a proteção destas espécies e respetivos animais - a aquacultura.

1.3 Aquacultura

A aquacultura pode ser definida como a produção de peixes e outros organismos aquáticos, como bivalves, algas, crustáceos, etc. (Edwards, 2000), incluindo os processos de cultivo, gestão, nutrição e procriação das espécies com interesse (Meske & Vogt, 2014). Pode ser dividida em dois tipos de sistema, quanto à localização das estruturas: em terra ou em corpos de água (lagos, lagoas, rios e mar). Quanto ao tipo de produção pode ser intensiva, semi-intensiva ou extensiva (Edwards, 2000; Naylor *et al*, 2000).

Esta atividade envolve a clausura dos organismos aquáticos num sistema seguro, em condições que estes podem se desenvolver. As intervenções nos ciclos de vida destes organismos variam desde a exclusão de predadores e controlo de competidores (aquacultura extensiva), ao aumento do alimento (semi-intensiva), até à provisão de todas as necessidades alimentares (intensiva) (Naylor *et al*, 2000).

Quanto mais intensiva for a produção destes organismos, maior será a sua densidade populacional, o que implica um maior uso e gestão dos *inputs*, maior formação de resíduos e um aumento do potencial de propagação de agentes patogénicos (Naylor *et al*, 2000).

A aquacultura está presente desde (pelo menos) os mil anos antes de Cristo na cultura chinesa, e tem um papel extremamente importante, pois contribui para a subsistência dos pobres, através do aumento da quantidade de alimento, do emprego e dos rendimentos (Nash, 2010; Naylor *et al*, 2000).

Com o aumento da população mundial, é imperativo que a oferta de peixe, e de outros organismos aquáticos, seja proveniente da produção e não da sobre-exploração no seu *habitat* natural.

Atualmente verifica-se um alarmante declínio do *stock* dos oceanos: dois terços das populações de peixes ou são pescadas até ao seu limite ou já estão em sobre-exploração, sendo estimado que 70% da população em geral é totalmente explorada, demasiado explorada ou encontra-se em crise (WWF, 2016).

Tendo em conta os fatos anteriores, a aquacultura é adotada como uma (possível) abordagem de conservação, sendo capaz de reduzir a procura de espécies selvagens, através da oferta de peixes criados em cativeiro. Pode ser usada também como ferramenta para aumentar os *stocks* de peixes selvagens, complementando o recrutamento natural com larvas produzidas (Bruckner, 2005; Naylor *et al*, 2000; Ziemann, 2001).

1.3.1 Produção de peixes tropicais

Nos países industrializados, a manutenção de peixes ornamentais está a tornar-se cada vez mais conhecida como um alívio de *stress*. Cerca de 7,2 milhões de moradias nos EUA e 3,2 milhões na UE têm um aquário e o número está a aumentar, diariamente, em todo o mundo (Ghosh *et al*, 2003). Tal como já foi referido, a produção destes organismos é bastante promissora, pois apresenta-se como uma alternativa à captura intensiva dos organismos selvagens. Apesar de tudo, a produção em si exige pouco espaço e um investimento inicial menor, quando comparada com as outras formas de aquacultura. Numa fase inicial, não são necessários equipamentos muito sofisticados, apenas conhecimento sobre os hábitos e biologia dos organismos em questão (Ghosh *et al*, 2003).

No entanto, o desafio consiste precisamente nos primeiros estádios de vida, que continuam a ser um obstáculo, pois as larvas de peixes marinhos têm requisitos rigorosos quanto às condições bióticas e abióticas para sobreviverem, desenvolverem e crescerem adequadamente (Hamre *et al*, 2013). A prioridade recai em trabalhar em aspetos que permitam melhorar a tecnologia de incubação de larvas, tais como desenhar um sistema de cultivo que disponha condições ambientais aceitáveis e identificar presas que se adaptem aos diferentes estádios durante o desenvolvimento ontogenético, visto que a maioria das espécies apresentam bocas pequenas (Holt, 2003; Holt & Holt, 2000).

Produzir este tipo de espécies em aquário é extremamente importante no que diz respeito à sua conservação. Adicionalmente, podem-se colmatar a falta de dados sobre detalhes importantes do ciclo de vida como: tamanho e idade de desova, desenvolvimento morfológico, idade da primeira alimentação exógena, taxas de crescimento, etc.. Complementarmente, os dados de mudanças ontogénicas nas respostas fisiológicas e alimentares das larvas, face a certos parâmetros ambientais, seriam essenciais para compreender e interpretar respostas dos recifes de coral a impactos humanos. E, obviamente, o conhecimento de todos os primeiros estádios de vida destas espécies seria crucial para compreender e mitigar os impactos antropogénicos (Holt, 2003; Riley & Holt, 1993).

Tal como já foi referido, o número de espécies de peixes tropicais e/ou ornamentais (com interesse económico), que são produzidas em cativeiro, é bastante reduzido. Embora várias espécies já tenham desovado em cativeiro, o obstáculo consiste no desenvolvimento larvar até ao estágio de juvenil (Holt, 2003). Na UTMSI (*University of Texas Marine Science Institute*) já foi possível fecharem o ciclo de *Hippocampus erectus*, *Equetus lanceolatus* e *Callopleysiops altivelis*. Espécies como *Oxycirrhitis typus*, *Centropyge flavissima* ou *Nemateleotris magnifica* já desovaram em cativeiro (Holt, 2003).

As principais preocupações ao produzir estas espécies são a luz, o espaço, a qualidade da água e o tipo de presas/alimento. As condições ambientais para se produzirem larvas, devem coincidir com o seu *habitat* planctónico natural, significando estabilidade de elevadas condições de salinidade e oxigénio, poucos nutrientes, pH básico, ciclos de luz e temperaturas elevadas (Holt, 2003). Outro problema é o fato de a maior parte dos peixes ornamentais (Chaetodontidae, Cirritidae, Serranidae, Labridae, por exemplo) desovarem pequenos ovos pelágicos que eclodem em larvas com bocas muito reduzidas.

Posto isto, aspetos como os requisitos e variedade na ontogenia, alimentação e fisiologia nutricional entre as espécies (mesmo dentro da mesma família) são pontos fulcrais para uma produção com sucesso (Hamre *et al*, 2013).

Atualmente, existem várias espécies que são produzidas, através de programas de conservação, como *Botia sidthimunki*, *Balantiocheilos melanopterus* (que se encontra em perigo, segundo Kottelat, 1996), *Scleropages formosus* (Ng & Tan, 1997) e vinte e oito espécies de ciclídeos *Haplochromini*. Como se pode constatar, quase todas as espécies cultivadas são de água doce, correspondendo estas a 80% do total de espécies de peixes ornamentais produzidos (Tlustý, 2002).

Considerando os peixes ornamentais marinhos, os primeiros estudos tiveram lugar na Florida e Califórnia, e mais recentemente, em Porto Rico (Ogawa & Brown, 2001). Em 1973, a *Aqualife Research* tornou-se a primeira empresa a comercializar peixes produzidos em cativeiro (Ogawa & Brown, 2001). Produziram com sucesso espécies como *Amphiprion ocellaris* e *Gobiosoma oceanops*, havendo também relatórios de cultivo de algumas espécies de peixes-anjo, incluindo híbridos.

Presentemente, é possível acompanhar os avanços tanto na produção como em estudos específicos de peixes tropicais devido a equipas como a Rising Tide Conservation. Esta é uma equipa de investigadores, sem fins lucrativos, que se dedica à proteção dos recifes de coral através de aquacultura sustentável. Já conseguiram produzir com sucesso espécies como *Labroides phthiophagus*, *Chaetodon miliaris*, *Centropyge potteri*, *Zebrasoma flavescens* e *Paracanthurus hepatus* (Rising Tide Conservation).

Por outro lado, no Havai, várias espécies de peixes-borboleta – *Forcipiger flavissimus*, *Chaetodon miliaris* e *Chaetodon lunula* - têm sido estudadas (Ogawa & Brown, 2001). Vários autores identificaram um vasto número de espécies como potenciais candidatos para produção em cativeiro, como *Chromis viridis*, *Pomacentrus coelestis*, *Chrysiptera cyanea*, *Paraglyphidodon oxyodon* e *Chaetodon auriga* (Ogawa & Brown, 2001).

Uma das principais vantagens para o consumidor, ao adquirir peixes tropicais/ornamentais produzidos em cativeiro, é que estes organismos como são produzidos em sistemas semelhantes aos sistemas domésticos (aquários), poderão apresentar uma maior taxa de sobrevivência, quando comparados aos peixes capturados na natureza (Bell *et al*, 2009).

1.3.2 Alimentação

Bons conhecimentos da nutrição larvar ao longo do seu desenvolvimento contribuiria para otimizar as dietas e protocolos de alimentação e, conseqüentemente, melhorar a qualidade larvar e juvenil. No entanto, considerando a vulnerabilidade das larvas de peixes, é difícil identificar e corresponder às necessidades nutricionais quando várias limitações fisiológicas e metabólicas estão ligadas e quando cada uma delas pode impedir o crescimento ou um desenvolvimento adequado (Hamre *et al*, 2013). Este ponto é crucial para a produção de peixes ornamentais, visto que a primeira alimentação exógena é a fase mais importante e vital de uma larva (Watanabe & Kiron, 1994).

Devido às reduzidas dimensões e comportamento passivo, as larvas precisam de ter à sua disposição presas vivas com movimentos compatíveis com os seus mecanismos de predação (os movimentos das presas induzem a captura, como resposta) e com dimensões adequadas à proporção das suas bocas, permitindo a sua fácil ingestão e captura (Cahu & Infante, 2001; Ferreira, 2009). Nesta fase, é necessário ter em conta não só o tamanho das presas, mas também a quantidade, que deve ser suficiente, de forma a facilitar o encontro e a alimentação dos peixes, pois nas fases iniciais estas possuem uma visão e natação deficientes. (Ferreira, 2009). Para complementar, autores descrevem que a estimulação visual pode ser aumentada através de iluminação e cor das paredes dos tanques apropriados (Ostrowski, 1989; Roo *et al*, 1999). A qualidade é determinante para que as larvas obtenham os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento (Ferreira, 2009).

As larvas de peixes marinhos alimentam-se de uma grande variedade de microzooplâncton incluindo protozoários (como os dinoflagelados e foraminíferos), larvas de cracas e moluscos, ovos de copépodes e *nauplii*. As diatomáceas também ocorrem nas dietas (Holt & Holt, 2000).

Embora os ovos, os náuplios e os copepoditos sejam o alimento natural das jovens larvas de peixes marinhos, estes não são geralmente utilizados na aquacultura, pois são difíceis de produzir numa base contínua e as populações naturais variam em abundância e tamanho (Holt & Holt, 2000). Por outro lado, rotíferos, *Artemia* sp. e microalgas são os alimentos vivos mais utilizados na produção de peixes marinhos (Holt & Holt, 2000; Langdon, 2003). Após alguns estudos, determinou-se que a utilização de copépodes (especialmente o género *Acartia*), nas

várias fases de desenvolvimento, juntamente com outros organismos (rotíferos, *Artemia* sp., por exemplo), proporcionam melhores resultados relativamente ao desenvolvimento e crescimento larvar, um melhor conteúdo nutricional (os copépodes possuem um grande valor nutricional, principalmente devido à presença de n-3 HUFAs – ácidos gordos altamente insaturados, n-3) e um aumento do número de sobreviventes (larvas aquando a primeira alimentação exógena), comparando com dietas constituídas por apenas rotíferos e *Artemia* sp. (Cunha *et al*, 2009; Garrido, *et al*, 2015; Silvia *et al*, 2014; Wilcox *et al*, 2006). Adicionalmente, também já são utilizados copépodes congelados para alimentação com bons resultados (Rocha, 2015).

No entanto, o alimento vivo acarreta, geralmente, muitos custos e representa uma porção significativa na totalidade dos custos operacionais de uma aquacultura (Langdon, 2003; People Le Ruyet *et al.*, 1993). Adicionalmente, as quebras das culturas, devido a contaminações, podem levar ao aumento do risco de doenças nos organismos cultivados (Langdon, 2003).

A produção de fitoplâncton e de zooplâncton, constitui o que se designa por cultivos auxiliares ou cultivos de apoio, isto é, cultivos que se efetuam em paralelo de alimento vivo para alimentar as larvas dos peixes marinhos (Ferreira, 2009).

As microalgas são organismos unicelulares, planctónicos e autotróficos, medindo entre 2 µm e 100 µm. São a base da teia alimentar no ambiente aquático, sendo muito valorizadas na aquacultura de alimento vivo e, como resultado, a produção de microalgas tem ganho grande importância no cultivo de vários organismos, como alimento direto para os filtradores (zooplâncton, moluscos bivalves e primeiros estados larvares de crustáceos peneídeos) e indireto para os peixes (Benemann, 1992; Ferreira, 2009; Muller-Feuga, 2000).

Além disso, as microalgas são utilizadas para a criação de larvas de peixes marinhos de acordo com a “técnica da água verde”, que consiste na adição e manutenção de cerca de 150.000 cél./ml de microalgas nos tanques (Ferreira, 2009), acreditando-se que desempenhe um papel relevante na estabilização da qualidade da água, nutrição das larvas e controlo microbiano (Ferreira, 2014).

Nannochloropsis sp. é uma microalga, de forma esférica, da classe Eustigmatophyceae, sendo caracterizada por ser uma potencial fonte de ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5 n-3) e uma quantidade razoável de ácido araquidónico (AA, 20:4 n-6), sendo este género um alimento ideal para larvas de crustáceos, presas como *Brachionus plicatilis* e larvas de peixes marinhos (Hu & Gao, 2006; Ferreira, 2009; Zittelli *et al*, 1999).

Os criptófitos são um componente importante dos produtores primários, tanto em *habitats* de água doce como de água salgada. Várias espécies encontram-se dispersas e abundantes no mar, podendo aparecer em águas mais frias (Barlow and Kugrens, 2002;

Novarino, 2005). O género *Rhodomonas* sp. (da classe Cryptophyceae) é uma alga vermelha unicelular flagelada com um diâmetro entre 9,2 e 9,9 µm (Lafarga-De la Cruz *et al*, 2006). Estas algas costumam ser utilizadas como alimento em organismos como os copépodes (Rossol *et al*, 2012), larvas de ostra, larvas velígeras (Lafarga-De la Cruz *et al*, 2006) e organismos do género *Oxyrrhis* (Van Ierland, 1985), pois são altamente móveis o que permite manter a alga em suspensão (em condições de arejamento suave), tornando as algas disponíveis como alimento.

Os protistas heterotróficos são uma ligação essencial nas cadeias alimentares pelágicas, como consumidores primários e presas para os níveis tróficos superiores (Guo *et al*, 2013). Quanto à taxonomia do género *Oxyrrhis* vários estudos morfológicos geraram dúvidas quanto ao número de espécies que este género possui: várias (*O. marina*, *O. marítima*, *O. phaeocysticola* e *O. tentaculífera*) ou apenas uma (*O. marina*) (Guo *et al*, 2013). Lowe *et al* (2010a) conduziu análises filogenéticas e genéticas, quanto às mitocôndrias, e descobriu duas linhagens altamente divergentes dentro da morfo-espécie *O. marina*, propondo a existência de duas espécies: *O. marina* e *O. marítima*. Outra análise filogenética realizada por Lowe *et al* (2012) também demonstrou a existência de duas linhagens distintas de *O. marina*.

O dinoflagelado heterotrófico *Oxyrrhis marina* (15-40 µm), da classe Dinophyceae, é o predador protista mais utilizado para experiências alimentares em laboratórios, pois é facilmente cultivado, é amplamente distribuído em ambientes costeiros e tolerante à variação das condições ambientais (Droop, 1959; Guiry, 2015; Johnson, 2000; Lowe *et al*, 2011; Roberts *et al*, 2010). É caracterizado por possuir um corpo alongado oval, assimétrico posteriormente, com uma cintura imperfeita do lado direito e com dois flagelos a saírem de um lobo tentacular médio-ventral (Lowe *et al*, 2010b). É também um modelo importante para estudos de várias áreas: ecologia, biogeografia e evolução (Guo *et al*, 2013).

Os rotíferos são um pequeno grupo do filo Rotifera, que pertencem ao grupo dos metazoários (Wallace, 2002). Os rotíferos eurialinos, *Brachionus* spp. podem ser encontrados quer em água doce quer em água salgada ou salobra, ou seja, existindo abundantemente em águas com salinidade entre 2 e 36 ppt, e até 100 ppt (meio hipersalino). No entanto, a melhor taxa de reprodução encontra-se em salinidades inferiores a 36 ppt (Lowe *et al*, 2005; Lubzens, 1987). A nível morfológico, o corpo pode ser dividido em três partes: a cabeça (com uma coroa ciliada), o tronco e o pé, encontrando-se normalmente coberto pela lóricas (uma cutícula), com um tamanho entre os 100 e os 350 µm (Ferreira, 2009). Estes organismos alimentam-se através da captura realizada pelos cílios da coroa e pelo mastax (Marujo, 2016; Salt, 1987).

Brachionus spp. são atualmente essenciais para a cultura de larvas de peixes marinhos, em todo o mundo (Lubzens, 1987). São considerados ideais como primeira fonte de alimento

exógena, devido ao seu tamanho reduzido, velocidade de natação lenta e a capacidade de permanecer suspenso na coluna de água. São relativamente fáceis de cultivar em grandes densidades e podem ser enriquecidos com ácidos gordos e antibióticos (Lubzens *et al*, 1989). Apresentam elevadas taxas de reprodução e são considerados animais filtradores não seletivos, facilitando o número de dietas que podem ser fornecidas, como as microalgas, leveduras, bactérias e alimentos inertes (Marujo, 2016).

Duas espécies de rotíferos (inicialmente considerados como morfotipos), o pequeno *Brachionus rotundiformis* (tipo-S) e o grande *Brachionus plicatilis* (tipo-L), são habitualmente cultivados como alimento vivo para o cultivo de larvas de vários organismos aquáticos (Maruyama *et al*, 1997; Yúfera *et al*, 1997). Durante a escolha da espécie de rotíferos, o tamanho do corpo é muito importante, pois a seleção de presas pelas larvas de peixe está dependente do tamanho (Lubzens, 1987).

B. rotundiformis são mais produtivos a elevadas temperaturas (crescimento ótimo entre os 26° e 30° C), sendo caracterizados por possuírem uma lórica redonda com espinhos anteriores pontiagudos, com um comprimento entre os 100 µm e 210 µm (Ferreira, 2009; Fielder *et al*, 2000; Lavens & Sorgeloos, 1996). Três estirpes tropicais, extremamente pequenas, do género *Brachionus* foram isoladas de populações naturais e introduzidas na aquacultura como alimento vivo para as larvas de peixe com bocas pequenas. Estas estirpes são designadas como SS e são referidas como *B. rotundiformis*. Os rotíferos do tipo-SS são utilizados como primeiro alimento exógeno em larvas de peixes com pequenas aberturas bocais, ou seja, menores que 100 µm, e são mais pequenos que os rotíferos tipo-S (Hagiwara *et al*, 1995; Lavens & Sorgeloos, 1996). Esta estirpe apresenta um crescimento ótimo entre os 28° e 35°C (Ferreira, 2009).

Por outro lado, *B. plicatilis* é uma estirpe de maiores dimensões (150 a 300 µm), que apresenta uma lórica mais alongada e com ângulos mais agudos entre os espinhos. Estes rotíferos do tipo-L demonstram uma melhor tolerância a temperaturas inferiores a 20 °C e uma taxa de crescimento ótimo entre os 18° e 25 °C (Ferreira, 2009).

Artemia spp. é um crustáceo do filo Arthropoda e classe Branchiopoda que se encontra em todos os continentes, salinas ou lagos salgados com uma salinidade superior a 70 ppt. Os seus ovos, com 200-300 µm de diâmetro, são cistos que se encontram em fase de dormência (adaptação perante condições ambientais adversas). Destes ovos eclodem náuplios (com cerca de 0,45 mm) que se desenvolverão até adultos (com cerca de 1,5 cm de comprimento). Este género pode reproduzir-se sexualmente ou através da partenogénese. O tipo de reprodução varia conforme as condições do meio envolvente (como as secas, escassez de alimento,

salinidade elevada, etc.). Devido ao elevado grau de polimorfismo entre indivíduos de diferentes origens (espécies gêmeas) foi decidido (no Simpósio Internacional sobre *Artemia salina* – Corpus Christi, Texas, 190) utilizar o termo de estirpe de *Artemia* sp. (Ferreira, 2009).

Estes organismos são ideais para alimentar peixes e crustáceos que possam ingerir presas com dimensões superiores a 0,5 mm (Sorgeloos *et al*, 1987) e são bastante utilizados em aquacultura e aquarofilia devido: à disponibilidade de cistos (que facilmente se encontram à venda); à facilidade de cultura e de crescimento rápido (podem ser produzidos 250 náuplios por ml, crescendo até 1,5 cm em quinze dias, a 25 °C); à possibilidade de alteração do perfil biológico, recorrendo-se à bioencapsulação; e por poderem ser utilizados como meio de transporte de substâncias como antibióticos até às larvas (Ferreira, 2009). Nutritivamente os náuplios apresentam entre as várias estirpes, 37-71% de proteína, 12-30% de lípidos, 11-23% de carboidratos e 4-21% de cinzas. Um estudo apresentou que 6 ácidos gordos - 16:0, 16:1(n-7), 18:1(n-9), 18:2(n-6), 18:3(n-3) e 20:5(n-3) – representavam 80% do total de ácidos gordos presentes, sendo o último, o ácido eicosapentaenóico (EPA) essencial para organismos marinhos (Bengtson, *et al*, 1991). No entanto, chegou-se à conclusão que o baixo valor de HUFA é o grande fator para o valor nutricional destes organismos não corresponder às exigências nutricionais das suas presas, sendo necessário recorrer ao enriquecimento destes organismos (Léger *et al*, 1985; Léger *et al*, 1987).

1.3.3 Identificação e desenvolvimento larvar

A maioria dos peixes marinhos desova ovos pelágicos, que são fertilizados externamente, e que flutuam perto da superfície do mar. Em muitos casos, o desenvolvimento do ovo até à fase de adulto é específico quanto à espécie e dependente da temperatura. Dos ovos eclodem larvas pouco desenvolvidas com sacos vitelinos, que nadam debilmente e que dependem das suas reservas (saco vitelino) até os seus sistemas sensoriais (Dixson *et al*, 2010; Margulies, 1989), circulatórios (Schwerte & Pelster, 2000), musculares (El-Fiky *et al*, 1987; Vieira & Johnston, 1992) e digestivos (Yúfera & Darias, 2007) se desenvolverem ao ponto de estas se poderem alimentar de plâncton (Kendall *et al*, 1984).

A fase larvar corresponde ao intervalo entre a eclosão e o surgimento das escamas. Um dos eventos fundamentais no desenvolvimento da maioria dos peixes é a flexão da notocorda (uróstilo). A flexão da notocorda e o desenvolvimento das barbatanas irá aumentar a capacidade natatória, melhorando a capacidade de captura de presas e a capacidade de fuga de predadores (Batty & Blaxter, 1992; Fuiman & Batty, 1997; Gavaia *et al*, 2002). Sendo assim, a fase larvar pode ser dividida em: saco vitelino, pré-flexão, flexão e pós-flexão (**Figura 4**). A fase do saco vitelino vai da eclosão do ovo até à abertura da boca; a da pré-flexão compreende entre a

abertura da boca e a flexão do uróstilo; a fase da flexão entre a flexão do uróstilo até ao desenvolvimento das barbatanas, principalmente a pélvica; e a fase pós-flexão compreende entre o surgimento da barbatana pélvica até ao aparecimento das barbatanas e o surgimento das escamas, sendo que a partir deste ponto, o indivíduo é considerado juvenil. A fase de juvenil corresponde até o indivíduo atingir a maturidade sexual ou entrar na população adulta (**Figura 4**) (Kendall *et al*, 1984; Silva-Falcão, 2007).

Entre os vários caracteres larvares (forma, raios das barbatanas, etc.), o padrão da pigmentação é um dos mais úteis para a classificação taxonómica, pois é comum cada espécie possuir um padrão distinto (Hubert *et al*, 2010; Kendall *et al*, 1984). A pigmentação é formada horas após a fertilização (Kelsh, 2004). Enquanto numas espécies, o número e posição dos melanóforos são o suficiente para o diagnóstico, noutras, a localização, forma e tamanho do grupo de melanóforos são as características essenciais (Fuiman *et al*, 1983; Kendall *et al*, 1984).

No geral, a forma e tamanho do corpo das larvas de peixe, nos vários estádios de desenvolvimento, são dados informativos suficientes para a caracterização dos indivíduos quanto ao nível da família (Kendall *et al*, 1984).

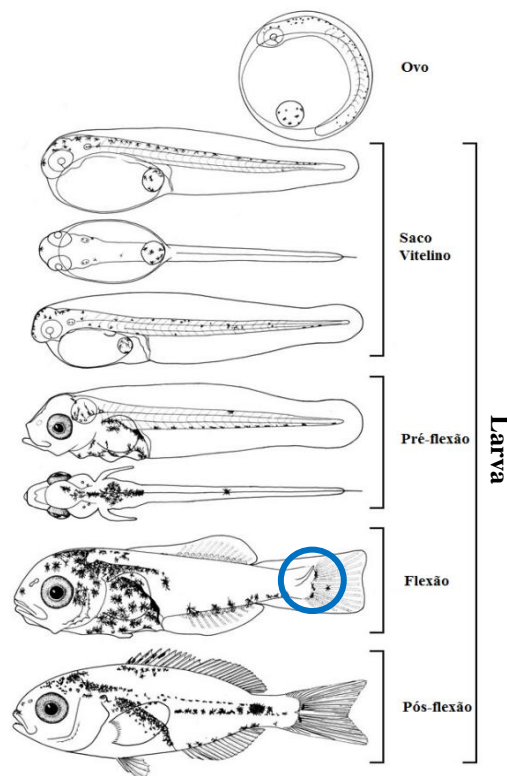


Figura 4. Fases do desenvolvimento larvar de *Diplodus sargus*. O círculo azul destaca a zona onde ocorre a flexão da notocorda. Imagem adaptada de http://www.astrosurf.com/re/ichtyo_bio.html.

1.4 Aquários públicos

A maioria das pessoas tem contacto esporádico com o meio marinho, pois a exposição direta com este tende a ser concentrada em áreas com baixa diversidade, como nas praias. A

falta de contacto com *habitats* marinhos é o grande fator para que haja um baixo nível de conservação marinha. Os *habitats* e as espécies presentes nestes não podem ser valorizados se não forem conhecidos e as práticas que os põem em risco não podem ser alteradas se não forem consideradas uma ameaça. Sendo assim, a educação ambiental é crucial para se atingir a conservação a longo prazo (Caro *et al*, 1994; Evans, 1997; Orr, 1990).

Os aquários públicos são instalações abertas ao público de forma a se poderem visitar espécies aquáticas, em aquário. A maioria apresenta uma variada quantidade de tanques de diversos tamanhos. Os tanques de maiores dimensões têm capacidade de suportar milhões de litros de água e espécies de grande porte como tubarões (ODL, 2017). Animais aquáticos e semiaquáticos (como lontras, pinguins etc.) (OCA, 2017), também podem ser encontrados em aquários públicos.

O primeiro aquário público abriu em Regent's Park, em Londres, em 1853 (ZLS London Zoo, 2016). Em pouco tempo, vários aquários começaram a surgir por todo o mundo, estando a maioria localizados perto do oceano, permitindo um contacto constante com água marinha natural.

Em Portugal existem vários aquários públicos, tais como o Aquário Vasco da Gama (inaugurado em 1898) e o Oceanário de Lisboa. O Oceanário de Lisboa (ODL) foi inaugurado em 1998, no âmbito de uma exposição mundial com o tema “Os oceanos, um património para o futuro”. É composto por dois edifícios, o original dos Oceanos e o novo edifício do Mar. É visitado anualmente por cerca de um milhão de pessoas. Para além das exposições, o ODL colabora com várias instituições em projetos de investigação científica, de conservação da biodiversidade marinha e promove o desenvolvimento sustentável dos oceanos. Foi o primeiro aquário público da Europa a obter as Certificações de Qualidade ISO 9001, 14001 e EMAS (*Eco-Management and Audit Scheme*).

As exposições do ODL podem ser divididas em duas categorias: permanentes e temporárias. Nas exposições permanentes podem ser visitados invertebrados, aves, peixes, anfíbios, mamíferos, plantas e algas. Possui um tanque central, com cinco milhões de litros de água salgada que atravessa os dois pisos da exposição permanente. No primeiro piso são representados os quatro *habitats* costeiros existentes (Atlântico Norte, Antártico, Pacífico e Índico Tropical), em vários aquários, nas diversas galerias. Já no segundo piso podem-se encontrar representados os mesmos *habitats*, mas sob uma perspetiva terrestre.

O tanque correspondente ao Indo-Pacífico é designado por T6 e alberga um variadíssimo número de espécies de peixes tropicais. Nesta exposição, é possível observar-se

que o teto é envidraçado, permitindo a entrada de luz durante o dia e a noite (refletida pela Lua) (Figura 5).



Figura 5. Exposição do *habitat* do Índio-Pacífico (T6).

1.5 Objetivos

Este trabalho teve como objetivos principais: a identificação das larvas de peixes do Indo-Pacífico (do tanque T6 do Oceanário de Lisboa); a identificação das condições de produção que favorecem o desenvolvimento destas espécies; a averiguação da influência da fase lunar quanto ao número de ovos recolhidos; a recolha e produção da espécie *Amblyglyphidodon aureus*, do aquário I6, das galerias do Indo-Pacífico.

Quanto à identificação das larvas pretendem-se realizar registos fotográficos e medições do comprimento total (CT) das mesmas. Relativamente às condições experimentais para as larvas do T6, serão testadas três dietas e duas cores de tanque, registando-se o número de dias de sobrevivência. Para as larvas do I6 apenas serão testadas duas dietas, registando-se igualmente o número de dias de sobrevivência. Pretende-se com este projeto que as seguintes questões sejam respondidas:

- 1- Que espécies foram recolhidas?
- 2- Que cor de tanque promove o desenvolvimento larvar?
- 3- Qual o conjunto de condições (dieta e cor do tanque) que resultam num maior número de larvas sobreviventes?
- 4- Haverá associação entre o número de ovos recolhidos e a percentagem visível da Lua?

Para responder a estas perguntas realizar-se-á:

- Recolha dos ovos e promoção do crescimento larvar;
- Identificação das larvas obtidas;
- Teste de tanques com coloração diferente: negro *vs.* transparente;
- Teste de diferentes dietas e, posteriormente, anotação do número de dias que as respetivas larvas sobreviveram;

- Estabelecimento de correlações entre: número de dias de sobrevivência *vs.* cor do tanque;
- Anotação do número de ovos recolhidos e correspondente percentagem visível da Lua na madrugada do dia de recolha;
- Anotação de vários parâmetros de qualidade da água dos tanques de cultivo.

2 Materiais e Métodos

2.1 Local de trabalho e origem do material biológico

Os ensaios decorreram na zona de quarentena, no Oceanário de Lisboa (ODL) e a produção da alimentação foi realizada na sala de cultura, no Oceanário de Lisboa. As larvas dos peixes tropicais foram obtidas através da recolha de ovos das mesmas, no T6 e no I6 do ODL. A recolha dos ovos das larvas do I6 foi realizada pelos colaboradores responsáveis por esta parte da exposição do ODL, enquanto a recolha dos ovos do T6 foi da minha responsabilidade.

Quanto à alimentação das larvas, *Nannochloropsis* spp. é proveniente de um concentrado vivo da PhytoBloom *Green Formula*. Os rotíferos *Brachionus rotundiformis* (tipo-SS) e os *Brachionus plicatilis* (Tipo-L) foram cedidos pelo Laboratório Experimental para Organismos Aquáticos (LEOA), da Faculdade de Ciências e Tecnologia, da Universidade do Algarve. Os dinoflagelados (*Oxyrrhis marina*) e as algas (*Rhodomonas* spp.) são provenientes do EPPO (Estação Piloto de Piscicultura de Olhão), do IPMA (Instituto Português do Mar e da Atmosfera). E, finalmente *Artemia* sp., foi encomendada em forma de cistos, através da *Ocean Nutrition*, sendo os cistos encomendados os *Sep-Art Artemia Cysts* (do Great Salt Lake).

2.2 Cultura de Fito e Zooplâncton

No ODL, fito e zooplâncton foram produzidos na sala de cultura, que como o nome indica, corresponde ao local onde se produz toda a base da alimentação dos animais presentes nesta instituição. Na sala de cultura faz-se a produção de *Artemia* sp., *Brachionus plicatilis*, *Oxyrrhis marina* e algas (*Isochrysis* sp., *Nannochloropsis* sp., *Rhodomonas* sp. e *Gymnodinium* sp.)

Todas as culturas (exceto a de náuplios de *Artemia* sp.) foram iniciadas através de inóculos fornecidos por entidades externas ao ODL. Posto isto, antes de se poder seguir com os protocolos de cultura (**Anexos**, secção 7.5), tiveram que ser realizados testes prévios quanto às concentrações e volumes ideais a serem produzidos.

A produção das culturas de *Rhodomonas* sp., de *Oxyrrhis marina*, de *B. plicatilis* e *B. rotundiformis* teve início no dia 14 de março de 2017 e para que se cultivasse da forma mais adequada, foram realizadas várias contagens para se ter conhecimento de quão concentrado estava cada recipiente de uma determinada cultura. Para se realizarem as contagens de *O. marina* e de *Rhodomonas* sp. recorreu-se a uma câmara de Sedgewick Rafter, segundo o protocolo de contagem nos **Anexos**, secção 7.3, com o auxílio de um microscópio Olympus CH30. Os rotíferos (*B. plicatilis* e *B. rotundiformis*) e *Artemia* sp. foram contados utilizando-

se uma placa de Petri com grelha de contagem (**Figura 6**), segundo o protocolo de contagem nos **Anexos**, secção 7.2., com o auxílio de uma lupa binocular Olympus SZ60.

A cultura de náuplios de *Artemia* sp., como já era uma cultura existente e em quantidade suficiente para as alimentações no ODL e para este projeto, foi mantida pelos colaboradores do ODL, segundo o protocolo presente nos **Anexos** (secção 7.5.5).

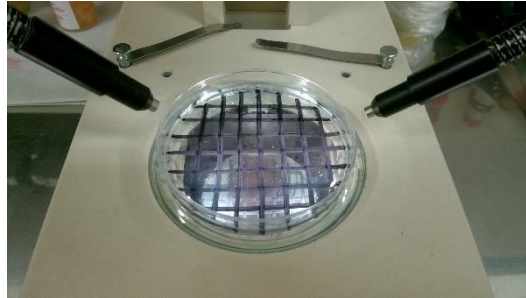


Figura 6. Placa de Petri com grelha de contagem, numa lupa binocular.

2.2.1 *Rhodomonas* sp.

Esta alga foi produzida a uma temperatura de, aproximadamente, 18 °C, salinidade de 32,5 – 33,5 ppt e iluminação durante vinte e quatro horas, sob uma lâmpada 58 W/77 da Osram Fluora (luz lilás para algas) e uma lâmpada L 58 W/840 da Osram Lumilux Cool White (4000 K).

A produção de *Rhodomonas* sp. seguiu o protocolo presente nos **Anexos** (secção 7.5.2), mantendo-se dois *erlenmeyers* mais concentrados para a alimentação e dois em crescimento para futura substituição (**Figura 7**).



Figura 7. Culturas de *Rhodomonas* sp. em *erlenmeyer* de 2 L.

2.2.2 *Oxyrrhis marina*

Os dinoflagelados *O. marina* foram produzidos a uma temperatura de, aproximadamente, 18 °C, salinidade entre os 32,5 e 33,5 ppt e iluminação durante vinte e quatro horas, sob uma lâmpada L 36 W/865 da Osram Lumilux Cool Daylight (6500 K).

A produção desta espécie seguiu o protocolo presente nos **Anexos** (secção 7.5.3), mantendo-se dois *erlenmeyer* e um balão. Quanto à alimentação, cada *erlenmeyer* e balão recebeu o volume de *Rhodomonas* sp. necessário até que a cultura apresentasse uma cor acastanhada (**Figura 8**).



Figura 8. Cultura de *Oxyrrhis marina* num *erlenmeyer* de 2 L.

2.2.3 *Brachionus rotundiformis* (tipo-SS) e *Brachionus plicatilis* (tipo-L)

A espécie *B. plicatilis* foi cultivada numa temperatura ambiente (18 °C) (**Figura 9**). Por outro lado, *B. rotundiformis* foi cultivado a uma temperatura de, aproximadamente, 30 °C, mantendo-se os recipientes da cultura em “banho-maria”, com recurso a um termostato de 50 W (para os *erlenmeyer* e balão) e a um termostato de 200 W para o tanque (**Figura 10**). Ambas as espécies foram mantidas a uma salinidade de, aproximadamente, 15 ppt e iluminação durante vinte e quatro horas, sob uma lâmpada L 36 W/865 da Osram Lumilux Cool Daylight (6500 K).

B. rotundiformis e *B. plicatilis* foram produzidos segundo o protocolo presente nos **Anexos** (secção 7.5.4). O processo de contagem destes organismos foi realizado de dois em dois dias, com o intuito de manter as concentrações controladas.

Quanto à alimentação, foram fornecidos aos *erlenmeyer* 0,2 ml de *Nannochloropsis* sp. (do concentrado vivo PhytoBloom green formula) diluídos em 100 ml de água salgada esterilizada. Aos balões de 5 L foram fornecidos 0,3 ml da mesma alga diluída em 100 ml água salgada esterilizada, e finalmente, nos tanques de 100 L foram fornecidos entre 5-6 ml de alga diluída em 400 ml água salgada esterilizada (para concentrações de, aproximadamente, os 150 rotíferos por ml). No entanto, dependendo do aspeto que a cultura apresentasse (mais transparente ou mais turva) a alimentação foi ajustada, permitindo que a cultura não apresentasse depósitos de alga (em demasia) ou escassez de alimento. A alimentação foi vertida

através de um tubo de vidro, que se encontra ligado à linha de ar, permitindo uma menor perturbação da cultura. No caso dos tanques, a solução de *Nannochloropsis* sp. foi vertida contra as paredes dos mesmos.

Para assegurar a alimentação das larvas de peixes do Indo-Pacífico foram mantidos dois *erlenmeyer* de 2 L, um balão de 5 L e um tanque de 100 L.

Tendo em conta a manutenção das populações de rotíferos, os *erlenmeyer* e balões foram repicados de quatro em quatro dias. Este intervalo de tempo permitiu que as populações atingissem uma concentração aceitável para serem transferidas para volumes maiores e que não ocorressem grandes acumulações de matéria orgânica nestes mesmos recipientes. Caso os tanques apresentassem depósitos orgânicos em demasia, o volume dos mesmos era crivado e colocado num tanque novo, já com água nova (a 15 ppt).

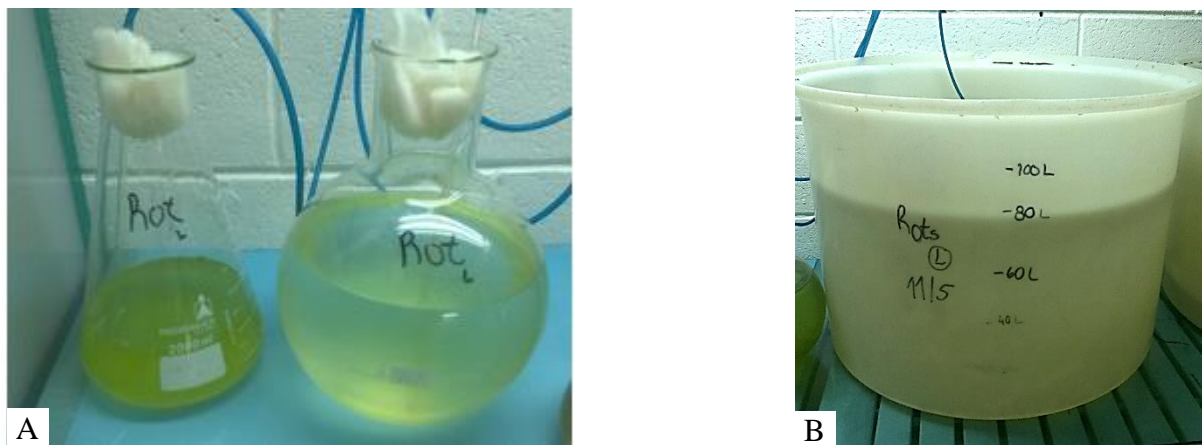


Figura 9. Cultura de *Brachionus plicatilis* em *erlenmeyer* de 2 L (A), em balão de 5 L (B) e num tanque de 100 L (C).

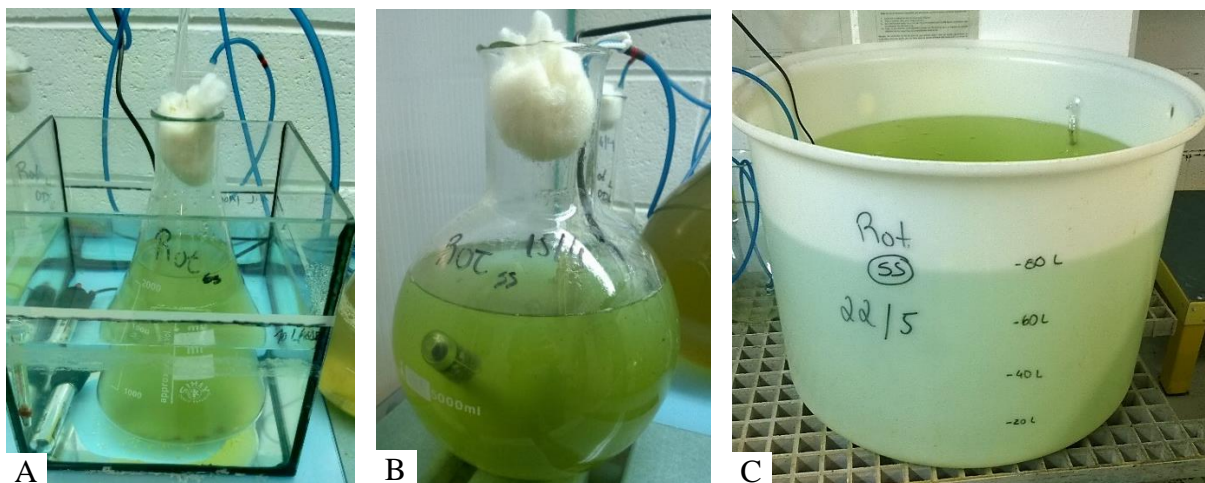


Figura 10. Cultura de *Brachionus rotundiformis* em *erlenmeyer* de 2 L (A), em balão de 5 L (B) e num tanque de 100 L (C).

2.2.4 Náuplios de *Artemia* sp.

Tal como já foi referido, esta cultura foi mantida pelos colaboradores do ODL, segundo o protocolo presente nos **Anexos** (secção 7.5.5). As culturas de *Artemia* sp. foram mantidas em

tanques cilindro-cônicos (com 100 L de capacidade), a uma temperatura de, aproximadamente, 29,5 °C (mantidos por um termostato de 200 W), com arejamento e apresentaram-se vinte e quatro horas iluminadas sob uma lâmpada L 36 W/865 da Osram Lumilux Cool Daylight (6500 K). Sempre que necessário, as culturas foram enriquecidas com *Easy DHA Selco*, da INVE.

2.3 Desenho experimental

Para que as perguntas deste trabalho fossem respondidas, foram criados dois desenhos experimentais: um para as larvas do T6 e outro para as larvas do I6.

2.3.1 Larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)

Neste desenho experimental pretendeu-se estudar a taxa de sobrevivência das larvas perante duas variáveis: a cor do tanque onde estão colocadas e a dieta, tendo sido esta composta por três organismos diferentes: dinoflagelados (*Oxyrrhis marina*), rotíferos tipo-L (*Brachionus plicatilis*) e rotíferos tipo-SS (*Brachionus rotundiformis*) (protocolos de cultivo presentes nos **Anexos**, secções 7.5.3 e 7.5.4, respetivamente).

A dieta foi dividida em três partes:

1. *O. marina* inicialmente (de 2 a 4 DAE);
2. *O. marina* com *B. rotundiformis* para os tanques 1 e 4, *O. marina* com *B. plicatilis* (para os tanques 2 e 5) e a junção de *O. marina* com *B. rotundiformis* e *B. plicatilis* para os tanques 3 e 6 (de 5 a 8 DAE);
3. *B. rotundiformis* para os tanques 1 e 4, *B. plicatilis* para os tanques 2 e 5 e *B. rotundiformis* com *B. plicatilis* nos tanques 3 e 6 (de 9 a 16 DAE).

Nestes mesmos tanques (com um volume de 10 L), três possuíam paredes escuras (tanque 1 a 3), tal como Olivotto *et al* (2005), e três possuíam paredes transparentes (tanque 4 a 6) (**Figura 11.A; Tabela 4**). Cada tanque também continha arejamento fraco (uma pedra difusora por tanque) e um termómetro (**Figura 11.A**).

Relativamente à manutenção da temperatura, todos os tanques encontraram-se colocados num tabuleiro com água (aproximadamente 26 °C), estando em “banho-maria” (Jackson & Lenz, 2016). A temperatura do “banho-maria” foi mantida através de um termostato de 150 W e de uma bomba de 14 W que manteve a água do tabuleiro em circulação. O sistema também continha uma calha de iluminação, que permitiu um fotoperíodo controlado (dezasseis horas de luz e oito horas de escuridão) em todos os tanques (L 36 W/865 da Osram Lumilux Cool Daylight - 6500 K) (**Figura 11.B**).

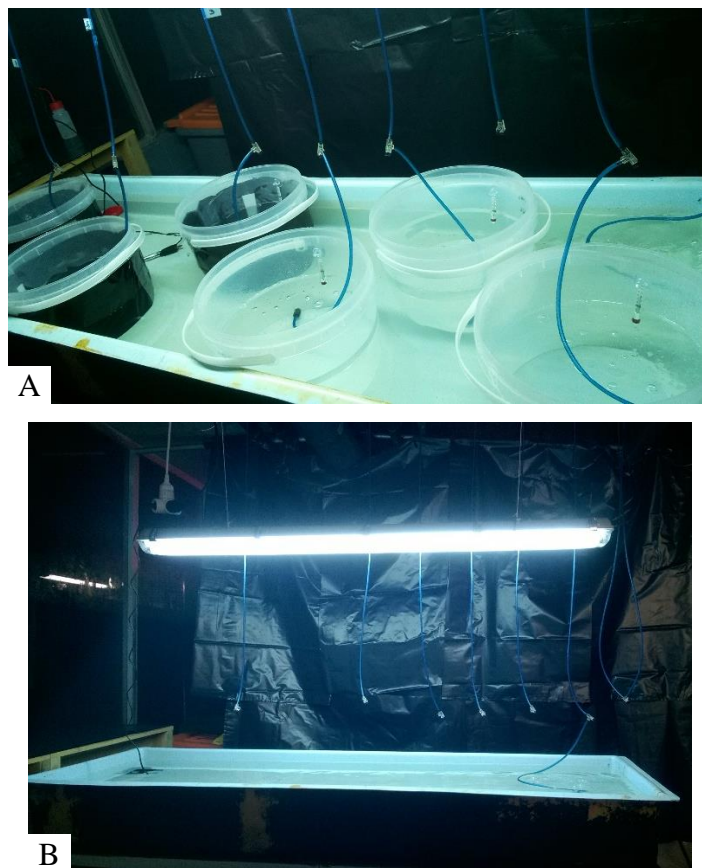


Figura 11.A e 11.B. Distribuição dos tanques e sistema do desenho experimental.

Tabela 4. Distribuição e concentração da alimentação, tendo em conta a cor do tanque (escuro vs. transparente) e os dias após a eclosão dos ovos (DAE).

	Escuro			Transparente		
	1	2	3	4	5	6
2-4 DAE	<i>O. marina</i> (10 ind./ml)	<i>O. marina</i> (10 ind./ml)	<i>O. marina</i> (10 ind./ml)	<i>O. marina</i> (10 ind./ml)	<i>O. marina</i> (10 ind./ml)	<i>O. marina</i> (10 ind./ml)
5-8 DAE	<i>O. marina</i> + <i>B. rotundiformis</i> (5 ind./ml)	<i>O. marina</i> + <i>B. plicatilis</i> (5 ind./ml)	<i>O. marina</i> + <i>B. rotundiformis</i> + <i>B. plicatilis</i> (5 ind./ml)	<i>O. marina</i> + <i>B. rotundiformis</i> (5 ind./ml)	<i>O. marina</i> + <i>B. plicatilis</i> (5 ind./ml)	<i>O. marina</i> + <i>B. rotundiformis</i> + <i>B. plicatilis</i> (5 ind./ml)
9-16 DAE	<i>B. rotundiformis</i> (10 ind./ml)	<i>B. plicatilis</i> (10 ind./ml)	<i>B. rotundiformis</i> + <i>B. plicatilis</i> (10 ind./ml)	<i>B. rotundiformis</i> (10 ind./ml)	<i>B. plicatilis</i> (10 ind./ml)	<i>B. rotundiformis</i> + <i>B. plicatilis</i> (10 ind./ml)

2.3.2 Larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6): *A. aureus*

Para que fosse possível acompanhar o desenvolvimento das larvas do Indo-Pacífico do I6 (*A. aureus*), foi criada uma dieta, composta por três organismos diferentes: *Brachionus rotundiformis* (tipo-SS), *Brachionus plicatilis* (tipo-L) e náuplios de *Artemia* sp. (protocolos de cultura presentes nos **Anexos**, secções 7.5.4 e 7.5.5, respetivamente).

A dieta foi dividida em três partes (**Tabela 5**):

1. *B. rotundiformis* (1ª alimentação) e *B. plicatilis* (2ª alimentação), até aos 8 DAE (dias após a eclosão);
2. Náuplios de *Artemia* sp. (1ª alimentação) e *B. plicatilis* (2ª alimentação), entre o 9º e o 19º DAE;
3. Náuplios de *Artemia* sp. enriquecidos, a partir do 20º dia.

Como o número de ovos recolhidos não foi o expectável, optou-se por realizar o desenvolvimento larvar em apenas três tanques transparentes, com um volume de 12 L: L4, L6 e L2. Possuíram uma pedra difusora (com arejamento moderado), um termómetro e um alimentador. Inicialmente os ovos foram colocados num tanque, que possuiu uma cortina de arejamento, para simular o arejamento que os machos realizam (Frédérich & Parmentier, 2016). Após as larvas eclodirem, estas foram divididas em dois tanques para que fosse possível testar duas dietas diferentes: uma, tal como está representado na **Tabela 5** (L6) e outra, segundo a mesma tabela, mas com os *B. plicatilis* enriquecidos com *Easy DHA Selco*, da INVE (L4), com o intuito de se perceber se o enriquecimento permitiria um melhor desenvolvimento larvar (**Tabela 6**). Esta diferença a nível alimentar ocorreu até ao 9º DAE, tendo sido as larvas do L6 transferidas para o L4, aos 10 DAE. O L2 foi o tanque que recebeu as larvas do segundo momento de eclosão (passados quatro dias do primeiro momento de eclosão) (**Tabela 6**).

Tabela 5. Distribuição e concentração da alimentação, tendo em conta o tanque e os dias após a eclosão dos ovos.

0-8 DAE	9-19 DAE	19+ DAE
<i>B. rotundiformis</i>	<i>B. plicatilis</i> (5 ind./ml)	Náuplios de <i>Artemia</i> sp.
+	+	
<i>B. plicatilis</i> (10 ind./ml)	Náuplios de <i>Artemia</i> sp. (1 ind./ml)	(2 ind./ml)

Tabela 6. Distribuição das duas dietas (simples e com enriquecimento) nos três tanques: L6, L4 e L2. A seta indica o momento em que ocorreu a transferência das larvas do L6 para o L4.

Dieta	DAE										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	10+
Simples	L6									↓	
Enriquecimento	L4										
	L2										

2.4 Recolha, separação e contagem dos ovos do tanque do Indo-Pacífico (T6)

A recolha de ovos no T6 decorreu entre 5 de abril e 9 de junho de 2017. A rede coletora foi colocada no tanque T6 à superfície, fixada à ponte (**Figura 12.A e 12.B**). A colocação das redes foi realizada após o horário de visitas, ou seja, entre as 19:30h e as 20:00h. Foi posteriormente recolhida antes do horário de visitas começar, ou seja, entre as 9:00h e as 9:30h.



A



B

Figura 12.A e 12.B. Rede coletora colocada à superfície, fixada à ponte.

Após as redes terem sido recolhidas e levadas para a quarentena foi necessário proceder à lavagem destas com água salgada filtrada, concentrando-se os ovos numa das extremidades da rede e transferindo-se o conteúdo para um crivo de 250 μ m. Os ovos foram lavados com água salgada filtrada (com recurso a um esguicho, por exemplo) e colocados num recipiente de vidro, já com água salgada filtrada. Este copo ficou dez minutos a repousar, para os ovos viáveis se separarem dos não viáveis. Esta técnica é bastante usada para se poder testar a viabilidade de ovos pelágicos, visto não ser demorada. Os ovos que flutuam são viáveis e os que se depositam são não viáveis, sendo estes mais opacos que os viáveis (**Figura 13**) (Almansa *et al*, 1999; Bobe & Labbé, 2010; Lahnsteiner & Patarnello, 2004).

Os ovos viáveis foram então colocados num recipiente de vidro com capacidade de 1 L, já com água salgada filtrada, para se proceder à desinfecção dos mesmos. A desinfecção foi efetuada através de um banho em Betadine (100 mg/ml) com uma concentração de 1 ml/L, durante dez minutos. De seguida, os ovos foram crivados (com um crivo de 250 μ m) e lavados com água salgada filtrada e colocados num recipiente com 1 L de capacidade, previamente

cheio com água salgada filtrada. Prosseguiu-se para o processo de contagem que foi realizado numa câmara de contagem de *Sedgewick-Rafter* (ver protocolo de contagem nos **Anexos – 7.3**).

Dependendo do número de ovos recolhidos, estes foram distribuídos pelos tanques, e foi anotado o dia e a percentagem visível da Lua (recorrendo a: <https://www.calendario-365.pt/lua/calendario-lunar.html>), na madrugada do dia em que estes foram recolhidos.

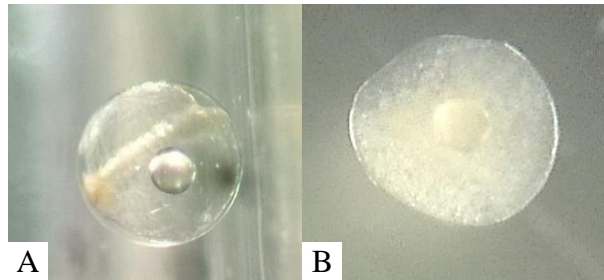


Figura 13. A. Ovo viável; B. Ovo não viável.

2.5 Recolha dos ovos das galerias do Indo-Pacífico (I6): *A. aureus*

A recolha dos ovos de peixes tropicais do I6 foi assegurada pelos colaboradores das respetivas galerias e realizou-se no dia 9 de junho. Para se realizar a recolha foi colocado um tubo de plástico no aquário, permitindo que quando ocorresse a desova, os ovos se fixassem nesta estrutura, tendo em conta que estes são demersais e aderentes a estruturas do substrato (Frédérich & Parmentier, 2016). A estrutura foi recolhida, cortada ao meio (para caber dentro do tanque) e colocada no tanque, segundo o desenho experimental (**Figura 14**). Como os ovos estavam fixos, não foi possível contar o número de ovos presentes, nem realizar a desinfeção tal como foi realizada com os ovos do T6.



Figura 14. Tubo com os ovos das larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6), no tanque com uma cortina de arejamento.

2.6 Rotinas

2.6.1 Rotinas diárias

2.6.1.1 Larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)

Quanto aos tanques das larvas de peixes do Indo-Pacífico, a água de cada tanque foi recolhida e analisada, como está representado na **Tabela 6**. A temperatura do “banho-maria” foi verificada várias vezes ao dia, evitando variações de temperatura. Pretendeu-se que todos os dias ocorresse uma renovação de água (filtrada e esterilizada) de, aproximadamente, 30%, em cada tanque. De forma a não ocorrerem choques térmicos, aquando da renovação de água, foi preparado, na véspera, um recipiente com água salgada filtrada com um termostato a manter os 26°C. Para manter a salinidade constante em cada tanque (aproximadamente 33 ppt), foi utilizada uma folha de cálculo no Excel™, criada pelo ODL, para calcular o volume necessário de água doce e de água salgada filtrada a ser colocado. A renovação da água foi realizada recorrendo-se a um copo de 250 ml, o qual permitiu retirar água dos tanques sem prejudicar as larvas neles presentes, pois estas foram recolhidas e devolvidas ao respetivo tanque, utilizando uma pipeta de Pasteur. A renovação da água foi realizada lentamente para evitar choques de salinidade e temperatura, utilizando-se os alimentadores (garrafas de plástico cortadas e ligadas a uma linha de ar com regulador de caudal). As trocas de água foram realizadas antes das alimentações.

Relativamente às culturas de fito e zooplâncton, realizaram-se repicagens (quando necessário) e a alimentação das mesmas. Para que houvesse água salgada filtrada e esterilizada sempre disponível para as culturas de *Rhodomonas* sp. e de *Oxyrrhis marina*, eram (diariamente) esterilizados 4 L de água salgada filtrada. Posteriormente, foi calculado e retirado o volume de alimento necessário para cada tanque das larvas de peixe do Indo-Pacífico, tendo este sido colocado nos alimentadores.

Foram recolhidas três larvas de cada tanque para se registar quanto ao tamanho e quanto ao aspeto das mesmas. O registo fotográfico foi realizado a partir de um 1 DAE para as larvas do T6 e no próprio dia da eclosão para as larvas do I6, recorrendo-se a uma lupa binocular (Olympus SZ60) e a uma máquina fotográfica (Canon EOS 1200 D), através de um adaptador (**Figura 15**). Este registo teve dois objetivos: a medição das larvas e a identificação das estruturas já formadas. As larvas foram medidas em linha reta desde a extremidade do focinho até à extremidade do lobo mais comprido da barbatana caudal (estando os raios da barbatana comprimidos) – comprimento total (CT) – utilizando uma lâmina micrométrica (a menor divisão corresponde a 0,1 mm) (*FishBase Glossary*, 2016). Quanto à análise morfológica, foram procuradas estruturas como a boca, saco vitelino, pigmentação dos olhos e do corpo,

barbatanas, forma e tamanho do intestino, etc. Quando o CT das larvas ultrapassou a régua da lâmina, realizou-se o registo fotográfico da larva, com a régua da lâmina ao lado. Deste modo, e utilizando o software ImageJ¹, o comprimento da régua da lâmina micrométrica foi utilizada como escala para medir o CT da larva.

Tendo em conta que nestas espécies de peixes do Indo-Pacífico a mortalidade é bastante elevada e que nem sempre se recolheu um número suficientemente elevado de ovos, as larvas encontravam-se vivas durante o registo fotográfico. Após este registo, as larvas foram devolvidas ao seu respetivo tanque.



Figura 15. Registo fotográfico das larvas do Indo-Pacífico.

Após as rotinas diárias, todo o material utilizado foi lavado e desinfetado em lixívia, durante dez minutos e com tiosulfato durante um minuto. Foi preparada a água salgada filtrada para a renovação do dia seguinte.

2.6.1.2 Larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6): *A. aureus*

Quase todas as rotinas corresponderam às realizadas nas larvas do T6, exceto as trocas de água, recolha de larvas para análise morfológica e alimentação.

O processo de troca de água foi dividido em dois momentos: o primeiro que correspondeu a 33,3% e o segundo a 16,7%, perfazendo uma troca de água diária de 50%. Estes dois momentos corresponderam aos dois momentos de alimentação de *A. aureus*. A troca de água realizou-se com a mesma metodologia utilizada com as larvas do Indo-Pacífico do T6. A água foi crivada (55 μm) assim que o tanque se apresentou com uma acumulação considerável de restos da alimentação anterior.

Relativamente à recolha e registo das larvas, apenas uma foi recolhida por dia, pois obteve-se um número reduzido de larvas (comparando com o número de larvas obtido do T6).

¹ <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>

Por fim, as alimentações foram preparadas e enriquecidas com *Selco*, tal como foi referido na secção 2.3.2.

2.6.2 Rotinas periódicas

Relativamente às rotinas periódicas existiram algumas tarefas a realizar, tais como a limpeza das paredes e fundos dos tanques assim que estes não apresentassem qualquer larva viva. Esta limpeza foi realizada com uma esponja. Assim que um tanque apresentasse uma acumulação de matéria orgânica considerável e ainda possuísse larvas vivas, recorria-se à preparação de outro tanque, com 50% da água do tanque inicial e 50% de água salgada filtrada nova, transferindo-se posteriormente as larvas de um tanque para o outro, com o cuidado de as aclimatar. Outro aspeto importante é a análise da qualidade da água, tendo sido realizada antes da alimentação, segundo a **Tabela 7**.

Tabela 7. Plano de análises laboratoriais a realizar nos diferentes recipientes por ensaio.

Recipiente	T (°C)	Sal.	pH	Oxigénio	NH ₃ -N	NO ₂	N0 ₃
Todos	Diário	Diário	Diário	Diário	3x semana	3x semana	1x semana

2.7 Esquema da dieta

2.7.1 Larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)

Considerando o fato de as larvas das espécies do Indo-Pacífico possuírem um tamanho reduzido, foi necessário encontrar um alimento que fosse menor que a boca destas – os dinoflagelados. Tal como Olivotto *et al* (2005), a dieta destas larvas, independentemente do tanque em que se encontrassem, começou com 10 ind./ml, só depois de ocorrer algum desenvolvimento a nível do tamanho do corpo da larva e, conseqüentemente, da boca é que se pôde começar a realizar a transição de alimento, que consistiu na presença de dois organismos (um maior e um menor). Só assim foi possível corresponder às necessidades nutritivas de larvas que já se tinham desenvolvido e de larvas ainda em processo de desenvolvimento. Neste caso, a transição pôde ser: dinoflagelados com rotíferos tipo-SS (tanque 1 e 4), dinoflagelados com rotíferos tipo-L (tanque 2 e 5) ou dinoflagelados com rotíferos tipo-L e rotíferos tipo-SS (tanque 3 e 6), tendo sido cada espécie a uma concentração de 5 ind./ml (Wullur *et al*, 2009).

Finalmente, quando todas as larvas já tinham atingido o mesmo estágio de desenvolvimento, foi apenas distribuído o alimento maior: rotíferos tipo-SS e/ou rotíferos tipo-L, numa concentração de 10 ind./ml. Todo este processo de distribuição do alimento está esquematizado na **Tabela 4**.

A alimentação foi dividida em dois momentos: às 9:00 horas e às 13:00 horas, tendo sido fornecida após as trocas de água.

Para completar a dieta, foi adicionada *Nannochloropsis* sp. para reproduzir a “técnica da água verde”, juntamente com a alimentação, sempre que houve necessidade. Esta técnica consistiu na adição de microalgas nos tanques, onde se cultivaram as larvas, tendo como funções a estabilização da qualidade da água, nutrição das larvas, controlo microbiano, difusão da luz nos tanques, aumento do contraste para melhorar o sucesso de captura de presas e redução de reflexos nos aquários (que causam comportamentos como bater com a cabeça nas paredes dos tanques, até morrerem) (Ferreira, 2009; Green & McCornick, 2001; Lavens & Sorgeloos, 1996). Na prática, foram aproveitadas as sobras de *Nannochloropsis* sp. da alimentação dos rotíferos, para a realização desta técnica nos tanques das larvas dos peixes do Indo-Pacífico. Quando as sobras não chegaram, foi retirada uma pequena quantidade do concentrado vivo PhytoBloom.

2.7.2 Larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6): *A. aureus*

A alimentação destas larvas (**Tabela 5**) começou com organismos de maior dimensão: os rotíferos. Inicialmente foram fornecidos *B. rotundiformis* e *B. plicatilis*, a uma concentração de 5 ind./ml, até aos 8 DAE.

Dos 9 DAE até aos 19 DAE, foram fornecidos *B. plicatilis* e náuplios de *Artemia* sp., a uma concentração de 5 ind./ml e 1 ind./ml, respetivamente. Até aos 19 DAE, a alimentação foi dividida em dois momentos: às 9:00 horas e às 13:00 horas e o *B. plicatilis* fornecido foi enriquecido com 0,1 ml de *Selco*, durante trinta minutos, para o L4 e L2.

A partir dos 20 DAE, foram fornecidos náuplios de *Artemia* sp., enriquecidos com *Selco* (0,1 ml durante trinta minutos), a uma concentração de 2 ind./ml.

Realizou-se também a “técnica da água verde” descrita acima, nas larvas do L6 até aos 15 DAE.

Dos três tanques existentes (L2, L4 e L6), testou-se apenas no L6 a alimentação sem qualquer enriquecimento, mantendo-se a mesma concentração de alimento (**Tabela 6**).

2.8 Tratamento de dados

Para a análise dos dados deste trabalho foi utilizado o *software* estatístico *STATISTICA*². Foram realizados testes para se determinar se os dados seguiam a distribuição normal ou não. Caso não seguissem, eram realizados testes não-paramétricos. Determinou-se o coeficiente de correlação de Spearman, para a análise da influência da percentagem visível da Lua relativamente ao número de ovos libertados. Este coeficiente é um método estatístico não paramétrico, no qual são medidas as forças de associação entre duas variáveis. Opondo-se ao

² <http://www.statsoft.com/Products/STATISTICA-Features>

coeficiente de Pearson, este método converte os dados em *ranks* antes de calcular o coeficiente (Hauke & Kossowski, 2011). A fórmula para calcular este coeficiente é a seguinte:

$$\rho = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n d_i^2}{n^3 - n}$$

n é o número de pares (x_i, y_i) e $d_i = (\text{postos de } x_i \text{ dentro dos valores de } x) - (\text{postos de } y_i \text{ dentro dos valores de } y)$. O coeficiente ρ de Spearman varia entre -1 e 1 (Bolboaca & Jäntschi, 2006). Recorreu-se a este teste estatístico para se determinar se o número de ovos presentes no T6 estaria associado, ou não, à percentagem visível da Lua. As hipóteses testadas foram:

$$H_0: \rho = 0$$

$$H_1: \rho \neq 0$$

Quanto aos dados relacionados com as condições de produção e a sobrevivência das larvas foi realizado o teste de Mann-Whitney (não paramétrico), visto que os dados não seguiam a distribuição normal. Este modelo estatístico determina se existem diferenças significativas entre dois grupos (independentes) com uma variável ordinal, sem distribuição específica. É, conceptualmente, a versão não paramétrica do teste-t (McKnight & Najab, 2010).

Matematicamente, a estatística de Mann-Whitney é definida por:

$$U = \min\{U_1, U_2\},$$

$$U_1 = n_1 n_2 + \frac{n_1(n_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = n_1 n_2 + \frac{n_2(n_2 + 1)}{2} - R_2$$

U_1 e U_2 são o total de observações das amostras 1 e 2; n_1 e n_2 , o tamanho das amostras 1 e 2; R_1 e R_2 , as somas dos *ranks* das amostras 1 e 2, respetivamente (Yue & Wang, 2002). As hipóteses testadas foram:

$$H_0: \mu_{\text{escuro}} = \mu_{\text{transparente}}$$

$$H_1: \mu_{\text{escuro}} \neq \mu_{\text{transparente}}$$

Relativamente ao gráfico referente ao número de ovos recolhidos em relação à percentagem visível da Lua e ao gráfico do crescimento larvar de *A. aureus*, foram traçadas as linhas de tendência que melhor se ajustaram aos dados obtidos.

3 Resultados

3.1 Influência da percentagem visível da Lua, na recolha dos ovos de peixes do Indo-Pacífico

Foi anotado o número de ovos recolhidos, o dia de recolha e a percentagem visível da Lua, como mostra a **Figura 16**. É possível observar-se um aumento do número de ovos recolhidos quando aumenta a percentagem da área visível da Lua. No entanto, quando a Lua se apresentou 24% visível obteve-se um número elevado (comparando com a amostra anterior e posterior) – três mil e seiscentos ovos. Por outro lado, quando a Lua se apresentou 86% e 97% visível apenas se recolheram quinhentos e dez ovos, respetivamente. O número máximo de ovos recolhidos foi de nove mil e cem, quando a Lua se encontrou 80% visível e o número mínimo foi de zero ovos quando a lua esteve 12% e 15% visível. Ao longo dos três meses de recolha de ovos, é possível observar-se que a partir dos 78% de visibilidade lunar se obtém um elevado número de ovos. Através da linha de tendência traçada a picotado ($y = 3E-06x^6 - 0,001x^5 + 0,110x^4 - 5,727x^3 + 131,96x^2 - 1038,8x + 1599,2$; $R^2 = 0,517$), é possível observarem-se dois picos: quando a Lua está 24% e 80% visível, respetivamente (**Figura 16**). É possível observar-se que alguns pontos (como os picos) ou não são suportados ou são pouco suportados pela linha de tendência polinomial de grau seis.

Estatisticamente, através do coeficiente de correlação de Spearman, obteve-se $\rho \approx 0,552$, $t \approx 2,964$ (vinte graus de liberdade) e um $p\text{-value} \approx 0,008$ (tendo em conta um nível de significância de 0,05), para um $N=22$. É possível constatar que o número de ovos libertados está associado, positivamente, à percentagem visível da Lua, sendo o coeficiente de correlação estatisticamente significativo, pois $0,008 < 0,05$ ($p\text{-value} < 0,05$).

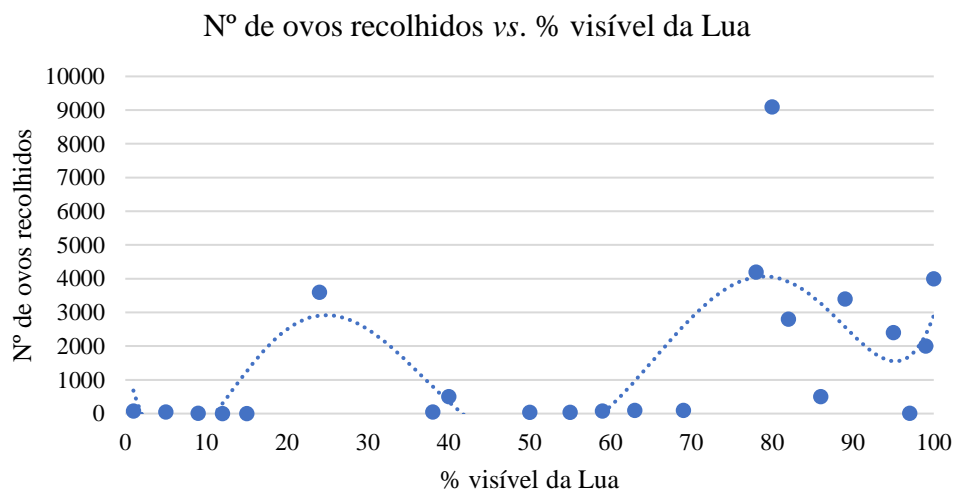


Figura 16. Número de ovos recolhidos no tanque do Indo-Pacífico (T6), tendo em conta a percentagem visível da Lua, durante os meses de abril, maio e junho.

3.2 Condições de produção que favorecem o desenvolvimento larvar

Como as larvas de peixes do Indo-Pacífico (do T6) não sobreviveram mais do que seis dias e não ingeriram a segunda presa, os rotíferos, os dados quanto à dieta não foram considerados. Sendo assim, foram analisados os dias de sobrevivência face a dois fatores: a cor do tanque e as espécies em questão (**Figura 17; Tabela 8**).

Em média, as espécies 2 e 4 apresentaram uma diferença de um dia entre os dois tipos de tanque, sendo o tanque escuro o que apresentou maior sobrevivência larvar na espécie 2 e o tanque transparente, na espécie 4. As restantes espécies apresentaram o mesmo número máximo de dias de sobrevivência para ambos os tanques, cinco dias para a espécie 1, e quatro dias para a espécie 3. De notar que existe um erro padrão maior nos tanques escuros, em todas as espécies.

Quando as amostras têm menos de vinte elementos, o software *STATISTICA* calcula *p-value* de 2-caudas (probabilidade do *U* estatístico), assumindo que não existem empates nos *ranks*. Estatisticamente, e aplicando o teste de Mann-Whitney, obtiveram-se os resultados apresentados na **Tabela 8**. Pode observar-se que, tendo em conta $\alpha = 0,05$, nenhuma das espécies apresentou diferenças estatisticamente significativas, pois *p-value* de 2 caudas $> 0,05$ (**Tabela 8**). Sendo assim, as medianas dos grupos (escuro e transparentes) são consideradas iguais, não se rejeitando a H_0 , significando que não existe uma sobrevivência maior por parte das larvas do Indo-Pacífico, independentemente da cor do tanque, para as 4 espécies.

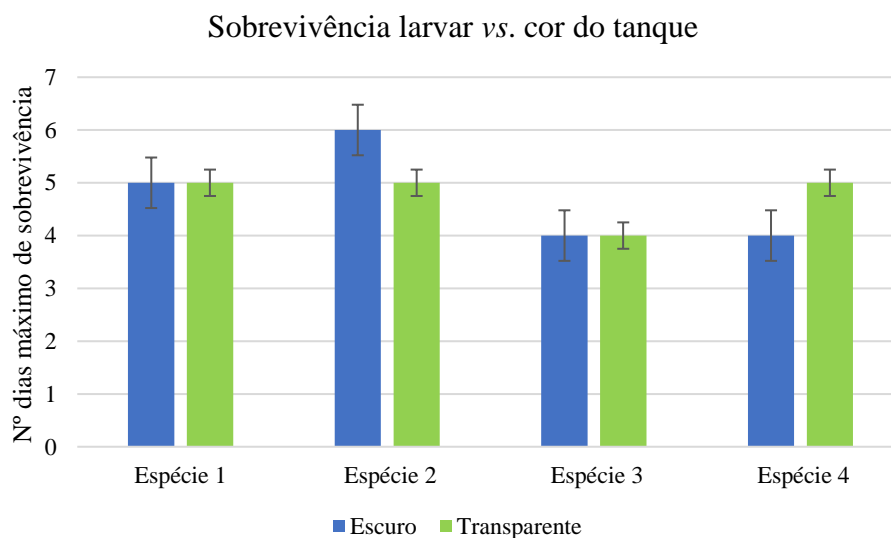


Figura 17. Relação entre o número de dias máximo de sobrevivência das quatro espécies do T6, em relação aos dois tipos de tanque: escuro e transparente. As linhas representam o erro padrão.

Tabela 8. Teste de Mann-Whitney para análise comparativa do número de dias de sobrevivência máximo, nas quatro espécies, entre os tanques escuros e transparentes.

Espécie	Soma ranks escuro	Soma ranks transparente	U	N escuro	N transparente	<i>p-value</i> (2-caudas)
1	79,5	91,5	34,5	9	9	0,605
2	23	32	11	4	6	0,914
3	124,5	106,5	51,5	11	10	0,809
4	16,5	19,5	1,5	5	3	0,071

3.3 Desenvolvimento larvar

3.3.1 Registo do crescimento

3.3.1.1 Larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)

Independentemente da espécie, as larvas produzidas atingiram um máximo de seis dias após a eclosão. Os valores representados na **Figura 18**, são todos os dados obtidos ao longo dos meses de abril, maio e junho.

Relativamente à espécie 1, é possível observar-se um decréscimo do número de dados obtidos, ao longo dos 6 DAE, não havendo nenhum registo do CT aos 5 DAE. De notar que a esta espécie apresentou estar em constante crescimento até aos 5 DAE. Aos 6 DAE, o CT diminui e estagnou, com 2 mm. Relativamente às médias dos dados obtidos, obteve-se o seguinte crescimento, em milímetros: 1,94 – 2,18 – 2,21 – 2,40 – 2, atingindo um pico de crescimento aos 4 DAE. Quanto à dispersão dos valores, em relação à média, o desvio-padrão, foram obtidos os seguintes valores (do 1 DAE até aos 4 DAE), em milímetros: 0,343 – 0,387 – 0,291 – 0,424.

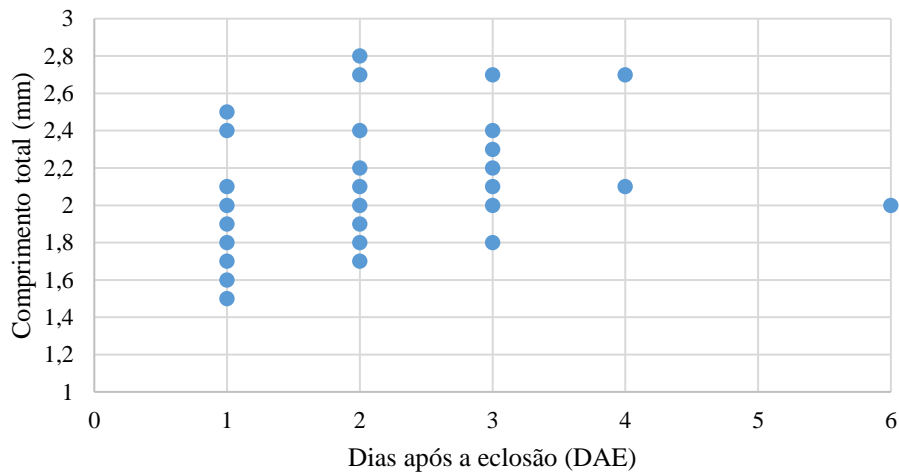
A espécie 2, ao contrário da espécie 1, não demonstrou um crescimento constante, sendo possível observar uma diminuição dos valores do CT do 2º para o 3º DAE. Nesta espécie foi possível registar-se o CT do 1º DAE até ao 6º DAE. Quanto às médias dos valores obtidos, para cada DAE, foram obtidos os seguintes valores, em milímetros: 1,96 – 2,31 – 2,22 – 2,25 – 2,39 – 2,52, atingindo um pico de crescimento aos 6 DAE. Relativamente ao desvio-padrão, obteve-se, em milímetros: 0,385 – 0,241 – 0,192 – 0,302 – 0,254 – 0,192.

A 3ª espécie, tal como a 2ª, apresentou um crescimento inconstante, tendo ocorrido uma diminuição dos valores do CT do 4º DAE para o 5º DAE. É possível observar-se que foram recolhidos menos dados, tanto no 1º DAE, como no 6º DAE. Determinando-se as médias para cada DAE, obteve-se, em milímetros: 1,85 – 1,93 – 1,96 – 2,20 – 2,17 – 2,40. Esta espécie atingiu um pico de crescimento aos 6 DAE. Quanto ao desvio-padrão, obtiveram-se os seguintes valores, em milímetros: 0,071 – 0,208 – 0,299 – 0,330 – 0,153 – 0,141.

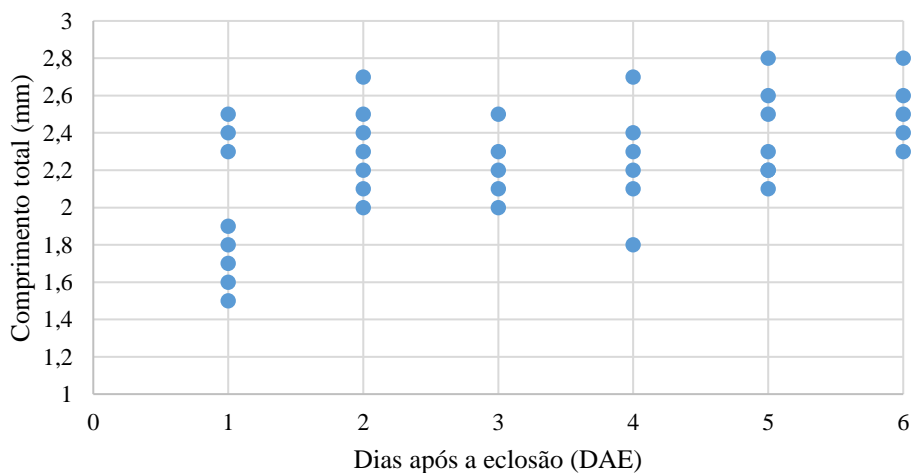
Por fim, a espécie 4, é a que apresenta um menor número de dados registados, apresentando um crescimento exponencial do 1º para o 2º DAE, e diminuindo até aos 5 DAE (número de dias máximo de sobrevivência). Relativamente à média dos dados registados, obteve-se, em milímetros: 2 – 2,55 – 2,73 – 2,60 – 2,50. Esta espécie atingiu um pico de crescimento aos 3 DAE. Quanto à variância dos valores, em relação à média, em milímetros, obteve-se (dos 2 DAE até aos 5 DAE): 0,636 – 0,252 – 0,141 – 0,141.

Considerando as quatro espécies, a espécie 4 foi a que apresentou uma média de CT maior (2,73 mm aos 3 DAE) e o maior valor de desvio-padrão (0,636 mm aos 2 DAE). Relativamente ao número máximo de dias de sobrevivência, todas as espécies atingiram os 6 DAE, exceto a espécie 4, que sobreviveu, no máximo, cinco dias.

Crescimento larvar da espécie 1



Crescimento larvar da espécie 2



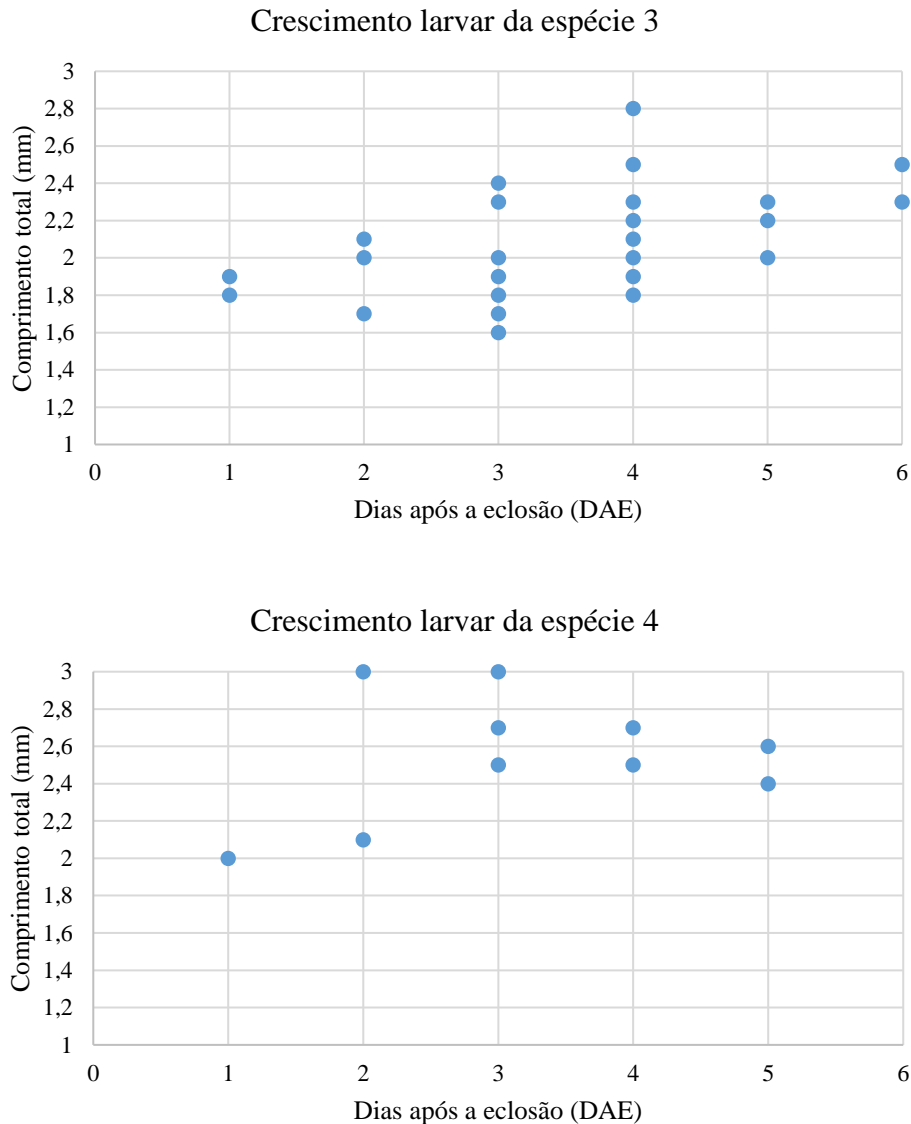


Figura 18. Registo do crescimento larvar (em mm) das quatro espécies de larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6) até aos 6 DAE.

3.3.1.2 Larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6): *A. aureus*

Tal como foi referido, apenas foi realizada uma recolha de ovos ao I6, havendo dois momentos de eclosão de ovos desta espécie. As larvas resultantes do primeiro momento de eclosão foram divididas entre os tanques L4 e L6. O tanque L2 corresponde ao segundo momento de eclosão.

No L4, é possível observarem-se três fases de estagnação quanto ao crescimento: o primeiro ocorreu durante os 3 e 4 DAE (com 4,8 mm), o segundo durante os 5 e 6 DAE (com 5 mm) e o terceiro dos 14 até aos 17 DAE (com 6,8 mm). Foi atingido um grande pico aos 13 DAE com 7,3 mm e um valor máximo do CT aos 20 DAE, com 8,2 mm (**Figura 19**).

O L6 apresentou dois momentos nos quais as larvas exibiram o mesmo CT: dos 2 DAE até aos 5 DAE (4,7 mm) e dos 5 DAE aos 6 DAE (4,9 mm). O tamanho máximo observado foi

de 5,3 mm aos 8 DAE, tendo-se juntado as larvas deste recipiente ao L4 aos 10 DAE (**Figura 19**).

Nos tanques L4 e L6, é possível observar-se que as larvas eclodiram com um CT de 4 mm e que cresceram identicamente até aos 2 DAE (**Figura 19**). Através das linhas de tendência, o tanque L4 apresentou uma taxa de crescimento superior à do L6 ($0,176 > 0,151$), no entanto, os dados do tanque L2 estão mais ajustados à linha de tendência ($0,911 > 0,896$). Observa-se também que no L6 (tanque sem enriquecimento) as larvas, aos 9 DAE, apresentaram uma redução de 10,5% no CT, comparando com o L4, tal como se pode observar pelos pontos (destacados pelo círculo azul) nas respetivas linhas de crescimento (**Figura 19**).

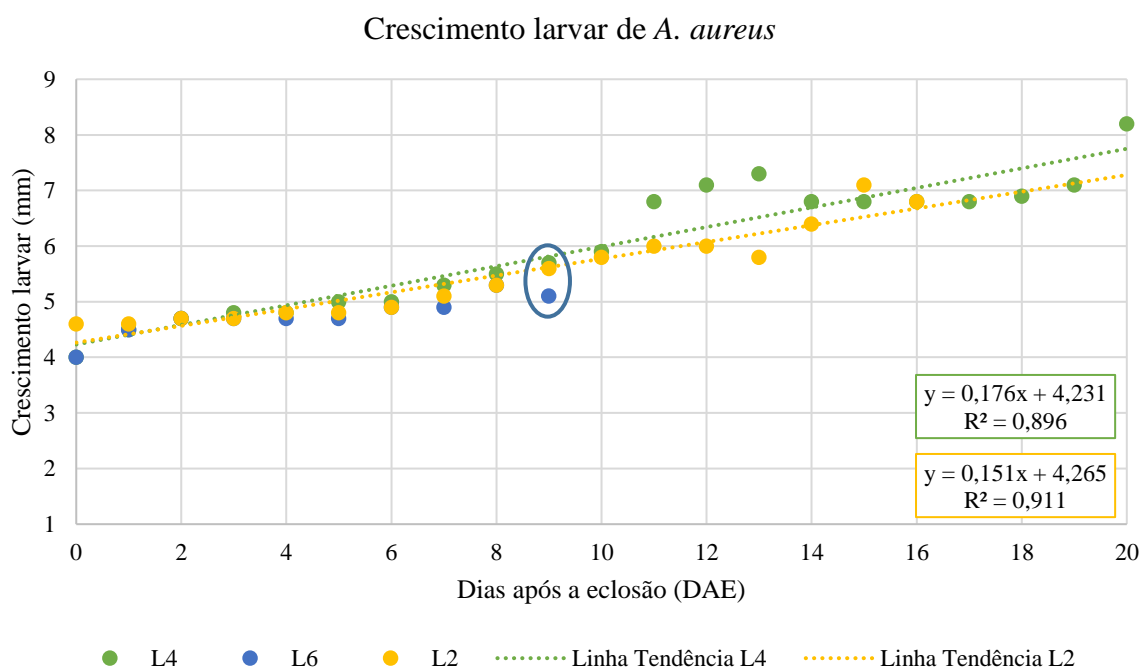


Figura 19. Relação entre o crescimento das larvas do I6 (em mm) até aos 20 DAE, entre os tanques L4, L6 e L2. O círculo azul destaca o DAE em que as larvas do L6 foram transferidas para o L4.

3.3.2 Morfologia larvar

3.3.2.1 Espécies do tanque do Indo-Pacífico (T6)

Entre as 4 espécies recolhidas do T6, as principais características diferenciadoras são o comprimento total e a pigmentação. Todas as espécies apresentaram um saco vitelino com gota lipídica, boca fechada e olhos sem pigmentação, aquando a sua eclosão. Foi também possível observar o coração a bater. Em todas as fotografias, as larvas possuem, ainda, a barbatana primordial.

Espécie 1

Apresenta um CT entre 1,5 e 2,5 mm com 1 DAE e um grande saco vitelino. O intestino apresenta-se enrolado. Quanto à pigmentação, esta espécie possui pontos bem distintos, como

na **Figura 20**. É possível observar-se uma evidente redução do saco vitelino do 1º para o 2º DAE. A pigmentação dos olhos (que são redondos) e abertura da boca ocorre ao 3º DAE.

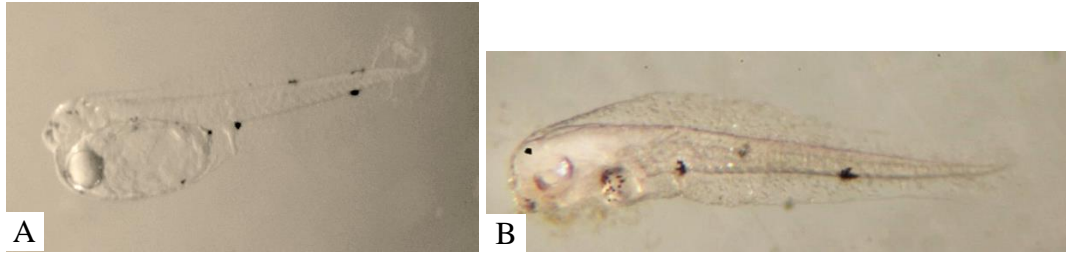


Figura 20. Larvas da espécie 1 com 1 DAE (A) e 3 DAE (B). A larva da figura 18.B. está morta.

Espécie 2

Esta espécie apresenta desde o 1º DAE pigmentação esverdeada com pontos escuros ao longo do corpo. Eclode com um CT entre 1,5 e 2,5 mm. O intestino ocupa mais de 50% do comprimento padrão (comprimento desde a ponta do focinho até ao extremo do pedúnculo caudal) da larva. A pigmentação dos olhos (que são redondos), pode ocorrer logo ao 2º DAE, sendo mais frequente ao 3º DAE, tal como a formação total das barbatanas peitorais e a abertura da boca. A total absorção do saco vitelino ocorre ao 4º DAE (**Figura 21**).

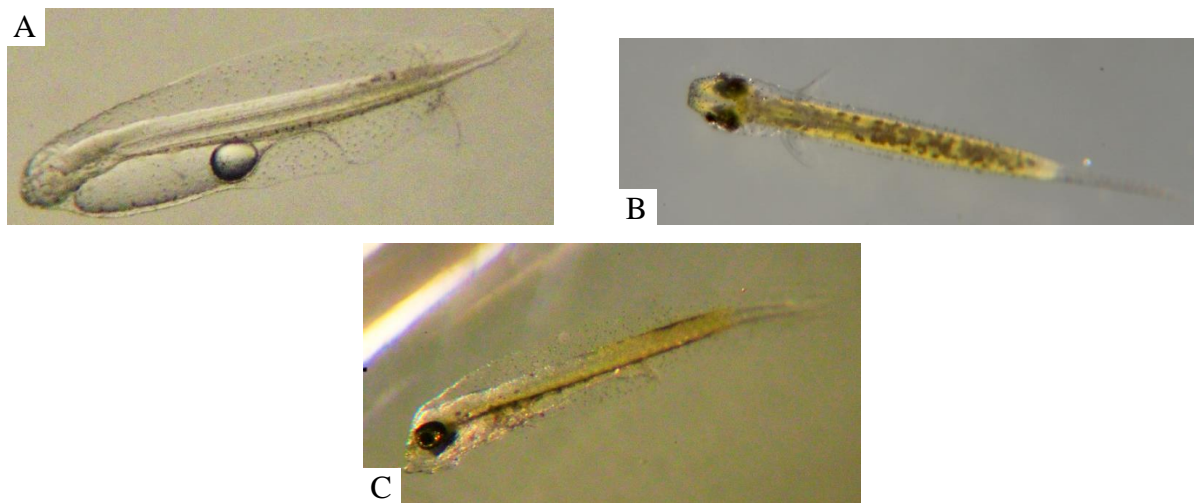


Figura 21. Larvas da espécie 2 com 1 DAE (A), 3 DAE (B), 5 DAE (C).

Espécie 3

Esta espécie apresenta desde a sua eclosão, como pigmentação, uma mancha na zona posterior do tronco e na zona dorsal do intestino (**Figura 22.A**). Eclode com um CT de 1,9 mm. Inicialmente o intestino apresenta-se esticado, começando a enrolar-se ao longo do desenvolvimento da larva. A partir do 3º DAE apresenta pigmentação nos olhos (que são ovóides), barbatanas peitorais desenvolvidas e ocorre a abertura da boca (**Figura 22.A**).



Figura 22. Larvas da espécie 3 com 4 DAE (A) e 5 DAE (B).

Espécie 4

Esta espécie apresenta desde a sua eclosão uma pigmentação caracterizada por uma linha de pontos na zona ventral do seu corpo. Eclode com um CT de 2 mm. A partir do 3º DAE apresenta pigmentação nos olhos (que são redondos), barbatanas peitorais desenvolvidas e ocorre a abertura da boca. Quanto ao intestino este apresenta-se enrolado (**Figura 23**).



Figura 23. Larva da espécie 4 com 3 DAE.

3.3.2.2 Espécie das larvas das galerias do Indo-Pacífico (I6): *A. aureus*

Esta espécie corresponde aos ovos que foram recolhidos do I6, através da colocação de um tubo. As larvas eclodiram com um CT entre os 4 e 4,6 mm, com olhos redondos e pigmentados e a boca praticamente formada, visto que em menos de vinte e quatro horas estas já apresentavam a boca aberta. Possuem uma ligeira pigmentação amarela por cima do saco vitelino. O saco vitelino e a cabeça (zona dorsal) possuem pontos pretos como pigmentação (**Figura 24.A**). O intestino é triangular e enrolado. Aos 3 DAE, as barbatanas peitorais já se encontravam completamente desenvolvidas e o saco vitelino bastante reduzido (**Figura 24.C**). Ao longo do desenvolvimento desta espécie de peixe do Indo-Pacífico, foi possível observar o desenvolvimento da pigmentação amarela, começando da zona anterior em direção à zona posterior do corpo da larva (**Figura 24.D**).

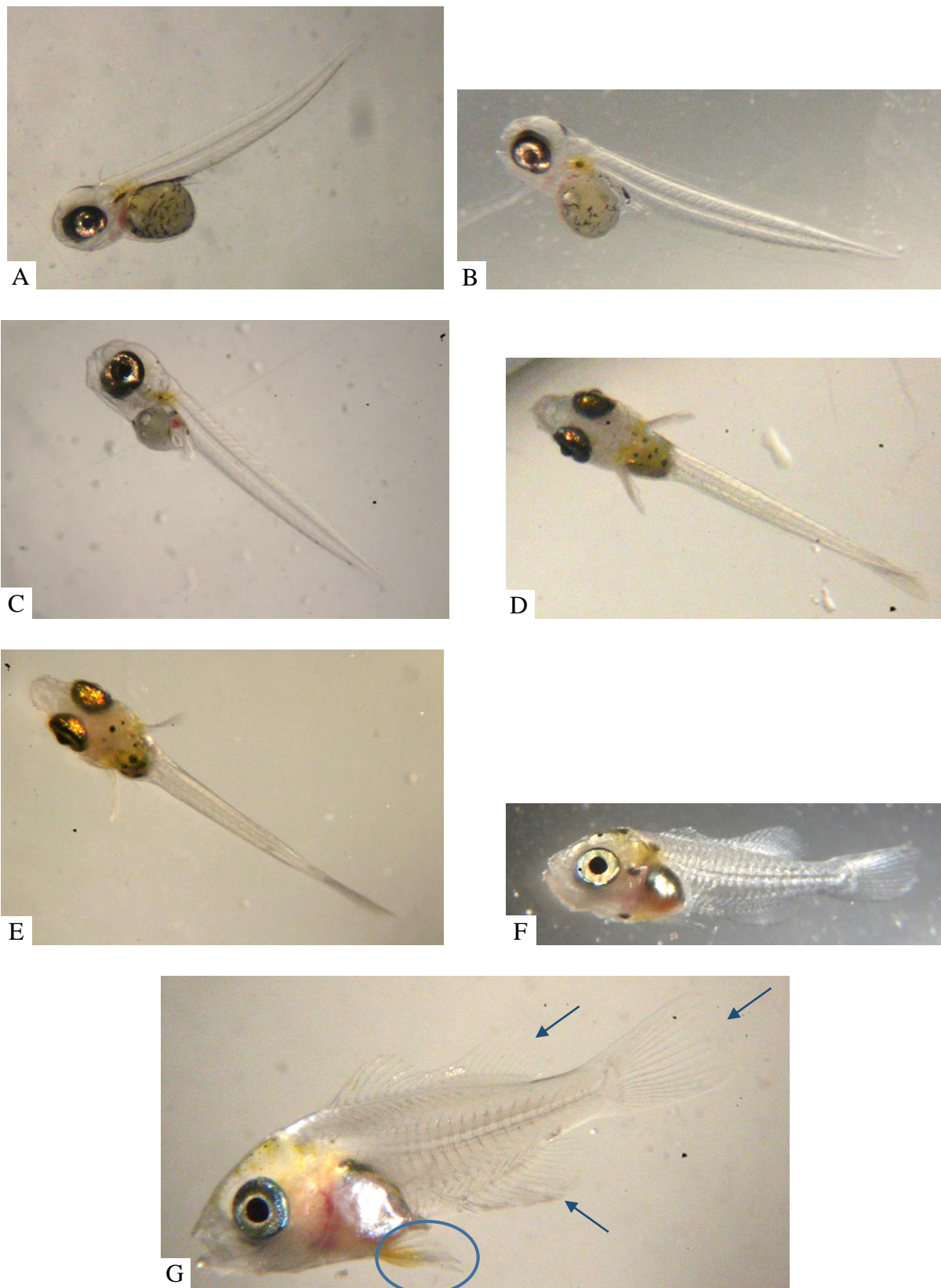


Figura 24. Larvas de *A. aureus* com 0 DAE (A), 1 DAE (B), 2 DAE (C), 7 DAE (D), 11 DAE (E), 17 DAE (F), 20 DAE (G). As setas indicam a barbatana dorsal, caudal e anal. O círculo azul destaca as barbatanas pélvicas com pigmentação.

3.3.1 Famílias excluídas

Tendo em conta a lista de espécies presentes no T6 (**Anexos**, secção 7.6) e nas características das espécies das respetivas famílias presentes (**Anexos**, secção 7.8), é possível excluir certas famílias, tendo em conta o tipo e tamanho do ovo, tamanho das larvas ao eclodir e características destacantes das mesmas. Sendo assim foram excluídas as seguintes famílias: Dasyatidae, Stegostomatidae, Holocentridae, Acanthuridae, Chaetodontidae, Ephippidae, Pomacanthidae, Pomacentridae, (sub-família) Toxotidae, Balistidae, Diodontidae, Tetraodontidae.

3.4 Identificação das larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)

Tendo em conta as famílias excluídas, os ovos e respetivas larvas capturados no T6, podem (teoricamente) pertencer às seguintes famílias: Labridae, Nemipteridae, Scatophagidae, (sub-família) Anthiinae e Siganidae.

Segundo as características descritas na secção 3.3.2, a espécie 1 e 3 pertencem à família Labridae, a espécie 2 pertence ao género *Bodianus* e a espécie 4 corresponde à espécie *Scolopsis bilineata*.

4 Discussão

4.1 Influência da fase lunar na recolha dos ovos de peixes do Indo-Pacífico

A ligação entre a reprodução, a periodicidade lunar e o acompanhamento das marés é uma adaptação reconhecida nos ciclos de vida de muitos organismos marinhos e estuarinos (Taylor, 1984). Johannes (1978), numa revisão de mecanismos de reprodução de peixes tropicais marinhos, formou uma lista de cinquenta e uma espécies de teleósteos com ciclos de desova lunares ou semilunares. Destas cinquenta e uma espécies, quarenta e cinco eram tropicais. Seguindo a mesma lista, as famílias tropicais em que é mais provável ocorrer sincronização lunar são a Serranidae, Carangidae, Lutjanidae, Pomacentridae, Acanthuridae e a Siganidae (Taylor, 1984).

A maioria dos peixes com ciclos de desova sincronizados com o ciclo lunar, têm picos de períodos de atividade reprodutora perto da lua cheia, lua nova, ou nas duas fases (Johannes, 1978).

Nalgumas espécies, como os pomacentrídeos que constroem ninhos, uma variável importante, quanto à sincronização com o ciclo lunar, é a luz emitida pela Lua, que contribui para a eficácia do controlo parental e para facilitar a evasão das larvas e adultos dos predadores (Moyer, 1975). O pico de desova de algumas espécies precede a Lua cheia, por alguns dias ou até uma semana, para que a eclosão das larvas ocorra quando a luz refletida pela Lua é máxima (Lobel, 1978; Pressley, 1980). Muitas espécies marinhas aparentam responder diretamente às mudanças das marés. No entanto, outras espécies que são mantidas em aquários (onde o nível da água é constante), demonstraram também uma sincronização, indicando que estes organismos seguem o ciclo lunar (Schwanck, 1987).

Sendo assim, os resultados obtidos, vão ao encontro da literatura, mostrando que existe uma correlação (fraca) entre o número de ovos libertados e a fase lunar. O fato de o teto do T6, no Oceanário de Lisboa, ser envidraçado permite que muitas espécies nele presentes sincronizem com a periodicidade lunar, visto que o fator “marés” não existe. A desova é estimulada pela variação de fatores do ambiente em que se inserem, como a temperatura, fotoperíodo, salinidade, volume e profundidade do tanque, vegetação do substrato, etc.. (Zohar & Mylonas, 2001). Neste caso, em que as condições da água e do tanque são constantemente monitorizadas, eventos como encobrimento da luz pelas nuvens (Takemura *et al.*, 2004) e a limpeza das paredes, corais e fundos do tanque poderão influenciar a reprodução destas espécies, e justificar os valores obtidos (e não esperados) quando a Lua se apresentou 24%, 86% e 97% visível. É importante destacar que estes dados são de apenas três meses: abril, maio e junho. Devido à flutuação dos valores (com picos e vales), foi traçada uma linha de tendência

polinomial de grau seis (Rossato, 2011). Apesar de ser a linha de tendência que melhor se ajusta aos dados obtidos, representa apenas 51,69% da sua variabilidade. No entanto, é possível observarem-se dois picos, correspondendo o pico maior aos 80% de visibilidade lunar, ou seja, a poucos dias da Lua cheia. Para além disso, estes dados referem-se a várias espécies, podendo estes três meses incluir, ou não, as épocas de maior desova de certas espécies, influenciando os resultados.

4.2 Condições de produção que favorecem o desenvolvimento larvar

Vários são os fatores que poderão interferir no crescimento larvar, levando a uma heterogeneidade no crescimento: fatores não-interativos (temperatura, intensidade da luz, disponibilidade de alimento) e fatores interativos (densidade larvar e tempo de eclosão) (Houde, 1989; Kestemont *et al*, 2003; Meekan *et al*, 2003).

Quanto às larvas de peixes do Indo-Pacífico do T6, não se obtiveram os resultados esperados, como uma diferença significativa, quanto ao crescimento larvar, entre as duas cores de tanque (escuro e transparente). Existem dois grandes fatores que podem afetar os resultados estatísticos obtidos. O primeiro é o fato de o número de réplicas entre os tanques escuros e tanques transparentes (entre espécies), não ser igual. Realizaram-se mais réplicas nos tanques transparentes, tornando o erro padrão dos tanques escuros maior. O segundo grande fator reside no fato de as larvas não se terem desenvolvido o suficiente para se poderem demonstrar diferenças significativas, quanto ao seu desenvolvimento, nos dois tipos de tanques, pois sobreviveram, no máximo, seis dias após a sua eclosão. Vários estudos foram realizados, quanto à influência da cor dos tanques, com o intuito de se descobrir como obter melhores resultados na produção larvar: Tamazouzt *et al* (2000) e Pedreira & Sipaúba-Tavares (2001) obtiveram melhores resultados em tanques mais claros, com a perca *Perca fluviatilis* e com o tambaqui *Collossoma macropomum*, respetivamente; já Martin-Robichaud & Peterson (1998) obtiveram melhores resultados em tanques escuros, com o robalo *Morone saxatilis*.

O fotoperíodo é outro grande fator que, dependendo do número de horas de luz/escuridão, pode promover ou inibir o desenvolvimento larvar (Appelbaum & McGeer, 1998; Downing & Litvak, 2000; Fielder *et al*, 2002; Hart *et al*, 1996). Neste caso, não se poderá saber se o fotoperíodo utilizado poderá ter influenciado, negativamente, o desenvolvimento larvar, visto que é um fator específico à(s) espécie(s) em questão.

O fato de as larvas de peixes do Indo-Pacífico terem apresentado um número reduzido de dias máximo de sobrevivência pode estar relacionado com o fato de serem larvas que eclodem com um tamanho reduzido. Larvas que nasçam com um tamanho superior têm tendência a apresentar uma taxa de sobrevivência superior, devido ao fato de estas possuírem

uma melhor capacidade natatória e pelo fato de possuírem uma fase larvar mais reduzida (Garrido *et al*, 2015). A mortalidade larvar também se encontra associada a condições ambientais adversas (que não é o caso), à incapacidade de as larvas se alimentarem e à vulnerabilidade perante predadores (também não se aplica neste caso) (Garrido *et al*, 2015). Garrido *et al* (2015) revela que peixes marinhos com alta taxa de fecundidade, como os pequenos peixes pelágicos, podem libertar um grande número de ovos, resultando num grande número de pequenas larvas, que não terão hipótese de sobreviver. Perante estas características, a alimentação poderá ter sido outro fator que terá promovido a grande mortalidade larvar registada neste trabalho.

Relativamente à alimentação, pretendeu-se testar 3 dietas, no entanto, devido ao lento desenvolvimento larvar e à falta de interesse pelos rotíferos, tornou-se impossível realizar este teste alimentar. Tal como Olivotto *et al* (2011) elucida, para algumas larvas pequenas, presas como *Brachionus* spp. e *Artemia* spp. tornam-se demasiado grandes, não possuem um padrão de locomoção que promova a atividade predatória e não apresentam um perfil de ácidos gordos que corresponda aos requerimentos nutricionais das larvas de peixes marinhos. Talvez por a alimentação não corresponder às necessidades iniciais das larvas, as espécies 4 e 1 apresentaram uma redução ou estagnação do seu CT a partir dos 3/4 DAE e as restantes morreram abruptamente. Visto que a questão da alimentação tem sido uma constante preocupação e um dos principais impedimentos quanto à produção larvar (Dabrowski & Bardega, 1984), vários estudos foram realizados em várias espécies, permitindo determinar preferências alimentares e necessidades nutricionais (Checkley Jr., 1982; Izquierdo, 1996; Nandini & Sarma, 2000; Østergaard *et al*, 2005; Sampey *et al*, 2007). Olivotto *et al* (2011) refere um estudo no qual, para larvas de *Pomacanthus semicirculatus*, a dieta que resultou numa maior sobrevivência consistiu em 30% de *Gonyaulax* sp. (dinoflagelado), com 35% de *Nannochloropsis* sp. e com 35% de *Brachionus rotundiformis*. Alguns estudos apresentam melhorias, quanto ao número de dias de sobrevivência, utilizando como presa, copépodes (Cunha *et al*, 2009; Garrido, *et al*, 2015; Silvia *et al*, 2014; Wilcox *et al*, 2006). Mais uma vez, o fato de neste projeto se terem produzido larvas de espécies desconhecidas, levou a uma dieta generalizada, que não correspondeu a requisitos (alimentares) específicos de cada espécie, levando à morte das larvas.

Outro possível constrangimento é o fato de as larvas terem sido cultivadas em volumes reduzidos (10 L nas larvas do T6), para permitir um maior número de réplicas, no entanto, o volume do tanque é um fator importante que condiciona o desenvolvimento destes organismos (Olivotto *et al*, 2011). Lafontaine e Leggett (1987) afirmam que experiências desenvolvidas em recipientes com pouco volume aumentam consideravelmente as taxas de mortalidade larvar,

interferindo na capacidade predatória, como ocorreu com o capelím *Mallotus villosus* em relação à medusa *Aurelia aurita*, onde 80% da variabilidade da taxa de mortalidade foi explicada pelo volume do tanque de cultivo. O volume reduzido dos tanques pode também levar a variações dos parâmetros físico-químicos da água, e conseqüentemente, à mortalidade das larvas, pois estas são extremamente sensíveis durante a fase inicial do seu desenvolvimento (a variações físico-químicas e a variações ambientais), sendo necessária uma mimetização das condições de “oceano aberto”, onde existem poucos predadores e abundância de alimento (Holt, 2003; Olivotto *et al*, 2011). Sendo assim, são utilizados, maioritariamente, tanques com um volume entre os 20 e os 50 L, para a produção de larvar de peixes marinhos (Olivotto *et al*, 2003; Olivotto *et al*, 2011).

Visto que as larvas foram produzidas em sistemas fechados, e que foram realizadas trocas de água de apenas 30%, facilmente ocorreram ligeiras oscilações destes parâmetros, podendo ter levado à total mortalidade, aos 6 DAE. Para evitar estas variações, Holt (2003) utilizou um “cesto” com malhagem suficiente para reter as larvas e as presas. Este “cesto” é colocado num tanque grande (300-500 L), conectado a um filtro externo. Através deste método, o arejamento e o aquecimento da água é realizado no tanque grande, sendo a água lentamente renovada no “cesto” (Holt, 2003). Infelizmente, foi impossível colocar em prática esta técnica, pois o “cesto” teria que ser colocado nos tanques onde se encontram os peixes adultos, e que por sua vez, são os tanques que fazem parte da exposição do Oceanário de Lisboa.

Relativamente às larvas do I6 (*Amblyglyphidodon aureus*), notou-se uma maior facilidade no seu cultivo, visto estas eclodirem com um CT entre 4 e 4,6 mm. Sabendo *a priori* a espécie, foi criada uma dieta adequada às necessidades da mesma. Deste modo, esta espécie foi analisada até aos 20 DAE (momento em que este projeto terminou), ficando posteriormente à responsabilidade dos colaboradores do Oceanário de Lisboa. Visto que esta espécie foi cultivada nas mesmas condições que as larvas do T6 (exceto o volume dos tanques que foi de 12 L), que sobreviveu e se desenvolveu corretamente, é possível afirmar que se trata de uma espécie mais resistente a variações do seu meio envolvente, possivelmente pelo seu tamanho desde a eclosão. Por outro lado, o fato de ser originária de ovos bentónicos permite que as larvas nasçam mais desenvolvidas, com uma fase larvar mais curta, comparativamente às larvas de ovos pelágicos (Chambers & Trippel, 2012). Até aos 20 DAE, a espécie atingiu a fase da pós-flexão, fase esta compreendida entre o surgimento da barbatana pélvica até ao aparecimento das barbatanas e o surgimento das escamas (Kendall *et al*, 1984; Silva-Falcão, 2007), o que vai ao encontro da literatura que determinou uma fase larvar plantónica de dezasseis dias para esta espécie (Wellington & Victor, 1989). Infelizmente, não foi possível determinar o momento da

flexão, pois foram recolhidos poucos indivíduos, impossibilitando a eutanásia de algumas larvas para se analisar um desenvolvimento mais pormenorizado.

Por fim, relativamente à alimentação, a redução no desenvolvimento das larvas do L6 (cerca de 10,5%), comparando com as larvas do L4, foi resultado de uma dieta pouco nutritiva, pois apenas as larvas do L4 foram alimentadas com organismos enriquecidos. Vários estudos apontam precisamente para a importância do enriquecimento das presas, enriquecimento esse que resulta numa maior taxa de sobrevivência, numa maior taxa de crescimento e na diminuição do número de indivíduos com problemas de pigmentação (Avella *et al*, 2007; Olivotto *et al*, 2006).

4.3 Identificação das larvas do tanque do Indo-Pacífico (T6)

Infelizmente, é de extrema dificuldade a identificação das larvas quanto à espécie, visto que sobreviveram, no máximo, seis dias, impedindo que se desenvolvessem características cruciais à identificação como os raios das barbatanas, desenvolvimento do intestino, etc. O registo fotográfico nem sempre foi possível, devido à atividade da larva e não permitiu a observação das suas características principais, devido ao reduzido tamanho das mesmas.

Quanto à espécie 1 (**Figura 20**), esta pertence à família Labridae. Respetivamente à pigmentação, os peixes desta família possuem, na fase da pré-flexão, pigmentação em duas ou três das seguintes localizações: acima da papila genital, dorsal ou ventralmente na zona central da cauda, ao longo dos mioseptos da cauda, na zona dorsal do intestino, no cérebro, na mandíbula inferior, ou em elementos das barbatanas anais/dorsais. Uma das características destacantes desta espécie é a presença de cerca de três pontos, tal como na **Figura 25**, que corresponde a um labrídeo da sub-família Julidinae. No entanto, todas as sub-famílias, exceto a Hypsigernyini (que é caracterizada por, normalmente, possuir uma pigmentação mais marcada), pode apresentar pigmentação nalgumas localizações acima mencionadas. Posto isto, a espécie 1 pode corresponder às seguintes espécies: *Cheilinus undulatus* (sub-família Cheilinae), *Coris formosa*, *Coris gaimard*, *Thalassoma lutescens* (sub-família Julidinae) e *Labroides dimidiatus* (sub-família Labrichthyinae) (**Figura 26**) (Leis & Carson-Ewart, 2004).

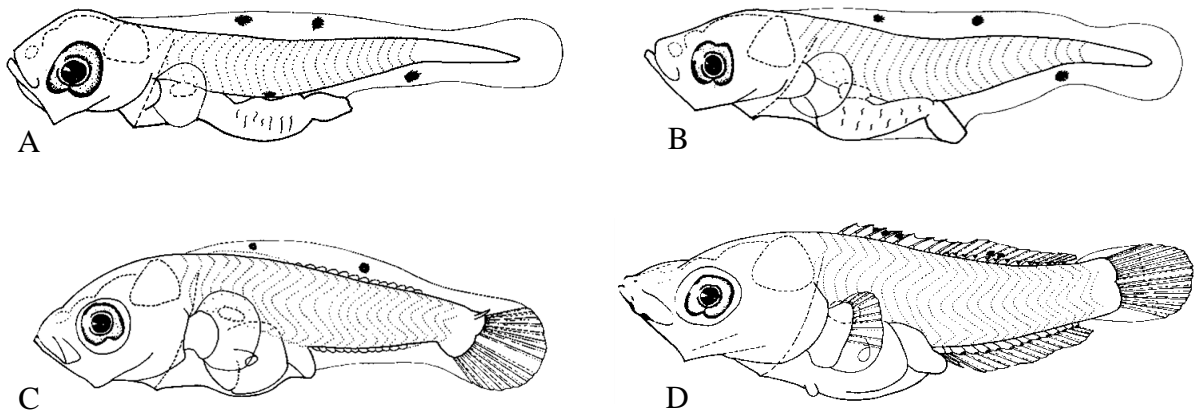
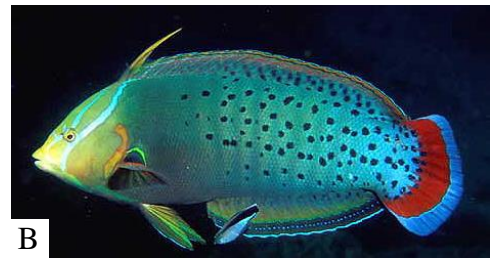


Figura 25. Larva de um labrídeo da sub-família Julidinae. **A.** 1,8 mm; **B.** 2,7 mm (intestino começa a enrolar); **C.** 3,9 mm; **D.** 5,1 mm.



A



B



C



D



E

Figura 26. **A.** *Cheilinus undulatus*. Imagem adaptada de: <https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/napoleao>; **B.** *Coris formosa*. Imagem adaptada de: <http://www.fishbase.org/photos/PicturesSummary.php?ID=7736&what=species>; **C.** *Coris gaimard*. Imagem adaptada de: <http://www.ryanphotographic.com/labridae.htm>; **D.** *Thalassoma lutescens*. Imagem adaptada de: <https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/bodiao-amarelo-castanho>; **E.** *Labroides dimidiatus*. Imagem adaptada de: <https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/bodiao-limpador>.

Observando a espécie 2, é de destacar uma pigmentação mais carregada e notória, quando comparada com as restantes três espécies recolhidas do T6. Como se pode observar na **Figura 21**, a larva eclode com o intestino esticado, ultrapassando o ponto médio do corpo (**Figura 21.D**). Tendo em conta estas duas características, esta espécie pertence à família Labridae, mais especificamente à sub-família Hypsigenyini, caracterizada por larvas altamente pigmentadas. Nesta família, o intestino pode ocupar (inicialmente) até 81% do comprimento padrão, sendo o mais comum 67%, antes de sofrer o enrolamento (Leis & Carson-Ewart, 2004). Sendo assim, a espécie 2 pode ser *Bodianus mesothorax* ou *Bodianus opercularis* (**Figura 27**).

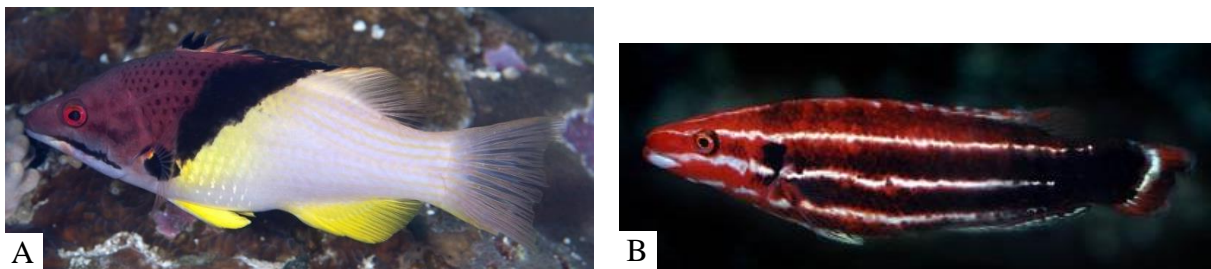


Figura 27. A. *Bodianus mesothorax*. Imagem adaptada de: <https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/bodiao-bicolor>; B. *Bodianus opercularis*. Imagem adaptada de: <https://reefapp.net/en/lex/details/bodianus-opercularis>.

Quanto à espécie 3, esta apresenta um intestino que se vai enrolando ao longo do desenvolvimento da larva, como se pode ver pela **Figura 22**. Quanto à pigmentação, ocorre na zona posterior do tronco, na zona dorsal do intestino e no cérebro. Esta espécie possui olhos com forma oval, sendo o maior eixo na diagonal e não apresenta espinhos. Tendo em conta estas características, esta espécie pertence à família Labridae, podendo ser de qualquer sub-família exceto a Hypsigenyini (as larvas são altamente pigmentadas). Tal como a espécie 1, esta espécie pode ser: *Cheilinus undulatus* (sub-família Cheilinae), *Coris formosa*, *Coris gaimard*, *Thalassoma lutescens* (sub-família Julidinae) e *Labroides dimidiatus* (sub-família Labrichthyinae) (**Figura 26**) (Leis & Carson-Ewart, 2004).

Finalmente a espécie 4, quanto à pigmentação, é possível encontrarem-se pequenos melanóforos ao longo da zona ventral da cauda e no intestino, que é enrolado. Sendo assim, é possível determinar que esta pertence à família Nemipteridae (**Figura 28**), mais especificamente à espécie *Scolopsis bilineata* (visto ser a única presente no T6, desta família) (**Figura 29**). A pigmentação geralmente também ocorre na superfície dorsal da bexiga gasosa e ventralmente, no intestino (como é possível observar-se na **Figura 23**). O tamanho da cabeça vai de moderado a grande, com um focinho acentuadamente inclinado, curto e arredondado (Leis & Carson-Ewart, 2004).

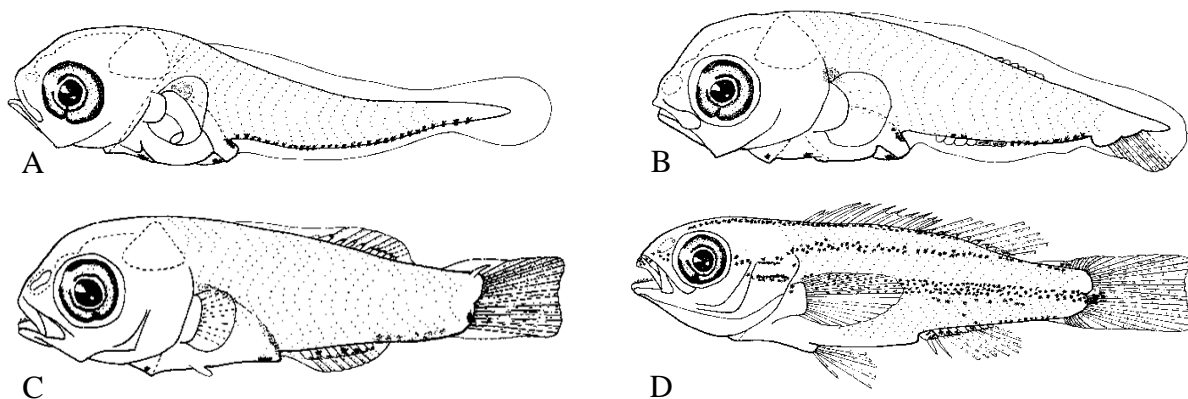


Figura 28. Desenvolvimento larvar de um nemipterídeo. **A.** 3 mm; **B.** 4,1 mm; **C.** 5,1 mm; **D.** 11,5 mm.



Figura 29. *Scolopsis bilineata* (Imagem adaptada de: <https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/pargo-de-duas-linhas>).

4.4 Caracterização de *A. aureus*

Amblyglyphidodon aureus ou Donzela-dourada (**Figura 30**) pertence à família Pomacentridae e à sub-família Pomacentrinae e atinge um máximo de 13 cm, quanto ao comprimento total (Bray, 2017). A descrição geral desta família encontra-se nos **Anexos** (secção 7.8). Quanto à pigmentação, e antes de ocorrer a flexão, estas larvas possuem melanóforos que ocorrem geralmente no cérebro, por cima do intestino, na zona ventral e lateral da cauda. Muitas espécies, como é o caso desta, tornam-se abruptamente pigmentadas durante a flexão (**Figura 31**). O género *Amblyglyphidodon* possui na barbatana dorsal treze raios espinhosos e onze a catorze raios moles (XIII, 11-14), na barbatana anal dois raios espinhosos e doze a quinze raios moles (II, 12-15), nas peitoriais quinze a dezoito raios moles, e finalmente, nas barbatanas pélvicas um raio espinhoso e cinco raios moles (I, 5). Através do registo fotográfico (**Figura 24**) é possível perceber que esta espécie possui as seguintes características: barbatana dorsal (XIII, 13), barbatana anal (II, 13), barbatanas peitorais (não foi possível contar) e barbatanas pélvicas (I, 5) (Leis & Carson-Ewart, 2004).



Figura 30. *Amblyglyphidodon aureus*. Imagem adaptada de: <https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente/peixes/donzela-dourada>.

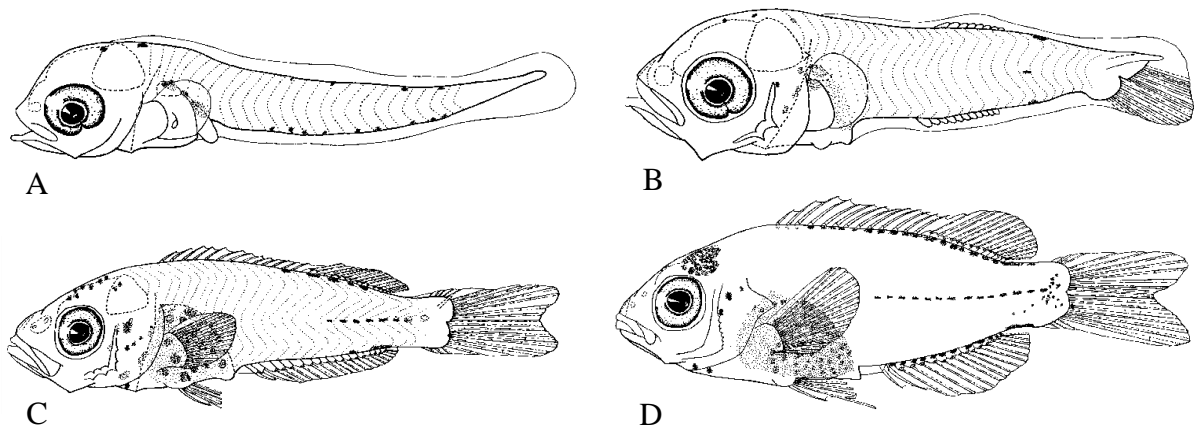


Figura 31. Desenvolvimento larvar de um pomacentrídeo, da sub-família Pomacentrinae. **A.** 3,1 mm; **B.** 4,3 mm; **C.** 8,7 mm; **D.** 11,5 mm. Imagem adaptada de Leis & Carson-Ewart (2004).

5 Considerações finais

Após a realização deste projeto ficaram várias questões por responder, como a preferência alimentar, características de tanques que promovam um melhor desenvolvimento larvar, determinação da espécie das larvas capturadas, densidades larvares iniciais ideais e quais as fases lunares ótimas para a captura de ovos de uma determinada espécie, por exemplo.

Para se obterem melhores resultados, no futuro, dever-se-ão realizar análises quanto ao conteúdo estomacal, através de corantes vitais (Dressel *et al*, 1972), corantes alimentares (Cameron, 2002; Rocha, 2015), observação direta dos estômagos dos peixes (Garrison & Link, 2000) ou através da visualização de microesferas fluorescentes (Rising Tide Conservation); quanto ao seu desenvolvimento ontogenético, através da coloração das estruturas cartilagíneas e ossificadas (Dingerkus & Uhler, 1977; Gavaia *et al*, 2000).

Quanto à alimentação seria benéfico testar outro tipo de organismos, como os copépodes, para a passagem entre o 1º e o 2º alimento, utilizados neste projeto. É de extrema importância possuir uma vasta base de dados, sugerindo uma recolha de dados com duração de um ano, permitindo obter registos fotográficos de um maior número de espécies e das várias fases larvares das mesmas. Para completar e garantir uma identificação quanto à espécie (correta e segura), seria interessante recorrer a técnicas de determinação genética das larvas recolhidas.

Por fim, para se determinar a variação da resposta dos peixes do Indo-Pacífico, quanto à reprodução face ao ciclo lunar, dever-se-ia recolher dados durante pelo menos um ano.

O sucesso do cultivo e desenvolvimento de animais marinhos a partir da forma de ovo e/ou larva é uma meta difícil de se atingir, tendo em conta as fragilidades e requisitos específicos que estas espécies tropicais apresentam. No entanto, perante o número de instituições e de investigadores que se encontram, diariamente, a atingir resultados e respostas, esta será uma meta que poderá ser atingida num futuro próximo.

6 Referências

- Aboussouan, A. & Leis, J. M. (1984). Balistoidei: development. Em: Moser, H.G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W. & Richardson, S. L., Ontogeny and Systematics of Fishes. *American Society for Ichthyology and Herpetology*. Special Publications, 1, 450 - 458.
- Aburto-Oropeza, O., Sala, E., & Sánchez-Ortiz, C. (2000). Feeding behavior, habitat use, and abundance of the angelfish *Holocanthus passer* (Pomacanthidae) in the southern Sea of Cortés. *Environmental Biology of Fishes*, 57(4), 435-442.
- Alfaro, M. E., Santini, F., & Brock, C. D. (2007). Do reefs drive diversification in marine teleosts? Evidence from the pufferfish and their allies (Order Tetraodontiformes). *Evolution*, 61(9), 2104-2126.
- Almansa, E., Pérez, M. J., Cejas, J. R., Badía, P., Villamandos, J. E., & Lorenzo, A. (1999). Influence of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) dietary fatty acids on egg quality and egg fatty acid composition throughout the spawning season. *Aquaculture*, 170(3), 323-336.
- Anónimo. (1998). Haribon Netsman Program. *Secretariat of the Pacific Community Live Reef Fish Information Bulletin*, 4, 7-12.
- Appelbaum, S., & McGeer, J. C. (1998). Effect of diet and light regime on growth and survival of African catfish (*Clarias gariepinus*) larvae and early juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 4(3), 157-164.
- Avella, M. A., Olivotto, I., Gioacchini, G., Maradonna, F., & Carnevali, O. (2007). The role of fatty acids enrichments in the larviculture of false percula clownfish *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture*, 273(1), 87-95.
- Bailly, N. (2015). Nemipteridae Regan, 1913. Em: Froese, R. & D. Pauly. Editors. (2017). FishBase. Acedido no dia 26/07/2017: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=151459>.
- Bailly, N. (2017). Tetraodontiformes. Em: Froese, R. and D. Pauly. Editors. (2017). FishBase. Acedido no dia 24/07/2017: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=10332>.
- Baldwin, C. C. (1990). Morphology of the larvae of American Anthiinae (Teleostei: Serranidae), with comments on relationships within the subfamily. *Copeia*, 4, 913-955.
- Barber, C. V., & Pratt, V. R. (1997). Policy reform and community-based programmes to combat cyanide fishing in Philippines. *SPC Live Reef Fish Information Bulletin*, 8, 26-35.
- Barlow, S. B., & Kugrens, P. (2002). Cryptomonads from the Salton Sea, California. *Hydrobiologia*, 473(1), 129-137.
- Barry, T. P., & Fast, A. W. (1992). Biology of the spotted scat (*Scatophagus argus*) in the Philippines. *Asian fisheries science*, 5, 163-179.
- Batty, R. S., & Blaxter, J. H. S. (1992). The effect of temperature on the burst swimming performance of fish larvae. *Journal of Experimental Biology*, 170(1), 187-201.
- Baumgartner, G., Nakatani, K., Cavicchioli, M., & Baumgartner, M. D. S. T. (1997). Some aspects of the ecology of fish larvae in the floodplain of the high Paraná river, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 14(3), 551-563.
- Baumgartner, G., Nakatani, K., Gomes, L. C., Bialecki, A., Sanches, P. V., & Makrakis, M. C. (2008). Fish larvae from the upper Paraná River: do abiotic factors affect larval density?. *Neotropical Ichthyology*, 6(4), 551-558.
- Bell, J. D., CLua, E., Hair, C. A., Galzin, R., & Doherty, P. J. (2009). The capture and culture of post-larval fish and invertebrates for the marine ornamental trade. *Reviews in Fisheries Science*, 17(2), 223-240.
- Benemann, J. R. (1992). Microalgae aquaculture feeds. *Journal of Applied Phycology*, 4(3), 233-245.
- Bengtson, D. A., Léger, P., & Sorgeloos, P. (1991). Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. *Artemia biology*, 11, 255-285.
- Beryciformes (Roughies, Flashlightfishes, and Squirrelfishes). (2017). *Grzimek's Animal Life Encyclopedia*. Acedido no dia 30/07/2017: <http://www.encyclopedia.com/environment/encyclopedias-almanacs-transcripts-and-maps/beryciformes-roughies-flashlightfishes-and-squirrelfishes>.
- Bobe, J., & Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and comparative endocrinology*, 165, 535-548.
- Bolboaca, S. D., & Jäntschi, L. (2006). Pearson versus Spearman, Kendall's tau correlation analysis on structure-activity relationships of biologic active compounds. *Leonardo Journal of Sciences*, 5(9), 179-200.
- Bonecker, A. C. T., Namiki, C. A. P., de Castro, M. S., & Campos, P. N. (2014). Catálogo dos estágios iniciais de desenvolvimento dos peixes da bacia de Campos. *SciELO-Sociedade Brasileira de Zoologia*, 295pp.
- Bowen, B. W., Bass, A. L., Muss, A., Carlin, J., & Robertson, D. R. (2006). Phylogeography of two Atlantic squirrelfishes (Family Holocentridae): exploring links between pelagic larval duration and population connectivity. *Marine Biology*, 149(4), 899-913.
- Bray, D. J. (2017). *Amblyglyphidodon aureus* em Fishes of Australia. Acedido no dia 05/08/2017: <http://fishesofaustralia.net.au/home/species/312>.
- Bruckner, A. W. (2005). The importance of the marine ornamental reef fish trade in the wider Caribbean. *Revista de biología tropical*, 53, 127-137.

- Cahu, C., & Infante, J. Z. (2001). Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 200(1), 161-180.
- Calado, R., Olivotto, I., Oliver, M. P., & Holt, G. J. (2017). Marine Ornamental Species Aquaculture. *John Wiley & Sons*, 712pp.
- Cameron, C. B. (2002). Particle retention and flow in the pharynx of the enteropneust worm *Harrimania planktophilus*: the filter-feeding pharynx may have evolved before the chordates. *The Biological Bulletin*, 202(2), 192-200.
- Caro, T. M., Pelkey, N. & Grigione, M. (1994) Effects of conservation biology education on attitudes towards nature. *Conservation Biology*, 8(3), 846-852.
- Carvalho-Filho, A., Macena, B. C. L., & Nunes, D. M. (2016). A new species of Anthiadinae (Teleostei: Serranidae) from São Pedro and São Paulo Archipelago, Brazil, Equatorial Atlantic. *Zootaxa*, 4139(4), 585-592
- Cesar, H., Burke, L., & Pet-Soede, L. (2003). The economics of worldwide coral reef degradation. *Cesar environmental economics consulting (CEEC)*. Acedido no dia 26/11/2017: <http://eprints.uberibz.org/id/eprint/48>.
- Chambers, R. C., & Trippel, E. (2012). *Early life history and recruitment in fish populations*. *Springer Science & Business Media*, 21, 596pp.
- Chapman, F. A., Fitz-Coy, S. A., Thunberg, E. M., & Adams, C. M. (1997). United States of America trade in ornamental fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(1), 1-10.
- Checkley Jr, D. M. (1982). Selective feeding by Atlantic herring (*Clupea harengus*) larvae on zooplankton in natural assemblages. *Marine Ecology Progress Series*, 245-253.
- Cunha, M. E., Quental, H., Barradas, A., Pousão-Ferreira, P., Cabrita, E., & Engrola, S. (2009). Rearing larvae of dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834),(Pisces: Serranidae) in a semi-extensive mesocosm. *Scientia Marina*, 73(Sup. 1), 201-212.
- Dabrowski, K., & Bardega, R. (1984). Mouth size and predicted food size preferences of larvae of three cyprinid fish species. *Aquaculture*, 40(1), 41-46.
- Dalabajan, D. (2005). Fixing the broken net: Improving enforcement of laws regulating cyanide fishing in the Calamianes Group of Islands, Philippines. *SPC Live Reef Fish Information Bulletin*, 15, 3-12.
- Dingerkus, G., & Uhler, L. D. (1977). Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. *Stain Technology*, 52(4), 229-232.
- Dixson, D. L., Munday, P. L., & Jones, G. P. (2010). Ocean acidification disrupts the innate ability of fish to detect predator olfactory cues. *Ecology Letters*, 13(1), 68-75.
- Downing, G., & Litvak, M. K. (1999). The effect of photoperiod, tank colour and light intensity on growth of larval haddock. *Aquaculture International*, 7(6), 369-382.
- Dressel, D. M., Heinle, D. R., & Grote, M. C. (1972). Vital staining to sort dead and live copepods. *Chesapeake Science*, 13(2), 156-159.
- Droop, M. R. (1959). A note on some physical conditions for cultivating *Oxyrrhis marina*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 38(3), 599-604.
- Duray, M. N., Estudillo, C. B., & Alpasan, L. G. (1996). The effect of background color and rotifer density on rotifer intake, growth and survival of the grouper (*Epinephelus suillus*) larvae. *Aquaculture*, 146(3), 217-224.
- Edwards, P. (2000). Aquaculture, poverty impacts and livelihoods. *Overseas Development Institute (ODI)*, Natural Resource Perspectives, 56, London, UK.
- El-Fiky, N., Hinterleitner, S., & Wieser, W. (1987). Differentiation of swimming muscles and gills, and development of anaerobic power in the larvae of cyprinid fish (Pisces, Teleostei). *Zoomorphology*, 107(2), 126-132.
- Eschmeyer, W. N. & Fong, J. D. (2017). Catalog of fishes. Species by family/subfamily. Versão online acedida no dia 25/07/2017. <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>.
- Evans, K. L. (1997). Aquaria and marine environmental education. *Aquarium Sciences and Conservation*, 1(4), 239-250.
- FAO. (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200pp.
- Fautin, D. G. & Allen, G. R. (1992). Field guide to anemonefishes and their host sea anemones. Western Australian Museum, Perth. 65pp.
- Ferreira, P. M. P. (2009). Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para a larvicultura de peixes marinhos. *Instituto Nacional de Recursos Biológicos I.P. IPIMAR*, 235pp.
- Ferreira, L. R. S. (2014). Identificação e desenvolvimento larvar de peixes tropicais do Indo Pacífico no Oceanário de Lisboa. 87 pp.
- Fielder, D. S., Purser, G. J., & Battaglione, S. C. (2000). Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 189(1), 85-99.
- Fielder, D. S., Bardsley, W. J., Allan, G. L., & Pankhurst, P. M. (2002). Effect of photoperiod on growth and survival of snapper *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture*, 211(1), 135-150.

- FishBase Glossary. (2016). FishBase, Acedido no dia 26/11/2016: http://www.fishbase.se/Glossary/Glossary.php?q=total+length&termenglish_required=Glossary+term+can+not+be+blank.&lang=portuguese_po.
- Frédérich, B., & Parmentier, E. (2016). *Biology of damselfishes*. CRC Press. 340pp.
- Fuiman, L., & Batty, R. (1997). What a drag it is getting cold: partitioning the physical and physiological effects of temperature on fish swimming. *Journal of Experimental Biology*, 200(12), 1745-1755.
- Fuiman, L. A., Conner, J. V., Lathrop, B. F., Buynak, G. L., Snyder, D. E., & Loos, J. J. (1983). State of the art of identification for cyprinid fish larvae from eastern North America. *Transactions of the American Fisheries Society*, 112(2B), 319-332.
- Fujita, S. (1957). On the egg development and prelarval stage of a damselfish, *Chromis notatus* (Temminck et Schlegel). *Japanese Journal of Ichthyology*, 6 (4-6), 87 – 90.
- Garrido, S., Ben-Hamadou, R., Santos, A. M. P., Ferreira, S., Teodósio, M. A., Cotano, U., Irigoien, X., Peck, M. A., Saiz, E., & Ré, P. (2015). Born small, die young: Intrinsic, size-selective mortality in marine larval fish. *Scientific reports*, 5, 17065.
- Garrison, L. P., & Link, J. S. (2000). Dietary guild structure of the fish community in the Northeast United States continental shelf ecosystem. *Marine Ecology Progress Series*, 202, 231-240.
- Gavaia, P. J., Dinis, M. T., & Cancela, M. L. (2002). Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 211(1), 305-323.
- Gavaia, P. J., Sarasquete, C., & Cancela, M. L. (2000). Detection of mineralized structures in early stages of development of marine Teleostei using a modified alcian blue-alizarin red double staining technique for bone and cartilage. *Biotechnic & Histochemistry*, 75(2), 79-84.
- Ghosh, A., Mahapatra, B. K., & Datta, N. C. (2003). Ornamental fish farming-successful small scale aqua business in India. *Aquaculture Asia*, 8(3), 14-16.
- Gomes, L. C., Chippari-Gomes, A. R., Lopes, N. P., Roubach, R., & Araujo-Lima, C. A. (2001). Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32(4), 426-431.
- Green, B. S., & Fisher, R. (2004). Temperature influences swimming speed, growth and larval duration in coral reef fish larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 299(1), 115-132.
- Green, B. S., & McCormick, M. I. (2001). Ontogeny of the digestive and feeding systems in the anemonefish *Amphiprion melanopus*. *Environmental Biology of Fishes*, 61(1), 73-83.
- Guiry, M. D. (2015). *Oxyrrhis marina* Dujardin, 1841. Em: Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2016). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway (taxonomic information republished from AlgaeBase with permission of M.D. Guiry). Acedido no dia 2/3/2017: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=109902>.
- Guo, Z., Zhang, H., Liu, S., & Lin, S. (2013). Biology of the marine heterotrophic dinoflagellate *Oxyrrhis marina*: current status and future directions. *Microorganisms*, 1(1), 33-57.
- Hagiwara, A., Kotani, T., Snell, T. W., Assava-Aree, M., & Hirayama, K. (1995). Morphology, reproduction, genetics, and mating behavior of small, tropical marine *Brachionus* strains (Rotifera). *Journal of experimental marine biology and ecology*, 194(1), 25-37.
- Hamre, K., Yúfera, M., Rønnestad, I., Boglione, C., Conceição, L. E., & Izquierdo, M. (2013). Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Reviews in Aquaculture*, 5(s1), S26-S58.
- Hart, P. R., Hutchinson, W. G., & Purser, G. J. (1996). Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). *Aquaculture*, 144(4), 303-311.
- Hauke, J., & Kossowski, T. (2011). Comparison of values of Pearson's and Spearman's correlation coefficients on the same sets of data. *Quaestiones geographicae*, 30(2), 87.
- Hilder, M. L., & Pankhurst, N. W. (2003). Evidence that temperature change cues reproductive development in the spiny damselfish, *Acanthochromis polyacanthus*. *Environmental biology of fishes*, 66(2), 187-196.
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A.J. Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C. D., Sale, P. F., Edwards, A. J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C. M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R. H., Dubi, A., & Hatziolos, M. E. (2007). Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, 318, 1737–1742.
- Holt, G. J., & Holt, S. A. (2000). Vertical distribution and the role of physical processes in the feeding dynamics of two larval sciaenids *Sciaenops ocellatus* and *Cynoscion nebulosus*. *Marine Ecology Progress Series*, 193, 181-190.
- Holt, G. J. (2003). Research on Culturing the Early Life Stages of Marine Ornamental Fish. *Marine Ornamental Species: Collection, Culture & Conservation*, 249-254.

- Hoover, J. P. (1993). *Hawaii's Fishes: A Guide for Snorkelers, Divers and Aquarists*. Honolulu, HI: *Mutual Publishing*. USA, 183pp.
- Houde, E. D. (1989). Comparative growth, mortality, and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. *Fishery Bulletin*, 87(3), 471-495.
- Hu, H., & Gao, K. (2006). Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO₂ concentration. *Biotechnology Letters*, 28(13), 987-992.
- Hubert, N., Delrieu-Trottin, E., Irisson, J. O., Meyer, C., & Planes, S. (2010). Identifying coral reef fish larvae through DNA barcoding: a test case with the families Acanthuridae and Holocentridae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3), 1195-1203.
- Izquierdo, M. S. (1996). Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 2(4), 183-191.
- Johannes, R. E. (1978). Reproductive strategies of coastal marine fishes in the tropics. *Environmental biology of fishes*, 3(1), 65-84.
- Jonna, R. 2003. "Acanthuridae" (Online), Animal Diversity Web. Acedido no dia 26/07/2017: <http://animaldiversity.org/accounts/Acanthuridae/>.
- Johnson, D. G. (1993). Percomorph phylogeny: progress and problems. *Bulletin of marine Science*, 52(1), 3-28.
- Johnson, M. P. (2000). Physical control of plankton population abundance and dynamics in intertidal rock pools. *Hydrobiologia*, 440(1-3), 145-152.
- Johnson, D. G., & Patterson, C. (1993). Percomorph phylogeny: a survey of acanthomorphs and a new proposal. *Bulletin of Marine Science*, 52(1), 554-626.
- Kelsh, R. N. (2004). Genetics and evolution of pigment patterns in fish. *Pigment Cell Research*, 17(4), 326-336.
- Kendall, A. W., Ahlstrom, E. H., & Moser, H. G. (1984). Early life history stages of fishes and their characters. Em: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W., & Richardson, S. L. *Ontogeny and systematics of fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Allen Press Inc., Lawrence, Kansas*, 11-22.
- Kestemont, P., Jourdan, S., Houbart, M., Mélard, C., Paspatis, M., Fontaine, P., Cuvier, A., Kentouri, M., & Baras, E. (2003). Size heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture*, 227(1), 333-356.
- Lafarga-De la Cruz, F., Valenzuela-Espinoza, E., Millán-Núñez, R., Trees, C. C., Santamaría-del-Ángel, E., & Núñez-Cabrero, F. (2006). Nutrient uptake, chlorophyll a and carbon fixation by *Rhodomonas* sp. (Cryptophyceae) cultured at different irradiance and nutrient concentrations. *Aquacultural engineering*, 35(1), 51-60.
- Lafontaine, Y. D., & Leggett, W. C. (1987). Effect of container size on estimates of mortality and predation rates in experiments with macrozooplankton and larval fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44(9), 1534-1543.
- Lahnsteiner, F., & Patarnello, P. (2004). Egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, with biochemical parameters. *Aquaculture*, 237, 443-459.
- Langdon, C. (2003). Microparticle types for delivering nutrients to marine fish larvae. *Aquaculture*, 227(1), 259-275.
- Lavens, P., & Sorgeloos, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper. 361*. Rome, FAO. 295pp.
- Leal, M. C., Ferrier-Pagès, C., Petersen, D., & Osinga, R. (2014). Coral aquaculture: applying scientific knowledge to *ex situ* production. *Reviews in Aquaculture*. 6, 1-18.
- Lecchini, D., Polti, S., Nakamura, Y., Mosconi, P., Tsuchiya, M., Remoissenet, G., & Planes, S. (2006). New perspectives on aquarium fish trade. *Fisheries Science*, 72(1), 40-47.
- Léger, P., Bieber, G. F., & Sorgeloos, P. (1985). International study on *Artemia* XXXIII. Promising results in larval rearing of *Penaeus stylirostris* using a prepared diet as algal substitute and for *Artemia* enrichment. *Journal of the World Aquaculture Society*, 16(1-4), 354-367.
- Léger, P., Bengtson, D. A., Sorgeloos, P., Simpson, K. L., & Beck, A. D. (1987). The nutritional value of *Artemia*: a review. Em: Sorgeloos, P., Bengtson, D.A., Declair, W., Jaspers, E., *Artemia research and its applications*, Ecology, Culturing, Use in Aquaculture, *Universa Press*, Wetteren, 3, 357-372.
- Leis, J. M. (1984). Tetraodontidae: development. Em: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W. & Richardson, S. L. *Ontogeny and Systematics of Fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Special Publication, 1*, 447 - 450.
- Leis, J. M. (1989). Larval biology of butterflyfishes (Pisces, Chaetodontidae): what do we really know?. *Environmental Biology of Fishes*, 25(1), 87-100.
- Leis, J. M. (2015). Taxonomy and systematics of larval Indo-Pacific fishes: a review of progress since 1981. *Ichthyological Research*, 62(1), 9-28.

- Leis, J. M., & Carson-Ewart, B. M. (2004). The larvae of Indo-Pacific coastal fishes: a guide to identification. *Fauna Malesiana Handbook*, 2, 850pp.
- Leis, J. M. & Richards, W. J. (1984). Acanthuroidei: development and relationships. Em: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W. & Richardson, S.L. Ontogeny and Systematics of Fishes. *American Society of Ichthyologists and Herpetologists*. Special Publication, 1, 547 - 551.
- Lim, P., Lek, S., Touch, S. T., Mao, S. O., & Chhouk, B. (1999). Diversity and spatial distribution of freshwater fish in Great Lake and Tonle Sap river (Cambodia, Southeast Asia). *Aquatic Living Resources*, 12(6), 379-386.
- Lobel, P. S. (1978). Diel, lunar, and seasonal periodicity in the reproductive behavior of the pomacanthid fish, *Centropyge potteri*, and some other reef fishes in Hawaii. *Pacific Science* The University Press of Hawaii, 32(2), 193-207.
- Lowe, C. D., Kemp, S. J., Bates, A. D., & Montagnes, D. J. S. (2005). Evidence that the rotifer *Brachionus plicatilis* is not an osmoconformer. *Marine Biology*, 146(5), 923-929.
- Lowe, C. D., Montagnes, D. J., Martin, L. E., & Watts, P. C. (2010a). Patterns of genetic diversity in the marine heterotrophic flagellate *Oxyrrhis marina* (Alveolata: Dinophyceae). *Protist*, 161(2), 212-221.
- Lowe, C. D., Keeling, P. J., Martin, L. E., Slamovits, C., Watts, P. C., & Montagnes, D. J. (2010b). Who is *Oxyrrhis marina*? Morphological and phylogenetic studies on an unusual dinoflagellate. *Journal of Plankton Research*, 33(4), 555-567.
- Lowe, C. D., Martin, L. E., Roberts, E. C., Watts, P. C., Wootton, E. C., & Montagnes, D. J. (2011). Collection, isolation and culturing strategies for *Oxyrrhis marina*. *Journal of Plankton Research*, 33(4), 569-578.
- Lowe, C. D., Martin, L. E., Montagnes, D. J., & Watts, P. C. (2012). A legacy of contrasting spatial genetic structure on either side of the Atlantic–Mediterranean transition zone in a marine protist. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(51), 20998-21003.
- Lowe-McConnell, R. H. (1987). Ecological studies in tropical fish communities. *Cambridge University Press*, 382pp.
- Lubzens, E. (1987). Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 147(1), 245-255.
- Lubzens, E., Tandler, A., & Minkoff, G. (1989). Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia* 186(1), 387–400.
- Margulies, D. (1989). Size-specific vulnerability to predation and sensory system development of white seabass, *Atractoscion nobilis*, larvae. *Fishery Bulletin*, 87(3), 537-552.
- Martin-Robichaud, D. J., & Peterson, R. H. (1998). Effects of light intensity, tank colour and photoperiod on swimbladder inflation success in larval striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29(8), 539-547.
- Marujo, V. M. F. (2016). Ensaios com os rotíferos *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786), submetidos a diferentes dietas de crescimento.
- Maruyama, I., Nakao, T., Shigeno, I., Ando, Y., & Hirayama, K. (1997). Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*. *Hydrobiologia*, 358(1-3), 133-138.
- McConnell, R., & Lowe-McConnell, R. H. (1987). Ecological studies in tropical fish communities. *Cambridge University Press*. 382pp. .
- McKnight, P. E., & Najab, J. (2010). Mann-Whitney U Test. *Corsini Encyclopedia of Psychology*, 1.
- Meekan, M. G., Carleton, J. H., McKinnon, A. D., Flynn, K., & Furnas, M. (2003). What determines the growth of tropical reef fish larvae in the plankton: food or temperature?. *Marine Ecology Progress Series*, 256, 193-204.
- Meske, C. P. B., & Vogt, F. (2014). Fish aquaculture: technology and experiments. *Pergamon Press*, 237pp.
- Moyer, J. T. (1975). Reproductive behavior of the damselfish *Pomacentrus nagasakiensis* at Miyakejima, Japan. *Japanese Journal of Ichthyology*, 22(3), 151-163.
- Muller-Feuga, A. (2000). The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology*, 12(3-5), 527-534.
- Munro, A. D., Scott, A. P., & Lam, T. J. (1990). Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences. *CRC press*. 264pp.
- Nandini, S., & Sarma, S. S. S. (2000). Zooplankton preference of two species of freshwater ornamental fish larvae. *Journal of Applied Ichthyology*, 16(6), 273-275.
- Nash, C. (2010). The history of aquaculture. *Wiley-Blackwell*. 236pp.
- Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790), 1017-1024.
- Novarino, G. (2005). Nanoplankton protists from the western Mediterranean Sea. II. Cryptomonads (Cryptophyceae= Crptomonadea). *Scientia Marina*, 69(1), 47-74.

- Ng, P. K., & Tan, H. H. (1997). Freshwater fishes of Southeast Asia: potential for the aquarium fish trade and conservation issues. *Aquarium Sciences and Conservation*, 1(2), 79-90.
- OATA (Ornamental Aquatic Trade Association LTD.). (2016). European Ornamental Fish Import & Export Statistics: 2015. [pdf] 1-6. Acedido no dia 12/11/2016: <http://www.ornamentalfish.org/wp-content/uploads/EU-Trade-Stats-Report-2015.pdf>.
- OCA. (2017). Oregon Coast Aquarium. Disponível em: <http://aquarium.org/exhibits/>. Acedido no dia 7/2/2017.
- ODL. (2017). Oceanário de Lisboa. Acedido no dia 7/2/2017: <https://www.oceanario.pt/exposicoes/exposicao-permanente?specie=true&type=2&q=tubar%C3%A3o>.
- Ogawa, T., & Brown, C. L. (2001). Ornamental reef fish aquaculture and collection in Hawaii. *Aquarium Sciences and Conservation*, 3(1-3), 151-169.
- Olivotto, I., Cardinali, M., Barbaresi, L., Maradonna, F., & Carnevali, O. (2003). Coral reef fish breeding: the secrets of each species. *Aquaculture*, 224(1), 69-78.
- Olivotto, I., Planas, M., Simões, N., Holt, G. J., Avella, M. A., & Calado, R. (2011). Advances in breeding and rearing marine ornamentals. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(2), 135-166.
- Olivotto, I., Rollo, A., Sulpizio, R., Avella, M., Tosti, L., & Carnevali, O. (2006). Breeding and rearing the Sunrise Dottyback *Pseudochromis flavivertex*: the importance of live prey enrichment during larval development. *Aquaculture*, 255(1), 480-487.
- 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), 175-182.
- Orr, D.W. (1990) The virtue of conservation education. *Conservation Biology*, 4(3), 219-220.
- Osse, J. W. M. (1989). Form changes in fish larvae in relation to changing demands of function. *Netherlands Journal of Zoology*, 40(1), 362-385.
- Østergaard, P., Munk, P., & Janekarn, V. (2005). Contrasting feeding patterns among species of fish larvae from the tropical Andaman Sea. *Marine Biology*, 146(3), 595-606.
- Ostrowski, A. C. (1989). Effect of rearing tank background color on early survival of dolphin larvae. *The Progressive Fish-Culturist*, 51(3), 161-163.
- Pandolfi, J. M., Jackson, J. B. C., Baron, N., Bradbury, R. H., Guzman, H. M., Hughes, T. P., Kappel, C. V., Micheli, F., Ogden, J. C., Possingham, H. P., & Sala, E. (2005). Are US coral reefs on the slippery slope to slime?. *Science*. 307, 1725–1731.
- Pankhurst, N. W., & Porter, M. J. R. (2003). Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28(1-4), 385-389.
- Pedreira, M. M., & Sipaúba-Tavares, L. H. (2001). Effect of light green and dark brown colored tanks on survival rates and development of tambaqui larvae, *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, Serrasalmidae). *Acta Scientiarum*, 23(2), 521-525.
- People Le Ruyet, J., Alexandre, J. C., Thébaud, L., & Mugnier, C. (1993). Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey?. *Journal of the World Aquaculture Society*, 24(2), 211-224.
- Popper, D., Pitt, R., & Zohar, Y. (1979). Experiments on the propagation of Red Sea siganids and some notes on their reproduction in nature. *Aquaculture*, 16(2), 177-181.
- Pressley, P. H. (1980). Lunar periodicity in the spawning of yellowtail damselfish, *Microspathodon chrysurus*. *Environmental Biology of Fishes*, 5(2), 155-159.
- Reum, J. (2005). "*Stegostoma fasciatum*" (Online), Animal Diversity Web. Acedido no dia 27/07/2017: http://animaldiversity.org/accounts/Stegostoma_fasciatum/.
- 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(5): e35808. doi: 10.1371/journal.pone.0035808.
- Richards, W. J. & Leis, J. M. (1984). Labroidei: development and relationships. Em: Moser, H. G., Richards, W. J., Cohen, D. M., Fahay, M. P., Kendall, A. W. & Richardson, S. L. *Ontogeny and Systematics of Fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Special Publication, 1*, 542 - 547.
- Riley, C. M., & Holt, G. J. (1993). Gut contents of larval fishes from light traps and plankton net collections at Enmedio Reef near Veracruz, Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 41(1), 53-57.
- Rising Tide Conservation (<http://risingtideconservation.org>).
- Roberts, E. C., Wootton, E. C., Davidson, K., Jeong, H. J., Lowe, C. D., & Montagnes, D. J. (2010). Feeding in the dinoflagellate *Oxyrrhis marina*: linking behaviour with mechanisms. *Journal of Plankton Research*. 33(4), 603-614.
- Rocha, M. D. S. (2015). Desenvolvimento de um novo protocolo alimentar para Linguado, *Solea senegalensis*, à base de copépodes congelados.
- Roo, F. J., Socorro, J., Izquierdo, M. S., Caballero, M. J., Hernández-Cruz, C. M., Fernández, A., & Fernández-Palacios, H. (1999). Development of red porgy *Pagrus pagrus* visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits. *Aquaculture*, 179(1), 499-512.

- Rossato, M. S. (2011). Os climas do Rio Grande do Sul: variabilidade, tendências e tipologia. 253pp.
- Rossoll, D., Bermúdez, R., Hauss, H., Schulz, K. G., Riebesell, U., Sommer, U., & Winder, M. (2012). Ocean acidification-induced food quality deterioration constrains trophic transfer. *PLoS one*, 7(4), e34737, doi: 10.1371/journal.pone.0034737.s004.
- Rubec, P. J., Cruz, F., Pratt, V., Oellers, R., McCullough, B., & Lallo, F. (2001). Cyanide-free net-caught fish for the marine aquarium trade. *Aquarium Sciences and Conservation*, 3(1-3), 37-51.
- Rubec, P. J., Pratt, V. R., McCullough, B., Manipula, B., Alban, J., Espero, T., & Supildo, E. R. (2003). Trends determined by cyanide testing on marine aquarium fish in the Philippines. Em: Marine Ornamental Species: Collection, Culture and Conservation (Cato, J. C. & Brown, C. L.). *Iowa State Press/Blackwell Publishing*. 327-340.
- Russell, B. C. (1990). FAO species catalog. Vol. 12. Nemipterid fishes of the world. (Threadfin breams, whiptail breams, monocle breams, dwarf monocle breams, and coral breams). Family Nemipteridae. An annotated and illustrated catalog of Nemipterid species known to date. *FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) Fisheries Synopsis*, 125, 149pp., 8 plates.
- Salt, G. W. (1987). The components of feeding behavior in rotifers. *Hydrobiologia*, 147(1), 271-281.
- Sampey, A., McKinnon, A. D., Meekan, M. G., & McCormick, M. I. (2007). Glimpse into guts: overview of the feeding of larvae of tropical shorefishes. *Marine Ecology Progress Series*, 339, 243-257.
- Schwanck, E. (1987). Lunar periodicity in the spawning of *Tilapia mariae* in the Ethiop River, Nigeria. *Journal of Fish Biology*, 30(5), 533-537.
- Schwerte, T., & Pelster, B. (2000). Digital motion analysis as a tool for analysing the shape and performance of the circulatory system in transparent animals. *Journal of Experimental Biology*, 203(11), 1659-1669.
- Silva, L., Faria, A. M., Teodósio, M. A., & Garrido, S. (2014). Ontogeny of swimming behaviour in sardine *Sardina pilchardus* larvae and effect of larval nutritional condition on critical speed. *Marine Ecology Progress Series*, 504, 287-300.
- Silva-Falcão, E. C. (2007). Estrutura da comunidade de formas iniciais de peixes em uma gamboa do estuário do rio Catuama, Pernambuco–Brasil. Dissertação de Mestrado.
- Sorgeloos, M. P., Leger, P., Lavens, P., & Tackaert, W. (1987). Increased yields of marine fish and shrimp production through application of innovative techniques with *Artemia*. Mediterranean Regional Aquaculture Project (MEDRAP). *FAO*. 105-108.
- Spalding, M.D., Ravilious, C., & Green, E.P. (2001). World Atlas of Coral Reefs. Prepared by the UNEP-World Conservation Monitoring Centre. *University of California Press*, Berkeley, USA, 424pp.
- Sponaugle, S., Grorud-Colvert, K., & Pinkard, D. (2006). Temperature-mediated variation in early life history traits and recruitment success of the coral reef fish *Thalassoma bifasciatum* in the Florida Keys. *Marine Ecology Progress Series*, 308, 1-15.
- Suzuki, K., Kobayashi, K., Hioki, S. & Sakamoto, T. (1974). Ecological studies of the anthiine fish *Sacura margaritacea* in Suruga Bat, Japan. *Japanese Journal of Ichthyology*, 21(1), 21 – 33.
- Suzuki, K., Kobayashi, K., Hioki, S. & Sakamoto, T. (1978). Ecological studies of the anthiine fish *Franzia squamipinnis* in Suruga Bat, Japan. *Japanese Journal of Ichthyology*, 25(2), 124 – 140.
- Sweatman, H. (1988). Field evidence that settling coral reef fish larvae detect resident fishes using dissolved chemical cues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 124(3), 163-174.
- Takemura, A., Rahman, M. D., Nakamura, S., Park, Y. J., & Takano, K. (2004). Lunar cycles and reproductive activity in reef fishes with particular attention to rabbitfishes. *Fish and Fisheries*, 5(4), 317-328.
- Tamazouzt, L., Chatain, B., & Fontaine, P. (2000). Tank wall colour and light level affect growth and survival of Eurasian perch larvae (*Perca fluviatilis* L.). *Aquaculture*, 182(1), 85-90.
- Taylor, M. H. (1984). Lunar synchronization of fish reproduction. *Transactions of the American Fisheries Society*, 113(4), 484-493.
- Thornhill, D. J. (2012). Ecological impacts and practices of the coral reef wildlife trade. *Defenders of Wildlife*. 179pp.
- Tissot, B. N., Walsh, W. J., & Hallacher, L. E. (2004). Evaluating effectiveness of a marine protected area network in West Hawaii to increase productivity of an aquarium fishery. *Pacific Science*, 58(2), 175-188.
- Tlustý, M. (2002). The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. *Aquaculture*, 205(3), 203-219.
- Van Ierland, E. T. (1985). Use of the flowcytometer in grazing studies. *Aquatic Ecology*, 19(1), 37-39.
- Vieira, V. I. A., & Johnston, I. A. (1992). Influence of temperature on muscle-fibre development in larvae of the herring *Clupea harengus*. *Marine Biology*, 112(2), 333-341.
- Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E. & Razak, T. (2003). From Ocean to Aquarium. UNEP-WCMC, Cambridge, UK, 64pp.
- Wallace, R. L. (2002). Rotifers: Exquisite Metazoans. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 660-667.

- Walsh, W. J., Cotton, S. S., Dierking, J., & Williams, I. D. (2003). The commercial marine aquarium fishery in Hawai 'i. *Status of Hawai 'i's Coastal Fisheries in the New Millennium*, 132-159.
- Watanabe, T., & Kiron, V. (1994). Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, 124(1), 223-251.
- Weinheimer, M. (2003). "Pomacentridae" (Online), Animal Diversity Web. Acedido no dia 25/07/2017 em <http://animaldiversity.org/accounts/Pomacentridae/>.
- Wellington, G. M., & Victor, B. C. (1989). Planktonic larval duration of one hundred species of Pacific and Atlantic damselfishes (Pomacentridae). *Marine Biology*, 101(4), 557-567.
- Wilcox, J. A., Tracy, P. L., & Marcus, N. H. (2006). Improving Live Feeds: Effect of a Mixed Diet of Copepod Nauplii (*Acartia tonsa*) and Rotifers on the Survival and Growth of First-Feeding Larvae of the Southern Flounder, *Paralichthys lethostigma*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37(1), 113-120.
- WizScience.com. (2015). Indo-Pacific - Video Learning - WizScience.com. Retirado do Youtube: <https://www.youtube.com/watch?v=bY0hCzFO8Lg> , no dia 22/11/2016.
- Wood, E. M. (2001). Collection of coral reef fish for aquaria: global trade, conservation issues and management strategies. *Marine Conservation Society*, UK. 80pp.
- Wullur, S., Sakakura, Y., & Hagiwara, A. (2009). The minute monogonont rotifer *Proales similis* de Beauchamp: Culture and feeding to small mouth marine fish larvae. *Aquaculture*, 293(1), 62-67.
- WWF. (2016). World Wide Fund. Acedido no dia 1/2/2017: http://wwf.panda.org/what_we_do/endangered_species/cetaceans/threats/fishstocks/.
- Yue, S., & Wang, C. (2002). The influence of serial correlation on the Mann-Whitney test for detecting a shift in median. *Advances in Water Resources*, 25(3), 325-333.
- Yúfera, M., Parra, G., & Pascual, E. (1997). Energy content of rotifers (*Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis*) in relation to temperature. Em *Live Food in Aquaculture*. Springer Netherlands, 83-87.
- Yúfera, M., & Darias, M. J. (2007). The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture*, 268(1), 53-63.
- Ziemann, D. A. (2001). The potential for the restoration of marine ornamental fish populations through hatchery releases. *Aquarium Sciences and Conservation*, 3(1-3), 107-117.
- Zittelli, G. C., Lavista, F., Bastianini, A., Rodolfi, L., Vincenzini, M., & Tredici, M. R. (1999). Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors. *Journal of Biotechnology*, 70(1), 299-312.
- Zohar, Y., & Mylonas, C. C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197(1), 99-136.
- ZSL London Zoo. (2017). Zoological Society of London (ZLS) London Zoo. Acedido no dia 7/2/2017: <https://www.zsl.org/zsl-london-zoo/exhibits/the-history-of-the-aquarium>.

7 Anexos

7.1 Testes prévios

7.1.1 Produção de larvas de peixes do Indo-Pacífico

Com base na tese de mestrado de Lurdes Ferreira (2014), foram realizadas trocas de água diárias de 20%, no entanto, a qualidade da água ao longo dos dias deteriorava-se, levando à morte de todas as larvas presentes nos tanques. Deste modo, o volume de água a ser renovada teve de ser maior, correspondendo a 30%.

7.1.2 Separação e contagem das larvas mortas

Para se realizar a sifonização e recolha das larvas mortas recorreu-se a um recipiente de 4 L, um crivo de 250 μm e uma mangueira. No entanto, ao realizar a sifonização, tornou-se impossível a contagem de larvas mortas, levando também a uma inevitável perda de larvas vivas. Embora se tenha utilizado um crivo, as larvas facilmente ficavam presas e morriam devido à velocidade do fluxo de água durante a sifonização. Para além disto, o fato de as larvas apresentarem um tamanho bastante reduzido e sem pigmentação (nos primeiros dias de desenvolvimento), aumentou a probabilidade de estas não serem observadas e repostas no tanque de origem.

Sendo assim, a água foi retirada dos tanques através de um copo de 250 ml para que fosse possível a renovação da mesma e a recuperação das larvas vivas. Ao invés de se contar o número de larvas mortas (que acabava por ser impossível, devido ao seu rápido desintegramento), foi registado o número de dias de sobrevivência.

7.2 Protocolo: contagem de ovos numa caixa de Petri

1. Colocar todos os ovos num recipiente e encher com água salgada filtrada até aos 600 ml;
2. Colocar o gobelé com os ovos em arejamento;
3. Quando os ovos se apresentarem homogeneamente dispersos retirar 1 ml com uma pipeta;
4. Colocar o volume da pipeta (1 ml) na placa de Petri;
5. Contar todos os ovos na caixa de Petri;
6. Repetir os pontos 3, 4 e 5 três vezes para que, posteriormente, se realize a média dos ovos contados (soma do número de ovos contados/3);
7. Realizar uma regra de três simples para se calcular o número de ovos presentes nos 600 ml iniciais;

7.3 Protocolo de contagem numa câmara de *Sedgewick Rafter*

1. Com uma pipeta retirar 1 ml da cultura, usando a pipeta correspondente à espécie em análise;
 2. Colocar o ml num recipiente e adicionar uma a duas gotas de Lugol;
 3. Colocar o volume da pipeta (1 ml) num dos cantos da lâmina da câmara de contagem;
 4. Colocar uma lâmina por cima da câmara de contagem;
 5. Contar dez quadrados;
 6. Somar o número de indivíduos contados nos dez quadrados;
 7. Realizar este processo três vezes (aleatoriamente) para que, posteriormente, se realize a média dos indivíduos contados (soma do número de ovos contados/3);
 8. Realizar uma regra de três simples para se calcular o número de indivíduos presentes num ml;
- Caso se apresentem bolhas de ar, não contar nesses quadrados.

7.4 Protocolo de contagem numa caixa de Petri com grelha de contagem

1. Com uma pipeta retirar 1 ml da cultura, usando a pipeta correspondente à espécie em análise;
2. Colocar 1 ml da cultura na caixa de Petri;
3. Adicionar duas a três gotas de Lugol;
4. Adicionar água de osmose inversa (utilizando o esguicho correspondente à espécie em análise) até preencher o fundo da caixa de Petri;
5. Contar todos os quadrados;
6. O valor contado corresponde ao número de indivíduos num ml de cultura.

7.5 Protocolo de cultura

7.5.1 Esterilização da água para as culturas

7.5.1.1 Esterilização de água salgada através do micro-ondas

1. Para a esterilização de 2 L de água, colocar 2 L de água salgada filtrada num copo de plástico e coloca-lo no micro-ondas;
2. Programar o micro-ondas a nove minutos 900W (para esterilizar dois copos de 2 L ao mesmo tempo, programar para quinze minutos);
3. Transferir a água para o recipiente onde se irá realizar a cultura, através do crivo de 55 µm e do funil;
4. Tapar a abertura do recipiente com algodão cardado;
5. Esperar que a água arrefeça antes de iniciar a cultura.

7.5.1.2 Esterilização de água salgada através de lixívia comercial

1. Colocar 1 L de água salgada filtrada num *erlenmeyer* limpo, desinfetado e seco;
2. Esterilizar com 0,5 ml/L de lixívia comercial durante vinte e quatro horas (fechar arejamento);
3. Neutralizar com 1,25 ml/L de solução de tiosulfato de sódio (40%) no mínimo uma hora (com arejamento forte);
4. Água pronta a utilizar para as culturas.

7.5.2 *Rhodomonas* sp.

7.5.2.1 *Erlenmeyer* de 2 L

1. Esterilizar um copo (limpo e desinfetado) com 2 L de água salgada filtrada (9 minutos a 900 W);
2. Encher um *erlenmeyer* de 2 L (limpo e desinfetado). Tapar com algodão cardado. Deve passar-se pelo crivo (55 µm) e funil a água salgada filtrada e esterilizada ao encher o *erlenmeyer*. O volume restante poderá ser para outro *erlenmeyer*;
3. Deixar a água atingir a temperatura ambiente;
4. Adicionar 2,5 ml de meio de cultura (*NutriBloom Plus*, da Necton, que está no frigorífico) ao *erlenmeyer*;
5. Juntar 250 - 500 ml da cultura anterior (*erlenmeyer* de 2 L com melhor aspeto) ao *erlenmeyer* (se necessário pode-se recorrer aos inóculos puros para iniciar um novo *erlenmeyer* de 2 L);
6. Colocar arejamento moderado/forte e anotar a data e a espécie de alga. Manter com luz vinte e quatro horas por dia;
7. O que sobrar da cultura anterior pode ser utilizado para inocular outro *erlenmeyer* de 2 L, ou balão de 5 L. Em último caso pode ser utilizado para a preparação de refeições;
8. Diariamente observar se o arejamento está a funcionar;
9. Lavar os *erlenmeyer* vazios com água doce e com o escovilhão junto do material das algas;
10. Encher os *erlenmeyer* com água doce e colocar 5 ml de lixívia industrial;
11. Deixar a lixívia atuar durante pelo menos uma hora;
12. Passar bem os *erlenmeyer* por água doce e colocá-los a secar com a boca virada para baixo. Deixar secar vinte e quatro horas antes de serem novamente utilizados.

7.5.3 *Oxyrrhis marina*

7.5.3.1 *Erlenmeyer* de 2L

1. Esterilizar um copo (limpo e desinfetado) com 2 L de água salgada filtrada (9 minutos a 900W);
2. Encher, através do crivo e funil, um *erlenmeyer* de 2 L (limpo e desinfetado) com 1 L da água salgada filtrada e esterilizada (não usar material das algas). Tapar com algodão cardado. O litro restante poderá ser para outro *erlenmeyer*, etc.;
3. Deixar a água atingir a temperatura ambiente;
4. Adicionar 0,5 ml de meio de cultura (*NutriBloom Plus* que está no frigorífico) ao *erlenmeyer*;
5. Juntar 100 ml da cultura anterior (*erlenmeyer* 2 L com melhor aspeto) ao *erlenmeyer*, anotar a data;
6. Alimentar com *Rhodomonas* sp. até que a água fique com uma tonalidade verde-acastanhada. Manter com luz vinte e quatro horas por dia;
7. Os 1000 – 1500 ml que sobram da cultura anterior podem ser utilizados para inocular outro *erlenmeyer* de 2 L, ou balão de 5 L. Em último caso pode ser utilizado na preparação de refeições;
8. Diariamente observar a tonalidade da cultura e adicionar entre 100-150 ml de alga *Rhodomonas* sp. até que a água fique novamente com uma tonalidade verde-acastanhada;
9. Lavar os *erlenmeyer* vazios com água doce;
10. Encher os *erlenmeyer* com água doce e colocar 5 ml de lixívia industrial em cada um;
11. Deixar a lixívia atuar durante pelo menos uma hora;
12. Passar bem por água doce e colocar a secar com a abertura virada para baixo;
13. Deixar secar vinte e quatro horas antes de serem novamente utilizados;
14. Realizar uma nova cultura de quatro em quatro dias.

7.5.3.2 Balões de 5 L

1. Esterilizar 2 copos (limpos e desinfetados) com 2 L de água salgada filtrada em cada (9 minutos a 900W);
2. Verter, através de crivo e funil, os 4 L de água filtrada salgada esterilizada num balão de 5 L, limpo, desinfetado e seco;
3. Deixar a água atingir a temperatura ambiente;
4. Adicionar 1 ml de meio de cultura (*NutriBloom Plus* que está no frigorífico);

5. Juntar 200 ml da cultura anterior de um *erlenmeyer* de 2 L em boas condições;
6. O restante poder ser utilizado na preparação de refeições;
7. Alimentar com *Rhodomonas* sp. até que a água fique com uma tonalidade verde-acastanhada. Manter com luz vinte e quatro horas por dia;
8. Observar diariamente a tonalidade da cultura e adicionar entre 150-200 ml de alga *Rhodomonas* sp. até que a água fique novamente com uma tonalidade verde-acastanhada;
9. Os *erlenmeyer* usados/vazios lavam-se e desinfetam-se. Lavar os *erlenmeyer* com água doce;
10. Encher os *erlenmeyer* com água doce e colocar 5 ml de lixívia industrial;
11. Deixar a lixívia atuar durante pelo menos uma hora;
12. Vazar e passar bem por água doce e colocar a secar com a abertura virada para baixo;
13. Deixar secar vinte e quatro horas antes de serem novamente utilizados;
14. Usar os balões mais antigos para a preparação das refeições;
15. Lavar e desinfetar os balões segundo o processo descrito para os *erlenmeyer* de 2 L, mas usar 10 ml de lixívia industrial.

7.5.4 *Brachionus plicatilis* e *Brachionus rotundiformis*

7.5.4.1 *Erlenmeyer* de 2 L

1. A cultura de rotíferos em *erlenmeyer* é realizada a partir da cultura em *erlenmeyer* mais antiga;
2. Usar dois *erlenmeyer* de 2 L, limpos, desinfetados e secos;
3. Encher um dos *erlenmeyer* com 1 L de água de osmose inversa e 1 L de água salgada filtrada. Misturar bem as duas águas e despejar 1 L de água para o segundo *erlenmeyer* (ficamos assim com dois *erlenmeyer*, cada um com 1 L de água salobra a 15 ppt);
4. Passar por crivo 55 µm um pouco do conteúdo (50 ml) de um dos *erlenmeyer* da cultura mais antiga, evitando as impurezas e depósito do fundo;
5. Fazer uma lavagem aos rotíferos recolhidos no crivo com água de osmose inversa para tornar a cultura mais pura (matando os dinoflagelados, protozoários e outros contaminantes, etc.);
6. Usar esta pequena dose de rotíferos para inocular um novo *erlenmeyer* de 2 L;
7. Repetir os pontos 4, 5 e 6 para fazer o segundo *erlenmeyer* de 2 L a partir do segundo *erlenmeyer* com a mesma data que o primeiro;
8. Anotar datas e tipo da cultura;

9. Colocar os *erlenmeyer* com arejamento (fraco) e tapar com algodão cardado;
10. Retirar 0,4 ml, com uma pipeta identificada como “Alimentação”, de *Nannochloropsis sp.* do concentrado vivo PhytoBloom *green formula* para alimentar os rotíferos;
11. Colocar os 0,4 ml num copo identificado como “Alimentação” previamente cheio com 200 ml de água salgada filtrada e arejamento;
12. Este copo ficará junto da zona de produção de rotíferos e é exclusivo para este uso;
13. Após dois minutos com arejamento forte usar esta solução para alimentar os *erlenmeyer* de rotíferos, dar 100 ml por dia a cada *erlenmeyer*, usando o copo de 250 ml existente (um copo por cada tipo de rotífero);
14. Lavar todo o material com água doce, incluindo o escovilhão mencionado no seguinte ponto (não pousar nada na bancada de uso comum/lavatório);
15. Lavar e desinfetar os *erlenmeyer*, lavar com água doce e com o escovilhão dos rotíferos no lavatório de uso geral, encher os *erlenmeyer* com água doce e colocar 5 ml de lixívia industrial, em cada um;
16. Deixar a lixívia atuar durante pelo menos uma hora;
17. Passar bem os *erlenmeyer* por água doce e deixá-los a secar vinte e quatro horas invertidos antes de serem novamente utilizados.

7.5.4.1 Balões de 5 L

1. Usar um balão de 5 L e um *erlenmeyer* de 2 L, limpos, desinfetados e secos;
2. Encher um *erlenmeyer* com 0,5 L de água de osmose inversa e 0,5 L de água salgada filtrada. Misturar bem as duas águas (fica-se assim com um *erlenmeyer*, com 1 L de água salobra a 15 ppt);
3. Encher o balão com 2 L de água de osmose inversa e 2 L de água salgada filtrada. Misturar bem as duas águas (fica-se assim com um balão, com 4 L de água salobra a 15 ppt);
4. Passar por crivo 55 μm o conteúdo de um dos *erlenmeyer* da cultura mais antiga evitando as impurezas e depósito do fundo;
5. Fazer uma lavagem aos rotíferos recolhidos no crivo com água doce para tornar a cultura mais pura (matando os dinoflagelados, protozoários e outros contaminantes, etc.);
6. Usar um terço dos rotíferos para inocular um novo *erlenmeyer* de 2 L e os restantes dois terços para inocular um balão de 5 L;
7. Anotar datas e tipo da cultura;
8. Colocar o *erlenmeyer* e o balão com arejamento (fraco) e tapar com algodão cardado;

9. Retirar 0,5 ml, com uma pipeta identificada como “Alimentação”, do concentrado vivo *PhytoBloom green formula* para alimentar os rotíferos;
10. Colocar os 0,5 ml num copo identificado como “Alimentação” previamente cheio com 200 ml de água salgada filtrada e arejamento;
11. Após dois minutos com arejamento forte usar esta solução para alimentar o *erlenmeyer* e o balão de rotíferos - dar 100 ml por dia a cada *erlenmeyer* e 100 ml a cada balão, usando o copo de 250 ml (um copo por cada tipo de rotífero);
12. Lavar todo o material com água osmose inversa, incluindo o escovilhão mencionado no seguinte ponto (não pousar nada na bancada de uso comum/lavatório);
 1. Lavar e desinfetar o *erlenmeyer*, lavar com água doce e com o escovilhão dos rotíferos no lavatório de uso geral, encher o *erlenmeyer* com água doce e colocar 5 ml de lixívia industrial, em cada um. Lavar e desinfetar o balão segundo o processo descrito para os *erlenmeyer* de 2 L, mas usar 10 ml de lixívia industrial;
13. Deixar a lixívia atuar durante pelo menos uma hora;
14. Passar bem o *erlenmeyer* e o balão por água doce e deixá-los a secar vinte e quatro horas invertidos antes de serem novamente utilizados.

7.5.4.2 Tanque de 100 L

1. Usar um tanque de 100 L desinfetado e seco (esterilizar utilizando o esguicho de lixívia na zona de lavagens);
2. Encher o tanque com 40 L de água de osmose inversa e 40 L de água salgada filtrada. Misturar bem as duas águas (fica-se assim com 80 L de água salobra a 15 ppt);
3. Passar por crivo de 55 µm o conteúdo de um dos balões da cultura mais antiga, evitando as impurezas e depósito do fundo;
4. Fazer uma lavagem aos rotíferos recolhidos no crivo com água de osmose inversa para tornar a cultura mais pura (matando os dinoflagelados, protozoários e outros contaminantes, etc.);
5. Usar todos os rotíferos de um balão de 5 L para inocular o tanque;
6. Anotar datas e tipo da cultura;
7. Colocar o tanque com arejamento;
8. Retirar 1 ml, com uma pipeta identificada como “Alimentação”, do concentrado vivo *PhytoBloom green formula* para alimentar os rotíferos;
9. Colocar o 1 ml num copo identificado como “Alimentação” previamente cheio com 400 ml de água salgada filtrada e arejamento (este valor de alga é apenas utilizado para iniciar uma cultura no tanque);

10. Após dois minutos com arejamento forte usar esta solução para alimentar o tanque com rotíferos, dando 400 ml por dia ao tanque, usando o copo de 250 ml (um copo por cada tipo de rotífero);
11. Lavar todo o material com água osmose inversa, incluindo o escovilhão mencionado no seguinte ponto (não pousar nada na bancada de uso comum/lavatório);
12. Lavar e desinfetar o balão, lavar com água doce e com o escovilhão dos rotíferos no lavatório de uso geral, encher o balão com água doce e colocar 10 ml de lixívia industrial em cada balão;
13. Deixar a lixívia atuar durante pelo menos uma hora;
14. Passar bem o balão por água doce e deixá-lo a secar vinte e quatro horas invertido antes de ser novamente utilizado.

7.5.5 Náuplios de *Artemia* sp.

7.5.5.1 Incubação

1. Antes das 13:00 horas encher devagar com água salgada filtrada até à marca azul o tanque cilindro-cônico de incubação (o que se encontra vazio e desinfetado);
2. Ligar os arejamentos e o termostato (para manter a temperatura de, aproximadamente, 29,5°C) e deixar assim até às 16:00 horas;
3. Às 16:00 horas, inocular o cilindro com a quantidade indicada na folha de cover – 170 gramas (os cistos encontram-se no frigorífico);
4. Verter água salgada filtrada pela parede do cilindro-cônico de modo a arrastar os cistos que ficaram colados à parede do mesmo;
5. Ligar a luz que se encontra por detrás do cilindro-cônico;
6. Anotar no quadro, pendurado no cilindro-cônico, a data e hora da incubação e da sua separação.

7.5.5.2 Separação dos náuplios

Efetuar a separação cerca de quarenta horas após o início da incubação (9:00 – 9:40 horas).

1. Encher devagar o cilindro-cônico de armazenamento dos náuplios (o que estiver vazio) com água salgada filtrada e colocar os arejamentos;
2. Desligar o termostato e luz do cilindro-cônico que foi inoculado há dois dias;
3. Encher o separador magnético com água doce;
4. Ligar a mangueira do cilindro-cônico ao separador magnético;
5. Colocar dois sacos de rede (malha de 50 μ m) no balde de recolha e colocar este balde na extremidade oposta do tubo magnético para recolher os náuplios;

6. Abrir um pouco a válvula do cilindro-cônico inoculado identificado com a data de separação, iniciando-se a recolha de náuplios;
7. Separa cerca de metade do cilindro dos cistos;
8. Deixar que a água saia do tanque de recolha para o ralo, mas não permitir que o balde fique vazio (os náuplios devem estar sempre dentro de água, mas a separação ocorre melhor se não ficarem com demasiada água no balde);
9. Lavar os náuplios abundantemente com água salgada, dentro dos sacos de separação, sem fazer grande pressão sobre eles;
10. Verter os náuplios para um garrafão cortado e posteriormente para o cilindro de armazenamento;
11. Repetir os pontos 6, 8, 9 e 10 até vazar totalmente o cilindro-cônico dos cistos;
12. Encher o cilindro-cônico até à marca. Retirar nesta fase a quantidade de náuplios que se quer sem enriquecimento do cilindro;
13. Adicionar o enriquecimento (7,5 ml de *Selco*);
14. Lavar todo o material utilizado e desinfetar os sacos de rede de recolha de náuplios. Lavar o tanque cilindro-cônico de incubação e desinfetá-lo com 90 L de água doce e 90 ml de lixívia industrial durante uma hora;
15. Retirar a barra de ímanes e lavar com pressão;
16. Lavar bem o tubo azul oco com água doce;
17. No final do dia, após a preparação das alimentações, lavar bem o cilindro-cônico de armazenamento com água doce, encher com 90 L de água doce e adicionar 90 ml de lixívia industrial. O *late shift* irá vazar e lavar cerca de duas horas depois.

7.6 Lista de espécies do Indo-Pacífico presentes no tanque do Indo-Pacífico (T6)

Classe Actinopterygii - Ordem Beryciformes

Família	Espécie
Holocentridae	<i>Myripristis</i> sp.
	<i>Sargocentron</i> sp.

Classe Actinopterygii - Ordem Perciformes

Família	Espécie
Acanthuridae	<i>Acanthurus leucosternon</i>
	<i>Acanthurus lineatus</i>
	<i>Acanthurus sohal</i>
	<i>Naso brevirostris</i>
	<i>Naso lituratus</i>
	<i>Naso vlamingii</i>
	<i>Paracanthurus hepatus</i>
	<i>Pomacanthus annularis</i>
	<i>Pomacanthus sexstriatus</i>
	<i>Zebrasoma desjardini</i>
	<i>Zebrasoma flavescens</i>
	<i>Zebrasoma scopas</i>
	<i>Zebrasoma xanthurum</i>
Chaetodontidae	<i>Chaetodon auriga</i>
	<i>Chaetodon citrinellus</i>
	<i>Chaetodon collare</i>
	<i>Chaetodon dolosus</i>
	<i>Chaetodon ephippium</i>
	<i>Chaetodon falcula</i>
	<i>Chaetodon lunula</i>
	<i>Chaetodon rafflesii</i>
	<i>Chaetodon semilarvatus</i>
	<i>Chelmon rostratus</i>
	<i>Forcipiger flavissimus</i>
<i>Heniochus acuminatus</i>	
Ephippidae	<i>Platax orbicularis</i>
Labridae	<i>Bodianus mesothorax</i>
	<i>Bodianus opercularis</i>
	<i>Cheilinus undulatus</i>
	<i>Coris formosa</i>
	<i>Coris gaimard</i>
	<i>Labroides dimidiatus</i>
	<i>Thalassoma lutescens</i>
Nemipteridae	<i>Scolopsis bilineata</i>
Pomacanthidae	<i>Pomacanthus imperator</i>
	<i>Pomacanthus maculosus</i>
Scatophagidae	<i>Scatophagus argus</i>
Serranidae	<i>Nemanthias carberryi</i>
	<i>Pseudanthias evansi</i>
	<i>Pseudanthias squamipinnis</i>
Siganidae	<i>Siganus vulpinus</i>
Toxotidae	<i>Toxotes jaculatrix</i>

Classe Actinopterygii - Ordem Tetraodontiformes

Família	Espécie
Balistidae	<i>Balistapus undulatus</i>
Diodontidae	<i>Diodon holacanthus</i>
Tetraodontidae	<i>Arothron meleagris</i>

Classe Chondrichthyes - Ordem Myliobatiformes

Família	Espécie
Dasyatidae	<i>Taeniura lymma</i>

Classe Chondrichthyes - Ordem Orectolobiformes

Família	Espécie
Stegostomatidae	<i>Stegostoma fasciatum</i>

7.7 Lista de espécies do Indo-Pacífico presentes nas galerias do Indo-Pacífico (I6)

Classe Actinopterygii - Ordem Perciformes

Família	Espécie
Acanthuridae	<i>Zebrasoma xanthurum</i>
Chaetodontidae	<i>Chelmon rostratus</i>
Labridae	<i>Labroides dimidiatus</i>
	<i>Pseudocheilinus hexataenia</i>
Pomacentridae	<i>Amblyglyphidodon aureus</i>
	<i>Amphiprion frenatus</i>
	<i>Amphiprion ocellaris</i>
	<i>Chromis dimidiata</i>
	<i>Chromis viridis</i>
	<i>Chrysiptera cyanea</i>
	<i>Dascyllus aruanus</i>
	<i>Pomacentrus alleni</i>
	<i>Pseudochromis cyanotaenia</i>
	<i>Pseudochromis paccagnellae</i>
Serranidae	<i>Amblyglyphidodon aureus</i>
	<i>Pseudanthias squamipinnis</i>

7.8 Características das ordens e famílias presentes no tanque do Indo-Pacífico (T6) e nas galerias do Indo-Pacífico (I6)

Classe Chondrychthyes

Ordem Myliobatiformes

Família Dasyatidae

Esta família inclui as raias, sendo constituída por nove géneros e setenta espécies. O seu corpo é composto por barbatanas peitorais alargadas que formam um disco. Nesta família, o disco inclui a cabeça e vai de 30 cm a 2 m de diâmetro. Podem ser encontradas em mares tropicais e subtropicais, havendo algumas espécies que habitem rios no sul da América e em África. A maioria é bêntica. Algumas espécies apresentam “cauda”, sendo esta reduzida a dobras das barbatanas dorsal e ventral, podendo ou não, estender até a ponta desta. É constituída por espinhos serrilhados e é, normalmente, mais longa que o disco. São ovovivíparos, desenvolvendo do ovo até à fase de juvenil, os seus descendentes, dentro do útero. Alimentam-se de moluscos, crustáceos, peixes, amêijoas, caranguejos e camarões (Joana, 2003).

Ordem Orectolobiformes

Família Stegostomatidae

Esta família é apenas constituída por um género e uma espécie: *Stegostoma fasciatum*. Habita em plataformas continentais e insulares e é bastante comum encontrá-la em recifes de coral e fundos arenosos. Normalmente permanece a 62 m da superfície do oceano, no entanto já foi encontrada em água doce. O seu tamanho pode ir dos 2,2 m aos 3 m de comprimento. Alimentam-se de gastrópodes, bivalves, caranguejos, camarões e pequenos peixes. Os ovos assim que são fertilizados são colocados em rochas no fundo dos recifes. Estes medem cerca de 17 cm de diâmetro e eclodem com cerca de 20 a 36 cm de diâmetro (Reum, 2005).

Classe Actinopterygii

Ordem Beryciformes

Os peixes desta ordem possuem corpos comprimidos lateralmente, sendo a zona dorsal e ventral alongadas. Possuem escamas ctenoides ou placas ósseas no corpo, uma cabeça grande com cavidades mucosas bem desenvolvidas e, normalmente, opérculos espinhosos. São todos marinhos, vivendo a maioria das espécies em águas profundas. Estes organismos apresentam menos de um metro de comprimento (Leis & Carson-Ewart, 2004). A composição e as relações desta ordem são controversas: seguindo-se o conceito de Johnson e Peterson (1993). Trata-se de uma ordem pequena, composta por sete famílias, vinte e nove géneros e cerca de cento e quarenta espécies. As larvas tendem a ser grandes, altamente especializadas e apresentam,

geralmente, cabeças muito espinhosas, desenvolvendo na fase inicial barbatanas pélvicas (Leis & Carson-Ewart, 2004; Beryciformes, 2017).

Família Holocentridae

Os holocentrídeos são de tamanho pequeno a moderado, noturnos e possuem olhos grandes. Estes organismos são normalmente vermelhos e abrigam-se nos recantos dos recifes de coral durante o dia. Algumas espécies têm interesse comercial, a nível alimentar. Existem oito géneros, com cerca de oitenta e três espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). *Myripristis jacobus* e *Holocentrus ascensionis* reproduzem-se através de ovos pelágicos (Bowen et al, 2006). As larvas de Myripristinae são caracterizadas por um espinho rostral bifurcado e desenvolvimento das barbatanas pélvicas por volta dos 3,5 mm. Já as de Holocentrinae são caracterizadas por um espinho rostral simples e um desenvolvimento tardio das barbatanas pélvicas. As famílias Peristidae e Triglidae também possuem espinhos, no entanto estes são bilaterais, o que distingue da família Holocentridae. Esta família apresenta uma fase de transição pelágica, uma fase de pré-assentamento – *rhynchichthys*. Nesta fase, os raios e os espinhos das barbatanas estão completamente formados e o espinho rostral permanece. Algumas espécies também apresentam uma fase pré-juvenil – *meeki*. Nesta fase, as larvas permanecem pelágicas, mas encontram-se fisicamente prontas para o assentamento. Ocorre também a perda dos espinhos (Bonecker *et al*, 2014).

Ordem Perciformes

Os peixes perciformes são grupo extremamente variável e provavelmente polifilético (Johnson, 1993). É um grupo difícil de caraterizar, e as generalizações que se seguem têm numerosas exceções: espinhos presentes nas barbatanas; ausência de barbatana adiposa, barbatanas pélvicas, torácicas ou jugulares; barbatana pélvica por baixo ou anterior às peitorais, com um espinho e cinco ou menos raios moles; e dezassete ou menos raios na barbatana caudal. Os perciformes variam no comprimento desde os peixes mais pequenos (góbios) aos grandes peixes ósseos (marlins). A ordem é enorme, com cerca de cento e sessenta famílias e nove mil e quinhentas espécies. As larvas são extremamente variáveis, mas muitas têm a cabeça e a cintura peitoral espinhosa (Leis & Carson-Ewart, 2004).

Família Acanthuridae

Poucos peixes são tão típicos de um recife de coral como os peixes-cirurgião. Estes peixes bastante comprimidos com bocas pequenas são caracterizados unicamente pela existência de um “bisturi”, que pode ser um conjunto ou apenas um espinho (normalmente coberto(s) por uma substância tóxica), que possuem no pedúnculo caudal. As cores destes organismos enfatizam estes espinhos, sendo também importante para a comunicação

interespecies. A maioria destes organismos são herbívoros, no entanto algumas espécies, mais especificamente do género *Naso*, alimentam-se de zooplâncton no meio da coluna de água. Existem seis géneros e cerca de oitenta e sete espécies (Joana, 2003; Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos de *Acanthurus*, *Ctenochaetus*, *Naso*, *Prionurus* e *Zebrasoma* são pelágicos. Na espécie *Paracanthurus hepatus* os ovos medem cerca de 0,69 mm de diâmetro, por exemplo (Calado *et al*, 2017). A fase larvar dos acanturídeos, também denominada de *acronurus*, difere consideravelmente entre o estágio juvenil e adulto. Esta larva é transparente, planctónica e permanece pelágica por um longo período de tempo. Só depois assentará perto da costa, onde rapidamente se desenvolverá em juvenil (Joana, 2003).

Família Chaetodontidae

Os peixes desta família são pequenos, coloridos e de recifes de coral. A maioria das espécies alimenta-se de corais. Estes são típicos peixes de aquário e não são amplamente utilizados para a alimentação. As larvas são muitas vezes consideradas como larvas *tholichthys*, correspondendo a uma fase especializada, caracterizada por placas fundidas na cabeça que se estendem ao longo do tronco, sob a forma de placas largas, planas. No entanto, nem todos os géneros chaetodontid têm larvas que tenham a mesma descrição (Leis, 1989). A família engloba 12 géneros e mais de 129 espécies (Eschmeyer & Fong, 2017).

Família Ehippidae

Os peixes da família Ehippidae são extremamente comprimidos lateralmente, omnívoros e de tamanho médio. São semi-pelágicos, formam cardumes em águas relativamente pouco profundas e são encontrados em vários *habitats*. Esta família engloba oito géneros e quinze espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos de *Platax orbicularis* e de *Tripteron orbis* são pelágicos, esféricos e grandes (1,2-1,5 mm de diâmetro). As larvas de *Platax orbicularis* eclodem com cerca de 2,5 mm, com um grande saco vitelino, boca fechada e corpo e olhos não pigmentados (Leis & Carson-Ewart, 2004).

Família Labridae

Os labrídeos são peixes de tamanho variável, coloridos, carnívoros e que habitam recifes. São extremamente variados quanto à forma do corpo e aos seus hábitos. A reversão sexual é uma norma e a maioria das espécies apresenta duas ou três cores ou formas corporais, relacionadas com o sexo. Reúne cerca de setenta e um géneros e cerca de quinhentas e vinte e cinco espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos de um grande número de géneros do Indo-Pacífico, são pelágicos, esféricos e pequenos (0,5-1,1 mm de diâmetro) (Richards & Leis, 1984). Algumas espécies do norte do Atlântico são conhecidas por desovar ovos demersais. As larvas eclodem com 1,5-2,7 mm e têm um grande saco vitelino,

boca não formada, olhos sem pigmentação e a pigmentação do corpo muda substancialmente durante a absorção do vitelo (Richards & Leis, 1984).

Família Nemipteridae

Os adultos desta família são peixes de tamanho pequeno a moderado. A família está limitada ao Indo-Pacífico e as espécies são geralmente associadas a fundos moles, embora muitos *Scolopsis* spp. sejam verdadeiros peixes de recifes de coral. Existem cinco gêneros com sessenta e sete espécies (Russell, 1990; Eschmeyer & Fong, 2017). Carnívoros que se alimentam maioritariamente de outros pequenos peixes, cefalópodes, crustáceos e poliquetas. Algumas espécies apresentam um filamento no lóbulo superior da barbatana caudal (Bailey, 2015). Produzem ovos pelágicos, transparentes e esféricos, medindo entre 0,71 e 0,79 mm de diâmetro, na espécie *Nemipterus virgatus*. As larvas desta espécie eclodem com 1,5-1,7 mm de comprimento e têm um grande saco vitelino, boca não formada, olhos sem pigmentação e a pigmentação no corpo que muda durante a absorção do vitelo (Leis & Carson-Ewart, 2004).

Família Pomacanthidae

Estes organismos são de tamanho pequeno a médio, coloridos, de corpo comprimido lateralmente e são peixes de recifes de coral bastante chamativos. As espécies de maior porte são capturadas para alimentação. Espécies do gênero *Centropyge* alimentam-se maioritariamente de algas filamentosas e as do gênero *Genicanthus* de zooplâncton. As outras espécies alimentam-se de esponjas, invertebrados, algas e ovos de peixe (Aburto-Oropeza *et al*, 2000). Esta família engloba oito gêneros e oitenta e nove espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos pelágicos de *Apolemichthys*, *Centropyge*, *Chaetodontoplus* e de *Genicanthus* são redondos e variam de um tamanho pequeno a moderado (0.60-1,05 mm) (Leis & Carson-Ewart, 2004). As larvas eclodem com um comprimento entre 1,3 e 2,6 mm, possuem um grande saco vitelino, olhos não pigmentados, boca não formada e a pigmentação do corpo pode mudar ou não durante a absorção do vitelo (Leis & Carson-Ewart, 2004).

Família Pomacentridae

Os pomacentrídeos são maioritariamente peixes pequenos, normalmente coloridos, que ocupam uma grande variedade de nichos marinhos desde o territorial herbívoro a zonas perto de cardumes de zooplânctívoros. Estes organismos são de pouca importância comercial, excetuando o comércio para aquários. Esta família engloba vinte e nove gêneros e cerca de trezentas e noventa e duas espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). A grande diversidade e abundância de pomacentrídeos, especialmente nos recifes de coral, é um indicativo da sua grande importância ecológica. Habitam principalmente recifes tropicais, no entanto, algumas espécies vivem em lagoas arenosas protegidas, ou algumas espécies estuarinas

podem ser encontradas em água doce. Alimentam-se majoritariamente de algas filamentosas, fitoplâncton e zooplâncton (Weinheimer, 2003).

Os ovos são demersais, ovoides a elípticos e variam em tamanho de 0,7 a 4,0 mm de comprimento e de 0,4 a 1,2 mm de largura. As larvas eclodem com um comprimento de 2,1 a 4 mm. O desenvolvimento varia entre espécies, podendo as larvas recém eclodidas ter um pequeno ou já absorvido saco vitelino, uma boca formada ou não, olhos pigmentados ou não, e a pigmentação corporal não muda substancialmente durante a absorção do vitelo (Fujita, 1957; Fautin & Allen, 1992; Leis & Carson-Ewart, 2004).

Família Scatophagidae

Estes organismos são de tamanho pequeno a médio, eurialinos, omnívoros, com corpos comprimidos lateralmente e bocas pequenas. Esta família engloba dois gêneros e quatro espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos pelágicos de *Scatophagus argus* são pequenos (0,7-0,8 mm) e esféricos. O desenvolvimento larvar é desconhecido (Barry & Fast, 1992; Leis & Carson-Ewart, 2004).

Família Serranidae

Esta família compreende três sub-famílias: Epinephelinae, Serraninae and Anthiinae (Carvalho-Filho *et al*, 2016).

Sub-família Anthiinae

Estes serranídeos são de tamanho pequeno a médio, coloridos que permanecem nas redondezas dos recifes enquanto se alimentam de plâncton. Existem pelo menos vinte e nove gêneros e cerca de duzentas e quinze espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Carvalho-Filho *et al*, 2016). O gênero *Anthias* é considerado, pela maioria dos cientistas, um gênero confinado ao Atlântico e Pacífico oriental. No entanto, as espécies do Indo-Pacífico, que previamente foram colocadas no gênero *Anthias*, foram transferidas para o gênero *Pseudanthias*, tornando-se no maior gênero (Baldwin, 1990). Os ovos pelágicos de *Pseudanthias* e *Sacura* são esféricos e pequenos (0,65-0,80 milímetros de diâmetro). As larvas eclodem com 1,2-1,4 mm, têm um grande saco vitelino, olhos sem pigmentação, a boca não formada e a pigmentação do corpo muda substancialmente durante a absorção do vitelo (Suzuki *et al*, 1974, 1978).

Família Siganidae

Os peixes desta família são de tamanho pequeno a moderado, herbívoros que se encontram em recifes de coral, pradarias marinhas e estuários. Algumas espécies têm interesse econômico como alimento, sendo algumas consideradas para a aquacultura. Esta família consiste num gênero com vinte e nove espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Seis das sete espécies de *Siganus* desovam pequenos ovos esféricos (0,55-0,66

mm de diâmetro), demersais e extremamente aderentes (Leis & Richards, 1984). No entanto, os ovos de *Siganus argenteus* são pelágicos e com 0,62-0,68 mm de diâmetro (Popper *et al*, 1979). As larvas eclodem com cerca de 2 mm e possuem um grande saco vitelino, intestino esticado, boca não formada, olhos não pigmentados e a pigmentação do corpo não muda substancialmente durante a absorção do vitelo (Popper *et al*, 1979; Leis & Richards, 1984).

Família Toxotidae

Estes organismos apresentam um tamanho pequeno a moderado, que se alimentam de insetos que se encontram na vegetação, lançando jatos de água. Habitam em estuários de mangais e água doce. Esta família consiste num género e em sete espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). As larvas de *Toxotes jaculatrix* eclodem com aproximadamente 3 mm, com olhos não pigmentados, boca não formada e um grande saco vitelino. A pigmentação do corpo mantém-se constante durante a absorção do vitelo (Leis & Carson-Ewart, 2004).

Ordem Tetraodontiformes

Os peixes desta ordem são caracterizados por possuírem especializações extremas, como a perda ou redução de várias estruturas (raios de barbatanas, espinhos, etc.) ou a transformação de escamas em espinhos, placas ou tubérculos. Esta ordem é representada por dez famílias e aproximadamente quatrocentas e trinta espécies. Os Tetraodontiformes podem também ser chamados de Plectognathi. Os peixes desta ordem são maioritariamente marinhos, habitando principalmente em águas profundas ou podem ser encontrados em ambientes costeiros tropicais, recifes de coral ou em águas de temperatura elevada. Por outro lado, também podem habitar lagos e zonas de transição (Lim *et al*, 1999; Leis & Carson-Ewart, 2004; Alfaro *et al*, 2007; Bailey, 2017).

Os estádios larvares têm a tendência de ser curtos com uma transição de pequeno tamanho para a fase juvenil, que normalmente é pelágica por um período longo. Estes peixes podem atingir tamanhos até 200 mm, mesmo que o adulto seja bentónico (Aboussouan e Leis, 1984; Leis, 1984).

Família Balistidae

Os balistídeos são de tamanho moderado, carnívoros, com um longo focinho, boca pequena com dentes tipo incisivos e uma espinha robusta na barbatana dorsal. A maioria das espécies desta família são associadas a recifes de coral ou a fundos rochosos. Esta família engloba doze géneros do Indo-Pacífico e cerca de quarenta e duas espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos de *Balistes*, *Balistapus*, *Balistoidea*, *Canthidermis*, *Odonus*, *Pseudobalistes* e *Sufflamen* (e, provavelmente, todos os balistídeos) são

demersais, e aqueles que são descritos são esféricos e pequenos (0,5-0,6 mm de diâmetro). Os ovos são depositados numa depressão rasa na areia e são agressivamente guardados por um adulto (Aboussouan & Leis, 1984; Leis & Carson-Ewart, 2004). As larvas de *Balistes*, *Pseudobalistes* e *Sufflamen* eclodem com 1,6-2 mm, têm um saco vitelino, olhos sem pigmentação, a boca não formada e a pigmentação do corpo muda durante a absorção do vitelo (Aboussoun & Leis, 1984; Leis & Carson-Ewart, 2004).

Família Diodontidae

Os diodontídeos são de tamanho médio, redondos e caracterizados por possuírem espinhos (escamas modificadas) no corpo. O seu corpo é inflável, não possui barbatanas pélvicas e apresentam fortes dentes que se assemelham a bicos. São normalmente associados a recifes de corais, embora algumas espécies sejam encontradas em fundos moles. Apenas uma espécie é totalmente pelágica. Existem sete géneros e dezoito espécies (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos pelágicos de *Chilomycterus* e *Diodon* são esféricos e grandes (1,6-2,1 mm de diâmetro) (Leis, 1984). As larvas eclodem com 1,9-2,7 mm e possuem um grande saco vitelino. Outras características relativas ao desenvolvimento são dependentes das espécies em questão, podendo a boca estar ou não formada e os olhos podem ser levemente a muito pigmentados na eclosão. Aquando da eclosão, a abertura branquial está restrita a um pequeno poro. A pigmentação aumenta ao longo da absorção do vitelo (Leis, 1984).

Família Tetraodontidae

Os tetraodontídeos são alongados a redondos, carnívoros com fortes mandíbulas de esmagamento e com a habilidade de inflar. Os adultos podem ser encontrados em vários *habitats* diferentes, desde o mar aberto a recifes de coral. Apesar da sua toxicidade, os tetraodontídeos são comercialmente importantes. Existem cerca de vinte e nove géneros e duzentas espécies, sendo treze géneros e cerca de noventa espécies do Indo-Pacífico (Leis & Carson-Ewart, 2004; Eschmeyer & Fong, 2017). Os ovos são demersais. As larvas eclodem com 1,3-3,1 mm, podem possuir de pequenos a grandes sacos vitelinos, apresentam uma boca não formada, olhos levemente pigmentados e corpo pigmentado que muda notavelmente com a absorção do vitelo. As membranas das guelras são amplamente ligadas ao istmo na eclosão (Leis & Carson-Ewart, 2004).