

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**REPRODUÇÃO DE *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830)
ALIMENTADOS COM FARINHA DE LINHAÇA (*Linum
usitatissimum* L.) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES**

JUSSARA DE ALMEIDA GUERREIRO

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JULHO- 2012**

**REPRODUÇÃO DE *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830)
ALIMENTADOS COM FARINHA DE LINHAÇA (*Linum
usitatissimum* L.) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES**

JUSSARA DE ALMEIDA GUERREIRO

**Engenheira de Pesca
Universidade Federal do Ceará, 1983.**

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto

Coorientador: Prof. Dr. Leandro Portz.

CRUZ DAS ALMAS-BAHIA

JULHO-2012

FICHA CATALOGRÁFICA

G378

Guerreiro, Jussara de Almeida de.

Produção de *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830) alimentados com farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes concentrações / Jussara de Almeida de Guerreiro. – Cruz das Almas, BA, 2012.
106f.; il.

Orientadora: Norma Suely Evangelista Barreto.
Coorientador: Leandro Portz.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1. Peixe – Nutrição. 2. Peixe ornamental – Peixe Palhaço. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 639.3

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
JUSSARA DE ALMEIDA GUERREIRO**

Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
(Orientadora)

Prof. Dr. Ricardo Castelo Branco Albinati
Universidade Federal da Bahia - UFBA

Prof. Dr. Luís Gustavo Tavares Braga
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA
JULHO-2012**

Dedico a minha mãe:

Fausta de Almeida e Silva (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pela formação acadêmica.

À Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto, que se prontificou a me orientar e por participar dessa fase da minha jornada de vida.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Leandro Portz.

Ao amigo Alberto Oliveira Lima pelo apoio em todas as horas, pela materialização dessa pesquisa e principalmente pelas discordâncias que se tornaram devir.

Aos professores do Mestrado em Ciência Animal que foram importantes no desenvolvimento desse trabalho.

A Professora Dra. Carla Macedo e ao Prof. Dr. Clovis Matheus Pereira nos trabalhos no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura – NEPA-UFRB.

À Apoena Guerreiro Assis pela companhia, compreensão e paciência.

Ao casal de engenheiros de pesca Maria Silvinez Dell'Orto e Leonardo Dell'Orto.

À amiga Claudivane Miranda da Silva, ao Paulo Guerreiro, à Maria Claudia Miranda da Silva, à Mariama Teixeira da Silva, pelo apoio de sempre.

Ao Dr. José Wellington A. dos Santos pela ajuda na execução desse experimento.

À Iva Oliveira Lima, Néa, Juliana, meus agradecimentos pela amizade e incentivo.

À Arinalva Maria da Silva pela amizade construída durante o curso e ajuda incontestável.

Ao engenheiro de pesca João Bosco Rocha com sua forma alegre de ver a vida.

À Dona Ana Paixão que me acolheu em Cruz das Almas, minha eterna gratidão.

Aos colegas de trabalho da EBDA: Higina Nascimento, Lucidalva Barbosa, Wellington, Marta, João Batista Matos, Maria Luiza, Rosinha, Carla, Marilene, Samuel Leite, meus agradecimentos pelo apoio, convivência.

Às meninas do laboratório de microbiologia do NEPA e em especial a Rebeca Ayla Rosa da Silva, pelos ensinamentos sobre microbiologia e pela paciência, o que foi relevante para realização desse trabalho.

À Marilane Andrade Pereira na contribuição com as análises físico-químicas da água realizadas no NEPA.

Ao professor Dr. Gilmar Ferreira Alves, da UNEB, pelas informações valiosas.

À Prittty, ao Napô, à Lôla, ao Zulu, Lili e aos peixes palhaço, os animais dessa trama.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, e mesmo os que não tenham sido citados, meus sinceros agradecimentos.

**AGRADEÇO À EMPRESA BAIANA DE DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA –
EBDA, PELA OPORTUNIDADE DE REALIZAR O CURSO DE
MESTRADO.**

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	1
Capítulo 1	
ALIMENTAÇÃO DE REPRODUTORES DE PEIXE PALHAÇO (<i>Amphiprion ocellaris</i> Cuvier, 1830) E MANEJO DE CULTIVO	4
REVISÃO DE LITERATURA	6
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
Capítulo 2	
A FARINHA DE LINHAÇA (<i>Linum usitatissimum</i> L.) NA DESOVA DO PEIXE PALHAÇO (<i>Amphiprion ocellaris</i> Cuvier, 1830)	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
APÊNDICES	91

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1		Pág.
Quadro 1.	Composição de aminoácidos essenciais da linhaça dourada e marrom, em g 100g ⁻¹ de proteína	15
Quadro 2.	Teores nutricionais médios da linhaça dourada	17

LISTA DE TABELA

CAPITULO 2		Pag.
Tabela 1.	Composição centesimal das rações experimentais com inclusão de farinha de linhaça (FL) usadas no cultivo do peixe palhaço	45
Tabela 2..	Análise da composição químico-bromatológica das rações experimentais e da farinha de linhaça, usadas no cultivo do peixe palhaço	46
Tabela 3.	Média dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo do peixe palhaço em sistema de recirculação	53
Tabela 4.	Variação do teor de oxigênio dissolvido - OD (mg/L), no cultivo de peixe palhaço em sistema fechado de recirculação	55
Tabela 5.	Quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas no cultivo de peixe palhaço em sistema fechado de recirculação	57
Tabela 6.	Análises microbiológicas para <i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> e <i>Edwardsiella</i> , em três pontos de coleta (P1, P2 e P3), no cultivo de peixe palhaço, em sistema de recirculação de água	60
Tabela 7.	Quantidade total de ração (g) administrada, com diferentes percentuais de farinha de linhaça (FL), por tratamento, no cultivo do peixe palhaço	62
Tabela 8.	Variações dos parâmetros de crescimento no cultivo do peixe palhaço alimentados com rações contendo diferentes teores de farinha de linhaça (FL)	63
Tabela 9.	Parâmetros da relação peso-comprimento, por tratamento e por sexo, no cultivo do peixe palhaço	65
Tabela 10.	Fator de condição relativo (Kn) para fêmeas de peixe palhaço, em cultivo com sistema fechado de recirculação	66
Tabela 11.	Ocorrência de desovas (D) e Número de ovos (NO), por tratamento, no cultivo do peixe palhaço	68
Tabela 12.	Participação da farinha de linhaça (FL) nos teores de proteína bruta e extrato etéreo, em 100 g de dieta experimental utilizadas no cultivo do peixe palhaço	74

Tabela 13.	Composição de ácidos graxos em 100g de sementes de linhaça	75
-------------------	--	----

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 2		Pag.
Figura 1.	Diagrama esquemático do cultivo do peixe palhaço em sistema fechado de recirculação de água	43
Figura 2.	Unidades experimentais contendo as placas de cerâmica dispostas em forma de triângulo, como substrato para desova do peixe palhaço (adaptado de Wilkinson, 2003)	44
Figura 3.	Percentual de redução total de bactérias heterotróficas mesófilas entre o Ponto 01 (entrada do biofiltro) e Ponto 02 (saída do biofiltro e após passagem por luz UV), no cultivo de peixe palhaço	58
Figura 4.	Taxa de Crescimento Específico – TCE, média, por tratamento e por sexo, no cultivo do peixe palhaço	64
Figura 5.	Desovas do peixe palhaço no tratamento T2 com 5% de farinha de linhaça, evidenciando palidez em alguns ovos	69
Figura 6.	Coloração natural dos ovos de peixe palhaço. Da esquerda para a direita, da desova até a fase de pré-eclosão. Fonte: Wilkenson (2003)	70
Figura 7.	Desovas do tratamento T3 (15% FL). A Letra ‘a’, desova do casal T3-1 (nov /2011) com ovos fertilizados e a letra ‘b’ desova do casal T3-4 (set/2011) com coloração pálida, sem fertilização.	71
Figura 8.	Desovas do tratamento T3 (15% de FL), com ênfase para o casal T3-3. Letra ‘a’ desovas de julho/11; ‘b’ desova em outubro/11 e ‘c’ desova em novembro/11	71
Figura 9.	Papila genital do peixe palhaço no tratamento com 0% de FL (controle) sem alterações. As fêmeas não desovaram	77
Figura 10.	Papila genital abaulada do peixe palhaço no tratamento T2 (5% de FL). As fêmeas dos casais T2-1 e T2-3 desovaram e as fêmeas dos casais T2-2 e T2-4 apresentaram papilas genitais abauladas, mas não houve desovas	77
Figura 11.	Papila genital de fêmeas do peixe palhaço no tratamento T3 (15% de FL). A fêmea do casal T3-2 foi a única que não desovou. A fêmea do casal T3-3 apresentou papila genital hiperabaulada (detalhe)	78
Figura 12.	Papila genital das fêmeas do peixe palhaço no tratamento T4 (25% de FL). Em destaque para a papila genital da fêmea do casal T4-3, com abaulamento, mas não houve desovas	78

- Figura 13.** Papila genital de fêmeas do peixe palhaço no tratamento T5 (35% de FL). Em destaque a papila genital da fêmea do casal T5-3 com leve abaulamento, mas não houve desovas 79

LISTA DE FIGURAS

APÊNDICE	Pag.
Figura 1. Bateria de aquários onde foi realizado o cultivo do peixe palhaço. Da esquerda para direita: a frente; a parte de trás mostrando as saídas individuais de cada aquário	91
Figura 2. Comprimento total, Lt (cm) – medida da extremidade do focinho até a extremidade mais pronunciada da nadadeira caudal do peixe palhaço. Peso corporal total, Wt (g) – massa corporal do peixe vivo	91
Figura 3. Crescimento de bactérias heterotróficas mesófilas (48h; 36,8°C). NEPA, UFRB, 2011	92
Figura 4. Figura A - Meio de crescimento para <i>Pseudomonas</i> . Figura B - Crescimento de <i>Aeromonas</i> e <i>Edwardsiella</i> , após incubação. Figura C - Placas de isolamento de <i>Aeromonas</i> , Meio Ágar Mac Conkey (rosa) e <i>Edwardsiella</i> , GSP (laranja). NEPA, UFRB, 2011	92
Figura 5. Meio de preenchimento do biofiltro em ordem de sobreposição do fundo para a superfície. A – Pedras calcárias; B – Casca de ostras; C – Casca de ostra triturada; D – <i>Halimeda</i> ; C - Cascas de ostra e <i>Halimeda</i> embaladas em bolsas teladas.	93
Figura 6. Maturação do biofiltro. Da esquerda para a direita o processo de redução a níveis não detectáveis dos teores de nitrito, em sistema fechado de recirculação de água, antes do povoamento da bateria de cultivo do peixe palhaço	93

REPRODUÇÃO DE *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830) ALIMENTADOS COM FARINHA DE LINHAÇA (*Linum usitatissimum* L.) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

Autora: Jussara de Almeida Guerreiro

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto

RESUMO: Objetivou-se verificar se dietas isoproteicas com diferentes níveis de farinha de linhaça (FL), alimento com propriedades funcionais, influenciam o processo reprodutivo do peixe marinho ornamental *A. ocellaris*, em sistema fechado de recirculação, no período de maio a novembro/2011. Foram utilizados 20 casais segregados, sem alcançarem a primeira maturação sexual, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições. Monitoraram-se os parâmetros físico-químicos da água como: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, salinidade, amônia total e nitrito. Observaram-se os caracteres sexuais secundários e registrou-se o comprimento e peso total, o nº de desovas e de ovos. Os níveis de inclusão de FL por tratamento foram: 0%(controle), 5%,15%, 25% e 35%. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey e Dunnet a 5% e os dados através do teste t (Student, $\alpha=0,05$). Os parâmetros físicos e químicos da água não variaram ($p>0,05$) atendendo as necessidades dos peixes e micro-organismos. No biofiltro houve redução da amônia total em níveis não detectáveis e do nitrito em 36,63%. Não ocorreu bactérias patogênicas como as *Pseudomonas* e *Aeromonas*, porém a *Edwardsiella* foi detectada apenas no início do cultivo, sem manifestações. A esterilização através da luz UV controlou as bactérias heterotróficas mesófilas e inativou as patogênicas. Os peixes desovaram somente nos tratamentos com 5% e 15% de FL. A alometria foi negativa ($b<3$) para ambos os sexos. O fator de condição relativo médio (Kn) para as fêmeas indicou bem estar dos peixes durante o cultivo. A inclusão de 5% de FL apresentou melhor potencial como alimento que pode influenciar as atividades reprodutivas do peixe palhaço, embora mais estudos precisem ser realizados e com maior tempo de experimentação.

Palavras-chave: alimento funcional, desova, alometria, condição

REPRODUCTION OF *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830) FED WITH LINSEED MEAL (*Linum usitatissimum* L.) IN DIFFERENT CONCENTRATIONS

Author: Jussara de Almeida Guerreiro

Advisor: Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto

ABSTRACT: This study aimed to verify whether isoproteic diets with different percentages of linseed meal (LM), a functional food, influence the reproductive activity the ornamental marine fish *A. ocellaris*, in closed recirculation system. It was conducted from May to November/2011. There followed a completely randomized design with five treatments and four replications. We monitored physical-chemical parameters of water (temperature, pH, dissolved oxygen, alkalinity, salinity, total ammonia, nitrite). Were observed the secondary sexual characteristics and registered length, weight, number of nests and eggs. The inclusion levels of linseed by treatment were: 0% (control), 5%, 15%, 25% and 35%. These means were compared by Tukey test (5%), Dunnet test (5%) and parameters by Student's test t ($\alpha=0,05$). The physical and chemical parameters of the cultivation water did not differ ($p > 0.05$) meeting the needs of fishes and micro-organisms. In the biological filter was reduced total ammonia in undetectable levels and nitrite in 36.63%. There was no occurrence of opportunistic pathogenic bacteria such as *Pseudomonas* and *Aeromonas*, but *Edwardsiella* gender was present at the beginning of cultivation, without demonstrations. Sterilizing with ultraviolet light kept control of mesophilic heterotrophic bacteria and inactivation of pathogens. Spawning occurred in treatments with 5% and 15% of LM. The allometry was negative ($b < 3$), for both sexes, with the addition of growth in weight. The mean relative condition factor (K_n) for females ($p > 0.05$) indicating welfare in fish farming. The percentage of linseed meal 5% has potential for use as a food that can influence reproductive activities of clownfish, requiring further studies with longer trial.

Key-words: functional food, spawning, allometry, condition.

1. INTRODUÇÃO

Na última década o desenvolvimento tecnológico na produção aquícola, tanto de peixes ornamentais como de corte, melhorou o atendimento na demanda de formas jovens de peixes, tais como, larvas, pós-larvas e alevinos. Mesmo assim ainda depende-se da coleta natural desses indivíduos no meio ambiente o que causa permanente insegurança ao pequeno produtor em relação à continuidade do cultivo. Para que o processo de produção de peixes se desenvolva e contribua com o fornecimento e atendimento crescente na demanda de alimentos é necessário que haja disponibilidade de alevinos para a comercialização e cultivo.

Atualmente cerca de 300 espécies de peixes são cultivadas em todo o mundo em diferentes sistemas de produção e níveis tecnológicos (FAO, 2012). Navarro (2010) ressalta e recomenda que os avanços tecnológicos não devam visar somente o desempenho produtivo, mas também dar atenção ao processo de desenvolvimento reprodutivo, a qualidade de óvulos e de espermatozoides, a fim de garantir maior produção de gametas e conseqüentemente larvas e alevinos.

Os nutrientes exigidos na fase reprodutiva são diferentes das outras fases de desenvolvimento dos peixes. Deficiências nas dietas dos reprodutores e diferentes períodos de fornecimento dos nutrientes afeta a qualidade dos gametas, gerando proles deficientes, uma vez que não permite o estoque de nutrientes requeridos nas primeiras etapas do desenvolvimento do animal (IZQUIERDO et al.,2001).

Uma das limitações em se estudar a nutrição de reprodutores de peixes é a exigência de instalações específicas para manter os indivíduos adultos e a disponibilidade de água, sendo que todos esses fatores ocasionam custos elevados. Assim os peixes ornamentais podem ser utilizados em pesquisas puras, aplicadas e em diversas outras áreas do conhecimento, pois exigem pequenas

instalações e custos mais baixos para realizar experimentos que exigem períodos de testes mais longos (NAVARRO et al., 2009; NAVARRO et al., 2010). Tais pesquisas podem ser realizadas utilizando sistemas fechado de recirculação de água, cujas vantagens é não depender das condições climáticas, promover a redução no uso da terra e da infraestrutura física necessária para o cultivo, além de ter a capacidade de se integrar com atividades agrícolas. É uma necessidade imperativa minimizar o uso da água e o impacto sobre os recursos hídricos e um sistema de recirculação reflete essa preocupação (HUTCHINSON et. al., 2004).

Segundo Timmons et al.(2006) o cultivo em sistemas fechado de recirculação exige conhecimento das interações constantes e contínuas entre a qualidade de água, a produção, a coleta de resíduos e os organismos cultivados (peixes e micro-organismos), devendo-se monitorar os parâmetros físico-químicos da água e manter o controle de bactérias heterotróficas pois assim como decompõem a matéria orgânica competem com as nitrificadoras por espaço, oxigênio e nutrientes. Todas essas informações são subsídios para contribuir com o desenvolvimento da tecnologia de recirculação de água na aquicultura brasileira.

Quanto aos programas nutricionais para reprodutores de peixes marinhos ornamentais e de corte estes geralmente se baseiam no uso de biomassa de origem animal *in natura* e/ou congelada, tais como, peixes, lulas, dentre outros e no uso de rações secas tendo a farinha de peixe como fonte proteica (WATANABE, VASSALLO-AGIUS, 2003; WU LILIAN, 2009). Muitos desses alimentos apresentam custos elevados não só do ponto de vista econômico como ambiental. Uma alternativa que tem sido alvo de pesquisas é a substituição do alimento de origem animal tradicionalmente utilizado por um de origem vegetal, o que constitui um avanço no processo de conscientização da sustentabilidade das atividades produtivas.

Um vegetal oleaginoso considerado um alimento com propriedades funcionais, que além de seus nutrientes, possui componentes adicionais que produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde é a linhaça (*Linum usitatissimum* L.) (COLLINS et al., 2003). Além de ser fonte de proteínas e ácidos graxos poliinsaturados, possui um composto bioativo importante em suas sementes, que são as lignanas, um fitoquímico com estrutura química e atividades semelhantes ao estrogênio endógeno, denominado fitoestrógeno.

Segundo Tou et al.(1998) podem ter ação estrogênica quando interagem com os hormônios sexuais endógenos e antiestrogênica quando competem com os estrógenos pelos sítios de ligação de seus receptores evitando a ação desses hormônios, que muitas vezes pode ser negativa.

A semente de linhaça tem sido principalmente utilizada como complemento alimentício para aves, coelhos, ruminantes e pescado, com o intuito de melhorar os teores de ácidos graxos da família ômega-3 e a relação ω -6/ ω -3 de animais, destinados à alimentação humana (VISENTAINER et al., 2003; HAYASHI et al., 2004; SANTOS et al., 2007; MARQUES, 2008; ALMEIDA et al., 2009). Contudo, existem poucos trabalhos abordando em profundidade os efeitos das propriedades funcionais da linhaça no processo reprodutivo de peixes marinhos.

2. OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito da inclusão de diferentes níveis de farinha de linhaça dourada (*Linum usitatissimum* L.) em dieta experimental, como possível indutora do processo reprodutivo do peixe marinho ornamental *Amphiprion ocellaris*, o peixe palhaço.

2.1 Objetivos específicos

- Discorrer sobre a nutrição de reprodutores de peixe palhaço *A. ocellaris* e ingrediente vegetal alternativo que possa suprir a necessidade nutricional dessa etapa específica de seu desenvolvimento;
- Determinar o efeito da inclusão da farinha de linhaça, em dietas, em diferentes níveis, na desova de reprodutores do peixe palhaço *A. ocellaris*, em sistema fechado de recirculação de água.

CAPÍTULO 1

ALIMENTAÇÃO DE REPRODUTORES DE PEIXE PALHAÇO (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) E MANEJO DE CULTIVO

INTRODUÇÃO

A produção aquícola de peixes marinhos, tanto ornamentais como de corte é influenciada por fatores ambientais, sociais e nutricionais; em particular, pelo desempenho nutricional dos reprodutores que passa a ser preponderante, pois está relacionado com o desenvolvimento gonadal (produção de ovócitos e espermatozoides), fecundidade, eclosão e bem estar da larvicultura (LUQUET et al., 1986; BROMAGE, 1995; NAVAS et al., 1998; IZQUIERDO, 2001; NAVARRO, 2010).

Na aquicultura, algumas espécies de peixes são induzidas a se reproduzirem com a administração de hormônios gonadotróficos naturais e/ou artificiais, mas precisam de dietas que atendam suas necessidades nutricionais para conseguirem alocar energia e transformar parte dessas em produção de gametas, garantindo com isso sua continuidade (VAZZOLER, 1996).

Nos últimos anos o setor aquícola tem enfrentado um aumento considerável dos preços da farinha de peixe proveniente do extrativismo, causados pelo aumento da demanda que acompanha o crescimento da aquicultura (TACON & METIAN, 2008), o que tem forçado os aquicultores a substituírem a farinha de peixe por ingredientes com custos mais baixos, tais como os de origem vegetal, como a soja e produtos provenientes da indústria de processamento do pescado e de aves (rejeitos) (SCOPEL, 2010). Apesar dos avanços, nas últimas décadas, em reduzir os níveis de farinha de peixe em rações comerciais para peixes, tornam-se necessários maiores esforços de pesquisadores para atingir um nível completo de substituição na alimentação de espécies marinhas (HARDY, 2010).

Este trabalho objetiva discorrer sobre a nutrição de reprodutores de peixe palhaço *A. ocellaris*, e ingrediente vegetal alternativo que possa suprir a necessidade nutricional dessa etapa específica de seu desenvolvimento.

REVISÃO DE LITERATURA

1. O peixe palhaço (*Amphiprion ocellaris*)

O peixe palhaço (*Amphiprion ocellaris*) é mais conhecido como falso percula por apresentar semelhanças anatômicas ao *Amphiprion percula* (o peixe palhaço verdadeiro), também é denominado anemonefish, *clownfish* ou Nemo. Essa espécie, inicialmente proveniente da captura em ambiente natural adaptou-se ao ambiente de aquário, tornando uma das espécies mais populares no comércio mundial de peixes marinhos ornamentais (ALLEN, 1972; HOFF, 1983; DELBARE et al., 1995; RODRIGUES, 2002).

Os peixes palhaço pertencem a Família Pomacentridae, subfamília Amphiprioninae que apresenta características sexuais hermafroditas protândricas, ou seja, as gônadas funcionam primeiramente como masculinas (VAZZOLER, 1996). Existem 29 espécies identificadas, sendo 28 pertencentes ao Gênero *Amphiprion* e uma espécie ao Gênero *Premnas* (WILKERSON, 2003). Têm como habitat natural as águas tropicais e subtropicais dos Oceanos Índico e Pacífico, principalmente os recifes de corais encontrados em grande parte no sudeste asiático, Austrália e em ilhas ao sul do Japão, mas também ocorrem em menor quantidade no Mar Vermelho (ALLEN, 1972).

São denominados de anemonefishes (peixes de anêmonas) pela sua estreita relação de simbiose com as anêmonas, cuja capacidade adaptativa de convivência foi adquirida através da cobertura de muco que os protege de picadas e tentáculos urticantes. As anêmonas fornecem refúgio e proteção para os peixes palhaço, suas proles e ninhos e se beneficiam dessa relação com o consumo de parasitas e pela maior circulação de água causada pelos peixes, devido suas atividades no local e proximidades (HOFF, 1983). São também considerados

excelentes peixes para modelo de referência em experimentação científica, pois toleram bem o estresse de manipulação em ambiente de aquários, aceitam bem dietas artificiais e convivem com a maior parte das espécies de peixes marinhos ornamentais disponíveis no mercado (VARGHESE, 2004).

2. Reprodução do peixe palhaço

Quanto ao processo reprodutivo os peixes palhaço, em ambiente natural ou em aquários coletivos, formam unidades sociais compostas de um macho e uma fêmea e vários machos menores não reprodutivos. Dentro de cada grupo há um tamanho baseado na hierarquia de dominância: a fêmea é o peixe maior, o macho funcional é o segundo maior e os não reprodutivos desenvolvem um mecanismo de controle do crescimento, pois a hierarquia é descendente (BUSTON, 2003; WILKERSON, 2003). O macho reprodutor impede todos os outros de acasalarem com a fêmea funcional. No entanto, se a fêmea de um grupo morre, dois fenômenos podem ocorrer, ou o macho dominante migra para outro território e tenta ser adotado por outra fêmea ou ele muda de sexo, em um processo denominado protandria, torna-se fêmea, ao mesmo tempo em que o maior dos machos não reprodutivos cresce e se torna o reprodutor funcional. Este processo é denominado de supressão protândrica, entretanto esse mecanismo ainda não se encontra totalmente elucidado e ainda necessita de maiores esclarecimentos quanto aos mecanismos envolvidos (ALLEN, 1972; HOFF, 1996; BUSTON, 2003; CASADEVALL et al., 2009).

Esses peixes se reproduzem em cativeiro, apresentam desovas contínuas e necessariamente não precisam das anêmonas como indivíduo simbiote. O comportamento de reprodução ocorre com a construção de um ninho, perto da anêmona em substratos de rocha e, em aquários, constroem ninhos em jarros de cerâmica, telhas, azulejos, etc. No momento da desova o macho persegue a fêmea até o ninho, quando ocorre a liberação dos óvulos, para fertilizá-los e exerce o cuidado parental até a eclosão. Os ovos são aderentes, inicialmente apresentam cor alaranjada, medindo cerca de 3 a 4 mm de comprimento e a quantidade varia de acordo com a idade da fêmea, podendo alcançar cerca de 100 a 1.000 ovos por desova. O tempo de incubação é de 6 a 8 dias, seguido de

estágio larval planctônico de 8 a 12 dias, onde se transformam em juvenis (ALLEN, 1972; HOFF, 1996; WILKERSON, 2003).

Em ambiente natural o período reprodutivo depende do clima, variações ambientais e a latitude. Em cativeiro desovam o ano todo, com menor frequência no período do inverno caso não se tenha controle de temperatura (WILKERSON, 2003).

Os peixes em época de acasalamento têm comportamentos característicos, chamados de comportamentos reprodutivos, tais como, movimentos natatórios diferenciados, sinais sonoros e visuais, como apresentação de coloração, intumescimento e crescimento de apêndices. Muitas espécies usam cores para se camuflar e atrair o sexo oposto ou desenvolvem caracteres sexuais secundários. A família Pomacentridae apresenta caracteres sexuais secundários, tais como, cuidado parental, cores mais brilhantes, machos menores que as fêmeas, fêmea com ovopositor, papila genital pigmentada e intumescida (WILKERSON, 2003). Segundo Vazzoler (1996), peixes que já tem uma única estratégia reprodutiva também apresentam variações nesse padrão tais como adaptações anatômicas, fisiológicas, comportamentais e energéticas. Essas adaptações são as táticas reprodutivas que neles se desenvolvem em resposta a flutuações ambientais.

3. Nutrição e alimentação de reprodutores de peixe palhaço

Os peixes palhaço são onívoros e em ambiente natural ingerem os alimentos disponíveis, como algas, zooplâncton, isópodes e restos de alimento da anêmona hospedeira. Em cativeiro têm consumido alimento vivo (rotíferos, artêmias) e alimento artificial como rações secas e úmidas (ex: patês). Hoff (1996) descreveu inúmeros aspectos referentes aos requerimentos nutricionais para os peixes palhaço, onde propôs algumas dietas contendo ingredientes voltados para transição do alimento vivo para o inerte, para pigmentação e crescimento, tais como alimentos vivos como copépodos, rotíferos, artêmias; dieta seca em pequenas partículas, farinha de krill, mistura de alimentos naturais *in natura* como

carne de crustáceos, moluscos, coração de galinha e ova de peixes e crustáceos.

Na fase reprodutiva os peixes têm exigências diferenciadas das outras etapas do desenvolvimento. Os primeiros estudos sobre a influência de dietas artificiais adequadas para o período de pré-desova, com peixes marinhos, foram feitos por Watanabe et al.(2003), no Japão, com a espécie *Pagrus auratus* e observaram o impacto positivo na qualidade de ovos e larvas. Izquierdo et al.(2001) enfatizaram que a estocagem e a concentração de nutrientes como proteínas, lipídios, vitaminas e minerais são exemplos de parâmetros que interferem no desenvolvimento eficiente e saudável dos peixes.

Izquierdo et.al. (2001) relataram que a fecundidade de várias espécies de peixes marinhos pode ser afetada tanto pela influência do desequilíbrio no sistema endócrino ou pela restrição na dieta de um componente importante na formação do ovo. A manutenção de plantéis de reprodutores em condições de regimes nutricionais adequados leva a um aumento da produção e disponibilidade de larvas, alevinos e juvenis (ALVAREZ-LAJONCHERE, 2006).

Dentre os mais importantes nutrientes para a reprodução, crescimento e produção de peixes destacam-se as proteínas, que são constituintes do tecido animal e responsáveis pela formação de enzimas e hormônios (PEZZATO, 2001). São moléculas complexas constituídas de 20 aminoácidos. Com exceção da água, a maior parte da composição do corpo dos peixes é de proteínas, em média, de 15 a 20%, sendo que este teor proteico varia com a espécie e o estágio de vida (SANTOS, 2004).

Os peixes palhaço necessitam de uma dieta proteica balanceada, contendo todos os aminoácidos essenciais (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) não são sintetizados pelo organismo e precisam estar presente na alimentação (PEZZATO, 2001). De acordo com o NRC (2011) durante a digestão da proteína esta é hidrolisada pelas enzimas digestivas secretadas pelo trato gastrointestinal, liberando peptídeos e aminoácidos livres, que serão absorvidos pelo intestino e distribuídos pela corrente sanguínea para diferentes órgãos e tecidos que virão a ser utilizados para sintetizar novas proteínas e irão promover o crescimento, reprodução e a manutenção dos organismos aquáticos.

Wilkerson (2003) relata que a proteína bruta para o cultivo de peixes

palhaço deve variar de 50 a 60%, mas segundo Pezzato et al.(2009), dietas com altos teores proteicos provocam altas taxas de excreção nitrogenada exigindo maiores investimentos em manejo, principalmente em sistema fechado com recirculação, para não poluir a água de cultivo, além do nível de proteína dietética recomendado variar conforme a fase de desenvolvimento como crescimento e reprodução. Varghese et al.(2009) trabalharam com dietas para reprodutores de *Amphiprion sebae* contendo carne de cefalopode *Sepia* (59,50%PB), camarão de profundidade (56,03%PB), carne de mexilhão (49,54%PB), gônadas maduras de mexilhão (59,50%PB) e carne de lula (70,06%PB), e demonstraram que a dieta com carne de cefalopode *Sépia* com baixo teor de lisina (4,5%) e alto teor de arginina (10,16%) teve o melhor desempenho quanto à produção de ovos (1.521±264 ovos) e a carne de mexilhão com alto teor de lisina(15,79%) e baixo teor de arginina (5,29%) teve o menor desempenho (1.025±232 ovos). As dietas de maturação para peixe palhaço, quanto ao teor proteico, necessitam de mais pesquisas, principalmente quanto ao desbalanceamento de aminoácidos das fontes proteicas, além do que cada grupo apresenta habitat, nichos específicos ao longo da evolução nutricional.

Outros componentes que merecem destaque na dieta dos peixes palhaço são os lipídios. A composição lipídica e de ácidos graxos nas dietas de reprodutores foi relatada como os principais fatores que determinam o sucesso reprodutivo e a sobrevivência da prole. Os ácidos graxos de cadeia longa, poliinsaturados, como os EPA's (eicosapentaenóico) e AA (ácido araquidônico), tem se mostrado fundamentais como precursores nas taxas de fertilização de muitos peixes marinhos (IZQUIERDO et al., 2001).

Segundo Ribeiro et al.(2007), ao contrário das espécies de peixes de água doce, os peixes marinhos precisam de HUFA (ácidos graxos altamente insaturados) da série n-3 como o EPA e o DHA, em sua dieta, devido a sua inabilidade para sintetizá-los.

Os ácidos graxos poliinsaturados da família n-6 e n-3 (PUFAs) influenciam os processos reprodutivos através de diferentes mecanismos. São precursores da síntese de prostaglandinas e podem modular a expressão de padrões de muitas enzimas-chave requeridas em diferentes tecidos do sistema reprodutivo refletindo a importância da dieta alimentar. Os lipídeos provenientes da dieta e processados

pelas gônadas dos peixes são os componentes que tem o maior efeito sobre a composição do ovo (RAINUZZO et al., 1997). Os espermatozoides requerem alto conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA's) para fornecer fluidez à membrana plasmática durante a fecundação (WATHES et al., 2007). Segundo Lima (2010) uma dieta com deficiência de HUFA's gera indivíduos *miss-band* (padrão diferenciado de coloração) que tem baixa aceitação comercial. Segundo Varghese et al. (2009) o requerimento de n-3 HUFA para reprodutores de peixes deve estar entre 17 a 20% do total de ácidos graxos na dieta, pois tanto a deficiência como o excesso interferem de forma negativa na fecundidade, incubação e viabilidade dos ovos.

Pouco se conhece da necessidade de carboidratos para peixes marinhos e segundo Lima (2010) algumas dietas comerciais tem usado ingredientes de origem vegetal como fonte de carboidratos, o que exige mais estudos sobre a importância desse nutriente na formulação de dietas, principalmente para o peixe palhaço.

Entre os carotenóides, a astaxantina influencia na qualidade dos ovos, no desenvolvimento normal do embrião e larva dos peixes (IZQUIERDO et al., 2001). Entretanto o exato papel dos carotenóides em dietas de reprodutores ainda precisa de mais pesquisas, pois contribuem com uma grande variedade de funções, como fotoproteção, influência no sistema imunológico, fonte de provitamina A, que é componente do pigmento rodopsina, encontrado na retina e tem ação na absorção de luz em diferentes habitats, o que melhora a captura do alimento vivo (NRC, 2011; VARGHESE et al., 2009).

Outro importante nutriente para reprodutores de peixes são as vitaminas lipossolúveis A, C e E. A deficiência de vitamina E (α -trocoferol e derivados) afeta o desempenho reprodutivo causando gônadas imaturas e menor taxa de eclosão e sobrevivência de larvas (LOVELL, 1998). As vitaminas A, E e C atuam conjuntamente como antioxidantes nas membranas celulares, protegendo-a da oxidação de ácidos graxos e do colesterol, além de inibir ou diminuir a produção e ação de radicais livres. Izquierdo et al. (2001) e Navarro (2009) sinalizaram que essas vitaminas tem importante papel nas células espermáticas, na espermatogênese e fertilização pois reduzem o risco de peroxidação dos lipídeos que tem ação deteriotiva na motilidade espermática. A sobrevivência do embrião e seu desenvolvimento pode ser afetado pelo conteúdo de vitaminas tais como a

C na dieta dos reprodutores, uma vez que esta é necessária na síntese do colágeno durante o desenvolvimento embrionário

A vitamina D é encontrada na natureza em duas formas: ergocalciferol (D₂) e colecalciferol (D₃). A forma D₂ os peixes utilizam muito pouco ou quase nada. Peixes como trutas usam D₃ três vezes mais eficiente que a D₂. Contudo pouca pesquisa tem sido feita sobre o metabolismo da vitamina D em peixes, mas pode ser dito que fisiologicamente o papel da vitamina D₃ em grande parte dos peixes é similar aos animais homeotérmicos, onde é o precursor do 1,25-dihydroxycholecalciferol que são importantes na ação dos hormônios reguladores, o que condiz com a utilização da vitamina D em processos reprodutivos de vertebrados em geral (LOVELL, 1998).

Todos os organismos aquáticos requerem elementos inorgânicos ou minerais para seus processos vitais, como formação do esqueleto, regulação equilíbrio ácido-base, manutenção do sistema nervoso e endócrino, além de serem componentes de hormônios e enzimas. Os peixes em geral tem a habilidade de absorverem minerais do meio ambiente tais como os sete macrominerais (Ca, Mg, Na, K, Cl, P e S) e quinze elementos traços essenciais, entre eles tem o Cr, Cu, Co, F, I, Fe, Mn, Mb, Se e Zn (PEZZATO et al., 2008).

A energia utilizada pelos animais em todos os processos de vida provém da oxidação do metabolismo dos carboidratos, gorduras e aminoácidos. A exigência de energia de manutenção para os peixes é menor do que os animais homeotérmicos porque são pecilotérmicos e gastam menos energia para manter a temperatura corporal; excretam passivamente os metabólitos nitrogenados na água em forma de amônia no lugar de uréia ou ácido úrico e usam com menos atividade muscular para manter o equilíbrio no meio aquático. Por outro lado a atividade reprodutiva exige um teor elevado de energia, para gerar ovos e larvas de qualidade, principalmente os peixes de desova contínua e os que exercem cuidados parentais (PEZZATO et al., 2008).

4. Ingrediente de origem vegetal em dietas para reprodutores de peixes

Os programas nutricionais para reprodutores de peixes marinhos, que objetivam a promoção de maturação gonadal, alta fecundidade e produção viável

de ovos, se baseiam tradicionalmente no uso de dietas com matéria-prima, de origem animal, com elevado teor proteico, acima de 50% de proteína bruta, tais como biomassa de peixes, moluscos, crustáceos; crua, congelada e na forma de farinha em dietas secas como rações peletizadas e/ou extrusadas (WATANABE & VASSALLO-AGIUS, 2003; WU LILIAN, 2009).

A farinha de peixe ainda é a base proteica principal de alimento da aquicultura (FAO, 2010). Autores como Rocha et al.(2008), discorrem sobre as desvantagens no uso farinha de peixe de pescado oriunda do extrativismo e não do resíduo do pescado, para produção de peixes, pois exige mão de obra qualificada, infraestrutura física para o acondicionamento e armazenamento, custos de produção elevados em cerca de 80%, além do aumento dos encargos financeiros com o alimento. A produção de farinha de peixe proveniente do resíduo do pescado favorece o meio ambiente, mas exigem um tempo maior para difusão das tecnologias, principalmente ao nível do aquicultor familiar e maior empenho do poder público e privado para estruturar a coleta e reaproveitamento desses resíduos.

Novas pesquisas devem ser desenvolvidas quanto ao requerimento nutricional de reprodutores de peixes e uma das linhas de estudo concentra-se na necessidade de reduzir a dependência de matéria prima de origem animal, e encontrar novas fontes proteicas alternativas mais econômicas e de qualidade, com disponibilidade de mercado estável. Meurer & Hayashi (2003) relatam que o desenvolvimento de novas tecnologias de processamento de matérias primas, tem permitido a inclusão de ingredientes de origem vegetal em dietas para peixes, permitindo a inativação ou destruição de fatores antinutricionais restritivos. E mesmo que o sistema digestivo dos monogástricos, no qual os peixes estão incluídos, não produza a enzima que degrada a celulose, várias espécies de peixes tem atividade microbiana no trato intestinal, principalmente no intestino grosso e ceco, que possibilita a absorção de carboidratos amiláceos (PEREIRA-FILHO, 1992; HAYASHI et al., 2000; NUNES et al., 2006; OISHI, 2007).

Atualmente existe uma grande variedade de nutrientes de origem vegetal que podem ser utilizados na produção aquícola. Tem-se as oleaginosas, as proteaginosas, os cereais e os organismos unicelulares como leveduras, algas bactérias e fungos (TACON, 1994; OLIVEIRA, 2003; TAKAHASHI, 2005; PEREIRA JUNIOR, 2006; OISHI, 2007; SANTOS et al.,2008; FAO, 2010).

Existem poucos estudos sobre a viabilidade de inclusão de nutrientes de origem vegetal que possam influenciar diretamente nos processos reprodutivos. Um das alternativas é utilizar um alimento funcional, de origem vegetal, que além de suprir a demanda nutricional é capaz de produzir efeitos metabólicos e fisiológicos benéficos à saúde, e dentre esses alimentos destaca-se a linhaça (*Linum usitatissimum* L.). Considerado um alimento funcional, pois além de alto teor proteico e lipídico com elevada concentração de ácidos graxos poliinsaturados, contém flavonoides (antioxidantes) e lignanas. As lignanas são fitoquímicos, denominados fitoestrógenos, encontrados na semente da linhaça com casca, semelhantes ao estrogênio e tem sido relacionado com ação hormonal e desenvolvimento reprodutivo, principalmente dos humanos (MARQUES, 2008).

Os alimentos funcionais segundo Brasil (1999) "... é todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumidos na dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e /ou benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica". A manipulação de dietas para animais com esses alimentos tem sido alvo de pesquisas com o propósito de melhorar o crescimento e outras ações metabólicas.

As técnicas indutoras de desovas de peixes envolvem a manipulação do meio ambiente (como a variação do fotoperíodo, da temperatura, da salinidade) e indução hormonal. Porém algumas espécies não tolera o estresse de manipulação no período de desova, causando desgaste físico e podem levar a imunossupressão e alta mortalidade após desova principalmente de fêmeas (ZANIBONI FILHO et al., 2007; DIAS et al., 2011). Os alimentos funcionais compondo dietas para reprodutores de peixes tem influenciado no aumento da produção de ovócitos e produção de ovos, na fecundidade e no desenvolvimento inicial das larvas, não só em espécies que apresentam desovas parceladas mas tem reduzido a quantidade de hormônios aplicados em espécies de desova total (IZQUIERDO et al., 2001; SIGNOR, 2009).

5. A Linhaça (*Linum usitatissimum*)

A linhaça (*Linum usitatissimum*) é um vegetal que pertence a família das Linacea. Produz sementes oleaginosas e seu uso era direcionado principalmente para extração de óleo, usado na fabricação de tintas, resinas e na indústria alimentícia, atualmente se destaca como importante alimento funcional, muito usada em benefício à saúde humana devido a seu elevado teor nutricional, sendo fonte de proteína, fibras, lipídios e em especial o ácido alfa-linolênico, além de fitoquímicos (MORRIS, 2007).

Os maiores produtores de linhaça são o Canadá, Estados Unidos, Índia e China, e na América do Sul, destacam-se a Argentina e o Brasil (TRUCOM, 2006; MORRIS, 2007). No Brasil, a linhaça é conhecida como linhaça marrom e linhaça dourada devido à coloração da casca. Segundo Epaminondas (2009) a linhaça marrom apresenta valores nutricionais semelhantes ao da dourada, e ambas contém proteínas que fornecem todos os aminoácidos essenciais (Quadro 01).

Quadro 01 – Composição de aminoácidos essenciais da linhaça dourada e marrom, em g 100g⁻¹ de proteína

Aminoácidos	Linhaça Dourada (¹)	Linhaça Marrom (¹)
Arginina	9,4	9,2
Histidina	2,3	2,2
Isoleucina	4,0	4,0
Leucina	5,9	5,8
Lisina	3,9	4,0
Metionina	1,4	1,5
Fenilalanina	4,7	4,6
Treonina	3,7	3,6
Triptofano	1,8	1,8
Valina	4,7	4,6
Proteína Bruta (%)	18-29	

Fonte: ¹EPAMINONDAS, 2009; ² FURUYA, 2010.

As sementes de linhaça contêm fibra bruta em torno de 28% do peso seco, dentre essas se encontram as fibras solúveis (mucilagens, gomas e pectinas) que variam em cerca de 6 a 11% e as insolúveis (celuloses e lignanas) com teores que variam de 17 a 28% (MACIEL, 2006; MARQUES, 2008).

Na linhaça os fitoestrógenos lignanas são encontradas somente nas sementes com casca na forma de secoisolariciresinol diglicosídeo (SDG), matairesinol e piroresinol e são convertidos pela ação bacteriana no intestino em enterodiol e enterolactona. As lignanas vegetais apesar de serem consideradas fibras insolúveis são compostos fenólicos complexos, que se apresentam associados aos carboidratos das paredes celulares das plantas (EPAMINONDAS, 2009). Morris (2007) relata que em 15g de semente de linhaça encontra-se cerca de 77 a 209 mg de SDG e a mesma quantidade na forma de farinha de linhaça contem cerca de 56 a 152 mg de SDG. Segundo Tou et al. (1998), as lignanas tem ação estrogênica e antiestrogênica a depender da concentração ingerida, ou seja, é dose-dependente. Com ação estrogênica, substituem o hormônio endógeno, geralmente em baixas concentrações e com ação antiestrogênica competem com os sítios de ligação dos receptores de estrógenos, evitando alguns de seus efeitos negativos.

Os fatores antinutricionais presentes na linhaça são os glicosídeos cianogênicos, mas em dosagem muito baixa nas sementes e não causam prejuízos ao consumo (OOMAH et al., 2001).

A composição lipídica encontrada nos grãos de linhaça varia de 40 a 44%. Desse percentual, 51-57% é composto de ácidos graxos poliinsaturados α -linolênicos (18:3n-3, ALN) e em menor quantidade de ácido linoleico (18:2n-6, AL). Os ácidos graxos alfa-linolênico 18:3n-3 e linoleico 18:2n-6 e o aracdônico, são precursores dos demais ácidos da família n-3 e n-6 respectivamente (VISENTAINER et al., 2003).

A linhaça produz uma proporção equilibrada de n-6:n-3 de 0,31:1, pois a recomendada para consumo animal é em torno de 5:1. O consumo exagerado de n-6 pode interferir na conversão do n-3 α -linolênico em EPA (eicosaenoico) e DHA (docosaenoico) (ALMEIDA, 2009). Segundo Trucom (2006), em 100g de linhaça dourada tem-se os seguintes nutrientes (Quadro 02):

Quadro 02 - Teores nutricionais médios da linhaça dourada

COMPONENTES	LINHAÇA DOURADA (g 100g⁻¹)
Umidade	7,0
Proteínas	29,2
Lipídios totais	43,6
Ácidos graxos saturados	9,0
Ácidos graxos monoinsaturados	23,5
Ácidos graxos poliinsaturados:	
• Ácido alfa-linolênico (n-3)	50,9
• Ácido linoléico (n-6)	15,8
• Relação n-6:n-3	0,31:1

Fonte: TRUCOM, 2006, p.16.

A linhaça contém vitaminas B₁, B₂, C, E (principalmente alfa-tocoferol que protege proteínas, lipídios e DNA das células) e carotenoides. Quanto aos minerais possui cálcio, ferro, fósforo, magnésio e potássio (sete vezes mais que a banana) (MARQUES, 2008; EPAMINONDAS, 2009). Também são detectados em seus constituintes flavonoides, que são polifenóis que atuam como antioxidantes, com conteúdo em torno de 35 a 70 mg por 100g⁻¹ de amostra (MORRIS, 2007; EPAMINONDAS, 2009).

Estudos sobre os efeitos da linhaça em processos reprodutivos tem sido realizados com mamíferos e aves, mas em relação aos peixes pouco se encontra. Almeida et.al. (2009), usaram sementes de linhaça na alimentação de ratas em fases pré e pós-natal, gestação e lactação e relataram que o eicosanoide docosaexaenoico - (C22:6 n-3) - DHA oriundo do ácido α -linolênico, provenientes da linhaça, apresentou efeito no aumento das membranas celulares e na construção da bainha mielínica das crias, e cuja deficiência desse nutriente origina problemas comportamentais. Quanto ao desempenho reprodutivo, crescimento e produção de ovos em frangas, Arshami et.al. (2010) testaram

durante 42 dias, dietas contendo farinha de linhaça em percentuais de 5; 7,5 e 10%. Constataram que a dieta com 7,5% de farinha de linhaça melhorou a produção e qualidade de ovos em longo prazo.

A semente de linhaça tem sido utilizada como complemento alimentício para animais aquáticos de cultivo destinados a alimentação humana objetivando aumentar o teor de ácidos graxos na carne. Furuya et al. (2008) constataram que dietas contendo sementes de linhaça e/ou farelo de resíduo de tomate administradas para pós-larvas de camarão da Malásia aumentaram o somatório dos n-3 corporal dos camarões. Assim como o óleo de linhaça também é utilizado na alimentação de ruminantes, aves, suínos e também de peixes, com o objetivo de aumentar o teor de ácidos graxos poliinsaturados na composição da carne, leite e ovos. Visentainer et al.(2003), suplementaram a ração de tilápias com óleo de linhaça em substituição ao óleo de girassol e comprovaram que houve incorporação de ácidos graxos da família n-3 na cabeça das tilápias. O teor de ALN na cabeça de tilápias alimentadas com ração suplementada foi de 24,24% e a alimentação que usou óleo de girassol, apresentou um teor de 1,54%. Em equinos a semente de linhaça é utilizada para eliminar a secura dos cascos e pelos (SOCIN, 2006). Também está sendo comercializada em alimentos para pequenos animais, como os domésticos, como *pet foods* (www.brazilianpetfoods.com.br, 2011).

6. Manejo do cultivo de reprodutores de peixe palhaço em sistema fechado de recirculação

6.1 Monitoramento da qualidade da água

As vantagens em se utilizar um sistema de recirculação de água estão na possibilidade de controle dos parâmetros físico-químicos e biológicos da água que influenciam no desempenho zootécnico dos organismos aquáticos; na independência das condições climáticas; na redução da terra e infraestrutura física de cultivo, além da capacidade de se integrar a atividades agrícolas como hidroponia, pré-utilização da água de irrigação (HUTCHINSON et.al., 2004).

A aquicultura gera efluentes ricos em nutrientes e podem causar problemas ambientais, principalmente riscos de eutrofização. Com isso torna-se necessário desenvolver e aplicar técnicas sustentáveis de manejo onde a reutilização da água é uma alternativa no sentido de poder aliar produtividade e maior eficiência no uso da água (PORTO, 2010).

Os principais parâmetros monitorados em um sistema de recirculação físico e químicos são os teores de oxigênio dissolvido, amônia total, gás carbônico, pH, alcalinidade total, temperatura, amônia total, nitrito, nitrato, sólidos em suspensão e salinidade. Devem atender às especificações das metodologias, segundo a publicação *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, de autoria das instituições American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA)) (SILVA , 2004).

A decomposição de compostos nitrogenados em sistemas de recirculação é motivo de atenção devido a toxicidade da amônia (OLIVEIRA, 2010). Arana (2004), ressalta que mesmo em baixas concentrações, a amônia não-ionizada não deve ultrapassar 0,05 mg/L, pois pode influenciar no desempenho dos peixes, interferir na osmorregulação, diminuir a excreção e aumentar a suscetibilidade a doenças. Se a conversão de amônia a nitrito é impedida ou ocorre abaixo do necessário, devido a deficiência da biotransformação, esta acumula no ambiente e causa diminuição na habilidade imunológica de peixes (FERREIRA, 2009).

A depender da espécie, os peixes requerem para crescimento ótimo a concentração de oxigênio dissolvido variando de 5-7mg/L, qualquer queda abaixo dos limites, aciona-se aeração ou oxigênio suplementar (ARANA, 2004; KUBITZA, 2006; MOLLEDA, 2007). Os valores de pH devem manter-se entre 6,0-9,5. As mudanças de pH não devem alcançar valores maiores que 0,2, caso variem corrige-se a alcalinidade e/ faz-se trocas de água. As águas salinas destinadas a aquicultura se enquadram na classe 1 segundo a resolução nº357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2005).

É necessária uma rotina de manutenção e monitoramento em um sistema fechado de recirculação, para manter a qualidade da água e o estado sanitário dos animais (KUBITZA, 2006; SIPAÚBA-TAVARES et al., 2007). Existem equipamentos para medir os parâmetros físicoquímicos no ambiente de cultivo tais como a sonda multiparâmetro (oxigênio dissolvido, pH,

temperatura, salinidade); oxímetro digital (oxigênio dissolvido, temperatura), pHmetros (pH, temperatura); salinômetros (refratômetros). Parâmetros químicos como alcalinidade total, nitrogênio total, nitrito, nitrato, fosfato total, podem ser analisados em laboratórios, por método de titulação proposto por APHA (1998).

6.2 Microbiologia da água de cultivo

Em sistema aquícola com recirculação, cultivam-se peixes e microorganismos. A microbiota aquática em cultivo de peixes está diretamente relacionada com os aspectos físico-químicos e manejo do sistema. As bactérias estão presentes no ambiente e os animais aquáticos (peixes, camarões, moluscos, etc.) estão propensos a infecções bacterianas da mesma forma que os animais terrestres, principalmente se passam por estresse, pois as bactérias patogênicas podem fazer parte das superfícies externas de peixes e camarões, tais como as brânquias, a pele ou estar presente na flora bacteriana interna (DAL PUPO, 2006).

Os resíduos sólidos gerados no sistema de recirculação são as fezes e ração não consumida, que representam cerca de 20 a 30%. Esses resíduos em parte são removidos através de filtragem, e de fracionadores de espuma (*skimmer*), e os que não se consegue remover, ou seja, os sólidos dissolvidos são biodegradados nos filtros biológicos (KUBITZA, 2006; REBOUÇAS, 2010).

Os filtros biológicos ou biofiltros possuem substrato onde fixam bactérias nitrificadoras do gênero *Nitrosomonas*, que oxidam amônia a nitrato, e as do gênero *Nitrobacter* que oxidam o nitrito a nitrato. Durante a nitrificação são consumidos cerca de 4,6 g de oxigênio por cada grama de amônia oxidada a nitrato. Corroborando a necessidade de manter os níveis de oxigênio dissolvido saturados (ESTEVES, 1988).

Sharrer et al.(2005), relataram que os sistemas de recirculação de água suportam grandes populações de bactérias e protozoários. As bactérias, se desenvolvem formando biofilmes, presentes no biofiltro, nas tubulações, nas superfícies em geral do sistema, além da coluna d'água o que contribui para melhorar as condições de sobrevivência, proteção e do aproveitamento de

nutrientes. Os micro-organismos mais bem adaptados ao ambiente aquático se diferenciam quanto à forma de obterem energia e carbono, sendo classificados como autotróficos e heterotróficos. Os autotróficos obtêm suas moléculas de carbono apenas de dióxido de carbono. As heterotróficas obtêm suas moléculas de carbono da matéria orgânica que captam do ambiente, ou seja, são as bactérias responsáveis pela degradação da matéria orgânica no sistema. São classificadas como saprofágicas e parasitárias e quanto à temperatura de crescimento são classificadas como mesófilas quando atuam em temperaturas próximas a do ambiente, em uma faixa que varia de 25°C a 40°C (RECHE et al., 2010).

Timmons et al.(2006) relataram que a eficiência da nitrificação em biofiltros está diretamente relacionada com o crescimento de nitrificadores o que é diretamente proporcional a quantidade e a forma do alimento fornecido no cultivo, e que pode favorecer o crescimento da população de bactérias heterotróficas, sendo necessário fazer um controle para mantê-las em equilíbrio, pois estas competem com as nitrificadoras por espaço, oxigênio além de excretarem nitrogênio amoniacal. Segundo Shang (2007), o uso da esterilização com luz ultravioleta (UV) tem um desempenho de reduzir em cerca de 99% os micro-organismos, principalmente as bactérias heterotróficas e patógenos oportunistas, entretanto, a luz UV tem suas limitações, pois a jusante das lâmpadas de UV tem bactérias, que nas partes escuras das tubulações se reproduzem, formando biofilmes e aumentando sua densidade no sistema.

A maioria das bactérias patogênicas é heterotrófica, tais como as dos gêneros *Aeromonas*, *Edwardsiella* e *Pseudomonas*, que podem ser bons indicadores de qualidade de água, pois podem se desenvolver em grandes quantidades, em águas com baixos teores de oxigênio dissolvido e com altos níveis de matéria orgânica. Quanto ocorre algum desequilíbrio no sistema bactéria-hospedeiro-ambiente, pode desencadear vários problemas, inclusive o aumento de bactérias patogênicas que antes faziam parte do sistema em quantidade muito pequena (COELHO, 2006). As *Aeromonas*, *Pseudomonas* e *Edwardsiella* são destacadas por apresentarem alta frequência de casos que afeta a produção comercial de peixes no Brasil (KUBITZA, 2000).

As *Pseudomonas* são descritas como bactérias pertencentes à família Pseudomonadaceae e que compreende mais de 100 espécies. São bastonetes

curtos, Gram-negativos, autóctones de ambiente aquático, móveis, aeróbios estritos, produzem colônias incolores, produzem amônia e não são formadores de esporos. Habita uma variedade grande de ambiente, como água, planta, solo, tecido de animais, além de serem encontradas em fezes de mamíferos. São mesófilos e podem crescer em temperaturas que variam de 4 a 42 °C. Caracterizam-se bioquimicamente por não fermentarem a glicose, lactose e não produzem indol. Produzem dois pigmentos observados em luz com comprimento de onda próximo do ultravioleta, um azul-esverdeado denominado piocianina e um amarelo-esverdeado, a fluoresceína ou pioverdina (COELHO, 2006).

Balboa et al.(2007) caracterizaram uma linhagem de *Pseudomonas anguilliseptica* do cultivo de bacalhau *Gadus morhua*, na Escócia. Esse patógeno foi descrito como agente causador da doença dos pontos vermelhos em enguias japonesas. É um patógeno em potencial em cultivo de peixes marinhos.

Eissa et al. (2010) isolaram *Pseudomonas* de tilápias capturadas nos lagos Qaroun e Wadi-El-Rayan, no Egito, com salinidade variando de 27,1 a 36,2 ppm entre as estações do ano, e sendo responsáveis por causar mortalidade. Foram encontradas as espécies: *P. fluorescens*, *P. anguilliseptica*, *P. putida* e *P. aureginosa*.

As *Aeromonas* são bactérias da família Aeromonadaceae que se constituem como um dos principais agentes patogênicos na aquicultura causando consideráveis perdas econômicas. As espécies patogênicas ao ser humano como *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sóbria* também tem sido relatadas em peixes (SILVA, 2010). *Aeromonas veronii*, *A. salmonicida* que se multiplica em temperaturas menores que 22°C causam furunculose aos peixes. São anaeróbios facultativos e caracterizam-se bioquimicamente por serem fermentadores de glicose com produção de ácido com ou sem gás, são positivos para a oxidase e catalase e reduzem nitrato a nitrito por meio da desnitrificação (VIZZOTTO, 2009; SILVA, 2010).

Rodrigues (2007) pesquisando a ocorrência de *Aeromonas* em pisciculturas de tilápias, no Rio de Janeiro/BR, isolou uma diversidade qualitativa e quantitativa das espécies *A. hydrophila*, *A. veronii* *bv veronii*, *A. sóbria*, *A. caviae*, *A. trota*, *A. média* e *A. atípicas* e concluiu que a existência em potencial de patógenos como as *Aeromonas* indica uma probabilidade de doenças de difícil controle, o que

pode levar a perdas econômicas para os produtores.

Martins et al.(2008) avaliaram altas mortalidades de tilápias do Nilo cultivadas em tanques-rede no reservatório de Três Irmãos, Estado de São Paulo. Os peixes aparentemente estavam sadios, mas morriam após se alimentar. Os parâmetros físico-químicos apresentaram valores normais sem relação com a mortalidade. Amostras de fígado e rins foram retiradas para isolamento bacteriano, revelando a presença de *Aeromonas caviae*. Com isso os autores ressaltaram a necessidade de suplementação vitamínica para tilápias cultivadas em sistema intensivo.

Silva (2010) verificou a ocorrência de *Aeromonas* sp., em doze propriedades com atividade de pisciculturas na Região da Baixada Ocidental Maranhense. Em 100% das amostras analisadas foi confirmada a presença de *Aeromonas* sp., (*A. hydrophila* (87,03%), *A. caviae* (8,02%), *A. veronii sobria* (3,70%), *A. schubertii* (1,23%)). As bactérias ainda apresentaram elevados percentuais de resistência e multirresistência a 12 antimicrobianos testados. O estudo revelou possíveis vias de transmissão de aeromonas potencialmente patogênicas para os peixes e o ser humano, representando risco para a saúde da população consumidora.

O gênero *Edwardsiella*, bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, tem forma de bastonetes curtos, são Gram-negativas e anaeróbicas facultativas. Habita o meio aquático marinho e dulcícola e órgãos internos de peixes, além de estarem presente em fezes de mamíferos, incluindo o homem. e no trato intestinal de répteis, anfíbios e mexilhões (ALEXANDRINO et al.,1999). Esses microorganismos caracterizam-se bioquimicamente pelas provas de oxidase positiva e não fermentadores da lactose, são positivos para o teste do indol, catalase, metil-vermelho e para lisina-ferro; reduzem nitrato a nitrito; são negativos para o teste de citrato e produzem gás sulfídrico (H₂S). A temperatura ótima de crescimento é de 37°C, com exceção da *Edwardsiella ictaluri* que cresce em temperaturas baixas, pois habita o trato intestinal de animais de sangue frio. São oportunistas e tem causado grande mortalidade em cultivo de peixes marinhos e de água doce (SEGABINAZI, 2004).

Nos peixes os sinais de infestação iniciais causadas por *Edwardsiella* são lesões cutâneas, que podem gerar abscessos nos músculos laterais ou na cauda. Podem evoluir para a musculatura interna, causando ainda necrose do tecido

hepático, bolhas fétidas na musculatura dos rins, dentre outros. Podem permanecer latente nos tecidos dos peixes aguardando condições ambientais favoráveis. Em cultivos intensivos a transmissão é facilitada pelas altas densidades e pelo contato mais próximo entre os peixes (PAVANELLI et al., 2008).

Alexandrino et al.(1999) relataram ocorrência de infecção por *Edwardsiella tarda* em cultivo intensivo de truta arco-íris (em raceways), em alevinos, reprodutores e animais destinados ao abate chegando a taxa de mortalidade de 40%. O que causou prejuízos irreparáveis não só para o produtor como para a atividade, além ter gerado dúvidas quanto a novos investimentos.

Miwa & Mano (2000) relataram que a *Edwardsiella tarda* era o patógeno que mais acometia cultivos de linguado (*Paralichthys olivaceus*) no Japão e estes apresentavam o fígado maior, o que era visto como uma hipertrofia. Assim, os mesmos pesquisadores ao analisarem as causas, constataram que o aumento do fígado era uma resposta da infecção bacteriana causada por *E. tarda*.

As *Pseudomonas* são consideradas o agente de septicemia entérica do catfish (*Ictalurus punctatus*) (KUBITZA, 2000). Alcaide et al.(2006) isolaram *E.tarda* de enguias (*Anguilla anguilla*) nativas de lagoas costeiras do Mediterrâneo, que se mostravam resistentes ao antibiótico clindamicina. Este fato alertou os produtores para a ocorrência dessa bactéria no meio natural e a possibilidade de manifestar-se em cultivos.

A diversidade da microbiota nos ambientes de criação com sistemas de recirculação requer mais estudo, para maior elucidação da eficiência dos mecanismos de limpeza e desinfecção, principalmente porque a manutenção da qualidade da água é realizada em conjunto com a atuação dos micro-organismos.

6.3 Acompanhamento morfométrico do cultivo de reprodutores de peixe palhaço

O crescimento pode ter influência endógena, proveniente da herança genética e da ação hormonal, e exógena, da ação de uma variedade de fatores ambientais, densidade, sendo a quantidade e a qualidade dos alimentos o mais importante (VAZ-DOS-SANTOS et al., 2009).

A condição corporal dos peixes é analisada pela estocagem de reservas energéticas do animal seja para utilizar no crescimento, manutenção ou reprodução. A metodologia para fazer tais avaliações se baseia em técnicas destrutivas, diretas, ou seja, no sacrifício dos organismos, mas também utilizam formas indiretas com procedimentos estressantes, como coleta de líquidos corporais, como sangue, que podem avaliar o teor de glicose, dentre outros. Uma das alternativas a essas metodologias estressantes é estimar a condição corporal, com o uso de dados do seu peso e comprimento, através da relação peso-comprimento, que fornece de forma indireta estimativas da condição corporal dos animais (VAZZOLER, 1996; CAMARA et al., 2011).

O fator de condição pode ser considerado um índice corporal para avaliar as diferentes condições de alimentação em espécies distintas, pois reflete as interações entre peixes e fatores bióticos e abióticos (SATAKE et al., 2009). Segundo Camara et al.(2011) existem três variações básicas dos índices de condição para peixes, que são: o fator de condição de Fulton ou isométrico, onde o peso aumenta na mesma proporção que o comprimento; o fator de condição alométrico, que se baseia que na natureza o crescimento varia com diferentes situações que podem afetar a deposição ou mobilização das reservas corporais, e o fator de condição relativo (K_n) que relaciona peso observado com peso estimado pela curva peso-comprimento e contempla o crescimento alométrico sendo comparável estatisticamente a um valor centralizador (1,0), independente da espécie, sexo, comprimento, não sendo afetado por mudanças sazonais na proporção entre comprimentos. Os fatores de condição auxiliam na compreensão da dinâmica reprodutiva das espécies de peixes sendo funcionais para indivíduos da mesma espécie (VAZZOLER, 1996).

A relação peso-comprimento gera o coeficiente angular “b” denominado coeficiente de alometria, que está relacionado com a forma de crescimento do indivíduo. Autores como Vazzoler (1996), Silva-Júnior et al. (2007) partem do princípio que nem todo crescimento é isométrico ($b=3$) e, dependendo de cada população, o valor de “b” pode estar dentro da faixa de valores entre 2,5 a 4,0, ou seja, o peso e o comprimento não variam na mesma proporção.

Rêgo et al. (2008) sugerem que estudos de alometria devem ser usados também para caracterizar estratégias de crescimentos dos peixes associados a

fatores ecológicos, comportamentais e fisiológicos. Araújo et al.(2001) alertam que o desenvolvimento das gônadas femininas ocorre mais rápido do que o incremento em comprimento ou peso do peixe, ocasionando as mudanças acentuadas nas formas do corpo das fêmeas ao longo do período reprodutivo e se manifesta com o aumento do peso total.

Romagosa et al.(2001) usaram três metodologias na seleção de fêmeas de matrinxã (*Brycon cephalus*) para serem induzidas a reproduzir, ou seja, o fator de condição relativo (Kn), os aspectos externos (ventre abaulado, papila genital saliente) e a morfologia de ovócitos (observações estruturais e ultraestruturais). Como resultados obtiveram valores de Kn maiores que um ($Kn > 1$) para fêmeas em condições de fertilização e, quando induzidas desovaram, tendo ovócitos normais e larvas sadias; kn menor que um ($Kn < 1$) para fêmeas aparentando maturação de ovócitos e quando induzidas não desovaram e, Kn ligeiramente menor que um ($Kn \leq 1$) para fêmeas que já estavam em processo de absorção de ovócitos, responderam a indução mas desovaram ovócitos maiores, gerando larvas defeituosas. Relataram a confiabilidade do emprego de qualquer uma das técnicas adotadas, porém o uso do cálculo de Kn foi mais simples e acessível.

Tavares-Dias et al.(2010) descreverem as condições para o pirarucu (*Arapaimas gigas*) em cultivo semi-intensivo através da relação peso-comprimento. O fator de condição relativo (Kn) variou de 0,811 a 1,17, com média de $1,007 \pm 0,059$, o que indicou que o peso real ficou acima do estimado, e os peixes em cultivo estavam em boas condições de bem-estar.

O fator de condição relativo (Kn) pode ser usado para avaliar as interações entre parasito-hospedeiro. Tozato (2011) estudou a influência dos hospedeiros na condição de *Corydoras aeneus* da bacia do ribeirão do Feijão, São Carlos, SP, e obteve os valores do Kn de peixes não parasitados e parasitados, onde todos apresentaram valores médios de Kn iguais a um. Concluiu que os peixes tem uma reação adequada contra o parasitismo e a comunidade de *C. aeneus* apresenta baixa patogenicidade ao hospedeiro nos diferentes ambientes da bacia, principalmente devido a sua capacidade de adaptação a ambientes com oscilações das variáveis ambientais, porém alerta que uma vez ocorra deterioração da qualidade de água da bacia, a relação parasito-hospedeiro pode se modificar devido as condições adversas do meio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCAIDE, Elena; HERRAIZ, Sonia; ESTEVE, Consuelo. Occurrence of *Edwardsiella tarda* in wild European eels *Anguilla anguilla* from Mediterranean Spain. **Dis. Aquat. Org.** vol.73. p.77-81, Nov, 2006.

ALEXANDRINO, A. C.; OKUMURA, M. P. M.; BALDASSI, L.; TABATA, Y. A. SANTIAGO de PAULI, A. O.; ROSA, M.B. Ocorrência de Infecção por *Edwardsiella tarda* em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em cultivo intensivo. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, 25 (único), p. 121-123, 1999.

ALMEIDA, A.P.S.; PINTO, M.F.; POLONI, L.B.; PONSANO, E.H.G.; GARCIA NETO, M. Efeito do consumo de óleo de linhaça e de vitamina E no desempenho e nas características de carcaças de frangos de corte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.3, p.698-705, 2009.

ALMEIDA, Katia Calvi Lenzi de; BOAVENTURA, Gilson Teles; GUZMAN-SILVA, Maria Angélica. A linhaça (*Linum usitatissimum* L.) como fonte de ácido α -linolênico na formação da bainha mielínica. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.22, n.5, p.747-754, set./out., 2009.

ALLEN, Gerald R. **The Anemonefishes: Their Classification and Biology**, 2nd edn. TFH Publications, Neptune, NJ. 1972.

ALVAREZ- LAJONCHERE L. Nutrición de reproductores de peces marinos. *In*: Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 8, León, Monterrey, México. **Anales**. León, México: Universidad Autónoma de Nuevo León. p 1-19. 2006.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 19th. Ed. Washington. 1998.

ARANA, Luis Vinatea. **Princípios Químicos de Qualidade da Água em Aquicultura: uma revisão para peixes e camarões**. 2^a Ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 231 p. 2004

ARAÚJO, F.G.; VICENTINI, R. N. Relação peso-comprimento da corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Pisces, Sciaenidae) na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Rev. Brás. Zool.**,v. 18, n.1, p.133-138, 2001.

ARSHAMI, J; PELEVAR, M; ELAHI, M. Effects of Long-Term Feeding Flaxseed on Growth and Carcass Parameters, Ovarian Morphology and Egg Production of Pullets. **Int. J. Poultry Sci.**, v.9, n.1, p.82-87, 2010.

BADGER, Amanda Catherine. The effects of nutrition on reproduction in the eastern Rainbowfish *Melanotaenia splendida splendida*. Dalhousie University. 2004.

BALBOA, S.; FERGUSON, H.W.; ROMALDE, J.L. Phenotypic, serological and genetic characterization of *Pseudomonas anguilliseptica* strains isolated from cod, *Gadus morhua* L., northern Europe. **J. Fish Dis.**, v.30, p.657-664, 2007.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. **D.O.U.** 18 mar. Seção 1, p.58-63. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº398, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **D.O.U.**, poder Executivo, [Brasília], 03 mai. 1999

BRAZILIAN PET FOODS NUTRIARA. Disponível em:
<http://www.brazilianpetfoods.com.br>. Acesso em: 12 dez. 2011.

BROMAGE, N. R. Broodstock management and seed quality – general considerations. In BROMAGE, N.; ROBERTS, R.(Eds). **Broodstock management and egg and larval quality**. Cambridge: Cambridge University, p.1-24, 1995.

BUSTON, Peter M. Size and growth modification in clownfish. **Nature**, v.424, p.145-146. 10 July, 2003. Disponível em: <www.nature.com/nature>. Acesso em: 06 fev. 2012.

CAMARA, E.M.; CARAMASCHI, E.P.; PETRY, A.C. FATOR DE CONDIÇÃO: bases conceituais, aplicações e perspectivas de uso em pesquisas ecológicas com peixes. **Oecol. Austr.**, v.15, n.2, p.249-274, 2011.

CASADEVALL, M.; DELGADO, E.; COLLEYE, O.; MONSERRAT, B. S.; PARMENTIER, E. Histological Study of the Sex-Change in the Skunk Clownfish *Amphiprion akallopisos*. **The Open Fish Sci. J.**, n. 2, p.55-58, 2009.

COELHO, L. F. Interação de *Pseudomonas* spp. e de *Bacillus* spp. com diferentes rizosferas. Dissertação (Mestrado), Agricultura Tropical e Subtropical– IAC. Campinas, SP. 2006.

DAL PUPO, H. D. Diversidade da microbiota gram-negativa em sistemas de cultivo de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Lavras. UFLA, 42p. 2006.

DELBARE, D., LAVENS, P. AND SORGELOOS, P. Clownfish as a reference model for nutritional experiments and determination of egg/larval quality. In: **Fish and Shellfish Larviculture Symposium 1995** (P. Lavens, E. Jaspers and I. Roelants, eds.). **Eur. Aquac. Soc. Spec. Publ.**, v.24,p. 22–25,1995.

DIAS, D. de C.; FURLANETO, F. de P. B.; AYROZA, L. M. da S.; TACHIBANA, L.; LEONARDO, A. F. G., CORRÊA, C. F.; ROMAGOSA, E.; RANZANI-PAIVA, M. J. Utilização de probióticos na dieta de reprodutoras de Matrinxã (*Brycon amazonicus*). **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v.37, n.2, p.135-141, 2011.

EISSA, N.M.E.; EL-GHIET, A.; SHAHEEN, A.A; ABBASS, A. Characterization of *Pseudomonas* Species Isolated from Tilapia “*Oreochromis niloticus*” in Qaroun and Wadi-El-Rayan Lakes, Egypt. **Global Vet.**, v.5, n.2, p.116-121, 2010.

EPAMINONDAS, Poliana Sousa. Caracterização físico-química e termo-oxidativa das sementes de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e de seus óleos. Dissertação (Mestrado). Univ. Fed. da Paraíba. João Pessoa-PB. 101 f. 2009

ESTEVES, F. **Fundamentos de Limnologia**, Rio de Janeiro, Ed. Interciência Ltda – FINEP. 574f. 1988.

FAO. 2010-2012. Fisheries and Aquaculture topics. The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome, 2012 Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/sofia/en>>. Acesso em: 10 abr. 2012.

FERREIRA, Nicolle Corrêa. Aplicações de Índices de Qualidade de Água (IQA) como apoio à carcinicultura marinha. Dissertação (Mestrado) Aquicultura. Univ. Fed. de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, 61f. Florianópolis. 2009.

FURUYA, W.M., PEZZATO, L. E.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M.; MIRANDA, E.C. Coeficientes de Digestibilidade e Valores de Aminoácidos Digestíveis de Alguns Ingredientes para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Brás. Zootec.**, v.30, n.4, p. 1143-1149, 2001.

FURUYA, W. M.; SANTOS, L. D. dos; SALES, P. J. P. SILVA, L. C. R.; SILVA, T. S. C.; MATSUSHITA, M. Perfil de ácidos graxos de pós-larvas de camarão da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) alimentados com dietas com semente de linhaça e subproduto de tomate. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v.34. n.4. p. 473 - 481, 2008.

HARDY, Ronald W. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. **Aquac. Res.**, v.41, p.770-776, 2010.

GOPAKUMAR, G.; MADHU, K.; MADHU REMA; IGNATIUS BOBY; KRISHNAN, L.; MATHEW, GRACE. Broodstock development, breeding and seed production of selected marine food fishes and ornamental fishes. **Mar. Fish. Inf. Serv., Tech. Ext. Ser.**, n. 201, 2009.

GONÇALVES, Giovani Sampaio. Digestibilidade e exigência de lisina, proteína e energia em dietas para tilápia do Nilo. Tese (Doutorado) Aquicultura em Águas Continentais. Centro de Aquicultura da UNESP- CAUNESP. 109f. Jaboticabal, SP. 2007.

HAYASHI, Carmino; MEURER, F.; BOSCOLO, W.R.; et al. Fontes de fibra no desempenho de alevinos de tilápia do Nilo. **Acta Sci.**, Maringá, v. 22, n.3, p.689-694, 2000.

HAYASHI, Carmino; SOARES, Claudemir Martins; MATSUSHITA, Makoto; GALDIOLI, Eliana Maria; COCITO, Igor Consoni. Desempenho e características de carcaça do escargot francês (*Helix aspersa maxima*) alimentado com rações contendo diferentes óleos vegetais. **Ciênc. Rur.**, v.34, n.1, 2004.

HUTCHINSON, W.; JEFFREY, M.; O'SULLIVAN, D.; CASEMENT, D.; CLARKE, S. Recirculating aquaculture systems: minimum standards for design, construction and management. **Inland Aquac. Association of South Australia Inc.** 2004.

HOFF, JR., F.H. Pairing Clownfish. **FAMA** 9/84.1983.

HOFF JR., F.H. Conditioning, spawning and rearing of fish with emphasis on marine clownfish. Aquaculture Consultants Inc. Dade City, 212f. 1996.

IZQUIERDO, M. S.; FERNÁNDEZ-PALACIOS; TACON, G.L. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, n.1-4, p. 25-42, 2001.

KUBITZA, Fernando. **Tilápia: Tecnologia e planejamento na produção comercial**, Jundiaí, São Paulo-SP, ed.1, 285f, 2000.

KUBITZA, Fernando. Sistemas de Recirculação: sistemas fechados com tratamento e reuso da água. **Panorama da Aquicultura**, v.16, n.95, p.15-22, 2006.

LOVELL, T. **Nutrition and Feeding of fish**. Klumer Academic Publishers. Springer, 267 p., 1998.

LUQUET, P.; WATANABE, T. Interaction Nutrition-Reproduction. **Fish Physiol Biochem**, v.2, p.121-129, 1986.

MACIEL, L.M.B. Utilização da farinha de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) no processamento de biscoito tipo "cracker": características físico-químicas, nutricionais e sensoriais. Dissertação (Mestrado), Tec. de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Univ. Fed. do Ceará, Fortaleza, 114p. 2006.

MARQUES, A. y C. Propriedades funcionais da Linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos. Dissertação (Mestrado), Ciências e Tecnologia de Alimentos. Univ. Fed. de Santa Úrsula, RS, Santa Maria, 2008.

MARTINS, Maurício Laterça; MIYAZAKI, Danilo Makoto Yamaguchi; MOURIÑO, José Luiz Pedreira. *Aeromonas caviae* durante surto de mortalidade em tilápia do Nilo e suplementação com vitamina C na dieta. **Bol. Inst. Pesca**, v.34, n.4, p.585 - 590, 2008.

MEURER, F.; HAYASHI, C. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de peixes – revisão. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** UNIPAR. Umuarama, v.6 n.2, p. 127-138, jul/dez. 2003.

MIWA, Satoshi; MANO, Nobuhiro. Infection with *Edwardsiella tarda* causes hypertrophy of liver cells in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Dis. Aquat. Org.**, v.42, p.227-2321, 2000.

MOLLEDA, Mercedes Isla. Water Quality in Recirculating Aquaculture Systems for Arctic Charr (*Salvelinus alpinus* L.) Culture. P.O. Box 1390, Skulagata 4 120 Reykjavik, Iceland. 2007.

MORAES, P. Fernanda; COLLA, Luciane M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Rev. Eletr. de Farmácia**, v.3, n.2, p.109-122, 2006.

MORRIS, D. H. **Flax: a health and nutrition primer**. 4.ed. Flax Council of Canada, 2007. 140p. Disponível em: <http://www.flaxcouncil.ca/english/index.jsp>. Acesso em: 08 fev. 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirement of warm water, fishes and shellfishes**. Washington: National Academy Press, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirement of fishes and shrimp**. Washington DC: National Academy Press, 2011.

NAVARRO, R. D.; RIBEIRO FILHO, O. P.; FERREIRA, W. M. A Importância das vitaminas E, C e A na reprodução de peixes: revisão de literatura. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** Belo Horizonte, v.33, n.1, p.20-25, 2009.

NAVARRO, R. D.; NAVARRO, F. K, S.P.; SEIXAS FILHO, J. T RIBEIRO FILHO, O. P. Nutrição e alimentação de reprodutores de peixes. **Rev. Augustus**, Rio de Janeiro, Ano 15, n. 30, Semestral, agosto, 2010.

NUNES, E. S.S.; CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.41,n.1, p.139-143, 2006.

OISHI, C.A. **Resíduo da castanha da Amazônia (*Bertholletia excelsa*) como ingrediente em rações para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Manaus: [s.n.], 60f. 2007.

OLIVEIRA, A. M. de M, S. Substituição de fontes proteicas de origem animal por fontes proteicas de origem vegetal em ração para o "Black bass" *Micropterus salmoides*. Tese (Doutorado). Univ. São Paulo – USP, SP. 120p. 2003.

OLIVEIRA, Karina Vogel Vidal de. Caracterização de Comunidade Microbiana em Biofilme Associada a Filtro biológico para o Tratamento de Efluentes de Aquacultura. Dissertação (Mestrado), Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental. Univ. Fed. do Rio Grande do Sul. 106p. Porto Alegre, RS, 2010.

OOMAH, B.D. Food source. **J. Sci. Food Agr.**, v.81, p:889-894.2001.

PAVANELLI, Gilberto Cezar; EIRAS, Jorge da Costa; TAKEMOTO, Ricardo Massato. **Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3 ed. Maringá: Eduem, 2008.

PEREIRA-FILHO, Manoel. Importância da fibra na nutrição dos peixes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, Peruíbe. **Anais...** Peruíbe. ABRAq. p.1-10, 1992.

PEREIRA JUNIOR, G. Farinha de folha de leucena (*Leucaena leucocephala* Lam. de wit) como fonte de proteína para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818). Dissertação (Mestrado). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA 1v. 58p. 2006.

PEZZATO, L. E. **Digestibilidade em peixes. Tese (Livre Docência)** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

PEZZATO, L. E. ; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Rev. Bras. Zootec.**, v.38, p.43-51. (supl. Especial), 2009.

PORTO, Cassiano Cauê Pôssas. Desempenho de um sistema de tratamento de efluentes de aquacultura: a recirculação como uma Alternativa Sustentável. Dissertação (Mestrado) Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental. Univ. Fed. Rio Grande do Sul. 117f., 2010.

RAINUZZO, J.R.; REITAN, K.; OLSEN, Y. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. **Aquaculture**, v. 155, p.103-115, 1997.

REBOUÇAS, Ricardo Albuquerque. Monitoramento da microbiota bacteriana da água em um sistema fechado de cultivo em uma estação de piscicultura marinha. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais); Universidade Federal do Ceará, Laboratório de Ciências do Mar – LABOMAR. 79f. Fortaleza, CE. 2010.

RECHE, M. H.L.R.; PITTOL, M.; FIUZA, L. M. Bactérias e Bioindicadores de qualidade de águas de ecossistemas orizícolas da região sul do Brasil. **Oecolog. Australis.**, v.14, n.2, p.452-463, 2010.

RÊGO, A. C. L.; PINESE, O. P.; MAGALHÃES, P. A. & PINESE, J. F. Relação peso-comprimento para *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1839) e *Leporinus friderici* (Bloch, 1794) (Characiformes) no reservatório de Nova Ponte – EPDA de Galheiro, rio Araguari, MG. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 10,n.1, p.13-21, 2008

RIBEIRO, P.A. P.; BRESSAN, M. C.; LOGATO, P.V. R.; GONÇALVES, A. C. S. Nutrição Lipídica para Peixes. **Rev. Eletr. Nutritime**, v.4, n.2, p.436-455, 2007.

ROCHA, A. F. da; CARVALHO, C. V. A.; SAMPAIO, L. A. Produção de juvenis de linguado *Paralichthys orbignyanus*: efeito da duração do período de co-alimentação durante o desmame. **Cienc.Rural**, Santa Maria, v.38, Nov. 2008.

RODRIGUES, R. Peixe Palhaço. 2002. Disponível em:
<<http://www.reefforum.net/f22/peixes-palhaco-100/>>. Acesso em: 20 out. 2010.

RODRIGUES, Eliana. Pesquisa de *Aeromonas* spp. em tilápia (*Oreochromis niloticus*), cultivada no estado do Rio de Janeiro-Brasil: isolamento, identificação de espécies e avaliação da sensibilidade antimicrobiana. Tese (Doutorado), Higiene Veterinária e Processamentos Tecnológicos de Produtos de Origem Animal. Univ. Fed. Fluminense. Niterói, RJ. 210f. 2007.

ROMAGOSA, Elizabeth; NARAHARA, M.Y.; BORELLA, M. I.; FENERICH-VERANI, N. Seleção e Caracterização de fêmeas de matrinxã, *Brycon cephalus*, induzidas a reprodução. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v.27,n.2,p.139-147, 2001.

SANTOS, Felipe Wagner Bandeira. Nutrição de peixes de água doce: definições, perspectivas e avanços científicos. DEP/CCA/Univ. Fed. Ceará. Fortaleza, 2004.

SANTOS, Fabiana Lindenberg dos; AZEREDO, Vilma Blondet de; MARTINS, Antonio Sérgio Aymoré. Efeito do fornecimento de ração complementada com semente de linhaça sobre os macronutrientes e colesterol em tecidos de camarões da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*). **Cienc. Tec. Aliment.**, Campinas, v.27, n.4, p.851-855, 2007.

SANTOS, E.L.; WINTERLE,W.M.C.; LUDKE, M.C.M.M.; BARBOSA,J. M. Digestibilidade de ingredientes alternativos para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): revisão. **Rev. Bras. Enga. Pesca**, v. 3, n.2, 2008.

SATAKE, Fabiana et al. Relação Peso-Comprimento, Fator de Condição e parâmetros Hematológicos de Dourado *Salminus brasiliensis* Cultivado em Condições Experimentais. **Bol. Pesq. Desenvolvimento / Embrapa Agropecuário Oeste**. 22p.,Dourado, MS. 2009.

SCOPEL, Bruno Ricardo. Efeito da substituição da farinha de peixe em dietas para *Litopenaeus vannamei* cultivado em sistema superintensivo com bioflocos. Dissertação (Mestrado), Univ. Fed. Santa Catarina, Prog. Pós-Graduação em Aquicultura. 58f. 2010

SEGABINAZI, Stefanie DICKEL. Presença de Bactérias da Família *Enterobacteriaceae* nas superfícies externa e interna de *Alphitobius diaperinus* (PANZER) oriundos de granjas avícolas dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Dissertação (Mestrado), Medicina Veterinária Preventiva, Univ. Fed. de Santa Maria (UFSM, RS), Santa Maria, RS, Brasil, 105 p. 2004.

SHANG, C. Assessment of Deficiency of Fish Tank Water UV Disinfection and Remedial Measures. **RFCID Res. Fund for the Control of Infectious Diseases**. Hong Kong, 2007.

SHARRER, M. J.; SUMMERFELT, S.T.; BULLOCK, G.L. GLEASON, L.E.; TAEUBER, J. Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system. **Aquac. Engineering**, v.33, p.135-149, 2005.

SIGNOR, Altevir. Levedura íntegra e levedura autolisada como pronutriente em dieta para reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Tese (Doutorado) Univ. Est. Paulista, Botucatu, SP.70f. 2009.

SILVA, Carlos Augusto Ramos e. **Análises Físico-químicas de sistemas marginais marinhos**. Rio de Janeiro: Interciência, 2004.

SILVA-JÚNIOR, M. G.; CASTRO, A. C. L de; SOARES, L. S.; FRANÇA, V. L. Relação Peso-comprimento de espécies de peixes do estuário do rio Paciência da Ilha do Maranhão, Brasil. **Bol. Lab. Hidrobiologia**, n.20, p.31-38, 2007.

SILVA, R, M,L. Bactéria do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da Região da baixada Ocidental Maranhense. Tese (Doutorado), Ciências Agrárias e Veterinárias, Univ. Est. Paulista, São Paulo, Jaboticabal, 2010.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; GUARIGLIKA, C. T. S.; BRAGA, F. M. S. Effects of rainfalls on water quality in six sequentially disposed fishponds with continuous water flow. **Braz. J. Biol.**, São Paulo, v.67, n.4, p.643-649, 2007.

SONCIN, Mara Regina Schimmack Pedro. Efeito da inclusão de semente de linhaça integral (*Linum usitatissimum* L.) na dieta de éguas através da taxa de crescimento folicular, concentração de metabólitos sanguíneos e da digestibilidade aparente. Dissertação (Mestrado). Produção Animal, Pós-Graduação em Zoot. da Univ. Estadual de Maringá. Maringá, PR, 74 p. 2006.

SORBERA, Lisa Ann; ASTURIANO, Juan Francisco; CARRILLO, Manuel; ZANUY, Silvia. Effects of Polyunsaturated Fatty Acids and Prostaglandins on Oocyte Maturation in a Marine Teleost, the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). **Biol. Reprod.**, n.64, p.382-389. 2001.

- TACON, A.G.J. Feed ingredients for carnivorous fish species. Alternatives to fishmeal and other fisheries resources. **FAO Fisheries Circular 881**, 35p. 1994.
- TACON, A.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. **Aquaculture**, 285, 2008.
- TAKAHASHI, Neuza S. Nutrição de Peixes. **Instituto de Pesca**. 2005. Disponível em: < http://www.pesca.sp.gov.br/textos_tecnicos.php>. Acesso em: 11 dez. 2011.
- TAVARES-DIAS, M.; ARAUJO, C. S. O.; GOMES, A. L. SILVA & ANDRADE, S. M. S. Relação peso-comprimento e fator de condição relativo (Kn) do pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) em cultivo semi-intensivo no estado do Amazonas, Brasil. **Rev. Bras. Zootecias** v.12, n.1, p.59-65, 2010.
- TIMMONS, Michael B.; HOLDER, John; EBELING, James M. Application of microbead biological filters. **Aquaculture Engineering**, n.34, p.332-343, 2006.
- TOU, Janet C.; CHEN, J.; THOMPSON, L.U. Flaxseed and its Lignan Precursor, Secoisolariciresinol diglycoside, Affect Pregnancy Outcome and Reproductive Development in Rats. **The Journal of Nutrition**, July, 1998.
- TOZATO, Heloisa de Camargo. Influência do parasitismo na condição de *Corydoras aeneus* (Gill, 1858) (OSTEICHTHYES: SILURIFORMES) da bacia do ribeirão do Feijão, São Carlos, SP. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano IX –n.16, Periódico Semestral - Jan.2011.
- TRUCOM, C. **A importância da linhaça na saúde**. São Paulo: Ed. Alaúde, 151p. 2006.
- VARGHESE, B.; PAULRAJ, R.; GOPAKUMAR, G.; CHAKRABORTY, K. Dietary influence on the egg production and larval viability in True Sebae Clownfish *Amphiprion sebae*, Bleeker 1853. **Asian Fish. Sci.** 22:7-20. Manila, Philippines, 2009. Disponível em: <<http://www.asianfisheriessociety.org>>. Acesso em: 12 set. 2011.
- VAZ-DOS-SANTOS, A.M.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L.D B.; FIGUEIREDO, J. L. *Merluccius hubbsi* (Teleostei:Merlucciidae): stock identification based on reproductive biology in the south-southeast Brazilian region. **Braz.j.oceanogr.**, v.57,n.1, p.17-31, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-87592009000100003&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 15 mai 2012.
- VAZZOLER, Anna Emília Amato de Moraes. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM; São Paulo: SBI, 1996.

VISENTAINER, J. V.; GOMES, S. .T.M.; HAYASHI, C.: SANTOS-JUNIOR, O. O.:SILVA, A.M. da; JUSTI, K. C.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Efeito do tempo de fornecimento de ração suplementada com Óleo de linhaça sobre a composição físico-química e de ácidos Graxos em cabeças de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Cien. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.3, p.478-484, 2003.

VIZZOTTO, B. S. Caracterização fenotípica e molecular de estirpes de *Aeromonas* isoladas no Paraná no período de 1999-2009. Dissertação (Mestrado), Ciências Farmacêuticas, Univ. Federal do Paraná. 101p. 2009
WATANABE, T.; VASSALO-AGIUS, R. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. **Aquaculture** , n.227.p. 35–61, 2003.

WATHERS, C.; ABAYASEKARA, R.;AITKEN, J. Polyunsaturated Fatty Acids in Male and Female Reproduction. **Biol. Reprod.**, n.77, p.190-201, 2007.

WILKERSON, J.D. **Clownfishes. a guide to their captive care, breeding & natural history**. Microcosm, Ltd. P.O. Box 550, Charlotte, VT 05445 - 240 p. 2003.

WU LILIAN, **Cute 'Finding Nemo' clownfish could be rising star of Taiwan's aquaculture sector**. **The China Post.**, July 2. 2009. Disponível em: <http://74.125.113.132/search?q=cache:QsJJ7d2Ya_sJ:www.chinapost.com.tw/taiwan/national/national-news/2009/07/02/214558/Cute-Finding.htm+in+the+year+of+2008+the+production+of+clown+fish+was&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 20 ago. 2010.

ZANIBONI FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.31, n-3, p.367-373, 2007.

CAPÍTULO 2

**A FARINHA DE LINHAÇA (*Linum usitatissimum* L.) NA REPRODUÇÃO DO
PEIXE PALHAÇO (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830)**

A FARINHA DE LINHAÇA (*Linum usitatissimum* L.) NA REPRODUÇÃO DO PEIXE PALHAÇO (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830)

Jussara de Almeida Guerreiro¹; Alberto Oliveira Lima²; Leandro Portz³; Rebeca Ayala Rosa da Silva¹, Norma Suely Evangelista Barreto¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Univ. Fed. do Recôncavo da Bahia – UFRB – Cruz das Almas, BA; ² Univ. Federal da Bahia – UFBA ; ³ Univ. Fed. do Paraná - UFPR, Palotina, PR.

RESUMO: Objetivou-se verificar se dietas com percentuais de farinha de linhaça (FL), alimento com propriedades funcionais, influenciam na atividade reprodutiva do peixe palhaço, em sistema fechado de recirculação. O experimento foi realizado em uma unidade de piscicultura marinha em Lauro de Freitas/BA, de maio a novembro/2011. Foram utilizados 20 casais de peixes, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições. Monitoraram-se os parâmetros físico-químicos da água (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, salinidade, amônia total, nitrito); observou-se os caracteres sexuais secundários, registrou-se comprimento total, peso total, nº desovas e de ovos. As inclusões de FL por tratamento foram: T1 0% (controle); T2 (5%); T3 (15%); T4 (25%) e T5 (35%). As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey e Dunnet a 5% e a comparação entre os dados, pelo teste t de Student ($\alpha=0,05$). Só ocorreram desovas nos tratamentos T2 (5% FL) e T3 (15% FL). O desempenho dos machos foi inferior ao das fêmeas. A alometria foi negativa, para ambos os sexos, com acréscimo no crescimento através do peso. O fator de condição relativo (Kn) para fêmeas indicou um bem-estar físico dos peixes durante o experimento. Concluiu-se que 5% de FL tem potencial para influenciar positivamente na atividade reprodutiva do peixe palhaço, necessitando de estudos quantitativos e maior tempo de experimentação em vista das grandes variações individuais.

Palavras-chave: alimento funcional, desova, recirculação

LINSEED MEAL (*Linum usitatissimum* L.) IN REPRODUCTION OF CLOWN FISH (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830)

Jussara de Almeida Guerreiro¹; Alberto Oliveira Lima²; Leandro Portz³; Rebeca Ayala Rosa da Silva¹, Norma Suely Evangelista Barreto¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Univ. Fed. do Recôncavo da Bahia – UFRB – Cruz das Almas, BA; ² Univ. Federal da Bahia – UFBA ; ³ Univ. Fed. do Paraná - UFPR, Palotina, PR.

ABSTRACT: This study aimed to verify whether diets with different percentage of linseed meal (LM), food with functional properties, influence the reproductive activity of clownfish in closed recirculation system. The experiment was conducted at the laboratory of marine fish farming in Lauro de Freitas / BA from May to November /2011. Twenty pairs of fish without having reached sexual maturity were used distributed in a completely randomized experimental design with five treatments and four repetitions. Were monitored physical-chemical parameters of the water (temperature, pH, dissolved oxygen, alkalinity, salinity, total ammonia, nitrite); were observed the secondary sexual characters, were registered length and total weight, number of nests and eggs . The inclusions of linseed meal for treatment were: T1 - 0% (control); T2 (5%); T3 (15%); T4 (25%) and T5 (35%). These means were compared by Tukey test and Dunnet 5% and between data by Student's test "t" ($\alpha = 0.05$). Spawns only occurred in the T2- 5% and T3 - 15% of linseed meal. The performance of males was lower than the females. The allometry was negative for both sexes, with an increase in growth by weight. The relative condition factor (Kn) for females indicated a physical welfare of fish during the experiment. Treatment with 5% of linseed meal has apparent potential to positively influence the reproductive activity of the clownfish, requiring quantitative studies and longer trial in view of the large individual

Keywords: functional food, spawning, recycling

1.INTRODUÇÃO

Há uma pressão crescente por produzir alimentos saudáveis e de forma sustentável do ponto de vista socioeconômico e ambiental e a aquicultura pode contribuir de forma significativa neste contexto. Porém essa questão não só se restringe ao alimento direcionado para a produção de proteína para consumo, mas também quanto ao requerimento nutricional aplicado aos reprodutores de organismos aquáticos (FAO, 2009).

Uma alimentação com alto valor nutritivo para peixes em reprodução tem influência direta no desenvolvimento gonadal (produção de ovócitos e espermatozoides), fecundidade, eclosão e bem estar da larvicultura (NAVAS et al.,1998; IZQUIERDO, 2001; NAVARRO, 2009). Mas a alimentação de reprodutores ainda depende muito da fonte proteica de origem animal proveniente do extrativismo, a exemplo da farinha de peixe, carne de moluscos, crustáceos, cujo consumo gera altos custos de produção e preocupações ambientais (FAO, 2009).

Apesar dos avanços no campo da nutrição de larvas e juvenis de peixes marinhos, novas pesquisas precisam ser desenvolvidas quanto ao requerimento nutricional dos reprodutores (VARGHESE et al., 2009). Uma das linhas de estudo é encontrar fontes nutricionais alternativas como as de origem vegetal, menos onerosa e de qualidade (FAO, 2009).

Como a influência da qualidade dos alimentos nos processos reprodutivos é uma realidade, a linhaça (*Linum usitatissimum* L.), um vegetal com alto valor nutricional, que segundo Collins et al.(2003) é considerada um alimento com propriedades funcionais por destacar-se pela presença de ácidos graxos da série n-3 fibras, proteínas e fitoestrógenos como as lignanas, tem potencialidade para compor uma dieta específica para reprodutores de peixes. Existem várias formas de estimular a reprodução de peixes, mas sempre aliadas a uma boa alimentação, como a manipulação das condições ambientais (fotoperíodo, a

temperatura, dentre outros), porém a complexidade dos mecanismos de controle do desenvolvimento gonadal e do comportamento reprodutivo dificulta essa ação em condições de cativeiro. Outro processo utilizado é a indução hormonal, cuja metodologia exige peixes com maturação gonadal, sendo fonte de estresse, além da administração de hormônios ser através de injeções, implantes, banhos de imersão ou misturado ao alimento, podendo muitas vezes causar imunossupressão e perda dos reprodutores, principalmente das fêmeas (ZANIBONI et al., 2007).

Pesquisadores tem demonstrado a importância de uma dieta contendo teores de nutrientes direcionado para a fase reprodutiva dos peixes. Izquierdo et al (2001) relataram que os ácidos graxos de cadeia longa, da série n-3 e n-6, como os EPA's (eicosapentaenoico) e AA (ácido araquidônico) são fundamentais como precursores nas taxas de fertilização de muitos peixes marinhos. Os lipídios provenientes da dieta absorvidos pelas gônadas dos peixes são os componentes que tem o maior efeito sobre a composição do ovo (RAINUZZO et al.,1997).

Segundo Tou et al. (1998), na linhaça são encontrados em suas sementes, fitoquímicos denominados lignanas, que são fitoestrógenos com estrutura química e atividades semelhantes ao estrogênio endógeno, podendo ter ação estrogênica quando interagem com os hormônios sexuais endógenos e antiestrogênica quando competem com os estrógenos pelos sítios de ligação de seus receptores evitando a ação desses hormônios, que muitas vezes pode ser negativa. Contudo, inexistem trabalhos abordando em profundidade os efeitos das propriedades dos fitoestrógenos da linhaça na maturação de peixes marinhos.

Considerando o elevado teor nutricional da linhaça que tem a capacidade de não só nutrir, mas produzir efeitos metabólicos e fisiológicos, e que um pequeno número de trabalhos científicos é encontrado sobre sua possível ação na indução da ovulogênese e da gametogênese de reprodutores de peixes marinhos, este trabalho objetivou determinar o efeito da inclusão da farinha de linhaça, em dietas, em diferentes níveis, na desova de reprodutores do peixe palhaço (*Amphiprion ocellaris*) em sistema fechado de recirculação de água.

2.MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e período de execução

Este estudo foi realizado em laboratório de piscicultura marinha ornamental, localizado na Praia de Ipitanga, município de Lauro de Freitas – BA, no período de maio a novembro/2011.

2.2 Animais e Infraestrutura experimentais

O peixe ornamental utilizado neste experimento foi o peixe palhaço, *Amphiprion ocellaris*, conhecido como falso pércula, produzido em cativeiro, no laboratório de piscicultura marinha situada em Lauro de Freitas- BA. Foram selecionados casais segregados, com idade média de um ano sem terem alcançado a primeira maturação sexual. As fêmeas (indivíduos maiores de cada casal) apresentavam peso médio inicial que variava de 4,93 a 6,90 g e comprimento total médio de 6,37 a 7,13 cm e enquanto os machos, peso médio de 2,65 a 3,17g e comprimento total médio de 5,11 a 5,44 cm.

O sistema de cultivo foi operacionalizado com recirculação contínua de água por meio de três bombas submersa com vazão especificada de 4.000L/hora. Constituíam-se de 20 aquários de aproximadamente 20L para o cultivo, um aquário *sampler* de 170L equipado com bomba de 4.000L/h, um aquário de retenção e redistribuição de água de 200L, um decantador de 200L e um filtro biológico com volume útil de 50L totalizando um volume de cerca de 800L de água salgada circulante. Semanalmente por ocasião da limpeza dos aquários e do decantador, eram trocados cerca de 5% do volume de água por sifonamento (Figura 1).

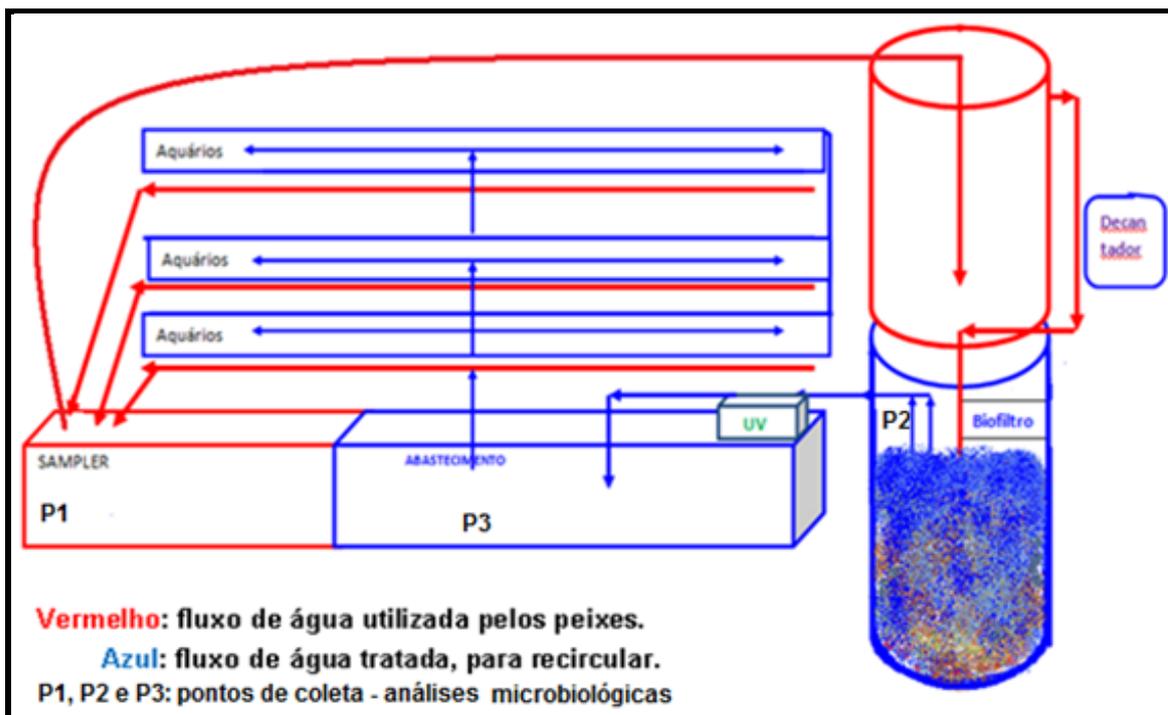


Figura 1. Diagrama esquemático do cultivo do peixe palhaço em sistema fechado de recirculação de água

A água salgada utilizada no experimento inicialmente foi proveniente do meio natural e durante o decorrer do experimento utilizou-se água artificial salinizada a 30 ppm, com sal sintético comercial (Synthetic Sea Salt - AQUA ONE[®]) e água doce da rede de abastecimento pública, neutralizada com anticloro comercial (Labcon Protect Plus[®]). Mantinha-se em armazenamento um volume de 300L de água salgada preparada artificialmente para uso de reposição, perdas, dentre outros.

A filtração física foi realizada com o uso de tela de 100 micras, localizada na tubulação de drenagem dos aquários, para a remoção de sólidos em suspensão tais como fezes e restos de alimento. A biológica foi feita com a utilização de um filtro biológico construído com camadas de casca de ostra triturada e de *Halimeda* embaladas em bolsas teladas, rochas calcárias e cascas inteiras de ostra, devidamente desinfetadas, que serviram como substrato de fixação para as bactérias nitrificantes. Para iniciar o desenvolvimento da população de bactérias nitrificantes no filtro biológico, foi usado um ativador, o produto *Bio Digest* – PRO DIBIO[®] na concentração de uma ampola para 400 Litros.

Antes do povoamento da bateria de aquários, o sistema ficou operando por cerca de 30 dias, para o desenvolvimento de micro-organismos nitrificantes no biofiltro, cujo processo foi acompanhado pela medição diária dos teores de amônia total e de nitrito, até que não fossem mais detectados. Implantou-se na saída do biofiltro de um sistema de esterilização com lâmpada UV (15 W).

A montagem do experimento consistiu no povoamento de um casal da espécie *A. ocellaris* por aquário contendo três placas de cerâmica (15 cm x 15 cm) formando um triângulo para promover um ambiente de desova (Figura 2). O fotoperíodo foi mantido seguindo o ciclo diurno e noturno, de 12 em 12 horas.



Figura 2. Unidades experimentais contendo as placas de cerâmica dispostas em forma de triângulo, como substrato para desova do peixe palhaço (WILKERSON, 2003)

Os peixes foram distribuídos aleatoriamente segundo um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em cinco tratamentos com quatro repetições, com um casal por aquário perfazendo 20 unidades experimentais.

2.3 Dietas experimentais

Foram elaboradas cinco dietas isoproteicas. A dieta controle com 0% de Farinha de Linhaça (FL) foi formulada segundo a dieta semipurificada do NRC (1993), a base de caseína, sendo somente substituída uma parte do óleo vegetal por óleo de peixe com objetivo de conferir atratividade e palatabilidade. As outras quatro dietas tiveram como base a dieta controle com a substituição parcial de FL nos percentuais de 5, 15, 25 e 35% (Tabela 1). Todas as dietas foram formuladas com a aplicação do programa computacional desenvolvido pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP/Botucatu e elaboradas na unidade de produção de peixes marinhos ornamentais, em Lauro de Freitas – Ba.

Tabela 1. Composição centesimal das rações experimentais com inclusão de farinha de linhaça (FL) usadas no cultivo do peixe palhaço

Ingrediente	Tratamentos				
	T1 - 0%	T2 - 5%	T3 -15%	T4 -25%	T5 -35%
Caseína	37,00	36,00	35,00	34,00	33,2
Gelatina	6,00	6,00	6,00	5,00	4,30
Amido de milho	30,80	30,00	17,00	14,00	8,00
Farinha de Linhaça	0,00	5,00	15,00	25,00	35,00
Alfa-celulose	6,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de soja	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de peixe	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Vitamina+minerais ³	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT (²)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
NaCl	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Dextrina (goma)	11,58	11,38	15,38	10,38	7,88
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

(¹) Ração controle modificada da ração purificada do NRC, 1993.

(²) Antioxidante BHT (butil hidroxitolueno, C₁₅H₂₄O).

(³) Composição suplemento vitamínico e mineral: Manganês 15.000 mg, Cobre 3.000 mg, Ferro 25.000 mg, Ác. Fólico 1.500 mcg, Zinco 30.000 mg, Vit. B12 10.000 mcg, Ác. Nicotínico 37.500 mg, Vit. A 2.500UI/g, Vit. C 25.000 mg, Ac. Pantatênico 20.000mg, Vit. D3500UI/g, Vit. E 20.000 mg, Biotina 50.00 mcg, Vit. K33.500 mg, Vit. B1 7.000 mg, Vit. B2 7.425mg, Vit. B6 7.250 mg, Iodo 660mg, Selênio 110mg.

As análises químico-bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia – UFBA (Tabela 2).

Tabela 2. Análise da composição químico-bromatológica das rações experimentais e da farinha de linhaça¹, usadas no cultivo do peixe palhaço

Composição (%)	Tratamentos					Farinha de linhaça
	T1-0%	T2-5%	T3-15%	T4-25%	T5-35%	
Proteína Bruta - PB	38,96	38,11	38,26	38,07	38,02	19,43
Extrato Etéreo - EE	4,81	7,13	11,84	17,20	23,36	44,09
Material mineral - MM	2,92	2,58	3,1	3,01	3,36	2,85
Fibra Bruta - FB	4,93	5,02	13,26	13,05	13,06	25,42
Extrato Não Nitrogenado - ENN	48,38	47,16	33,54	30,13	24,63	8,21
Matéria Seca - MS	94,77	94,56	94,58	94,20	96,19	94,45

¹ Lab. de Nutrição - Escola de Medicina Veterinária – UFBA.

As sementes de linhaça dourada foram adquiridas na Central de Abastecimento CEASA, em Salvador-Ba. O preparo de cada dieta consistiu na pesagem dos ingredientes secos e líquidos em balança digital com precisão de 0,001-1.000g, na trituração das sementes em moedor de grãos (Modelo MDR301 Cadence[®]) até a obtenção de pó, na mistura dos ingredientes secos, em seguida a adição da gelatina previamente diluída em água aquecida e a adição do óleo. Acrescentou-se água (no máximo 30%) para formar uma massa úmida e peletização com grade de 1mm. Os pellets foram colocados em estufa a 38°C, por 12 horas, e posteriormente moídos em moinho de grãos e peneirados para obter granulos de 1,0 milímetros. As dietas experimentais foram armazenadas em embalagens plásticas pretas e mantidas em freezer (-20°C).

As análises químico-bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia – UFBA

Semanalmente retiravam-se porções de 10g de cada dieta experimental para a alimentação dos peixes e mantinha-se em refrigerador a 4°C e ao final de cada semana pesava-se o que restava de cada tratamento para verificar a diferença de consumo.

Inicialmente os peixes receberam por 30 dias a dieta experimental com 0% farinha de linhaça (controle), para promover aclimatação e aceitação, uma vez que se alimentava com ração comercial e após a constatação de que eles estavam consumindo a ração controle, iniciava-se a administração das dietas conforme o tratamento. As rações foram administradas em três refeições diárias, com intervalos de quatro horas, ou seja, às 08:00h, 12:00h e às 16:00h. A oferta do alimento era suspensa quando os peixes paravam de ingeri-las.

2.4 Monitoramento dos parâmetros físico-químicos da água no cultivo

Os parâmetros físico-químicos acompanhados e medidos foram: diariamente a temperatura (°C), pH e oxigênio dissolvido (mg/L); semanalmente salinidade (ppm), alcalinidade total (mg/L), amônia total (mg/L) e nitrito (mg/L). Os parâmetros foram obtidos nos aquários com peixes, no aquário de recolhimento *sampler*, na saída do biofiltro e no aquário de redistribuição de água para o sistema. Os níveis de oxigênio dissolvido e temperatura foram medidos com o uso de oxímetro digital portátil YSI 55/12FT[®]; o teor de pH com pHmetro portátil digital ML1010-Misuraine[®] e a salinidade com um refratômetro modelo RTS-101ATC-INSTRUTHERM. Os teores de alcalinidade total, amônia total, nitrito foram analisados com kit de análise de água salgada –ALFAKIT[®] e no Laboratório de Qualidade de Água do Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura - NEPA, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas/BA.

2.5 Monitoramento dos parâmetros biológicos: análises microbiológicas da água de cultivo

As coletas foram realizadas na primeira semana de cada mês, no período de

agosto a novembro de 2011. Os pontos de coleta no sistema fechado de recirculação, conforme diagrama da figura 1, foram: ponto P1– *Sampler* - aquário de recolhimento de água drenada proveniente do cultivo de peixes; ponto P2 - biofiltro e ponto P3 – aquário de redistribuição de água para o sistema após esterilização com UV. Não foram feitas coletas para análises microbiológicas nos aquários com peixes. Coletou-se 500 mL de água, em vidro borossilicato âmbar previamente esterilizado em autoclave e identificado. As amostras foram transportadas refrigeradas ao Laboratório de Microbiologia do Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura - NEPA, da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas, em caixas isotérmicas contendo gelo potável. Todas as análises foram iniciadas em até duas horas após a coleta (EPA, 2007).

Foram feitas as contagens de microrganismos heterotróficos mesófilos, de bactérias do gênero *Pseudomonas* spp e a verificação da presença de bactérias dos gêneros *Aeromonas* e *Edwardsiella*. Para a determinação do número de bactérias heterotróficas mesófilas procedeu-se a contagem em placas segundo America Public Health (A.P.H.A.) descrito por Silva et al.(2010). Depois de realizadas as diluições das amostras (0,1, 0,01 e 0,001), transferiu-se alíquotas de 1mL, para placas de Petri, seguido da adição do meio de cultura Ágar Padrão de Contagem PCA (Plate Count Agar). Após a homogeneização e solidificação do meio, as placas foram incubadas, à temperatura de $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. Todas as placas foram realizadas em duplicata. Para a contagem das colônias foram utilizadas as placas que apresentaram colônias entre 25 a 250 colônias (BRASIL, 2006). O resultado foram transformados (logaritmo) e expresso em unidades formadoras de colônias (UFC/mL).

Para a contagem de *Pseudomonas* iniciou-se a partir das diluições realizadas transfere-se 1mL de cada diluição, em triplicada, para tubos de ensaio com 10 mL de CLS (Caldo Lauril Sulfato) duplo contendo tubos de Durhan invertidos. Os tubos foram incubados a $35-37^{\circ}\text{C}$ por 48 horas (SILVA et al., 2010). Após o intervalo de incubação, examinaram-se os tubos em presença de luz ultravioleta de comprimento de onda longo (não germicida) onde se observa a presença de um pigmento fluorescente esverdeado, indicando teste positivo. Dos tubos com crescimento positivo inoculou-se uma alíquota usando alça de níquel

romo para placas de Petri contendo os meios Ágar F para *Pseudomonas*, e cor amarelo forte devido a presença de fluoresceína ou pioverdina e o Ágar P para *Pseudomonas* de cor amarelo, contendo piocianina. A positividade do meio é dada pelo desenvolvimento de uma coloração rosa intenso (ou cor púrpura) após 24-48 horas de incubação a $35\pm 2^\circ\text{C}$ (SILVA et al., 2010). O resultado foi expresso em Numero Mais Provável /mL (NMP/mL).

Para se detectar a presença de *Aeromonas* e *Edwardsiella* mediu-se em proveta, 100 mL de água e inoculou-se em erlenmeyer de 500 mL contendo 100 mL de Água Peptonada Alcalina (APA), suplementada com 2% de NaCl e 20 mg de ampicilina por litro. As amostras foram homogeneizadas por cerca de 2 minutos e incubadas por 24 horas a $\pm 37^\circ\text{C}$. Após o período de incubação, foi observado crescimento microbiano, e inoculado em meios de crescimento seletivo. Foram utilizados para *Aeromonas* o meio Ágar GSP (Glutamate Starch Phenol Agar base) a base de amido e glutamato, com adição de ampicilina, e para *Edwardsiella* o meio Ágar MacConkey. O Ágar GSP foi incubado por 24 horas a 30°C e o Agar MacConkey por 24 horas a $\pm 37^\circ\text{C}$. Após o intervalo de incubação, foram observados se houve crescimento microbiano em ambos os meios. Para *Aeromonas* as colônias devem apresentar coloração amarelada com halo transparente em virtude da hidrólise do amido ou da dextrina presentes no meio. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias (UFC/mL) (SILVA et al., 2010).

Quanto à *Edwardsiella* devem apresentar colônias transparentes a incolores, sendo observada melhor à luz transmitida (SILVA, 2010). Para identificação da *Edwardsiella*, realizaram-se testes bioquímicos, iniciando-se com a inoculação das colônias no meio de crescimento Ágar Triptona de Soja (TSA), com incubação por 24 horas a $\pm 37^\circ\text{C}$. Após intervalo os testes realizados foram: teste do Indol, Tríplice Sugar Iron (TSI), Ágar Lisina-Ferro (LIA), Sacarose e Citrato de Simmons. O resultado é expresso indicando presença ou ausência (SILVA et al., 2010).

2.6 Monitoramento do comportamento dos peixes

O comportamento dos peixes foi realizado como possível indicação de aceitação das dietas e de bem estar. Seguiu-se a metodologia de Pavanelli et al.(2008) onde observou-se sinais comportamentais como: distúrbio natatório, dificuldade de respirar, falta de apetite, letargia, isolamento, e sinais físicos como mudança na coloração (pigmentação excessiva ou despigmentação), falta de escamas, sinais de hemorragia, lesões em foram de ulcerações, abdômen distendido e/ou inchado, olhos saltados e/ou opacos.

2.7 Variações mensuráveis e avaliações

Através das biometrias mensais se registrou as variáveis de comprimento total (Lt) e peso total (Wt), com um paquímetro digital (300 mm /12´ 0,01mm Digimes[®]) e uma balança digital com sensibilidade mínima de 0,001g e máxima de 1000 g. Também foi observado o aparecimento de caracteres secundários sexuais como entumescimento da papila genital, pigmentação e o aparecimento de ovopositor nas fêmeas.

O desempenho dos peixes foi avaliado conforme Mendes (1999), de:

- Peso corporal total, Wt (g) – massa corporal do peixe vivo;
- Comprimento total, Lt (cm) – medida da extremidade do focinho até a extremidade mais pronunciada da nadadeira caudal.
- O Ganho em Comprimento (GL) foi obtido pela diferença entre o Comprimento final (Lf) e o inicial (Li):

$$LW = Lf - Li$$
- O Ganho de Peso (GW) foi obtido pela diferença entre o Peso final (Wf) e o Peso inicial (Wi), conforme Mendes (1999):

$$GW = Wf - Wi$$
- A Taxa de Crescimento Específico (TCE), expressa em porcentagens o peso ganho, em gramas, por dia, conforme Mendes (1999), através da fórmula,:

$$TCE = 100(\ln W_{final} - \ln W_{inicial}) / t$$

Onde:

$\ln W$ inicial = logaritmo do peso inicial

$\ln W$ final = logaritmo do peso final

t = tempo de cultivo

A relação peso-comprimento foi utilizada como indicativo das atividades alimentares relacionadas com as reprodutivas dos peixes porque descreve formas de crescimento nos diferentes estágios do ciclo de vida. Foi construída segundo metodologia de Santos (1978) a partir do método dos mínimos quadrados, após transformação logarítmica dos dados de comprimento e peso total, conforme descrito:

$$W_t = \phi C_t^b \Leftrightarrow \ln W_t = \ln a + b \ln L_t$$

Onde:

W_t = Peso total em um instante t

L_t = Comprimento total no instante t

a = Coeficiente linear da relação peso-comprimento, sendo o intercepto na forma logarítmica

b = Coeficiente angular que em estudos morfométricos é denominado coeficiente de alometria e está relacionado à forma de crescimento dos indivíduos.

ϕ = Fator de condição que indica o grau de engorda dos peixes

Determinou-se o crescimento alométrico a partir da avaliação do valor de “b”, proveniente da relação peso-comprimento. Segundo Vazzoler (1996), o estudo do incremento em peso em função do crescimento linear (comprimento) evidencia que o valor de “b” apresenta variações dentro de uma faixa de 2,4 a 4,0. Quando o valor de “b” é igual a 3 ($b=3$) indica que a espécie tem um crescimento isométrico, ou seja, o peso aumenta proporcionalmente com o comprimento, quando “b” é menor que 3 ($b<3$) o crescimento é alométrico negativo, isto é, o peso aumenta proporcionalmente de forma mais acentuada que o comprimento, e se “b” é maior que 3 ($b>3$) o incremento no comprimento é maior que o do peso.

O Fator de condição relativo (K_n) que relaciona peso observado com peso

teórico proveniente do ajustamento da curva peso-comprimento (VAZZOLER, 1996), permite determinar o grau de bem estar do peixe. Foi calculado para as fêmeas por tratamento, cujo valor é comparado a um valor constante, igual a 1,0 conforme a expressão matemática abaixo:

$$Kn = Wt / We.$$

Onde:

Kn = Fator de condição

Wt= Peso total observado;

We= $Wt = \phi Ct^b$. =Peso total teórico esperado, dado pela curva peso-comprimento.

Foi registrado o número de desovas por casal, o número de desovas por tratamento e o número de ovos por desova por fêmea e por tratamento. Os dados foram registrados também com câmara fotográfica Sony modelo Cyber-Shot-DSC-W530.

2.8 Análise estatística

Os resultados dos tratamentos para cada caracteística estudada foram avaliados submetidos à análise de variância (ANOVA) segundo os procedimentos do programa estatístico Biostat 5.0 (AYRES, et al., 2007) considerando nível de significância de 5%. Para a comparação entre as médias foi utilizado o teste de Tukey; para comparação entre os tratamentos utilizou-se o teste de Dunnet, e para comparar parâmetros foi utilizado o teste t (Student).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Parâmetros físico-químicos da água de cultivo

Os parâmetros físico-químicos da água de cultivo do peixe palhaço em sistema de recirculação estão descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Média dos parâmetros físico-químicos na água de cultivo do peixe palhaço em sistema de recirculação

Mês	PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS						
	T ¹ (°C)	OD ² (mg/L)	pH ³	Alcalinidade Total (mg CaCO ₃ /L)	Salinidade	Amônia Total (mg/L)	Nitrito (mg/L)
Média	25,92 ± 0,72ns	6,18± 0,01 ns	8,23± 0,02 ns	113,27± 7,55 ns	30,2± 0,31ns	0,48± 0,04ns	0,15± 0,03 ns

¹T=Temperatura; ²OD =Oxigênio Dissolvido; ³pH= Potencial Hidrogeniônico.
ns = sem diferenciação estatística

A temperatura média da água do cultivo foi de 25,90± 0,72°C, concordando com o recomendado por Hoff (1983), Wilkerson (2003) e Madhu&Madhu et al.(2006) que descrevem que em cativeiro o peixe palhaço tem bom desempenho no intervalo de 18° a 32°C (com ótimo de 26,7°C) e desovam em um intervalo de temperatura de 25° a 29°C.As variações de temperatura nesse experimento ocorreram nos meses de junho a agosto/201 e não foram superiores a um grau. Mesmo sendo o período de inverno no nordeste brasileiro, mas em ambientes tropicais as temperaturas tem pouca variação, e Oliveira (2010) realça que em sistemas com recirculação a água tende a apresentar maior estabilidade térmica, pois necessita de menos trocas e não apresenta estratificação.

Quanto a comunidade de micro-organismos a temperatura desse cultivo foi favorável as bactérias mesófilas e heterotróficas que crescem na faixa de 20° a 42°C (RECHE et al., 2010). Uma pequena elevação, a depender do aporte de nutrientes, pode acelerar o metabolismo dos micro-organismos e aumentar o consumo de oxigênio dissolvido no sistema (REBOUÇAS, 2010).

A salinidade variou de forma mínima em função da evaporação e reposição de água de cultivo ao longo do experimento, ou seja, de 30,2 ± 0,31 ppm, (p>0,05). O peixe palhaço se desenvolve bem com a salinidade entre 30 a 36ppm (MADHU & MADHU et al., 2006).

O pH na água de cultivo não variou acima de 0,02 unidades e manteve-se praticamente constante durante todo o tempo, ou seja, oscilou de 8,21 a 8,24, com média de 8,23±0,02 (p>0,05). Segundo a Resolução 357 do Conselho

Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (BRASIL, 2005) o pH para água marinha varia de 6.5 a 8.5, e não deve haver mudanças maiores do que 0,02 unidades, o que condiz com esse experimento. E segundo Madhu & Madhu et al. (2006), o pH em período de desova do peixe palhaço pode variar no intervalo de 8,0 – 8,9.

Os valores de pH no biofiltro variou de 8,20 a 8,23 ($p > 0,05$), o que corrobora com Chen et al. (2006) que ressaltam que no processo de nitrificação, o pH requerido deve variar de 7,0 a 8,8. Wilkerson (2003) relata que o pH pode interferir em períodos de vida do peixe palhaço, como no das desovas, adiando-as, pois estes são peixes osmorreguladores e qualquer variação acima de 2 unidades eles passam por um período de cerca de 5 dias para voltar ao equilíbrio interno.

A alcalinidade total da água de cultivo apresentou valor médio de $113,27 \pm 7,5$ mg CaCO_3/L ($p > 0,05$) o que corrobora com a variação da alcalinidade total em cultivo de peixe palhaço, de 110 a 200 mg CaCO_3/mL (HOFF, 1983). A alcalinidade fornece íons de carbonato, bicarbonato para neutralizar íons H^+ , mantém o tamponamento e fornece cálcio para os organismos em cultivo (peixes e micro-organismos), além do que no processo de nitrificação são consumidos 7,14g de carbonatos e bicarbonatos/g de Nitrogênio oxidado (TIMMNONS et al., 2002).

A concentração de oxigênio dissolvido (OD) nos aquários com peixes variou de 6,14 a $6,18 \pm 0,015$ mg/L ($p > 0,05$). Os teores de OD estavam de acordo com a resolução 235 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA, que estabelece para águas salinas destinada também para a aquicultura, teores de oxigênio dissolvido $\geq 6,0$ mg/L (Classe 1) (BRASIL, 2005), e está de acordo com a necessidade de OD no período de desova do peixe palhaço que varia de 4,6 a 8,0mg/L (WILKERSON, 2003; MADHU & MADHU et al., 2006). A concentração de OD no aquário *sampler* variou de 6,18mg/L a 6,22 mg/L e no biofiltro de 6,19 a 6,20 mg/L. Não houve diferença estatística entre as concentrações médias do OD do *sampler* e do biofiltro ($p > 0,05$), mas foi observada entre as médias do *sampler* e dos aquários ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Variação do teor de oxigênio dissolvido – OD (mg/L) no cultivo de peixe palhaço em sistema fechado de recirculação

Mês	TEOR DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO – OD (mg/L)		
	<i>Sampler</i>	Biofiltro	Aquários c/ peixes
Jul	6,22	6,20	6,17
Ago	6,19	6,22	6,14
Set	6,18	6,19	6,16
Out	6,19	6,19	6,16
Nov	6,20	6,19	6,18
Média	6,20± 0,013 ^a	6,20± 0,021 ^a	6,18± 0,015 ^b

Obs: Letras iguais não apresentam diferença estatística significativa entre as médias ($p < 0,05$), letra diferente apresenta diferença entre as médias ($p > 0,01$).

Um maior consumo de oxigênio dissolvido é esperado em sistemas com recirculação. Timmons et al. (2002) recomendam que esteja acima de 4 mg/L, porque no biofiltro a necessidade é alta e limitante, uma vez que o processo de nitrificação ocorre em meio aeróbico. O teor de OD nesse experimento foi mantido em cerca de 6 mg/L durante todo o cultivo. No aquário *sampler* a água foi oxigenada naturalmente porque vinha por gravidade e chegava com certa turbulência, sendo então bombeada para o biofiltro, promovendo um aumento do oxigênio dissolvido.

Nos aquários com peixes a amônia total variou de 0,4 a 0,5 mg/L, com valor médio de $0,48 \pm 0,04$ mg/L ($p > 0,05$), o que concorda com Wilkerson (2003) que recomenda que o teor de amônia total não ultrapasse 0,5mg/L no cultivo de peixes palhaço. Na saída do biofiltro não foram detectadas amônia total, o que indica que o biofiltro reduziu esse composto a níveis não detectáveis ($\pm 100\%$). A amônia é um produto da excreção nitrogenada dos peixes e da decomposição microbiana da matéria orgânica e se apresenta no ambiente aquático de duas formas, como amônia ionizada (NH_4^+) e não ionizada (NH_3) (KUBITZA, 2006). Segundo Timmons et al. (2003) o equilíbrio entre as duas formas de amônia é

principalmente determinado pelo pH da água, cujo aumento faz a toxicidade da amônia não ionizada (NH_3) crescer exponencialmente, sendo um risco para ambientes marinhos que normalmente se caracterizam por pH alcalino. É vital a manutenção da estabilidade do potencial hidrogeniônico e teores baixos de amônia total, pois segundo Caldeira (2011) as bactérias nitrificantes como as *Nitrossomonas* (transforma amônia a nitrito) começam a inibir sua ação em concentrações de 10 a 150 mg/L amônia não ionizada.

Nos aquários com peixes o nitrito apresentou valor médio de $0,15 \pm 0,02$ mg/L ($p > 0,05$). A média de nitrito no sampler (antes do biofiltro) foi de $0,16 \pm 0,029^a$ mg/L e na saída do biofiltro de $0,10 \pm 0,00^b$ mg/L, entre essas médias foram encontradas diferenças (letras a e b diferentes, $p < 0,01$). Wilkerson (2003) recomenda que o nitrito, em cultivo de peixe palhaço, esteja abaixo de 0,1 mg/L. Não foi observado nenhum comportamento específico nos peixes que indicasse a influência de nitrito.

O percentual médio de redução do nitrito no biofiltro foi de 36,33% ao longo de todo o experimento. Segundo Caldeira (2011) as bactérias nitrificantes são sensíveis a algumas formas de nitrogênio amoniacal, a amônia não ionizada começa a inibir a ação das *Nitrobacter* (oxidam nitrito a nitrato) em concentrações de 0,1 a 1,0mg/L, porém nesse experimento a amônia não ionizada ficou abaixo desse valor, ou seja, entre 0,026 a 0,03mg/L.

Os parâmetros físico-químicos no experimento atual não diferiram dos encontrados na literatura, para a espécie *A. ocellaris* cultivada em cativeiro, onde os dados variam de: temperatura da água de 18 a 29 °C; temperatura de desova de 25 a 29 °C; Oxigênio dissolvido (OD) de 6,0 a 8,75 mg/L; pH de 8,0 a 8,3; alcalinidade total de 110 a 200 mg CaCO_3 /L; salinidade de 28 a 36 ppm; amônia total abaixo de 0,5 mg/L e nitrito abaixo de 0,1 mg/L (HOFF, 1996; WILKERSON, 2003; MADHU & MADHU et al.,2006).

3.2 Parâmetros microbiológicos da água de cultivo

3.2.1 Bactérias heterotróficas mesófilas

As bactérias heterotróficas mesófilas analisadas no sistema de cultivo foram aquelas que se encontravam na água de entrada do biofiltro e na saída após passar pela esterilização com UV. Os resultados estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas no cultivo de peixe palhaço em sistema fechado de recirculação

Mês de coleta	Contagem Total de UFC/ml		
	P 1*	P 2**	P 3***
Jul	$3,50 \times 10^4$	$6,80 \times 10^2$	$1,50 \times 10^1$
Ago	$6,80 \times 10^3$	$3,50 \times 10^1$	$2,80 \times 10^1$
Set	$7,80 \times 10^3$	$1,10 \times 10^2$	$8,20 \times 10^1$
Out	$8,80 \times 10^3$	$4,60 \times 10^2$	$1,36 \times 10^2$
Nov	$4,50 \times 10^2$	$3,20 \times 10^2$	$2,30 \times 10^2$
Média	$1,20 \times 10^4$	$3,20 \times 10^2$	$9,81 \times 10^1$
In Média	$8,69 \pm 1,58^a$	$5,34 \pm 1,19^b$	$4,16 \pm 1,12^b$

* P1= *Sampler* - Aquário de drenagem da água vinda do cultivo; **P2= Biofiltro; *** P3= Aquário de redistribuição de água- UV . In=logaritmo. Letras iguais sem diferença estatística.

A quantidade de bactérias heterotróficas monitorada pode variar em diferentes locais do sistema de cultivo, houve diferença estatística apenas entre as médias dos pontos P1-P2 e P1-P3, ou seja, a população média de bactérias heterotróficas apresentava-se bem maior antes de passar pela unidade de luz ultravioleta UV ($p < 0,05$).

Na presente pesquisa as variações mensais das colônias de mesófilos heterotróficos podem ser distinguidas entre os diferentes pontos amostrais. Pesquisadores como Leonard et al.(2000) e Rebouças (2010), trabalharam com população de bactérias heterotróficas em sistema de recirculação com cultivo de peixes marinhos e constataram que a distribuição não é homogênea o que corrobora com a pesquisa atual.

A unidade de desinfecção com luz UV teve um papel importante no controle das bactérias heterotróficas. Na Figura 3 observa-se que houve uma redução de 52,14% das bactérias, no sistema como um todo, entre Ponto P1 (*sampler*) e após passar pela luz UV (Ponto P3).

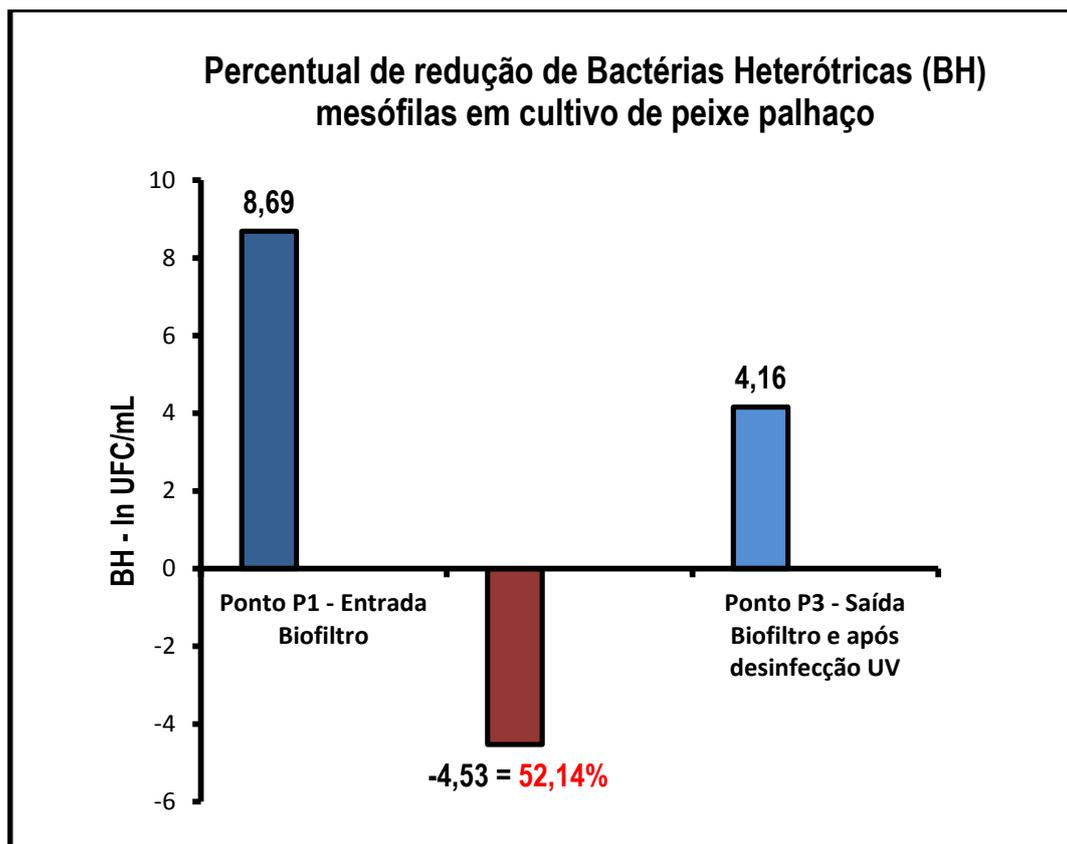


Figura 3. Percentual de redução de Bactérias Heterotróficas mesófilas, entre o Ponto 01 (entrada do biofiltro) e Ponto 03 (saída do biofiltro e após passagem por luz UV), no cultivo de peixe palhaço

O processo de desinfecção com luz UV em sistema de recirculação tem um desempenho de reduzir em cerca de 99% as bactérias que circulam com a água, mas segundo Shang (2007) apresenta limitações pois atuam de forma pontual, podendo a turbidez ocasionada por partículas dissolvidas, proteger o micro-organismo da ação da luz, além da reincorporação de bactérias que se reproduziram nas partes escuras das tubulações formando biofilmes.

Leonard et al.(2000) ao trabalharem com o sea bass (*Dicentrarchus labrax*) constataram que o principal responsável no aumento de bactérias heterotróficas em diferentes locais do sistema de recirculação é o biofilme e a quantidade de matéria orgânica dissolvida, visto que o tempo é curto para que as bactérias cresçam em quantidades consideráveis após passarem pela unidade de esterilização, onde são eliminadas. No atual experimento o biofilme não foi analisado.

Embora as bactérias heterotróficas tenham ação positiva na decomposição da matéria orgânica elas se reproduzem mais rápido que as bactérias nitrificantes, competindo, no biofiltro, por oxigênio, nutrientes, espaço e lançam também nitrogênio amoniacal no sistema, diante disso necessitam de controle da população, pois reduzem a eficiência da nitrificação. Segundo Porto (2010) é necessário conter ou não favorecer o desenvolvimento de bactérias heterotróficas para não diminuir a capacidade de nitrificação do biofiltro, principalmente com o acompanhamento do alimento para não fornecer em excesso.

Segundo Rebouças (2010) e Michaud et al.(2006) a quantificação de bactérias heterotróficas totais serve de ferramenta para o manejo de um sistema fechado de recirculação, pois informa sobre a carga bacteriana, a quantidade de matéria orgânica, a interação negativa entre bactérias heterotróficas e autotróficas e também possíveis falhas nos processos de desinfecção e filtração. Missaglia (2010) relata que a maioria das bactérias nitrificadoras tais como as *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* e *Nitrospira* crescem de forma lenta com pouca biomassa, o que dificulta o seu estudo pela dificuldade em isolar em cultura pura. As técnicas moleculares têm ajudado a entender a diversidade e distribuição dessas bactérias em tratamento de esgoto, ambientes naturais e em cultivo aquícola.

3.2.2. Gênero *Pseudomonas*, *Aeromonas* e *Edwardsiella*

Os resultados das análises microbiológicas da água de cultivo para *Pseudomonas*, *Aeromonas* e *Edwardsiella* spp. estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Análises microbiológicas para *Pseudomonas*, *Aeromonas* e *Edwardsiella*, em três pontos de coleta (P1, P2 e P3), no cultivo de peixe palhaço, em sistema de recirculação de água

Mês de coleta	Resultado das análises microbiológicas por ponto amostral								
	Pseudomonas (NMP/mL)			Aeromonas (UFC/mL)			Edwardsiella (Presença / Ausência)		
	Pontos amostrais								
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Jul	< 3,0	< 3,0	< 3,0	<10	<10	<10	Ausência	Presença	Presença
Ago	< 3,0	< 3,0	< 3,0	<10	<10	<10	Ausência	Ausência	Ausência
Set	< 3,0	< 3,0	< 3,0	<10	<10	<10	Ausência	Ausência	Ausência
Out	< 3,0	< 3,0	< 3,0	<10	<10	<10	Ausência	Ausência	Ausência
Nov	< 3,0	< 3,0	< 3,0	<10	<10	<10	Ausência	Ausência	Ausência

Obs: P1= Sampler; P2= Biofiltro-saída; P3= Aquário distribuição após passar por UV.

Durante o atual experimento, nos pontos P1, P2 e P3, as bactérias *Pseudomonas* e *Aeromonas* estiveram abaixo dos níveis detectáveis. Michaud (2009) pesquisando comunidades de bactérias heterotróficas em cultivo de peixe marinho com recirculação de água encontrou a bactéria *Pseudomonas stutzeri* somente no interior do biofiltro, em biofilmes, e não livre na água de cultivo e segundo Altinok (2006) se proliferam quando as temperaturas oscilam bastante e os peixes ficam submetidos a estresse. Na aquicultura as espécies *P.aeruginosa* e *P. fluorescens* tem sido consideradas patógenos oportunistas.

Segundo Silva (2010) o gênero *Aeromonas* está associado a infecções oportunistas, tanto no ser humano como em animais homeotérmicos e em peixes. Alterações nos parâmetros físico-químicos da água de cultivo, como mudanças bruscas e aumento de temperatura, baixos índices de oxigênio dissolvido, alto índice de matéria orgânica que promovam regiões anóxicas no biofiltro e injúrias devido ao manejo deficiente, dentre outros, desequilibram o ambiente e expõe os peixes a ação desses patógenos.

Quanto ao gênero *Edwardsiella* foi observada a sua presença apenas nos pontos P2 (saída Biofiltro) e P3 (após UV- aquário de distribuição), ambos no início do cultivo. Provavelmente essas bactérias faziam parte da população de micro-organismos que habitavam os meios que compunham o biofiltro. A unidade de desinfecção com luz ultravioleta foi instalada após os 30 dias de maturação do biofiltro, e segundo Shang (2007) é necessário um tempo de operação do sistema para que chegue ao resultado esperado.

3.3 Acompanhamento físico e comportamental dos organismos cultivados

Durante o experimento, em momento algum, foram observados quaisquer sinais que indicasse diferença de comportamento, tais como, falta de apetite, isolamento, e nenhum indício de injúria física como perda de escamas, hemorragias, ventre inchado, nadadeiras necrosadas, dentre outros, que indicasse a necessidade de uma ação clínica. Infere-se que o manejo de cultivo foi eficiente quanto a manutenção da qualidade da água e as bactérias patogênicas não foram expressivas devido a sua ausência ou a ínfima concentração no sistema.

3.4 Dietas experimentais

As quantidades de ração ofertada nos diferentes tratamentos estão descritas na Tabela 7. Esses valores foram calculados subtraindo-se da quantidade ofertada o que restava nos vasilhames, a fim de indicar somente o que foi inserido no sistema de cultivo.

Tabela 7. Quantidade total de ração (g) administrada, com diferentes percentuais de farinha de linhaça (FL), por tratamento, no cultivo do peixe palhaço.

Mês	Total de ração (g) fornecida aos peixes				
	T1-0%	T2-5%	T3-15%	T4 - 25%	T5 - 35%
Jun	1,88	1,96	1,77	2,82	2,65
Jul	5,05	4,53	6,20	6,06	5,66
Ago	14,76	18,63	17,38	15,70	16,65
Set	16,97	15,65	17,75	17,79	18,73
Out	10,87	11,07	12,39	10,00	11,33
Nov	8,49	8,94	7,87	9,63	7,83
Total	58,02	60,78	63,36	62,00	62,85
Média	9,67±5,73ns	10,13±6,37ns	10,56±6,40ns	10,33±5,65ns	10,48±6,30ns

ns- sem diferenciação estatística ($p>0,05$).

Em todos os tratamentos os casais aceitaram bem as dietas. No tratamento contendo somente a ração semipurificada (0% farinha de linhaça), a quantidade de ração ofertada foi de 58,02 g, caracterizando-se pelo grupo que menos se administrou ração.

Nos tratamentos com farinha de linhaça, todos aceitaram as dietas e consumiram em média 10g mensais. No tratamento com 5% de FL os peixes apresentavam frenesi antes de serem alimentados e só registraram-se sobras nos primeiros meses. Nos tratamentos com 25%FL e 35%FL houve sobras diárias somente nos dois primeiros meses.

3.5 Desempenho zootécnico. Ganho em peso e comprimento e a Taxa de Crescimento Específico – TCE

Os parâmetros de crescimento estão descritos na Tabela 8. Não apresentaram diferença estatística significativa entre as médias ($p>0,05$).

Tabela 8 Variações nos parâmetros de crescimento, no cultivo do peixe palhaço alimentados com diferentes teores de farinha de linhaça (FL).

Parâmetros	Tratamentos com farinha de linhaça (FL)									
	T1-0%		T2- 5%		T3-15%		T4-25%		T5-35%	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Lt inicial (cm)	5,18	6,4	5,41	6,98	5,29	7,13	5,44	6,6	5,11	6,71
Lt final (cm)	5,24	6,9	5,76	7,25	5,44	7,70	5,57	6,9	5,33	6,91
GLt (cm) ^{ns}	0,07	0,6	0,35	0,27	0,15	0,57	0,15	0,6	0,22	0,20
% GLt	1,35	8,79	6,47	3,87	2,84	7,99	2,76	8,30	4,31	2,98
WT inicial (g)	2,65	4,9	3,17	6,68	2,65	6,90	3,16	6,1	2,69	6,12
WT final (g)	2,51	5,4	3,64	6,97	2,30	7,84	2,95	6,2	2,67	6,00
GWt (g) ^{ns}	-0,14	0,44	0,47	0,30	-0,35	0,94	-0,21	0,11	-0,02	-0,12
%GWt	-5,28	8,92	14,83	4,49	-13,21	13,62	-6,65	1,79	-0,74	-1,96
TCE (%) (g/dia) ^{ns}	-0,041 ±0,04	0,067 ±0,03	0,108 ±0,11	0,034 ±0,07	-0,112 ±0,24	0,100 ±0,07	-0,052 ±0,04	0,013 ±0,02	-0,006 ±0,04	-0,016 ±0,03

ns= não significativo estatisticamente;

M = Macho ; F = Fêmea; T2 a T5 = Rações com diferentes teores de FL.

Comprimento total inicial (Lti) (cm); Comprimento total final (Ltf) (cm); Ganho em Comprimento total (GLt) (cm); Percentual de Ganho em Comprimento total (%GLt); Peso total inicial (Wti); Peso total final (Wtf); Ganho em Peso total (GWt)(g); Percentual de Ganho em Peso total (% GWt); Taxa de Crescimento Específico – TCE (g/dia) (%)

Para os tratamentos com inclusão de farinha de linhaça (FL) o ganho em comprimento total (GLt) não teve diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$), assim como o ganho de peso total médio (GWt) tanto para machos como para fêmeas.

As Taxa de Crescimento Específico – TCE, foram calculadas para 128 dias, para machos e fêmeas. Os tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$). Embora observou-se que somente no nível de inclusão de 5% de farinha de linhaça, a TCE para os machos, foi positiva, e para as fêmeas, as TCE foram positivas crescentes até o tratamento T3 com 15% de FL, no tratamento T4 com aumento de FL para 25%, a TCE foi positiva e decrescente,

e no tratamento T5 com 35% de FL, a TCE foi negativa, (Figura 4). Há necessidade de maior tempo de experimentação com maior número de repetições para tirarmos conclusões sobre a influência da linhaça no desempenho zootécnico.

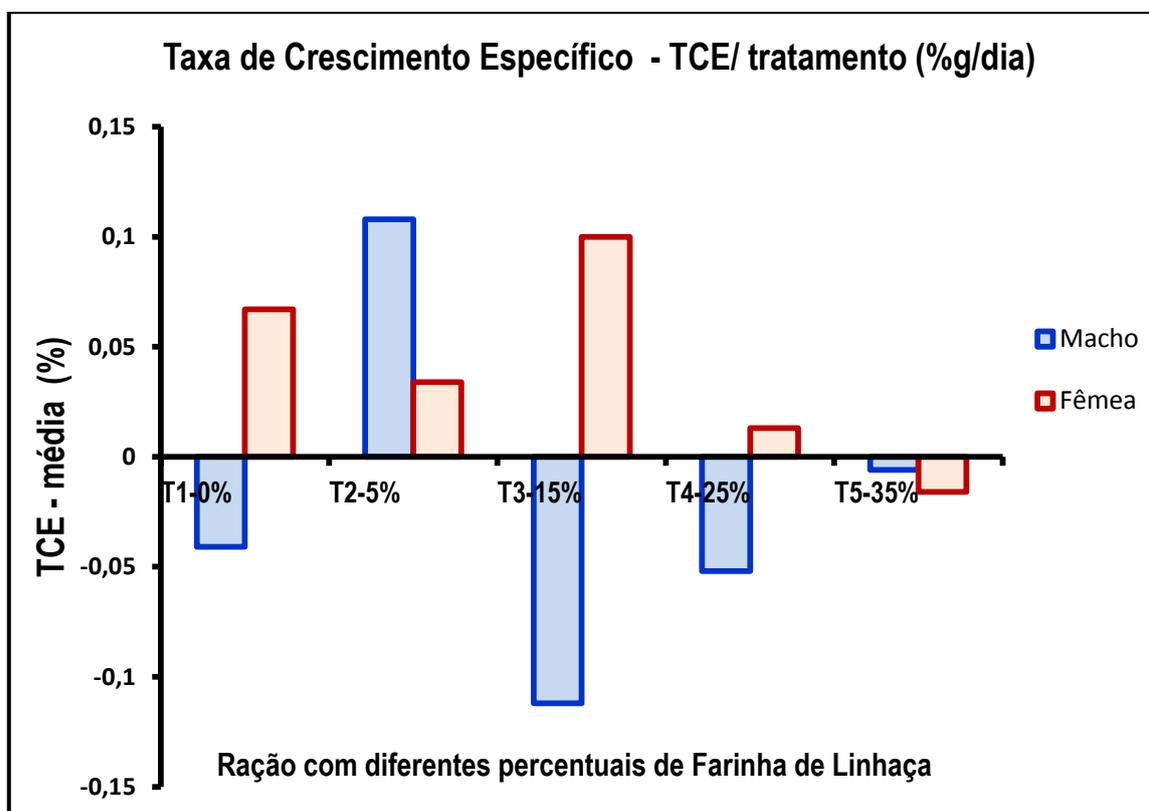


Figura 4. Taxa de Crescimento Específico -TCE média, por tratamento e por sexo, no cultivo do peixe palhaço

O comportamento social dos peixes pode influenciar na obtenção da TCE negativa e quanto ao macho do peixe palhaço que segundo Allen (1972), o gênero *Amphiprion* que compartilha o mesmo espaço, desenvolve um processo de inibição do crescimento que faz gera um diferencial na forma de obter o alimento. Autores como Taborsky (1984) e Buston (2003) relataram que peixes palhaço machos, em meio natural e em cativeiro, desenvolveram mecanismo de ajustes em sua taxa de crescimento de acordo com sua posição na hierarquia social, pois manter o menor tamanho representa uma posição na disputa para exercer o papel de dominância no grupo.

3.6 Relação Peso-comprimento

As equações da relação peso-comprimento foram obtidas para machos e fêmeas, por tratamento. Os resultados estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9. Parâmetros da relação peso-comprimento, por tratamento e por sexo, para o cultivo do peixe palhaço.

Trat	Sexo	Wt= ϕ *Lt ^b	ϕ	a	b*	r	Crescimento alométrico	
T1-	M	y = 0,032 x ^{2,642}	0,032	-3,7188	2,642	0,9698	b<3	N
0%	F	y= 0,014 x ^{3,144}	0,014	-4,2711	3,144	0,9884	b>3	P
T2-	M	y= 0,029 x ^{2,729}	0,029	-3,5372	2,729	0,9765	b<3	N
5%	F	y= 6.422 x ^{0,031}	6,422	1,859	0,031	0,017	b<3	N
T3-	M	y= 0,068 x ^{2,153}	0,069	-2,6759	2,153	0,9701	b<3	N
15%	F	y= 0,053 x ^{2,457}	0,053	-2,9275	2,457	0,9341	b<3	N
T4-	M	y= 0,017 x ^{3,007}	0,017	-4,0446	3,007	0,9913	b \geq 3	I
25%	F	y= 0,006 x ^{3,610}	0,006	-5,1392	3,610	0,9905	b>3	P
T5-	M	y= 0,021x ^{2,924}	0,021	-3,8767	2,924	0,9977	b<3	N
35%	F	y= 0,031x ^{2,738}	0,031	-3,4721	2,738	0,9168	b<3	N

M=Macho; F = Fêmea.

a= valor do intecepto; b= valor do coeficiente angular e coeficient de alometria;
r = coeficiente de correlação; ϕ = mede grau de engorda.

N= negativo; P = positivo; I= isométrico;

(*) - Os valores de "b" foram significativos a 5% teste t (p=0,0366 bilateral).

Comparando as médias dos valores de "b", utilizando o teste de Dunnet, não houve diferença, para os machos, entre as médias dos tratamentos com linhaça e o controle (0%FL) (p>0,05). Quanto às fêmeas só houve diferença estatística entre o tratamento controle (0% FL) e o tratamento com 5% de FL (p>0,05), sendo necessário maior tempo de experimentação e maior número de repetições.

Os valores de "b" considerando a espécie, independente do tratamento, foram comparados estatisticamente ao valor centralizador (crescimento isométrico, b=3), através do teste "t" (Student) (Ho:b=3 e α =0,05). Os valores de "t" foram significativos a 5% (p=0,0366 bilateral). O intervalo de confiança da

média amostral de “b” para fêmeas a 95%, variou de $1,7223 \leq \bar{y} \leq 2,9556$. Para os machos ($p=0,0043$ bilateral), o intervalo de confiança da média amostral de “b”, a 95%, variou de $2,4487 \leq \bar{y} \leq 2,8848$. Estatisticamente os valores de “b” nos diferentes tratamentos, para ambos os sexos, está abaixo de 3 ($b < 3$), o que indica que o crescimento se deu principalmente com o incremento do peso. Esses coeficientes alométricos “b” concordam estatisticamente com a literatura encontrada. Na base de dados do Fishbase (2012), os valores de “b” para a espécie *A. ocellaris* está na faixa de 0,587 a 1,326, ou seja, $b < 3$, confirmando crescimento alométrico negativo, com o incremento em peso com maior ênfase do que em comprimento. Lima et al.(2010) estudaram o *A. ocellaris* no período pré-segregação e encontraram valores de b menor que 3 ($b < 3$), indicando alometria negativa, para ambos os sexos, com variação na faixa de 1,69 a 2,30, independente do tipo de alimento.

3.7 Fator de Condição relativo (Kn)

O fator de Condição relativo (Kn) foi calculado somente para as fêmeas para os diferentes tratamentos (Tabela 10).

Tabela 10. Fator de condição relativo (Kn) para fêmeas de peixe palhaço, em cultivo com sistema de cultivo em recirculação.

Período/Mês	Fator de condição relativo (Kn)- Fêmeas				
	T1-0%	T2-5%	T3-15%	T4-25%	T5-35%
Jul	1,05	0,97	1,04	1,12	1,07
Ago	1,07	0,97	1,04	1,06	1,00
Set	0,98	1,00	0,99	1,00	1,02
Out	0,97	1,00	0,99	1,00	1,01
Nov	0,98	1,00	0,97	1,00	1,00
Kn-Média	1,01 ± 0,045ns	0,98± 0,016ns	1,006 ± 0,032ns	1,036 ± 0,053ns	1,020± 0,029ns

ns= sem diferenciação estatística ($p > 0,05$).

Nesse experimento os valores de Kn médios não diferiram estatisticamente do valor centralizador (Kn=1) (teste “t” Student, Ho: Kn=1,0 e $\alpha=0,05$; $p=0,1725$, bilateral), e o intervalo de confiança para a média amostral para fêmeas a 95%, variou de $0,9948 \leq \bar{y} \leq 1,02772$. O teste de Tukey não revelou diferenças ($p>0,05$). Esses resultados indicam que a inclusão da farinha de linhaça nas dietas experimentais não comprometeu o bem-estar físico aparente dos peixes em cultivo.

Satake et al.(2009) ressaltam que o Kn=1,0 indica boas condições de saúde dos peixes no ambiente de cultivo e deve permanecer constante independente do tamanho que o peixe possa ter em um determinado período de vida, pois não é afetado nas proporções entre os comprimentos. Para que o valor de Kn seja menor que 1 deve ocorrer decréscimo no peso observado, o que pode ser provocado por variações devido ao meio, a falta de alimento, a atividade reprodutiva, o jejum ou a doenças.

Segundo Froese (2006) o Kn pode ser considerado um índice corporal que reflete as interações entre o peixe e os fatores bióticos e abióticos no sistema de cultivo. Vazzoler (1996) indica que o valor de Kn apresenta como vantagem um valor de referência padrão, independente, que compara pesos observados e teóricos e cujas variações não estão exclusivamente relacionadas ao desenvolvimento gonadal, mas alterações no crescimento estão intrinsecamente relacionados com a alimentação e a reprodução.

Alguns autores utilizaram o Kn como ferramenta de monitoramento do ciclo reprodutivo, tais como Andrade-Talmelli et al.(1999) que selecionaram fêmeas de piabinha (*Brycon* sp) para indução reprodutiva através do fator de condição relativo Kn. Os valores de Kn superiores a um (Kn=1,020 e 1,039) indicaram que o processo de indução hormonal foi positivo. Valores menores que um (Kn= 0,98; 0,97), mostraram fêmeas que não responderam ao tratamento hormonal, o mesmo ocorrendo com as fêmeas em processo de maturação.

Scorvo Filho et al.(2004), no cultivo de *Arapaima gigas* em estufa com sistema fechado de circulação de água, encontraram valor de Kn de $1,002 \pm 0,072$ e consideraram os peixes em boa condição corporal, além disso ressaltam que esse índice reflete também as condições de cultivo em que os animais são mantidos.

Maciel (2011) encontrou uma correlação entre o fator de condição relativo

(Kn) e a época de desova da piranha-amarela *Serrasalmus spilopleura*, em lagos de várzea do Amazonas. O $Kn > 1,00$ ocorreu com a atividade reprodutiva, no período da seca e meados de enchente, e $Kn < 1,00$ se deu no fim da atividade reprodutiva, final da enchente. Os dados supracitados fazem referência à espécies de ambientes dulciaquícolas, contudo, ressalta o caráter relevante do efeito comparativo, uma vez que são escassos dados referentes a espécie em estudo.

3.8 Desovas por Tratamento

A ocorrência de desovas por tratamento está descrito na Tabela 11. As desovas só ocorreram nos tratamentos T2 com 5% de Farinha de Linhaça e no tratamento T3 com 15% de FL.

Tabela 11. Ocorrência de desovas (D) e Número de ovos (NO), mensurados por unidade experimental com o peixe palhaço

Mês	Número de desova (D) e Número de ovos (NO) por tratamento									
	T1-0% ¹		T2-5%		T3-15%		T4-25%		T5-35%	
	D	NO	D	NO	D	NO	D	NO	D	NO
Jul	0,0	0,0	1,0	46	2,0	180	0,0	0,0	0,0	0,0
Ago	0,0	0,0	3,0	150	1,0	0	0,0	0,0	0,0	0,0
Set	0,0	0,0	1,0	9	1,0	0	0,0	0,0	0,0	0,0
Out	0,0	0,0	0,0	0	2,0	106	0,0	0,0	0,0	0,0
Nov	0,0	0,0	0,0	0	2,0	56	0,0	0,0	0,0	0,0
Total	0,0	0,0	5	205	8	342	0,0	0,0	0,0	0,0
Média	0,0 ^a	0,0 ^a	1,6± 1,15 ^a	68,33 ±73,10 ^a	1,6 ±0,55	68,4 ±76,45 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
CV%	0	0	69,28	106,98	34,23	111,77	0	0	0	0

(¹) T1- 0% – controle. Letras iguais, sem diferenças estatísticas ($p > 0,05$).

A comparação entre as médias das desovas do Tratamento T1 (controle) com os tratamentos com farinha de linhaça (FL), comprovou que só houve diferença estatística significativa entre os tratamentos T1 (controle) e o tratamento T3 com 15% de FL (Teste de Dunnet, $p < 0,01$).

As desovas ocorreram no período de fim de tarde e iniciaram 38 dias após o início do experimento. Os casais apresentaram cuidados parentais acentuado, característico da espécie, com o macho protegendo, oxigenando os ovos e removendo os não fertilizados e danificados.

No tratamento T2, com 5%FL, ocorreram 05 desovas, tendo dois casais (T2-1 e T2-3) que responderam de forma positiva, totalizando 50% do tratamento. Só desovaram até o mês de setembro. Foi o tratamento que teve maior frequência de desova por mês (três desovas em agosto). Entretanto no mês de agosto/2011, somente uma fêmea (T2-3) desovou e liberou ovos com coloração pálida/transparentes, faltando pigmentação e não houve eclosão (Figura 5).

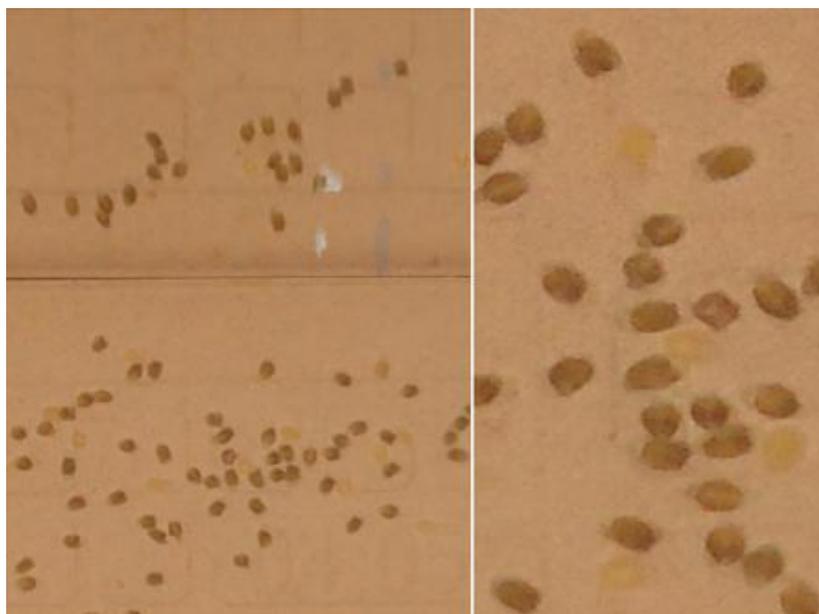


Figura 5. Desovas do peixe palhaço no tratamento T2 com 5% de farinha de linhaça, evidenciando palidez em alguns ovos.

Segundo Wilkerson (2003) os ovos pálidos do peixe palhaço devem apresentar cor laranja ou amarelo brilhante conforme Figura 6. A coloração pálida

pode indicar deficiência nutricional dos reprodutores devido à dieta ou por consequência da rejeição do alimento. Além de ovo pálido, transparente, também indicar desenvolvimento incompleto das gônadas e dessincronização das desovas.

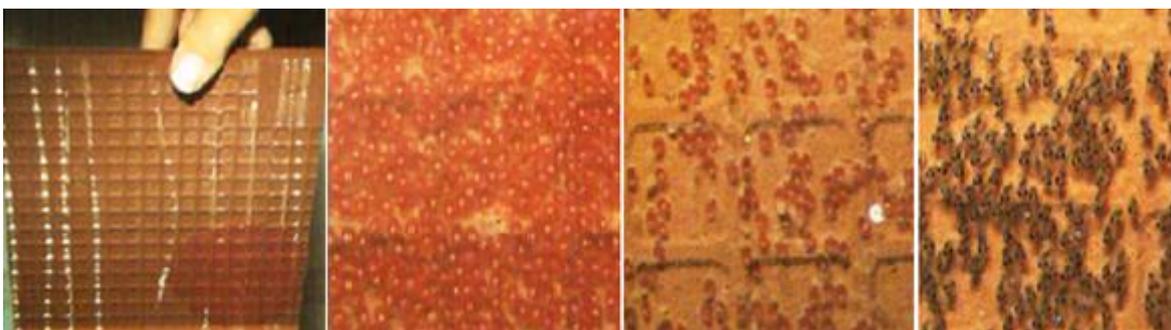


Figura 6. Coloração natural dos ovos de peixe palhaço. Da esquerda para a direita, da desova até a fase de pré-eclosão. Fonte: Wilkenson (2003)

No tratamento T3 com 15% de FL ocorreram desovas em todo o período experimental, totalizando 08 desovas, com 75% dos casais que responderam positivamente. O casal T3-3 foi o que mais desovou, contribuindo com 06 desovas, tendo média de 1,2 desovas/mês, e uma frequência de desovas comparado a desovas em ambiente natural que varia de 1,6 desovas/mês (HOFF, 1996). O número de ovos também não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$). O número total de ovos foi de 547 unidades e a média ficou abaixo do observado para o *A. ocellaris*, cuja quantidade varia com a idade da fêmea, e alcança cerca de 100 a 1.000 ovos por desova (ALLEN, 1972; HOFF, 1996).

No tratamento T3, o casal T3-1 só desovou em novembro/2011, tendo poucos ovos, porém fertilizados, já o casal T3-4 desovou em julho/2011, mas não houve fertilização, apresentando ovos pálidos, com ausência de pigmentação (Figura 7). Este casal voltou a desovar em setembro/2011, mas os ovos sumiram, e segundo Wilkerson (2003) os casais, nas primeiras desovas, podem apresentar irregularidades tais como não fertilização, devido a um ajuste na sincronia destas para com os períodos subsequentes.

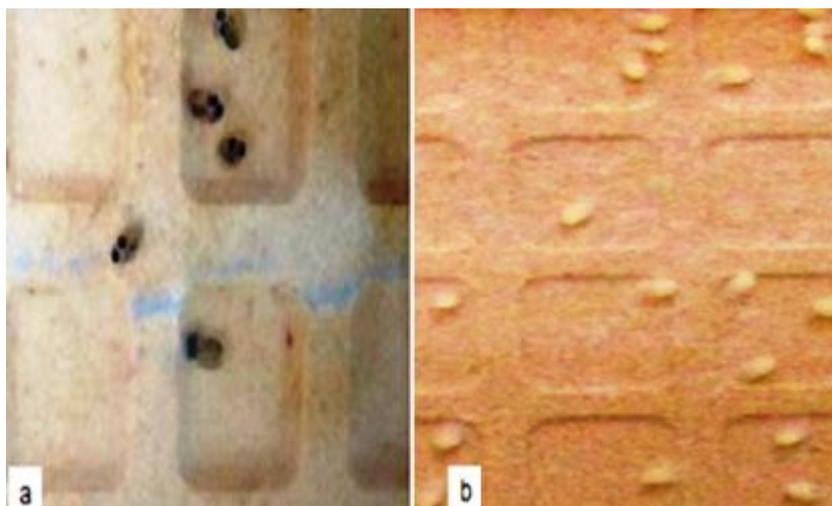


Figura 7. Desovas do tratamento T3 (15% FL). A Letra 'a, desova do casal T3-1 (nov/2011) com ovos fertilizados e a letra 'b' desova do casal T3-4 (set/2011) com coloração pálida, sem fertilização.

A fêmea do casal T3-3 no mês de julho/2011 desovou duas vezes, tendo ovos fertilizados, não fertilizados e de cor pálida. Somente um único ovo foi observado nas desovas dos meses de agosto e setembro/2011. Em outubro/2011 a desova tinha cor transparente e foi encontrado mistura de ovócitos possivelmente imaturos (Figura 8).

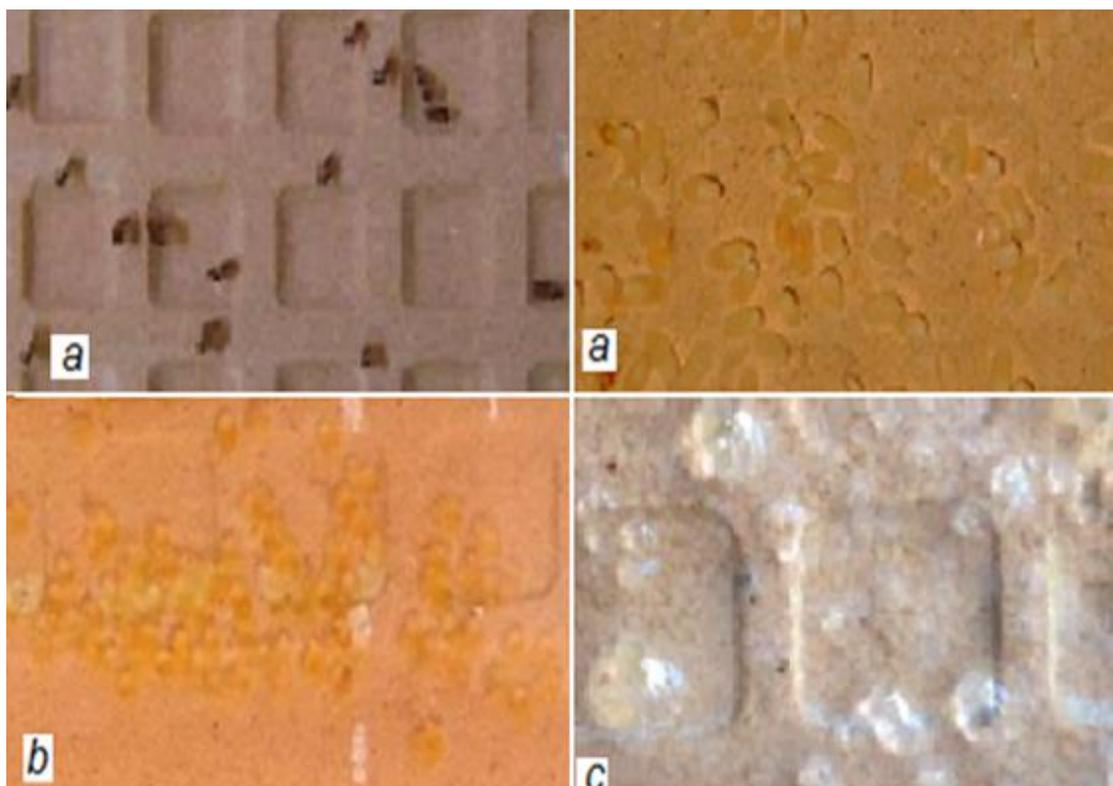


Figura 8. Desovas do tratamento T3 (15% FL), com ênfase para o casal T3-3. Letra 'a' desovas de julho/11; 'b' desova em outubro/11 e 'c' desova em novembro/11.

Quanto à qualidade dos ovos, as fêmeas do tratamento com 5% de FL (T2) apresentaram ovos que eclodiram em todas as desovas, enquanto às fêmeas do tratamento com 15% de FL (T3) a quantidade de ovos decresceu com o tempo, apresentou mais ovos pálidos e uma massa de ovos imaturos nas últimas desovas, embora esse tratamento tenha tido desovas em todos os meses.

3.9 Influência da dieta no processo reprodutivo do peixe palhaço

No presente estudo o teor de proteína bruta das dietas isoproteicas foi de 38%, com nível abaixo do relatado por Wilkerson (2003), que indica para reprodutores de peixe palhaço, em cativeiro, um teor proteico de 50-60%, mas

segundo Oliva-Teles (2000), os peixes não tem requisitos absolutos de proteína, mas de aminoácidos que compõe a proteína. E a linhaça, destaca-se pela presença de proteínas com todos os aminoácidos essenciais, além de conter ácidos graxos da série n-3, flavonoides e lignanas consideradas fitoestrógenos.

As diferentes fontes proteicas, necessitam de mais estudos quanto ao teor dos aminoácidos essenciais e não essenciais e suas interações na nutrição de reprodutores de peixes. Varghese et al.(2009) testaram várias fontes proteicas com variação de 50 a 70%PB, considerando o teor de aminoácidos, em reprodutores de *A. sebae*. Utilizaram carne de camarão (de profundidade), de molusco (reprodutores), de lula (cuttlefish) e de molusco. Os resultados mostraram que a carne de molusco teve a pior resposta quanto à produção de ovos, segundo eles provavelmente devido o alto teor de lisina (15,8%). A dieta com o maior índice de desovas foi com a inclusão da carne de lula (*cuttlefish*) com o menor teor de lisina (4,5%) e o mais alto teor de arginina (10,16%). O que necessita mais estudos sobre o papel da lisina e arginina na nutrição de reprodutores.

Segundo Lima et al.(2010) que trabalharam com ração experimental com 60%PB e rações comerciais com proteína bruta variando de 46-55%, para promover a segregação de peixes palhaço (*A. ocellaris*), relataram que a segregação ocorre mais rápida com a ração contendo 60% PB, mas sequencialmente todos os peixes alimentados com as rações comerciais com 46%PB, 53%PB e 55%PB, também segregaram, obtendo os mesmos resultados mas com maior retorno econômico devido ao menor nível proteico utilizado.

Neste experimento só houve desovas nos tratamentos com inclusão de farinha de linhaça (FL) nos níveis de 5% e 15%, onde a FL contribuiu com 2,55 e 7,62% do total da PB, e com 30,86 e 55,83% do total de extrato etéreo, contidos nas dietas (Tabela 12). São necessários mais tempo de experimentação com maior número de repetições para verificar se cerca de 3% de PB da FL combinado com valores de extrato etéreo em torno de 30% , específicos para o tratamento com 5% de FL, são os indicados para induzir a desova de reprodutores de peixes palhaço.

Tabela 12. Participação da farinha de linhaça (FL) nos teores de proteína bruta e extrato etéreo, por 100 g de dieta experimental utilizada no cultivo do peixe palhaço

Trat.	Inclusão -FL (%)	Proteína Bruta – PB*			Extrato Etéreo total – EE**			Desova
		Dietas (g)	FL (g)	% PB da FL*	Dietas (g)	FL (g)	% EE da FL*	
T1	0	38,96	0,00	0,00	4,81	0,00	0,00	Não
T2	5	38,11	0,97	2,55	7,13	2,20	30,86	Sim
T3	15	38,26	2,92	7,62	11,84	6,61	55,83	Sim
T4	25	38,07	4,86	12,76	17,20	11,02	64,07	Não
T5	35	38,02	6,80	17,89	23,36	15,43	66,05	Não

(*) FL – Farinha de linhaça: 19,43% de PB e 44,09% de EE**(Extrato Etéreo).

Segundo Navarro et al. (2009) o excesso de lipídios pode causar um depósito excessivo deste nos peixes, reduzir o consumo alimentar e inibir a utilização dos nutrientes. No entanto níveis elevados podem ser necessários por estarem associados à reprodução e/ou migração, pois é fonte de energia.

Para Badger (2004) que trabalhou com *Melanotaenia splendida splendida* ofertando rações que variavam no teor de lipídios totais em 9%, 12% e 20%, verificou que esses teores não afetaram o processo de desovas, mas a dieta contendo 20% de lipídios desenvolveu larvas defeituosas em cerca de 30% e teve 68,7% de sobrevivência do embrião “olhado”, enquanto que para 9% e de 12%, obtiveram cerca de 99,4% e 99,8% de sobrevivência. Concluiu que os teores de lipídios em dietas para *M. splendida splendida* devem variar de 9 a 12%.

Encontram-se na literatura vários dados de teores de ácidos graxos para a linhaça, e com base nessas informações estimou-se uma média para as sementes de linhaça de 52,00% do poli-insaturado α -linolênico (18:3n-3, ALN) e de 16% para o ácido linoleico (18:2n-6, AL) conforme Tabela 13.

Tabela 13. Composição de ácidos graxos em 100g de sementes de linhaça

Linhaça	Ácidos Graxos (%)							Referência
	Palmítico (16:00)	Estearíco (18:00)	Oléico (18:1n-9)	Ác.linole ico - AL (18:2n-6)	Ác. Linolêni co - ALN (18:3n-3)	EPA (20:5n-3)	DHA (22:6n-3)	
Semente	6,29 ± 0,04	4,55 ± 0,02	19,40 ± 0,05	12,41	56,00	-	-	FURUYA, 2008
Semente	8,09 ± 0,23	5,24 ± 0,10	22,98 ± 0,26	14,41	46,15	0,05± 0,01	0,02± 0,01	ALMEIDA, 2007
Semente	7,96	8,11	21,52	17,82	45,00	-	-	SOUSA, 2007
Semente	4,81	3,03	21,42	15,18	55,00	-	-	ZAMBLIAZI et al. 2007
Semente	4,20	2,60	16,50	20,30	54,00	-	-	PONTER, A. et al.2006
Semente	-	-	-	16,05	53,10	-	-	TRUCOM, 2006
Semente	-	-	-	15,80	52,00	-	-	MORRIS, 2007
Média	5,83	4,55	19,21	16,00	52,00	-	-	

Nesse experimento o teor de ácidos graxos das famílias n-3 e n-6, para cada dieta contendo farinha de linhaça foi estimado em: o tratamento com 5%FL continha 1,65% de ALN e 0,5% de AL; o tratamento com 15%FL continha 2,74% de ALN e 0,8% de AL; o tratamento com 25%FL, 3,92% de ALN e 1,19% de AL e para o tratamento com 35% FL, 5,28% de ALN e 1,6% de AL. Segundo o NRC (2011), para peixes marinhos o requerimento dos ácidos graxos da série n-3 (poli-insaturado α -linolênico 18:3n-3, EPA e DHA) varia de 0,8 a 2,4 da matéria seca. Somente as dietas com 5% e 15% de FL continham esses teores estimados de ácidos graxos poliinsaturados.

Alguns autores tem demonstrado que tanto a deficiência como o excesso de ácidos graxos podem causar problemas na administração de dietas desbalanceadas. Izquierdo et.al. (2001) constataram que a truta arco-íris (*Oncorhynchus myssis*) alimentada com dieta deficiente em n-3 produziu vitelogenese com deficiência de DHA (ácido

docosaenoico) e redução de 50% em EPA (ácido eicosapentaenoico). Além do que o excesso dos níveis de n-3 em dietas para reprodutores pode afetar a quantidade de óvulos produzidos. Fernandez-Palacios et al.(1995) trabalharam com o “gilthead seabream” (*Sparus aurata* L.), concluíram que excesso de ácidos graxos da família n-3, em dietas de reprodutores não impede as desovas mas afeta negativamente a reprodução, pois provoca hipertrofia do saco vitelino das larvas e, em consequência, uma redução de 10% na sobrevivência até o terceiro dia de incubação.

O uso de alimentos para peixes com altos teores de ácidos graxos como as sementes de linhaça, necessariamente não implica em utilização total desse nutriente pelo organismo. Visentainer et al. (2003) relatam que entre os ácidos graxos da série n-3 e n-6 pode haver interação competitiva para converter os carbonos 18 em 20 e 22, devido a afinidade das enzimas desaturase/elongase pelo n-3, e se aumentar a taxa n-3/n6 pode ocorrer a inibição das enzimas. Os mesmos autores relatam que peixes marinhos tem deficiência de C18 ou C20, ao contrário das espécies de peixes de água doce, precisam de HUFA (ácidos graxos altamente insaturados) da série n-3 como o EPA e o DHA na dieta, devido a sua inabilidade para sintetizá-los.

Regost et al. (2001), fizeram estudos com o turbot (*Psetta máxima*), um teleosteo marinho, sobre a atividade das enzimas hepáticas que participam do processo da lipogênese. Usaram óleo de soja e de linhaça em substituição total da fonte lipídica na dieta do peixe e relataram que houve um pequeno aumento nas atividades dessas enzimas com o aumento do teor de lipídios, mas como a atividade lipogênica no fígado exige mais tempo de observação, após dois meses do fim do experimento, ainda encontraram reservas de 18:2n-6 e 18:3n-3 no fígado, provenientes dos óleos vegetais e constataram a ocorrência do aumento nas concentrações de EPA e DHA. Segundo Martino (2003) mesmo que as espécies marinhas tenham perdido aparentemente a capacidade de realizar a bioconversão do ácido linolênico em EPA e DHA, parecem possuir a informação genética para realizar esse processo.

Segundo o NRC (2011) os teores de lipídios para qualquer espécie de peixe não pode ser especificamente definido porque tem a influência de uma série de

fatores nutricionais. Para algumas espécies teores acima de 20% pode dar resultados positivos, mas para outras pode ocorrer deposição de gordura visceral e desequilíbrio nas taxas de energia digestível/ proteína bruta. Quanto ao experimento atual há necessidade de maiores estudos quantitativos para os ácidos graxos presentes na linhaça e seus efeitos na nutrição e reprodução dos peixes palhaço.

No presente estudo, somente nos tratamentos com inclusão de farinha de linhaça, houve desenvolvimento de caracteres sexuais secundários (abaulamento da papila genital, comportamento de corte, agressividade dos machos com aproximação do aquário, coloração mais intensa e brilhante). Nas figuras de 9 a 13 são observadas as papilas genitais das fêmeas nos diferentes tratamentos.



Figura 9. Papila genital do peixe palhaço no tratamento com 0% de farinha de linhaça (controle) sem alterações. As fêmeas não desovaram.

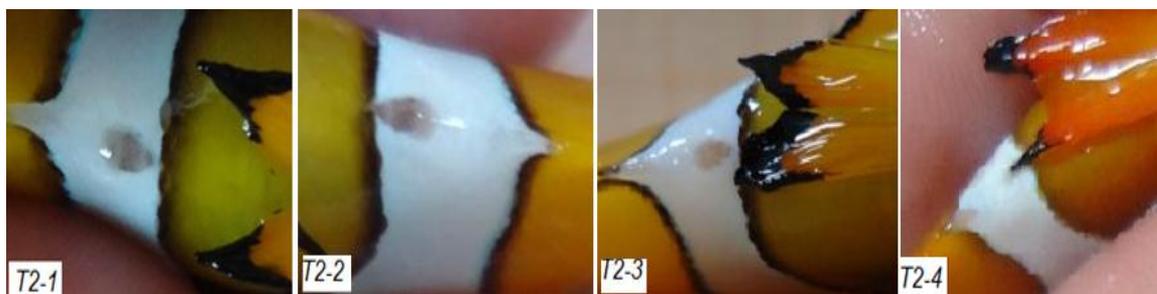


Figura 10. Papila genital abaulada do peixe palhaço no tratamento T2 (5% de FL). As fêmeas dos casais T2-1 e T2-3 desovaram e as fêmeas dos casais T2-2 e T2-4 apresentaram papilas genitais abauladas, mas não houve desovas



Figura 11. Papila genital de fêmeas do peixe palhaço no tratamento T3 (15% de FL). A fêmea do casal T3-2 foi a única que não desovou. A casal T3-3 apresentou papila genital hiperabaulada (detalhe)

No tratamento T4 com 25% de FL não ocorreu desovas. Somente a fêmea do casal T4-3 apresentou uma leve mudança na papila genital, mas não desovou. As outras fêmeas não apresentaram papilas genitais com alterações (Figura 12).



Figura 12. Papila genital das fêmeas do peixe palhaço no tratamento T4 (25% de FL). Em destaque para a papila genital da fêmea do casal T4-3, com abaulamento, mas não houve desovas.

No tratamento com 35% de FL (T5) não ocorreram desovas. Foi observado comportamento típico, como limpeza do local de nidificação, natação conjunta dos pares, rodopios e certa agressividade dos machos. Somente uma fêmea, a do casal T5-3, apresentou uma leve mudança na papila genital, com as demais sem alterações (Figura 13).

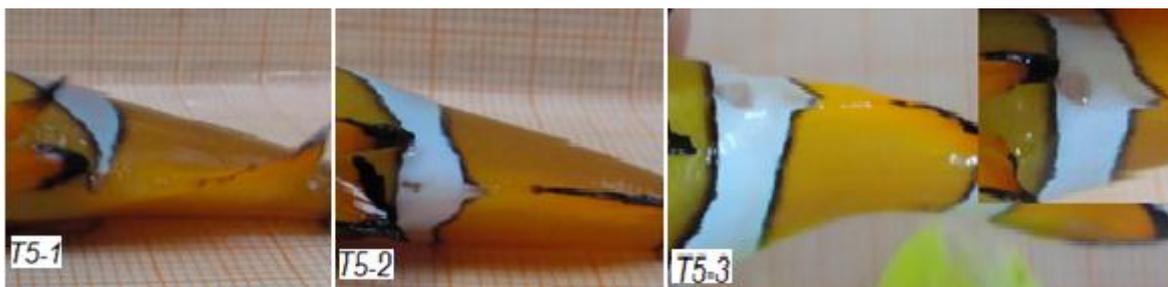


Figura 13. Papila genital das fêmeas do peixe palhaço no tratamento T5 (35% de FL). Em destaque a papila genital da fêmea do casal T5-3 com leve abaulamento, no mês de novembro/2011.

Quanto aos fitoestrógenos, semelhantes ao estrogênio endógeno, os mais estudados são as isoflavonas, lignanas, coumestanos e estilbenos, o que tem despertado interesse em desenvolver pesquisas sobre sua atuação na atividade reprodutiva dos peixes (TURKER et al., 2011). Os fitoestrógenos tem sido encontrados na relação de substâncias químicas conhecidas como desreguladores endócrinos que tem tido ação na atividade endócrina de peixes nativos. Na Linhaça os fitoestrógenos lignanas são encontrados na forma de secoisolariciresinol diglicosídeo-SDG, em altas concentrações que variam de 28.800 a 369.000 $\mu\text{g}/100\text{g}$, e nas formas de matairesinol e piroresinol em baixas concentrações (MACIEL, 2006; EPAMINONDAS, 2009). As lignanas tem sido relacionados com a atuação hormonal e desenvolvimento reprodutivo, principalmente nos humanos (MARQUES, 2008).

Em peixes os fitoestrógenos como os coumestanos são capazes de estimular a síntese da vitelogenina no esturjão siberiano (*Acipenser mykiss*) *in vivo* e *in vitro*, assim como na carpa comum (*Cyprinus carpio*) e na truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (PELISSERO et al., 1991). A vitelogenina é precursora da sequencia de proteínas do vitelo (TURKER et al., 2011).

Bennetau-Pelissero et al. (2002) testaram dosagens de 0; 500 e 1.000 ppm de genisteína (isoflavona) em dietas para trutas arco-íris na fase da primeira maturação sexual. Nos tratamentos com genisteína houve aceleração no

desenvolvimento testicular e a motilidade e a concentração de esperma decresceram conforme o tempo ofertado da dieta. Quanto as fêmeas, somente a dosagem de 500 ppm retardou a desova, e apresentou menor taxa de ovulação, fertilização e viabilidade de larvas. Esses resultados mostraram que a genisteína interage com os esteroides gerando efeitos estrogênicos e antiestrogênicos, o que deve ser considerado na nutrição de reprodutores.

Existem poucos estudos sobre a ação dos fitoestrógenos lignana na atividade reprodutiva dos peixes. Pesquisadores como Tou et al.(1998), Hutchins et al.(2003) mostraram que a inclusão da linhaça em dietas para ratos nos níveis 5% ou o equivalente 1,5 mg do isolado da lignana secoisolariciresinol diglycoside (SDG) produziu um efeito antiestrogênico nas fêmeas, com o atraso da puberdade, alongamento do diestro, aparecimento de ciclos estrais irregulares e redução do peso dos ovários. Nos machos, com o uso prolongado, ocorreu a redução do peso da próstata. O uso de 10% de linhaça teve um efeito estrogênico, com aumento do peso dos ovários e do peso relativo da próstata, alongamento do ciclo estral em 20-30%, retardo do início da puberdade e diminuição da distância anogenital de ambos os sexos. Segundo os autores, o efeito estrogênico promove uma aceleração da estrogeinização do sistema nervoso central que passa a liberar hormônios de forma acíclica, o que resulta em crescimento folicular, com falha na ovulação e ocorrem falhas no ciclo estral devido o prolongamento do estro.

No presente estudo, nos tratamentos que ocorreram desova (com 5% e 15% de farinha de linhaça - FL) foram detectados ovos fecundados, não fecundados, em pequeno número e um número expressivo de ovócitos imaturos. O tratamento com 15% de FL foi o que mais apresentou uma possível aceleração das desovas, devido à liberação de ovócitos imaturos e não fertilizados. Nos tratamentos que receberam 25% e 35% de FL os machos cortejaram as fêmeas e ficaram agressivos, sem desovas. Esses comportamentos podem sugerir efeitos relacionados à ação hormonal, mas é preciso mais investigação para afirmar em que níveis os compostos estrogênicos encontrados na linhaça, afetam o processo reprodutivo e o comportamento dos peixes palhaço. Segundo o NRC (2011) não há informações suficientes sobre os efeitos da dieta com fitoestrógenos para peixe que possa prever com segurança os níveis de inclusão.

4. CONCLUSÃO

A utilização da farinha de linhaça nos níveis de inclusão de 5% e 15% em dietas para os peixes palhaço influenciou na desova;

A farinha de linhaça não afetou o bem estar das fêmeas dos peixes palhaço conforme os valores do fator de condição relativo (K_n) que não variou do valor padrão igual a um;

O desempenho dos machos foi inferior ao observado para com as fêmeas;

A inclusão de 5% de farinha de linhaça apresentou potencial para uso como alimento que influencia a eficácia reprodutiva dos peixes palhaço, necessitando de mais estudos sobre a ação dos compostos funcionais da linhaça, como os fitoestrógenos, na alimentação de reprodutores;

Os estudos com reprodução de *A. ocellaris* necessitam de um número elevado de casais, como unidades experimentais e maior tempo de experimentação, tendo em vista as grandes variações individuais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, Gerald R. **The Anemonefishes: Their Classification and Biology**, 2nd ed. TFH Publications, Neptune, NJ. 1972.
- ALTINOK, I.; KAYIS, S.; CAPKIN, E. *Pseudomonas putida* infection in rainbow trout. **Aquaculture** 261,p. 850-855. 2006
- ALMEIDA, Katia Calvi Lenzi de. A incorporação de ácidos graxos *ômega-3*, oriundos da semente de linhaça (*Linum usitatissimum*), influenciando o desenvolvimento cerebral em ratos filhotes. Dissertação (Mestrado). Univ. Fed. Fluminense. P. 86. Niteroi, 2007.
- ANDRADE-TALMELLI, Elaine Fender de; FENERICH-VERANI, Nelsy; VERANI, José Roberto. Fator de condição relativo (Kn): um critério para selecionar fêmeas de piabinha, *Brycon insignis* (STEINDACHNEER, 1876) (PISCES: BRYCONINAE), para indução reprodutiva. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, 25 (único): 95-99, 1998/1999.
- ARANA, Luis Vinatea. **Princípios químicos de qualidade de água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões**. 2 ed. Florianópolis: UFSC; 231 P. 2004.
- ARSHAMI, J; PELEVAR, M; ELAHI, M. Effects of Long-Term Feeding Flaxseed on Growth and Carcass Parameters, Ovarian Morphology and Egg Production of Pullets. **Int. J. Poultry Sci.** 9(1): 82-87, 2010.
- AYRES, M; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.A. BIOESTAT-5.0 Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. 2007. Disponível em: <http://www.mamiraua.org.br>. Acesso em: 12/12/2011.
- BADGER, Amanda Catherine. The effects of Nutrition on Reproduction in the Eastern Rainbowfish, *Melanotaenia splendida splendida*. Master of Science. **Mar. Biol. Aquac.** Dalhousie University. 130f. 2004.
- BELL, J.G., TOCHER, D.R., HENDERSON, R.J., DICK, J.R. & CRAMPTON, V.O. Altered fatty acid compositions in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oil can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. **J.Nutr.** 133:2793-2801, 2003.
- BENNETAU-PELISSERO, C.; BRETON, B.; BENNETAU, B.; MENN, F.; KAUSHIK, S. J. Effect of Genistein Enriched Diet on the sex steroid Endocrinology and the Reproductive Efficiency of the Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. **Revue Med. Vet.**, 153(7):513-516. 2002.
- BERGAMIN, G. T.; MARTINELLI, S. G.; DELLA FLORA, M.A.L; PEDRON, F de A.; SILVA, L. P. RADÜNZ NETO, J. Fontes proteicas vegetais na alimentação da carpa húngara. **Cienc. Rural**. Santa Maria, v.41. n.9, p. 1660-1666, set, 2011.

- BRASIL. Conselho Nacional do Meio ambiente. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. **D.O.U.**. 18 mar. Seção 1, p.58-63. 2005.
- BRASIL, Fundação Nacional de Saúde. Manual prático de análise de água, 2ª Ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde – FUNASA. 146p. 2006.
- BUSTON, Peter M,. Size and growth modification in clownfish. **Nature** 424: 145-146, 2003.
- CALDEIRA, C. Q. Diferentes substratos de biofiltros na Larvicultura de tilápia do Nilo. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 36p. Diamantina, MG, 2011.
- CHEN, S.; LING, J.; BLANCHETON, J. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. **Aquacultural Engineering**, v.34, p. 179-197, 2006.
- CINTRA, D.E.C.; COSTA, A.G.V.; PELUZIO. M.do C. G.; MATTA, S.L.P.; SILVA, M.C.; COSTA, N.B. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. **Nutrition** 22: 197-205, 2006.
- COLLINS, T. F.X; SPRANDO, R.; BLACK, T. N;OLEJNIK, N.; WIESENFELD, P. W; BABU, U. S; FLYNN, T. J; RUGGLES, D. I. Effects of flaxseed and defatted flaxseed meal on reproduction and development in rats. **Food Chem. Toxicol.** V.41, issue 6:819-834. 2003.
- DHANEESH, K.V.; KUMAR, A.; SHUNMUGARAJ, T.. Embryonic Development of Percula Clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802). **E. J. Scientific Res.** 4 (2): 84-89.2009.
- DHANEESH, K.V.; KUMAR, A.; VINOTH, R.; SHUNMUGARAJ, T. Influence of Brooder Diet and Seasonal Temperature on Reproductive Efficiency of Clownfish *Amphiprion sebae* in Captivity. **Recent Res. in Sci. Tech.**, 2(2):95-99, 2011.
- EPAMINONDAS, Poliana Sousa. Caracterização físico-química e termo-oxidativa das sementes de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e de seus óleos. Dissertação (Mestrado), Univ. Fed. Paraíba - PB/CT. 100f. João Pessoa, PB. 2009.
- ENVIROMENT PROTECTION AGENCY- EPA. Guidelines: regulatory monitoring and testing Water and Wastewater Sampling, 21 st ed. 2007. Disponível no site: http://www.era.sa.gov.au/xstd_files/Water/Guideline/guide_wws.pdf. Acesso em: 20 de ago. 2011.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS, H., IZQUIERDO, M.S., ROBAINA, L., VALENCIA, A., SALHI, M. AND VERGARA, M. Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.), **Aquaculture**, 132: 325-337. 1995.
- FISHBASE. 2012. Species catalog. Disponível no World Wide Web em: <http://www.fishbase.org.html>. Acesso em 30.01.2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS –
FAO. THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE - SOFIA -
2008. Rome, 2009.

FROESE, R. Cube law, condition factor, and weight-length relationships: history,
meta-analysis and recommendations. **J. Applied Ichth.** 22(4):241-253, 2006.

FURUYA, W. M.; SANTOS, L. D. dos; SALES, P. J. P. SILVA, L. C. R.; SILVA, T.
S. C.; MATSUSHITA, M. Perfil de ácidos graxos de pós-larvas de camarão da
Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) alimentados com dietas com semente de
linhaça e subproduto de tomate. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, 34(4): 473 - 481,
2008.

GEURDEN, I, CUVIER, A. GONDOUIN, E., OLSEN, R.E., RUOHONEN, K.,
KAUSHIK, S. & BOUJAR, T. Rainbow trout can discriminate between feeds with
different oil source. **Physiol. Behav.** 85, 107-114. 2005.

GOMIERO, Leandro Mkuller ; BRAGA, Francisco Manoel de Souza. Relação
peso-comprimento e fator de condição para *Cichla cf. ocellaris* e *Cichla*
monoculus (Perciformes, Cichlidae) no reservatório de Volta Grande, rio Grande –
MG/SP. **Acta Sci: Biol.Sci.** Maringá, v.25, n.1, p. 79-86, 2003.

HOFF, JR., Frank.H. Pairing Clownfish. **FAMA** 9/84.1983.

HOFF JR., Frank.H. **Conditioning, spawning and rearing of fish with
emphasis on marine clownfish.** Aquaculture Consultants Inc. Dade City, 212 pp.
1996.

HUTCHINS, Andrea M.& SLAVIN, Joanne. Effects of Flaxseed on Sex Hormone
Metabolism. Chapter 6., 2nd.ed. Champaign: **AOCS Press**; 2003.

IZQUIERDO, M. S.; FERNÁNDEZ-PALACIOS; TACON, G.L. Effect of broodstock
nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, n.1-4, f. 25-42.
Jun. 2001.

JOHNSTON, G.; KAISER, H. HECHT, T.; OELLERMANN, L. Effect of ration size
and feeding frequency on growth, size distribution and survival of juvenile
clownfish, *Amphiprion percula*. **J. Applied Ichth.** V.19(1): 40-43, February, 2003.

KUBITZA, Fernando. Sistemas de Recirculação: sistemas fechados com
tratamento e reuso da água. **Panorama da Aquicultura**, v.16, n.95, p.15-22,
maio/junho, 2006.

LEONARD, N.; BLANCHETON, J.P.; GUIRAUD, J.P. Populations of heterotrophic
bacteria in an experimental recirculating aquaculture system. **Aquaculture
Engineering** 22: 109-120, 2000.

LIMA, F. V.; POUHEY, J. L. O. F.; ROCHA, C. B.; PORTELINHA, M. K.; BRITTO, A. C. P. Exigência de proteína bruta na dieta de peixe-rei (*Odontesthes humensis*) alimentados com dieta purificada. **XIX CIC**, 2010.

LIMA, A. O.; PORTZ, L.; GUERREIRO, J. A. Peixes Palhaço: antecedentes biológicos e introdução ao cultivo. **Panorama Aquic.**, v.20,(120): 38-45, julho/agosto, 2010.

MACIEL, Leda Maria Braga. Utilização da farinha de Linhaça (*Linum unitatissimum* L.) no Processamento do Biscoito Tipo "cracker": Características Físico-Químicas, Nutricionais e Sensoriais. Dissertação (Mestrado), Univ. Federal do Ceará – UFCe, Tecnologia de alimentos.114f. Fortaleza, Ceará. 2006.

MACIEL, Hévea Monteiro. Reprodução da piranha-amarela *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858, em lagos de várzea, Amazonas, Brasil. **Biota Neotropica**, abril, 2011.

MADHU, K; MADHU, R; KRISHMAN, L; SASIDHARAN, D.S & VENUGOPALAN, K.M. Spawning and larval rearing of *Amphiprion ocellaris* under captive condition. **Mar.Fish. Infor.Serv,T&E.**, n. 188. 2006.

MADHU, K., Pair Formation, Broodstock Development and breeding of clown fishes. Recent Advances in Breeding and Larviculture of Marine Finfish and Shellfish- Central Marine Fisheries Research Institute (Indian Council of Agricultural Research) P.B.No.1603, **Mar. Drive North Extension** Ernakulam North ,P.O. Cochin, KERALA – INDIA – 2009.

MARQUES, Anne y Castro. Propriedades funcionais da Linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos. Dissertação (Mestrado). Univ. Fed. Santa Úrsula, RS, Santa Maria, 2008.

MARTINO, Ricardo C. Exigências e cuidados da adição de lipídios em rações para peixes e a sua importância para o homem – Parte 2. **Panorama Aquic.**, v.13, n.75, p.58-60.2003.

MENDES, P.P. **Estatística aplicada a Aquicultura**. Recife: Bagaço, 265p. 1999.

MICHAUD, L.; BLANCHETON, J.P.; BRUNIA , V.AND PIEDRAHITA, R. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. **Aquacultural Engineering**, v.34, n. 3, p. 224-233, 2006.

MICHAUD, L.; GIUDICE, A. L.; TROUSSELLIER, M.; SMEDILE, F.; BRUNI, V.; BLANCHETON, J.P. Phylogenetic characterization of the heterotrophic bacterial communities inhabiting a marine recirculating aquaculture system. **J. Applied Microb.**, v. 107.n.6, p.1935-1946, 2009.

MISSAGIA, B. Estudo das comunidades bacterianas em Filtros Biológicos Percoladores utilizados para o pós-tratamento de efluentes de um reator UASB. Tese (doutorado), Saneamento, Meio ambiente e Recursos Hídricos. Escola de Engenharia da UGMG, Belo Horizonte, MG, 113f, 2010.

MORRIS, D. H. Flax: a health and nutrition primer. 4.ed. Flax Council of Canada, 2007. 140p. disponível em < <http://www.flaxcouncil.ca/english/index.jsp>. Acessado em 12 jan, 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirement of warm water, fishes and shellfishes**. Washington: National Academy Press, 1993.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient requirement of fishes and shrimp**. Washington DC: National Academy Press, 2011.

NAVARRO, R. D.; RIBEIRO FILHO, O. P.; FERREIRA, W. M. A Importância das vitaminas E, C e A na reprodução de peixes: revisão de literatura. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** Belo Horizonte, v.33, n.1, p.20-25, jan/mar. 2009.

NAVAS, J. M. ET AL. Effect of dietary lipid composition on vitellogenin, 17 β -estradiol and gonadotropin plasma levels and spawning performance in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). **Aquaculture** , v.165, p.65-79, 1998.

NEWKIRK, R. Flax Feed Industry Guide. Flax Canada 2015. Winnipeg, Manitoba. 2008. Disponível no site: http://www.wcfin.ca/Portals/0/Flax%20Feed%20Industry%20Guide%20Final_Saml.pdf. Acessado em 23 abril, 2012.

OLIVA-TELES, A. Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition. **Aquac. Int.** v.8: 477-492, 2000.

PAVANELLI, Gilberto Cezar; EIRAS, Jorge da Costa; TAKEMOTO, Ricardo Massato. **Doenças de Peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 3 ed. Maringá: Eduem, 2008.

PELISSERO, C.; FLOURIOT, G.; FOUCHER, J.L.; BENNETAU, B., DUNOGUES, J.; LE, G.F.; SUMPTER, J.P. Vitellogenin synthesis in cultured hepatocytes; an in vitro test for the estrogenic potency of chemicals. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.**, 44:236-272, 1991.

PONTER, A.A.; PARSY, A.E.; SAADE, M.; MIALOT, J.P. FICHEUX, C.; DUVAUX-PONTER, C.; GRIMARD, B. Effect of a supplement rich in linolenic acid added to the diet of post partum dairy cows on ovarian follicle growth, and milk and plasma fatty acid compositions. **Reprod. Nutr. Dev.** 46:19-29, 2006.

RAINUZZO, José R.; RCITAN, Kjell I.; OLSEN, Yngvar. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. **Aquaculture** 155: 103-115. 1997.

- RATTANAYUVAKORN, S.;MUNGKORNKARN, P. THONGPAN, A; CHATCHAVALVANICH, K. Embryonic Development of Saddleback Anemonefish *Amphiprion polymnus*, Linnaeus (1758). **Kasetsart J. (Nat.Sci)** 39: 455-463, 2005.
- REBOUÇAS, Ricardo Albuquerque. Monitoramento da microbiota bacteriana da água em um sistema fechado de cultivo em uma estação de piscicultura marinha. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais); Universidade Federal do Ceará, Laboratório de Ciências do Mar – LABOMAR. 79f. Fortaleza, CE. 2010.
- RECHE, M. H.L.R.; PITTOL, M.; FIUZA, L. M. Bactérias e Bioindicadores de qualidade de águas de ecossistemas orizícolas da região sul do Brasil. **Oecologia Australis**. 14(2): 452-463, 2010.
- REGOST, C.; ARZEL, J.; ROBIN,G.; ROSENLUND, G.; KAUSHIK, S.J. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in Turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, 220(1-4): 737-747. 2003.
- SARI,M.; AKISIT, M.; ÖZDOGAN, M.; BASMACIOGLU, H. Effects of addition of flaxseed to diets of laying hens on some production characteristics, levels of yolk and serum cholesterol, and fatty acid composition of yolk. **Arch.Geflügelk**. 66 (2), 75-79. 2002.
- SANCHES, Eduardo Gomes; AZEVEDO, Venâncio Guedes de; COSTA, Marcus Rodrigues da. Criação da Garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (LOWE, 1834) (TELEOSTEI, SERRANIDAE) alimentada com rejeito de pesca e ração úmida em tanques-rede. **Atlântica**, Rio Grande, 29(2), 121 -126, 2007.
- SANTOS, Edison Pereira dos. **Dinâmica de populações aplicada à pesca e piscicultura**. São Paulo, Hucitec, Ed. Univ. São Paulo, 129p. 1978.
- SANTOS, E.L.; WINTERLE,W.M.C.; LUDKE, M.C.M.M.; BARBOSA,J. M. Digestibilidade de ingredientes alternativos para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): revisão. **Rev. Bras. Enga. Pesca**, v.3, n.2, 2008.
- SATAKE, Fabiana et al. Relação Peso-Comprimento, Fator de Condição e parâmetros Hematológicos de Dourado *Salminus brasiliensis* Cultivado em Condições Experimentais. **Bol. Pesq. Desenv. / Embrapa Agropecuário Oeste**. 22p. Dourado, MS. 2009.
- SCORVO FILHO, João Donato; ROJAS, Nilton Eduardo Torres; SILVA, Claudia Menezes da; KONOIKE, Tatsuro. Criação de *Arapaima gigas* (TELEOSTEI OSTEOGLOSSIDAE) em estufa e sistema fechado de circulação de água no estado de São Paulo. **Bol. Inst. Pesca**, v.30, n.2, p.161-170, 2004.
- SHANG, C. Assessment of Deficiency of Fish Tank Water UV Disinfection and Remedial Measures. **RFCID Res. Fund for the Control Infect. Dis.**, Hong Kong, 2007.

- SHARRER, M. J.; SUMMERFELT, S.T. Ozonation followed by ultraviolet irradiation provides effective bacteria inactivation in a freshwater recirculating system. **Aquac. Engineering** 37: 180-191. 2007
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F.A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. Si.; GOMES,R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4ªEd. Livraria Varela. São Paulo, SP. p. 632. 2010.
- SILVA, R, M,L. Bactéria do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da Região da baixada Ocidental Maranhense. Tese (Doutorado), Univ. Est. Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo, Jaboticabal, 2010.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H.;GUARIGLIKA, C. T. S.; BRAGA, F. M. S. Effects of rainfalls on water quality in six sequentially disposed fishponds with continuous water flow. **Braz. J. Biol.**, São Paulo, v.67, n.4, p.643-649, 2007.
- SOARES, Lavínia Leal; PACHECO, J, T.; BRITO, C, M,; TROINA, A. A.; BOAVENTURA, G. T.; GUZMÁN-SILVA, M.A. Avaliação dos efeitos da semente de linhaça quando utilizada como fonte proteica nas fases de crescimento e manutenção de ratos. **Rev. Nutri.**, Campinas, 22(4): 482-491, jul/ago, 2009.
- SOUZA, N.E.de; SILVA, R.R.;PRADO, I.M.;WADA, F.Y.; PRADO, I.N. Grãos de linhaça e canola sobre a composição do músculo longissimus de novilhas confinadas. **Arch. Zootec.** 56 (216): 863-874. 2007.
- TABORSKY, M. Broodcare helpers in the cichlid fish *Lamprologusbrichardi*: their cost and benefits. **Anim. Behav.** 32, 1236-1252, 1984.
- TACON, A.G.J. Feed ingredients for carnivorous fish species. Alternatives to fishmeal and other fisheries resources. **FAO Fisheries Circular 881**, 35p. 1994.
- TIMMONS, M. B.; EBELING, J. M. WHEATON, F. W.; SUMMERFELT, S.T. Recirculation Aquaculture System. **Cayuga Aqua**, Ithaca NY. 2002.
- TIMMONS, M. B.; HOLDER, J.; EBELING, J. M. Application of microbead biological filters. **Aquac. Engineering**, 34, p.332-343, 2006
- TOU, Janet C. L.; CHEN, Jianmin; THOMPSON,Lilian. Flaxseed and Its Lignan Precursor, Secoisolariciresinol diglycoside, Affect Pregnancy Outcome and Reproductive Development in rats. **J. Nutrit.**, 1998.
- TURKER Haran; TAKEMURA Akihiro. Effects of Environmental Contaminants and Natural Substances on Vitellogenesis in Tilapia Primary Hepatocytes. **T. J. Fish. Aquat. Sci.**, n. 11, p.593-545, 2011.
- VARGHESE, B.; PAULRAJ, R.; GOPAKUMAR, G.; CHAKRABORTY, K. Dietary influence on the egg production and larval viability in True Sebae Clownfish *Amphiprion sebae* Bleeker 1853. **Asian Fish. Sci.**, v..22, p.7-20, 2009.

VAZZOLER, A. E. A. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura, 1996.

VINOTH, R.; AJITHKIMAR, T.T; GOPI, M. Photoperiod Induced Larval Growth of Anemonefish *Amphiprion percula*. **World Applied Sci. J.**, v.10, n.3, p.283-286, 2010.

VISENTAINER, J. V.; GOMES, S. .T.M.; HAYASHI, C.: SANTOS-JUNIOR, O. O.:SILVA, A.M. da; JUSTI, K. C.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Efeito do tempo de fornecimento de ração suplementada com Óleo de linhaça sobre a composição físico-química e de ácidos Graxos em cabeças de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticu*). **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.3, p.478-484, 2003.

WATANABE, T.; VASSALO-AGIUS, R. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. **Aquaculture**, n. 227.p. 35–61. 2003.

WATHERS, C.; ABAYASEKARA, R.;AITKEN, J. Polyunsaturated Fatty Acids in Male and Female Reproduction. **Biol. Reprod.**, v.77, p.190-201, 2007

WILKERSON, J.D. **Clownfishes. a guide to their captive care, breeding & natural history**. Microcosm, Ltd. P.O. Box 550, Charlotte, VT 05445 - 240 pp. 2003.

ZANIBONI FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.31, n-3, p.367-373, jul./set.2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante mais pesquisas sobre a ação dos fitoestrógenos provenientes de alimentos funcionais de origem vegetal, como a linhaça, em ambiente aquático de cultivo, para que se possa considerar sua inclusão em dietas para reprodutores de peixes palhaço, o que pode levar a uma possível redução do uso de hormônios exógenos no processo de indução de desovas de peixes.

A necessidade de expansão da aquicultura tem como um dos limites a poluição das águas continentais e costeiras, e em ambiente de produção aquícola cada dia mais é exigido maior conhecimento e controle da qualidade de água e do manejo adequado, para minimizar a emissão de efluentes com níveis elevados de fezes e resíduos de alimentos. No nordeste brasileiro ainda é pouco utilizado os sistemas de recirculação fechados ou semifechados, pelo médio e pequeno agricultor/aquicultor, ou por falta de conhecimentos ou pelos custos mais elevados de implantação, necessitando de maior investimento em treinamento.

Uma das linhas de estudos que devem ser mais pesquisadas em sistemas aquícolas de recirculação é sobre como as bactérias heterotróficas afetam a qualidade de água e sua relação com os nitrificadores, pois atuam como biocontroladores e biotransformadores da matéria orgânica, particulada e dissolvida, e são indicadores da carga orgânica e de possíveis falhas na desinfecção, mas sem controle podem inviabilizar qualquer sistema de produção.

APÊNDICES



Figura 1. Bateria de aquários onde foi realizado o cultivo do peixe palhaço. Da esquerda para direita: a frente; a parte de trás mostrando a saídas individuais de cada aquário

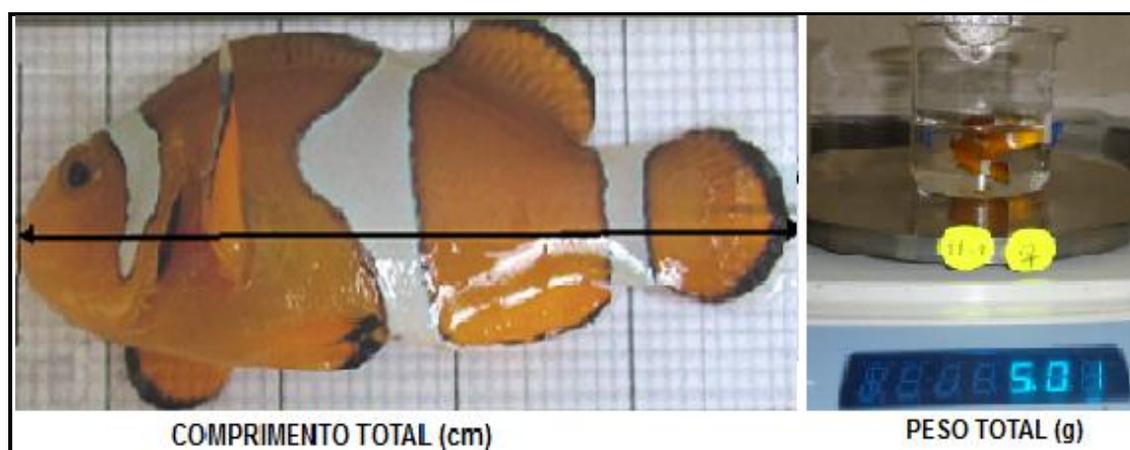


Figura 2. Medida do Comprimento total, Lt (cm) – medida da extremidade do focinho até a extremidade mais pronunciada da nadadeira caudal do peixe palhaço. Obtenção do peso corporal total, Wt (g) – massa corporal do peixe vivo

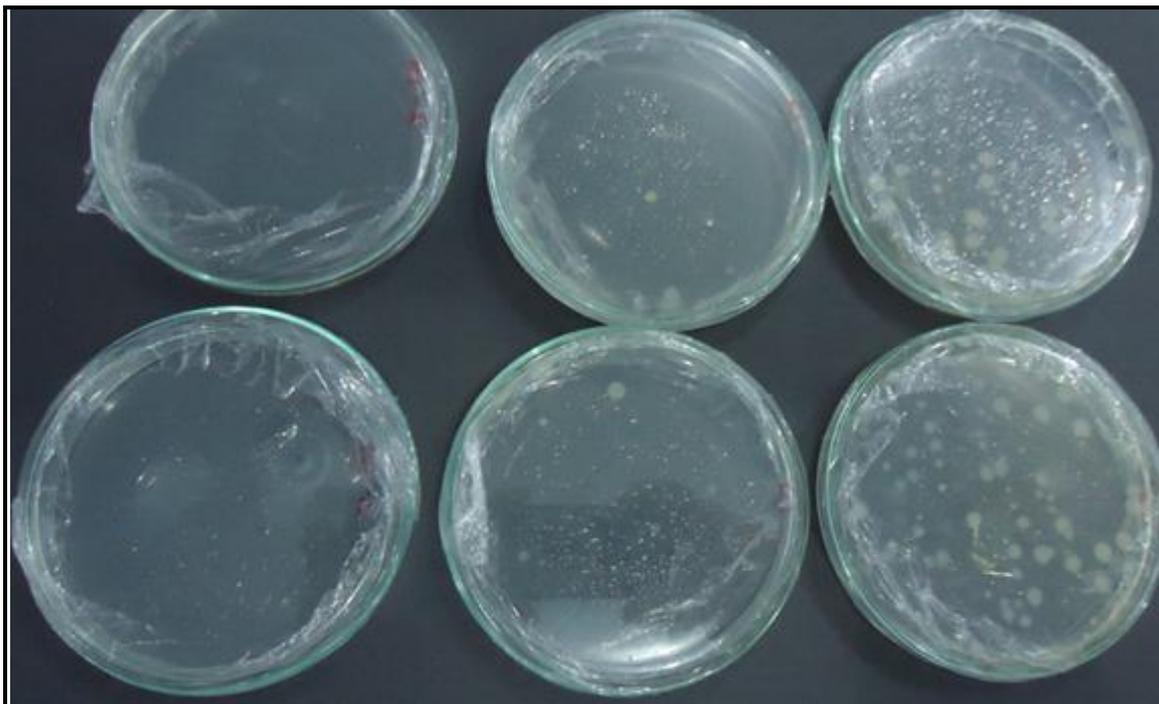


Figura 3. Crescimento de bactérias heterotróficas mesófilas (48h;36,8°C). NEPA, UFRB, 2011.

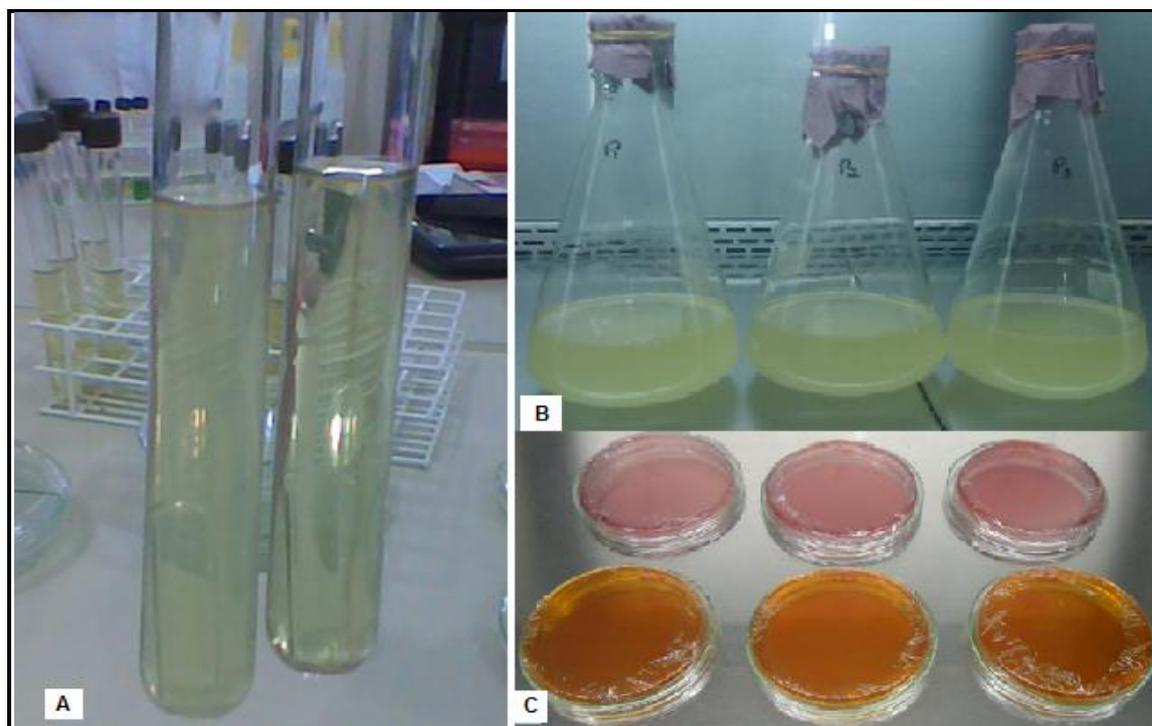


Figura 4. Figura A - Meio de crescimento para *Pseudomonas*. Figura B - Crescimento de *Aeromonas* e *Edwardsiella*, após incubação. Figura C - Placas de isolamento de *Aeromonas*, Meio Ágar Mac Conkey (rosa) e *Edwardsiella*, GSP (laranja). NEPA, UFRB, 2011.



Figura 5. Meio de preenchimento do biofiltro em ordem de sobreposição do fundo para a superfície. A – Pedras calcárias; B – Casca de ostras; C – Casca de ostra triturada; D – *Halimeda*; C - Cascas de ostra e *Halimeda* embaladas em bolsas de tela.

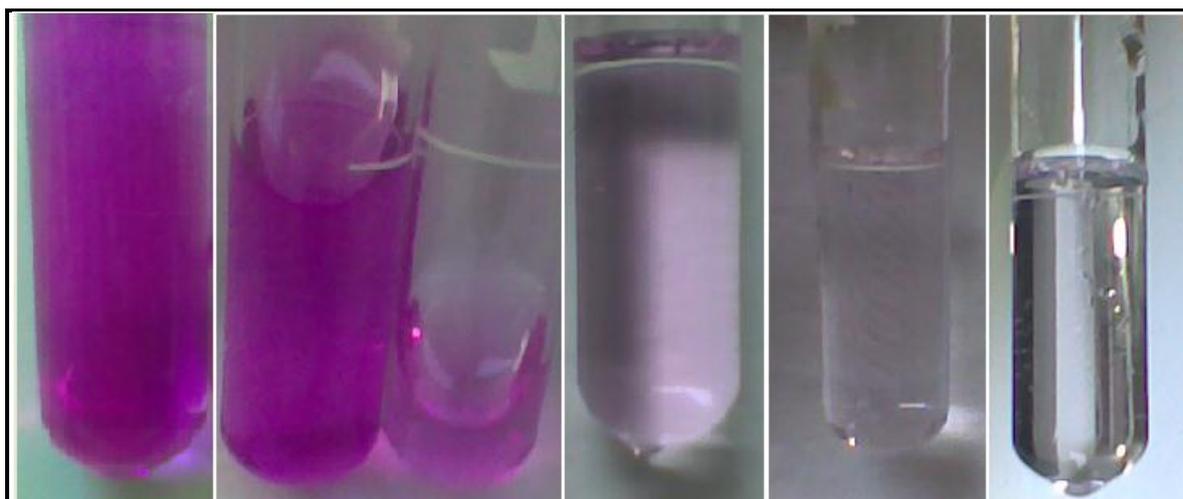


Figura 6. Maturação do biofiltro. Da esquerda para a direita o processo de redução a níveis não detectáveis dos teores de nitrito, em sistema fechado de recirculação de água, antes do povoamento da bateria de cultivo do peixe palhaço