



***Manutenção, reprodução e transporte de organismos
ornamentais***

Tânia Patrícia Carvalho Araújo

2016



***Manutenção, reprodução e transporte de organismos
ornamentais***

Tânia Patrícia Carvalho Araújo

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Relatório de Estágio de Mestrado realizado sob a orientação do Doutor Paulo Jorge de Sousa Maranhão e co-orientação do Mestre João Pedro Chambel Martins

2016

Manutenção, reprodução e transporte de organismos ornamentais

Copyright

Tânia Patrícia Carvalho Araújo

Escola Superior de Turismo e Tecnologias do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar este relatório de estágio através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Agradeço aos orientadores, Professor Doutor Paulo Maranhão e ao Mestre João Chambel, pelo apoio académico incondicional, que durante todo este percurso estiveram presentes dando sugestões úteis para a concretização deste trabalho, principalmente a fase difícil da conclusão da tese.

Uma palavra de gratidão à empresa AQUASPROSEA, Lda, que me acolheu e me deu oportunidade de estagiar, pelo apoio a nível profissional e pessoal e pelo enriquecimento de conhecimentos no desenvolvimento do meu trabalho.

À Catarina Mendes e ao Fábio Miranda pela disponibilidade e incentivo durante o estágio. E à Ana Catarina Mendes e ao Fábio Samouco pela ajuda que me prestaram durante o seu estágio.

Aos meus amigos, pela amizade, apoio, compreensão e estímulo diário durante este trabalho e conclusão do mesmo.

Por último e não menos importante, à minha família pela ajuda e paciência que revelaram ao longo de todo o meu percurso académico, fazendo-me acreditar que seria capaz de concretizar o meu projeto e alcançar os meus objetivos.

Resumo

O *hobby* da aquariofilia é praticado por milhões de pessoas em todo o mundo, gerando um mercado muito lucrativo. Devido aos efeitos negativos que se abatem sobre os ecossistemas naturais, surgiu a aquacultura como alternativa às capturas de organismos selvagens. Os organismos produzidos em cativeiro têm uma qualidade superior e encontram-se melhor adaptados a viver neste meio, comparativamente aos selvagens. Atualmente, poucas são as espécies transacionadas no mercado de organismos ornamentais provenientes de produção em cativeiro, sendo necessário recorrer às zonas de recife de coral para suprimir as necessidades.

A AQUASPROSEA, Lda nasceu a partir de uma incubadora de *Startups* e encontra-se localizada no Santuário Nossa Senhora dos Remédios, em Peniche. Dedicar-se à produção de organismos de água salgada para fins ornamentais, comercializando juvenis de várias espécies de peixe e uma espécie de medusa. Tem como missão promover um mercado sustentável de produção de organismos ornamentais para o *hobby* da aquariofilia.

O presente relatório de estágio curricular foi realizado para completar o 2º ano do Mestrado em Aquacultura, da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche – Instituto Politécnico de Leiria. O objetivo do estágio, na empresa AQUASPROSEA, Lda, centrou-se no contacto com a realidade empresarial na área da aquacultura, integrando as rotinas da unidade de produção. O estágio iniciou-se a 1 de outubro de 2015 e terminou a 31 de julho de 2016 tendo sido cumprido um horário laboral de 8h diárias.

Durante o período de estágio realizaram-se várias tarefas, nomeadamente: a montagem de sistemas de produção; a manutenção de sistemas e de culturas de rotíferos e artémia; a adaptação de protocolos de produção a novas espécies; a preparação e o embalamento de peixes ornamentais e a otimização do processo de transporte. O estágio permitiu consolidar conhecimentos adquiridos durante a formação académica, aquisição de novos conhecimentos sobre a realidade empresarial e novos organismos bem como uma visão alargada do mercado de trabalho no que respeita à aquacultura, nomeadamente às suas rotinas e às suas exigências diárias.

Palavras-chave: Organismos ornamentais; Aquacultura; Rotina; Embalamento e transporte; AQUASPROSEA, Lda.

Abstract

The aquarium hobby is practiced by millions of people around the world, generating a very lucrative market. Due to the negative effects that befall natural ecosystems, aquaculture has emerged as an alternative to wild organisms catches. Captive produced organisms have a higher quality and are better adapted to living in this environment, compared to the wild species. Currently, there are few species traded from captive production, being necessary to use coral reef areas to suppress the needs.

The AQUASPROSEA, Lda was born from an incubator of Startups and it is located in the Santuário Nossa Senhora dos Remédios, in Peniche. Dedicated to the production of salt water organisms for ornamental purposes, selling juvenile fish species and a specific specie of jellyfish. Its mission is to promote a sustainable market for the production of ornamental organisms to the aquarium hobby.

This traineeship report was carried out to complete the 2nd year of the Master Degree in Aquaculture, in the Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche – Instituto Politécnico de Leiria. The purpose of the stage in AQUASPROSEA, Lda, focused on contact with business reality in the aquaculture area, integrating the production unit routines. The stage began on October 1, 2015 and ended July 31, 2016 and was working of 8 hours daily.

During the probationary period took place several tasks, including: assembly of production systems; maintenance systems and cultures of rotifers and artemia; the adaptation of the production protocols new species; preparation and packaging of ornamental fish and the optimization of the transport process. The stage has consolidated knowledge acquired during academic training, acquiring new knowledge of the business reality and new organizations as well as a broad overview of the labor market with regard to aquaculture, particularly their routines and their daily requirements.

Key-words: Ornamental organisms; Aquaculture, Routine; Packaging and transportation; AQUASPROSEA, Ida.

Índice de matérias

1. A aquacultura ornamental.....	1
2. Biologia e produção em cativeiro de alguns organismos ornamentais.....	5
3. Estágio na AQUASPROSEA, Lda.....	13
3.1. AQUASPROSEA, Lda.....	13
3.2. Objetivo.....	13
4. Descrição da AQUASPROSEA, Lda.....	15
4.1. Instalações.....	15
4.2. Organismos ornamentais produzidos.....	20
4.2.1. Peixes-palhaço, <i>Amphiprion</i> spp. e <i>Premnas</i> sp.....	20
4.2.2. <i>Pseudochromis</i> spp.....	24
4.2.3. Góbio, <i>Elacatinus</i> spp.....	25
4.2.4. Medusa-da-lua, <i>Aurelia aurita</i>	26
5. Rotina na AQUASPROSEA, Lda.....	29
5.1. Montagem de sistemas.....	30
5.2. Verificação de sistemas e organismos.....	35
5.3. Alimentação.....	35
5.3.1. Peixes.....	35
5.3.2. Medusas.....	37
5.3.3. Cultivos auxiliares.....	37
5.4. Controlo da qualidade da água.....	39
5.5. Posturas.....	41
5.6. Estrobilação.....	42
5.7. Limpeza.....	42
5.8. Embalamento e transporte.....	43
6. Casos de estudo.....	45
6.1. Transporte de juvenis de peixe-palhaço <i>Amphiprion percula</i> em diferentes densidades e tempo de transporte.....	45
6.1.1. Introdução.....	45
6.1.2. Material e Métodos.....	46
6.1.3. Resultados.....	47
6.1.4. Discussão.....	48

Índice de matérias

6.2. Comportamento reprodutivo, postura, desenvolvimento embrionário e larvar da espécie <i>Pseudochromis fridmani</i> , em cativeiro.....	53
6.2.1. Introdução.....	53
6.2.2. Material e Métodos.....	54
6.2.3. Resultados.....	55
6.2.4. Discussão.....	57
7. Conclusão.....	59
8. Referências Bibliográficas.....	61

Índice de figuras

Figura 2.1 – <i>Amphiprion ocellaris</i>	5
Figura 2.2 – Postura de peixes-palhaço num vaso.....	6
Figura 2.3 – Tanque com juvenis de peixe-palhaço.....	7
Figura 2.4 – <i>Pseudochromis flavivertex</i>	8
Figura 2.5 – Postura da espécie <i>P. fridmani</i>	9
Figura 2.6 – Postura de góbios.....	10
Figura 2.7 – Éfira.....	12
Figura 4.1 – Planta das instalações da empresa AQUASPROSEA, Lda.: (1) produção, (2) quarentena, (3) embalamento, (4) máquinas, (5) armazém, (6) lavagens e (7) área pessoal.....	15
Figura 4.2 – Sala dos Reprodutores.....	16
Figura 4.3 – Sala da Engorda.....	17
Figura 4.4 – Sala dos Cultivos Auxiliares.....	18
Figura 4.5 – Sala das Lavagens.....	19
Figura 4.6 – Zona de Embalamento.....	20
Figura 4.7 – <i>Amphiprion percula</i>	21
Figura 4.8 – <i>Amphiprion ocellaris</i> e variações. A) <i>Ocellaris</i> , B) variação <i>Black Ocellaris</i> e C) variação <i>Premium Snowflake</i>	22
Figura 4.9 – <i>Amphiprion frenatus</i> . A) adulto e B) juvenil.....	22
Figura 4.10 – <i>Amphiprion clarkii</i>	23
Figura 4.11 – <i>Amphiprion sandaracinos</i>	23
Figura 4.12 – <i>Premnas biaculeatus</i>	23
Figura 4.13 – <i>Pseudochromis fridmani</i>	24
Figura 4.14 – <i>Pseudochromis aldabraensis</i>	25
Figura 4.15 – <i>Pseudochromis flavivertex</i>	25
Figura 4.16 – A) <i>Elacatinus oceanops</i> e B) <i>Elacatinus figaro</i>	26
Figura 4.17 – <i>Aurelia aurita</i>	27
Figura 5.1 – Sistema de reprodutores.....	30
Figura 5.2 – Sistema de larvicultura.....	31
Figura 5.3 – Sistema intermédio.....	31
Figura 5.4 – Sistemas de engorda.....	32
Figura 5.5 – Sistema de expedição.....	33

Índice de figuras

Figura 5.6 – Pólipos mantidos em tanques de 50L.....	34
Figura 5.7 – Sistema das éfiras.....	34
Figura 5.8 – Sistema das medusas.....	35
Figura 5.9 – Cultivo de rotíferos.....	37
Figura 5.10 – Cultivo de artémia.....	38
Figura 5.11 – Cultivo de ciliados.....	39
Figura 5.12 – Saco de transporte com 1:3 de água e 2:3 de oxigênio.....	43
Figura 5.13 – A) Caixa de esferovite isotérmica com as paredes forradas com folhas de jornal com organismos dentro dos sacos de polietileno saturados com oxigênio e fechados e B) caixa de cartão devidamente identificada para ser transportada.....	44
Figura 6.1 – Desenvolvimento embrionário da espécie <i>Pseudochromis fridmani</i> . A) imediatamente após a fecundação, B) após 36 horas e C) após 90 horas.....	56
Figura 6.2 – Larva recém eclodida da espécie <i>Pseudochromis fridmani</i>	56

Índice de tabelas

Tabela V. I - Discriminação das tarefas e frequência de realização.....	29
Tabela V. II - Valores de referência da qualidade da água dos sistemas.....	41
Tabela VI.I - Média dos diferentes parâmetros da qualidade da água às 24h. Legenda: (i) 4 ind./saco (controlo), (ii) 6 ind./saco e (iii) 7 ind./saco. O símbolo representa diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value}<0,05$). (*) diferenças de NH_3 total. Os valores são representados por média \pm DP.....	48
Tabela VI.II - Média dos diferentes parâmetros da qualidade da água às 30h. Legenda: (i) 4 ind./saco (controlo), (ii) 6 ind./saco e (iii) 7 ind./saco. Os valores são representados por média \pm DP.....	48
Tabela VI.III - Alimentação das larvas durante o ensaio. As presas são administradas de acordo com o dia depois da eclosão.....	55

1. A aquacultura ornamental

O ser humano criou um fascínio por todos os seres vivos que o rodeiam, e desde muito cedo tentou capturá-los e mantê-los (Kisling, 2000). A sociedade foi evoluindo, com os animais terrestres a serem a imagem dominante do reino animal, até ao aparecimento do aquário, que veio revolucionar um pouco esta visão, uma vez que trouxe um conceito novo - o oceano dentro de casa. Somente em meados do século XIX é que a popularidade do aquário cresceu enormemente, uma vez que os entusiastas foram aparecendo um pouco por todo o mundo, sendo o peixinho-dourado (*Carassius auratus*) muito apreciado (Brunner, 2005; Kiro e Dhanasiri, 2011).

Com o aumento do conhecimento acerca dos organismos marinhos e com uma tecnologia cada vez mais avançada, que permitiu melhorar os equipamentos, este *hobby* tornou-se mais fácil e desenvolveu-se mais rapidamente (Livengood e Chapman, 2007; Lucas e Southgate, 2012). Podem ser encontrados num aquário variadíssimas espécies de peixes com diversas cores e formas do corpo, assim como invertebrados, como os tão apreciados corais, crustáceos, moluscos, equinodermes e também rocha viva (Livengood e Chapman, 2007). Os recifes de coral são dos ecossistemas com maior biodiversidade de organismos e fornecem uma ampla gama de espécies para o mercado ornamental. A coloração dos organismos é de extrema importância para a sua comercialização (Ho et al., 2013).

Assim, a aquariofilia tornou-se um *hobby* praticado por milhões de pessoas em todo o mundo, estimando-se que 1,5 a 2 milhões de pessoas já mantêm os seus próprios aquários marinhos (Dhaneesh et al., 2012), e conseqüentemente um forte mercado, o mercado ornamental, que assegura as necessidades dos praticantes deste *hobby*, que gera anualmente entre 180 - 300€ milhões de euros (Kumar et al., 2012). O mercado ornamental gera milhões de euros anualmente e é mais lucrativo do que o mercado de peixes para consumo humano (Wabnitz et al., 2003).

Vários têm sido os países que disponibilizam as suas espécies nativas para comercializar, de forma a que o mercado ornamental consiga disponibilizar um vasto conjunto de organismos. Do extenso número de espécies negociadas, muitas são adquiridas nos

trópicos (Whittington e Chong, 2007). Os principais fornecedores deste mercado são a Indonésia e as Filipinas que conseguem negociar mais de 1450 espécies marinhas, sendo extremamente dependentes deste mercado (Pomeroy et al., 2006; Whittington e Chong, 2007). Estas capturas acarretam vários impactos negativos nos ecossistemas, como a sobre exploração dos *stocks* ou a destruição do habitat como, por exemplo, devido ao uso de cianeto para atordoar os peixes afim de estes se tornarem mais fáceis de capturar, por parte dos pescadores (Pomeroy et al., 2006; Dhaneesh et al., 2012;). De forma a minimizar todos os problemas e para suportar as necessidades de um *hobby* que tem cada vez mais adeptos, surgiu a aquacultura de peixes ornamentais, que visa ser uma solução prioritária para que ocorra uma redução da pressão que é exercida sobre os recifes de coral para a captura de organismos selvagens (Pomeroy e Balboa, 2004).

Para que a aquacultura seja uma alternativa à diminuição ou até mesmo à eliminação da pesca destrutiva que se abate sobre os ecossistemas selvagens, esta tem de ser economicamente e tecnologicamente viável (Pomeroy e Balboa, 2004). A produção de organismos em cativeiro tem como vantagens uma qualidade superior, quando comparado com os organismos capturados do meio selvagem, além de estarem mais adaptados a continuar a viver em cativeiro (Tlusty, 2002). Atualmente, somente 51 das 1000 espécies dos recifes de coral transacionadas é que são produzidas em cativeiro e para obter as restantes, recorre-se à captura de indivíduos selvagens nos seus ecossistemas naturais (Madhu e Madhu, 2014). No entanto, quando se observam os valores relativos a organismos de água doce evidencia-se que a realidade é bastante diferente. Estima-se que as espécies de peixes de água doce que se podem manter em aquários ronda as 4000-5000 espécies, e cerca de 90% destas espécies já são obtidas através da produção em cativeiro (Whittington e Chong, 2007).

Para sustentar uma procura incessante de organismos ornamentais as lojas de animais precisam de intermediários que geralmente são grandes distribuidores. Um exemplo de um grande distribuidor é a Tropical Marine Center (TMC) que é líder europeu relativamente ao fornecimento de organismos marinhos cuja origem é eticamente controlada (Fonte: <http://www.tropicalmarinecentre.co.uk/pt/index.aspx>). A TMC divide-se em TMC UK e TMC Iberia. A TMC Iberia situa-se em Lisboa (Fonte: <http://www.tropicalmarinecentre.co.uk/pt/Contacttmc.aspx>). No entanto as empresas de aquacultura que ajudam a fornecer

organismos para grandes distribuidores como a TMC são poucas. Um caso de uma aquacultura de organismos ornamentais é a ORAFARM. É a maior *hatchery* de organismos marinhos da América do Norte (Fonte: <http://www.orafarm.com/about/ora/>). Em Portugal também existem algumas empresas que produzem organismos marinhos ornamentais. Como exemplo a Ocean Matters Portugal S.A inclui cultura de peixes ornamentais entre outras atividades (Fonte: <https://www.racius.com/ocean-matters-portugal-s-a/>). A empresa Lisbon Reef Hatchery, Lda para além da montagem de aquários e sistemas de aquários também produz organismos ornamentais marinhos (Fonte: <https://www.facebook.com/lisbonreefhatchery/about/>). Apesar das empresas que existem, a procura continua a ser superior à oferta, sendo importante a existência de mais aquaculturas de produção de organismos marinhos. Desta forma nasceu a AQUASPROSEA, Lda para contribuir para um mercado mais sustentável para o *hobby* da aquariofilia.

2. Biologia e produção em cativeiro de alguns organismos ornamentais

- **Peixe-palhaço**

As espécies do género *Amphiprion* e *Premnas*, conhecidas vulgarmente por peixes-palhaço (Figura 2.1), iniciam a reprodução entre os 6 e os 18 meses de vida e são hermafroditas sequenciais protândricos, ou seja, têm a capacidade de mudar de sexo, em que o organismo dominante se torna fêmea, ficando também maior que o macho (Pomeroy e Balboa, 2004; Pomeroy et al., 2006; Kumar et al., 2012). São reprodutores contínuos, fazendo posturas durante todo o ano (Maison e Graham, 2015). Os reprodutores em cativeiro podem ter uma dieta com rações húmidas como mexilhão, camarão, molusco e massa de ovos de peixe e também rações formuladas com enriquecimento em vitaminas, minerais e pó de algas (Madhu et al., 2006a)



Figura 2.1 - *Amphiprion ocellaris*.

<http://www.captivebred-marine.com/images/products/False%20Percula.jpg>

Quando estão na natureza, os ovos são colocados próximos de uma anémone, mas em cativeiro é necessário fornecer-lhes um substrato. O substrato pode ser telhas, potes de barro ou tubos de PVC, para os organismos colocarem os ovos (Madhu et al., 2013) (Figura 2.2). O cuidado dos ovos, desde o momento da postura até a sua eclosão, é principalmente assegurado pelo macho, enquanto que a fêmea passa somente 70% do seu tempo diário próxima da postura (Madhu et al., 2013). A postura sofre alterações da cor até à eclosão. Nos primeiros dias a postura é clara, a seguir adquire um tom escuro que se mantém até se aproximar o dia de eclosão, altura em que se encontram prateados. A cor prateada

deve-se aos olhos brilhantes das larvas em desenvolvimento dentro do ovo, encontrando-se nesta fase aptas a eclodir, que acontece depois de anoitecer (Madhu et al., 2013). O tempo de desenvolvimento embrionário e as variações de cores das posturas não é igual para todas as espécies de peixes-palhaço (Madhu et al., 2006b; Ghosh et al., 2012).

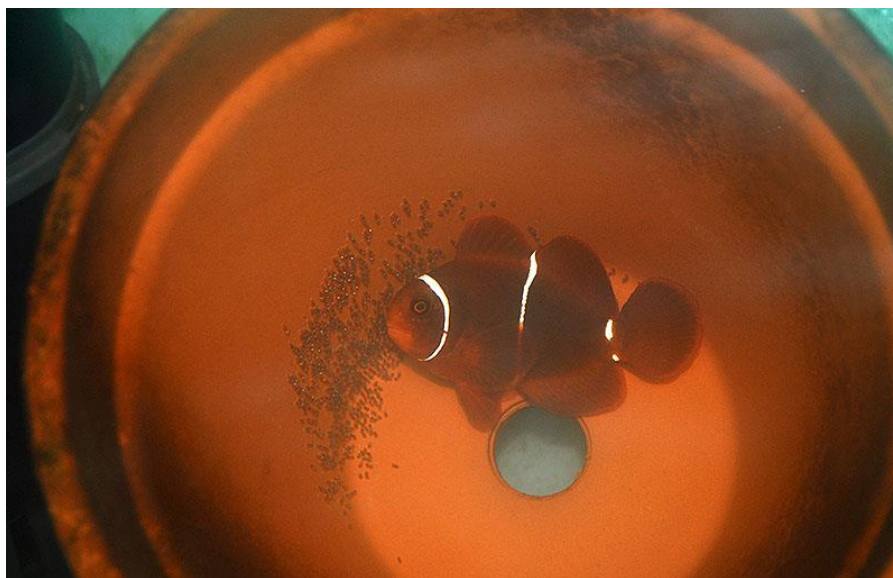


Figura 2.2 – Postura de peixes-palhaço num vaso.

http://www.lightning-maroon-clownfish.com/wp-content/uploads/2013/04/DSC_0935_600w.jpg

As larvas, após a eclosão, apresentam um corpo transparente, uns olhos grandes, uma boca visível e um saco vitelino de pequenas dimensões, no entanto o comprimento total e tamanho da boca aberta das larvas difere consoante a espécie (Madhu e Madhu, 2010; Madhu et al., 2012). Uma vez que o tamanho da boca é variável, a dieta também vai variar, sendo o tamanho da presa adaptado ao predador. A dieta consiste em alimento vivo, que pode ser rotíferos e artémia. Inicialmente, as larvas de todas as espécies são alimentadas com rotíferos e adiciona-se microalga, formando a água verde. Alguns dias mais tarde, quando as larvas apresentam um comprimento de boca de maiores dimensões, adequado para começarem a comer alimento de maiores dimensões, iniciam a sua primeira alimentação de artémia, que vai sendo introduzida gradualmente na dieta e ocorre em simultâneo com os rotíferos, até ao momento em que se alimentam somente de artémia (Madhu et al., 2006a). A chave para o sucesso da larvicultura tem por base uma dieta adequada (Ghosh et al., 2011). Embora em aquacultura os rotíferos e a artémia sejam extremamente usados como alimento vivo, estas duas presas não são o mais indicado,

uma vez que têm baixas concentrações de ómega-3 e carotenoides. Para serem utilizados como alimento para larvas estes devem ser enriquecidos com algas ou enriquecimentos artificiais (Ghosh et al., 2011).

O tamanho dos tanques de criação, a densidade, a qualidade e a quantidade de alimento administrado e da temperatura da água influenciam a taxa de crescimento dos juvenis(Figura 2.3). Os peixes palhaço vivem em grupos existindo uma hierarquia social muito bem definida em que o peixe palhaço dominante cresce mais depressa e irá suprimir o crescimento dos inferiores (Madhu et al., 2013).



Figura 2.3 – Tanque com juvenis de peixe-palhaço.

<http://php.scripts.psu.edu/users/s/b/sbj4/aquarium/clownfish/clownfish2.gif>

- ***Pseudochromis***

A maturação sexual dos indivíduos do género *Pseudochromis* ocorre quando os organismos atingem entre 5 a 10 cm de comprimento, podendo fazer posturas a partir dos seis meses de idade (Olivotto et al., 2006; Mies et al., 2014). Os indivíduos do género *Pseudochromis* (Figura 2.4) podem ser hermafroditas sequenciais protogínicos, começando por ser fêmeas, ou podem ser hermafroditas sequenciais protândricos, começando por ser machos (Wittenrich, 2007). Geralmente, em hermafroditas sequenciais protogínicos, o dimorfismo sexual, é identificado pelo tamanho, uma vez que o macho é

maior que a fêmea (Olivotto et al., 2006; Sayadi et al., 2012). *Pseudochromis fridmani* é uma espécie cujo dimorfismo sexual é identificado pela diferença de tamanhos, na qual o macho é maior que fêmea (Olivotto et al., 2006). É possível ocorrer múltiplas reversões de sexo em algumas espécies do gênero *Pseudochromis*. As espécies *Pseudochromis flavivertex* e *Pseudochromis aldabraensis* têm mudança de sexo bidirecional (Wittenrich e Munday, 2005).



Figura 2.4 - *Pseudochromis flavivertex*.

http://www.aquariumdomain.com/images/fish_marine/sunriseDottyback1.jpg

A dieta dos reprodutores em cativeiro pode ser com rações granuladas e rações húmidas tais como camarão, lula, moluscos e mexilhão ou com adultos de artémia congelados, plâncton congelado e peixe e camarão picado (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2016).

Durante a reprodução das *Pseudochromis* (Figura 2.5), a fêmea liberta um fio de ovos que, à medida que é libertado é fertilizado e enrolado pelo macho, concebendo assim uma bola de ovos, com 2 a 3 cm de diâmetro, sendo o macho que assume os cuidados parentais até à eclosão dos ovos (Olivotto et al., 2006; Mies et al., 2014;). Os ovos apresentam filamentos adesivos o que permite aos embriões estarem todos juntos (Mies et al., 2014).



Figura 2.5 – Postura da espécie *P. fridmani*.

<http://i26.photobucket.com/albums/c133/wilows/fridmanipairimprimir0036.jpg>

O comprimento das larvas recém eclodidas difere de acordo com a espécie (Mies et al., 2014; Madhu et al., 2016). É extremamente importante que a dieta administrada às larvas durante o seu desenvolvimento possua uma quantidade adequada de lípidos, proteínas, hidratos de carbono, vitaminas e minerais. A carência de HUFAs incluindo ácido eicosapentaenóico (EPA) (C20:5n-3) e docosa-hexaenóico (DHA) (22:6n-3), pode levar a um baixo crescimento, anemia e mortalidade durante o desenvolvimento larvar (Olivotto et al., 2006). Durante o desenvolvimento larvar em cativeiro, as larvas são alimentadas com presas vivas como rotíferos e artémia, devendo estes ser enriquecidos, uma vez que aumenta a taxa de sobrevivência (Domínguez e Botella, 2014).

- **Góbio**

Os indivíduos do género *Elacatinus* são gonocóricos (Wittenrich, 2007). Com o aproximar da postura, as fêmeas têm a zona abdominal mais arredondada e o macho prepara o local da postura, geralmente em zonas escuras, como fendas nas rochas ou em buracos artificiais colocados para o efeito (Olivotto et al., 2005).

Vários componentes podem ser incluídos na dieta em cativeiro dos reprodutores, como alimento em flocos, artémia enriquecida congelada, mistura de marisco picado, camarão, lula, peixe, ou alimentos formulados, tais como algas marinhas (Domínguez e Botella, 2014).

A postura geralmente ocorre durante a manhã (Meirelles et al., 2009). O número de ovos é variável. Uma fêmea da espécie *E. figaro* pode colocar entre 140 a 700, no entanto muitas espécies do gênero *Elacatinus* fazem posturas entre os 200 a 350 ovos (Meirelles et al., 2009; Fotedar e Phillips, 2011). Os ovos são alongados, com aproximadamente 2 mm de eixo longo e 1 mm de eixo curto, a tonalidade é transparente e os ovos são aderentes ao substrato (Olivotto et al., 2005; Meirelles et al., 2009) (Figura 2.6). O macho tem a tarefa de cuidar dos ovos, oxigenando-os com o movimento das barbatanas peitorais e caudal e removendo os ovos fungados. O período de incubação dura aproximadamente 6 dias a 25 °C, eclodindo após o apagar das luzes. A eclosão das larvas pode ser estimulada com a presença de luz (Meirelles et al., 2009).



Figura 2.6 – Postura de góbios.

<https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/564x/f2/45/81/f24581141ede1555c3cede9a92d53780.jpg>

As larvas recém eclodidas têm fototaxia positiva e 3 mm de comprimento, encontrando-se muito ativas à superfície da água (Wittenrich, 2007). Os rotíferos são as primeiras presas vivas administradas às larvas e pratica-se o método da água verde. No dia 18 após a

eclosão, inicia-se a administração de artémia. As larvas completam a metamorfose entre o 30º e o 44º dia (Meirelles et al., 2009).

- **Medusa**

As medusas possuem duas formas de reprodução: a reprodução assexuada e a reprodução sexuada. A reprodução assexuada dá-se através de um pólipó e é a fase bentónica do ciclo de vida (Purcell et al., 2007). Os pólipos são cilíndricos, encontram-se presos ao substrato (Campbell et al., 1999). O pólipó pode formar gomos, que originam novos pólipos ou têm a capacidade de, através de uma metamorfose denominada estrobilação, gerar éfiras (Purcell, 2005; Kamiyama, 2011) (Figura 2.7). A estrobilação são cortes transversais no pólipó, também designada por segmentação, e de cada segmento provem uma éfira, também denominada por jovem medusa (Purcell, 2005). As éfiras são pequenas, uma vez que o seu diâmetro geralmente não ultrapassa os 10 mm, e não possuem tentáculos (Riisgård e Madsen, 2011). A uma temperatura de 10 °C, um pólipó pode libertar entre 2 a 12 éfiras (Holst, 2012). A chave para o aumento da população das medusas prende-se com o sucesso da reprodução assexuada dos pólipos, devido à produção das éfiras (Liu et al., 2009). Existem vários estudos com diferentes processos para induzir a estrobilação. Em alguns estudos, para que seja possível ocorrer a segmentação do pólipó, é necessário iodo e é acompanhado pela produção de tiroxina (Purcell, 2005). O pólipó também pode receber estímulos do meio envolvente, como a temperatura, a luz e o alimento, que ao sofrerem alterações podem induzir a estrobilação (Purcell et al., 2012).

As medusas adultas são a fase pelágica do ciclo de vida e reproduzem sexuadamente existindo medusas fêmeas e medusas macho (Raskoff et al., 2003; Purcell et al., 2007). O resultado da reprodução sexuada são larvas plânulas, que se desenvolvem nos braços orais da fêmea e após se libertarem fixam-se e dão origem aos pólipos (Raskoff et al., 2003; Willcox et al., 2007). A medusa é a fase predominante do ciclo de vida (Krogh, 2005). A capacidade natatória é limitada e deslocam-se através de contrações rítmicas da sua campânula ou sendo arrastadas por correntes (Castro e Huber, 2000).



Figura 2.7 – Éfira.

<http://www.uni-koeln.de/math-nat-fak/zoologie/expmorph/morph/agberking/bilder/aurelges4.JPG>

Tanto os pólipos como as medusas são carnívoros e utilizam os seus tentáculos para capturar e conduzir as presas para a cavidade gastrovascular, local onde ocorre a digestão. Existe somente uma abertura para o exterior, que tem duas funções, a de boca e a de ânus (Chambell et al., 1999). Os pólipos e as éfiras em cativeiro podem ser alimentadas com artémia (Araújo et al., 2014; Chambel et al., 2016).

3. Estágio na AQUASPROSEA, Lda

3.1. AQUASPROSEA – Aquarium Species Production

A AQUASPROSEA, Lda, é uma empresa de aquacultura que se destina à produção de organismos aquáticos para fins ornamentais. Encontra-se localizada no Santuário Nossa Senhora dos Remédios, em Peniche.

A empresa AQUASPROSEA é uma das *startups* da START-IDEA - Espaço de Acolhimento de Ideias e Projetos da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar (ESTM) em Peniche, pertencente ao Instituto Politécnico de Leiria.

A missão da AQUASPROSEA centra-se em promover um mercado sustentável de organismos para o *hobby* da aquariofilia, que consiga competir com a importação de indivíduos selvagens.

3.2. Objetivo

O estágio realizou-se na empresa AQUASPROSEA, no âmbito da unidade curricular Dissertação/Projeto ou Estágio Curricular do 2º ano do Mestrado em Aquacultura da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, do Instituto Politécnico de Leiria. Dispõe de uma duração de 1620 horas, iniciando-se a 1 de outubro de 2015 e concluindo-se a 31 de julho de 2016.

O estágio teve como objetivo o contacto com a realidade empresarial na área da aquacultura, integrando as rotinas da unidade de produção. Pretendeu-se também adaptar protocolos de reprodução a novas espécies e desenvolver protocolos de otimização de transporte de espécies ornamentais. Mais especificamente, foram executadas as seguintes tarefas:

- Montagem de sistemas de produção;
- Monitorização e manutenção de sistemas de cultivo;
- Monitorização e manutenção de culturas de ciliados, rotíferos e artémia;

Estágio na AQUASPROSEA, Lda

- Adaptação de protocolos de produção a novas espécies;
- Preparação e embalamento de peixes ornamentais;
- Otimização do processo de transporte de peixes ornamentais.

4. Descrição da AQUASPROSEA, Lda

4.1. Instalações

As instalações da AQUASPROSEA estão divididas em 7 zonas: produção, quarentena, embalagem, máquinas, armazém, lavagens e área de pessoal (Figura 4.1).

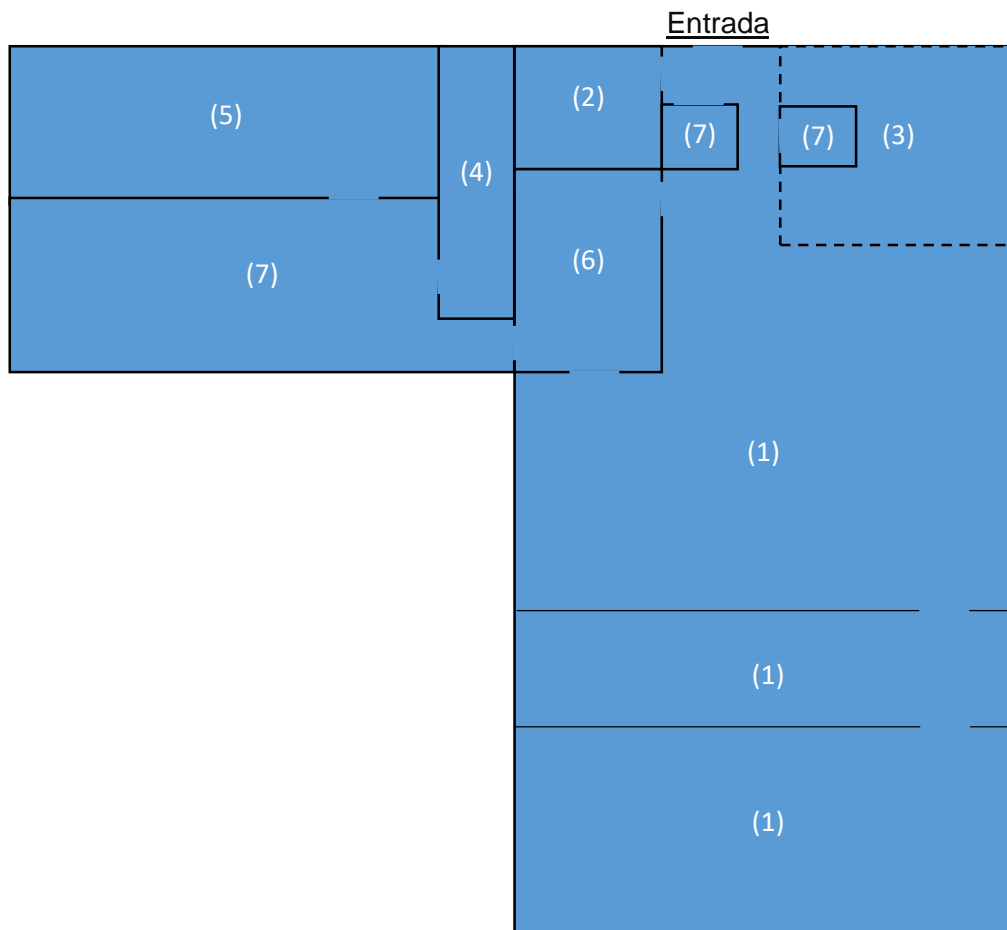


Figura 4.1 - Planta das instalações da empresa AQUASPROSEA, Lda.: (1) produção, (2) quarentena, (3) embalagem, (4) máquinas, (5) armazém, (6) lavagens e (7) área pessoal. O tracejado indica uma zona não individualizada.

A zona destinada à produção é composta pela sala dos reprodutores (Figura 4.2), pela sala da engorda (Figura 4.3) e pela sala dos cultivos auxiliares (Figura 4.4). A sala dos reprodutores tem a temperatura controlada, de forma a assegurar a correta temperatura para a manutenção dos organismos. Estão presentes vários sistemas com reprodutores,

sistemas intermédios, sistema de larvicultura, um depósito com sistema de recirculação de água salgada e um lavatório (Figura 4.2).

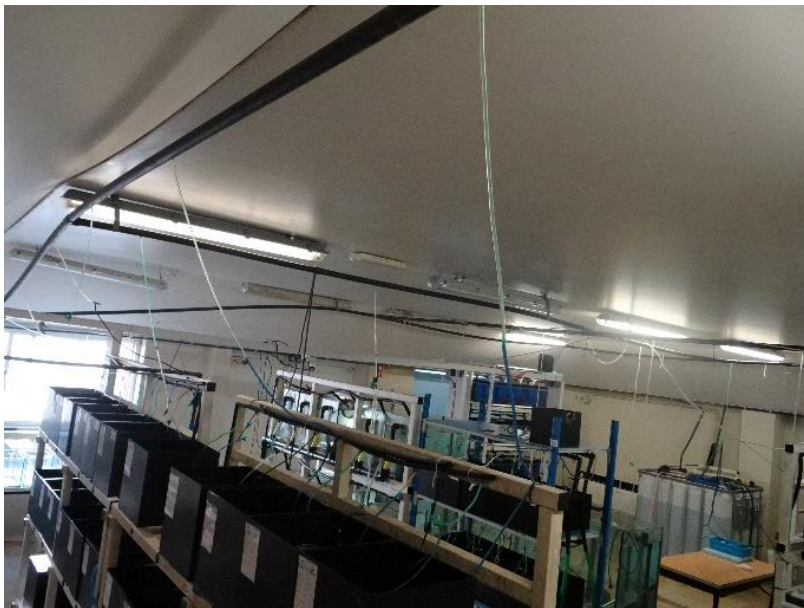


Figura 4.2 - Sala dos Reprodutores.

A sala de engorda é composta por sistemas de engorda de juvenis de peixe, o sistema das medusas e pólipos e o sistema de expedição. A temperatura da água é assegurada através da utilização de termostatos (Figura 4.3).



Figura 4.3 - Sala da Engorda.

A sala de cultivos auxiliares tem a temperatura controlada e destina-se exclusivamente à produção de organismos vivos, de forma contínua, para a alimentação de organismos. Nesta sala são produzidos os seguintes alimentos vivos destinado à alimentação: ciliados, rotíferos e artémia (Figura 4.4).



Figura 4.4 - Sala dos Cultivos Auxiliares.

A área do pessoal, é constituída pelo vestiário, escritório, sala de convívio/refeições e wc.

A sala das máquinas é composta por um reservatório de água (5000L) onde é feita a receção da água salgada com sistema de filtração por crivos (200 – 20 µm) e esterilização por UV. A água do deposito está em permanente circulação pelas salas de produção, com

retorno ao depósito. O arejamento por toda a zona de produção é fornecido por um compressor de ar da marca Effepizeta (FPZ concorezzo).

A sala de lavagens (Figura 4.5) é o local onde é colocado o material a ser desinfetado. Após a desinfecção, o material é lavado, colocado a secar e posteriormente arrumado. Neste espaço estão guardados os reagentes químicos, bem como os produtos de limpeza em armários distintos.



Figura 4.5 - Sala de Lavagens.

A zona de embalagem (Figura 4.6) é o local onde são efetuados os últimos passos antes de ocorrer o transporte. Neste local encontra-se uma mesa, a garrafa de oxigénio puro e o material necessário para o embalamento.



Figura 4.6 - Zona de Embalamento.

4.2. Organismos ornamentais produzidos

Embora a produção em aquacultura de espécies ornamentais seja baixa e se recorra ao meio natural para suplementar as necessidades deste comércio, já existem espécies cujo ciclo de vida é totalmente conhecido e praticado em cativeiro com sucesso. Como é o caso dos peixes-palhaço que, relativamente à produção de peixes marinhos em cativeiro, foram o primeiro caso de sucesso (Ghosh et al., 2011).

A AQUASPROSEA produz diversas espécies de peixes marinhos e também uma espécie de medusas. As espécies de peixe produzidas atualmente pertencem aos géneros *Amphiprion* spp., *Premnas* sp., *Pseudochromis* spp. e *Elacatinus* spp. e a espécie de medusa *Aurelia aurita*.

4.2.1. Peixes-palhaço, *Amphiprion* spp. e *Premnas* sp.

Os peixes-palhaço pertencem à família Pomacentridae, que abrange um grande número de espécies de peixes, num total de 360 espécies descritas e distribuídas por 29 géneros.

Os géneros *Amphiprion* e *Premnas* pertencem à subfamília Amphiprioninae, dentro da família Pomacentridae (Madhu et al., 2006a; Maison e Graham, 2015). Na natureza, podem ser localizados em zonas de recife de coral, distribuídas pelo Indo-Pacífico e Mar Vermelho (Wittenrich, 2007).

O género *Amphiprion*, contabiliza um total de 27 espécies, onde se encontram as seguintes espécies produzidas pela AQUASPROSEA: *Amphiprion percula*, *Amphiprion ocellaris*, *Amphiprion frenatus*, *Amphiprion clarkii* e *Amphiprion sandaracinos* (Maison e Graham, 2015).

A espécie *Amphiprion percula*, apresenta uma coloração laranja com três bandas verticais de cor branca. A íris é igualmente laranja, fazendo com que os seus olhos pareçam pequenos. As bandas brancas têm uma margem de cor preta, cuja largura é variável (Maison e Graham, 2015) (Figura 4.7).



Figura 4.7 - *Amphiprion percula*.
<http://cdn.orafarm.com/media/percula.jpg>

A espécie *Amphiprion ocellaris* é muito semelhante a *A. percula*. Tem uma coloração laranja e a tonalidade da íris é cinza-laranja fazendo com que os seus olhos pareçam maiores. As três bandas brancas têm uma margem de cor preta muito fina ou até mesmo inexistente, tornando-se numa das formas de distinção entre estas duas espécies. A parte anterior da barbatana dorsal é maior do que a de *A. percula* (Maison e Graham, 2015) (Figura 4.8). A espécie *A. ocellaris* apresenta variações no seu fenótipo (Figura 4.8)

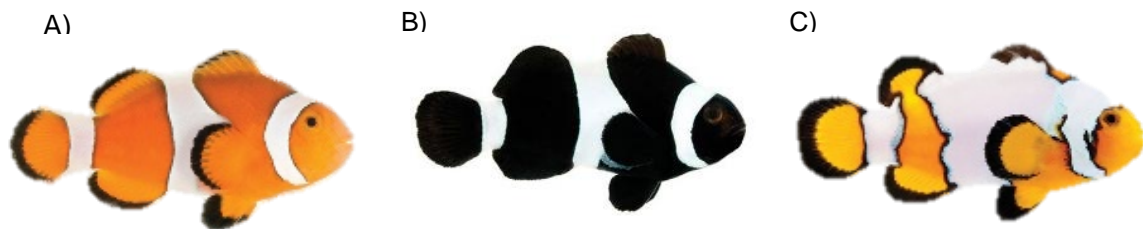


Figura 4.8 - *Amphiprion ocellaris* e variações. A) Ocellaris, B) variação Black Ocellaris e C) variação Premium Snowflake.

A) <http://cdn.orafarm.com/media/ocellaris.jpg> B) <http://cdn.orafarm.com/media/blackocellaris.jpg> C) <http://cdn.orafarm.com/media/premiumsnowflake.jpg>

A espécie *Amphiprion frenatus* tem uma tonalidade laranja-vermelho e uma banda imediatamente atrás dos olhos (Figura 4.9 A). Os juvenis desta espécie são vermelho escuro, as barbatanas peitorais são negras e possuem três bandas verticais brancas (Madhu e Madhu, 2010) (Figuar 4.9 B).

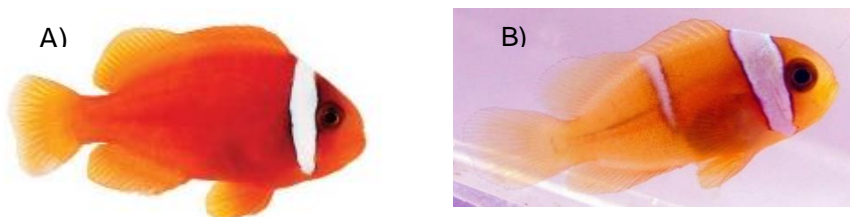


Figura 4.9 - *Amphiprion frenatus*. A) adulto e B) juvenil.

A) <http://cdn.orafarm.com/media/tomato.jpg>
B) http://www.liveaquaria.com/product/detailed_image.cfm?pCatId=757

Os peixes palhaço da espécie *Amphiprion clarkii* geralmente são pretos com porções de cor de laranja em zonas específicas como na cabeça, zona ventral e barbatanas (Ghosh et al., 2012) (Figura 4.10).



Figura 4.10 - *Amphiprion clarkii*.

<http://www.akwarium.gdynia.pl/akwarystyka/gatunki/amphiprion-clarkii.jpg>

A espécie *Amphiprion sandaracinos* possui uma tonalidade laranja uniforme, apresenta somente uma banda branca, desde o lábio superior e que se estende por todo o corpo ao longo da base da barbatana dorsal. O facto de esta banda atingir o lábio superior dos indivíduos, é uma forma de diferenciar esta espécie de outras semelhantes (Allen et al., 2010) (Figura 4.11).



Figura 4.11 - *Amphiprion sandaracinos*.

<http://cdn.orafarm.com/media/orangeskunk.jpg>

O género *Premnas* regista somente uma espécie, *Premnas biaculeatus*. A sua coloração é extremamente característica devido ao seu tom vermelho brilhante a castanho com bandas demarcadas de brancas a amarelo dourado (Madhu et al., 2006b) (Figura 4.12).



Figura 4.12 - *Premnas biaculeatus*.

http://www.fishtanksandponds.co.uk/galleries/images/fish/perciformes/AG_08768.jpg

A popularidade dos peixes palhaço deve-se a fatores como o seu reduzido comprimento, a robustez, as cores características atrativas, a natureza pacífica, a grande capacidade para se adaptarem ao ambiente em cativeiro, a aceitação do alimento artificial e a relação de simbiose com as anémonas (Madhu et al., 2006a).

4.2.2. *Pseudochromis* spp.

A família Pseudochromidae encontra-se dividida em 6 subfamílias que se designam por Anisochrominae, Assiculinae, Assiculoidinae, Congrogadinae, Pseudochrominae e Pseudoplesiopinae (Gill, 2013). A subfamília Pseudochrominae, encontra-se dividida em 5 géneros, com mais de 70 espécies (Madhu et al., 2016). A esta subfamília pertencem as espécies *Pseudochromis fridmani*, *Pseudochromis aldabraensis* e *Pseudochromis flavivertex*, entre outras.

No meio natural, é possível encontrar *Pseudochromis* nos recifes de coral do Indo-Pacífico em ambientes tropicais e subtropicais (Olivotto et al., 2006; Sayadi et al., 2012).

A espécie *P. fridmani* tem uma tonalidade magenta, que por norma é brilhante. Tem uma banda horizontal escura desde o lábio superior até ao opérculo, passando pelo olho. A íris é azul-magenta (Lubbock, 1975) (Figura 4.13).



Figura 4.13 - *Pseudochromis fridmani*.
<http://cdn.orafarm.com/media/orchid.jpg>

Os indivíduos da espécie *P. aldabraensis* apresentam uma coloração laranja brilhante com bandas de cor azul fluorescente na barbatana dorsal, barbatana caudal e opérculo (Wittenrich, 2007) (Figura 4.14).



Figura 4.14 - *Pseudochromis aldabraensis*.
<http://cdn.orafarm.com/media/neon.jpg>

Os indivíduos da espécie *P. flavivertex* apresentam uma banda amarela desde a cabeça até à barbatana caudal, ao longo do dorso. O corpo é de cor azul brilhante, exceto a zona ventral que tem um tom branco-acinzentado. A íris é azul (Lubbock, 1975) (Figura 4.15).



Figura 4.15 - *Pseudochromis flavivertex*.
<http://digital-reefs.com/wp-content/uploads/2011/04/flavivertex.jpg>

Os peixes da família Pseudochromidae são dos que se produzem com mais popularidade, tendo também revolucionado a indústria da aquacultura ornamental devido ao seu reduzido tamanho e à sua resiliência (Mies et al., 2014). O interesse dos aquaristas em comercializar *Pseudochromis* é atribuído à sua bonita coloração e à sua natureza curiosa (Sayadi et al., 2012). São organismos com uma personalidade agressiva (Fotedar e Phillips, 2011).

4.2.3. Góbio, *Elacatinus* spp.

Estão descritas mais de 2000 espécies distribuídas por mais de 200 géneros, pertencentes à família Gobiidae, encontrando-se o pico de abundância e variedade de organismos nos recifes de coral (Wittenrich, 2007; Domínguez e Botella, 2014). O género *Elacatinus* pertence a esta família e contabiliza 37 espécies, entre as quais *E. figaro* e *E. oceanops* (Hoese e Reader, 2001) (Fonte: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=269045>).

É possível encontrar *Elacatinus figaro* e *Elacatinus oceanops* em zonas de recife tropical (Wittenrich, 2007).

A espécie *E. oceanops* tem bandas horizontais azuis e pretas pelo corpo (Wittenrich, 2007). Os indivíduos da espécie *E. figaro* têm uma coloração brilhante com bandas laterais pretas e amarelas (Meirelles et al., 2009) (Figura 4.16).



Figura 4.16 - A) *Elacatinus oceanops* e B) *Elacatinus figaro*.

A) <http://cdn.orafarm.com/media/neon-goby.jpg> B) <http://cdn.orafarm.com/media/yellowline.jpg>

Os góbios, para além das suas agradáveis cores têm também um comportamento pacífico (Olivotto et al., 2005). Devido às suas cores, ao seu comportamento pacífico e aos seus hábitos são muito populares nos aquários (Domínguez e Botella, 2014).

4.2.4. Medusa-da-lua, *Aurelia aurita*

O Filo Cnidaria subdivide-se em 5 classes designadamente Staurozoa, Scyphozoa, Hydrozoa, Cubozoa e Anthozoa com cerca de 10000 espécies descritas. No entanto, nem todas são perigosas, sendo somente 100 espécies conhecidas com capacidade de serem prejudiciais para os seres humanos (Cegolon et al., 2013). O género *Aurelia*, pertence à classe Scyphozoa, a classe que engloba todas as medusas (Purcell et al., 2009; Cegolon et al., 2013).

A espécie *Aurelia aurita* (Figura 4.17), conhecida como medusa da lua é uma espécie cosmopolita e possui uma elevada abundância sendo possível serem encontradas tanto em águas frias como em águas temperadas (Lucas, 2001; Purcell, 2005). A campânula tem um diâmetro geralmente inferior ou igual a 25 cm e raramente passa dos 40 cm, apresenta quatro braços orais e a sua cor é esbranquiçada (Mariottini e Pane, 2010; Holst, 2012).

A capacidade de envenenamento pelos nematocistos, estruturas especializadas onde se encontra o veneno, é comum a todos os cnidários (Cegolon et al., 2013; Mariottini e Pane, 2010). Alguns nematocistos não têm comprimento para penetrar suficientemente fundo na epiderme para que assim possam libertar as toxinas ou podem mesmo não ter toxicidade suficiente, sendo assim inofensivas aos seres humanos (Cegolon et al., 2013). A espécie *A. aurita* é geralmente classificada como inofensiva para o ser humano (Mariottini e Pane, 2010).

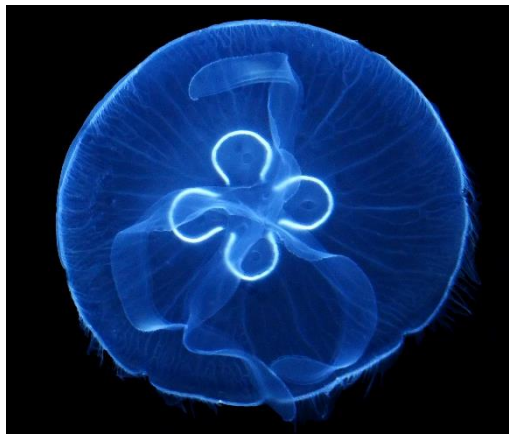


Figura 4.17 - *Aurelia aurita*.

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5c/Aurelia_aurita_2.jpg

5. Rotina na AQUASPROSEA, Lda

As várias tarefas necessárias ao bom funcionamento de uma unidade de produção estão divididas em tarefas diárias, semanais e mensais, como se encontram discriminadas na Tabela V.I. Para além das tarefas que são realizadas diariamente, semanalmente e mensalmente, existem outras que são essenciais, mas são operadas quando necessário, como é o caso da montagem de sistemas, o embalamento e o transporte.

Tabela V. I - Discriminação das tarefas e frequência de realização.

Tarefa	Diária	Semanal	Mensal
Verificação de sistemas e organismos	X		
Limpeza de crivos e redes	X		
Enriquecimento do alimento vivo	X		
Verificação de posturas	X		
Alimentação de organismos	X		
Rotina dos cultivos auxiliares	X		
Controlo da qualidade da água	X		
Desinfecção e neutralização de água de produção	X		
Troca parcial de água (TPA)	X		
Limpeza de sistemas de filtração	X		
Sifonar sistemas	X		
Desinfecção de material	X		
Rotina dos pólipos e éfiras	X		
Limpeza do interior dos tanques		X	
Verificação de temporizadores		X	
Limpeza de espaços de produção		X	
Troca de água de desinfecção do material		X	
Transporte de água		X	
Limpeza de escumadores			X
Desinfecção do reservatório de água			X

5.1. Montagem de sistemas

A montagem de sistemas ocorre de acordo com as necessidades da empresa. Os primeiros sistemas a serem montados foram os dos reprodutores. No entanto, sempre que são adquiridos novos casais e os sistemas existentes estão totalmente preenchidos, são montados novos sistemas. Atualmente existem 7 sistemas de reprodutores num total de 6000 L distribuídos por 77 tanques. (Figura 5.1).



Figura 5.1 - Sistema de reprodutores.

Com o aparecimento das primeiras larvas foi necessário um sistema adequado às suas necessidades. Inicialmente existiam somente 6 tanques para o desenvolvimento larvar, mas rapidamente se tornaram insuficientes, sendo necessário aumentá-los. Atualmente o sistema de larvicultura é composto por 24 tanques em sistema semi-aberto. (Figura 5.2).



Figura 5.2 - Sistema de larvicultura

Quando as larvas se tornam juvenis, são transferidas para os sistemas intermédios. Cada sistema intermédio tem cerca de 1000 L e é composto por tanques de 80 e 50 L, ligados a uma *sump* com filtração de água. Nestes sistemas é feita a passagem do alimento vivo para o alimento inerte e os peixes são mantidos até atingirem tamanho para poderem ser transferidos para os sistemas de engorda. Existem dois sistemas intermédios que foram montadas à medida que o número de juvenis aumentou (Figura 5.3).

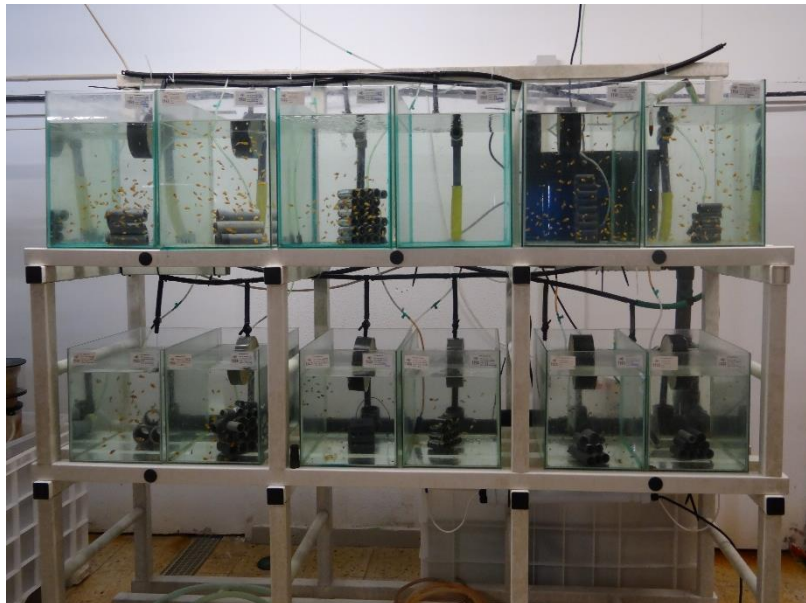


Figura 5.3 - Sistema intermédio

A engorda é feita em tanques de PVC montados em sistema de recirculação de água com *sump* de filtração. Existem 3 sistemas de 4 tanques de 250 L e um sistema constituído por 3 tanques de 600 L num total de cerca de 6000 L de água. (Figura 5.4).



Figura 5.4 - Sistemas de engorda.

Para finalizar, após a engorda os peixes são triados e transferidos para o sistema de expedição. O processo de triagem consiste na separação dos organismos pelo seu tamanho e espécie. A triagem permite que, ao serem retirados os organismos de maiores dimensões os mais pequenos crescem melhor. Torna-se mais evidente a diferença de tamanhos nos peixes-palhaço, uma vez que estes organismos vivem sobre uma hierarquia social muito forte em que o peixe dominante cresce mais rapidamente e suprime o crescimento dos peixes mais pequenos (Madhu et al., 2013). Neste sistema os peixes são agrupados de acordo com a espécie e tamanho. Este sistema é composto por 15 tanques em vidro ligados a uma *sump* com sistema de filtração, num total de 2000 L de água (Figura 5.5).



Figura 5.5 - Sistema de expedição.

Tal como referido anteriormente, os sistemas de reprodutores, intermédios, de engorda e de expedição estão em sistema fechado de recirculação, com *sump* de filtração. Os sistemas de filtração são semelhantes entre si, sendo compostos por filtração mecânica, por saco de filtração (100 μm), filtração biológica (biobolas), escumador e esterilizador com lâmpada de UV. No caso dos sistemas de engorda, a filtração é composta adicionalmente por um filtro de areia. O retorno de água aos tanques é feito por intermédio de bombas de circulação que asseguram uma troca de água mínima de 4 vezes o volume de água do tanque por hora. O sistema de larvicultura não possui sistema de filtração, sendo um sistema semi-aberto com renovação total de água 6 vezes ao dia. A renovação é feita com recurso a um reservatório de água com bomba e temporizador, termostato e arejamento.

A produção de medusas foi iniciada mais tarde, numa primeira fase os pólipos foram mantidos em tanques de 50 L, sem circulação (Figura 5.6). Após o início da estrobilação, procedeu-se à montagem do sistema de tanques cilíndricos de 1,5 L com arejamento de fundo adequados para o desenvolvimento das éfiras (Figura 5.7). Após as éfiras se tornarem medusas, são colocadas num novo sistema, denominado sistema das medusas, para continuarem o desenvolvimento. O sistema das medusas é composto por tanques tipo kreisel de 25 e 80 L, ligados a *sump* com uma bomba que efetua o retorno da água aos tanques (Figura 5.8).

A aluna participou na montagem de todos os sistemas na empresa.



Figura 5.6 - Pólipos mantidos em tanques de 50L.

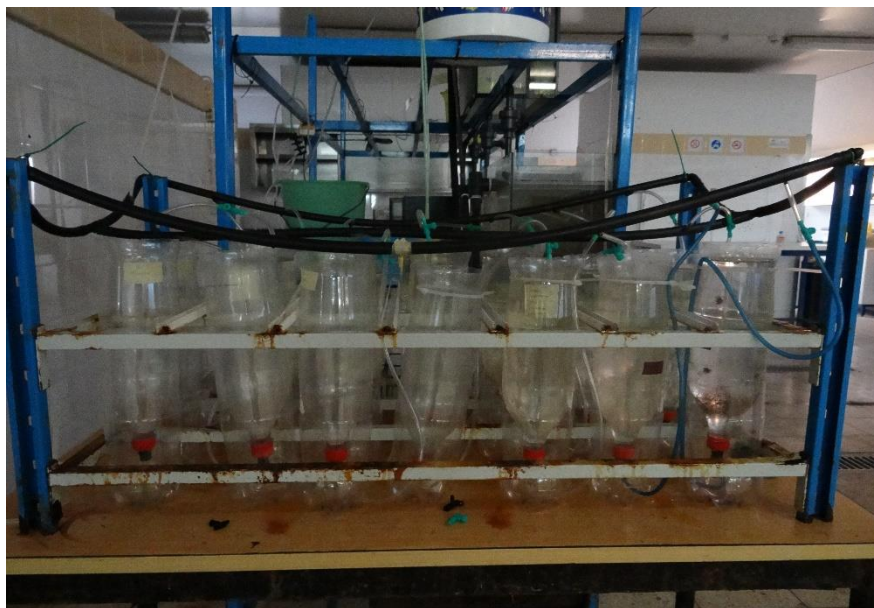


Figura 5.7- Sistema das éfiras.



Figura 5.8 - Sistema das medusas.

5.2. Verificação de sistemas e organismos

A verificação de sistemas e organismos é a primeira tarefa a ser realizada diariamente. Ao início da manhã, todos os sistemas são verificados para confirmar o seu correto funcionamento. Após a verificação e a correção das anomalias, caso existam, procede-se a uma observação de mortalidades que possa ter ocorrido durante a noite.

5.3. Alimentação

5.3.1. Peixes

O alimento administrado aos organismos deve ser adequado às suas necessidades. É essencial que a dieta contemple os nutrientes que cada fase necessita para que ocorra sucesso reprodutivo, boas taxas de sobrevivência e juvenis de qualidade.

A dieta dos reprodutores influencia fortemente a qualidade dos ovos e das larvas e deve ser relativamente alta em lípidos, particularmente ácidos gordos altamente insaturados (HUFA). A incorporação de elevados níveis de antioxidantes e vitaminas podem promover

a qualidade dos ovos e larvas (Fotedar e Phillips, 2011). São administradas várias alimentações diárias aos reprodutores, uma das quais é ração “Ocean nutrition formula 1 e 2” e as restantes são de alimento congelado (metanauplios de artémia, *Mysis* e pasta caseira composta por mexilhão, camarão, molusco e massa de ovos de peixe).

As presas administradas às larvas devem ser adequadas ao tamanho da abertura bucal (Lucas e Southgate, 2012). As presas mais usadas são rotíferos (*Brachionus* sp.) e artémia (*Artemia* sp.) (Fotedar e Phillips, 2011). O alimento vivo não possui o conteúdo nutricional adequado para a sobrevivência das larvas e crescimento, tornando-se importante que o alimento vivo seja enriquecido antes de administrado (Fotedar e Phillips, 2011). Os enriquecimentos devem conter níveis adequados de ácido docosa-hexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido araquidónico (AA) (Fotedar e Phillips, 2011). Para o desenvolvimento larvar são necessários nutrientes essenciais, principalmente ácidos gordos altamente insaturados (HUFA) (Lucas e Southgate, 2012). Diariamente, as presas administradas às larvas são enriquecidas (de acordo com as instruções fornecidas pela marca do enriquecimento usado), previamente à sua administração. Inicialmente as larvas alimentam-se de rotíferos e posteriormente de artémia, no entanto, às larvas de *Pseudochromis* spp. e *Elacatinus* spp., nos primeiros dias administra-se ciliados juntamente com os rotíferos. Durante o período de tempo em que são fornecidos rotíferos às larvas, usa-se o método da água verde. O alimento das larvas é verificado várias vezes por dia e devido à renovação de água nos tanques é adicionada microalga *Nannochloropsis* sp., de forma a manter a concentração no tanque de 50000 células/ml.

Os juvenis têm duas fases distintas de alimentação. Quando se encontram no sistema intermédio, é feito o desmame do alimento vivo para o alimento inerte. Nesta fase, a dieta é composta por ração, artémia enriquecida e alimento congelado, nomeadamente *Cyclops* sp.. Para os juvenis que se encontram na engorda, a dieta é composta por duas alimentações. As alimentações são de rações comerciais e de alimento congelado igual à alimentação administrada aos reprodutores. A ração tem diferentes granulagens (300-1200 µm) consoante o tamanho da abertura da boca dos juvenis. A alimentação é dada lentamente e até à saciedade dos organismos.

5.3.2. Medusas

As medusas são alimentadas, uma vez por dia, com artémia enriquecida. Os pólipos e as éfiras são alimentados diariamente com um *mix* de rotíferos (10 rotíferos/ml) e artémia (5 artémias/ml) enriquecidos e microalga *Nannochloropsis* sp. numa concentração de 50000 células/ml.

5.3.3. Cultivos auxiliares

Os rotíferos são contados diariamente de forma a saber o estado da população, a quantidade de alimento a administrar, a quantidade necessária para dar de alimento às larvas e para iniciar cultivos novos. Os rotíferos são produzidos em Erlenmeyers de 2 L e, quando atingem a densidade aproximada de 400 rot./ml, as culturas são repicadas e o remanescente transferido para um balde de 20 L (Figura 5.9), onde são alimentados com microalga *Nannochloropsis* sp. a 1g/milhão de rotíferos e é adicionada água à medida que a densidade aumenta, sendo posteriormente usados para a alimentação. Todos os rotíferos administrados são previamente enriquecidos de acordo com a indicação do fabricante do enriquecimento.



Figura 5.9 – Cultivo de rotíferos.

A artémia usada como alimento é proveniente de cistos descapsulados que posteriormente são colocados a eclodir, com arejamento e luz forte. A artémia, após a eclosão, é colocada em água nova a enriquecer de acordo com o fabricante do enriquecimento (Figura 5.10).



Figura 5.10 – Cultivo de artémia.

Os ciliados são contados diariamente de forma a saber o estado da população, a quantidade de alimento a administrar, a quantidade necessária para dar de alimento às larvas e para iniciar cultivos novos. São cultivados em baldes e alimentados com *Saccharomyces cerevisiae*, de dois em dois dias. Previamente à alimentação das larvas, os ciliados são enriquecidos (Figura 5.11).



Figura 5.11 – Cultivo de ciliados.

O enriquecimento administrado às presas vivas das larvas (rotíferos, artémia e ciliados) é Red Pepper (Bernagua, Belgica), rico em HUFA, DHA e EPA. Para enriquecer os rotíferos a uma densidade de 500 ind./ml são necessários 300 mg/L de Red Pepper, com um tempo máximo de 12h de enriquecimento. Na artémia, para uma densidade de 500 ind./ml são necessárias 750 mg/L, com 24h de tempo máximo de enriquecimento. Para os ciliados serem enriquecidos é necessário 300mg/L de Red Pepper, a uma densidade de 10000 ind./mL, por um período máximo de 12h.

5.4. Controlo da qualidade da água

A água utilizada numa aquacultura deve ser de boa qualidade. Facilmente as condições de água se alteram nos sistemas, fazendo diminuir a sua qualidade. A diminuição de qualidade deve-se à acumulação de detritos causando o aumento dos compostos azotados e conduz a situações de stress e mortalidade dos organismos nos sistemas (Lucas e Southgate, 2012).

Vários são os parâmetros que devem ser monitorizados para garantir a qualidade da água. A temperatura, a salinidade, o pH, a amónia e os nitritos, são alguns dos mais importantes.

A temperatura é um parâmetro de extrema importância, pois não só afeta a produtividade natural como também pode afetar direta ou indiretamente outros parâmetros da qualidade da água. A temperatura deve encontrar-se no intervalo ótimo de crescimento (Lucas e Southgate, 2012).

A salinidade da água afeta os fluídos internos dos organismos devido ao processo da osmorregulação (Lucas e Southgate, 2012). Quando a salinidade não se encontra no intervalo ótimo de crescimento e reprodução, deve ser alterada gradualmente uma vez que os organismos podem não conseguir compensar, ficando stressados e podendo mesmo morrer devido à insuficiência osmorregulatória (Boyd e Tucker, 1998).

O pH ótimo para os organismos marinhos situa-se entre os 7,5 e os 8,5 e quando é levado aos extremos, pode causar stress e provocar a morte dos organismos (Boyd e Tucker, 1998; Lucas e Southgate, 2012). A interação deste parâmetro com outras variáveis é mais importante do que os seus efeitos tóxicos (Boyd e Tucker, 1998).

A amónia é uma substância excretada pela maioria dos peixes e também pode ser produzida pela decomposição da matéria orgânica (NOGA, 2010). Em aquacultura, a forma não ionizada da amónia (NH_3) é a mais tóxica para os organismos (Demeke e Tassew, 2016).

No ciclo do azoto, em condições normais, a amónia é oxidada a nitritos e posteriormente os nitritos são oxidados a nitratos. Devido à instabilidade dos nitritos, a concentração na água é geralmente baixa (Demeke e Tassew, 2016). A acumulação ocorre devido à taxa de oxidação da amónia ser superior à taxa de oxidação dos nitritos ou devido a uma inibição na fase da oxidação para nitratos (Boyd e Tucker, 1998; Demeke e Tassew, 2016).

Diariamente, são efetuados registos de temperatura e salinidade sendo registados os restantes parâmetros de dois em dois dias. A temperatura é medida por termómetros que se encontram nos sistemas. Para medir a salinidade recorre-se a um refratómetro (TMC V2 Refractometer). O pH, a amónia e os nitritos são medidos através de kits de testes

rápidos colorimétricos da marca API. Na Tabela V.II encontram-se os valores a que os sistemas devem ser mantidos.

Tabela V. II - Valores de referência da qualidade da água dos sistemas.

Parâmetro	Temperatura	Salinidade	pH	Amónia	Nitritos
Valor	27 °C	30	8,2	< 0, 5 mg/L	0 mg/L

5.5. Posturas

As posturas das várias espécies de peixes marinhos eclodem após o anoitecer, podendo os ovos eclodirem no tanque dos reprodutores ou no tanque das larvas (Olivotto et al., 2006; Meirelles et al., 2009).

As larvas eclodidas dentro do tanque dos reprodutores são capturadas e colocadas em tanques adequados ao desenvolvimento larvar. Devido à fototaxia positiva, na presença de luz as larvas dispersam menos pelo tanque (Olivotto et al., 2006; Shey et al., 2010). É um método usado quando não é possível retirar a postura do tanque ou se for vantajoso a postura eclodir junto dos reprodutores.

É necessário ter alguns cuidados quando as posturas eclodem dentro dos tanques das larvas. Os parâmetros da qualidade da água são mantidos semelhantes à dos reprodutores e os ovos devem ser mantidos bem oxigenados (Fotedar e Phillips, 2011). As posturas são retiradas momentos antes da eclosão, a seguir ao anoitecer.

O género *Elacatinus* tem a particularidade de a luz estimular a eclosão das larvas (Meirelles et al., 2009). Depois de se colocar a postura no interior do tanque das larvas, utiliza-se uma luz forte para estimular a sua eclosão.

Os tanques das larvas estão adaptados para o desenvolvimento larvar. As paredes encontram-se tapadas com uma película preta (Figura 5.2) de forma a reduzir a reflexão da luz (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2016).

5.6. Estrobilação

Os pólipos são colocados em placas de 6 poços, num total de 10 pólipos por poço. As placas são colocadas numa arca (Fagor: Vintage) com temperatura controlada a 10 °C, para estimular a estrobilação dos pólipos e posterior libertação de éfiras. Os pólipos são observados de dois em dois dias até ao aparecimento das éfiras. As éfiras são retiradas de dois em dois dias e são colocadas em tanques cilíndricos com arejamento de fundo (Figura 5.7), para se desenvolverem.

5.7. Limpeza

A limpeza diária do fundo dos tanques e sistemas de filtração, contribui para a manutenção de uma boa qualidade da água dos sistemas.

Os sistemas intermédios necessitam de trocas parciais de água diariamente, uma vez que são praticadas densidades mais elevadas e também devido ao facto de nestes sistemas haver a adaptação dos peixes ao alimento inerte, havendo um maior desperdício de alimento, conduzindo a um aumento da carga de matéria orgânica. As trocas parciais de água permitem manter uma boa qualidade da água.

Relativamente às medusas, de dois em dois dias é efetuada uma troca parcial de água às placas onde são colocados os pólipos a estrobilar, ao sistema de tanques cilíndricos e aos tanques dos pólipos.

O material utilizado na zona de produção é colocado a desinfetar em lixívia. No caso de material de pequenas dimensões tais como o material usado nos cultivos auxiliares, são colocados dentro de um recipiente. Para o material de dimensões superiores, como tanques das larvas e Erlenmeyers, a água para a desinfecção é colocada no interior do material.

5.8. Embalamento e transporte

Anteriormente ao embalamento, os peixes são separados no sistema de expedição e mantidos em jejum de 48 horas antes do embalamento. Na manhã do dia de expedição os peixes são recolhidos e colocados em baldes, seguindo desta forma para a zona de embalamento.

Posteriormente, os organismos são introduzidos dentro de sacos duplos de poliéster com os cantos arredondados, com água do sistema de expedição. A água colocada no interior do saco ocupa 1:3 do volume total do saco (Figura 5.12). O número de indivíduos varia consoante o destino da encomenda, o seu comprimento e a espécie.



Figura 5.12 - Saco de transporte com 1:3 de água e 2:3 de oxigénio.
http://thumbs1.ebaystatic.com/d/l225/pict/281721885544_-1.jpg

Os sacos são saturados com oxigénio, ocupando o restante volume total do saco (2:3) (Figura 5.12), e são fechados, com elásticos duplos. Os sacos são dispostos dentro de caixas isotérmicas de esferovite, cujas paredes se encontram forradas com folhas de jornal, até o espaço da caixa estar totalmente preenchido. As caixas de esferovite são seladas com fita-cola e colocadas dentro de caixas de cartão, devidamente identificadas e prontas para serem recolhidas pela empresa responsável pelo transporte. (Figura 5.13).



Figura 5.13 – A) Caixa de esferovite isotérmica com as paredes forradas com folhas de jornal com organismos dentro dos sacos de polietileno saturados com oxigénio e fechados e B) caixa de cartão devidamente identificada para ser transportada.

6. Casos de estudo

Durante o período de estágio foram necessários ultrapassar vários obstáculos. Para tal, foram realizados alguns estudos específicos de forma a melhorar alguns procedimentos praticados pela empresa.

O transporte de organismos é vital numa unidade de produção e é importante assegurar o bem-estar dos organismos durante o transporte. Assim tornou-se necessário otimizar o transporte de organismos de forma a ser possível aumentar a densidade de transporte sem diminuir a qualidade do mesmo, praticado pela AQUASPROSEA.

Para além do transporte é essencial conhecer a biologia das espécies produzidas de forma a otimizar a produção de organismos. Desta forma, é importante saber o comportamento reprodutivo, a postura e o desenvolvimento embrionário e larvar das espécies quando se encontram em cativeiro e assim obter bom resultados.

Nas seguintes páginas encontram-se dois casos de estudo. O primeiro caso de estudo é relativo ao transporte e o tema do segundo caso de estudo é sobre o comportamento reprodutivo, posturas e desenvolvimento embrionário e larvar em cativeiro.

6.1. Transporte de juvenis de peixes-palhaço *Amphiprion percula* em diferentes densidades e tempo de transporte

6.1.1. Introdução

Com a necessidade de tornar possível a circulação dos organismos entre instalações, surgiram dois métodos de transporte, o transporte aberto e o transporte fechado. No sistema aberto, a sobrevivência dos organismos é assegurada continuamente por fontes externas. O sistema fechado, é constituído por um recipiente selado, usando-se geralmente um saco de polietileno (Berka, 1986). Normalmente, o sistema fechado é o usado para o transporte de organismos ornamentais.

O saco de polietileno, utilizado para fazer o transporte em sistema fechado, é usado desde os anos 50, e apresenta como vantagens a redução do peso das encomendas e torna por isso o transporte aéreo mais viável (Lim et al., 2003). A redução do peso das encomendas está relacionada com a redução do volume total e o peso da água (Berka, 1986).

Por ser um sistema fechado, apresenta fatores limitantes relativamente à qualidade da água e ao fornecimento de oxigénio. A qualidade da água varia de acordo com a densidade praticada e o tempo de transporte (Golombieski et al., 2003). É essencial assegurar todos os fatores necessários à sobrevivência dos organismos no momento do embalamento (Lim et al., 2003).

O objetivo deste estudo foi otimizar a densidade de transporte num sistema fechado para a espécie *Amphiprion percula*, avaliando a mortalidade em diferentes tempos de transporte.

6.1.2. Material e Métodos

Para a realização deste trabalho foram utilizados 102 indivíduos da espécie *A. percula* com comprimento total entre 3 – 3.5 cm e que foram mantidos 24 horas em jejum. Posteriormente, os peixes foram aleatoriamente distribuídos por 18 sacos de polietileno com 600 ml de água (1:3), em três densidades, com 6 sacos (réplicas) por densidade: (i) 4 ind./saco (controlo), (ii) 6 ind./saco e (iii) 7 ind./saco. Os sacos foram insuflados com oxigénio (2:3) e fechados com elásticos e acondicionados em caixas isotérmicas de esferovite. Após 24 e 30 horas, 3 sacos por densidade foram abertos e registada a mortalidade e monitorizados os parâmetros da qualidade da água (pH, NH₃ total, NH₃ não ionizado, NO₂⁻ e oxigénio dissolvido). Posteriormente, os peixes foram mantidos em separado em tanques de 20 L durante 15 dias, de forma a avaliar a mortalidade após o transporte.

A amónia total, a amónia não ionizada (NH₃), os nitritos (NO₂⁻), o pH e o oxigénio dissolvido foram medidos recorrendo-se a testes fotométricos com recurso a um fotómetro de bancada multiparamétrico para aquacultura (Hanna, HI83203-02, Italy). A temperatura foi medida por um datalogger. Os valores de amónia não ionizada foram calculados a partir

de uma tabela que calcula a amónia não ionizada através de dois parâmetros conhecidos, nomeadamente a temperatura e o pH (Fonte: <http://edis.ifas.ufl.edu/fa031>).

Os resultados apresentam-se sob a forma de média±desvio-padrão (DP). Com o objectivo de avaliar as diferenças nos valores de amónia, nitritos e pH, quando comparados os dois períodos de tempo (24 e 30 horas), realizou-se uma análise de variância (ANOVA) com um fator (Zar, 2010). Todos os pressupostos inerentes à realização do método foram devidamente validados. A homogeneidade de variâncias não foi cumprida, sendo utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Games-Howell (Kirk, 1982; Gammes e Howeel, 1976). As diferenças estatisticamente significativas foram consideradas ao nível de 5% (*p-value* <0,05). Os resultados foram processados e analisados com o software estatístico IBM SPSS statistics 24.

Devido aos valores de oxigénio se encontrarem sempre superiores a 10 mg/l, não foi realizada uma análise estatística a este parâmetro.

6.1.3. Resultados

Após 24 e 30 horas de transporte em sistema fechado, não foi registada qualquer mortalidade independentemente da densidade em estudo. De igual forma não se verificou mortalidade nos 15 dias subsequentes ao transporte

A temperatura ao fim de 24h de transporte foi de $21,3 \pm 1,3$ °C e no fim das 30h de transporte foi registada uma temperatura de $21,4 \pm 1,4$ °C.

A monitorização dos parâmetros da água ao fim das 24 e 30h de transporte encontram-se representadas nas seguintes tabelas (Tabela VI.I e VI.II, respetivamente).

Casos de estudo

Tabela VI.I - Média dos diferentes parâmetros da qualidade da água às 24h. Legenda: (i) 4 ind./saco (controle), (ii) 6 ind./saco e (iii) 7 ind./saco. O símbolo representa diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value}<0,05$). (*) diferenças de NH_3 total. Os valores são representados por média \pm DP.

Parâmetro	Densidade		
	(i)	(ii)	(iii)
pH	7,3 \pm 0,26	7,1 \pm 0,15	7,1 \pm 0,06
NH_3 total (mg/L)	3,38 \pm 0,27*	4,67 \pm 0,25*	5,56 \pm 0,26*
NH_3 não ionizado (mg/L)	0,15 \pm 0,19	0,19 \pm 0,27	0,04 \pm 0,00
NO_2^- (mg/L)	0,017 \pm 0,02	0,01 \pm 0,01	0,007 \pm 0,01

Foram registadas diferenças estatisticamente significativas na amónia total para as diferentes densidades (4ind./saco; 6 ind./saco; 7 ind./saco), às 24h de transporte.

Tabela VI.II - Média dos diferentes parâmetros da qualidade da água às 30h. Legenda: (i) 4 ind./saco (controle), (ii) 6 ind./saco e (iii) 7 ind./saco. Os valores são representados por média \pm DP.

Parâmetro	Densidade		
	(i)	(ii)	(iii)
pH	7,20 \pm 0,12	7,00 \pm 0,00	7,00 \pm 0,1
Total NH_3 (mg/L)	4,20 \pm 0,97	5,30 \pm 0,37	6,21 \pm 0,38
Não ionizado NH_3 (mg/L)	0,030 \pm 0,007	0,024 \pm 0,002	0,034 \pm 0,010
NO_2^- (mg/L)	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,00	0,03 \pm 0,01

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas às 30h de transporte.

O oxigénio dissolvido para os dois tempos de transporte foi superior a 10 mg/L, para as 3 densidades.

6.1.4. Discussão

Os organismos ao serem escolhidos para efetuar o transporte devem encontrar-se de boa saúde e em boas condições, uma vez que o sucesso do mercado ornamental se centra na qualidade dos organismos vivos que são entregues no destino final (Berka, 1986; Kiro e Dhanasiri, 2011). Para a sobrevivência dos peixes em condições de transporte, a qualidade da água é um fator de extrema importância uma vez que a sua degradação ocorre

rapidamente, principalmente nas duas primeiras horas após o embalamento (Paterson et al., 2003).

A temperatura é um fator importante uma vez que determina a velocidade das reações químicas no corpo e influencia o consumo do oxigénio por parte dos organismos. A temperaturas mais baixas, o consumo de oxigénio é igualmente mais baixo (Golombieski et al., 2003). Neste caso de estudo, a temperatura foi de $21,3 \pm 1,3$ °C às 24h de transporte e $21,4 \pm 1,4$ °C ao fim das 30h de transporte. O transporte foi realizado a uma temperatura que os organismos conseguissem tolerar, mas inferior à temperatura que se encontravam. Assim, são prevenidos fatores como um crescimento rápido da população bacteriana e uma diminuição dos níveis de oxigénio dissolvido (Lim et al., 2003).

Os sacos foram saturados com oxigénio e ao fim de 24 e 30h de transporte, permaneceu superior a 10 mg/L. Este dado significa que a concentração de oxigénio na água, num transporte de 24 e 30h é suficiente para o consumo por parte dos organismos. A concentração de oxigénio dissolvido deve ser igual ou superior a 5,5 mg/l no transporte de organismos marinhos de águas tropicais. É de grande importância o fornecimento de oxigénio uma vez que os organismos vão consumir maiores quantidades durante o transporte do que em condições normais (Kiro e Dhanasiri, 2011).

Num sistema fechado, o pH é um parâmetro que se modifica durante o transporte devido à respiração dos peixes que produz dióxido de carbono (CO₂). Devido à produção de CO₂ o pH da água torna-se mais baixo. Para o transporte de larvas e juvenis, o pH considerado ótimo deve ser mantido por volta de pH 8 (Stuart et al., 2013). Entre as 24 e as 30h observou-se um decréscimo do valor de pH para as três diferentes densidades. O decréscimo de pH foi descrito para outras espécies, no entanto são mais os estudos efetuados para as espécies de água doce. As espécies *Puntius filamentosus* (Prasad e Ali, 2007) e *Rhamdia quelen* (De Amorim et al., 2009), são dois exemplos de espécies de água doce estudadas em que o pH diminuiu em condições de transporte (Golombieski et al., 2003; Pramod et al., 2010). Para a espécie *P. filamentosus*, o objetivo do estudo consistia em examinar o efeito de MS-222 e benzocaína, dois anestésicos, em diferentes parâmetros da qualidade da água, numa simulação de transporte. O ensaio era composto por um grupo

controle e um grupo para cada um dos anestésicos. Neste estudo, o pH foi um dos parâmetros da qualidade da água testados e para a espécie *P. filamentosus*, às 48h após o embalamento, pH no grupo controle era de 6,28 e para os dois anestésicos foi de 6,62 e 6,73, respetivamente (Pramod et al., 2010). Para a espécie *R. quelen*, o objetivo do estudo foi determinar a melhor densidade de transporte de alevins a diferentes temperaturas. As densidades praticadas foram de 50, 67, 87 e 168 mg/L e às 6, 12 e 24h foram avaliados os parâmetros da qualidade da água. Evidenciou-se um decréscimo de pH à temperatura de 20 °C. Às 24h de transporte o pH era de 6,3 em todas as densidades exceto a mais elevada (Golombieski et al., 2003). Para a espécie de água salgada *Pampus argenteus* (Almatar et al., 2004), o objetivo do estudo consistia em delinear as condições ideais de transporte. Para tal, foram utilizadas diferentes densidades, tempo de transporte e temperaturas. Para o tempo de transporte de 8h as densidades praticadas foram 5, 10 e 20 g/L, a uma temperatura de 20 °C, o valor de pH foi de $7,49 \pm 0,13$, $7,24 \pm 0,26$ e $7,03 \pm 0,13$, respetivamente (Peng et al., 2012). Embora não seja possível comparar os resultados observados para as duas espécies de água doce anteriormente descritas com os resultados obtidos através deste ensaio de forma direta, uma vez que a espécie utilizada neste ensaio era de água salgada, no entanto, é possível verificar que com o aumento do tempo existe uma diminuição do pH, tal como neste estudo. O pH no ensaio não teve um decréscimo tão elevado como no caso de *R. quelen*, no entanto é necessário ter atenção a este parâmetro, uma vez que conjugado com a temperatura pode influenciar a toxicidade da amónia (Golombieski et al., 2003).

Os transportes de organismos em sistema fechado são caracterizados pelo aumento da amónia total com tendência para aumentar com a temperatura, a densidade e a duração de transporte. A proliferação bacteriana, em especial quando associada a mortalidades durante o transporte são um fator importante no aumento das concentrações de amónia. Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os resultados obtidos por Golombieski et al. (2003), uma vez que ocorreu um aumento dos níveis de amónia total com o aumento do tempo de transporte na maioria das densidades em estudo. A concentração da amónia pode afetar a prática de elevadas densidades de transporte, uma vez que pode inibir a capacidade da hemoglobina combinar com o oxigénio, e assim alterar a capacidade que o sangue tem de efetuar o transporte do oxigénio (Lim et al., 2003). A toxicidade da amónia depende da concentração da amónia não ionizada (NH₃) e varia de

espécie para espécie e dentro da mesma espécie, pode variar consoante o tamanho, peso e estado do peixe (Lim et al., 2003). Nos últimos anos vários estudos foram realizados de forma a otimizar as condições de transporte em sistema fechado, no entanto a grande maioria desses estudos foram feitos para espécies ornamentais de água doce, tal como foi observado anteriormente. Por exemplo, no estudo realizado por Pramod et al. (2010), e já referido para a espécie *P. filamentosus*, uma espécie de água doce, a amónia foi um dos parâmetros da qualidade da água estudados. A densidade utilizada foi de 6 peixes/L e às 48h de transporte constatou-se que o valor de amónia no controlo era de 18,7 mg/L e para os anestésicos MS-222 e benzocaína foi de 8,2 e 9,8 mg/L, respetivamente (Pramod et al., 2010). No ensaio em que foi utilizada a espécie *Pampus argenteus*, para delinear as condições ideais de transporte avaliando os parâmetros da qualidade da água, a uma temperatura de 20 °C depois de 8h numa simulação em condições de transporte, foram registados os valores da amónia total e da amónia não ionizada, às densidades de 5, 10 e 20 g/L, constatando-se que a amónia total era de 1,89±0,26, 3,27±0,28 e 5,97±0,38 mg/L, respetivamente. Para as mesmas densidades e condições de transporte, a amónia não ionizada foi mantida a valores baixos, tendo sido registados os seguintes resultados 19,78±1,12, 20,52±2,71 e 20,98±0,02 µg/L (Peng et al., 2012). Os valores recomendados de amónia não ionizada são ≤0,01 mg/L para transporte de espécies marinhas tropicais, segundo os resultados obtidos neste ensaio, a amónia não ionizada, que é a forma mais tóxica, os valores obtidos foram superiores aos recomendados (Kiro e Dhanasiri, 2011). Este dado pode ser resultado de um tempo de jejum inadequado. Um jejum adequado antes do transporte garante uma boa qualidade da água, uma vez que reduz o risco de defecação no interior dos sacos (Kiro e Dhanasiri, 2011).

Os nitritos surgem na água devido à oxidação da amónia, significando que o ciclo do azoto se encontra em funcionamento (Boyd e Tucker, 1998). O valor dos nitritos manteve-se baixo durante o ensaio, entre 0,007 e 0,03 mg/L, não se encontrando em valores tóxicos para os organismos. No ensaio realizado por Estudillo e Duray (2003), com a espécie *Epinephelus* sp. foram utilizadas larvas com três dias diferentes de idade, em três diferentes densidades e com duas diferentes temperaturas. O objetivo consistia em identificar a melhor densidade/temperatura de transporte de larvas com diferentes idades. Os nitritos obtidos foram mantidos entre 0,02 e 0,30 mg/L. Os valores registados de nitritos

encontravam-se inferiores à zona crítica para a sobrevivência dos peixes (Estudillo e Duray, 2003). No transporte de organismos marinhos tropicais, os nitritos devem ser mantidos inferiores a 0,125 mg/l (Kiro e Dhanasiri, 2011).

O transporte de peixes ornamentais é um dos fatores mais críticos durante todo o processo desde que os peixes são produzidos/capturados, até chegarem ao cliente final, estimando-se que as mortalidades normais durante o transporte sejam de 5%, sendo que sempre que ocorram mortalidades superiores deve haver uma compensação por parte da empresa fornecedora (Pramod et al., 2010). No entanto, esta percentagem estimada não inclui as mortalidades que ocorrem após o transporte, mas sim nos 15 dias seguintes, que tiveram por base o stress gerado durante o transporte. Neste estudo não houve qualquer mortalidade quer durante ou nos 15 dias após o transporte, independentemente da densidade de peixes usada.

É importante praticar elevadas densidades de embalagem num pequeno volume de água de forma a reduzir o peso e assim diminuir os custos de transporte (Pramod et al., 2010). Os parâmetros da qualidade da água durante o transporte encontravam-se de acordo com o que está descrito para as condições de transporte ótimas de peixes em sistemas fechados, com a exceção da amónia não ionizada, onde em algumas situações os valores se encontravam ligeiramente acima do recomendado. A densidade de 4 peixes/L foi utilizada por ser a que é normalmente utilizada para esta espécie e tamanho de peixe pela empresa, no entanto e após os resultados obtidos, é possível concluir que existe margem para aumentar as densidades de transporte, sem que isso se traduza numa diminuição da qualidade de transporte até a data garantido pela AQUASPROSEA aos seus clientes. No entanto e com base nos resultados obtidos, a margem de segurança relativamente ao aumento das densidades de transporte poderá ser reforçada com a prática de 48 horas de jejum ao invés das 24 horas até aqui praticadas.

Não obstante dos resultados obtidos, mais estudos podem ser feitos de forma a otimizar o processo de transporte, uma vez que os usos de anestésicos diminuem o metabolismo dos organismos e a produção de amónia (Kaiser et al., 2006; Harmon, 2009; Akbari et al., 2010). Os zeólitos são minerais que podem tanto ocorrer naturalmente como serem produzidos sinteticamente, e podem também ser usados durante o transporte, uma vez

que contribuem para a diminuição da amónia (Kaiser et al., 2006; Kiro e Dhanasiri, 2011; Lucas e Southgate, 2012) .

6.2. Comportamento reprodutivo, postura, desenvolvimento embrionário e larvar da espécie *Pseudochromis fridmani*, em cativeiro

6.2.1. Introdução

Existe uma constante procura de organismos por parte do mercado ornamental, com as zonas de recife a serem bastante afetadas, com mais de 2/3 das espécies comercializadas provenientes da Indonésia e Filipinas (Máñez et al., 2014). São os organismos capturados no meio natural que asseguram a maioria das necessidades do mercado ornamental, sendo praticadas pescas destrutivas (Lucas e Southgate, 2012; Domínguez e Botella, 2014).

Devido aos efeitos negativos que as zonas de recife de coral são submetidos, a aquacultura tem vindo a ganhar popularidade na produção de peixes tropicais marinhos, sendo os organismos produzidos em cativeiro menos suscetíveis a doenças e melhor adaptados a viver em aquário (Madhu et al., 2016).

Algumas espécies do género *Pseudochromis* são produzidas em cativeiro (Fotedar e Phillips, 2011). Devido às características que apresentam como as cores contrastantes, o comprimento que atingem e à adaptação a viver em aquários, tornam as espécies deste género muito procuradas (Madhu et al., 2016). A espécie *Pseudochromis fridmani* está associada a zonas de recife, sendo somente conhecida no Mar Vermelho (Wittenrich, 2007). O Mar Vermelho encontra-se sujeito a regras de exploração cada vez mais restritas, levando a que seja cada vez mais raro encontrar alguns organismos exclusivos desta zona à venda, e quando encontrados os preços praticados são extremamente elevados (Olivotto et al., 2006; Domínguez e Botella, 2014).

O objetivo deste estudo foi obter informações acerca do comportamento reprodutivo, postura, morfologia do ovo, desenvolvimento embrionário e larvar e metamorfose da

espécie *Pseudochromis fridmani* em condições de cativeiro, com o intuito de fazer produção em grande escala.

6.2.2. Material e Métodos

Foram usados 8 indivíduos sexualmente maduros e colocaram-se dentro de um tanque com tubos de PVC para estabelecerem os casais de reprodução, que seguidamente foram isolados em tanques. A dieta dos adultos foi ração da marca “Ocean nutrition formula 1 e 2” e alimento congelado, durante o decorrer de todo o ensaio. A alimentação foi administrada 6 vezes ao dia. A temperatura no decorrer do ensaio era de 28 ± 1 °C, a salinidade encontrava-se a 30 e o fotoperíodo era de 12L:12D.

O comportamento reprodutivo e os cuidados parentais foram registados. O esconderijo do macho era observado para registar a postura. Os ovos fertilizados foram recolhidos às 0, 36 e 90h após a fertilização e as larvas foram recolhidas aos 0 e 36 dias após a eclosão. Os ovos e as larvas recém eclodidas foram medidos $\text{media}\pm\text{desvio-padrão}$ (DP). O número total de ovos foi contado e o tempo desde a ocorrência da postura até à eclosão foi medido em dias.

Durante o desenvolvimento larvar, as larvas de *P. fridmani* foram alimentadas com ciliados, rotíferos e artémia, de acordo com a Tabela VI.III. Os ciliados (*Euplotes* sp.) foram alimentados com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e administrados às larvas numa concentração de 30 cil./ml. Os rotíferos (*Brachionus* sp.) eram alimentados com microalga *Nannochloropsis* sp., administrados às larvas numa concentração de 20 rot./mL, sendo separados por tamanho, com a ajuda de crivos. A artémia (*Artemia* sp.) foi administrada numa concentração de 5 art./mL. O alimento vivo foi enriquecido, antes de ser dado às larvas, com Redpepper, de acordo com as instruções do fabricante.

Tabela VI.III - Alimentação das larvas durante o ensaio. As presas são administradas de acordo com o dia depois da eclosão.

Dia	1-3	4-5	6-17	18 – 39
Presas	Ciliados/ Rotíferos S	Rotíferos <100 µm	Rotíferos >100 µm	Rotíferos >100 µm e Artémia

Os ovos eclodiram dentro do tanque dos reprodutores, uma hora após escurecer. Devido à fototaxia positiva das larvas, com a ajuda de uma luz, foram recolhidas e transferidas para os tanques.

Os tanques encontravam-se tapados com um papel preto, devido à refração da luz. A água foi substituída, em pequenas quantidades, várias vezes ao dia.

As imagens dos ovos e larvas foram obtidas recorrendo-se ao microscópio com câmara da marca Axiocam 105, Zeiss e o software de medição utilizado foi ZEN 2001. Os resultados apresentam-se sob a forma de $\text{média} \pm \text{desvio-padrão}$ (DP).

6.2.3. Resultados

Pouco tempo antes de ter acontecido a postura, os machos tornaram-se menos agressivos com as fêmeas. A postura ocorreu dentro do esconderijo do macho. No fundo do esconderijo, foi depositada uma bola de ovos com um total de 1500 a 2000 ovos. No fim da postura, o macho expulsou a fêmea do esconderijo e tomou conta da bola de ovos até à sua eclosão.

Os cuidados parentais foram assegurados pelo macho. Foi observado o macho a curvar a barbatana caudal para a frente para segurar a bola de ovos. Não foi exibido comportamento de cuidados parentais por parte da fêmea.

Os ovos eram esféricos e transparentes, apresentando um diâmetro médio de $1,014 \pm 0,227$ mm.

Casos de estudo

Os primeiros ovos foram retirados logo a seguir à fecundação (Figura 6.1 A). Ao fim de 36 horas após a fecundação, a cauda encontrava-se projetada para além do saco vitelino. O saco vitelino era de grandes dimensões (Figura 6.1 B). Após 90 horas da fecundação, observava-se um crescimento corporal, a cauda estava enrolada em torno da cabeça e apresentava olhos prateados (Figura 6.1 C).

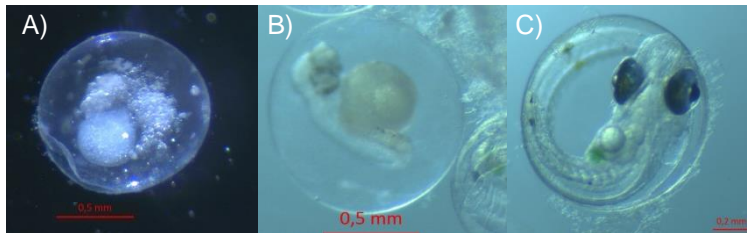


Figura 6.1 - Desenvolvimento embrionário da espécie *Pseudochromis fridmani*. A) imediatamente após a fecundação, B) após 36 horas e C) após 90 horas.

A eclosão dos ovos ocorreu em intervalos regulares de 4,5 dias, a uma temperatura de 28 ± 1 °C, aproximadamente 1 hora depois de escurecer. E as posturas ocorrem entre 6 a 7 dias.

As larvas recém eclodidas apresentavam um comprimento médio de $2,43\pm 0,31$ mm e um saco vitelino de reduzidas dimensões (Figura 6.2). As larvas nadavam muito ativamente e próximo da superfície da água. A primeira alimentação foi administrada na manhã seguinte à eclosão. A metamorfose para juvenis iniciava-se ao dia 39 após a eclosão, adquirindo o corpo uma coloração magenta.



Figura 6.2 - Larva recém eclodida da espécie *Pseudochromis fridmani*.

6.2.4. Discussão

O comportamento de corte por parte do macho é semelhante ao de outras espécies de *Pseudochromis* (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2016;).

O número de ovos de uma postura varia consoante a espécie. Neste caso de estudo, a espécie *P. fridmani* obteve posturas com 1500 a 2000 ovos. No estudo de Mies et al. (2014) foram observadas sete diferentes espécies de *Pseudochromis* em que as posturas continham cerca de 1200 embriões. Para outras duas espécies do mesmo género, o número de ovos é inferior. A espécie *P. flavivertex* efetua posturas com 500 ovos e a espécie *P. dilectus* com 400 a 500 ovos (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2016). Um número de ovos tão elevado, pode ser observado em fêmeas de peixe-palhaço (*Amphiprion* spp.) uma vez que podem fazer posturas entre os 300 e os 1000 ovos (Madhu et al., 2013).

Os cuidados parentais são assegurados na sua totalidade pelos machos ou, em alguns casos partilham a tarefa com as fêmeas, contudo os machos apresentam maior devoção que as fêmeas, como é o caso dos peixes palhaço ou da espécie *Nemateleotris decora* (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2013, 2016; Madhu e Madhu, 2014). No género *Pseudochromis* os cuidados parentais são assumidos na totalidade pelo macho (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2016). Neste trabalho, o macho exibiu um comportamento de curvar a barbatana caudal para a frente para segurar a bola de ovos e este comportamento parecia permitir esconder a bola de ovos da fêmea e impedir a iluminação direta (Madhu et al., 2016).

O diâmetro médio dos ovos da espécie *P. fridmani*, neste estudo, foi de $1,014 \pm 0,227$ mm. O diâmetro dos ovos para a espécie *P. dilectus* encontra-se entre 1,743 e 1,919 mm (Madhu et al., 2016). A oxigenação dos ovos acontece devido aos canais que existem entre eles e permitem a oxigenação dos embriões, durante o desenvolvimento embrionário (Madhu et al., 2016). Vários têm sido os estudos feitos acerca do desenvolvimento embrionário tanto para o género *Pseudochromis* como para outros. Durante o desenvolvimento embrionário, são retirados ovos com diferentes tempos de

desenvolvimento de forma a serem registadas todas as alterações que ocorrem. Para este ensaio, somente foram retirados ovos no momento da fecundação, às 36 e às 90 h. As observações efetuadas, são semelhantes às registadas por outros autores (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2016). O desenvolvimento embrionário é semelhante ao observado noutras espécies de *Pseudochromis* (Olivotto et al., 2006; Madhu et al., 2016). O intervalo de tempo entre posturas neste estudo é de 6 a 7 dias. Para a espécie *P. dilectus*, o intervalo entre posturas encontra-se entre 6 e 15 dias (Madhu et al., 2016).

O tamanho das larvas recém eclodidas varia consoante o tamanho dos ovos. Para os ovos com dimensões superiores as larvas recém eclodidas serão igualmente superiores comparativamente a ovos mais pequenos. As larvas recém eclodidas observadas neste estudo, tinham $2,43 \pm 0,31$ mm de comprimento. O tempo desde a eclosão até a metamorfose é variável. Para a espécie *Nemateleotris decora*, a metamorfose ocorre entre o dia 35 e 40 depois da eclosão (Madhu e Madhu, 2014). A metamorfose ocorre entre o dia 30 e 44, para *Elacatinus figuro* (Meirelles et al., 2009). Este estudo demonstrou que a metamorfose ocorreu a partir do dia 39. No estudo de Olivotto et al. (2006) feito com a espécie *P. flavivertex*, a dieta influenciou a metamorfose uma vez que ao dia 30 após a eclosão, 85% das larvas alimentadas com rotíferos e artémia enriquecidos já tinham completado a metamorfose e somente 8% das larvas alimentadas com rotíferos enriquecidos e artémia não enriquecida tinham completado a metamorfose, na mesma altura. A espécie *P. dilectus* obteve 82% de juvenis ao dia 30 depois da eclosão para larvas cuja dieta consistia em ciliados enriquecidos com microalga, rotíferos e *D. celebensis* enriquecidos (Madhu et al., 2016). Assim, evidenciou-se que a dieta exerce uma forte influência no tempo desde a eclosão das larvas até à metamorfose.

Mais estudos devem ser efetuados para otimizar o tempo de desenvolvimento larvar da espécie *P. fridmani*. Por ser uma espécie com pouca informação atual e muito popular no seio do *hobby* da aquarofilia seria importante efetuar um estudo mais aprofundado sobre o comportamento reprodutivo, postura e desenvolvimento embrionário e larvar.

7. Conclusão

A realização do estágio permitiu complementar os conhecimentos científicos adquiridos durante o percurso académico de Mestrado em Aquacultura, na Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche, através da experiência prática na empresa AQUASPROSEA, Lda, uma vez que esta forneceu as informações e as vivências diárias sobre o bom funcionamento de uma aquacultura.

Durante o estágio, foram adquiridos conhecimentos sobre os métodos de produção de varias espécies de organismos ornamentais e alcançadas as competências para desenvolver um trabalho de sucesso com as diferentes espécies de peixes e também com uma espécie de medusa, no seio de uma aquacultura.

Finalizado o estágio, fica-se com uma visão alargada e verdadeira de uma realidade concreta do mundo do trabalho numa aquacultura bem como mais enriquecida pelas experiências diárias adquiridas, ficando munida de ferramentas teóricas e práticas que serão aplicadas mais tarde, no âmbito profissional, numa empresa com esta realidade.

Para além de todo o contacto e aprendizagem com a realidade empresarial, o desenvolvimento de casos de estudo foi uma excelente ferramenta, uma vez que permitiu para além do aumento do conhecimento científico nas áreas estudadas, foi possível aplicar esse novo conhecimento na empresa. No caso de estudo dos transportes, após o estudo a empresa alterou parte do método de embalagem de acordo com os resultados obtidos (aumento de jejum de 24 para 48 horas), traduzindo-se assim numa melhoria dos serviços prestados pela empresa aos seus clientes. No caso de estudo da espécie *Pseudochromis fridmani* adquiriu-se conhecimento acerca do comportamento reprodutivo, postura, morfologia do ovo, desenvolvimento embrionário e larvar e a metamorfose em condições de cativeiro, permitindo assim realizar a produção em grande escala.

Para além dos casos de estudo, existiram outras melhorias nomeadamente na produção de rotíferos, na organização da planificação diária das atividades da empresa e também na pratica de enriquecimento de todo o alimento vivo administrado às larvas.

Conclusão

Conclui-se que todos os objetivos foram alcançados, a experiência adquirida foi largamente benéfica para a aquisição de conhecimentos, competências e mecanismos de funcionamento e trabalho para um sucesso profissional e pessoal.

8. Referências Bibliográficas

- Akbari, S., Khoshnod, M.J., Rajaian, H., Afsharnasab, M., 2010. The use of Eugenol as an anesthetic in transportation of with Indian Shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) post larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 10, 423–429.
- Allen, G.R., Drew, J., Fenner, D., 2010. *Amphiprion pacificus*, a new species of anemonefish (Pomacentridae) from Fiji, Tonga, Samoa, and Wallis Island. *Aqua, International Journal of Ichthyology* 16, 129–138.
- Almatar, S.M., Lone, K.P., Abu-Rezq, T.S., Yousef, A.A., 2004. Spawning frequency, fecundity, egg weight and spawning type of silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen) (Stromateidae), in Kuwait waters. *Journal of Applied Ichthyology* 20, 176–188.
- Araújo, T., Miranda, F., Chambel, J., Mendes, S., Baptista, T., Pedrosa, R., 2014. The effects of food and photoperiod on strobilation of *Aurelia aurita* polyps. *Frontiers in Marine Science Conference Abstract: IMMR | International Meeting on Marine Research 2014*.
- Berka, R., 1986. The transport of live fish. A review, EIFAC Technical Paper. pp: 1 e 9.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1998. Pond aquaculture water quality management, *Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015*. Springer Science & Business Media. pp: 88-137.
- Brunner, B., 2005. *The Ocean at Home An Illustrated History of the Aquarium*, Reaktion Books. pp: 7 e 78.
- Castro, P., Huber, M.E., 2000. *Marine Biology*. McGraw-Hill. pp: 108.
- Cegolon, L., Heymann, W.C., Lange, J.H., Mastrangelo, G., 2013. Jellyfish stings and their management: A review. *Marine Drugs* 11, 523–550.
- Chambel, J., Araújo, T., Mendes, C., Miranda, F., Cândia, L., Maranhão, P., Pedrosa, R., 2016. New marine ornamental species: the potential of Moon jellyfish *Aurelia aurita*. *Frontiers in Marine Science Conference Abstract: IMMR | International Meeting on Marine Research 2016*.
- Champbell, N.A., Reece, J.B., Michell, I.G., 1999. *Biology*. Benjamin/Cummings.
- De Amorim, M.P., Gomes, B.V.C., Martins, Y.S., Sato, Y., Rizzo, E., Bazzoli, N., 2009. Early development of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces:Heptapteridae) from the São Francisco River Basin, Brazil. *Aquaculture Research* 40, 172–180.
- Demeke, A., Tassew, A., 2016. A review on water quality and its impact on Fish health. *International Journal of Fauna and Biological Studies* 3, 21–31.
- Dhaneesh, K. V., Nanthini, D.K., Kumar, T.T.A., Balasubramanian, T., Tissera, K., 2012. Breeding, embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*. *Journal of King Saud University - Science* 24, 201–209.
- Domínguez, L.M., Botella, A.S., 2014. An overview of marine ornamental fish breeding as a potential support to the aquarium trade and to the conservation of natural fish populations. *International Journal of Sustainable Development and Planning* 9, 608–632.
- Estudillo, C.B., Duray, M.N., 2003. Transport of hatchery-reared and wild grouper larvae, *Epinephelus* sp. *Aquaculture* 219, 279–290.
- Fotadar, R.K., Phillips, B.F., 2011. Recent Advances and New Species in Aquaculture, *Recent Advances and New Species in Aquaculture*. pp: 279-297.

Referências Bibliográficas

- Games PA, Howell J. F., 1976. Pairwise Multiple Comparison Procedures with Unequal N's and/or Variances: A Monte Carlo Study. *Journal of Educational Statistics* 1, 113-125
- Ghosh, S., Ajith-Kumar, T.T., Nanthinidevi, K., Balasubramanian, T., 2012. Reef fish Breeding and Hatchery Production Using Brackishwater, A Sustainable Technology with Special Reference to Clark's Clownfish, *Amphiprion Clarkii* (Bennett, 1830). *International Journal of Environmental Science and Development* 3, 56–60.
- Ghosh, S., Kumar, T.T.A., Vinoth, R., Balasubramanian, T., Dabbagh, A.R., Keshavarz, M., 2011. Effect of Short-Term Enrichment of Wild Zooplankton on Survival of Larval Maroon Clownfish (*Premnas biaculeatus*). *Middle-East Journal of Scientific Research* 7, 674–677.
- Gill, A. C., 2013. Classification and relationship of *Assiculus* and *Assiculoides* (Teleostei: Pseudochromidae). *Zootaxa*, 3718, 128-136.
- Golombieski, J.I., Silva, L.V.F., Baldisserotto, B., Da Silva, J.H.S., 2003. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities, and temperatures. *Aquaculture* 216, 95–102.
- Harmon, T.S., 2009. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Reviews in Aquaculture* 1, 58–66.
- Ho, A.L.F.C., O'Shea, S.K., Pomeroy, H.F., 2013. Dietary esterified astaxanthin effects on color, carotenoid concentrations, and compositions of clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*, skin. *Aquaculture International* 21, 361–374.
- Hoese, D.F., Reader, S., 2001. A preliminary review of the eastern Pacific species of *Elacatinus* (perciformes: Gobiidae). *Revista de Biologia Tropical* 49, 157–167.
- Holst, S., 2012. Morphology and development of benthic and pelagic life stages of North Sea jellyfish (Scyphozoa, Cnidaria) with special emphasis on the identification of ephyra stages. *Marine Biology* 159, 2707–2722.
- Kaiser, H., Brill, G., Cahill, J., Collett, P., Czypionka, K., Green, A., Orr, K., Patrick, P., Scheepers, R., Stonier, T., Whitehead, M.A., Yearsley, R., 2006. Testing clove oil as an anaesthetic for long-distance transport of live fish: The case of the Lake Victoria cichlid *Haplochromis obliquidens*. *Journal of Applied Ichthyology* 22, 510–514.
- Kamiyama, T., 2011. Planktonic ciliates as a food source for the scyphozoan *Aurelia aurita* (s.l.): Feeding activity and assimilation of the polyp stage. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 407, 207–215.
- Kiro, V., Dhanasiri, A.K., 2011. Ornamental fishes: trade and transport. Conditions for entrepreneurship in Sri Lanka: a handbook Aachen: Shaker Verlag GmbH, 315–330.
- Kirk R. E., 1982. *Experimental design : procedures for the behavioral sciences*. Brooks/Cole Pub. Co., Monterey, Calif.
- Kisling, V.N., 2000. *Zoo and aquarium history: Ancient animal collections to zoological gardens*. CRC PRESS. pp: 7.
- Krogh, D., 2005. *Biology a guide to the natural world*. Pearson Education. pp: 453.
- Kumar, T.T.A., Gopi, M., Dhaneesh, K. V., Vinoth, R., Ghosh, S., Balasubramanian, T., Shunmugaraj, T., 2012. Hatchery production of the clownfish *Amphiprion nigripes* at Agatti island, Lakshadweep, India. *Journal of Environmental Biology* 33, 623–628.
- Lim, L.C., Dhert, P., Sorgeloos, P., 2003. Recent developments and improvements in ornamental fish packaging systems for air transport. *Aquaculture Research* 34, 923–935.
- Liu, W.C., Lo, W.T., Purcell, J.E., Chang, H.H., 2009. Effects of temperature and light

- intensity on asexual reproduction of the scyphozoan, *Aurelia aurita* (L.) in Taiwan. *Hydrobiologia* 616, 247–258.
- Livengood, E., Chapman, F., 2007. *The Ornamental Fish Trade: An Introduction with Perspectives for Responsible Aquarium Fish Ownership*. University of Florida IFAS Extension 1–8.
- Lubbock, R., 1975. Fishes of the family Pseudochromidae (Perciformes) in the central Indian Ocean 176, 37–41.
- Lucas, C.H., 2001. Reproduction and life history strategies of the common jellyfish, *Aurelia aurita*, in relation to its ambient environment. *Hydrobiologia* 451, 229–246.
- Lucas, J.S., Southgate, P.C., 2012. *Aquaculture: Farming Aquatic Animals and Plants*. pp: 52,62-64, 585 e 588.
- Madhu, K., Madhu, R., 2014. Captive spawning and embryonic development of marine ornamental purple firefish *Nemateleotris decora* (Randall & Allen, 1973). *Aquaculture* 424–425, 1–9.
- Madhu, K., Madhu, R., 2010. Successful captive breeding and juvenile production of the tomato anemonefish, *Amphiprion frenatus*. *Marine Fisheries Information Service Technical and Extension Series* 205, 1–3.
- Madhu, K., Madhu, R., Gopakumar, G., Sasidharan, C.S., 2006a. Spawning and larval rearing of *Amphiprion ocellaris* under captive condition. *Marine Fisheries Information Service, Technical and Extension Series* 188, 1–5.
- Madhu, K., Madhu, R., Gopakumar, G., Sasidharan, C.S., Venugopalan, K.M., 2006b. Breeding, larval rearing and seed production of maroon clown *Premnas biaculeatus* under captive conditions. *Marine Fisheries Information Service, Technical and Extension Series*, 1–5.
- Madhu, K., Madhu, R., Rethesh, T., 2016. Spawning, embryonic development and larval culture of redhead dottyback *Pseudochromis dilectus* Lubbock, 1976 under captivity. *Aquaculture* 459, 73–83.
- Madhu, R., Madhu, K., Rethesh, T., 2013. Breeding and seed production of Clown fishes under captivity 201–208.
- Madhu, R., Madhu, K., Rethesh, T., 2012. Life history pathways in false clown *Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830: A journey from egg to adult under captive condition. *Journal of Marine Biological Association of India* 54, 77–90.
- Maison, K.A., Graham, K.S., 2015. Status Review Report: Orange Clownfish (*Amphiprion percula*), Report to Natural Marine Fisheries Service, Office of Protected Resources.
- Máñez, K.S., Dandava, L., EKau, W., 2014. Fishing the last frontier: The introduction of the marine aquarium trade and its impact on local fishing communities in Papua New Guinea. *Marine Policy* 44, 279–286.
- Mariottini, G.L., Pane, L., 2010. Mediterranean jellyfish venoms: A review on scyphomedusae. *Marine Drugs* 8, 1122–1152.
- Meirelles, M.E., Tsuzuki, M.Y., Ribeiro, F.F., Medeiros, R.C., Silva, I.D., 2009. Reproduction, early development and larviculture of the barber goby, *Elacatinus figaro* (Sazima, Moura & Rosa 1997). *Aquaculture Research* 41, 1–8.
- Mies, M., Güth, A.Z., Scozzafave, M.S., Sumida, P.Y.G., 2014. Spawning behaviour and activity in seven species of ornamental dottybacks. *Journal of Zoo and Aquarium Research* 2, 117–122.
- NOGA, E.J., 2010. *Fish disease: diagnosis and treatment*. pp: 91.

Referências Bibliográficas

- Olivotto, I., Rollo, A., Sulpizio, R., Avella, M., Tosti, L., Carnevali, O., 2006. Breeding and rearing the Sunrise Dottyback *Pseudochromis flavivertex*: the importance of live prey enrichment during larval development. *Aquaculture* 255, 480–487.
- Olivotto, I., Zenobi, A., Rollo, A., Migliarini, B., Avella, M., Carnevali, O., 2005. Breeding, rearing and feeding studies in the cleaner goby *Gobiosoma evelynae*. *Aquaculture* 250, 175–182.
- Paterson, B.D., Rimmer, M.A., Meikle, G.M., Semmens, G.L., 2003. Physiological responses of the Asian sea bass, *Lateolabrax niloticus* to water quality deterioration during simulated live transport: Acidosis, red-cell swelling, and levels of ions and ammonia in the plasma. *Aquaculture* 218, 717–728.
- Peng, S., Chen, X., Shi, Z., Yin, F., Sun, P., 2012. Survival of Juvenile Silver Pomfret, *Pampus argenteus*, Kept in Transport Conditions in Different Densities and Temperatures. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgah* 64, 1–6.
- Pomeroy, R.S., Balboa, C., 2004. The financial feasibility of small-scale grouper aquaculture in the Philippines. *Asian Fisheries Science* 17, 365–376.
- Pomeroy, R.S., Parks, J.E., Balboa, C.M., 2006. Farming the reef: Is aquaculture a solution for reducing fishing pressure on coral reefs? *Marine Policy* 30, 111–130.
- Pramod, P.K., Sajeevan, T.P., Ramachandran, A., Thampy, S., Pai, S.S., 2010. Effects of Two Anesthetics on Water Quality during Simulated Transport of a Tropical Ornamental Fish, the Indian tiger barb *Puntius filamentosus*. *North American Journal of Aquaculture* 72, 290–297.
- Prasad, G., Ali, P.H.A., 2007. Length-weight relationship of a Cyprinid fish *Puntius filamentosus* from Chalakudy River, Kerala. *Zoos' Print Journal* 22, 2637–2638.
- Purcell, J.E., 2005. Climate effects on formation of jellyfish and ctenophore blooms: a review. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 85, 461–476.
- Purcell, J.E., Atienza, D., Fuentes, V., Olariaga, A., Tilves, U., Colahan, C., Gili, J.M., 2012. Temperature effects on asexual reproduction rates of scyphozoan species from the northwest Mediterranean Sea. *Hydrobiologia* 690, 169–180.
- Purcell, J.E., Hoover, R.A., Schwarck, N.T., 2009. Interannual variation of strobilation by the scyphozoan *Amelia labiata* in relation to polyp density, temperature, salinity, and light conditions in situ. *Marine Ecology Progress Series* 375, 139–149.
- Purcell, J.E., Uye, S., Lo, W.-T., 2007. Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: A review. *Marine Ecology Progress Series* 350, 153–174.
- Raskoff, K.A., Sommer, F.A., Hamner, W.M., Cross, K.M., 2003. Collection and culture techniques for gelatinous zooplankton. *Biological Bulletin* 204, 68–80.
- Riisgård, H.U., Madsen, C. V., 2011. Clearance rates of ephyrae and small medusae of the common jellyfish *Aurelia aurita* offered different types of prey. *Journal of Sea Research* 65, 51–57.
- Sayadi, P., Mohammadzadeh, F., Bahri, A.H., 2012. The Effect of Temperature and Juvenile Density on the Development of Neon Dottyback (*Pseudochromis aldabraensis*) broodstock. *Journal of Animal Science* 2, 941–945.
- Shey, M.R.P., Miranda-Filho, K.C., Rodrigues, R.V., Sampaio, A., 2010. Production of juvenile barber goby *Elacatinus figaro* in captivity: developing technology to reduce fishing pressure on an endangered species. *Marine Biodiversity Records* 3, 1–7.
- Stuart, K., Losordo, M., Olin, P., Drawbridge, M., 2013. Effects of stocking density and water conditioners on yolk-sac larvae of two marine finfish during simulated air transport.

- Aquaculture Research 1–9.
- Thlusty, M., 2002. The benefits and risks of aquaculture production for the aquarium trade. *Aquaculture* 205, 203–219.
- Wabnitz, C., Taylor, M., Green, E., Razak, T., 2003. From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species, UNEP-WCMC, Cambridge, UK. pp:9.
- Whittington, R.J., Chong, R., 2007. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: The case for revised import risk analysis and management strategies. *Preventive Veterinary Medicine* 81, 92–116.
- Willcox, S., Molschaniwskyj, N.A., Crawford, C., 2007. Asexual reproduction in scyphistomae of *Aurelia* sp.: Effects of temperature and salinity in an experimental study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 353, 107–114.
- Wittenrich, M.L., 2007. *The Complete Illustrated Breeder's Guide to Marine Aquarium Fishes: Mating, Spawning & Rearing Methods for Over 90 Species*, TFH Public. ed.
- Wittenrich, M.L., Munday, P.L., 2005. Bi-directional sex change in coral reef fishes from the family Pseudochromidae: an experimental evaluation. *Zoological science* 22, 797–803.
- Zar, J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*. Upper Saddle River, NJ: Pearson Education International.

Sites visitados

- <http://edis.ifas.ufl.edu/fa031> (Consultado a 29/08/2016)
- <http://www.tropicalmarinecentre.co.uk/pt/index.aspx> (Consultado a 23/10/2016)
- <http://www.tropicalmarinecentre.co.uk/pt/Contacttmc.aspx> (Consultado a 23/10/2016)
- <http://www.orafarm.com/about/ora/> (Consultado a 23/10/2016)
- <https://www.racius.com/ocean-matters-portugal-s-a/> (Consultado a 23/10/2016)
- <https://www.facebook.com/lisbonreefhatchery/about/> (Consultado a 23/10/2016)