



**POLITÉCNICO
DE LEIRIA**

ESCOLA SUPERIOR
DE TURISMO E
TECNOLOGIA DO MAR

***Estágio Curricular na Safiestela - Sustainable Aqua
Farming Investments, S.A.***

Muriel Freire Gonçalves

2019



**POLITÉCNICO
DE LEIRIA**

ESCOLA SUPERIOR
DE TURISMO E
TECNOLOGIA DO MAR

***Estágio Curricular na Safiestela - Sustainable Aqua
Farming Investments, S.A.***

Muriel Freire Gonçalves

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Relatório de Estágio realizado sob a supervisão do Diretor de Produção da Safiestela
Diogo Rosado e orientação da Professora Especialista Teresa Baptista

2019

Título: Estágio Curricular na Safiestela - Sustainable Aqua Farming Investments, S.A.

Copyright © Muriel Freire Gonçalves

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2019

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

Queria agradecer a todas as pessoas que se cruzaram comigo ao longo deste ano e o tornaram especial!

Um grande obrigado...

À coordenadora do mestrado, Prof. Ana Pombo, pela disponibilidade em conseguir o estágio que eu desejava.

À minha orientadora Prof. Teresa Baptista pela ajuda e preocupação mostrada ao longo deste ano.

Ao Diogo Rosado por aceitar o meu estágio na empresa bem como toda a disponibilidade e apoio ao longo do estágio, em conjunto com a Marta.

A todos os que fazem parte da família Safiestela pelo enorme carinho com que me trataram, em especial á Cidália, ao Diogo, ao Christophe e ao Sérgio, por todo o conhecimento e amizade dia após dia. E também, ao Carlos, pelo companheirismo.

Às minhas amigas e colegas, Beatriz e Ana por todo apoio.

Ao Rafael por toda a paciência e carinho, e a todas as pessoas que me acolheram nesta cidade que já considero como minha.

E claro, um agradecimento especial aos meus pais, que possibilitaram e incentivaram esta experiência desde o início.

Resumo

Com o aumento do consumo de peixe juntamente com o crescimento da produção aquícola bem como a diminuição dos *stocks* pesqueiros, atualmente, o peixe de aquacultura para o consumo humano é superior ao capturado.

A Safiestela - Sustainable Aqua Farming Investments, S.A. é uma maternidade de linguado senegalês (*Solea senegalensis*) situada na Póvoa de Varzim, que pertence ao grupo SEA8. Esta aquacultura é responsável pela manipulação dos reprodutores para obtenção de ovos até à fase da pré-engorda, já a Aquacria Piscícolas e a Aquacria Arousa que também pertencem ao mesmo grupo, são responsáveis pela engorda dos mesmos.

O estágio começou no dia 17 de setembro de 2018 e terminou no dia 31 de julho de 2019. Este estágio permitiu a aprendizagem e a realização das diversas tarefas diárias existentes nesta empresa.

Durante o decorrer do estágio foi realizado um pequeno ensaio com o objetivo de testar uma ração comercial, inerte, nos primeiros dias da fase larvar do linguado senegalês. A ração inerte tem inúmeras vantagens nomeadamente a disponibilidade, uniformidade e também do ponto de vista económico, e por isso são vários os estudos existentes para a sua introdução na dieta das larvas logo após a abertura da boca.

Neste ensaio, as larvas do tanque 10 foram alimentadas com LARVIVA ProStart a partir do dia 2 após a eclosão (DAE) até ao 14^oDAE; e as larvas do tanque 11 foram alimentadas com rotíferos enriquecidos do dia 2^oDAE até ao dia 7^oDAE e depois, até ao fim do ensaio com a ração em estudo. Observou-se que as larvas consumiram a ração através da visualização do conteúdo estomacal, e com a medição diária do comprimento médio analisou-se o crescimento destas. O comprimento total das larvas do tanque 11 foi superior às do tanque 10, mas ainda assim estas larvas apresentaram um crescimento inferior ao obtido pela Safiestela utilizando apenas alimento vivo.

Palavras-Chave: Aquacultura; Safiestela; Linguado senegalês; *Solea senegalensis*; Larva; Ração.

Abstract

With the increase in fish consumption along with the growth in aquaculture production as well as the decrease in fish stocks, aquaculture fish for human consumption currently exceeds the captured.

Safiestela - Sustainable Aqua Farming Investments, S.A. is a Senegalese sole (*Solea senegalensis*) maternity unit located in Póvoa de Varzim, which belongs to the SEA8 group. This aquaculture is responsible for the manipulation of the breeders to obtain eggs until the pre-ongrowing phase, while Aquacria Piscicultura and Aquacria Arousa, which also belong to the same group, are responsible for their ongrowing.

The internship began on September 17, 2018 and ended on July 31, 2019. This internship allowed the learning and accomplishment of the various daily tasks in this company.

During the course of the internship a small trial was carried out to test an inert commercial ration in the early days of the Senegalese sole larval phase. Inert feed has numerous advantages including availability, uniformity and also from the economic point of view, and so there are several studies available for its introduction into the diet of larvae right after opening the mouth.

In this assay, the tank 10 larvae were fed LARVIVA Prostart from day 2 after hatching (DAH) to the 14^oDAH; and the larvae of tank 11 fed with enriched rotifers from 2^oDAH to 7^oDAH and from this until the end of the test with the feed under study. It was observed that the larvae consumed the feed by visualizing the stomach content, and with the daily measurement of the average length, their growth was analyzed. The total length of the larvae from tank 11 was higher than the ones from tank 10, but these larvae still showed a lower growth than Safiestela using live feed alone.

Keywords: Aquaculture; Safiestela; Senegalese sole; *Solea senegalensis*; Larvae; Feed;

Índice

I.	Introdução.....	3
1.	Aquacultura Mundial.....	3
2.	Aquacultura em Portugal.....	5
3.	Aquacultura de Linguado	7
4.	Biologia da Espécie.....	8
II.	Estágio na Safiestela	9
1.	A empresa.....	9
2.	Estágio.....	10
3.	Estrutura da Safiestela	10
3.1.	Zona dos reprodutores.....	11
3.2.	Sala de incubação.....	14
3.3.	Salas de Desenvolvimento Larvar	15
3.4.	Zona de alimento vivo	16
3.4.1.	Sala dos rotíferos.....	17
3.4.2.	Sala de Artémia	19
3.5.	Zona do desmame	21
3.6.	Pré-engorda.....	22
4.	Análises da qualidade da água	23
5.	Sistemas de recirculação RAS e tratamento de água.....	24
III.	Trabalho experimental	26
1.	Introdução	26
2.	Objetivo.....	28
3.	Material e Métodos.....	28
4.	Resultados	31
5.	Discussão	33
6.	Conclusão	36
IV.	Referências	37

Índice de figuras

Figura 1 – Capturas mundiais da pesca e produção mundial em aquacultura (Fonte: FAO, 2018).....	3
Figura 2 – Peixe capturado e de aquacultura disponível para consumo humano (kg/capita) ao longo das últimas décadas (Fonte: FAO, 2018).....	4
Figura 3 – Produção aquícola em Portugal (Fonte: INE, 2018).....	5
Figura 4 – Produção em aquacultura por tipo de regime em Portugal em 2017 (Fonte: INE, 2018).....	6
Figura 5 – Composição da produção aquícola em águas salobras e marinhas em 2017 (Fonte: INE, 2018).....	Erro! Marcador não definido.
Figura 6 – Solea Senegalensis, fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	9
Figura 7- a) vista aérea da Safiestela; b) mapa com a distribuição do grupo SEA8 (Fonte: GoogleEarth; SEA8).....	10
Figura 8 – Área dos reprodutores, Sala da primavera; fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	12
Figura 9 – Ilustração das 3 etapas do acasalamento em cativeiro com o período de tempo aproximado de cada etapa. As linhas tracejadas indicam as falhas que podem ocorrer durante o acasalamento (Fonte: Carazo et al., 2016).....	13
Figura 10 – Sala de incubação, fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	14
Figura 11 – Parte da sala do desenvolvimento larvar, fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	15
Figura 12 – Larva marinha, rotíferos e artémia (Fonte: FAU).....	17
Figura 13 - Sala dos rotíferos, fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	18
Figura 14 - Sala da artémia, fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	19
Figura 15 - Zona do desmame, fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	21
Figura 16 - Tanque da pré-engorda, fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	22
Figura 17 – (a) Tanque utilizado no ensaio; (b) superfície do tanque, fotografias tiradas por Muriel Gonçalves.....	29
Figura 18 -Visualização do conteúdo estomacal de uma larva (Tanque 11; 10 ^o DAE), fotografia tirada por Muriel Gonçalves.....	32
Figura 19 – Evolução do comprimento médio das larvas (mm) ao longo do seu desenvolvimento larvar até ao 14 ^o DAE. Valores apresentados sob a forma de média±erro padrão.....	32
Figura 20 – Fotografia das larvas do tanque 10 (a) e do tanque 11 (b) ao 14 ^o DAE, fotografias tiradas por Muriel Gonçalves.....	33

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Composição nutricional da ração LARVIVA ProStart (Fonte: BioMar)	30
Tabela 2 – Percentagem de larvas observadas com e sem conteúdo estomacal, de cada um dos tanques ao longo do ensaio.....	31

Lista de Abreviaturas

DAE – Dia após eclosão

DGRM - Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos

FAO - *Food and Agriculture Organization*

INE - Instituto Nacional de Estatística

OECD - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico

RAS - Sistema de recirculação de água

UV - Ultravioleta

**Relatório do Estágio Curricular na Safiestela - Sustainable
Aqua Farming Investments, S.A.**

I. Introdução

1. Aquacultura Mundial

A aquacultura consiste na produção de organismos aquáticos tanto de água doce como de água salgada, tais como, peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios e até mesmo plantas aquáticas. Esta atividade é praticada há milênios, com o seu início por volta de 4000 anos atrás durante o período 2000-1000 a.C. na China (Rabanal, 1988). Segundo Balon (2004), a carpa comum foi o primeiro peixe domesticado. No entanto, umas das evidências mais antigas da aquacultura foi a colheita de tilápias de lagoas no Egito durante 2500 a.C. (Bardach et al., 1972).

Com a captura de pescado relativamente estática desde o final dos anos 80, o rápido desenvolvimento da aquacultura foi considerado a revolução azul (Costa-Pierce, 2002; Simpson, 2011), resultando numa enorme produção de peixe para a nutrição humana de maneira semelhante à “revolução verde” (Simpson, 2011).

A produção mundial de pescado atingiu o pico em cerca de 171 milhões de toneladas em 2016 (figura 1), com a aquacultura representando 47% do total e 53% se os usos não alimentares (incluindo a redução para farinha de peixe e óleo de peixe) forem excluídos (FAO, 2018).

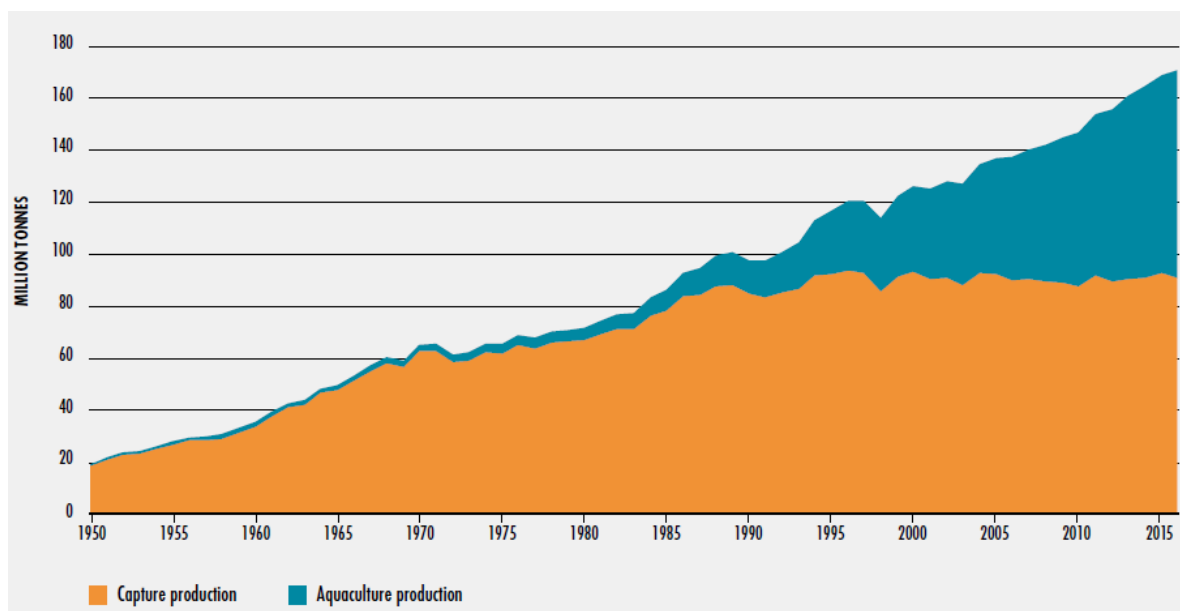


Figura 1 – Capturas mundiais da pesca e produção mundial em aquacultura (Fonte: FAO, 2018)

A quantidade global de capturas em 2016 foi de 90,9 milhões de toneladas, valor inferior ao registado em 2015 (92,7 milhões de toneladas). Em relação à produção em aquacultura, a situação é contrária existindo um aumento de 76,1 do ano anterior para 80 milhões de toneladas em 2016 (FAO, 2018).

Paralelamente ao crescimento da produção aquícola, a proporção de peixes de aquacultura nas dietas humanas aumentou rapidamente. Em 2006, a contribuição do peixe de aquacultura para o consumo humano foi de 41% e aumentou para 53% em 2016 (figura 2), atingindo em 2013 pela primeira vez um valor superior ao do peixe capturado (FAO, 2018).

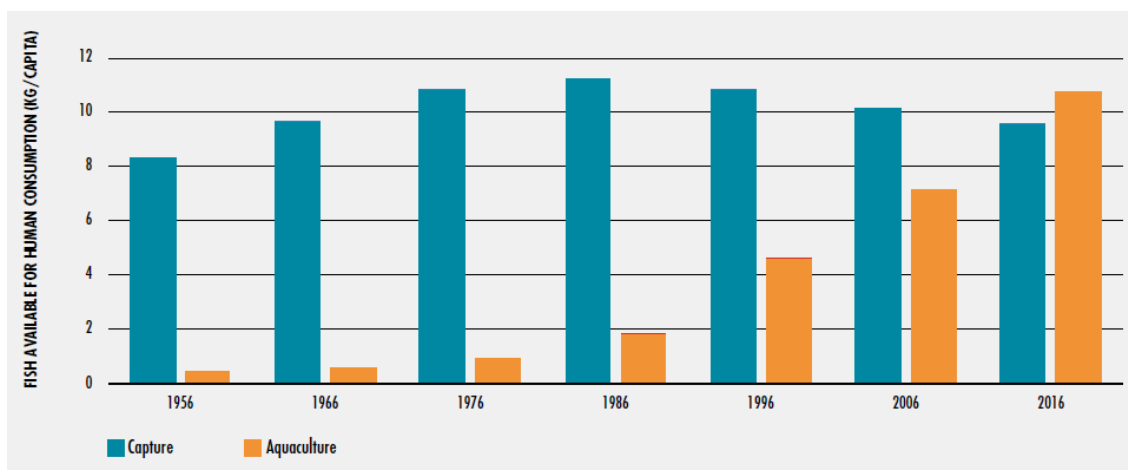


Figura 2 – Peixe capturado e de aquacultura disponível para consumo humano (kg/capita) ao longo das últimas décadas (Fonte: FAO, 2018)

Em termos de valor *per capita*, o consumo de peixe aumentou de 9,0 kg em 1961 para 20,2 kg em 2015, a uma taxa média de 1,5 por cento por ano. Estimativas preliminares para 2016 e 2017 apontam para um crescimento adicional de cerca de 20,3 e 20,5 kg, respetivamente. A expansão do consumo foi impulsionada não apenas pelo aumento da produção, mas também por uma combinação de muitos outros fatores, incluindo redução de desperdício, melhor utilização, melhores canais de distribuição e demanda crescente, ligados ao crescimento da população, aumento da renda e urbanização (FAO, 2018).

2. Aquacultura em Portugal

A produção aquícola em 2017 (figura 3) foi de 12 549 toneladas resultando numa receita de 83,2 milhões de euros. Estes resultados traduzem, face a 2016, um aumento em quantidade (+11,5%) e um acréscimo em valor da mesma ordem de grandeza (+10,6%) (INE, 2018).

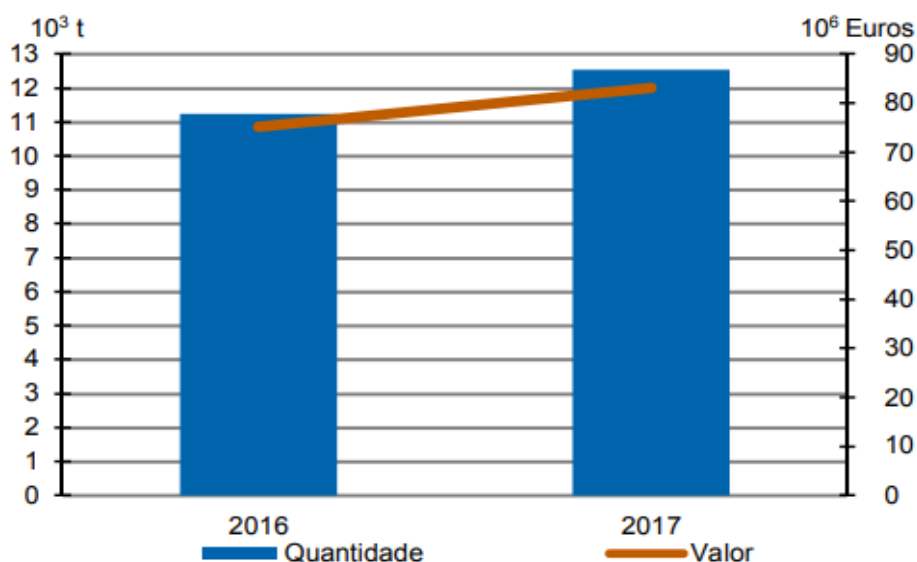


Figura 3 – Produção aquícola em Portugal (Fonte: INE, 2018)

Relativamente aos regimes de exploração (figura 4), a produção em águas doces manteve-se exclusivamente intensiva. Na produção em águas marinhas e de transição, o regime extensivo apresentou um ligeiro decréscimo, situando-se nos 59,5% (60,2% em 2016), tendo sido utilizado sobretudo para a cultura de bivalves. Inversamente, o regime intensivo reforçou a sua posição em 1% em relação ao ano anterior, contribuindo para 29,4% da produção enquanto o semi-intensivo, responsável por 11,1% do total produzido, manteve aproximadamente o peso em relação ao ano anterior (INE, 2017; 2018).

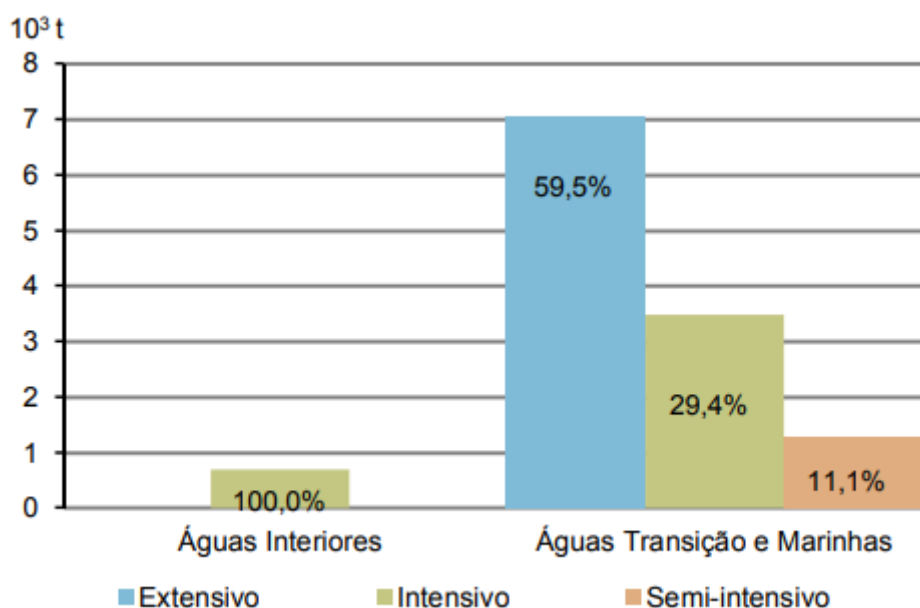


Figura 4 – Produção em aquacultura por tipo de regime em Portugal em 2017 (Fonte: INE, 2018)

No final de 2017 existiam 1 532 estabelecimentos licenciados em aquacultura para águas doces, marinhas e de transição, mais 15 unidades do que em 2016.

Na produção em águas salobras e marinhas (figura 5), constata-se que a amêijoia e o pregado foram as principais espécies produzidas em 2017, seguindo-se o mexilhão, as ostras, a dourada e o robalo. Com menos expressão, aparecem o berbigão e o linguado. A produção de moluscos bivalves representou 56,7% da produção aquícola total e aumentou cerca de 12% em 2017. As amêijoas mantêm-se a espécie mais relevante com uma produção de 3 887 toneladas, seguida dos mexilhões com 1 722 toneladas e das ostras com 1 185 toneladas, sendo que registaram aumentos de produção de 4,6%, 16,8% e 17% respetivamente.

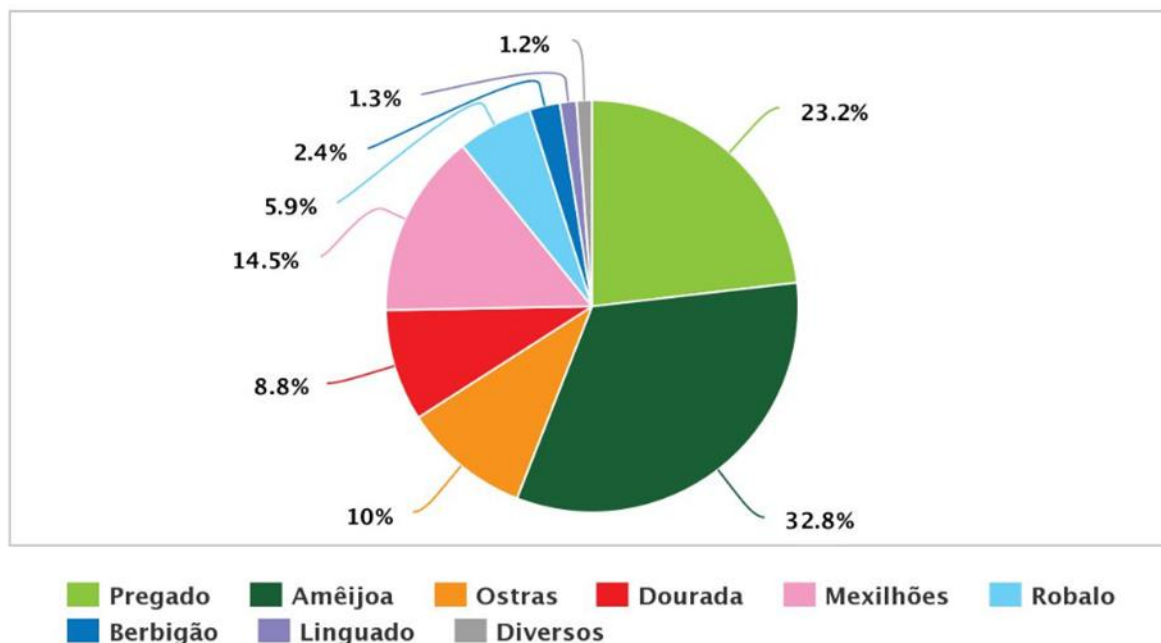


Figura 5 - Composição da produção aquícola em águas salobras e marinhas em 2017 (Fonte: INE, 2018)

3. Aquacultura de Linguado

Foi na costa de Cádiz por Rodriguez (1984) e nos estuários portugueses por Dinis (1986), que foram realizados os primeiros estudos relacionados com a cultura do linguado senegalês. No entanto, estes não avançaram nos anos seguintes, devido à prioridade que foi dada ao desenvolvimento do cultivo de outras espécies, como a dourada, o robalo e o pregado, tanto ao nível de produção como científico (Villanueva e Alonso, 2014).

Na década de 90 ocorreu um forte crescimento na produção de espécies de peixes marinhos, principalmente de douradas e robalos, levando à saturação do mercado e consequentemente uma queda significativa dos preços. Isto desencadeou um interesse no cultivo de novas espécies, sendo uma delas o linguado senegalês (Villanueva e Alonso, 2014).

No ano de 2012, a França apresentou uma produção de 200 toneladas de linguado senegalês, em Espanha foram produzidas 95 toneladas e em Portugal 45 toneladas (Bjørndal et al., 2015).

Em 2016 a produção aumentou, tendo sido a Espanha, o país com a maior produção de linguado senegalês com o valor de 747 toneladas, de seguida a Islândia com 360 (valor estimado), a França com 260 (valor estimado) e por fim, Portugal com 143 toneladas (OECD, 2019).

Solea Senegalensis é uma espécie de peixe com carne branca de elevada qualidade que atinge no mercado um preço médio de 12 a 14 €/kg (Pinto et al., 2018).

4. Biologia da Espécie

O linguado senegalês, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858), pertence à classe dos Actinopterygii, à ordem Pleuronectiformes, à família Soleidae e ao género Solea (FishBase, 2019). Esta espécie está distribuída no oceano Atlântico, desde o golfo da Biscaia até ao Senegal, sendo também possível encontrar esta espécie no mar Mediterrâneo, ainda que em menor número (Fishbase, 2019; Villanueva e Alonso, 2014). É um peixe plano com corpo oval e assimétrico (os dois olhos encontram-se no lado direito). Difere do linguado-legítimo por a barbatana peitoral da face oculada ter uma membrana interrredial escura e raios cinzento amarelados (FishBase, 2019; Martins & Carneiro, 2015; Villanueva e Alonso., 2014).

O linguado senegalês não apresenta caracteres sexuais externos distinguíveis, é uma espécie gonocórica, ovípara com fertilização externa dos ovos que atinge a maturidade sexual aos três anos com um tamanho de 30 cm (Dinis et al., 1999; Villanueva e Alonso, 2014). A época de posturas ocorre durante a Primavera de março a junho, com um maior número de ovos em maio. A média de oócitos produzidos por indivíduo é de cerca de 509 por grama (Dinis, et al., 1996).

É um peixe marinho bentónico que vive em fundos arenosos ou lamacentos, em águas costeiras até 100 m de profundidade e em lagoas salobras. Sendo uma espécie carnívora esta alimenta-se de pequenos invertebrados bentónicos, larvas de poliquetas, moluscos bivalves e também de pequenos crustáceos (Villanueva e Alonso, 2014).



Figura 6 – *Solea Senegalensis*, fotografia tirada por Muriel Gonçalves

II. Estágio na Safiestela

1. A empresa

A Safiestela - Sustainable Aqua Farming Investments, S.A. (figura 7a) é uma empresa de aquacultura localizada no norte do país, no Lugar do Rio Alto na Estela que faz parte do concelho da Póvoa de Varzim (41.453156, -8.773539). Esta aquacultura pertence ao grupo espanhol SEA8, tal como as empresas Aquacria Piscícolas (localizada na Torreira, Aveiro) e Aquacria Arousa (Pontevedra, Espanha) (figura 7b). Estas 3 empresas trabalham em conjunto para a produção de linguado senegalês, sendo que o início acontece na maternidade Safiestela, onde se encontram os reprodutores que desovam após manipulações de fotoperíodo e temperatura, as larvas eclodem e se desenvolvem até serem juvenis.

Esta maternidade tem capacidade para produzir mais de 2,5 milhões de juvenis de linguado por ano. Após a fase da pré-engorda, os juvenis de linguado são transportados para uma das duas unidades de engorda do mesmo grupo, a Aquacria

Piscícolas ou a Aquacria Arousa (sendo esta de maiores dimensões). Em conjunto são capazes de produzir 750 toneladas de linguado por ano.

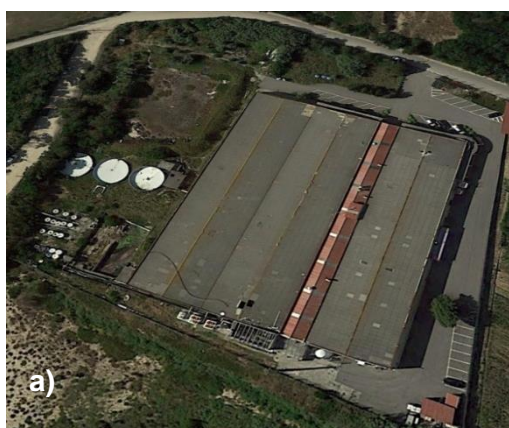


Figura 7- a) vista aérea da Safiestela; b) mapa com a distribuição do grupo SEA8 (Fonte: GoogleEarth; SEA8)

Estas instalações existem desde 1993, sendo que na altura estavam destinadas à engorda de pregado *Psetta maxima* e pertenciam à empresa A. Coelho e Castro, Lda. Em 2012, a empresa foi comprada pelo grupo SEA8, tendo as instalações sofrido remodelações. Atualmente, a empresa possui projetos aprovados para a ampliação da maternidade com obras já a decorrer para o efeito.

2. Estágio

O estágio foi realizado entre 17 de setembro de 2018 até ao dia 31 de julho de 2019, completando as 1620 horas. Este estágio consistiu na aprendizagem e realização das tarefas diárias nesta empresa de aquacultura, principalmente relacionadas com os reprodutores, incubação, desenvolvimento larvar e produção do alimento vivo.

3. Estrutura da Safiestela

A empresa está dividida em várias zonas de produção: a Zona de Reprodutores, Sala de Incubação, Sala de Desenvolvimento Larvar, Salas de Alimento vivo (rotíferos e artémia), Desmame e Pré-Engorda. Possui também um laboratório e uma zona de equipamentos e de tratamento de água.

3.1. Zona dos reprodutores

A reprodução do linguado senegalês tem sido um dos principais obstáculos à sua domesticação. Existem sérios problemas na obtenção da desova fértil da primeira geração de indivíduos cultivados, denominada F1 (Oliveira et al., 2011). A grande desvantagem é a necessidade de recolher reprodutores selvagens sendo que estes perdem gradualmente o seu desempenho reprodutivo quando colocados em cativeiro (Bjørndal et al., 2015).

Os reprodutores são capturados no meio selvagem, normalmente em produções aquícolas com sistemas extensivos ou semi-intensivos. São transportados até às instalações e mantidos em quarentena, numa zona separada da produção, alimentados com poliquetas, mexilhão e lula, sendo progressivamente introduzida a ração até à aceitação desta. O alimento vai alternando sendo fornecido manualmente, uma vez por dia, até a observação de saciedade aparente. Nesta fase, o fotoperíodo e a temperatura não são controlados.

Antes de serem transferidos para a Zona de Reprodutores, são analisados para despiste de doenças, registados os dados biométricos e identificados (microchip).

A zona dos reprodutores está dividida em 4 salas: a sala do verão com 5 tanques, a sala do outono com 4 tanques, a sala do inverno e da primavera com 3 tanques cada. Cada tanque com uma densidade de 1- 1,5 kg/m² e com um rácio de macho-fêmea de 1:1 ou 2:1 (Dinis et al., 1999; Imsland et al., 2003; Villanueva e Alonso, 2014).



Figura 8 – Área dos reprodutores, Sala da primavera; fotografia tirada por Muriel Gonçalves

As posturas são induzidas na estação do ano atribuída a cada sala, por manipulação de temperatura e fotoperíodo, de forma a simular a época de postura natural. Desta forma garante-se a disponibilidade de ovos durante todo o ano, permitindo assim uma produção contínua.

Quando as salas estão em repouso, a temperatura permanece baixa o que induz uma regressão das gónadas das fêmeas (Cañavate, 2005) e, conseqüentemente, a paragem da emissão dos ovos, a diminuição da quantidade de alimento inerte ingerido e menor movimentação dos peixes (Imsland et al., 2003).

Todas as salas funcionam em sistema de recirculação de água (RAS), exceto a do verão, que se encontra em sistema aberto.

O linguado senegalês apresenta um comportamento reprodutivo complexo semelhante a outras espécies de peixes planos. O acasalamento consiste em 3 etapas: no primeiro, as fêmeas permanecem principalmente quietas e os machos num tipo de perseguição, no passo 2 o macho “descansa” sobre a cabeça da fêmea, até que esta nada e o macho se coloca imediatamente debaixo da fêmea iniciando o mergulho acoplado, no último passo estes continuam a subir a coluna de água em sincronia até à superfície, momento no qual libertam os gâmetas. Durante este processo pode existir a

interferência de um segundo macho, a fêmea pode nadar para longe ou ocorrer alguma colisão, na parede do tanque ou noutro objeto (Carazo et al, 2016).

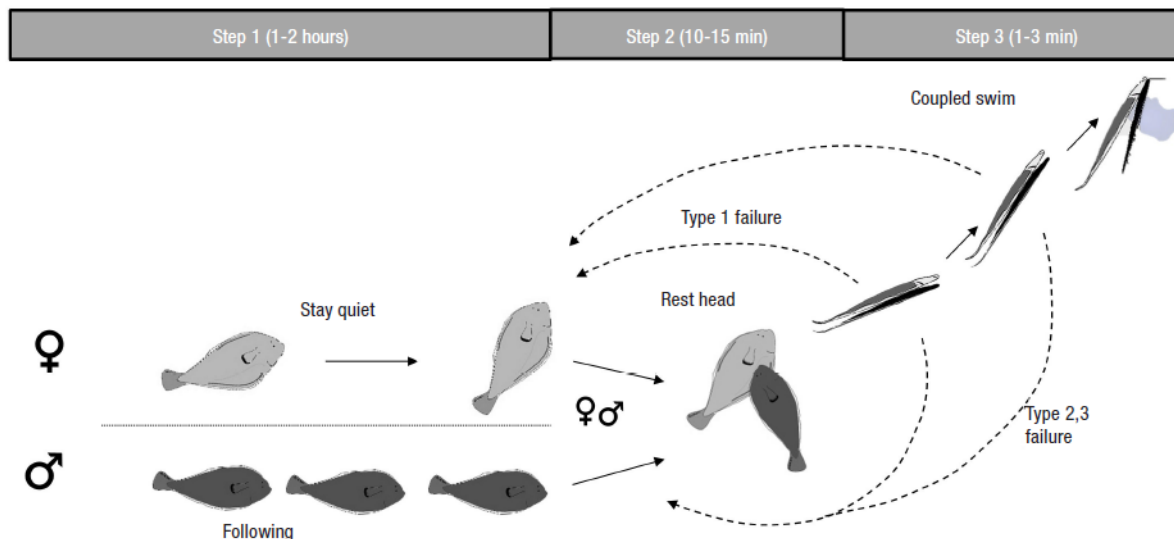


Figura 9 – Ilustração das 3 etapas do acasalamento em cativeiro com o período de tempo aproximado de cada etapa. As linhas tracejadas indicam as falhas que podem ocorrer durante o acasalamento (Fonte: Carazo et al., 2016)

Após a fecundação externa, os ovos flutuam e ficam retidos no coletor de ovos (rede 400 µm) existente na saída de água de cada tanque, onde permanecem em suspensão até ao momento em que são recolhidos. A fecundação ocorre, na maioria dos casos, durante a noite, e por isso a recolha de todos os ovos é feita logo de manhã (Villanueva et al., 2014).

Como referido anteriormente, com os reprodutores F1, da primeira geração nascida em cativeiro, não se obtêm desovas férteis. Para contornar esta dificuldade, existe a possibilidade de fazer uma fertilização artificial que consiste na remoção dos gâmetas através de *stripping* após a indução hormonal da ovulação e junção destes para que a fertilização ocorra (Rasines et al., 2012). A empresa tem feito pequenos ensaios para o projeto *Rearling* que poderá garantir uma estabilidade na produção de alevins e uma futura seleção genética desta espécie para um crescimento mais rápido.

As rotinas diárias nesta zona incluem o registo de oxigénio e temperatura da água de cada tanque, manutenção do sistema de filtração (limpeza dos filtros de areia, verificação dos filtros ultravioleta (UV), permutadores de calor e bombas que transportam a água para o sistema), limpeza dos tanques, dos coletores e dos seus filtros, lavagem e desinfeção de acordo com o Plano de Higiene da zona.

3.2. Sala de incubação

Pela manhã, os ovos existentes nos coletores são recolhidos, pesados e é feita uma verificação da sua viabilidade. Através da flutuabilidade, existe uma separação dos ovos fecundados (que flutuam) dos ovos inviáveis que ficam depositados no fundo. Os ovos viáveis são então colocados em tanques de incubação cilindro-cônicos de 200 litros de capacidade, com um filtro de 400 μm para que haja uma renovação contínua de água sem perda de ovos.



Figura 10 – Sala de incubação, fotografia tirada por Muriel Gonçalves

Os ovos possuem um diâmetro que varia entre os 0,99 e os 1,03 mm (Imsland et al., 2003) e passam por todas as fases do desenvolvimento embrionário, nomeadamente: as primeiras divisões celulares, mórula, blástula, gástrula, contorno do embrião, larva bem formada e eclosão (Villaneuva e Alonso, 2014).

As larvas eclodem 48h depois, referido como o dia 0, com $2,4 \pm 0,1$ mm de comprimento e um peso 0,35mg com pequenas variações consoante o *stock* e o tamanho do ovo (Villaneuva e Alonso, 2014) e permanecem nesta sala até ao dia 2 após a eclosão (DAE). Durante estes dias, as larvas apresentam uma alimentação endógena, ou seja, obtêm energia através das suas reservas vitelinas.

No dia anterior à transferência, é feita uma contagem por amostragem do número aproximado de larvas presentes em cada incubadora, de modo a estimar o número de tanques de Desenvolvimento Larvar necessários para o dia seguinte. Após a transferência das larvas, os tanques vazios e o material são desinfetados de acordo com o Plano de Higienização da sala de Incubação.

Todos os dias é verificado o caudal e o arejamento dos tanques que estejam a ser utilizados.

3.3. Salas de Desenvolvimento Larvar

No segundo dia após a eclosão, as larvas são transferidas para as salas de Desenvolvimento Larvar. Existem duas salas iguais (denominada sala 1 e sala 2), cada uma constituída por 6 tanques de 2700L, cada um deles com um filtro central para permitir a renovação de água sem perder as larvas, arejamento e uma lâmpada suspensa.



Figura 11 – Parte da sala do desenvolvimento larvar, fotografia tirada por Muriel Gonçalves

O fotoperíodo das salas é de 16H de luz e 8H de escuridão. A intensidade da luz de cada sala é regulada de acordo com o Protocolo Larvar assim como o caudal de água de cada tanque. O sistema de água funciona em aberto, uma vez que as larvas,

nesta fase do ciclo de vida, são muito frágeis. Como tal, são muito sensíveis a qualquer alteração que possa existir na qualidade da água (Villanueva & Alonso, 2014).

Nos primeiros dias, é adicionada uma pasta de alga aos tanques antes de ligar a iluminação, denominado como o método da “água verde”. Este permite não só a manutenção do valor nutricional dos rotíferos pois a alga serve de alimento aos rotíferos enquanto estes permanecem nos tanques, bem como a estabilização da qualidade da água devido ao consumo de compostos azotados e produção de oxigénio. Proporciona também um melhor contraste das presas que facilita a captura destas pelas larvas (Ferreira, 2009).

As larvas são alimentadas inicialmente com rotíferos ocorrendo uma transição para artémia de acordo com o Protocolo Larvar. Para determinar a quantidade de rotíferos e/ou artémia a fornecer às larvas em cada refeição, é recolhida uma amostra de água de cada tanque e feita a contagem do alimento presente nesta, utilizando uma lupa. Posteriormente é calculado o ajuste necessário de alimento de acordo com o Protocolo Larvar.

É também realizada uma amostragem diária de 3 larvas por tanque, para medição e observação do conteúdo estomacal de modo a conseguir acompanhar o crescimento e verificar se estas ingerem o alimento fornecido.

As larvas permanecem nesta sala até que ocorra a metamorfose (10^o-15^oDAE), fase em que as larvas passam de pelágicas a bentónicas, ou seja, as larvas que vivem na coluna de água vão assentando no substrato. Associado a este processo acontece uma transformação anatómica que envolve uma rotação de 90° na posição do corpo e a migração do olho para o lado direito (Fernández-Díaz et al., 2001).

Depois são retiradas através da sifonagem dos tanques e transferidas para os tanques de destino para o desmame.

3.4. Zona de alimento vivo

Os principais organismos utilizados como alimento vivo no cultivo larvar de peixes marinhos são rotíferos e artémia. Isto deve-se à facilidade de produção destes organismos com uma elevada biomassa. No entanto, estes organismos não possuem todos os requisitos nutricionais essenciais às larvas, sendo necessário o seu

enriquecimento com microalgas e emulsões (Ferreira, 2009). Esta zona é composta por uma sala destinada à produção e enriquecimento de artémia e outra para os rotíferos.

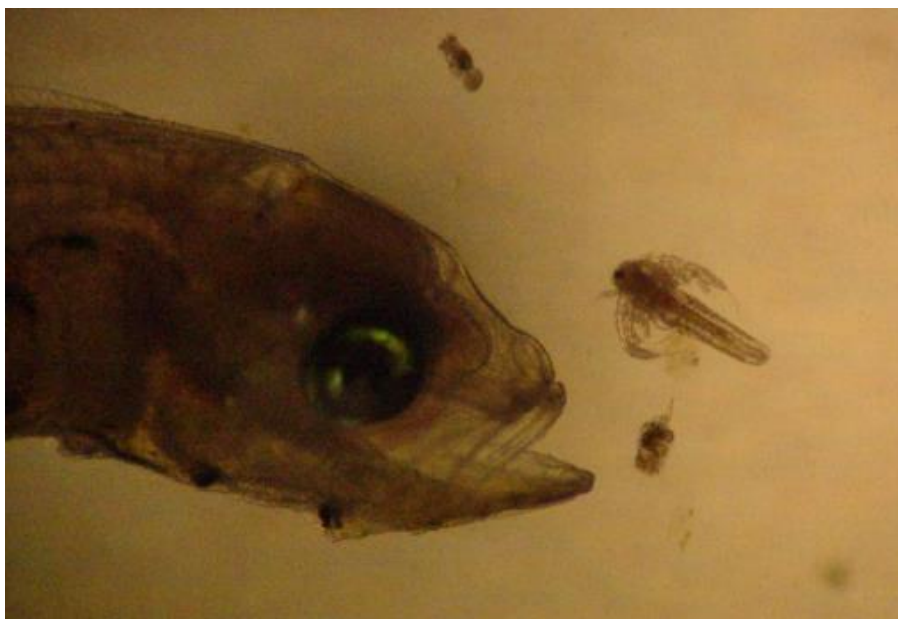


Figura 12 – Larva marinha, rotíferos e artémia (Fonte: FAU)

3.4.1. Sala dos rotíferos

Após o gasto das reservas vitelinas, os rotíferos são o primeiro alimento exógeno dado às larvas devido à sua pequena dimensão (120 a 300 μm), natação lenta, facilidade no cultivo e manutenção de *stocks*, reprodução rápida e possibilidade de bioencapsulação (enriquecimento) com características nutricionais desejadas. O ciclo de vida dos rotíferos *Brachionus plicatilis* é na maior parte das vezes por via partenogénica, isto é, as fêmeas (partenogénicas) formam ovos diplóides, não fecundados, que dão origem a novas fêmeas (Ferreira, 2009).

Nesta sala existem 4 tanques cilindro-cónicos de 600L para o cultivo/manutenção de rotíferos e um tanque de 200L exclusivo para o enriquecimento; todos eles com arejamento, oxigenação e temperatura constante (25-27°C).



Figura 13 - Sala dos rotíferos, fotografia tirada por Muriel Gonçalves

Todos os dias são recolhidas amostras de água de cada tanque para estimar os milhões de rotíferos presentes no meio, para posterior cálculo da quantidade de alimento necessário a fornecer aos meios. Os rotíferos são alimentados, em horários estipulados pela empresa, com produtos comerciais à base de algas e leveduras.

Para manter a produção/manutenção constante de rotíferos são feitos pequenos ciclos de cultivo com uma duração de 3 dias, ou seja, um tanque quando inoculado encontra-se na idade zero do cultivo, este vai crescendo até à idade 3, dia no qual este é filtrado através de um coletor, realizada uma lavagem e contagem do número de milhões de rotíferos disponíveis. A partir deste, é inoculado um novo tanque, com o valor estipulado de acordo com o Protocolo de Cultivo e Enriquecimento da Sala de Rotíferos.

Caso hajam larvas que no dia seguinte sejam alimentadas com rotíferos, é retirado também desse filtrado, a quantidade necessária de rotíferos que será colocada a enriquecer durante 24h com um produto de enriquecimento formulado com ácidos gordos essenciais, nutrientes e vitaminas proporcionando um valor nutricional adequado às larvas de linguado. Após enriquecidos são filtrados, lavados e feita uma contagem para determinar a concentração. De seguida, são armazenados em frio a uma temperatura constante de 4°C de modo a baixar o metabolismo para que não percam as suas propriedades até que sejam fornecidos às larvas.

3.4.2. Sala da Artémia

A *Artémia spp.*, é um crustáceo branquiópode que vive em ambientes que apresentam uma elevada salinidade onde os predadores não sobrevivem. Os cistos que são largados pelas fêmeas, que são ovos em estado de dormência com cerca de 200-300 μm de diâmetro, só eclodem 24h depois quando introduzidos em água e com as condições do meio adequadas de modo a obter uma elevada taxa de eclosão (Ferreira, 2009). A produção da artémia inicia-se com a incubação de cistos em tanque cilíndricos de 600 ou 300L, dependendo da quantidade necessária para alimentar as larvas.



Figura 14 - Sala da artémia, fotografia tirada por Muriel Gonçalves

Os níveis de oxigénio são medidos regularmente. A temperatura da água é mantida entre 28-30°C, com recurso a resistências com termostatos individuais colocados em cada tanque. Cada tanque tem uma iluminação individual garantindo uma intensidade luminosa alta (Ferreira, 2009).

Uma vez que os metabolitos da eclosão diminuem significativamente o pH, este mantém-se constante com a introdução de hidróxido de sódio, isto é, soda cáustica

(Ferreira, 2009), sendo fornecida de acordo com o Protocolo de Eclosão e Enriquecimento de Artémia.

Após 24h, os náuplios de Artémia estão prontos para serem recolhidos. É desligada a resistência, a difusora, e arejamento, deixando repousar um pouco para conseguir fazer uma pequena purga para retirar os cistos que ficam no fundo do tanque. Desliga-se também a luz devido às larvas apresentarem fototropismo positivo e assim, estas não se concentrarem na superfície facilitando a saída destas pelo fundo do tanque.

Os cistos de artémia comercializados são envolvidos num material não tóxico que apresenta magnetismo. Depois da eclosão, os náuplios são passados pelo *Sep-Art*, uma estrutura que possui um conjunto de discos constituídos por um material que apresenta magnetismo, aprisionando os cistos e deixando passar os náuplios de artémia (INVE Aquaculture, 2019). Estes náuplios são recolhidos para um coletor, lavados com água salgada e transferidos para um outro tanque para o enriquecimento.

Durante o enriquecimento é adicionado um produto comercial de acordo com o protocolo da empresa, a temperatura é mantida entre 25-27°C, e as restantes condições muito semelhantes às da eclosão. Passadas 24h, a artémia enriquecida é recolhida para um coletor, faz-se uma lavagem com água salgada para retirar produtos resultantes do metabolismo e o excesso de gordura dos produtos de enriquecimentos (Villanueva & Alonso, 2014). É realizada uma contagem para confirmar a quantidade esperada de artémia necessária para alimentar as larvas de linguado. Caso a quantidade seja inferior ao esperado, verifica-se se o coletor apresenta alguma fuga ou se existe algum problema no processo de eclosão.

Finalizado o processo de bioencapsulação, os náuplios de artémia são armazenados em frio, de modo a evitar o seu crescimento minimizando a perda de valor nutritivo até serem fornecidos às larvas, bem como reduzir o crescimento bacteriano (Ferreira, 2009).

No final da recolha da artémia eclodida e da artémia enriquecida, é necessário lavar e desinfetar todos os tanques utilizados, coletores, difusoras, tubos de arejamento e o restante material utilizado, bem com o chão desta sala de acordo com o Plano de Higienização da Sala de Alimento Vivo. Posteriormente, é necessário preparar os tanques para serem utilizados no dia seguinte.

3.5. Zona do desmame

Esta zona possui no total 69 tanques quadrangulares com uma altura de água com cerca de 20cm pertencendo a dois sistemas diferentes: o sistema 1 que funciona em sistema aberto onde se encontra o peixe de menores dimensões e o sistema 2 que funciona em circuito fechado onde está o peixe de maiores dimensões.

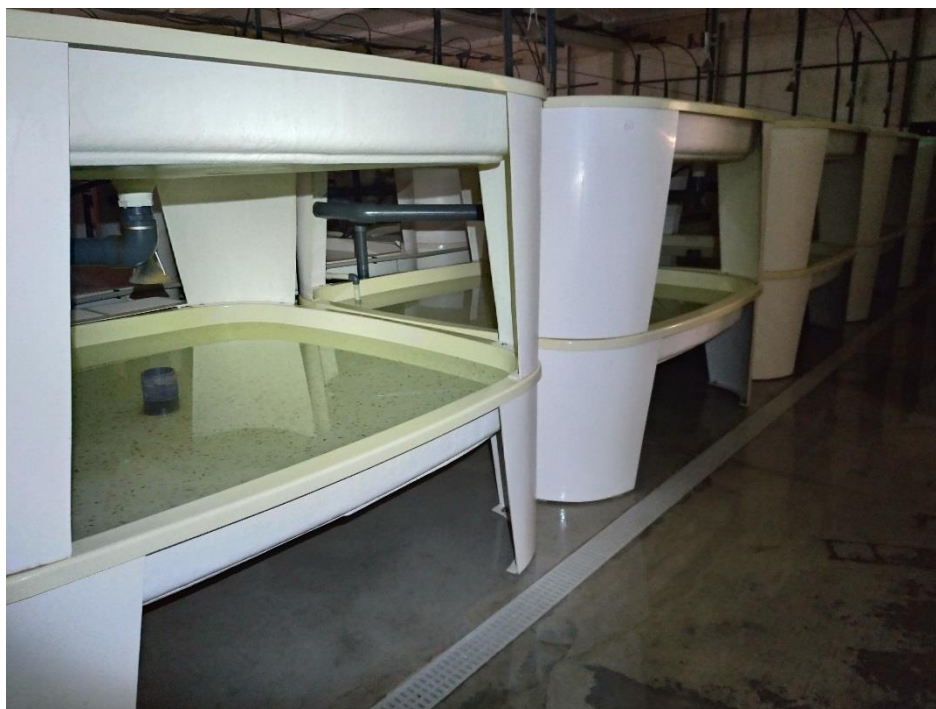


Figura 15 - Zona do desmame, fotografia tirada por Muriel Gonçalves

Quando as larvas são transferidas para o desmame 1, estas ainda são alimentadas com artémia várias vezes ao dia e de forma manual, e após alguns dias é introduzida a alimentação inerte através de alimentadores automáticos durante 24H. Esta passagem do alimento vivo para alimento inerte é designada por desmame.

Depois da primeira seleção realizada manualmente, na qual os peixes mais pequenos são eliminados tornando a população homogénea, os restantes são transferidos para tanques do desmame 2, onde também são alimentados de forma automática. Num futuro próximo, estas seleções serão realizadas com uma máquina para o efeito, de modo a diminuir o tempo despendido neste processo.

Todos os dias os tanques do desmame 1 e 2 são limpos com a ajuda de uma escova e retirados (com ajuda de um camaroeiro) os peixes mortos. É feita uma medição do oxigénio aos tanques de todo o desmame, várias vezes ao dia (exceto os tanques que estão a ser alimentados apenas com a artémia). Uma vez por semana, são feitos os pesos médios dos tanques do desmame 2 de modo a calcular a quantidade de ração a fornecer.

A limpeza do filtro central, a troca do filtro e os ajustes no caudal são efetuados de acordo com o Protocolo de Produção do Desmame.

Quando os peixes atingem 0,6 – 1g são transferidos para a Pré-engorda, onde são pesados e colocados nos tanques de destino.

3.6. Pré-engorda

Esta zona é composta por 56 tanques *raceways* de 11m de comprimento, contendo cerca de 15cm de coluna de água. Os tanques estão divididos em 4 patamares subdivididos em duas secções, a norte e a sul.



Figura 16 - Tanque da pré-engorda, fotografia tirada por Muriel Gonçalves

A alimentação é fornecida por alimentadores automáticos. A quantidade de ração é estipulada pela empresa de acordo com a biomassa de cada tanque, sendo

necessário fazer o peso médio de cada tanque periodicamente de modo a ajustar a quantidade de ração a fornecer (de acordo com o Protocolo de Produção da Pré-Engorda). Nesta zona, é utilizado um regime de recirculação de água.

Diariamente, procede-se à limpeza dos tanques utilizando escovas e faz-se a verificação de existência de peixes mortos ou com sintomatologia anormal, e caso existam, regista-se o número retirado de cada tanque. O material utilizado é lavado e desinfetado bem como o chão e pedilúvios de acordo com o Plano de Higienezação da Pré-Engorda.

Para as triagens, os peixes são retirados do tanque e encaminhados para uma calibradora, onde são previamente selecionados os peixes que se encontram com sintomatologia anormal, com deformações ou despigmentados. Os restantes peixes seguirão para uma área da máquina onde serão separados por tamanhos e contados mecanicamente. Os peixes de pequenas dimensões são descartados, devido à sua baixa capacidade de crescimento. O processo é finalizado com a transferência dos peixes para os tanques de destino e lavagem dos tanques que ficaram vazios.

Quando o peixe atinge entre 10-20g é transferido para as Engordas do grupo (Aveiro ou Espanha) sendo transportado num camião adequado para o efeito. Os peixes passam por um período de jejum antes do transporte para reduzir a quantidade de matéria orgânica excretada pelos peixes durante o transporte, para que a condição da água dos tanques se mantenha estável. A distribuição dos peixes é feita de igual forma entre os tanques do veículo de transporte, de modo a garantir uma biomassa constante e estável (Lekang, 2013).

4. Análises da qualidade da água

Todos os dias são feitas análises à qualidade da água do desmame (1 e 2) e da pré-engorda.

Para o desmame 1 é medida a temperatura, a salinidade, o pH bem com a transmitância ($\lambda 400$ e $\lambda 500$) que permite determinar a quantidade de sólidos em suspensão e assim verificar a eficiência do sistema de filtração. Para o desmame 2 e para a pré-engorda é analisada a temperatura, a salinidade e o pH da água, assim como análises químicas à amónia e aos nitritos. Todos estes parâmetros são analisados

através de um oxímetro, um refratômetro, uma sonda e um espectrofotômetro existentes no laboratório da empresa.

A amónia resulta do catabolismo das proteínas e também da decomposição das proteínas presentes nos restos de alimentos e fezes, esta é tóxica para os peixes, e deve ser inferior a 1 mg / L em tanques de cultura (Ajani et al., 2011). O nitrito é o produto intermédio da oxidação da amónia ao nitrato, também é tóxico, e o nível abaixo de 0,5 mg / L é, geralmente, desejável em sistemas de cultivo de peixes (Ajani et al., 2011). O nitrato é o produto final da oxidação da amónia, este composto não é tóxico para a maioria das espécies de peixes, mesmo em concentrações tão altas quanto 200 mg / L (Dauda & Akinwale, 2015), e por isso este parâmetro não é analisado.

É feita uma análise do bromo para controlar a presença de ozono na água salgada pois este reage com os seus iões formando oxidativos tóxicos para os peixes (Timmons e Ebeling, 2010). Também é analisada a transmitância e uma verificação do valor redox (que está disponível num painel de controlo), se o valor estiver abaixo ou acima do estipulado, é necessário verificar o sistema de ozono, uma vez que este influencia este parâmetro.

5. Sistemas de recirculação RAS e tratamento de água

Os sistemas RAS (sistema de recirculação de água) foram desenvolvidos devido às crescentes regulamentações impostas a nações com acesso limitado a terra e água, dando importância a uma aquacultura sustentável (Martins et al., 2010, Zhang et al., 2011). Estes sistemas consistem na recirculação de água após um tratamento mecânico e biológico (Bregnballe, 2015), permitindo que 90 a 99% da água seja reutilizada (Badiola et al., 2012), existindo perdas apenas por evaporação e limpeza.

Uma utilização mais eficiente de água, um menor impacto ambiental (Zhang et al., 2011), controlo dos parâmetros de produção permitindo condições estáveis e ótimas ao peixe proporcionando uma redução do *stress* e do aparecimento de doenças, evidenciando um melhor crescimento (Bregnballe, 2015) são algumas das vantagens associadas a este sistema também utilizado na aquacultura Safiestela.

Para a remoção das partículas suspensas de maiores dimensões, é utilizado um filtro de tambor rotativo ou rotofiltro, ou/e filtros de areia, pelos quais a água passa pelo

meio filtrante e onde os resíduos ficam retidos. Para a remoção de partículas de menores dimensões e matéria dissolvida, é utilizado um *protein skimmer*, onde a água é colocada numa coluna fechada, sendo injetadas bolhas de ar que sobem ao longo da coluna e aprisionam a matéria orgânica presente na água, formando espuma no topo da coluna, que é posteriormente limpa com água (Timmons e Ebeling, 2010). Este processo evita acumulação destes resíduos nas brânquias dos peixes, dificultando as trocas de oxigénio com o exterior e facilitando a proliferação de microrganismos patogénicos (Timmons e Ebeling, 2010).

É na filtração biológica que, através de bactérias presentes num substrato, a matéria orgânica é oxidada e no qual ocorre o processo de nitrificação que consiste na oxidação da amónia tóxica em nitritos, e de nitritos em nitratos. O processo de nitrificação exige um grande consumo de oxigénio e produz dióxido de carbono (Tryggvason, 2016).

A oxigenação da água é garantida pela aerificação constante da água nos tanques e no biofiltro ou mediante a introdução de oxigénio puro. Se o oxigénio dissolvido na água for insuficiente, a taxa de crescimento será reduzida ou em casos mais graves levar á morte dos peixes, por isso este parâmetro deve ser controlado constantemente (Tryggvason, 2016).

Uma elevada concentração de CO₂ (dióxido de carbono) pode causar um menor crescimento dos peixes e uma redução do valor do pH que levará a uma menor eficiência do processo de nitrificação. Posto isto, a acumulação deste gás pode ser tóxica para os peixes e para o biofiltro, e por isso deve ser removida do sistema através da aeração da água (Tryggvason, 2016).

A temperatura, a salinidade e a densidade, a que os peixes estão sujeitos, devem ser controladas e mantidas no valor ótimo para a espécie de modo a evitar o *stress* (Tryggvason, 2016).

Para a desinfeção da água são utilizados dois métodos: o ozono e/ou ultravioleta (UV). O ozono é injetado na água para oxidar os compostos orgânicos presentes na água e, de seguida, retirado utilizando um destruidor de ozono pois este apresenta uma toxicidade elevada podendo provocar lesões graves nos peixes (Bregnballe, 2015).

A desinfecção por UV consiste na destruição de DNA em organismos biológicos, através da aplicação da luz em comprimentos de onda. Para que a radiação UV seja eficiente, a matéria orgânica terá de ser removida eficazmente da água através da filtração mecânica e biológica realizadas anteriormente (Bregnballe, 2015). O ozono combinado com o UV demonstrou ser particularmente eficaz para a inativação de bactérias, na desinfecção de sistemas de recirculação de água (Martins et al., 2010).

Na Safiestela, as zonas onde o sistema de água é aberto (desmame 1, sala de incubação, sala de desenvolvimento larvar e nos reprodutores do verão), a água é recolhida diretamente do mar através de drenos na praia, sofre uma pré-filtração com filtros de areia e filtros de cartucho até 1 micra, passa por uma filtração UV, controlo de temperatura e oxigenação, e chega então aos tanques.

Nas zonas onde o sistema é fechado (RAS) (desmame 2 e pré-engorda), a água sai dos tanques e sofre uma filtração mecânica de 40 micras (rotofiltro), uma desinfecção / remoção matéria orgânica dissolvida através de um *protein skimmer* com injeção de ozono, desgaseificação, filtração biológica e UV, controlo de temperatura e oxigenação. Nos reprodutores em sistema fechado, a água sai dos tanques passa por filtros de areia, UV, controlo de temperatura e oxigenação.

III. Trabalho experimental

Título: Efeito da introdução de uma ração inerte no crescimento durante os primeiros dias da fase larvar do linguado senegalês

1. Introdução

A fase larvar de muitas espécies de peixes marinhos corresponde a uma etapa vulnerável no processo de produção, devido a uma elevada taxa de mortalidade e crescimento reduzido, que na maioria dos casos resulta da implementação de protocolos de alimentação inadequados.

Além de ser vendido por um valor elevado nos mercados europeus, o linguado é um peixe desejável por parte do consumidor (Bjørndal et al., 2016), e por isso é tão importante otimizar todas as fases da vida deste em aquacultura. O cultivo larval do linguado senegalês é um dos mais longos, atingindo quase 90 dias apresentando uma

elevada taxa de crescimento e ingestão, passando também por mudanças morfológicas nesta fase (Villanueva & Alonso, 2014).

Desde o início do ano de 1960 que os rotíferos e a artémia têm sido produzidos nas maternidades marinhas, dependo até hoje destes para a produção bem-sucedida das larvas (Holt et al., 2011). Ainda que estes organismos não sejam o alimento natural das larvas, o facto de conteúdo nutricional poder ser alterado e pela facilidade de produção em elevadas densidades, tornou-os nas espécies de zooplâncton mais comuns, utilizadas como alimento vivo para larvas de peixes marinhos (Holt et al., 2011; Ferreira, 2009). O processo de enriquecimento do alimento vivo é limitado pela capacidade do organismo de ingerir esse enriquecimento, pela alteração do enriquecimento pelo metabolismo da presa ou limitado apenas ao material não digerido no sistema digestivo da presa. (Holt et al., 2011).

A substituição ou a redução significativa do alimento vivo por inerte, é um dos principais requisitos para uma aquacultura intensiva económica. Ainda que o conhecimento e a tecnologia estejam a evoluir de modo a conseguir concretizá-lo, ainda é um desafio a superar (Carter, 2015).

As dietas microparticuladas têm uma composição nutricional uniforme, que pode ser adaptada para as necessidades de uma determinada espécie ou para um estudo específico. Têm também a vantagem de estarem sempre disponíveis durante todo o ano, sem ter que dedicar espaço e tempo para as manter. Apesar de estas rações serem extremamente caras, conseguem ser mais baratas que o cultivo e manutenção do alimento vivo (Holt et al., 2011).

Estas dietas inertes precisam de ser atrativas para as larvas, de modo a que estas capturem o alimento. Este tipo de alimento proporciona uma oportunidade de captura menor pois vai afundando e fica deste modo indisponível. Assim sendo, as doses fornecidas devem ser menores e dadas várias vezes ao dia, diminuindo o intervalo entre refeições. Isto evitará o desperdício de ração não consumida e a diminuição do impacto desta na qualidade da água (Kolkovski, 2013).

Uma alimentação bem-sucedida depende também das características das larvas, como as habilidades locomotoras, desenvolvimento sensorial, discriminação ou preferência alimentar, e experiência (Holt et al., 2011).

2. Objetivo

O objetivo deste ensaio foi verificar se existia aceitação, por parte das larvas de linguado, de uma ração existente no mercado e verificar o efeito desta no seu crescimento. Foram testados dois regimes alimentares nas larvas: um apenas com ração, substituindo a alimento vivo normalmente fornecido e outro com rotíferos enriquecidos e depois a ração em estudo. Este ensaio foi avaliado através da observação do conteúdo estomacal e do comprimento das larvas.

3. Material e Métodos

O ensaio decorreu na sala de incubação da Safiestela e teve uma duração de 13 dias, tendo começado no dia 2ºDAE (dia após eclosão) das larvas e terminado no dia 14ºDAE.

No dia 2ºDAE, realizou-se uma contagem das larvas destinadas ao ensaio e estas foram colocadas em dois tanques cilindro-cónicos de 200L, o tanque 10 e o tanque 11. Cada tanque tinha aproximadamente 4000 larvas, arejamento em suspensão, um filtro de 400 µm para uma renovação contínua sem perdas e o tubo da entrada da água reduzida. Por cima dos tanques existia uma luz suspensa, sendo ligada todos os dias às 8h da manhã e desligada às 24h.

Estes tanques tinham sistema de água aberto tendo por isso a salinidade da água aproximadamente a do mar, ou seja, 35. No tanque 11, o caudal foi de 70ml/30s ao longo do ensaio. O mesmo não aconteceu com o tanque 10, que do 5º ao 10ºDAE este foi alterado para 85ml/30s, de modo a melhorar a qualidade da água devido à deposição constante de ração.

Todos os dias, foi registado o valor da temperatura e do oxigénio da água dos tanques através de um oxímetro, bem como a intensidade da iluminação com um luxímetro. Ao longo do ensaio, a temperatura da água foi de $18,47 \pm 0,60$ °C, a taxa de saturação de oxigénio dissolvido de $72,85 \pm 10,41$ % e a média da intensidade da luz na superfície foi de 154 lux no tanque 11 e 116 lux no tanque 10.

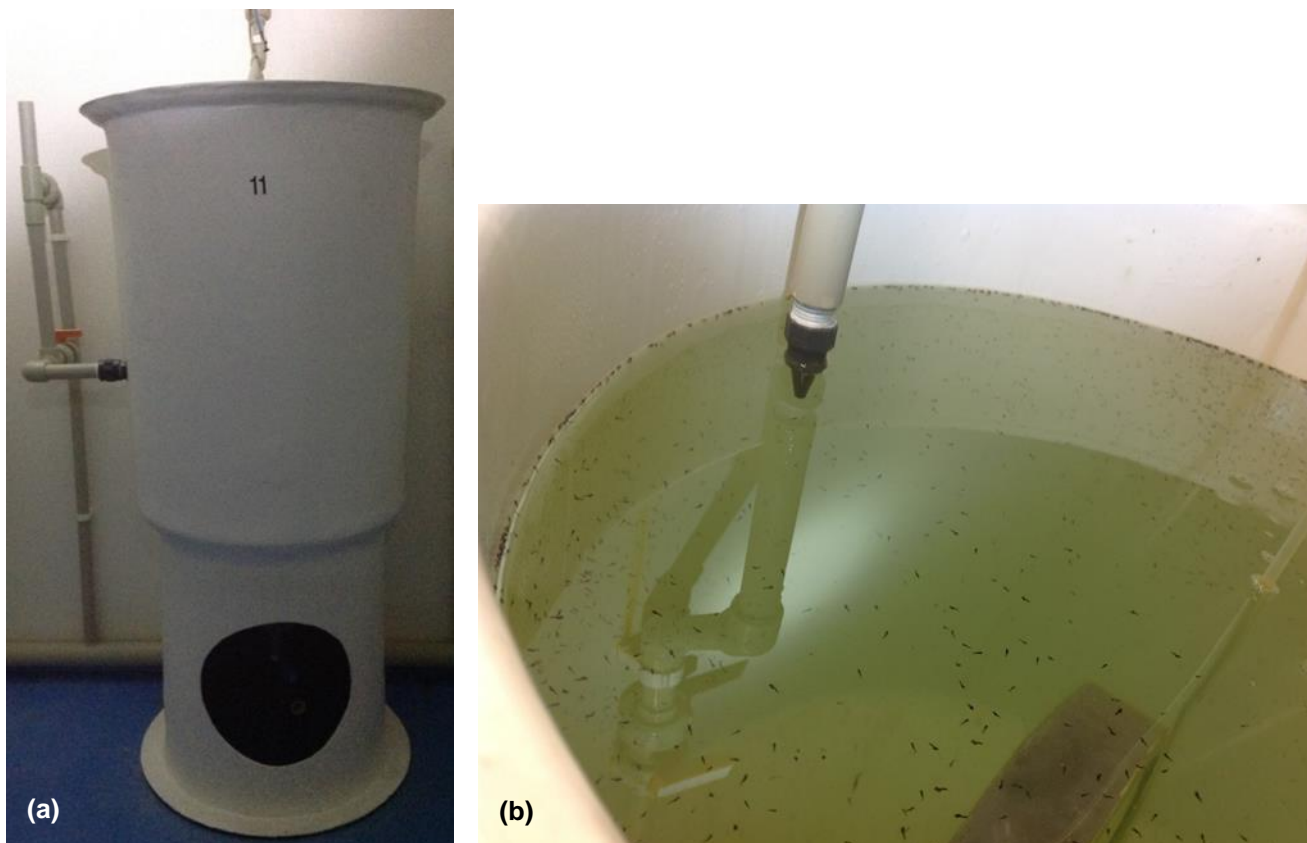


Figura 17 – (a) Tanque utilizado no ensaio; (b) superfície do tanque, fotografias tiradas por Muriel Gonçalves

A ração utilizada no ensaio foi a LARVIVA ProStart, fabricada pela BioMar com o propósito de alimentar as larvas após a abertura da boca juntamente com o alimento vivo para facilitar o seu desmame. Esta ração microencapsulada, rica em proteínas e com o equilíbrio certo de aminoácidos, é constituída pelos seguintes ingredientes: farinha de peixe, farinha de krill, proteína de peixe hidrolisada, gelatina de peixe, lecitina, alga, betaína, extrato de levedura, DL- metionina e probióticos (inclui Bactocell). Existem 3 tamanhos de partículas, tendo sido utilizada neste ensaio aquela cujas partículas variam de 125 a 250 μm , designada LARVIVA ProStart 200 e adicionada aos tanques de forma manual.

Tabela 1 – Composição nutricional da ração LARVIVA ProStart (Fonte: BioMar)

Proteínas brutas	67 %
Lípidos brutos	12 %
Cinza bruta	11,5 %
Celulose bruta	0,1 %
Vitamina C adicionada	1500 mg/kg
Vitamina E adicionada	600 mg/kg
Vitamina A adicionada	31000 IU/kg
Vitamina D3 adicionada	800 IU/kg
Fósforo	1,70 %
HUFA n-3	2,30 %

Inicialmente, no tanque 10 foi fornecida aproximadamente 1g de ração por refeição de 2 em 2h (8h; 10h; 12h; 14; 16h; 18h; 20h; 22h). Ao 4ºDAE, a alimentação foi reduzida para metade (0,5g de ração) fornecida de 4 em 4 horas (9h; 13h; 17h; 21h).

No tanque 11, as larvas foram alimentadas com rotíferos enriquecidos várias vezes ao dia (conforme o protocolo larvar da Safiestela) do 2ºDAE até ao 7ºDAE. Ao 6ºDAE foi introduzida a ração (aproximadamente 1g por refeição) fornecida de 4 em 4h. A quantidade de ração foi reduzida para metade no 9ºDAE permanecendo assim, no mesmo horário, até ao fim do ensaio.

Do dia 2 até ao 6ºDAE foi adicionada pasta de alga aos tanques antes de ligar as luzes e do fornecimento da primeira refeição do dia, tendo a quantidade sido ajustada ao longo do ensaio (10ml; 10ml; 5ml; 2,5ml; 2,5ml). Esta servia de alimento aos rotíferos e proporcionava um melhor contraste entre o tanque e o alimento.

Todos os dias, eram efetuadas sifonagens e pequenas purgas aos tanques (antes da primeira refeição) de modo a manter uma boa qualidade da água. Diariamente, eram retiradas 3 larvas aleatoriamente da camada superficial da água de cada tanque, de seguida cada larva foi observada através de uma lupa, para verificar o conteúdo estomacal das larvas, ou seja, observar a existência ou inexistência de alimento (partículas ou rotíferos) no trato digestivo. Também através da lupa, foi realizada a medição do comprimento total dessas larvas utilizando as quadrículas de uma folha milimétrica como régua.

4. Resultados

Com a verificação do conteúdo estomacal (Tabela 2), confirmou-se que as larvas se alimentaram da ração durante o ensaio. Sendo que o tanque 10 apresentou uma maior percentagem de larvas sem conteúdo estomacal, larvas onde não era visível nenhum vestígio de alimento. Na figura 18 é possível ver a ração consumida pela larva.

Tabela 2 – Percentagem de larvas observadas com e sem conteúdo estomacal, de cada um dos tanques ao longo do ensaio.

	Tanque 10		Tanque 11	
DAE	% de larvas com conteúdo estomacal	% de larvas sem conteúdo estomacal	% de larvas com conteúdo estomacal	% de larvas sem conteúdo estomacal
3	66,66%	33,33%	100%	–
4	33,33%	66,66%	100%	–
5	66,66%	33,33%	100%	–
6	–	100%	100%	–
7	66,66%	33,33%	100%	–
8	33,33%	66,66%	100%	–
9	33,33%	66,66%	100%	–
10	33,33%	66,66%	66,66%	33,33%
11	66,66%	33,33%	100%	–
12	100%	–	66,66%	33,33%
13	66,66%	33,33%	100%	–
14	100%	–	100%	–

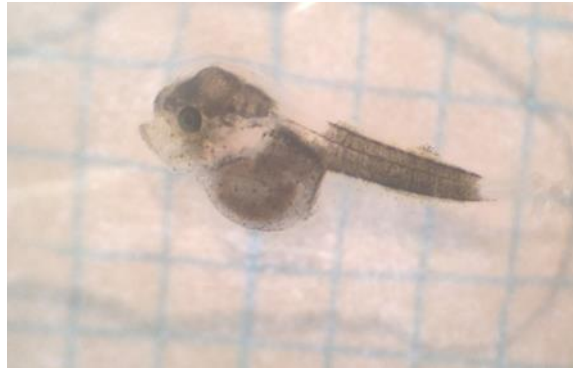


Figura 18 -Visualização do conteúdo estomacal de uma larva (Tanque 11; 10^oDAE), fotografia tirada por Muriel Gonçalves

As larvas do tanque 10, no início do ensaio (figura 19), apresentavam um comprimento médio de 3,5 mm, mostrando duas oscilações ao longo dos dias estabilizando em 3,9 mm no final do ensaio. As larvas do tanque 11, tinham 3,3 mm de comprimento médio no primeiro dia do ensaio, aumentando gradualmente até aos 4,7 mm no último dia do ensaio.

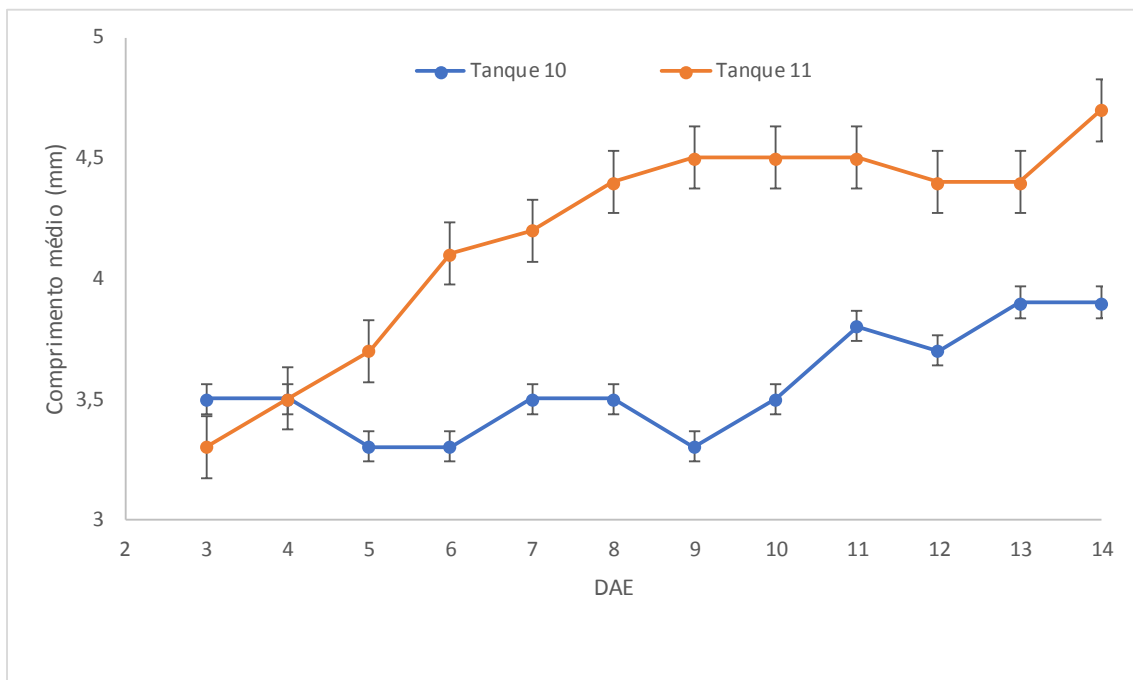


Figura 19 – Evolução do comprimento médio das larvas (mm) ao longo do seu desenvolvimento larvar até ao 14^oDAE. Valores apresentados sob a forma de média±erro padrão

Ao longo do ensaio, observou-se uma explícita diferenciação de tamanho entre as larvas das diferentes incubadoras (figura 20). No tanque 10, verificou-se por vezes a existência de larvas de tamanho bastante inferior ao tamanho médio calculado, sendo

por isso excluídas. Ao 13^oDAE, verificou-se que algumas larvas do tanque 11 estavam a iniciar a metamorfose, tal não aconteceu até ao final do ensaio no tanque 10.

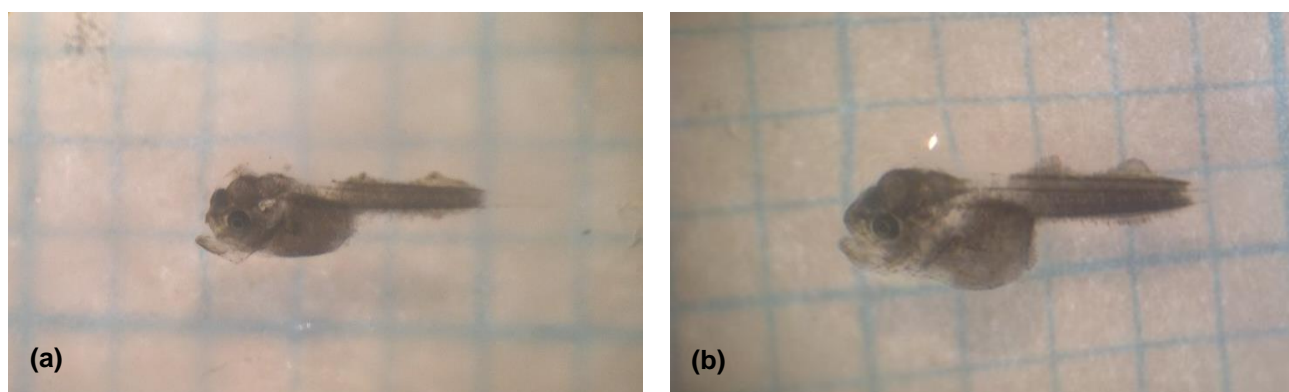


Figura 20 – Fotografia das larvas do tanque 10 (a) e do tanque 11 (b) ao 14^oDAE, fotografias tiradas por Muriel Gonçalves.

5. Discussão

Após o gasto das reservas vitelinas, as larvas precisam de aprender a capturar o alimento, rapidamente. É por meio de estímulos visuais, químicos e mecânicos que ocorre a deteção do alimento. Sendo que o olfato permite a deteção de estímulos distantes, a visão possibilita a identificação de objetos a uma média ou curta distância, o toque e a gustação necessitam de um contacto muito próximo ou direto ao alimento (Yúfera, 2011). Na maioria das larvas marinhas, estas iniciam a sua alimentação no momento em que estas habilidades sensoriais ainda se encontram em desenvolvimento e, portanto, nesta primeira fase, é importante proporcionar elevadas taxas de encontro entre a larva e o alimento. As larvas podem não reconhecer as micropartículas como alimento, mas se estas forem adicionadas com presas vivas, elas geralmente ingerem também as micropartículas (Holt et al., 2011).

A eficácia da captura do alimento aumenta com o desenvolvimento e crescimento das larvas, passando de uma alimentação passiva no início (dependente da oportunidade de encontro) para uma alimentação ativa em que as larvas já têm uma aptidão para a busca das presas (Yúfera, 2011). Posto isto, comparando as duas dietas testadas, as larvas que se alimentaram logo ao 2^oDAE de ração, estavam menos preparadas do que as que se alimentaram desta apenas ao 6^oDAE, tendo estas ainda

a vantagem de a ração ter sido introduzida em co-alimentação com rotíferos. Isso verificou-se pelo maior número de larvas do tanque 10 observadas sem conteúdo estomacal ao longo do ensaio, sendo que estas até ao 10^oDAH apenas sobreviveram, e só a partir desse dia começaram a crescer.

Esta ração, LARVIVA ProStart, além de ser adequada nutricionalmente para esta fase da vida das larvas, é também constituída por partículas arredondadas com uma boa flutuabilidade na coluna de água e possuem um revestimento especial que garante uma alta palatabilidade sem comprometer a digestibilidade (BioMar, 2019). Apesar de todas estas características, o comprimento médio final das larvas do tanque 10 foi 0,8mm inferior ao registado no tanque 11, isto indica que apenas o uso de ração nos primeiros dias não é o regime de alimentação adequado. As larvas do mesmo lote com 14^oDAE alimentadas com rotíferos e artémia tinham cerca de 5,6mm de comprimento (informação Safiestela) e as do tanque 11 tinham menos 0,9mm, sendo que as condições (como por exemplo: a cor do tanque, o tipo de luz) a que estiveram expostas foram diferentes.

Não é só a escolha da dieta “perfeita” nutricionalmente que fará com que as larvas atinjam o crescimento ideal, este também depende da otimização da frequência da alimentação, quantidade e dispersão de partículas (Kolkovski, 2013). Neste ensaio, a ração foi fornecida manualmente limitando a frequência das refeições e a quantidade de ração a utilizar foi limitada devido a ter sido usada apenas uma amostra, e portanto estes dois fatores poderão ter influenciado negativamente o crescimento das larvas.

Em 1999, Canãvate & Fernández-Díaz estudaram a influência da co-alimentação com alimento vivo e inerte no desmame do linguado senegalês, tendo estas sido capazes de completar a metamorfose e de apresentar um crescimento e sobrevivência similares às larvas alimentadas apenas com uma dieta viva. No ensaio com a LARVIVA os resultados são os contrários, além de apresentarem um crescimento inferior às alimentadas apenas com alimento vivo, também não conseguiram completar a metamorfose (no caso das larvas do tanque 11) e no tanque alimentado apenas com essa ração nem sequer foi iniciado. Isto porque as larvas que crescem mais rapidamente, iniciam a metamorfose mais cedo (Fernández-Díaz et al., 2001).

Segundo o estudo de Mai et al. (2009), em comparação com o regime de alimentação padrão, a introdução precoce de uma dieta inerte desde a abertura da boca, não afetou a taxa de sobrevivência das larvas de linguado senegalês, mas o

crescimento destas foi significativamente menor ao 16^oDAE (avaliado pelo peso seco). No ensaio de Engrola et al. (2009), o estudo foi semelhante mas tendo decorrido até aos 35^oDAE, e os autores concluíram que as larvas co-alimentadas com uma dieta inerte após a abertura da boca consumiram mais ração e apresentaram uma digestibilidade menor durante a metamorfose.

Em 2014, Hellenic Fishfarming SA da Grécia realizou ensaios em grande escala com LARVIVA ProStart, tendo assim reduzido o consumo de artémia e rotíferos na produção do robalo e dourada (Hatcheryfeed magazine, 2015). Em 2015, começaram ensaios de pequena escala produzindo as mesmas espécies sem artémia, fornecendo rotíferos por um período mais longo juntamente com a LARVIVA Prostart, conseguindo assim o desmame dessas larvas. Sendo que na produção da dourada, não se verificaram efeitos negativos na sobrevivência, desempenho ou qualidade. Já na produção do robalo, verificou-se uma mortalidade extra de até 10% entre os dias 35^o e 45^oDAE sendo um fator de pouca importância devido à elevada sobrevivência nesta espécie (Hatcheryfeed magazine, 2015).

No estudo realizado por Jaquemond et al. (2016) foram testadas várias dietas em alevins de lúcio-perca. Dessas várias dietas, duas delas tinham a ração LARVIVA: a dieta AF-L, onde eram fornecidos náuplios de artémia e ração LARVIVA do 6 ao 14^oDAE, e apenas LARVIVA após esse período; e a dieta L onde apenas era fornecida LARVIVA ao longo do ensaio (35^oDAE). Com os resultados deste estudo, verificou-se que a dieta L proporcionou um baixo crescimento e mortalidade quase total das larvas e a dieta AF-L, teve uma performance inferior às restantes dietas testadas. Comparando com os resultados no linguado, estes foram semelhantes aos obtidos com uso da mesma ração.

6. Conclusão

Com este ensaio pode-se concluir que as larvas aceitaram a ração em estudo, mas apenas o uso da ração LARVIVA ProStart como alimento, até ao 14^oDAE do linguado senegalês, resulta num crescimento inferior ao obtido pelas larvas que foram alimentadas com rotíferos e depois com a ração em estudo. O comprimento das larvas alimentadas apenas com alimento vivo pela Safiestela foi superior ao verificado nas larvas deste ensaio.

Num estudo futuro, de forma a obter resultados mais concretos seria necessário fazê-lo em toda a fase larvar do linguado, verificar outros aspetos como a sobrevivência e a digestibilidade bem como testar outros regimes alimentares com a ração em estudo, como por exemplo, a co-alimentação com o alimento vivo normalmente fornecido, variando as quantidades a fornecer de ambos.

IV. Referências

- Ajani, E. K., Akinwole, A. O., Ayodele, I. A. 2011. Fundamentals of fish farming in Nigeria. Walecrown Publishers, Ibadan, Nigeria. 158.
- Badiola, M., Mendiola, D., Bostock, J. 2012. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. Aquaculture Engineering. 51: 26–35.
- Balon, E.K. 2004. About the oldest domesticates among fishes. Journal of Fish Biology. 65: 1–27.
- Bardach, J.E., Ryther, J.H., McLarney, W.O. 1972. Aquaculture: The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organisms. John Wiley and Sons Inc., London.
- BioMar. Acedido em: 1 de Agosto de 2019 em: https://www.biomar.com/globalassets/larviva.com/fish/products-emea/datasheets/english/2018_05_en-larviva-prostart_emea.pdf
- Bjørndal, T., Guillen, J., Imsland, A., Oiestad, V. 2015. Sole: Production and markets. Globefish Research Programme. 118.
- Bjørndal, T., Guillen, J., Imsland, A. 2016. The potential of aquaculture sole production in Europe: production costs and markets. Aquaculture economics & management. 20(1): 109-129.
- Canavate, J. P., Fernández-Díaz, C. 1999. Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. Aquaculture. 174(3-4): 255-263.
- Cañavate, J. P. 2005. Opciones del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858 para diversificar la acuicultura marina. Boletín. Instituto Español de Oceanografía. 21: 147-154.
- Carazo, I., Chereguini, O., Martín, I., Huntingford, F., Duncan, N. 2016. Reproductive ethogram and mate selection in captive wild Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Spanish Journal of Agricultural Research. 14(4): 0401.
- Carter, C. G. 2015. Feeding in hatcheries. In Feed and Feeding Practices in Aquaculture). Woodhead Publishing. 317-348.
- Costa-Pierce, B.A. 2002. Ecological Aquaculture: The Evolution of the Blue Revolution. Blackwell Science Ltd, Oxford.
- Dauda, A. B., & Akinwole, A. O. 2015. Evaluation of polypropylene and palm kernel shell as biofilter media for denitrification of fish culture wastewater. NSUK JST. 5: 207– 213.

- Dinis M.T. 1986. Quatre Soleidae de l'Estuaire du Tage. Reproduction et Croissance. Essai d'Élevage de *Solea senegalensis* Kaup 1858. Thèse d'Étatès-Sciences Naturelles, Université de Bretagne Occidentale, France.
- Dinis, M.T., Reis, J. and Arrobas, J. 1996. Evaluation of the farming potential for *Solea senegalensis* Kaup, a new species for aquaculture in the Mediterranean area. Book of Abstracts World Aquaculture, Bangkok. 107-109
- Dinis, M. T., Ribeiro, L., Soares, F., Sarasquete, C. 1999. A review on the cultivation potential of *Solea senegalensis* in Spain and in Portugal. Aquaculture. 176(1-2): 27- 38.
- Engrola, S., Mai, M., Dinis, M. T., Conceição, L. E. 2009. Co-feeding of inert diet from mouth opening does not impair protein utilization by Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae. Aquaculture. 287(1-2): 185-190.
- FAO. 2018. The state of World Fisheries and Aquaculture 2018. Meeting the sustainable development goals. Rome.
- FAU. 2019. Live feeds for marine fish larvae. Acedido em: 1 setembro, 2019, em: <https://www.fau.edu/hboi/aquaculture/Livefeeds%20Pompano%20workshop%20ARC2013.pdf>
- Ferreira, P. M. P. 2009. Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para a larvicultura de peixes marinhos. Instituto Nacional de Recursos Biológicos IP. 235.
- Fernández-Díaz, C., Yýfera, M., Cañavate, J. P., Moyano, F. J., Alarcón, F. J., Díaz, M., 2001. Growth and physiological changes during metamorphosis of Senegal sole reared in the laboratory. Journal of Fish Biology. 58(4): 1086-1097.
- FishBase. Acedido em: 10 junho, 2019, em: <http://www.fishbase.org/summary/Soleasenegalensis.html>
- Hatcheryfeed magazine. 2015. Replacement of live feed in marine fish hatcheries. Acedido em: 10 de Agosto de 2019 em: http://www.hatcheryfeed.com/article-files/file_0577150001438827908.pdf
- Holt, G. J., Webb, K. A., Rust, M. B. 2011. Microparticulate diets: testing and evaluating success. Larval fish nutrition. Wiley-Blackwell, Oxford. 353-372.
- Imsland, A. K., Foss, A., Conceição, L. E. C., Dinis, M. T., Delbare, D., Schram, E., White, P. 2003. A review of the culture potential of *Solea solea* and *S. senegalensis*. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 13: 379-407.
- INE e DGRM Instituto Nacional de Estatística e Direcção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos. 2017. Estatísticas da Pesca 2016. Lisboa, Portugal.

- INE e DGRM Instituto Nacional de Estatística e Direcção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos. 2018. Estatísticas da Pesca 2017. Lisboa, Portugal.
- INVE Aquaculture. Acedido em: 12 julho, 2019, em: <https://www.inveaquaculture.com/product/artemia-eg-gsl-inve-blue/>
- Jacquemond, F., Francesconi, C., Joussemet, V. 2016. Production d'alevins de sandre sevrés destinés à un élevage raisonnablement intensifié en milieu contrôlé. Rapport technique final de Institut des Sciences de l'Environnement et des Territoires d'Annecy, France.
- Kolkovski, S. 2013. Microdiets as alternatives to live feeds for fish larvae in aquaculture: improving the efficiency of feed particle utilization. *Advances in aquaculture hatchery technology*. Woodhead Publishing. 203-222.
- Lekang, O. I. 2013. Transport of live fish. *Aquaculture Engineering*. Chichester, UK: John Wiley & Sons: 328-338.
- Mai, M. G., Engrola, S., Morais, S., Portella, M. C., Verani, J. R., Dinis, M. T., Conceicao, L. E. 2009. Co-feeding of live feed and inert diet from first-feeding affects Artemia lipid digestibility and retention in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture*. 296(3-4): 284-291.
- Martins, R., Carneiro, M. 2015. Manual prático de identificação de peixes ósseos da costa continental portuguesa - Principais características diagnosticantes. *Publicações Avulsas do IPMA*. 2: 147.
- OECD. 2019. "Fisheries: Production from aquaculture". OECD Agriculture Statistics (database). Acedido em: 13 Julho, 2019, em: <https://doi.org/10.1787/data-00225-en>
- Oliveira, C., Mañanós, E., Ramos, J., Sánchez-Vázquez, F. J. 2011. Impact of photoperiod manipulation on day/night changes in melatonin, sex steroids and vitellogenin plasma levels and spawning rhythms in Senegal sole, *Solea senegalensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 159(3): 291–295.
- Pinto, W., Engrola, S., Conceição, L. E. 2018. Towards an early weaning in Senegalese sole: A historical review. *Aquaculture*. 496: 1-9.
- Rabanal, H.R. 1988. History of Aquaculture. ASEAN/UNDP/FAO Regional Small-Scale Coastal Fisheries Development Project, Manila.
- Rasines, I., Gómez, M., Martín, I., Rodríguez, C., Mañanós, E., Chereguini, O. 2012. Artificial fertilization of Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Hormone therapy administration methods, timing of ovulation and viability of eggs retained in the ovarian cavity. *Aquaculture*. 326-329: 129–135.
- Rodríguez, R.B. 1984. Biología y cultivo de *Solea senegalensis* Kaup 1858 en Golfo de Cádiz. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla, España. 207.

- Simpson, S. 2011. The blue food revolution: making aquaculture a sustainable food source. *Scientific American* February. 54–61.
- Timmons, M. B., & Ebeling, J. M. 2010. *Recirculating aquaculture*. Ithaca, NY: Cayuga Aqua Ventures.
- Tryggvason, A. Þ. 2016. A Systematic View on a Recirculating Aquaculture System: Causality Relation Between Variables. Master's thesis Faculty of Industrial Engineering, Mechanical Engineering and Computer Science. University of Iceland. 65.
- Villanueva, J. L. R., Alonso, J. B. P. 2014. Cultivo del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*). *Fundación Observatorio Español de Acuicultura*. Vol. 7.
- Yúfera, M., 2011. Feeding behavior in larval fish. *Larval fish nutrition*. Wiley-Blackwell, Oxford. 283-305.
- Zhang, S. Y., Li, G., Wu, H. B., Liu, X. G., Yao, Y. H., Tao, L., Liu, H. 2011. An integrated recirculating aquaculture system (RAS) for land-based fish farming: The effects on water quality and fish production. *Aquacultural Engineering*. 45(3): 93-102.