

Efeito do fotoperíodo e da temperatura
no desenvolvimento embrionário e
larvar de diferentes espécies marinhas:
Argyrosomus regius, *Diplodus sargus*,
Solea senegalensis e *Sparus aurata*.

Anaísa S. Cordeiro Silva

M
2018



Título Efeito do fotoperíodo e da temperatura
no desenvolvimento embrionário e larvar de
diferentes espécies marinhas: *Argyrosomus
regius*, *Diplodus sargus*, *Solea senegalensis* e
Sparus aurata.
Anaísa S. Cordeiro Silva



ANAÍSA SOFIA CORDEIRO SILVA

EFEITO DO FOTOPERÍODO E DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR DE DIFERENTES ESPÉCIES MARINHAS: *ARGYRO SOMUS REGIUS*, *DIPLodus SARGUS*, *SOLEA SENEGALENSIS* E *SPARUS AURATA*.

Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Ciências do Mar – Recursos Marinhos, Especialização em Aquacultura e Pescas, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto.

Orientador – Doutor Pedro Marques Pousão Ferreira

Categoria – Investigador auxiliar

Afiliação – Instituto Português do Mar e da Atmosfera / Estação Piloto de Piscicultura de Olhão.

Coorientador – Prof. Doutor José Fernando Magalhães Gonçalves

Categoria – Professor Auxiliar

Afiliação - Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto.

“Ogni nostra cognizione prencipia da sentimenti.”

– Codice Trivulziano, Leonardo da Vinci

Agradecimentos

Ao meu orientador, Doutor Pedro Pousão, por me ter possibilitado a oportunidade de realizar o meu trabalho na Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO), por todo o apoio, transmissão de conhecimentos, paciência e compreensão que teve durante todo o meu percurso nesta grande “casa”. O melhor chefe que esta equipa podia ter.

A todos os meus colegas da EPPO, trabalhadores e estagiários, por me terem recebido de braços abertos. Obrigada por toda a disponibilidade, ajuda, amizade e companhia, sem as quais não teria as condições e o bom ambiente de trabalho que tive, repleto de estímulos e bons momentos. Em especial gostaria de agradecer à Ana Isabel Mendes e à Sara Castanho por toda a orientação diária, ensinamento e carinho que mantiveram durante toda a execução da minha Tese. Ao Sr. João, o nosso “faz tudo”, pela sua boa disposição e prontidão em ajudar quando apareciam problemas técnicos para resolver no sistema. Não esquecendo as meninas simpáticas: Dra. Florbela pela excelente receção, boa disposição e cedência bibliográfica; Dra. Laura pela enorme ajuda no tratamento e interpretação de dados; Cátia Marques, Catarina Matias, Sónia, a minha “pequena”, mas tão grande, Catarina Marques, “Taty” e Marisa Barata pela motivação diária e amizade. À Margarida Gamboa por todo o apoio e ajuda no tratamento e obtenção de dados. Por fim, não posso deixar ainda de agradecer aos meus amigos e colegas Márcio Moreira, Ravi Luna e Diogo Teixeira pelo companheirismo, amizade e motivação que me deram.

Ao meu coorientador, Professor José Fernando Magalhães, por todo o acompanhamento académico prestado, toda a paixão pela Aquacultura que me transmitiu, sem a qual não teria criado o meu gosto por esta área. O seu contínuo estímulo pela excelência e pelo conhecimento estará sempre presente.

Ao meu namorado, companheiro e melhor amigo, Gonçalo Ledo, por toda a ajuda e paciência, apesar de toda a distância que nos separou e separa, foi incansável no seu apoio, compreensão e amor. Sem ti nunca teria a força que tive.

Aos meus grandes pais, que nunca que disseram que “não” a todos os pedidos que lhes fazia, por muito difícil fosse. Apesar dos 600 Km de distância que nos separou continuei a sentir todo o amor, amizade, apoio psicológico e ainda monetário, que eles sempre me ofereceram.

Resumo

Espécies como a corvina (*Argyrosomus regius*), a dourada (*Sparus aurata*), o linguado (*Solea senegalensis*) e o sargo-comum (*Diplodus sargus*) possuem um elevado potencial para a produção em Aquacultura, tornando-se fulcral o conhecimento dos seus estados embrionários e larvares e as condições ambientais a que são submetidos. Sendo a composição lipídica e em ácidos gordos a fonte de energia mais importante durante o desenvolvimento embrionário e larvar. O período compreendido entre a fertilização e a eclosão do ovo é designado por embriogénese. Após eclosão, as larvas possuem um grande saco vitelino, com uma ou inúmeras gotas lipídicas e a retina do olho ainda não está pigmentada e ainda não tem a boca nem e ânus funcionais. Dois a quatro dias após eclosão a boca está completamente aberta, começando a sua busca por alimento exógeno e a qualquer momento as suas reservas lipídicas estarão completamente absorvidas.

Este trabalho teve como principal objetivo o estudo do desenvolvimento embrionário e larvar em corvina, dourada, linguado e sargo, quando submetidos a diferentes fotoperíodos e temperaturas. Pretendeu-se averiguar se as alterações destes parâmetros ambientais alteravam a eclosão e a sobrevivência até à abertura da boca, o crescimento das larvas, a depleção das reservas lipídicas e a composição em ácidos gordos das larvas recém eclodidas.

As experiências foram divididas em 3 ensaios distintos. No Ensaio “F” os ovos e larvas das diferentes espécies marinhas foram submetidos a fotoperíodos de 24 horas de escuridão, 14 horas de luz e 24 horas de luz. No Ensaio “TF” os indivíduos foram submetidos a 16 °C e 19 °C e no Ensaio “TQ” foram submetidos a 19 °C e 22 °C. Os resultados deste trabalho mostraram que tanto o fotoperíodo como a temperatura influenciam de alguma forma o desenvolvimento embrionário e larvar das diferentes espécies marinhas em estudo. Em corvina foram demonstrados resultados mais interessantes no fotoperíodo de 24 horas de escuridão, e em sargo e linguado no fotoperíodo de 14 horas de luz, onde principalmente ocorrem maiores conservações dos ácidos gordos essenciais. Temperaturas controlo de aproximadamente 19 °C foram selecionadas como mais indicadas no cultivo larvar de todas as espécies.

Palavras-chave: *Argyrosomus regius*; *Sparus aurata*; *Solea senegalensis*; *Diplodus sargus*; Fotoperíodo; Temperatura; Desenvolvimento embrionário e larvar; Eclosão; Abertura da boca; Biometria; Ácidos Gordos.

Abstract

Species such as the meagre (*Argyrosomus regius*), the gilthead seabream (*Sparus aurata*), the senegalese sole (*Solea senegalensis*) and the white seabream (*Diplodus sargus*) all have a high potential for Aquaculture production. The knowledge of their embryonic and larval stages, as well as the environmental conditions they are subject to, become very important. The lipid and fatty acids composition is the most important energy source during the larval and embryonic development. The embryogenesis is the time between the fertilization and hatching of the egg. After hatching, the larvae have a large yolk sac with one or more lipid droplets and the retina is not yet pigmented and does not yet have functional mouths or anus. Two to four days after hatching the mouth is completely open, and they start searching for exogenous food and, at any moment, their yolk is completely absorbed.

This thesis' focused on the study of larval and embryonic development in meagre, gilthead seabream, senegalese sole and white seabream, when subject to different photoperiods and temperatures. The study aimed to verify if any shift in these environmental parameters results in any change in hatching and mouth opening survival rates, or has any impact in larvae growth, depletion of yolk and fatty acid composition in newly hatched larvae.

The experiment was divided into 3 trials. In the "F" trial the eggs and larvae of different species were subject to photoperiods of 24 hours of dark, 14 hours of light and 24 hours of light. In the "TF" trial they were subject to temperatures of 16 °C and 19 °C and in the "TQ" trial to temperatures of 19 °C and 22 °C. The results of this essay showed that both the photoperiod and the temperature impact the embryonic and larval development of the studied species. Regarding photoperiod, the most interesting results were shown for meagre on 24 hours of dark, and sole and seabream white on 14 hours of light, where larger amounts of fatty acids are preserved. Control temperatures of approximately 19 °C were selected as most adequate for the larvae production of all species.

Key-words: *Argyrosomus regius*; *Sparus aurata*; *Solea senegalensis*; *Diplodus sargus*; Photoperiod; Temperature; Embryonic and larval development; Hatching; Mouth opening; Biometry; Fatty acids.

Índice

Agradecimentos.....	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas	xi
Lista de Abreviaturas.....	xiii
Nota Introdutória.....	xiv
Capítulo 1 – Introdução	1
1.1 – Estado da Aquacultura no Mundo	1
1.2 – Aquacultura em Portugal	2
1.3 – Breve descrição das etapas de produção de uma Aquacultura	4
1.4 – Corvina – <i>Argyrosomus regius</i> (Asso, 1801)	7
1.5 – Dourada – <i>Sparus aurata</i> (Linnaeus, 1758).....	8
1.6 – Linguado – <i>Solea senegalensis</i> (Kaup, 1858)	10
1.7 – Sargo - <i>Diplodus sargus</i> (Valenciennes, 1830)	11
1.8 – Reprodução	13
1.9 – Desenvolvimento embrionário e larvar	14
1.10 – Parâmetros Ambientais:	17
1.10.1 – Fotoperíodo.....	18
1.10.2 – Temperatura.....	19
1.11 – Alterações Climáticas	19
1.12 – Lípidos	20
1.11.1 – Ácidos gordos	21
1.13 – Objetivos	22
Capítulo 2 – Material e Métodos	23
2.1 – Reprodutores e recolha dos ovos	23
2.2 – Sistema experimental	24
2.3 – Tratamentos e Design experimental	26
2.4 – Métodos analíticos.....	29
2.4.1 – Recolha de amostras	29
2.4.3 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à abertura da boca	29
2.4.2 – Biometria	30
2.4.4 – Análise estatística	31
Capítulo 3 – Resultados e Discussão	32
3.1 – Fotoperíodo.....	32
3.1.1 – Corvina - <i>Argyrosomus regius</i>	32

3.1.1.1 – Desenvolvimento Embrionário	32
3.1.1.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca	32
3.1.1.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	33
3.1.1.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco Larvar	34
3.1.1.5 – Ácidos gordos.....	35
3.1.1.6 – Resumo	35
3.1.2 – Dourada - <i>Sparus aurata</i>	36
3.1.2.1 – Desenvolvimento Embrionário	36
3.1.2.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca	37
3.1.2.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	37
3.1.2.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco	39
3.1.2.5 – Ácidos gordos.....	39
3.1.2.6 – Resumo	40
3.1.3 – Linguado - <i>Solea senegalensis</i>	41
3.1.3.1 – Desenvolvimento Embrionário	41
3.1.3.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca	41
3.1.3.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	42
3.1.3.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco	44
3.1.3.5 – Ácidos gordos.....	44
3.1.3.6 – Resumo	44
3.1.4 – Sargo - <i>Diplodus sargus</i>	45
3.1.4.1 – Desenvolvimento Embrionário	45
3.1.4.2 – Taxas de Eclosão.....	46
3.1.4.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	46
3.1.4.4 – Peso Seco	47
3.1.4.5 – Ácidos gordos.....	47
3.1.4.6 – Resumo	48
3.2 – Discussão (Fotoperíodo)	48
3.3 – Temperatura Fria	50
3.3.1 – Corvina - <i>Argyrosomus regius</i>	50
3.3.1.1 – Desenvolvimento Embrionário	50
3.3.1.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca	50
3.3.1.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	51
3.3.1.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco	52
3.3.1.5 – Ácidos gordos.....	53
3.3.1.6 – Resumo	53
3.3.2 – Dourada - <i>Sparus aurata</i>	54

3.3.2.1 – Desenvolvimento Embrionário	54
3.3.2.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca	55
3.3.2.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	55
3.3.2.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco	57
3.3.2.5 – Ácidos gordos.....	57
3.3.2.6 – Resumo	58
3.3.3 – Sargo - <i>Diplodus sargus</i>	59
3.3.3.1 – Desenvolvimento Embrionário	59
3.3.3.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca	59
3.3.3.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	60
3.3.3.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco	61
3.3.3.5 – Ácidos gordos.....	62
3.3.3.6 – Resumo	62
3.4 – Temperatura Quente	63
3.4.1 – Corvina - <i>Argyrosomus regius</i>	63
3.4.1.1 – Desenvolvimento Embrionário	63
3.4.1.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca	64
3.4.1.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	64
3.4.1.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco	66
3.4.1.5 – Ácidos gordos.....	66
3.4.1.6 – Resumo	67
3.4.2 – Dourada - <i>Sparus aurata</i>	68
3.4.2.1 – Desenvolvimento Embrionário	68
3.4.2.2 – Taxas de Eclosão.....	69
3.4.2.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria	69
3.4.2.4 – Peso Seco	70
3.4.2.5 – Ácidos gordos.....	70
3.4.2.6 – Resumo	70
3.5 – Discussão (Temperaturas)	71
Capítulo 4 – Conclusão e considerações finais	73
Referências.....	76
Anexo I.....	i
Anexo II.....	ii
Anexo III.....	iii
Anexo IV	vii

Índice de Figuras

FIGURA 1: TOTAL DE TONELADAS CAPTURADAS NA PESCA E PRODUZIDAS EM AQUACULTURA, DE 1950 A 2014, SEPARADAS POR CORES. AZUL REPRESENTA O TOTAL DE TONELADAS FORNECIDAS PELA PRODUÇÃO EM AQUACULTURA, COM UM FORTE CRESCIMENTO A PARTIR DE 1990. COR-DE-LARANJA REPRESENTA O TOTAL DE TONELADAS RESULTANTES DA PESCA, COM UMA ESTABILIZAÇÃO A PARTIR DE 1985. FONTE: (FAO 2016).	2
FIGURA 2: A) TIPOS DE ESTABELECIMENTOS AQUÍCOLAS LICENCIADOS, EM PORTUGAL, EM 2015. B) PRODUÇÕES AQUÍCOLAS POR TIPO DE ÁGUA E REGIME, EM 2015 FONTE: DGRM, ESTATÍSTICAS DA AQUICULTURA (INE 2017).	3
FIGURA 3: EXEMPLARES DE PRESAS VIVAS PARA ALIMENTAÇÃO DAS LARVAS NAS PRIMEIRAS FASES DE VIDA. A) ROTÍFERO - BRACHIONUS SPP. FOTO DE: SARA CASTANHO, IPMA-EPPO B) ARTEMIA SPP. FOTOS DE: SARA CASTANHO, EPPO-IPMA. C) COPÉPODES (PLANKTONIC AS) FOTO DE: MAFALDA ROCHA, EPPO-IPMA.	5
FIGURA 4: PLANO DE ALIMENTAÇÃO LARVAR DOS 0 AOS 50 DIAS APÓS A ECLOSÃO (DAE), COM A UTILIZAÇÃO DE ROTÍFEROS, ARTÉMIA E DIETA INERTE (RAÇÃO), EM LARVAS DE LINGUADO (<i>S. SENEGALENSIS</i>), A UMA TEMPERATURA DE ± 19 °C. FONTE: POUSÃO-FERREIRA 2009, EPPO-IPMA.	5
FIGURA 5: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UNIDADE PISCÍCOLA EM REGIME SEMI-INTENSIVO. 1 – RESERVATÓRIO. 2 – TANQUES DE ENGORDA. 3 – ESTAÇÃO DE BOMBAGEM. 4 – TANQUES DE PRÉ-ENGORDA. 5 – EDIFÍCIO DE APOIO. 6 – RECEÇÃO DE EFLUENTES. FONTE: (POUSÃO-FERREIRA 2015).	6
FIGURA 6: ARGYROSOMUS REGIUS (ASSO, 1801). A) EXEMPLAR DE CORVINA (<i>A. REGIUS</i>). FONTE: IRIDA'S RESEARCH FOR MEAGRE CULTURE. B) CICLO DE PRODUÇÃO DE CORVINA. FONTE: (STIPA AND ANGELINI 2005).	7
FIGURA 7: SPARUS AURATA (LINNAEUS, 1758). A) EXEMPLAR DE DOURADA (<i>S. AURATA</i>). FONTE: EPPO-IPMA. B) EXEMPLO DE CICLO DE PRODUÇÃO EM SISTEMA INTENSIVO DE DOURADA. FONTE: FAO.....	9
FIGURA 8: SOLEA SENEGALENSIS (KAUP, 1858). A) EXEMPLAR DE LINGUADO (<i>S. SENEGALENSIS</i>). FONTE: EPPO-IPMA. B) CICLO DE PRODUÇÃO DE LINGUADO. FONTE: FAO.	10
FIGURA 9: DIPLODUS SARGUS (VALENCIENNES, 1830). A) EXEMPLAR DE SARGO LEGÍTIMO. FONTE: EPPO-IPMA. B) DESENHO REPRESENTATIVO DE UM EXEMPLAR. FONTE: FAO.....	12
FIGURA 10: SISTEMA DE RECOLHA DE OVOS COM UTILIZAÇÃO DE UM COLETOR COM UMA REDE DE 500 μ m À SAÍDA DO TANQUE DE REPRODUTORES. FONTE: (POUSÃO-FERREIRA 2015).	14
FIGURA 11: DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO EM DICENTRARCHUS LABRAX. A) ZIGOTO, 1 CÉLULA, OG – GOTA LIPÍDICA, Bd – BLASTODERME. B) MÓRULA – PRIMEIRA CLIVAGEM, 2 CÉLULAS (2C), BL – BLASTÓMEROS. C) MÓRULA - TERCEIRA CLIVAGEM, 8 CÉLULAS (8C). D) BLÁSTULA – OITAVA CLIVAGEM, 128 CÉLULAS (128C). E) BLÁSTULA – 256 CÉLULAS (256C). F) BLÁSTULA – 512 CÉLULAS (512C), SL – CAMADA SINCICIAL. G) GÁSTRULA. H) GÁSTRULA – 20% EPIBOLIA. I) GÁSTRULA – 40% EPIBOLIA, CR – REGIÃO CEFÁLICA. J) GÁSTRULA – 90% EPIBOLIA, BPM – MARGEM DO BLASTÓPORO. L) NÊURULA – 11 SOMITOS. M) NÊURULA – 18 SOMITOS, CH – CROMATÓFOROS. N) INÍCIO DA ECLOSÃO – HT . O) LARVA RECÉM ECLODIDA, DO – 0 DAE. (CUCCHI ET AL. 2012).....	16
FIGURA 12: DESENVOLVIMENTO LARVAR. A) PRIMEIROS ESTADOS DE DESENVOLVIMENTO EM <i>A. REGIUS</i> . FOTOS RECOLHIDAS PELO AUTOR, EPPO-IPMA. B) DESENVOLVIMENTO EM <i>D. SARGUS</i> BASEADO NO ESTADO DE FLEXÃO DA SEÇÃO TERMINAL DO NOTOCÓRDIO (BROWNELL 1979).....	17
FIGURA 13: A) SISTEMA EXPERIMENTAL COMPOSTO POR 12 TANQUES DE INCUBAÇÃO. B) TANQUE DE INCUBAÇÃO COM UMA CAPACIDADE DE 20 L, UMA FONTE DE ALIMENTAÇÃO DE ÁGUA, AREJAMENTO, ILUMINAÇÃO LED NO TOPO E UM FILTRO DE 250 μ m À SAÍDA. C) REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO INTERIOR DE CADA TANQUE, COM CIRCULAÇÃO DA ÁGUA E DO AR DA PROFUNDIDADE PARA A SUPERFÍCIE.	25
FIGURA 14: (ENSAIOS “F”) ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA DISPOSIÇÃO DOS 12 TANQUES QUE FORAM SUBMETIDOS A VÁRIOS FOTOPERÍODOS. COM SISTEMAS DE ILUMINAÇÃO INDEPENDENTES, A CINZA () ESTÃO REPRESENTADOS OS TANQUES SUBMETIDOS A 0L:24D , A VERDE () ESTÃO REPRESENTADOS OS TANQUES SUBMETIDOS A 14L:10D E A AMARELO () ESTÃO REPRESENTADOS OS TANQUES SUBMETIDOS A 24L:0D	27
FIGURA 15: (ENSAIOS “TF”) ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA DISPOSIÇÃO DOS 12 TANQUES QUE FORAM SUBMETIDOS A 2 TEMPERATURAS DISTINTAS. COM DUAS ENTRADAS DE ÁGUA INDEPENDENTES, A	

VERDE () ESTÃO REPRESENTADOS OS TANQUES SUBMETIDOS A 19 °C E A AZUL () ESTÃO REPRESENTADOS OS TANQUES SUBMETIDOS A 16 °C.	28
FIGURA 16: (ENSAIOS “TQ”) ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA DISPOSIÇÃO DOS 12 TANQUES QUE FORAM SUBMETIDOS A 2 TEMPERATURAS DISTINTAS. COM DUAS ENTRADAS DE ÁGUA INDEPENDENTES, A VERDE () ESTÃO REPRESENTADOS OS TANQUES SUBMETIDOS A 19 °C E A ROSA () ESTÃO REPRESENTADOS OS TANQUES SUBMETIDOS A 22 °C.	28
FIGURA 17: A) EQUIPAMENTO UTILIZADO PARA FOTOGRAFAR AS LARVAS E OS OVOS IN VIVO. LUPA ÓTICA (NIKON SMZ1000), CÂMARA (NIKON DS-Fi2) E ECRÃ (NIKON DIGITAL SIGHT DS-L3). B) VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS MEDIDAS NAS LARVAS: A – COMPRIMENTO STANDARD; B – ÁREA DO SACO VITELINO; C – ÁREA DA GOTA LIPÍDICA.....	31
FIGURA 18: (ENSAIO “FR”) TAXAS DE ECLOSÃO (A) E TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA À ABERTURA DE BOCA (B) EM LARVAS DE <i>A. REGIUS</i> SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. NÃO EXISTEM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P>0,05).....	32
FIGURA 19: (ENSAIO “FR”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM <i>A. REGIUS</i> . INCUBAÇÃO A 19,4 °C (± 0,17) E SUBMETIDOS 3 FOTOPERÍODOS. OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 2 H APÓS RECOLHA DO COLETOR, ECLOSÃO APÓS 24 H E ABERTURA DA BOCA APÓS 94 H.	33
FIGURA 20: EVOLUÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS, DA ECLOSÃO (0 DAE) À ABERTURA DA BOCA (3 DAE), EM LARVAS DE <i>A. REGIUS</i> SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. A – COMPRIMENTO STANDARD (MM). B – ÁREA DO SACO VITELINO (MM ²). C – ÁREA DA GOTA LIPÍDICA (MM ²). VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA E LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).	34
FIGURA 21: (ENSAIO “FA”) TAXAS DE ECLOSÃO (A) E TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA À ABERTURA DE BOCA (B) EM LARVAS DE <i>S. AURATA</i> SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. NÃO EXISTEM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P>0,05).....	37
FIGURA 22: (ENSAIO “FA”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM <i>S. AURATA</i> . INCUBAÇÃO A 19,1 °C (± 0,7) E SUBMETIDOS 3 FOTOPERÍODOS. OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 1 H E 30 MIN APÓS RECOLHA DO COLETOR, ECLOSÃO APÓS 46 H E ABERTURA DA BOCA APÓS 124 H.....	37
FIGURA 23: EVOLUÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS, DA ECLOSÃO (0 DAE) À ABERTURA DA BOCA (3 DAE), EM LARVAS DE <i>S. AURATA</i> SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. A – COMPRIMENTO STANDARD (MM). B – ÁREA DO SACO VITELINO (MM ²). C – ÁREA DA GOTA LIPÍDICA (MM ²). VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA E LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).	39
FIGURA 24: (ENSAIO “FSS”) TAXAS DE ECLOSÃO (A) E TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA À ABERTURA DE BOCA (B) EM LARVAS DE <i>S. SENEGALENSIS</i> SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. NÃO EXISTEM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).....	41
FIGURA 25: (ENSAIO “FSS”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM <i>S. SENEGALENSIS</i> . INCUBAÇÃO A 18,5 °C (± 0,3) E 3 FOTOPERÍODOS SUBMETIDOS. OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 3 H E 30 MIN APÓS RECOLHA DO COLETOR, ECLOSÃO APÓS 27 H E ABERTURA DA BOCA APÓS 96 H E 30 MIN.	42
FIGURA 26: EVOLUÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS, DA ECLOSÃO (0 DAE) À ABERTURA DA BOCA (3 DAE), EM LARVAS DE <i>S. SENEGALENSIS</i> SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. A – COMPRIMENTO STANDARD (MM). B – ÁREA DO SACO VITELINO (MM ²). VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA E LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).	43
FIGURA 27: (ENSAIO “FDs”) TAXAS DE ECLOSÃO EM LARVAS DE <i>D. SARGUS</i> SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).	46
FIGURA 28: (ENSAIO “FDs”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM <i>D. SARGUS</i> . INCUBAÇÃO A 18,5 °C (± 0,4) E SUBMETIDOS 3 FOTOPERÍODOS. OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 1 H E 30 MIN APÓS RECOLHA DO COLETOR, INÍCIO DE ECLOSÃO APÓS 23 H E ECLOSÃO COMPLETA APÓS 46 H E 30 MIN.....	46

- FIGURA 29: (ENSAIO “TFR”) TAXAS DE ECLOSÃO (A) E TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA À ABERTURA DE BOCA (B) EM LARVAS DE A. REGIUS SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. NÃO EXISTEM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P>0,05).....50**
- FIGURA 30: (ENSAIO “TFR”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM A. REGIUS. INCUBAÇÃO A 19,9 °C (± 0,9) E 16 °C (± 1,0). OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 5 H APÓS RECOLHA DO COLETOR. ECLOSÃO APÓS 24 H E ABERTURA DA BOCA APÓS 72 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 19 °C. ECLOSÃO APÓS 48 H E ABERTURA DA BOCA APÓS 120 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 16 °C.51**
- FIGURA 31: EVOLUÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS, DA ECLOSÃO (0 DAE) À ABERTURA DA BOCA (2/3 DAE), EM LARVAS DE A. REGIUS SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. A – COMPRIMENTO STANDARD (MM). B – ÁREA DO SACO VITELINO (MM²). C – ÁREA DA GOTA LIPÍDICA (MM²). VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA E LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).52**
- FIGURA 32: (ENSAIO “TFA”) TAXAS DE ECLOSÃO (A) E TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA À ABERTURA DE BOCA (B) EM LARVAS DE S. AURATA SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).....55**
- FIGURA 33: (ENSAIO “TFA”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM S. AURATA. INCUBAÇÃO A 18,3 °C (± 0,6) E 16,1 °C (± 0,8). OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 2 H APÓS RECOLHA DO COLETOR. ECLOSÃO APÓS 27 H E 30 MIN E ABERTURA DA BOCA APÓS 96 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 19 °C. ECLOSÃO APÓS 45 H E 30 MIN E ABERTURA DA BOCA APÓS 122 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 16 °C.....55**
- FIGURA 34: EVOLUÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS, DA ECLOSÃO (0 DAE) À ABERTURA DA BOCA (3 DAE), EM LARVAS DE S. AURATA SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. A – COMPRIMENTO STANDARD (MM). B – ÁREA DO SACO VITELINO (MM²). C – ÁREA DA GOTA LIPÍDICA (MM²). VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA E LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).57**
- FIGURA 35: (ENSAIO “TFS”) TAXAS DE ECLOSÃO (A) E TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA À ABERTURA DE BOCA (B) EM LARVAS DE D. SARGUS SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. NÃO EXISTEM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P>0,05).....59**
- FIGURA 36: (ENSAIO “TFS”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM D. SARGUS. INCUBAÇÃO A 19,6 °C (± 0,6) E 16,5 °C (± 0,8). OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 1 H E 30 MIN APÓS RECOLHA DO COLETOR. APÓS 24 H INICIOU-SE A ECLOSÃO E ABERTURA DA BOCA APÓS 72H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 19 °C. ECLOSÃO APÓS 48 H E ABERTURA DA BOCA APÓS 120 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 16 °C.....60**
- FIGURA 37: EVOLUÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS, DA ECLOSÃO (0 DAE) À ABERTURA DA BOCA (1/3 DAE), EM LARVAS DE D. SARGUS SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. A – COMPRIMENTO STANDARD (MM). B – ÁREA DO SACO VITELINO (MM²). C – ÁREA DA GOTA LIPÍDICA (MM²). VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA E LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).61**
- FIGURA 38: (ENSAIO “TQR”) TAXAS DE ECLOSÃO (A) E TAXAS DE SOBREVIVÊNCIA À ABERTURA DE BOCA (B) EM LARVAS DE A. REGIUS SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. NÃO EXISTEM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P>0,05).....64**
- FIGURA 39: (ENSAIO “TQR”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM A. REGIUS. INCUBAÇÃO A 18,6 °C (± 0,5) E 21,4 °C (± 0,6). OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 1 H E 30 MIN APÓS RECOLHA DO COLETOR. ECLOSÃO APÓS 26 H E 30 MIN E ABERTURA DA BOCA APÓS 96 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 19 °C. ECLOSÃO APÓS 22 H E ABERTURA DA BOCA APÓS 72 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 22 °C.....64**
- FIGURA 40: EVOLUÇÃO DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS, DA ECLOSÃO (0 DAE) À ABERTURA DA BOCA (2/3 DAE), EM LARVAS DE A. REGIUS SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. A – COMPRIMENTO STANDARD (MM). B – ÁREA DO SACO VITELINO (MM²). C – ÁREA DA GOTA LIPÍDICA (MM²). VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA E LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS (P<0,05).66**

FIGURA 41: (ENSAIO “TQA”) TAXAS DE ECLOSÃO EM LARVAS DE *S. AURATA* SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. NÃO EXISTEM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS ($P>0,05$).....69

FIGURA 42: (ENSAIO “TQA”) DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAR EM *S. AURATA*. INCUBAÇÃO A 18.7 °C (±0,1) E 21.4 °C (±0,1). OVOS COLOCADOS E CONDICIONADOS NO SISTEMA EXPERIMENTAL 2 H APÓS RECOLHA DO COLETOR. ECLOSÃO APÓS 28 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 19 °C E APÓS 24 H NAS LARVAS SUBMETIDAS A 22 °C.69

Índice de Tabelas

TABELA 1: POSTURAS UTILIZADAS PARA A REALIZAÇÃO DAS VÁRIAS EXPERIÊNCIAS, DIVIDIDAS POR ESPÉCIES E COM RESPECTIVAS TAXAS DE VIABILIDADE (%), TEMPERATURAS DOS TANQUES DE REPRODUTORES (°C) E GRAMAS UTILIZADAS.....24

TABELA 2: TEMPERATURAS MÉDIAS (± DESVIO-PADRÃO) REGISTRADAS NOS DIFERENTES ENSAIOS. **T (°C) LOG** – TEMPERATURA REGISTRADA POR LOGGERS. **T (°C) Oxi** – TEMPERATURA REGISTRADA PELO OXÍMETRO. **F** – ENSAIO DE FOTOPERÍODOS. **TF** – ENSAIO DE TEMPERATURA FRIA. **TQ** – ENSAIO DE TEMPERATURA QUENTE.26

TABELA 3: EXPERIÊNCIAS SELECIONADAS PARA APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS, COM RESPECTIVOS CÓDIGOS E SEPARADAS POR ESPÉCIES E TIPO DE ENSAIO. **FR** – ENSAIO DE FOTOPERÍODOS EM *A. REGIUS*. **FA** – ENSAIO DE FOTOPERÍODOS EM *S. AURATA*. **FSS** – ENSAIO DE FOTOPERÍODOS EM *S. SENEGALENSIS*. **FDS** – ENSAIO DE FOTOPERÍODOS EM *D. SARGUS*. **TFR** – ENSAIO DE TEMPERATURA FRIA EM *A. REGIUS*. **TFA** – ENSAIO DE TEMPERATURA FRIA EM *S. AURATA*. **TFS** – ENSAIO DE TEMPERATURA FRIA EM *D. SARGUS*. **TQR** – ENSAIO DE TEMPERATURA QUENTE EM *A. REGIUS*. **TQA** – ENSAIO DE TEMPERATURA QUENTE EM *S. AURATA*.....29

TABELA 4: ANÁLISE DESCRITIVA DA BIOMETRIA DOS OVOS DAS VÁRIAS ESPÉCIES EM ESTUDO, À RECOLHA E APÓS 24 H DE INCUBAÇÃO A DIFERENTES FOTOPERÍODOS E TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS ($P<0,05$).....I

TABELA 5: ANÁLISE DESCRITIVA DE DIFERENTES PARÂMETROS AVALIADOS NAS ESPÉCIES EM ESTUDO, DA ECLOSÃO À ABERTURA DA BOCA E SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS E TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS ($P<0,05$)..... II

TABELA 6: ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS DOS 0 AOS 3 DIAS APÓS ECLOSÃO (DAE), EM LARVAS DE *A. REGIUS* SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS E TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS ($P<0,05$)..... III

TABELA 7: ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS DOS 0 AOS 3 DIAS APÓS ECLOSÃO (DAE), EM LARVAS DE *S. AURATA* SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS E TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS ($P<0,05$)..... IV

TABELA 8: ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS DOS 0 AOS 3 DIAS APÓS ECLOSÃO (DAE), EM LARVAS DE *S. SENEGALENSIS* SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS ($P<0,05$).....V

TABELA 9: ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS DOS 0 AOS 3 DIAS APÓS ECLOSÃO (DAE), EM LARVAS DE *D. SARGUS* SUBMETIDAS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS E TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS ($P<0,05$)..... VI

TABELA 10 (ENSAIO “FR”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS, À ECLOSÃO E À ABERTURA DA BOCA, DE *ARGYROSOMUS REGIUS* SUBMETIDOS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA ± DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P<0,05$)..... VII

TABELA 11 (ENSAIO “FA”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS, À ECLOSÃO E À ABERTURA DA BOCA, DE *SPARUS AURATA* SUBMETIDOS A DIFERENTES

FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$)..... VIII

TABELA 12 (ENSAIO “FSS”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS, À ECLOSÃO E À ABERTURA DA BOCA, DE *SOLEA SENEGALENSIS* SUBMETIDOS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$)..... IX

TABELA 13 (ENSAIO “FDs”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS À ECLOSÃO, DE *DIPLODUS SARGUS* SUBMETIDOS A DIFERENTES FOTOPERÍODOS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$).X

TABELA 14 (ENSAIO “TFR”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS, À ECLOSÃO E À ABERTURA DA BOCA, DE *ARGYROSOMUS REGIUS* SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$).....XI

TABELA 15 (ENSAIO “TFA”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS À ECLOSÃO, DE *SPARUS AURATA* SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$). XII

TABELA 16 (ENSAIO “TFS”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS, À ECLOSÃO E À ABERTURA DA BOCA, DE *DIPLODUS SARGUS* SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$)..... XIII

TABELA 17 (ENSAIO “TQR”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS, À ECLOSÃO E À ABERTURA DA BOCA, DE *ARGYROSOMUS REGIUS* SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$)..... XIV

TABELA 18 (ENSAIO “TQA”): ANÁLISE DESCRITIVA DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GORDOS (MG/G) EM OVOS E LARVAS À ECLOSÃO, DE *SPARUS AURATA* SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS. VALORES CORRESPONDENTES À MÉDIA \pm DESVIO-PADRÃO. LETRAS DIFERENTES REPRESENTAM DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS ENTRE TRATAMENTOS NA MESMA IDADE ($P < 0,05$).XV

Lista de Abreviaturas

- ARA** – Ácido araquidónico (20:4 ω 6, ARA)
DAE – Dias Após Eclosão
DAH – “Days After Hatching”
DGRM – Direção Geral de Recursos Naturais
DHA – Ácido docosa-hexaenóico (22:6 ω 3, DHA)
DivAV – Divisão de Aquacultura e Valorização
EFA – “Essential fatty acids” – Ácidos gordos essenciais
EPA – Ácido eicosapentaenóico (20:5 ω 3, EPA)
EPPO – Estação de Piloto de Piscicultura de Olhão
EUR – Euro
FA – “Fatty acids” – ácidos gordos
FAO – Food and Agriculture Organization
h – horas
ha – Hectare
HUFA – “Highly Unsaturated Fatty Acids – Ácidos gordos altamente insaturados
ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar
IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera
L – Litros
L:D – “Ligth:Dark” – Horas de Luz : Horas de Escuridão
mg/L – miligramas por litro
min – minutos
MUFA – “Monounsaturated fatty acids” – Ácidos gordos monoinsaturados
PL – “Phospholipids” – Fosfolípidos
PUFA – “Polyunsaturated fatty acids” – Ácidos gordos polinsaturados
RAS – “Recirculating Aquaculture Systems”
SFA – “Saturated Fatty Acids” – Ácidos gordos saturados
TAG – “Triacylglyceride” – Triglicerídeos
Ton – Toneladas
UE – União Europeia
ZEE – Zona Económica Exclusiva

Nota Introdutória

Esta Dissertação decorreu no âmbito do projeto DIVERSIAQUA (Diversificação, Inovação e Desenvolvimento da Aquacultura em Portugal), desenvolvido na Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO), pertencente ao Instituto Português do Mar e da Atmosfera - Divisão de Aquacultura e Valorização (IPMA – DivAV), no âmbito do programa MAR2020.

Intitulado de EQuaOvo (Eclosão e Qualidade dos Ovos), o trabalho resultante numa Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Ciências do Mar, visa o melhoramento das condições utilizadas para eclosão dos ovos e manutenção das larvas recém-nascidas em Aquacultura, o estudo dos efeitos das alterações de parâmetros ambientais e consequências futuras das alterações climáticas, nas fases iniciais de diferentes espécies marinhas.

Capítulo 1 – Introdução

Desde muito cedo que o Homem possui uma ligação muito “íntima” com o meio aquático. Já na pré-história, com o início do sedentarismo, o Homem começou a observar o mundo à sua volta e o que a natureza tinha para lhe “oferecer”, aproveitando os recursos que o rodeavam. Mesmo sem embarcações, surge a pesca nas zonas marginais e o conhecimento do pescado. Com a evolução do ser humano começaram a surgir novas técnicas de captura e o início da produção controlada de pescado, surgindo assim a prática de Aquacultura, na China em 2000 AC (Flandrin and Montanari 1998; Vaz-Pires 2014). Aos poucos e poucos esta área foi aprofundada com o constante aparecimento de novas técnicas e conhecimento científico, passando-se a estudar paralelamente a reprodução dos indivíduos, as condições ambientais, a cadeia alimentar, as patologias associadas e toda a cadeia envolvida na produção dos seres vivos.

A “Aquacultura” ou “Aquicultura” define-se como sendo a criação de organismos aquáticos, tais como peixes, moluscos, crustáceos e plantas aquáticas. Esta criação implica intervenções que visam o aumento da produção, além das suas capacidades naturais. Algumas das técnicas de intervenção utilizadas passam pelo povoamento regular, a alimentação, a proteção contra predadores, etc. (FAO 1997).

1.1 – Estado da Aquacultura no Mundo

Com as revoluções industrial e tecnológica tornou-se cada vez mais fácil e acessível o abastecimento de grandes quantidades de recursos à população. Em paralelismo, com o crescimento da população mundial e o aumento do poder de compra, sobretudo nos países desenvolvidos, surgiu um aumento acentuado do consumo de proteína animal, nomeadamente o consumo de pescado, uma fonte de proteína animal de qualidade. Porém, a pesca começou a não satisfazer as necessidades totais da população mundial, que se espera chegar aos 9,7 biliões até 2050 (FAO 2016). Torna-se assim crucial garantir uma alimentação e nutrição adequada para todos os indivíduos, evitando a diminuição abrupta das populações selvagens de pescado e sobre-exploração de recursos. A Aquacultura é e será uma alternativa económica e ecologicamente sustentável, encontrando-se cada vez mais este tipo de produção animal espalhada pelo Mundo.

A FAO estima que em 2014 e 2015 o consumo mundial de pescado chegou a um recorde superior a 20 kg *per capita*, sendo a Aquacultura a maior causa desse crescimento, uma vez que o contributo da indústria pesqueira se encontra praticamente estável desde 1985, como podemos constatar na figura 1.

Atualmente 50% dos peixes usados para alimentação, no Mundo, são provenientes da Aquacultura, uma das produções alimentares com um crescimento mais acentuado (FAO 2016). De 1960 para 2014 verificou-se um aumento de 20% na utilização do total de pescado (proveniente da pesca e da aquacultura) no consumo humano, correspondendo em 2014 a 87% da produção final de pescado, equivalente a 146 milhões de toneladas. Sendo que, apenas 21 milhões de toneladas destinadas a produtos não alimentares, como por exemplo farinha de peixe e óleo de peixe muitas vezes utilizados em rações para peixes de aquacultura (FAO 2016).

A produção de animais aquáticos, em Aquacultura, em 2014, chegou a 73,6 milhões de toneladas e um valor estimado de US\$ 160,2 bilhões. Destas, 49,8 de peixes, 16,1 de moluscos, 6,9 de crustáceos e 7,3 de outros animais marinhos, como anfíbios. Assim, esta atividade pluridisciplinar, que conjuga profissionais, investigadores e técnicos de diferentes áreas académicas (biólogos, engenheiros, economistas, químicos, veterinários), representa uma grande oportunidade de aumento da empregabilidade e melhoria da economia global. A China é o país que contribui com mais 60% da produção mundial em Aquacultura, seguida pela Índia, Vietnam, Bangladesh e Egipto (FAO 2016).

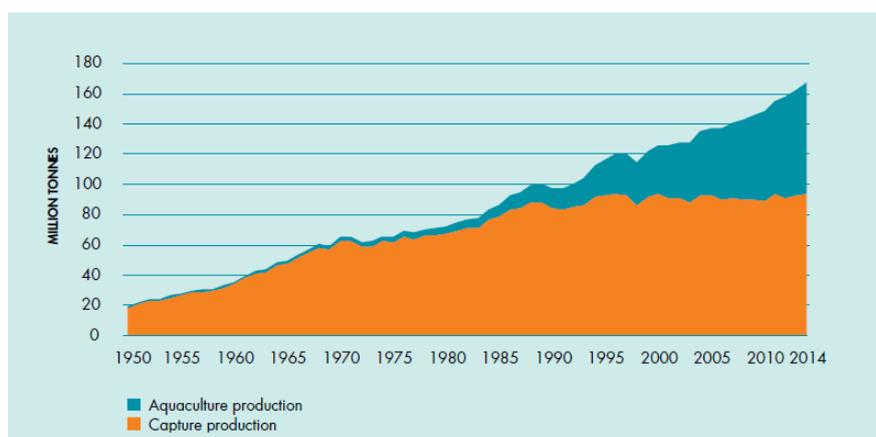


Figura 1: Total de toneladas capturadas na pesca e produzidas em aquacultura, de 1950 a 2014, separadas por cores. Azul representa o total de toneladas fornecidas pela produção em aquacultura, com um forte crescimento a partir de 1990. Cor-de-laranja representa o total de toneladas resultantes da pesca, com uma estabilização a partir de 1985. **Fonte:** (FAO 2016).

1.2 – Aquacultura em Portugal

Portugal é o maior consumidor, por habitante, de pescado na União Europeia (UE) e o terceiro a nível mundial, logo a seguir à Islândia e ao Japão. Com um consumo, em 2014, de 55,6 kg *per capita* por ano de peixe e produtos marinhos, a média portuguesa é superior à Europeia em 30 kg *per capita* (EUMOFA 2016). Porém, apesar de Portugal apresentar uma linha de costa de 1 214 km e uma ZEE (Zona Económica Exclusiva) de 1 656 km²

("Plano Operacional das Pescas 2007/2013"), fica apenas em 10º lugar na produção de produtos pesqueiros da UE, contribuindo com 188 mil toneladas nas 6,7 milhões de Toneladas produzidas pelos 28 países (EUROSTAT 2016).

No que diz respeito à produção nacional em Aquacultura, no ano 2015 foram produzidas 9 561 toneladas com uma receita associada de 54,1 milhões de euros, um decréscimo em relação ao ano anterior de 14,8% em toneladas, mas um aumento na receita total de 0,4% (INE 2017). As produções em águas marinhas e salobras correspondem a cerca de 91% do total e 19% a produções de peixes de água doce (Truta). Em 2015, das produções em águas marinhas e salobras, 44,9% corresponderam a produções de peixes marinhos (Pregado, Dourada e Robalo) e 55% a produções de moluscos bivalves (ameijoas, mexilhões e ostras) (INE 2017).

Em território nacional, no final de 2015, existiam 1 504 estabelecimentos licenciados para produção de aquicultura em águas doces, salobras e marinhas, uma quebra em relação a 2014, destas apenas 1 433 aquiculturas se encontravam ativas com produção. Dos estabelecimentos licenciados 99,5% correspondia a Unidades de engorda (viveiros para produção de moluscos bivalves, tanques para produção de peixe e estruturas flutuantes) e 0,5% correspondia a Unidades de reprodução (7 estabelecimentos dos quais apenas 3 se encontram ativos) (figura 2a).

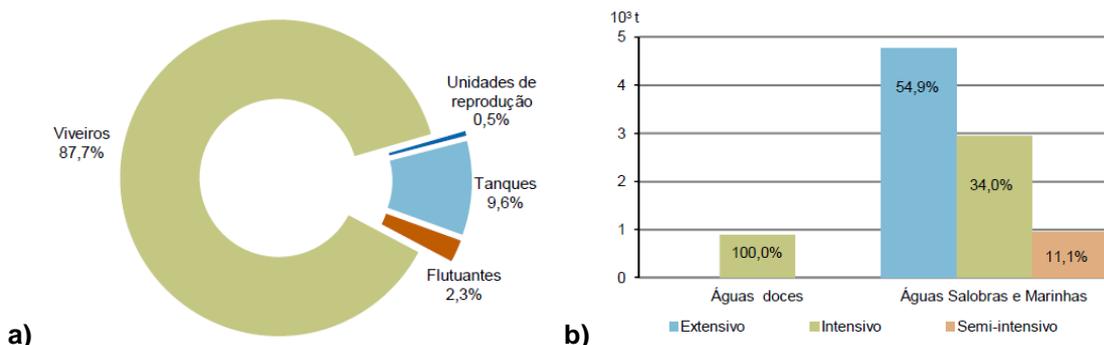


Figura 2: a) Tipos de estabelecimentos aquícolas licenciados, em Portugal, em 2015. b) Produções aquícolas por tipo de água e regime, em 2015 **Fonte:** DGRM, Estatísticas da aquicultura (INE 2017).

Segundo a FAO, até 2025 estima-se um aumento do consumo mundial de pescado em 31 milhões de toneladas, chegando às 178 milhões de toneladas totais, equivalente a um consumo médio mundial *per capita* de 21,8 kg/ano, 8% acima do atual valor de 20,2 kg. No seguimento da conseqüente sobre-exploração causada pela indústria pesqueira, podemos ainda afirmar que o único meio de suporte deste aumento do consumo de pescado apenas poderá ser suportado pelo aumento de produção em Aquacultura (FAO 2016).

1.3 – Breve descrição das etapas de produção de uma Aquacultura

O processo de produção de peixes em aquacultura é composto por várias etapas, que juntas completam o ciclo produtivo de cada espécie, estas etapas podem estar divididas em três grandes unidades de produção: Maternidade, Pré-Engorda e Engorda. Uma Aquacultura poderá possuir as três unidades simultaneamente, duas ou apenas uma, mas eventualmente uma Engorda dependerá de uma fonte externa de juvenis e uma Maternidade dependerá de compradores ou recetores dos seus juvenis.

Nas **Maternidades** é realizada a Reprodução, Incubação e Cultivo Larvar. Para a realização da primeira etapa são mantidos indivíduos adultos com capacidade reprodutiva e maturos (designados de Reprodutores) em tanques com condições ambientais geralmente controladas (temperatura, fotoperíodo e salinidade). A obtenção destes indivíduos pode ser por meio de capturas controladas de stocks selvagens ou aquisição de indivíduos adaptados ao cativeiro, provenientes de outras unidades. Dependendo da espécie e das necessidades de produção de cada aquacultura, as condições de manutenção podem ser idênticas ao meio natural ou alteradas artificialmente para realização de posturas fora da época reprodutiva natural. Quando há ocorrência de uma postura, os ovos são recolhidos, analisada a sua qualidade e posteriormente colocados em tanques de incubação, dando assim início a um novo ciclo produtivo.

Nas instalações da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO) os tanques de incubação são mantidos numa sala com temperatura controlada. Cada tanque possui uma entrada de água, com uma renovação entre 15 e 25% por hora, um sistema de arejamento de fraca intensidade e luminosidade natural. Depois da eclosão, as larvas são transferidas para tanques de cultivo larvar com uma densidade pré-definida (Pousão-Ferreira 2009).

Quando nascem, as pequenas larvas não apresentam sistema digestivo nem olhos funcionais, alimentando-se nos primeiros 2/3 dias das suas reservas lipídicas. Após a abertura da boca e o esgotamento das suas reservas, as larvas começam a sua adaptação ao alimento exógeno. Nas primeiras fases são fornecidas presas vivas (Rotíferos - *Brachionus spp.* (figura 3a), Artémias – *Artemia spp.* (figura 3b) e Copépodes (figura 3c)), sendo a quantidade fornecida sempre dependente do consumo dos indivíduos (Pousão-Ferreira 2009). Antes de serem utilizados para alimentação das larvas, rotíferos e artémia são rotineiramente enriquecidos com preparados lipídicos comerciais, para aumentar os seus níveis de ácidos gordos (EPA, DHA) e vitaminas, compostos extremamente importantes no crescimento, desenvolvimento e sobrevivência larvar (Colloca and Cerasi 2005; Engrola et al. 2009; Pousão-Ferreira 2009).

Nesta fase é ainda realizada uma técnica intitulada de “água verde”, que consiste na introdução de microalga concentrada (*Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*, *N. gaditana*, etc.) nos tanques de cultivo larvar, esta técnica possui várias vantagens, tais como: a alimentação e enriquecimento de rotíferos e artêmias que não foram consumidos, melhor contraste para a sua captura e ainda a estabilização físico-química da água, através do consumo de produtos azotados tóxicos para as larvas (Pousão-Ferreira 2009; Scott and Baynes 1979).

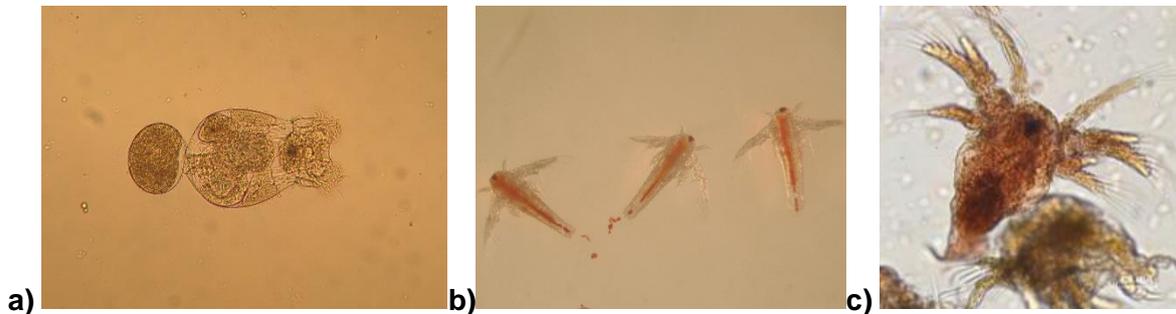


Figura 3: Exemplos de presas vivas para alimentação das larvas nas primeiras fases de vida. **a)** Rotífero - *Brachionus* spp. **Foto de:** Sara Castanho, IPMA-EPPO **b)** *Artemia* spp. **Fotos de:** Sara Castanho, EPPO-IPMA. **c)** Copépodes (*Planktonic AS*) **Foto de:** Mafalda Rocha, EPPO-IPMA.

Com o desenvolvimento constante das larvas começa o processo de introdução de alimento inerte na sua dieta e fim da introdução de alimento vivo. Vulgarmente chamado de “desmame”, o momento que ocorre esta substituição dependerá mais uma vez de vários fatores, como a espécie, a temperatura de cultivo, disponibilidade de ração, entre outros (figura 4). Esta passagem só é possível quando as larvas se deslocam em direção às partículas que entram na água, consumindo o alimento tanto na coluna de água como no fundo, entre os 20 e os 35 DAE (Dias Após Eclosão) (Gonçalves et al. 1991; Pousão-Ferreira 2009).

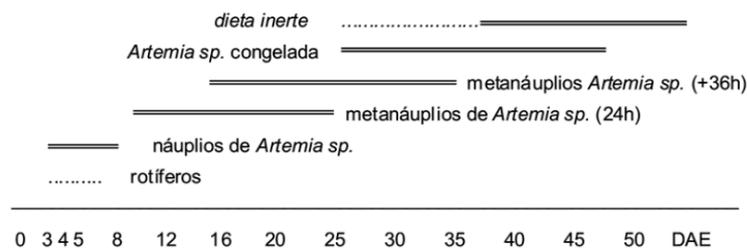


Figura 4: Plano de alimentação larvar dos 0 aos 50 Dias Após a Eclosão (DAE), com a utilização de Rotíferos, Artémia e dieta inerte (ração), em larvas de Linguado (*S. senegalensis*), a uma temperatura de ± 19 °C. **Fonte:** Pousão-Ferreira 2009, EPPO-IPMA.

Dependendo da organização da Maternidade, necessidades de venda e disponibilidade de espaços, quando os pequenos peixes atingem entre 1 a 2 g podem ser transferidos para unidades de **Pré-Engorda**, até chegarem às 20 – 40 g e serem alocados em tanques de **Engorda**, onde alcançarão em alguns meses o peso comercial para venda, dependendo da espécie, da temperatura da água, da qualidade dos juvenis e do alimento administrado (Pousão-Ferreira 2015).

A **Pré-Engorda** poderá ser uma zona protegida dentro dos tanques de Engorda ou uma zona de tanques independentes de menores dimensões dos principais, em terra, fibra de vidro, cimento ou outros materiais (figura 5). Para homogeneização e rentabilização dos lotes, nos tanques de Pré-Engorda poderão ser realizadas várias triagens, antes da colocação dos peixes nos tanques de engorda, diminuindo a competição pelo alimento. Esta zona poderá ainda servir como sistema de quarentena, no caso da compra de indivíduos a unidades externas à produção (ex: Maternidades), para melhor seguimento do seu estado de saúde e necessidades nutricionais (Pousão-Ferreira 2015).

Após pesca, desocupação dos tanques de **Engorda** (figura 5) e recuperação dos seus fundos (por vezes realizado vazio sanitário), os juvenis da pré-engorda poderão ocupar os novos tanques e então novos juvenis podem ser adquiridos para a pré-engorda, permitindo uma produção contínua na unidade. Dependendo do sistema de cultivo a alimentação será realizada de diferentes formas: em regimes intensivos o alimento composto comercial é fornecido diariamente utilizando alimentadores automáticos ou fornecida manualmente; em regimes extensivos os animais alimentam-se do alimento natural existente nos tanques de terra, assemelhando-se ao selvagem; e por fim, no caso de regimes semi-intensivos apesar dos indivíduos serem maioritariamente alimentados a ração, também poderão se alimentar do alimento natural disponível nos tanques de terra (Bosman and Verdejem 2011; Ferreira 2017; Lucas and Southgate 2012).

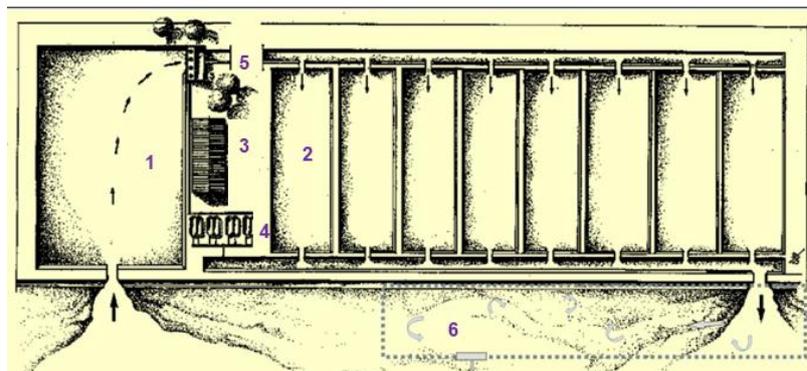


Figura 5: Representação esquemática de Unidade Piscícola em regime semi-intensivo. **1** – Reservatório. **2** – Tanques de Engorda. **3** – Estação de bombagem. **4** – Tanques de pré-engorda. **5** – Edifício de apoio. **6** – Recepção de efluentes. **Fonte:** (Pousão-Ferreira 2015).

1.4 – Corvina – *Argyrosomus regius* (Asso, 1801)

A corvina-legítima, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801), é um peixe teleósteano da família *Sciaenidae* (Stipa and Angelini 2005), semi-pelágico com tendência demersal, facilmente encontrado em águas litorais até aos 80 m (Quero and Vayne 1985) e distribuído em águas subtropicais, como o Mar Mediterrâneo e o Mar Negro, e ao longo das costas atlânticas da Europa e África (Poli et al. 2003). Com uma cor cinza prateada, uma cabeça relativamente grande e um corpo alongado, pode chegar aos 2 m de comprimento e 50 kg de peso (Stipa and Angelini 2005), sendo reconhecida pela sua linha lateral evidente e capacidade de produção de sons usando a bexiga natatória como câmara de ressonância (Nelson et al. 2016) (figura 6a).

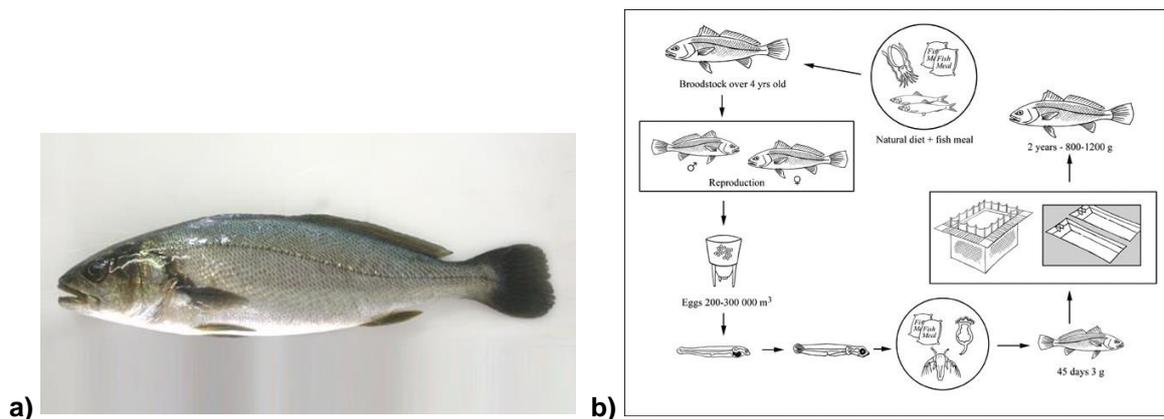


Figura 6: *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). **a)** Exemplar de corvina (*A. regius*). **Fonte:** IRIDA's research for meagre culture. **b)** Ciclo de produção de corvina. **Fonte:** (Stipa and Angelini 2005).

A corvina é uma espécie carnívora, extremamente voraz e com uma dieta à base de poliquetas, crustáceos, equinodermes, moluscos e pequenos peixes (Jiménez et al. 2005), desloca-se em pequenos grupos e entre os meses de abril e junho migra de águas profundas para áreas costeiras, como estuários e salinas, para desovar (Monfort 2010). Uma fêmea pode produzir cerca de 800 000 ovos, sendo que as desovas ocorrem a temperaturas entre os 17 e os 22 °C (Stipa and Angelini 2005).

Os ovos fertilizados de corvina são esféricos e transparentes, pelágicos e de aspeto ligeiramente amarelado a olho nu, com diâmetros entre 0,9 e 1,1 mm. 96 Horas após eclosão o saco vitelino das pequenas larvas está quase consumido, a boca aberta e começa a sua adaptação à alimentação exógena, sendo a temperatura ideal para alimentação das larvas entre 20 a 21 °C (Stipa and Angelini 2005). Segundo vários estudos esta é uma espécie de rápido desenvolvimento larvar, elevada sobrevivência e muito suscetível aos parâmetros de criação durante a sua fase larvar (Abreu et al. 2009; Pousão-Ferreira et al. 2010).

Considerada uma carne de elevada qualidade, devido ao seu elevado teor de ácidos gordos polinsaturados, a partir do ano de 1999 houve um aumento da procura de corvina por parte do consumidor, principalmente com pesos superiores a 2 kg, o que a levou a preços entre os 7 – 12 EUR por kg (Stipa and Angelini 2005). Em adição, características como a relativa facilidade de manutenção dos reprodutores e obtenção de ovos de qualidade, a criação relativamente fácil das larvas com alimento vivo e inerte industrializado, crescimento rápido, bons índices de conversão e o facto dos juvenis não maturarem durante a fase de crescimento concede à corvina um elevado potencial em Aquacultura (Costa et al. 2013; Duncan et al. 2013; Manánós et al. 2008; Monfort 2010; Ribeiro et al. 2015, 2013; Saavedra et al. 2017; Soares et al. 2015) (figura 6b).

1.5 – Dourada – *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758)

A dourada, *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758), é um peixe teleósteo da família *Sparidae*, bento-pelágico com comportamento demersal, distribuído pelo Mar Mediterrâneo, muito raramente no Mar Negro, e presente ao longo da costa este do Atlântico desde as Ilhas Britânicas ao Senegal (Bauchot et al. 1981; Colloca and Cerasi 2005; Morretti et al. 1999). Esta é uma espécie eurialina e costeira, habitando águas relativamente rasas de fundos rochosos, arenosos ou tapetes de ervas marinhas e geralmente em profundidades até aos 30 m, mas enquanto adultos podem mesmo chegar até aos 50 m (Morretti et al. 1999).

Com um corpo oval, de cor cinza prateada e cabeça regularmente curvada é caracterizada por possuir uma faixa frontal dourada entre os olhos, uma grande mancha preta no início da linha lateral, que se estende até à margem superior do opérculo e pontas da barbatana caudal com bordas pretas, podendo chegar até aos 70 cm de comprimento, sendo mais comuns indivíduos até aos 35 cm (Bauchot et al. 1981; Morretti et al. 1999) (figura 7a). Geralmente com comportamento solitário, em fase adulta, ou que forma pequenos grupos, principalmente nas primeiras fases de vida, é principalmente carnívoro com dieta à base de moluscos, em particular mexilhões que conseguem facilmente partir, crustáceos e peixes, mas também acessoriamente herbívoro (Morretti et al. 1999).

A dourada é uma espécie hermafrodita protândrica, os machos atingem a maturidade com cerca de 1 ano e 20 cm de comprimento, tornando-se fêmeas quando atingem cerca de 30 cm e 2 anos de idade, mas esta mudança pode ainda ser controlada por “condições sociais”, isto é, quando o número de fêmeas grandes diminui em relação ao número de machos pequenos. Com um período de desovas entre o mês de janeiro e o mês de maio, já foram registadas posturas a temperaturas entre os 14 e os 20 °C, apesar da temperatura ótima para desova estar entre os 15 e os 17 °C e parando a temperatura superiores a 24 °C (Manánós et al. 2008; Morretti et al. 1999).

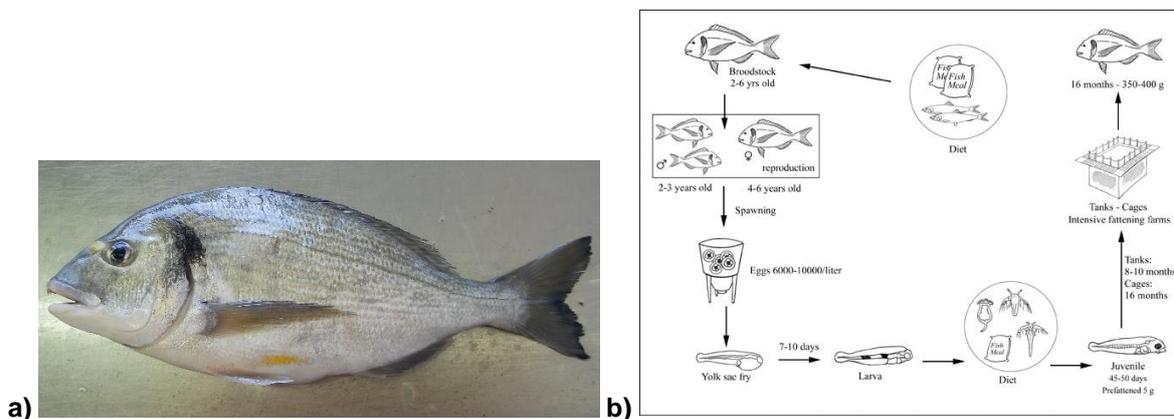


Figura 7: *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758). **a)** Exemplar de dourada (*S. aurata*). **Fonte:** EPPO- IPMA. **b)** Exemplo de ciclo de produção em sistema intensivo de Dourada. **Fonte:** FAO.

Os ovos fertilizados de dourada são pelágicos, esféricos e transparentes, com apenas uma gota lipídica e diâmetro aproximado de 1 mm (Morretti et al. 1999). Até 4 dias após eclosão as larvas abrem a boca, pigmentam os olhos e estão aptas para capturar pequenos organismos. Na maioria dos sistemas de produção, os primeiros organismos vivos introduzidos são os rotíferos (*Brachionus spp.*), de seguida artêmias (*Artemis spp.*) e por fim alimento inerte de alto teor de proteína (50 a 60%) (Colloca and Cerasi 2005) (figura 7b).

Em Aquicultura, a dourada pode ser produzida tanto em jaulas marinhas como “on-shore”, em sistemas de recirculação (RAS) ou em tanques de terra (Seginer 2016), sendo comercializada fresca, congelada ou utilizada para produção de farinha e óleo de peixe (Colloca and Cerasi 2005). Mas, apesar da carne de dourada ser bastante “estimada” pelos consumidores, o mercado convencional tornou-se saturado e entre o ano de 2000 e 2003 o preço da dourada de aquicultura colapsou, sendo atualmente no mercado europeu, para indivíduos de 350 g, aproximadamente 5,50 EUR por kg. Com um custo estimado de produção que poderá ficar entre os 3 – 4 EUR, dependendo do sistema de cultivo, torna-se extremamente difícil para as aquaculturas obterem lucros (Colloca and Cerasi 2005; Murias 2018).

Para futuro crescimento do sector são necessários sistemas de produção mais eficazes, melhoramento de métodos de marketing e aplicação de novas tecnologias, tendo sempre em conta a necessidade de minimizar o potencial impacto das práticas de aquicultura nas zonas costeiras. Ao longo dos últimos 30 anos foram ainda realizados inúmeros estudos sobre o crescimento desta espécie, especialmente em jaulas marinhas, resultando em vários modelos de crescimento, essenciais para uma gestão racional da produção, nomeadamente, uma correta alimentação e manuseamento do peixe em todo o ciclo produtivo (Seginer 2016).

1.6 – Linguado – *Solea senegalensis* (Kaup, 1858)

O linguado, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858), é um peixe teleósteano da família *Soleidae*, com comportamento demersal, que vive em fundos arenosos ou lamacentos. Distribuído naturalmente pelas águas do Atlântico Este, do Golfo da Biscaia até ao Senegal, e pelo Mediterrâneo, pode ser encontrado em lagoas salobras com águas rasas ou áreas costeiras com profundidades até 100 m (Colen et al. 2014; Imsland 2010). Peixe chato com um corpo oval e assimétrico (olhos do lado direito), apresenta uma cor castanha acinzentada no lado dos olhos, com manchas escuras grandes e difusas e uma coloração branca no lado cego (figura 8a). O tamanho médio de um adulto é de 30 a 40 cm, mas podem mesmo atingir 70 cm de comprimento padrão, alimenta-se de pequenos invertebrados bentônicos, principalmente de poliquetas e moluscos bivalves e em menor quantidade de pequenos crustáceos (Colen et al. 2014).

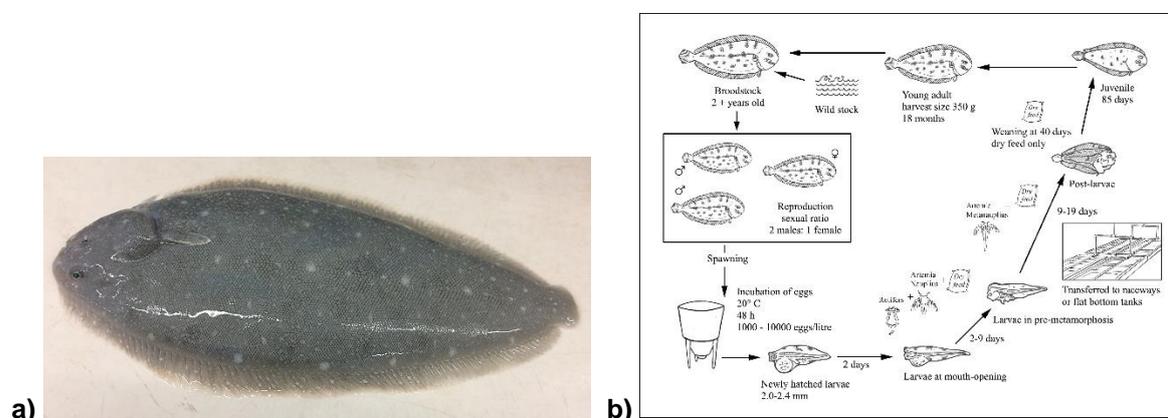


Figura 8: *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). **a)** Exemplar de linguado (*S. senegalensis*). **Fonte:** EPPO-IPMA. **b)** Ciclo de produção de Linguado. **Fonte:** FAO.

Em linguados, o principal período de desova é durante a primavera, entre o mês de março e o mês de junho, mas também poderá ocorrer um período menos importante no outono (Morais et al. 2016). Estes períodos são altamente dependentes das temperaturas, que devem permanecer entre os 15 e os 20 °C, e também controlados pelo fotoperíodo (Colen et al. 2014; Dinis et al. 1999; Morais et al. 2016). Apesar de crescerem mais rápido, as fêmeas ficam sexualmente maduras mais tarde do que os machos, com 3 anos e um total de comprimento de 32 cm (Colen et al. 2014; Dinis et al. 1999), apresentando fecundidades de cerca de 100 000 ovos por kg de indivíduo, por dia (Martín et al. 2014; Morais et al. 2016).

Os ovos fertilizados de linguado são esféricos e transparentes, pelágicos e de aspeto amarelado, com inúmeras gotas lipídicas indiferenciadas e diâmetros entre 1,0 e 1,4 mm. O normal desenvolvimento larval é observado entre os 16 e os 23 °C (Engrola et al. 2009),

e 2 a 3 dias após a eclosão, as pequenas larvas pelágicas e de natação livre, abrem a boca e começam a sua procura por alimento exógeno. Como primeira refeição as larvas podem ser alimentadas com rotíferos enriquecidos e, ao fim de 3 dias, introduzidos náuplios de artémia (Colen et al. 2014; Engrola et al. 2009), podendo mesmo aceitar diretamente náuplios de artémia, como primeira presa (Dinis et al. 1999). 9 a 10 DAE são introduzidos meta-náuplios de artémia (24h) enriquecidos com ómega-3 (ácido gordo ω -3 polinsaturado). Nesta fase começa ainda a metamorfose que estará completa aos 19 DAE, iniciando assim a sua fase bentónica e podendo ser alimentados com artémia congelada até à introdução de ração (Colen et al. 2014; Engrola et al. 2009) (figura 8b).

Em Aquacultura, o linguado pode ser produzido em tanques de terra, geralmente em policulturas com douradas e robalos, em sistemas extensivos ou semi-intensivos, principalmente encontrados no sul da Europa, Portugal e Espanha. Pode ainda ser encontrado em sistemas de produção intensiva, combinando tanques *raceway* de águas rasas com sistemas de aquacultura de recirculação (RAS), atingindo melhores condições de crescimento e consequente elevada produção, um indivíduo de 5 g leva cerca de 16 a 18 meses a atingir o peso comercial de 350 g (Colen et al. 2014; Imsland 2010; Morais et al. 2016). Apesar da sua elevada vulnerabilidade a doenças, reduções de crescimento devido a elevadas densidades, anomalias na pigmentação e malformações na migração do olho, vantagens como desovas naturais de reprodutores selvagens, rápido crescimento larvar, elevada sobrevivência, elevado valor no mercado europeu e procura por parte do consumidor (Dinis et al. 1999; Morais et al. 2016) fazem do linguado uma espécie com um potencial importante para a aquacultura marinha, com perspectivas de negócios de sucesso (Castro et al. 2012; Morais et al. 2016).

1.7 – Sargo - *Diplodus sargus* (Valenciennes, 1830)

O sargo legítimo, *Diplodus sargus* (Valenciennes, 1830), é um peixe teleósteo da família *Sparidae*, bento-pelágico com comportamento demersal, distribuído pelo Mar Mediterrâneo, pelo Mar Negro e pela Costa Atlântica, da Baía de Biscaia a Cabo Verde, de Angola a África do Sul, incluindo Madeira e Canárias (Tortonese and Cautis 1967). Costeiro e que habita fundos rochosos com areia, pode chegar a profundidade até aos 150 m, mas mais abundantemente é encontrado em zonas de rebentação. Os Juvenis surgem em pradarias de ervas marinhas de *Zostera* e utilizam estuários como maternidades (FAO 2014; Fischer et al. 1987). Com um corpo oval e cor cinza prateada, é caracterizado pela presença de 9 faixas transversais ao longo do corpo, alternadamente escuras e claras, uma mancha negra na parte superior do pedúnculo caudal e uma barbatana caudal forçada

e de bordas pretas (figura 9), podendo chegar até ao comprimento máximo de 45 cm, são mais comuns indivíduos até aos 25 cm. Os juvenis são omnívoros, comendo principalmente algas, pequenos moluscos e hidrozoários, e os adultos são carnívoros, alimentando-se de moluscos, crustáceos e equinodermes (FAO 2014; Fischer et al. 1987).

O sargo é uma espécie hermafrodita protândrica, os machos podem converter-se em fêmeas quando o número na população diminui, assegurando uma adequada proporção de ambos os sexos. A maturidade sexual é atingida aos 2 anos de idade, com aproximadamente 17 cm e a época reprodutiva decorre na primavera entre o mês de março e o mês de junho, quando a temperatura sobe de 15 para 18 °C (Morato et al. 2003; Mouine et al. 2007).

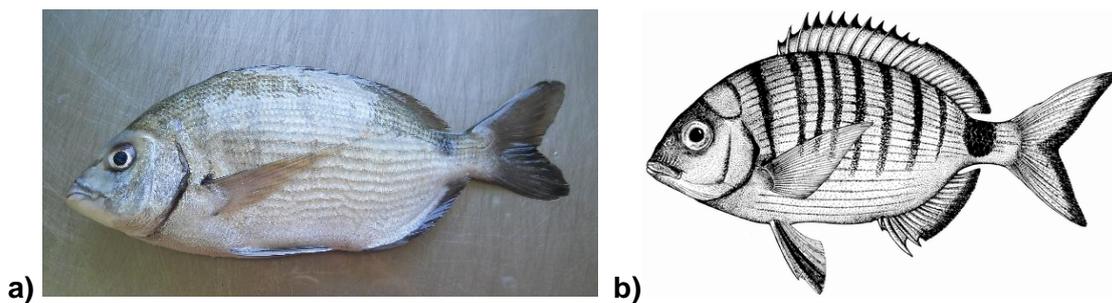


Figura 9: *Diplodus sargus* (Valenciennes, 1830). **a)** Exemplar de sargo legítimo. **Fonte:** EPPO-IPMA. **b)** Desenho representativo de um exemplar. **Fonte:** FAO.

Os ovos fertilizados de sargo são pelágicos, esféricos e transparentes, com apenas uma gota lipídica e diâmetro aproximado de 1 mm. 3 DAE, com o saco vitelino absorvido, abrem a boca, pigmentam os olhos e começam a alimentação exógena (Cejas et al. 2004). Tomando como exemplo o protocolo alimentar descrito em Saavedra et al. 2006, dos 3 aos 20 DAE as larvas são alimentadas com *Brachionus spp.* enriquecidos, aos 12 DAE são introduzidos náuplios de artémia e dos 17 aos 39 DAE meta-náuplios de artémia (24h) enriquecidos, começando-se simultaneamente a partir dos 25 DAE a introdução de alimento inerte.

Com alto valor comercial, verificam-se por vezes preços superiores aos de dourada e robalo (Sá et al. 2008), o que tem atraído um elevado interesse por parte dos piscicultores desde 1980, considerando-se um alvo potencial para a diversificação da aquacultura (Golomazou et al. 2006). Porém apesar das várias tentativas da sua introdução na aquacultura mediterrânea, desvantagens como o crescimento lento em cativeiro após um ano de vida, reduzem a rentabilidade da produção comercial (D'Anna et al. 2004).

1.8 – Reprodução

O controlo e sucesso da reprodução é um dos fatores mais importantes numa aquacultura, sendo a compreensão da biologia reprodutiva das espécies um ponto fulcral no desenvolvimento da mesma. Os peixes possuem um aparelho reprodutivo simples, formado por ovários ou testículos e na maioria das espécies os ciclos reprodutivos são regulados por estímulos ambientais, geralmente relacionados com as estações climáticas (Moreira et al. 2001). Recetores sensoriais captam esses estímulos, enviam sinais neurais ao hipotálamo, provocando a libertação de hormonas que quando chegam à hipófise induzem a libertação da hormona folículo estimulante (FSH) e da hormona luteinizante (LH), que irão atuar nas gónadas. Em resposta, são produzidas hormonas esteroides sexuais responsáveis pela formação e desenvolvimento dos gametas (Moreira et al. 2001).

A maturidade sexual é caracterizada pela capacidade que o peixe tem de produzir gametas viáveis, sendo esta dependente da espécie e do seu ciclo de vida, da idade, do tamanho dos indivíduos, da alimentação, da temperatura e fotoperíodo a que estão submetidos e da presença do sexo oposto (Moreira et al. 2001).

Na maioria das espécies de peixes marinhos, nomeadamente nas espécies em estudo, a emissão dos gametas ocorre no período noturno, os oócitos são fertilizados externamente, resultando em ovos pelágicos. Por terem na sua constituição gotas lipídicas, a uma salinidade superior a 32 os ovos flutuam (Moreira et al. 2001), podendo ser recolhidos, através de correntes controladas, por coletores posicionados à saída do tanque de reprodutores (figura 10). Com diâmetros compreendidos entre 0,5 e 5,5 mm, a sua maioria apresenta uma forma esférica e um diâmetro de córion perto de 1 mm (Ré and Meneses 2008), assim os reprodutores podem produzir milhões de ovos durante a desova (Osse and Van Den Boogaart 1995).

Um elevado número de estudos demonstrou que um dos principais fatores que pode influenciar a qualidade dos ovos é a saúde e condições de manutenção dos reprodutores (Bobe and Labbé 2010). A performance reprodutiva pode ser influenciada por nutrientes que constituem a dieta (proteínas, lípidos, minerais e vitaminas) (Zakeri et al. 2009), pela temperatura ambiental, um dos parâmetros mais importantes, que pode mesmo inviabilizar os ovos ou parar as posturas, pela idade dos progenitores, pelo tempo dos seus ciclos de desova e pelos fatores genéticos (Kjørsvika et al. 2003).

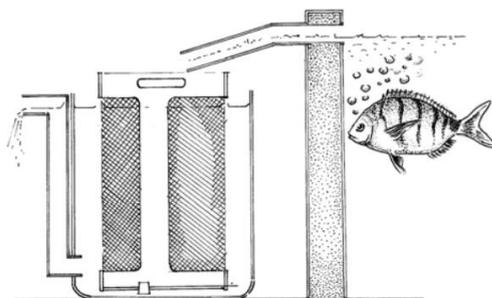


Figura 10: Sistema de recolha de ovos com utilização de um coletor com uma rede de 500 µm à saída do tanque de reprodutores. **Fonte:** (Pousão-Ferreira 2015).

1.9 – Desenvolvimento embrionário e larvar

A qualidade do ovo pode ser definida como o potencial que um ovo tem para produzir um alevim viável (Bobe and Labbé 2010; Kjørsvika et al. 2003), sendo que alguns dos bons indicadores dessa qualidade são: a taxa de fertilização; a simetria de estados inicial de clivagem; o tamanho dos ovos; o diâmetro da vesícula lipídica; a composição proteica do vitelo; entre outros (Kohn and Symonds 2012). Como tal, o conhecimento do estado embrionário e larvar dos peixes pode ser um meio para o desenvolvimento de uma aquacultura de sucesso sob meios controlados (Cerqueira 2005).

O período compreendido entre a fertilização e a eclosão do ovo é designado por embriogénese (Kimmel et al. 1995), ao qual se sucede a fase larvar, sendo que a duração destas fases pode variar consoante a temperatura a que os indivíduos são mantidos. Como o desenvolvimento dos ovos e larvas de peixes marinhos, com ovos pelágicos, apresentam um padrão semelhante (Falk-Petersen 2005), a baixo servem de exemplo diversas espécies para a ilustração do desenvolvimento embrionário e larvar em peixes marinhos.

O **desenvolvimento embrionário** pode ser dividido em 7 estados de desenvolvimento, do Zigoto à Eclosão, de possível identificação à lupa ótica (figura 11). Para identificação de cada fase de desenvolvimento foram descritas as principais características morfológicas de cada estado:

Ovo recém-fertilizado – Zigoto:

Após fertilização, o óvulo translúcido torna-se num ovo fertilizado, um pequeno corpo esférico rodeado pelo córion, uma membrana extraembrionária separada da membrana interna vitelina, pelo espaço peri-vitelino (Cucchi et al. 2012). Nesta fase ocorre a formação de uma massa celular no polo animal, localizada sobre o vitelo, a blastoderme (figura 11a). No vitelo pode existir uma ou mais gotas lipídicas “flutuantes” e este vai diminuindo progressivamente ao longo do tempo, extinguindo-se apenas 7 a 8 dias após a eclosão (Cucchi et al. 2012; Gallego et al. 2017).

Clivagem – Mórula:

O período de clivagem é caracterizado pela ocorrência de sucessivas divisões celulares mitóticas, em que uma célula única, o primeiro blastómero, é dividido num número crescente de células mais pequenas, que diminuem de tamanho a cada divisão (Gallego et al. 2017) (figura 11b/c).

Blástula:

Na oitava clivagem, quando atingidas as 128 células, dá-se início ao período de blástula (figura 11d). Alcançadas as 256 células, torna-se evidente uma estrutura em forma de chapéu, com uma configuração estratificada irregular (figura 11e). Nesta fase o limite entre a blastoderme e o vitelo torna-se perceptível através da camada sincicial (figura 11f), uma fina faixa circular que vai aumentando o perímetro após movimentos epibólicos sobre o vitelo (Cucchi et al. 2012).

Gástrula:

Durante este período, à medida que o embrião se desenvolve, o vitelo é “puxado” em direção às células embrionárias situadas no polo animal, evoluindo para uma estrutura esférica bem definida, em forma de “cúpula” (Gallego et al. 2017) (figura 11g). Até ao final da fase de gastrulação, o saco vitelino é praticamente coberto pela fina camada de blastoderme e o comprimento do embrião iguala o diâmetro do ovo, sendo o movimento das camadas celulares quantificado em percentagem (%) de epibolia (Thépot and Jerry 2015) (figura 11h/i/j).

Nêurula:

O período de segmentação é caracterizado pela formação de estruturas metamerizadas emparelhadas, os somitos (figura 11l). Nesta fase ocorre o alongamento do embrião, com a extensão da cauda, a sua separação da membrana vitelina e o aparecimento de uma membrana ao redor da gota lipídica. Posteriormente há um aumento no número de cromatóforos e iridóforos (figura 11m) e o início de movimentos irregulares (Cucchi et al. 2012) (figura 11n).

Eclosão:

Movimentos de contração aumentam em intensidade e frequência e, após dissolução enzimática da membrana do ovo, com a ajuda da cabeça as larvas rompem o córion e libertam-se para o meio aquático (Leu et al. 2018) (figura 11o).

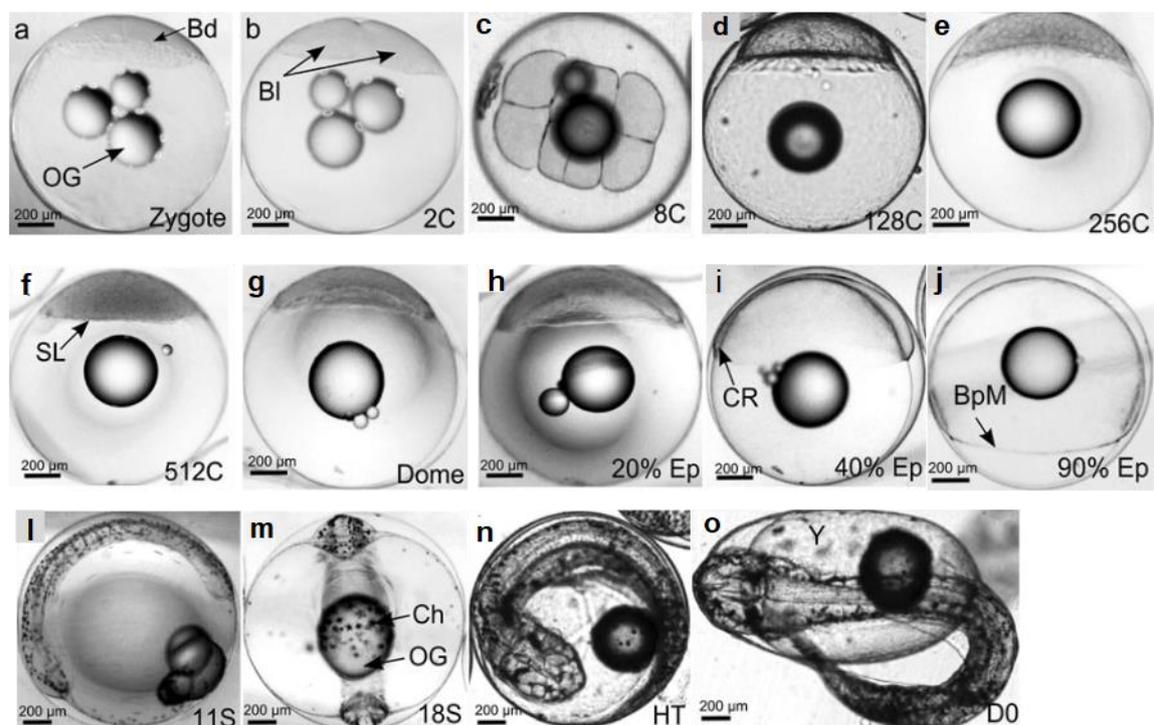


Figura 11: Desenvolvimento embrionário em *Dicentrarchus labrax*. **a)** Zigoto, 1 célula, **OG** – gota lipídica, **Bd** – blastoderme. **b)** Mórula – primeira clivagem, 2 células (2C), **BI** – blastómeros. **c)** Mórula - terceira clivagem, 8 células (8C). **d)** Blástula – oitava clivagem, 128 células (128C). **e)** Blástula – 256 células (256C). **f)** Blástula – 512 células (512C), **SL** – camada sincicial. **g)** Gástrula. **h)** Gástrula – 20% Epibolia. **i)** Gástrula – 40% Epibolia, **CR** – região cefálica. **j)** Gástrula – 90% Epibolia, **BpM** – margem do blastóporo. **l)** Nêurula – 11 somitos. **m)** Nêurula – 18 somitos, **Ch** – cromatóforos. **n)** Início da eclosão – **HT**. **o)** Larva recém eclodida, **D0** – 0 DAE. (Cucchi et al. 2012)

Após eclosão, dá-se início ao **desenvolvimento larvar**. Já pigmentadas, as larvas possuem um grande saco vitelino elíptico, com uma gota lipídica localizada na área ventro-posterior e um coração com batimentos visíveis à lupa ótica. Apresentam movimentos de natação irregulares e descontrolados e o corpo quase todo coberto por uma barbatana primordial (figura 12a – 0 DAE). A retina do olho ainda não está pigmentada e ainda não tem a boca nem e ânus funcionais (Firat et al. 2005; Leu et al. 2018).

1 DAE o saco vitelino poderá ter sofrido reduções superiores a 50%, o trato digestivo começa a surgir e a desenvolver-se e ocorrem algumas alterações a nível pigmentar, numerosos cromatóforos/melanóforos ramificados espalham-se pela cabeça, corpo, saco vitelino e gota lipídica (Cucchi et al. 2012; Firat et al. 2005) (figura 12a – 1 DAE).

3 DAE, dependendo da espécie e da temperatura de cultivo, a boca está completamente aberta, o desenvolvimento do ânus está completo, aparecendo uma projeção no lado terminal do sistema digestivo (Firat et al. 2005) (figura 12a – 3 DAE). O corpo e o notocórdio encontram-se retos e com o desenvolvimento progressivo de barbatanas dorsais e ventrais as larvas apresentam movimentos mais coordenados (Cucchi et al. 2012; Firat et al. 2005), começando a sua busca por alimento exógeno, fulcral

para a sobrevivência da larva, já que a qualquer momento as suas reservas lipídicas estarão completamente absorvidas.

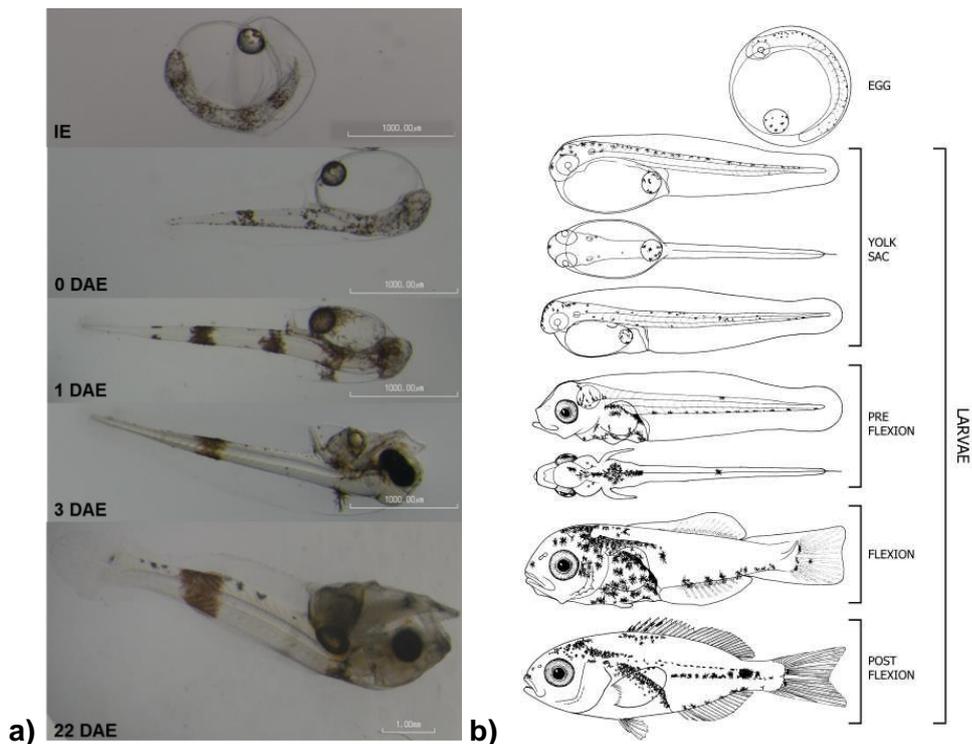


Figura 12: Desenvolvimento larvar. **a)** Primeiros estados de desenvolvimento em *A. regius*. Fotos recolhidas pelo autor, EPPO-IPMA. **b)** Desenvolvimento em *D. sargus* baseado no estado de flexão da seção terminal do notocórdio (Brownell 1979).

Posteriormente, 6 a 12 DAE, ocorre a formação da bexiga natatória, responsável pela flutuabilidade e localizada acima do intestino (Leu et al. 2018), facilmente identificável à lupa ótica. De seguida, o corpo fica mais pigmentado e começa a flexão da seção final do notocórdio (Leu et al. 2018) (figura 12a – 22 DAE). Aproximando-se o final da fase larvar (figura 12b), dá-se início à fase de transformação, onde ocorre a transição para juvenil, caracterizada pelas alterações na forma geral e de detalhes estruturais do indivíduo (Ré and Meneses 2008).

1.10 – Parâmetros Ambientais:

Desde há muito tempo que a influência de fatores ambientais e os seus efeitos no crescimento e reprodução em peixes tem sido alvo de estudo (Boeuf and Le Bail 1999). O conhecimento e determinação de parâmetros ótimos para as larvas é necessário para o desenvolvimento de protocolos de cultivo, possibilitando maximizar a produção em maternidades (Hart et al. 1996). Três das variáveis mais importantes em aquaculturas são: o **fotoperíodo**, a **temperatura** e a **salinidade**. A sua otimização e obtenção do correto

equilíbrio, pode resultar em melhores taxas de crescimento e sobrevivência, redução no período de cultivo larvar e conseqüente redução nos custos de produção (Hart et al. 1996). Adicionalmente, fatores como o pH, a disponibilidade de oxigênio e a presença de “tóxicos naturais”, como a amônia, podem também influenciar a capacidade de desenvolvimento e crescimentos dos indivíduos, já que estão envolvidos no controle de funções fisiológicas (Boeuf and Le Bail 1999).

1.10.1 – Fotoperíodo

Em peixes teleósteos, a luz é um fator ambiental chave, influenciando todos os seus estados de vida, desde o desenvolvimento embrionário à maturação sexual nos adultos (Villamizar et al. 2011). Em larvicultura, o efeito de diferentes fotoperíodos tem sido alvo de estudo, com o principal objetivo de melhoramento do crescimento e sobrevivência larvar e conseqüente aumento de produção (Blanco et al. 2017; Hart et al. 1996; Stuart and Drawbridge 2012; Villamizar et al. 2011). Blaxter 1968 demonstrou que as larvas de peixes marinhos dependem de estímulos visuais para caçar e capturar as suas presas. Por esta razão, em culturas intensivas é comum prolongar a duração da luz do dia para maximizar as taxas de ingestão, juntamente com o fornecimento de altas concentrações constantes de presas durante esses períodos (Blanco et al. 2017). Contudo, o fornecimento de alimento representa um dos maiores custos numa aquacultura e um dos principais fatores que determina o lucro de uma produção intensiva (Blanco et al. 2017).

Apesar de alguns estudos provarem os benefícios de 24 h (horas) de luz contínua ou o prolongamento para 18 h de luz com 6 h de escuridão (Blanco et al. 2017; Hart et al. 1996; Shi et al. 2010), em outros foram encontrados efeitos negativos nas larvas, como: danos no processo metamórfico, gerando desenvolvimentos anormais (Cañavate et al. 2006); manifestação de comportamentos mais agressivos e canibalismo (Vallés and Estévez 2013); e em alguns casos, efeitos prejudiciais na sobrevivência dos indivíduos (Hart et al. 1996). Adicionalmente, com o aumento do período de luz, as larvas nadam mais ativamente e conseqüentemente consomem mais energia. Villamizar et al. 2009 demonstrou que larvas de robalo (*Dicentrarchus labrax*), expostas a uma fonte de luz constante, esgotam as suas reservas lipídicas endógenas dois dias mais cedo do que as cultivadas sob constante escuridão.

Em resumo, os efeitos do fotoperíodo são específicos de cada espécie, algumas precisam de uma fase escura para insuflação das suas bexigas e outras mostram melhoramento das taxas de insuflação com fases de luz mais prolongadas (Stuart and Drawbridge 2012; Villamizar et al. 2011; Woolley and Qin 2010). Torna-se assim

importante, determinar o fotoperíodo e horário de alimentação adequado, para garantirmos uma produção larvar mais eficiente e saudável (Blanco et al. 2017).

Neste trabalho para identificação dos fotoperíodos foi utilizada a nomenclatura “*Light:Dark*” utilizada em (Villamizar et al. 2011, 2009).

1.10.2 – Temperatura

A temperatura é um dos fatores abióticos mais importantes na vida dos organismos aquáticos. Os ovos e larvas de muitos dos peixes marinhos são euritérmicos, contudo a sua tolerância para determinadas temperaturas vai depender da espécie, pode variar durante a ontogenia e pode ser influenciada pelas condições ambientais a que os progenitores foram submetidos (Blaxter 1968; Fielder et al. 2005). Vários estudos demonstraram que a temperatura, como fator fisiológico, tem efeito no desenvolvimento e sobrevivência dos ovos e larvas de peixes (Geffen et al. 2006; Gracia-López et al. 2004; Imsland et al. 2018b; Jonsson and Jonsson 2014; Sund and Falk-Petersen 2005).

Durante a época de reprodução e desova, dependendo das espécies, tanto altas como baixas temperaturas poderão ter um impacto negativo na qualidade dos ovos (Bobbe and Labbé 2010). No desenvolvimento embrionário foram descritos quatro períodos particularmente sensíveis à temperatura: clivagem, início da gastrulação, surgimento do embrião e fecho do blastóporo (Imsland et al. 2018a; Kazuyuki et al. 1988). Já no desenvolvimento larvar, alterações nas temperaturas poderão influenciar: a taxa de eclosão e o tamanho dos indivíduos; a eficiência da utilização e absorção do vitelo; o tempo para a primeira alimentação; as taxas de alimentação e crescimento; a sobrevivência; o comportamento e velocidade de natação; a digestão e taxas de evacuação intestinal; e a necessidade metabólica (Berlinsky et al. 2004; Blaxter 1968; Fielder et al. 2005; Gracia-López et al. 2004; Hardy and Litvak 2004; Hart et al. 1996; Johnston and Mathias 1994; Shi et al. 2010; Sund and Falk-Petersen 2005).

Os efeitos da temperatura no cultivo larvar tem sido algo de estudo por parte da comunidade científica, sendo sempre importante determinar a escala de temperaturas ideal para cada espécie, resultando numa produção larvar mais rentável.

1.11 – Alterações Climáticas

O clima terrestre é dinâmico, registando-se várias mudanças ao longo da sua história. Porém, enquanto que no passado estas mudanças foram atribuídas a causas naturais, as recentes alterações no clima têm sido associadas ao aumento nas emissões de gases de

efeito de estufa, causadas por atividades antropogênicas (Brierley and Kingsford 2009; Doney et al. 2012; Godbold and Calosi 2013; Madeira et al. 2016). Como consequência, o Oceano está a ficar mais quente, menos oxigenado e com menor pH, alterando o crescimento, a reprodução, a sobrevivência e a distribuição dos peixes marinhos no meio selvagem, causando o deslocamento para latitudes mais elevadas ou águas mais profundas (Cheung and Oyinlola 2018; Gattuso et al. 2015; Madeira et al. 2016). Entre os impactos mais diretos das alterações climáticas estarão futuras reduções nas produções pesqueiras e aquícolas, como consequência, não só do aumento da temperatura da água do mar, como também da acidificação do oceano, do aumento do nível da água e da destruição de habitats costeiros e de recifes de coral (Bell et al. 2011; Dey et al. 2016).

O estudo contínuo dos efeitos das alterações de temperaturas e fotoperíodos, em ambientes controlados, com diferentes espécies e ao longo de todo o seu ciclo produtivo, torna-se extremamente importante, não só no melhoramento da produção em Aquacultura, como na extrapolação para o estudo do meio ambiente e das consequências nas suas populações selvagens.

1.12 – Lípidos

Durante o desenvolvimento embrionário e o início do período larvar da maioria das espécies de peixes, o crescimento e o fornecimento de energia está dependente de reservas lipídicas endógenas transferidas pelos reprodutores (Cejas et al. 2004). Logo, em princípio o ovo deverá conter todos os nutrientes que a larva utilizará, desde a eclosão até ao início da alimentação exógena (Cejas et al. 2004; Mourente et al. 1991). No perfil nutricional dos ovos, a composição lipídica e de ácidos gordos é de grande importância, não só por ser a fonte de energia mais importante durante o desenvolvimento embrionário, mas também porque fornece importantes componentes estruturais das biomembranas e dos precursores de biomoléculas, conhecidas como eicosanóides (Jerez et al. 2012).

No início do ciclo de vida dos peixes, o metabolismo lipídico pode diferir muito entre espécies: na quantidade e composição de lípidos no vitelo, no tempo e nível de combustão lipídica, na classe de lípidos utilizada para síntese de tecidos e no papel dos diferentes ácidos gordos (Cejas et al. 2004; Mourente et al. 1991).

Geralmente descritos como componentes hidrofóbicos, com elevada solubilidade em solventes orgânicos, os lípidos usualmente contêm ácidos gordos ligados covalentemente a moléculas de glicerol (glicerídeos) ou a grupos amino (esfingolipídios) (Tocher 2003; Xavier 2015) e como principais grupos incluem: Triglicerídeos (TAG); Esteres de cera; Esteróis (Lípidos neutros); e Fosfolípidos (PL) (Lípidos polares). Os lípidos neutros são

geralmente considerados como sendo a reserva de energia mais importante em ovos e larvas de peixes marinhos (Blaxter 1988). Contudo, foi demonstrado que os fosfoglicerídeos são utilizados, não só, para a divisão celular e a organogénese, mas como fonte de energia em algumas espécies (Cejas et al. 2004; Tocher et al. 1985).

1.11.1 – Ácidos gordos

Os ácidos gordos (FA) são cadeias de hidrocarbonetos, saturadas ou insaturadas, de comprimento variável e com uma extremidade da cadeia terminada por um grupo metilo e outra por um grupo carboxilo reativo.

Os ácidos gordos insaturados contêm ligações duplas entre os pares de átomos de carbono adjacentes, podendo ser classificados segundo o número de ligações como: monoinsaturados (MUFA) ou polinsaturados (PUFA) (Gorjão et al. 2009; Xavier 2015).

A importância dos PUFA na nutrição das larvas de peixe tem vindo a ser investigada nos últimos 20 anos (Cejas et al. 2004; Sargent et al. 1999; Watanabe 1993), sendo considerados componentes estruturais durante a organogénese (cérebro, retina, músculo, etc.) e precursores de moléculas fisiologicamente ativas, como prostaglandinas (Bell and Tocher 1989; Cejas et al. 2004). Os constituintes lipídicos e as reservas de PUFA's do vitelo são fatores importantes para o desenvolvimento do embrião e para a sobrevivência das larvas (Cejas et al. 2004), sendo em vários estudos demonstrada a relação entre a qualidade do embrião e da larva com a sua composição bioquímica (Cejas et al. 2004; Fiogbe et al. 2006; Rodriguez et al. 1994).

Ácidos gordos essenciais (EFA) são aqueles que não podem ser sintetizados pelos organismos em quantidades suficientes para atender às suas necessidades metabólicas. Estes são um componente da nutrição importante para o desenvolvimento estrutural, a saúde e a função sensorial nas larvas de peixes marinhos (Izquierdo 1996; Oberg and Fuiman 2015). São ainda essenciais em ovos de peixe para o sucesso da eclosão, na sobrevivência do início do estado larvar e nas taxas de crescimento (Fuiman and Ojanguren 2011; Tocher 2003). Os PUFA ω -3 e ω -6 (ómega 3 e ómega 6) são um exemplo de EFA não sintetizados nas células do animal e que têm de ser obtidos através da sua dieta, na introdução de óleos de peixes na alimentação (Turchini et al. 2009). Dos animais cultivados atualmente em cativeiro, os peixes são a fonte mais rica em ω -3 PUFA, composto fundamental na nutrição humana (Huang et al. 2007; Xavier 2015).

Para a maioria dos peixes marinhos, são considerados essenciais os ácidos gordos altamente insaturados (HUFA's), como o ácido araquidónico (20: 4 ω 6, ARA), o ácido eicosapentaenónico (20: 5 ω 3, EPA) e o ácido docosa-hexaenónico (22: 6 ω 3, DHA) (Oberg and Fuiman 2015; Sargent et al. 1999; Tocher 2003). Concentrações de DHA, ARA e EPA,

individualmente, bem como as suas relações, estão associadas a várias medidas de qualidade larvar, sendo as proporções entre elas importantes, já que cada um desde EFA pode regular a eficácia de outro (Izquierdo and Koven 2011; Koven et al. 2001; Oberg and Fuiman 2015). O DHA e o EPA têm papéis importantes como componentes estruturais das membranas (Jerez et al. 2012; Tocher 2010) e a relação entre eles tem sido alvo de estudo no desenvolvimento embrionário, na sobrevivência e no crescimento larval. Níveis elevados de EPA em relação ao DHA diminuem a proporção DHA/EPA e podem levar a um balanço inadequado na composição estrutural das células, afetando negativamente o desenvolvimento embrionário neural e subsequente crescimento e sobrevivência larvar (Copeman et al. n.d.; Jerez et al. 2012; Rodríguez et al. 1998). A composição de ω -3 HUFA e do rácio de DHA/EPA em ovos e tecidos de peixes marinhos é específico de cada espécie, mas Sargent et al. 1999 sugeriu que uma relação ótima de DHA/EPA em fosfolípidos de ovos de peixes marinhos não deve ser inferior a 2:1 (Jerez et al. 2012; Mourente et al. 1991).

A estimativa da utilização dos nutrientes endógenos do saco vitelino, que ocorre durante o desenvolvimento embrionário e início do larvar, pode ser útil para estudar os requerimentos nutricionais das fases larvares seguintes (Cejas et al. 2004; Mourente et al. 1991; Sargent et al. 1999). Por fim, torna-se importante determinar as mudanças na composição das classes de lípidos e dos ácidos gordos que ocorrem nas diferentes espécies ao longo do desenvolvimento, como interesse de determinar os seus requerimentos nutricionais, informação relevante tanto a nível ecológico como a nível de produção aquícola (Cejas et al. 2004; Oberg and Fuiman 2015).

1.13 – Objetivos

Todas as espécies descritas anteriormente possuem um elevado potencial para a produção em Aquacultura, porém apesar do conhecimento já adquirido ainda há muito a investigar sobre as condições ambientais ideais para o seu cultivo larvar.

Este trabalho teve como principal objetivo o estudo do desenvolvimento embrionário e larvar em corvina, dourada, linguado e sargo, quando submetidos a diferentes fotoperíodos e temperaturas. Pretendeu-se assim averiguar se as alterações destes parâmetros ambientais alteravam a eclosão e a sobrevivência até à abertura da boca, o crescimento larvar, a depleção das reservas lipídicas e o perfil nutricional das larvas recém eclodidas e das larvas no momento da abertura da boca.

Capítulo 2 – Material e Métodos

2.1 – Reprodutores e recolha dos ovos

As experiências foram realizadas nas instalações da EPPO-IPMA durante 27 semanas, de dezembro de 2015 a junho de 2016, onde foram recolhidos ovos de quatro espécies marinhas produzidas na estação: *A. regius*, *S. aurata*, *S. senegalensis* e *D. sargus*.

Os reprodutores, perfeitamente adaptados à vida em cativeiro, são mantidos em tanques de 8,5 m³ a 50 m³, separados por espécie, divididos em lotes e com uma densidade de 1 a 7 kg/m³. No decorrer das experiências foram alimentados com ração granulada (SPAROS) e alimento natural (pota uma vez por semana em *S. aurata*, *A. regius* e *D. sargus* e, alternadamente, pota, mexilhão e poliquetas em *S. senegalensis*). Adicionalmente, para melhoramento das posturas dos Esparídeos, em fevereiro foi iniciado o enriquecimento da ração com óleo de fígado de bacalhau. Com temperaturas controladas entre os 16 °C e os 22 °C foram utilizadas posturas ao longo de toda a época reprodutiva, apresentadas na tabela 1.

Para recolha dos ovos foram colocados coletores com uma rede de 500 µm à saída dos tanques de reprodutores. Transferidos para copos de 5 L, os ovos permaneceram em repouso cerca de 2 minutos (min), separando por gravimetria os viáveis (à superfície) dos inviáveis (no fundo). Posteriormente pesaram-se separadamente as duas frações e calculou-se a taxa de viabilidade (percentagem de ovos viáveis no total da postura). Sempre que possível foram selecionadas posturas com uma taxa de viabilidade superior a 70%, à exceção das posturas “a” e “b” representadas na tabela 1, únicas disponíveis no momento de iniciar nova experiência.

Por fim, após selecionada a quantidade necessária para realização de cada experiência, que dependeu por vezes da disponibilidade das posturas, os ovos foram divididos uniformemente entre todos os tanques, tendo sempre em conta o número de ovos por litro e nunca excedendo as 0,55 g (tabela 1).

Tanque de Reprodutores	Nº da Postura	Data (dd-mm-aa)	Temperatura (°C)	Taxa de viabilidade (%)	Gramas utilizadas
<i>Argyrosomus regius</i>					
R12	5	5-mar-16	19,0	85	120
R12	14	30-mar-16	19,3	89	120
R12	16	6-abr-16	18,2	90	60
Txt5	10	19-abr-16	18,5	82	66
R7	14	14-mai-16	18,7	94	60
R8	4	10-jun-16	21,0	83	120
<i>Sparus aurata</i>					
R1	38	16-dez-15	18,1	89	60
R1	78	11-jan-16	18,6	88	72
R1	91	21-jan-16	18,1	59^a	96
R1	101	3-fev-16	16,0	85	120
R1	124	27-fev-16	17,0	91	120
R1	130	10-mar-16	17,7	90	120
R1	133	13-mar-16	17,8	92	120
R1	200	22-mai-16	22,0	75	54
R1	209	3-jun-16	21,3	66^b	60
<i>Solea senegalensis</i>					
Txt1	25	9-dez-15	17,5	83	79
Txt1	26	10-dez-15	17,6	84	79
Txt1	31	16-dez-15	17,9	89	60
Txt1	48	27-jan-16	18,0	86	60
<i>Diplodus sargus</i>					
R4	21	22-fev-16	18,7	81	120
R4	38	13-abr-16	18,4	81	54
R4	48	12-mai-16	18,6	85	60

Tabela 1: Posturas utilizadas para a realização das várias experiências, divididas por espécies e com respectivas taxas de viabilidade (%), temperaturas dos tanques de reprodutores (°C) e gramas utilizadas.

2.2 – Sistema experimental

O sistema experimental utilizado foi composto por 12 tanques de 20 Litros (L) (figura 13a), cada um com um fluxo de água constante, fraco arejamento e um filtro de 250 µm à saída, para evitar a perda de ovos e larvas (figura 13b/c). Colocados numa sala com temperatura controlada dia e noite, os tanques foram dispostos em dois suportes de alturas distintas (figura 13a), que possuíam dois sistemas de iluminação LED com temporizadores distintos e duas entradas de água separadas e independentes, possibilitando a execução de ensaios com diferentes fotoperíodos e temperaturas. Nota-se que a disposição das canalizações e sistemas de iluminação impossibilitou a distribuição aleatória de tratamentos pelos tanques.

A água salgada utilizada foi filtrada, esterilizada por radiação ultravioleta (UV) e aquecida ou refrigerada dependendo do ensaio. Apesar de inicialmente ter sido estipulada uma **renovação de água** de 20 a 25% por hora, este valor teve de ser alterado para 29%, devido a recorrentes falhas de água provocadas pelo caudal reduzido e acumulação de ar nas canalizações. Para prevenir alterações bruscas na qualidade da água, todos os dias este fluxo foi monitorizado, mantendo sempre constante a quantidade de água fornecida. Em cada tanque, foi ainda colocado um tubo que direcionou a água para o fundo, criando uma corrente circulatória no tanque, prevenindo o afundamento das larvas e uniformizando a sua distribuição (figura 13b/c).

Em todos os tanques foi ajustado um **fluxo de ar** de 2 a 3 bolhas de cada vez, provocando uma corrente ascendente. Com o tubo de arejamento posicionado sob o filtro, a circulação de ar evita o arrastamento das larvas para a saída, quebra a tensão superficial e distribui homogeneamente o oxigénio, evitando zonas mortas (figura 13b/c).

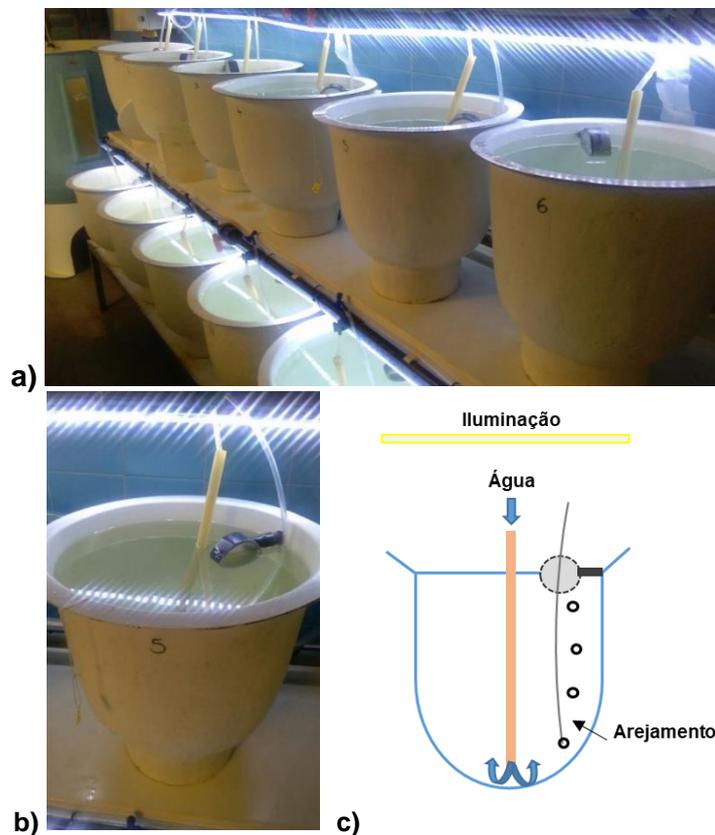


Figura 13: a) Sistema experimental composto por 12 tanques de incubação. b) Tanque de incubação com uma capacidade de 20 L, uma fonte de alimentação de água, arejamento, iluminação LED no topo e um filtro de 250 µm à saída. c) Representação esquemática do interior de cada tanque, com circulação da água e do ar da profundidade para a superfície.

Para prevenção de **propagação de agentes patogénicos** foi realizada uma limpeza contínua e diária dos tanques, removendo ovos mortos e qualquer outra contaminação proveniente dos tanques de reprodutores.

As larvas são extremamente sensíveis a mudanças bruscas, como tal, **parâmetros físico-químicos** como a temperatura e o oxigénio tem de ser constantemente monitorizados. A temperatura foi registada todos os dias de 30 em 30 min através de Loggers e para controlo imediato 2 vez por dia com um oxímetro. O oxigénio foi registado igualmente com auxílio do oxímetro, sendo possível o registo tanto do oxigénio dissolvido, que se manteve sempre acima de 5 mg/L, como da saturação em oxigénio, sempre acima de 70%. Com esta monitorização foi possível detetar eventuais alterações anormais destes parâmetros e proceder à sua resolução sempre que necessário. As temperaturas obtidas, durante as experiências estão apresentados em média \pm desvio padrão na tabela 2.

Ensaio	F			TF		TQ	
Tratamento	0L:24D	14L:10D	24L:0D	19 °C	16 °C	19 °C	22 °C
A. regius							
T (°C) Log	20,1 \pm 0,1	19,6 \pm 0,2	20,6 \pm 0,2	21,4 \pm 1,0	16,2 \pm 1,3	18,7 \pm 0,6	22,3 \pm 0,7
T (°C) Oxi	19,5 \pm 0,1	19,3 \pm 0,2	19,4 \pm 0,1	19,9 \pm 0,9	16,8 \pm 1,0	18,6 \pm 0,5	21,4 \pm 0,6
S. aurata							
T (°C) Log	-	-	-	19,0 \pm 0,6	15,2 \pm 1,4	18,4 \pm 0,5	22,4 \pm 0,7
T (°C) Oxi	19,1 \pm 0,7	19,0 \pm 0,7	19,1 \pm 0,6	18,3 \pm 0,6	16,1 \pm 0,8	18,7 \pm 0,1	21,4 \pm 0,1
S. senegalensis							
T (°C) Oxi	18,4 \pm 0,3	18,5 \pm 0,3	18,5 \pm 0,3	-	-	-	-
D. sargus							
T (°C) Log	19,5 \pm 0,3	18,9 \pm 0,3	19,5 \pm 0,2	20,4 \pm 0,6	14,5 \pm 1,1	-	-
T (°C) Oxi	18,6 \pm 0,4	18,4 \pm 0,4	18,5 \pm 0,5	19,6 \pm 0,6	16,5 \pm 0,8	-	-

Tabela 2: Temperaturas médias (\pm desvio-padrão) registadas nos diferentes ensaios. **T (°C) Log** – Temperatura registada por Loggers. **T (°C) Oxi** – Temperatura registada pelo oxímetro. **F** – Ensaio de Fotoperíodos. **TF** – Ensaio de Temperatura Fria. **TQ** – Ensaio de Temperatura Quente.

Antes da colocação dos ovos nos tanques de incubação foi verificada a temperatura dos tanques de origem e, de acordo com a diferença de temperatura, foi realizada uma **aclimatização** controlada de 5 a 30 min. Este processo é de extrema importância, evitando choques térmicos que poderiam reduzir a viabilidade da postura, as taxas de eclosão e até mesmo aumentar as malformações nas larvas.

2.3 – Tratamentos e Design experimental

Divididos em 3 ensaios distintos, os ovos e larvas das diferentes espécies marinhas foram submetidos, separadamente, a diferentes fotoperíodos e temperaturas.

Nos **ensaios “F”** foram submetidos diferentes fotoperíodos. Como controlo foi utilizado um fotoperíodo de 14 h de luz e 10 h de escuridão (14L:10D), usualmente utilizado na EPPO, que foi comparado com os extremos de luz total (24L:0D) e escuridão total (0L:24D).

No sistema experimental um dos sistemas de iluminação manteve-se ligado durante 24 h (24L:0D) e o outro possuía um temporizador que manteve a luz ligada apenas das 9h00 às 23h00 (14L:10D). Para concretização do terceiro tratamento foram tapados 4 tanques com sacos pretos opacos impedindo qualquer entrada de luz (0L:24D). Sendo assim, tal como representado na ilustração esquemática da figura 14, foram utilizados 12 tanques, com 3 fotoperíodos distintos, cada um com 4 replicados.

À exceção dos fotoperíodos, todos os parâmetros foram mantidos em valores semelhantes, sendo utilizada uma temperatura de 19 °C em todos os tratamentos.

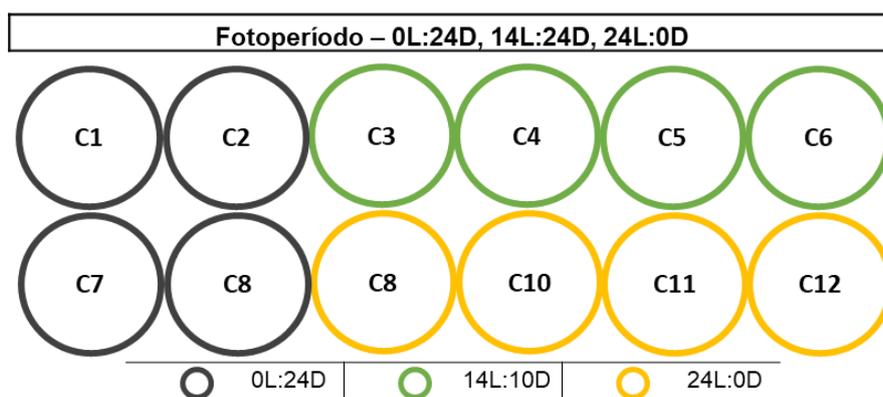


Figura 14: (Ensaio “F”) Ilustração esquemática da disposição dos 12 tanques que foram submetidos a vários fotoperíodos. Com sistemas de iluminação independentes, a cinza (○) estão representados os tanques submetidos a **0L:24D**, a verde (○) estão representados os tanques submetidos a **14L:10D** e a amarelo (○) estão representados os tanques submetidos a **24L:0D**.

Nos ensaios “TF” e “TQ”, foram submetidas diferentes temperaturas. Como controlo foi utilizada uma temperatura de 19 °C, sendo o objetivo inicial comparar simultaneamente este valor com uma descida e uma subida de 3 °C, comparando ainda os resultados entre os 16 °C e os 22 °C. Porém, esta comparação não foi possível, já que no sistema utilizado não podiam ser usadas três temperaturas ao mesmo tempo. Foram então realizados dois ensaios separadamente, comparando a temperatura de 19 °C com os 16 °C e os 19 °C com os 22 °C. É ainda importante referir que devido a problemas técnicos, por vezes estes valores de temperaturas eram impossíveis de manter constantes, mas foi sempre verificada uma diferença de pelo menos 2 °C entre tratamentos. À exceção das temperaturas, todos os parâmetros foram mantidos em valores semelhantes, sendo utilizado um fotoperíodo de 14L:10D em todos os tratamentos.

Em ambos os ensaios, 6 tanques foram alimentados por uma canalização e os outros 6 alimentados por outra (figura 15/16). Para fornecimentos dos tanques controlo foi utilizada uma canalização geral, com água fornecida para toda a Maternidade e uma temperatura aproximada de 19 °C (que foi aquecida ou refrigerada, dependendo da temperatura natural da água captada). Nos ensaios “TF”, para fornecimento dos tanques

de água fria, foi utilizado um pequeno refrigerador programado para uma temperatura de 16 °C. Nos ensaios “TQ”, para fornecimento dos tanques de água quente, foi utilizada uma caldeira programada para uma temperatura de 22 °C.

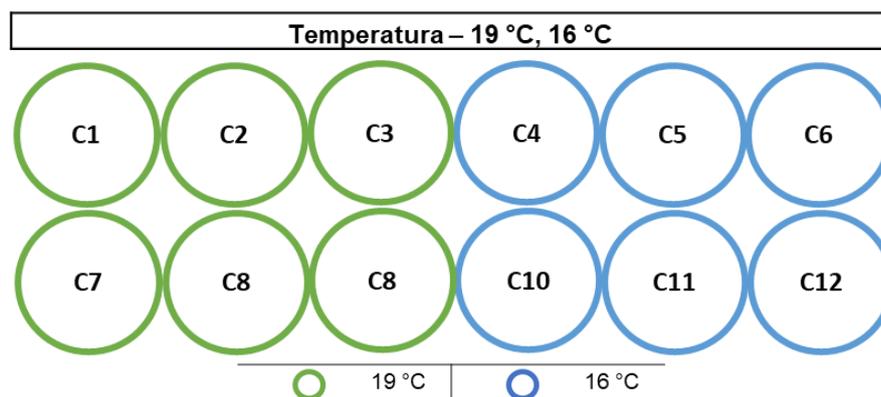


Figura 15: (Ensaio “TF”) Ilustração esquemática da disposição dos 12 tanques que foram submetidos a 2 temperaturas distintas. Com duas entradas de água independentes, a verde (○) estão representados os tanques submetidos a 19 °C e a azul (○) estão representados os tanques submetidos a 16 °C.

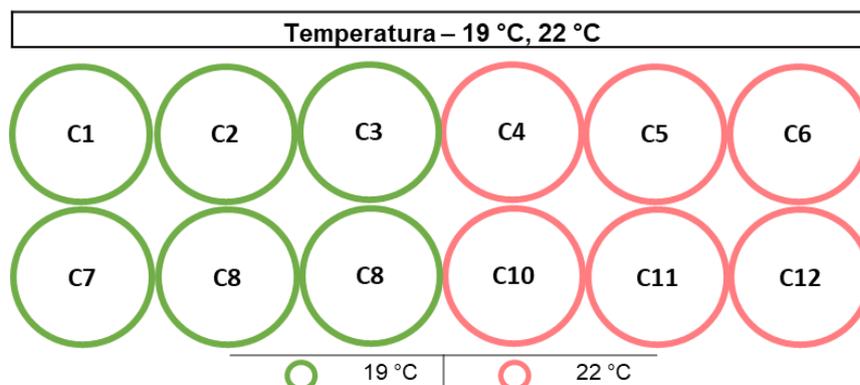


Figura 16: (Ensaio “TQ”) Ilustração esquemática da disposição dos 12 tanques que foram submetidos a 2 temperaturas distintas. Com duas entradas de água independentes, a verde (○) estão representados os tanques submetidos a 19 °C e a rosa (○) estão representados os tanques submetidos a 22 °C.

Em todos os ensaios foram comparadas as taxas de eclosão, as taxas de sobrevivência à abertura da boca e a biometria entre os tratamentos, em *A. regius*, *S. aurata*, *S. senegalensis* e *D. sargus*. Inicialmente o objetivo era realizar todos os ensaios acima descritos em cada espécie, porém tal não foi possível por falta de disponibilidade de material biológico ou aparecimento de problemas técnicos (falhas de água, desregulação de temperaturas, etc.). Sendo assim, apesar de realizadas várias experiências (tabela 1), apenas algumas foram selecionadas para utilização dos dados (tabela 3).

Ensaio	Nº da Postura	Espécie	Código do ensaio
F	5	<i>A. regius</i>	FR
F	124	<i>S. aurata</i>	FA
F	48	<i>S. senegalensis</i>	FSs
F	21	<i>D. sargus</i>	FDs
TF	14	<i>A. regius</i>	TFR
TF	200	<i>S. aurata</i>	TFA
TF	48	<i>D. sargus</i>	TFS
TQ	4	<i>A. regius</i>	TQR
TQ	209	<i>S. aurata</i>	TQA

Tabela 3: Experiências selecionadas para apresentação dos resultados, com respectivos códigos e separadas por espécies e tipo de ensaio. **FR** – Ensaio de fotoperíodos em *A. regius*. **FA** – Ensaio de fotoperíodos em *S. aurata*. **FSs** – Ensaio de fotoperíodos em *S. senegalensis*. **FDs** – Ensaio de fotoperíodos em *D. sargus*. **TFR** – Ensaio de temperatura fria em *A. regius*. **TFA** – Ensaio de temperatura fria em *S. aurata*. **TFS** – Ensaio de temperatura fria em *D. sargus*. **TQR** – Ensaio de temperatura quente em *A. regius*. **TQA** – Ensaio de temperatura quente em *S. aurata*.

2.4 – Métodos analíticos

2.4.1 – Recolha de amostras

No início de cada experiência foram recolhidas 3 amostras de 0,5 g de ovos para cálculo da taxa de eclosão e da taxa de sobrevivência até à abertura da boca. De seguida, no decorrer de cada ensaio, para acompanhar o desenvolvimento embrionário, o crescimento das larvas e o consumo das suas reservas lipídicas, foram amostrados 60 indivíduos por tratamento de 24 em 24 horas, após uma primeira amostragem de 20 ovos do pool inicial. Para complementar, foram também recolhidas amostras para análise da composição em ácidos gordos, de ovos no início das experiências e de larvas à eclosão e à abertura da boca.

2.4.3 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à abertura da boca

Para determinação da taxa de eclosão foram contabilizadas, por estimativa, as larvas totais eclodidas de cada tanque (2 a 4 tanques por tratamento, dependendo do ensaio). Cada tanque, individualmente, foi filtrado e concentradas as suas as larvas em copos de 2 L, de seguida foram feitas 20 contagens de 2 ml para estimativa da quantidade de larvas totais presentes. Foi realizado o mesmo procedimento para o cálculo da taxa de sobrevivência à abertura da boca, mas neste caso foram contabilizadas as larvas totais sobreviventes no fim de cada experiência (momento da abertura da boca).

Para cálculo, de ambas as taxas, foi necessário relacionar os valores finais de larvas eclodidas e sobreviventes, ao número inicial de ovos colocados em cada tanque. Para isso, no início de cada experiência, quando recolhidas as 3 amostras de 0,5 g de ovos da postura utilizada, estes foram lavados com água destilada, liofilizados e posteriormente contabilizados, de forma a obter o valor de indivíduos por grama.

Por fim, após recolhidos todos os dados, foram utilizadas as seguintes fórmulas para cálculo das taxas:

$$\text{Taxa de Ecloração (\%)} = \frac{\text{Total de larvas eclodidas (média das 20 contagens x 2 L / 2 ml)}}{\text{Total de ovos incubados (ovos/grama x gramas incubadas)}} \times 100$$

$$\text{Taxa de Sobrevivência à abertura da boca (\%)} = \frac{\text{Total de larvas sobreviventes (média das 20 contagens x 2 L / 2 ml)}}{\text{Total de ovos incubados (ovos/grama x gramas incubadas)}} \times 100$$

2.4.2 – Biometria

Para determinar o comprimento e outras medidas, as larvas e os ovos foram recolhidos dos tanques de forma aleatória, com copos de 250 ml e fotografados *in vivo* numa lupa ótica (Nikon SMZ1000), com uma câmara e um ecrã incorporados (Nikon DS-Fi2 e Nikon Digital Sight DS-L3) (figura 17a).

Posteriormente, com o programa *ImageJ*® as fotografias foram analisadas e efetuadas as seguintes medidas: Comprimento Standard (A), Área do saco vitelino (B) e a Área da gota lipídica (C), como representadas na figura 17b. As áreas foram calculadas da seguinte forma: diâmetro 1 x diâmetro 2 x π.

À ecloração e à abertura da boca todas as larvas fotografadas foram passadas por água destilada e congeladas em azoto líquido, posteriormente foram liofilizadas e observado o seu peso seco, em grupos de 5 larvas, com uma balança de precisão (Sartoris Pro 11). Denota-se que foi realizado peso seco, em detrimento de peso húmido, já que em larvas tão pequenas o peso da água à volta do seu corpo altera significativamente o valor real do indivíduo.

No final, foi ainda calculada a taxa de crescimento com o comprimento standard à ecloração (E) e à abertura da boca (AB) através da fórmula:

$$\text{Taxa de crescimento (\%)}: \frac{\text{Comprimento Standard (AB)} - \text{Comprimento Standard (E)}}{\text{Dias até à abertura da boca}} \times 100$$

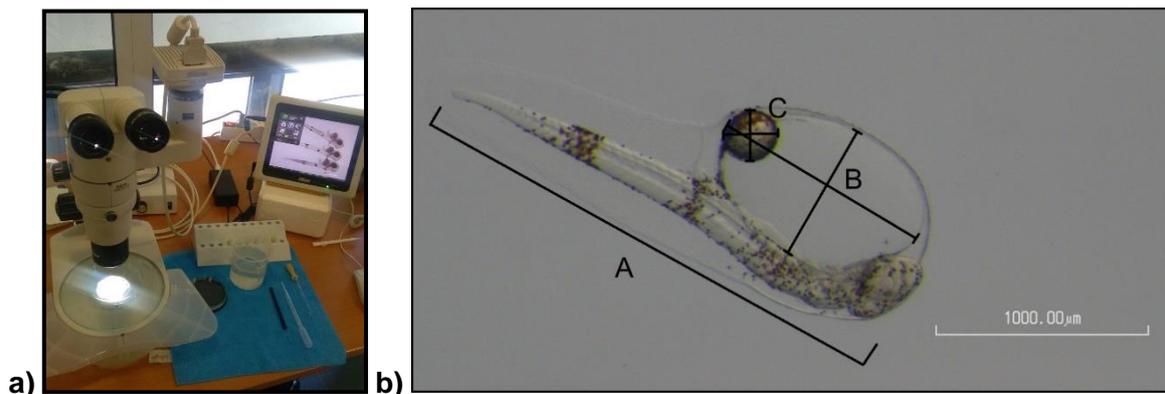


Figura 17: **a)** Equipamento utilizado para fotografar as larvas e os ovos *in vivo*. Lupa ótica (Nikon SMZ1000), câmara (Nikon DS-Fi2) e ecrã (Nikon Digital Sight DS-L3). **b)** Variáveis morfométricas medidas nas larvas: **A** – Comprimento Standard; **B** – Área do saco vitelino; **C** – Área da gota lipídica.

2.4.4 – Análise estatística

Os dados foram apresentados em média \pm desvio padrão e todas as análises estatísticas foram realizadas no programa *IBM SPSS Statistics 25*. Foi considerado um nível de significância de 0,05 para rejeitar a hipótese nula, sendo as diferenças entre casos consideradas estatisticamente significativas com *p-value* inferiores a 0,05 ($p < 0,05$).

Previamente foi verificada a homogeneidade das variâncias através do teste de *Levene* e a normalidade dos dados através do teste *Shapiro-Wilk*, para um número de dados (*n*) inferior a 50 ou o teste *Kolmogorov-Smirnov*, para um número de dados (*n*) superior a 50, respetivamente. Quando os valores foram significativos ($p < 0,05$) os dados foram submetidos a uma transformação logarítmica, “*In (dados a transformar)*” ou executado o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis*.

Para análise do efeito dos diferentes tratamentos e idades nas médias das variáveis morfométricas (diâmetro e área do ovos, comprimento standard das larvas, área do saco vitelino e gota lipídica), do peso seco, da taxa de crescimento, das taxas de eclosão e sobrevivência à abertura da boca e da composição de ácidos gordos, foi realizada análise de variância a dois fatores (*Two-Way ANOVA*), análise de variância a um fator (*One-Way ANOVA*) ou utilizado T-test para amostras independentes, dependendo da organização dos dados a analisar (Zar 2010). Quando as diferenças entre tratamentos foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$) utilizou-se os teste de comparações múltiplas de *Tukey* e *DMS* (entre pares da diferença menos significativa) (IBM 2016).

Capítulo 3 – Resultados e Discussão

3.1 – Fotoperíodo

3.1.1 – *Corvina - Argyrosomus regius*

3.1.1.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da quinta postura do tanque de reprodutores 12 (R12), tinham as seguintes características: aquando da recolha encontravam-se em fase de gastrulação e passadas 2 h, quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem, já se encontravam em fase de nêurula, marcada pelo aparecimento do escudo embrionário (figura 19a). Com um diâmetro médio de $0,99 \pm 0,02$ mm e área média de $3,09 \pm 0,13$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,179 \pm 0,03$ mm² (n=20).

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre dois tratamentos, verificando-se um diâmetro e área significativamente superiores nos ovos submetidos a 0L:24D (diâmetro de $1,00 \pm 0,03$ mm e área de $3,18 \pm 0,22$ mm²) em relação aos submetidos a 24L:0D. Não foram encontradas diferenças significativas entre as áreas das gotas lipídicas dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$).

3.1.1.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca

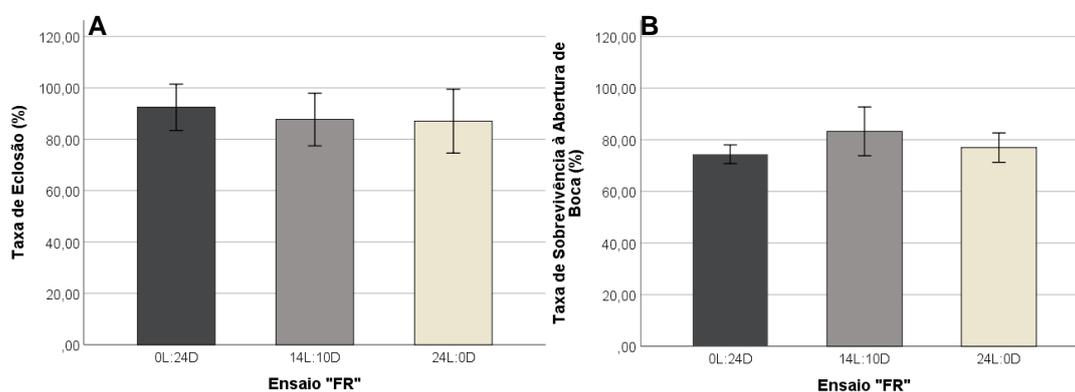


Figura 18: (Ensaio "FR") Taxas de Eclosão (A) e Taxas de Sobrevivência à Abertura de Boca (B) em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média \pm desvio-padrão. Não existem diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$).

Em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes fotoperíodos, a taxa de eclosão variou entre os 87 e os 92%, verificando-se um valor superior em larvas submetidas a 0L:24D ($92,44 \pm 9,02\%$), apesar de não existirem diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$) (figura 18A e anexo II). Relativamente à taxa de sobrevivência à abertura da boca,

contrariamente à eclosão, em larvas submetidas a 0L:24D verificou-se uma sobrevivência inferior aos restantes tratamentos ($74.39 \pm 3.63\%$) e uma sobrevivência mais elevada em larvas submetidas a 14L:10D ($83.24 \pm 9.45\%$), ainda assim continuou a não se verificar diferenças significativas entre os valores (figura 18B e anexo II).

3.1.1.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

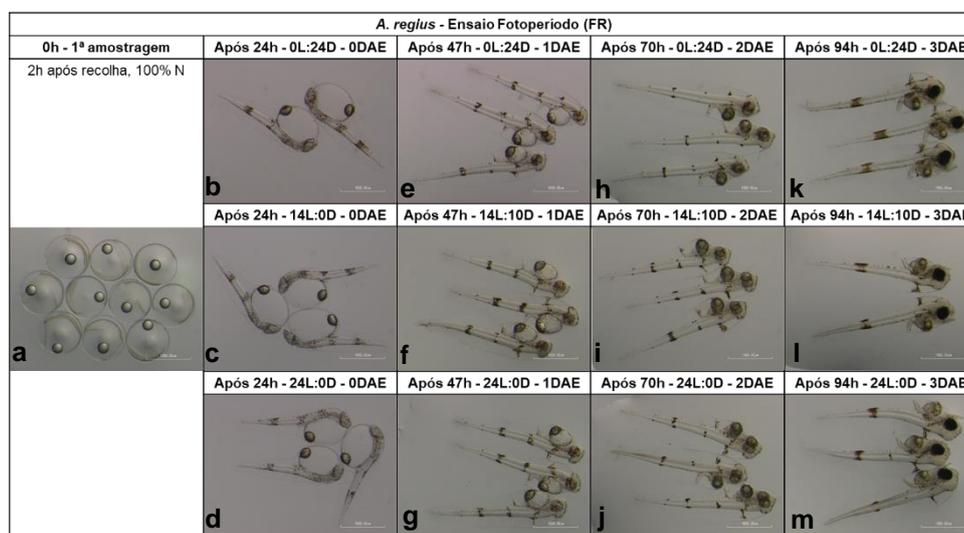


Figura 19: (Ensaio “FR”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *A. regius*. Incubação a $19,4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0,17$) e submetidos 3 fotoperíodos. Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 2 h após recolha do coletor, eclosão após 24 h e abertura da boca após 94 h.

Na figura 19 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *A. regius* submetidas a diferentes fotoperíodos. Na figura 20 e tabela 6 do Anexo III pode analisar-se a evolução das suas variáveis morfométricas, através das curvas de crescimento e de depleção das reservas lipídicas e através da respetiva análise descritiva.

Após 24 h de incubação 80% das larvas já estavam eclodidas (0 DAE), apresentando alguma pigmentação no corpo (figura 19b/c/d). Verificou-se um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 24L:0D ($2,39 \pm 0,12 \text{ mm}$), em relação às submetidas a 14L:10D ($2,32 \pm 0,11 \text{ mm}$) ($p < 0,02$), não existindo diferenças significativas dos dois valores com o tratamento de 0L:24D (figura 20A e tabela 6). Nas áreas do saco vitelino e da gota lipídica não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$).

Após 47 h ,1 DAE, pôde observar-se um grande decréscimo na área do saco vitelino, cerca de 72% em relação ao seu tamanho à eclosão (figura 19e/f/g), que coincidiu com maior crescimento dos indivíduos (figura 20). Não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos standard dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$). No que toca às reservas lipídicas, foi verificada uma área do saco vitelino ($0,68 \pm 0,12 \text{ mm}^2$) e uma

área da gota lipídica ($0,143 \pm 0,02 \text{ mm}^2$) significativamente superior em larvas submetidas a 14L:10D, relativamente às submetidas a 0L:24D ou a 24L:0D ($p < 0,02$) (figura 20B/C e tabela 6).

Após 70 h, 2 DAE, foi novamente verificado um comprimento standard significativamente inferior nas larvas submetidas a 14L:10D ($3,11 \pm 0,16 \text{ mm}$), em relação às submetidas a 0L:24D e 24L:0D ($3,17 \text{ mm}$) ($p < 0,02$) (figura 20A e tabela 6). O saco vitelino continuou a diminuir (figura 19h/i/j) e verificou-se uma área gota lipídica significativamente inferior nas larvas submetidas a 0L:24D ($0,076 \pm 0,01 \text{ mm}^2$), em relação aos restantes tratamentos ($p < 0,01$) (figura 20C e tabela 6).

Ao fim de 94 h a $19,4 \text{ }^\circ\text{C}$, 3 DAE, todas as larvas, independentemente do fotoperíodo submetido, abriram a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e possuíam saco vitelino e gota lipídica (figura 19k/l/m). Em relação às variáveis morfométricas não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$).

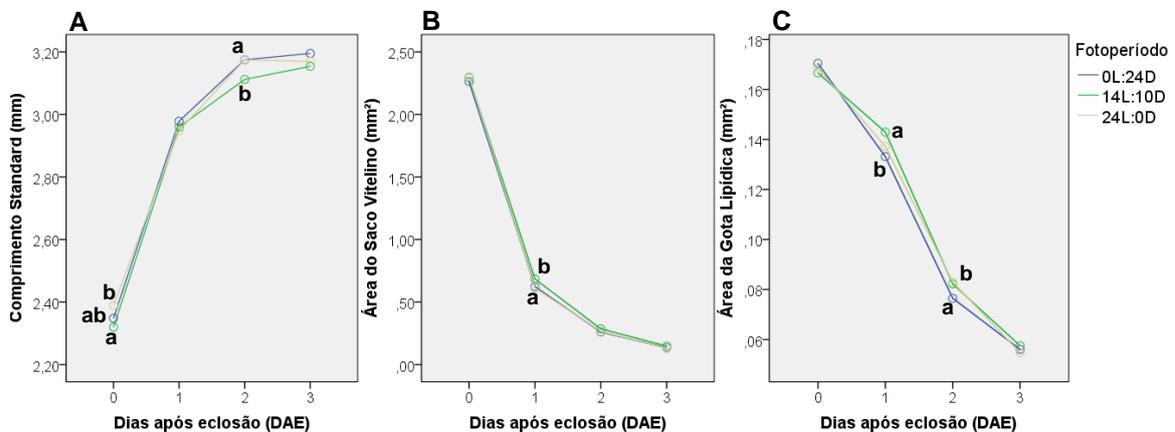


Figura 20: Evolução das variáveis morfométricas, da eclosão (0 DAE) à abertura da boca (3 DAE), em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes fotoperíodos. **A** – Comprimento standard (mm). **B** – Área do saco vitelino (mm^2). **C** – Área da gota lipídica (mm^2). Valores correspondentes à média e letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

3.1.1.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco Larvar

A taxa de crescimento em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes fotoperíodos variou entre os $25,95 \pm 4,06\%$ (24L:0D) e os $28,29 \pm 3,65\%$ (0L:24D), não se observando diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$), apesar de uma tendência para valores inferiores em larvas submetidas a períodos de luz mais prolongados (anexo II).

Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 80 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1650 indivíduos. No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes fotoperíodos, tanto à eclosão como à abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos e as larvas à abertura da boca apresentam pesos inferiores às da eclosão (anexo II).

3.1.1.5 – Ácidos gordos

Na tabela 10 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes fotoperíodos e respetiva análise estatística.

Com a exceção dos ácidos gordos 18:2 ω 6 linoleico e 18:3 ω 6, todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial ($p < 0,01$). Adicionalmente, em larvas à abertura da boca foram encontradas concentrações significativamente inferiores de todos os ácidos gordos, em relação às da eclosão ($p = 0,00$).

Com a exceção dos ácidos gordos 14:0, Outros SFA, Outros Mufa, Σ Pufa e a Razão $\omega 3/\omega 6$, à abertura da boca foram ainda verificados valores significativamente inferiores em larvas submetidas a 24L:0D, em relação aos restantes tratamentos ($p < 0,05$).

3.1.1.6 – Resumo

No presente ensaio, apesar do fotoperíodo não parecer afetar as taxas de eclosão em *Argyrosomus regius*, parece existir uma tendência para sobrevivências superiores em larvas submetidas a fotoperíodos de 14L:10D, tal como demonstrado em Vallés and Estévez 2013 que sugere que um período que 12 a 16 h de luz será o mais adequado para alcançar uma boa sobrevivência larvar, indicando mortalidades superiores em larvas submetidas a 24L:0D. Independentemente do fotoperíodo, todas as larvas eclodiram 24 h após incubação e abriram a boca passadas 96 h, o que sugere a inexistência de diferenças no desenvolvimento larvar.

Em relação ao crescimento larvar, 0 e 2 DAE as larvas submetidas a 24L:0D apresentarem comprimentos standard significativamente superiores tal como descrito em Vallés and Estévez 2013, onde foi demonstrado um maior crescimento, em relação às submetidas a 12L:12D e 8L:16D. Porém à abertura da boca esta tendência atenuou-se, não existindo diferenças significativas entre os tratamentos. Não foram encontradas diferenças entre as taxas de crescimento e os pesos secos larvares, confirmando o demonstrado em Shan et al. 2008, que sugere não haver diferenças no crescimento em larvas até aos 20 DAE submetidas a diferentes fotoperíodos.

Paralelamente ao crescimento exponencial das larvas, ocorreu uma redução nas reservas lipídicas ao longo da experiência, onde, apesar de serem verificadas algumas diferenças entre os tratamentos, não foi encontrada uma tendência para valores superiores ou inferiores em determinado fotoperíodo, contrariamente ao descrito em Shan et al. 2008, sugerindo que o fotoperíodo influencia o ritmo de alimentação endógena (Boeuf and Le Bail 1999).

No que toca à composição lipídica, foram verificadas concentrações significativamente inferiores nas larvas à abertura da boca, facto que poderá ser justificado pela sucessiva depleção e termino das reservas lipídicas endógenas transferidas pelos reprodutores (Abi-Ayad et al. 2000; Cejas et al. 2004; Mourente et al. 1991). Adicionalmente, também à abertura de boca, larvas submetidas a 24L:0D apresentaram valores significativamente inferiores, em relação às larvas dos restantes tratamentos, que poderá ser justificado, tal como referido em Vallés and Estévez 2013, pelo aumento da atividade larvar quando as larvas são submetidas a fotoperíodos longos.

Resumindo, e segundo Vallés and Estévez 2013, a escolha adequada do fotoperíodo em larvas de *A. regius*, poderá melhorar o crescimento, a sobrevivência, a insuflação da bexiga natatória e reduzir o canibalismo. Porém, tal como demonstrado nos resultados acima descritos e em Shan et al. 2008, nas primeiras fases de desenvolvimento larvar, nomeadamente antes da alimentação exógena, poderão não existir efeitos tão significativos como em larvas após 20 DAE.

3.1.2 – Dourada - *Sparus aurata*

3.1.2.1 – *Desenvolvimento Embrionário*

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da centésima vigésima quarta postura do tanque de reprodutores 1 (R1), tinham as seguintes características: aquando da recolha encontravam-se em fase de gastrulação e passada 1 h e 30 min, quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem, já se encontravam em fase de nêurula (figura 22a). Com um diâmetro médio de $1,05 \pm 0,03$ mm e área média de $3,47 \pm 0,24$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,183 \pm 0,02$ mm² (n=20).

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação. Não sendo encontradas diferenças significativas entre as variáveis morfométricas dos diferentes fotoperíodos ($p > 0,05$).

3.1.2.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca

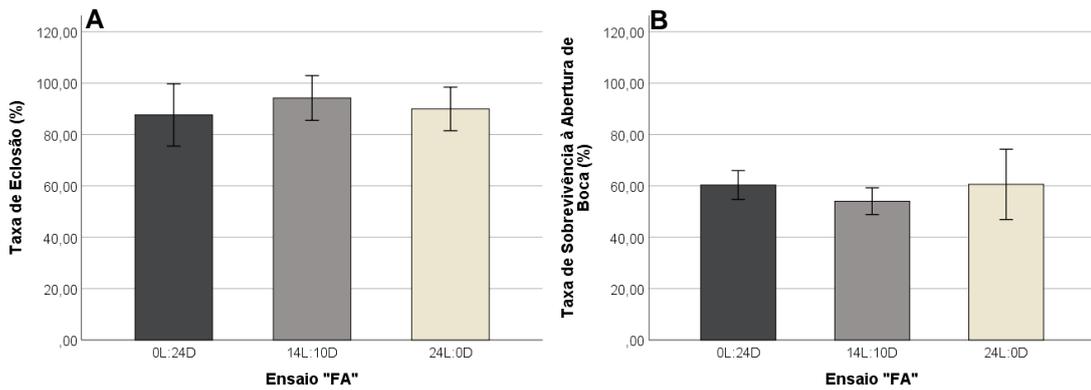


Figura 21: (Ensaio “FA”) Taxas de Eclosão (A) e Taxas de Sobrevivência à Abertura de Boca (B) em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média \pm desvio-padrão. Não existem diferenças significativas entre tratamentos ($p>0,05$).

Em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes fotoperíodos, a taxa de eclosão variou entre os 88 e os 94%, verificando-se um valor superior em larvas submetidas a 14L:10D ($94,20 \pm 8,70\%$), apesar de não existirem diferenças significativas entre tratamentos ($p>0,05$) (figura 21A e anexo II). Relativamente à taxa de sobrevivência à abertura da boca, contrariamente à eclosão, em larvas submetidas a 14L:10D verificou-se uma sobrevivência inferior aos restantes tratamentos ($54,04 \pm 5,21\%$) e uma sobrevivência semelhante nos restantes tratamentos, ainda assim continuou a não se verificar diferenças significativas entre os valores ($p>0,05$) (figura 21B e anexo II).

3.1.2.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

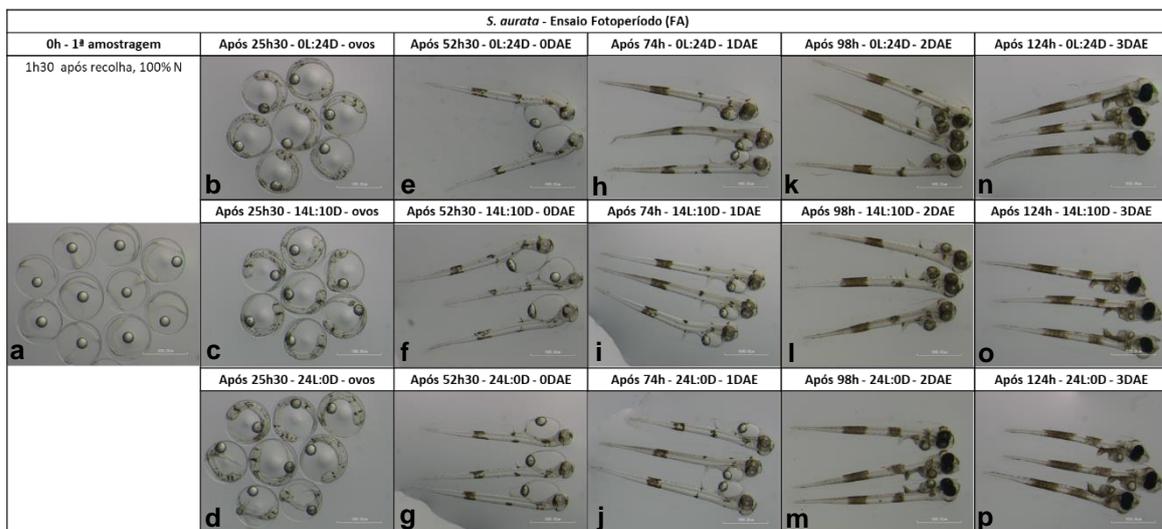


Figura 22: (Ensaio “FA”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *S. aurata*. Incubação a $19,1 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 0,7$) e submetidos 3 fotoperíodos. Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 1 h e 30 min após recolha do coletor, eclosão após 46 h e abertura da boca após 124 h.

Na figura 22 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes fotoperíodos. Na figura 23 e tabela 7 do anexo III pode analisar-se a evolução das suas variáveis morfométricas, através das curvas de crescimento e de depleção das reservas lipídicas e através da respetiva análise descritiva.

Após 46 h de incubação todas as larvas estavam eclodidas (0 DAE), apresentando alguma pigmentação no corpo (figura 22 e/f/g) e verificando-se uma tendência de comprimentos standard superiores em larvas submetidas a períodos de luz mais prolongadas (24L:0D com uma média de $3,27 \pm 0,38$ mm) (figura 23A e tabela 7), apesar de não existirem diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$). Paralelamente foi verificada uma área do saco vitelino ($1,16 \pm 0,23$ mm²) e uma área da gota lipídica ($0,167 \pm 0,01$ mm²) significativamente inferior em larvas submetidas a 24L:0D, relativamente às submetidas a 0L:24D ou 14L:10D ($p < 0,03$) (figura 23B/C e tabela 7).

Após 74 h, 1 DAE, pôde observar-se um grande decréscimo na área do saco vitelino, cerca de 64% em relação ao seu tamanho à eclosão (tabela 5h/i/j), que coincidiu com maior crescimento dos indivíduos (figura 23). Não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos standard dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$), porém ocorreu uma alteração na tendência dos valores. Havendo um pior crescimento em larvas submetidas 24L:0D, estas apresentaram comprimentos standard inferiores ($3,53 \pm 0,31$ mm²) em relação aos restantes tratamentos (figura 23A e tabela 7). Adicionalmente, foram verificadas áreas do saco vitelino ($0,51 \pm 0,13$ mm²) e da gota lipídica ($0,127 \pm 0,02$ mm²) significativamente superiores em larvas submetidas a 14L:10D, relativamente às submetidas a 0L:24D ou 24L:0D ($p < 0,05$) (figura 23B/C e tabela 7).

Após 98 h, 2 DAE, a nível morfológico foi verificada uma maior pigmentação dos olhos em larvas submetidas a 24L:0D (figura 22m), aliada a um comportamento de fuga quando apanhadas. Não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos standard dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$), porém começou a existir uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 14L:10D ($3,75 \pm 0,23$ mm) (figura 23A e tabela 7). O saco vitelino continuou a diminuir (tabela 6k/l/m) e verificou-se uma área gota lipídica significativamente superior nas larvas submetidas a 0L:24D ($0,077 \pm 0,02$ mm²), em relação ao tratamento controlo, 14L:10D ($p < 0,04$) (figura 23C e tabela 7).

Ao fim de 124 h a 19,1 °C, 3 DAE, todas as larvas, independentemente do fotoperíodo submetido, abriram a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e possuíam apenas a gota lipídica como reserva (figura 22n/o/p). Em relação às variáveis morfométricas não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), apesar de continuar uma tendência para comprimentos standard superiores em larvas submetidas a 14L:10D ($3,73 \pm 0,25$ mm).

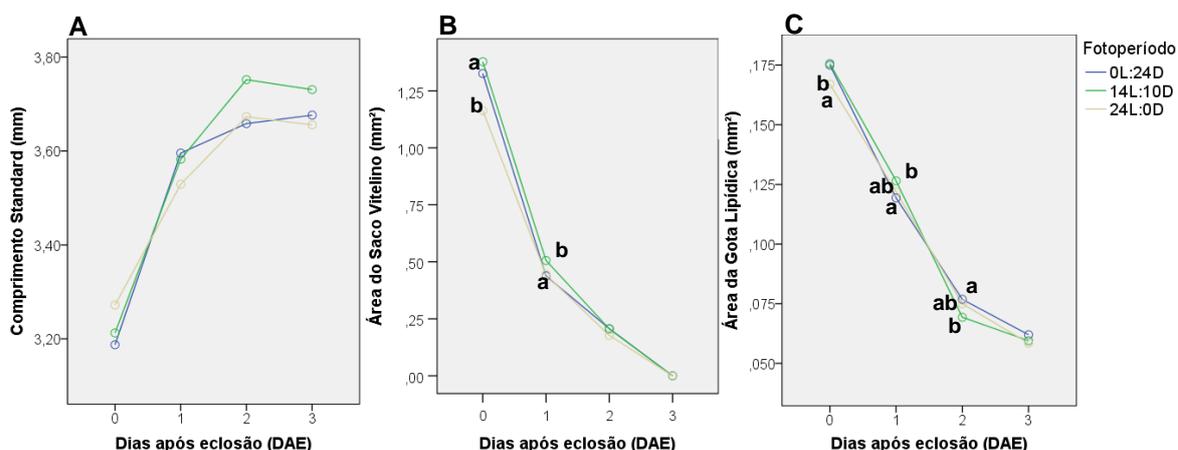


Figura 23: Evolução das variáveis morfométricas, da eclosão (0 DAE) à abertura da boca (3 DAE), em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes fotoperíodos. **A** – Comprimento standard (mm). **B** – Área do saco vitelino (mm²). **C** – Área da gota lipídica (mm²). Valores correspondentes à média e letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

3.1.2.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco

A taxa de crescimento em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes fotoperíodos variou entre os $16,48 \pm 5,86\%$ (0L:24D) e os $12,80 \pm 5,60\%$ (24L:0D), não se observando diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$), apesar de uma tendência para valores inferiores em larvas submetidas a períodos de luz mais prolongados (anexo II).

Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 66 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1300 indivíduos. No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes fotoperíodos, à eclosão foram encontrados valores significativamente superiores em larvas submetidas a 0L:24D ($0,169 \pm 0,06$ mg por 5 larvas), em relação às submetidas a 14L:10D ($0,128 \pm 0,05$ mg por 5 larvas) ($p < 0,02$). No peso seco à abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$), porém inverteu-se a tendência, sendo o valor superior em larvas submetidas a 24L:0D ($0,159 \pm 0,03$ mg por 5 larvas). Adicionalmente, as larvas à abertura da boca apresentam pesos inferiores aos da eclosão nas larvas submetidas a 0L:24D e superiores em larvas submetidas a 14L:10D e 24L:0D (anexo II).

3.1.2.5 – Ácidos gordos

Na tabela 11 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes fotoperíodos e respetiva análise estatística.

Com a exceção do ácido gordo 20:5 ω 3 EPA, todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial ($p < 0,03$). Adicionalmente, à exceção dos ácidos gordos 20:4 ω 6 ARA, 18:0 e a razão

$\omega 3/\omega 6$, em larvas à abertura da boca foram encontradas concentrações significativamente inferiores de ácidos gordos, em relação às da eclosão ($p=0,00$).

À eclosão, na maioria dos ácidos gordos, foram encontradas concentrações significativamente inferiores em larvas submetidas a 14L:10D, em relação aos restantes tratamentos ($p<0,05$), sendo que, mesmo quando os valores não foram significativamente diferentes, há uma tendência para valores inferiores no controlo. À abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas entre as concentrações dos diferentes ácidos gordos nos diferentes tratamentos ($p>0,05$), mas, contrariamente à eclosão, parecer existir uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 14L:10D.

3.1.2.6 – Resumo

No presente ensaio, o fotoperíodo não parece afetar as taxas de eclosão e de sobrevivência à abertura da boca em *Sparus aurata*, contrariamente ao descrito em Stuart and Drawbridge 2012 e Tandler and Helps 1985 que sugere sobrevivências superiores em larvas submetidas a fotoperíodos prolongados, ou ao descrito em Sahin et al. 2001, onde foi observada uma maior sobrevivência em tanques submetidas a 0L:24D. Independentemente do fotoperíodo, todas as larvas eclodiram 46h após incubação e abriram a boca passadas 124 h, o que sugere a inexistência de diferenças no desenvolvimento larvar.

Em relação ao crescimento larvar, 0 DAE observou-se uma tendência para comprimentos standard superiores nas larvas submetidas a 24L:0D, como descrito em Tandler and Helps 1985, onde foi demonstrado um maior crescimento em larvas submetidas a fotoperíodos prolongados. Porém, a partir de 1 DAE esta tendência alterou-se e no final da experiência encontraram-se valores superiores em larvas submetidas a 14L:10D. Para justificar esta alteração e contrariando ao referido pelo anterior autor citado, Sahin et al. 2001 sugeriu que elevados períodos de luz poderão afetar negativamente o desenvolvimento larvar, sugerindo comprimentos totais superiores em tanques com menor iluminação.

Paralelamente ao crescimento exponencial das larvas, ocorreu uma redução nas reservas lipídicas ao longo da experiência. Apesar de 0 DAE serem verificados valores significativamente inferiores nas reservas lipídicas de larvas submetidas a 14L:0D, no total da experiência não foi encontrada uma tendência para valores superiores ou inferiores em determinado fotoperíodo, contrariamente ao descrito em Sahin et al. 2001, que sugeriu um aumento do consumo das reservas endógenas, em larvas submetidas a períodos prolongados de luz.

No que toca à composição lipídica, foram verificadas concentrações significativamente inferiores nas larvas à abertura da boca, como descrito em Abi-Ayad et al. 2000 e Cejas et al. 2004. Adicionalmente, à eclosão, larvas submetidas a 14L:0D apresentaram valores significativamente inferiores, em relação às larvas dos restantes tratamentos.

Resumindo, a escolha do fotoperíodo em larvas de *Sparus aurata* poderá por vezes depender da fase larvar. Em Sahin et al. 2001 foram demonstrados efeitos positivos no desenvolvimento e manutenção das reservas em estados larvares precoces em ambientes de escuridão. Porém, após início da alimentação exógena, em fases larvares posteriores, Stuart and Drawbridge 2012 e Tandler and Helps 1985 demonstraram que com o aumento do fotoperíodo, o período em que as larvas se podem alimentar aumenta, o que poderá levar ao crescimento larvar e posterior aumento da sobrevivência.

3.1.3 – Linguado - *Solea senegalensis*

3.1.3.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da quadragésima oitava postura do tanque de reprodutores exterior 1 (Ttx1), tinham as seguintes características: aquando da recolha encontravam-se em fase de gastrulação e passadas 3 h e 30 min, quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem, encontravam-se em iniciação à fase de nêurula (figura 25a). Com um diâmetro médio de $1,03 \pm 0,02$ mm e área média de $3,31 \pm 0,13$ mm² (n=20), apresentam inúmeras gotas lipídicas.

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação. Não sendo encontradas diferenças significativas entre as variáveis morfométricas dos diferentes fotoperíodos ($p > 0,05$).

3.1.3.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca

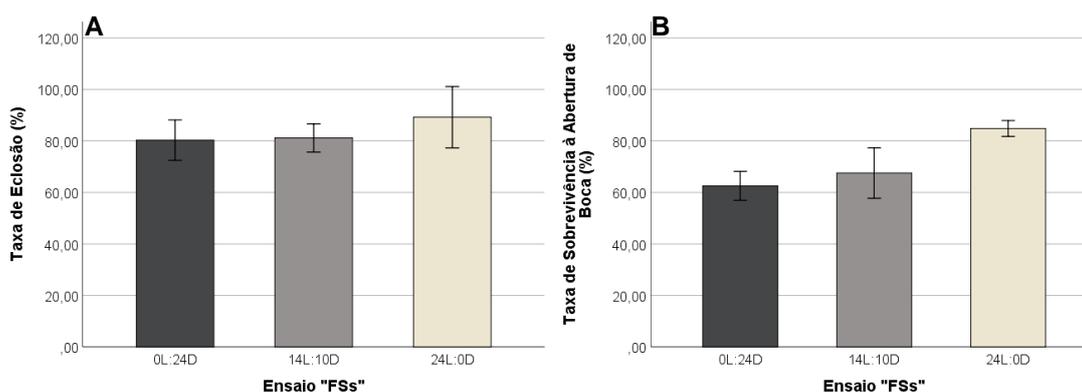


Figura 24: (Ensaio “FSS”) Taxas de Eclosão (A) e Taxas de Sobrevivência à Abertura de Boca (B) em larvas de *S. senegalensis* submetidas a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média \pm desvio-padrão. Não existem diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

Em larvas de *S. senegalensis* submetidas a diferentes fotoperíodos, a taxa de eclosão variou entre os 80 e os 89%, verificando-se um valor superior em larvas submetidas a 24L:0D (89,23 ± 11,90%), apesar de não existirem diferenças significativas entre tratamentos ($p>0,05$) (figura 24A e anexo II). Relativamente à taxa de sobrevivência à abertura da boca, continuou a verificar-se uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 24L:10D (84,83 ± 3,10%) e sobrevivências inferiores nos restantes tratamentos, ainda assim continuou a não se verificar diferenças significativas entre os valores ($p>0,05$) (figura 24B e anexo II).

3.1.3.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

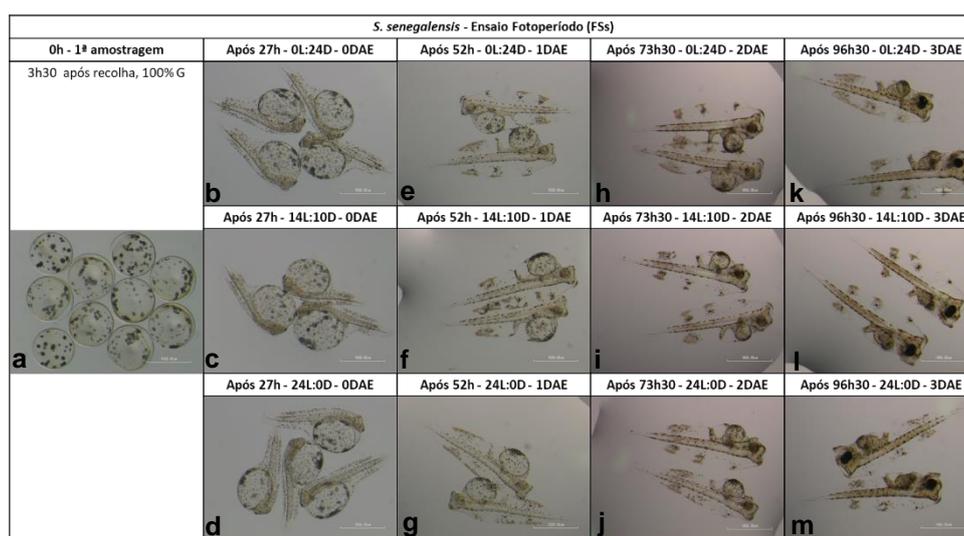


Figura 25: (Ensaio “FSs”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *S. senegalensis*. Incubação a 18,5 °C (± 0,3) e 3 fotoperíodos submetidos. Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 3 h e 30 min após recolha do coletor, eclosão após 27 h e abertura da boca após 96 h e 30 min.

Na figura 25 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *S. senegalensis* submetidas a diferentes fotoperíodos. Na figura 26 e tabela 8 do anexo III pode analisar-se a evolução das suas variáveis morfométricas, através das curvas de crescimento e de depleção do saco vitelino e através da respetiva análise descritiva.

Após 27 h de incubação 96% das larvas já estavam eclodidas (0 DAE), apresentando alguma pigmentação no corpo (figura 25b/c/d) e verificando-se uma tendência de comprimentos standard superiores em larvas submetidas a 24L:0D com uma média de 2,13 ± 0,16 mm (figura 26A e tabela 8), apesar de não existirem diferenças significativas entre tratamentos ($p>0,05$). Paralelamente foi verificada uma área do saco vitelino significativamente inferior em larvas submetidas a 14L:10D (2,22 ± 0,36 mm²), relativamente às submetidas a 0L:24D ou 24L:0D ($p<0,03$) (figura 26B e tabela 8).

Após 52 h, 1 DAE, pôde observar-se um grande decréscimo na área do saco vitelino, cerca de 50% em relação ao seu tamanho à eclosão (figura 25e/f/g), que coincidiu com maior crescimento dos indivíduos (figura 26). Foi verificado um comprimento standard significativamente superior em larvas submetidas a 24L:0D ($2,79 \pm 0,13$ mm), em relação às submetidas a 14L:10D ($2,71 \pm 0,21$ mm) ($p < 0,03$) (figura 26A e tabela 8). Não foram encontradas diferenças significativas entre as áreas dos sacos vitelinos dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$),

Após 73 h e 30 min, 2 DAE, foi novamente verificado um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 24L:0D ($2,99 \pm 0,18$ mm), em relação às submetidas a 14L:10D ($2,89 \pm 0,19$ mm) ($p < 0,05$) (figura 26A e tabela 8). Os olhos começaram a pigmentar e, apesar de não estar completamente aberta, notou-se um desenvolvimento na boca (figura 25h/i/j). O saco vitelino continuou a diminuir e apesar de não existirem diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$), verificou-se uma tendência para áreas de saco vitelino inferiores em larvas submetidas a períodos de luz mais prolongados (figura 26B e tabela 8).

Ao fim de 96 h e 30 min a $18,5$ °C, 3 DAE, todas as larvas, independentemente do fotoperíodo submetido, abriram a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e possuíam saco vitelino (figura 25k/l/m). Em relação às variáveis morfométricas não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). Apesar de continuar a tendência para áreas de saco vitelino inferiores em larvas submetidas a períodos de luz mais prolongados (figura 26B e tabela 8) e ocorreu uma alteração na tendência dos valores de comprimentos standard, havendo um maior crescimento em larvas submetidas a 14L:10D, sendo observados valores superiores ($3,16 \pm 0,12$ mm) em relação aos restantes tratamentos (figura 26A e tabela 8).

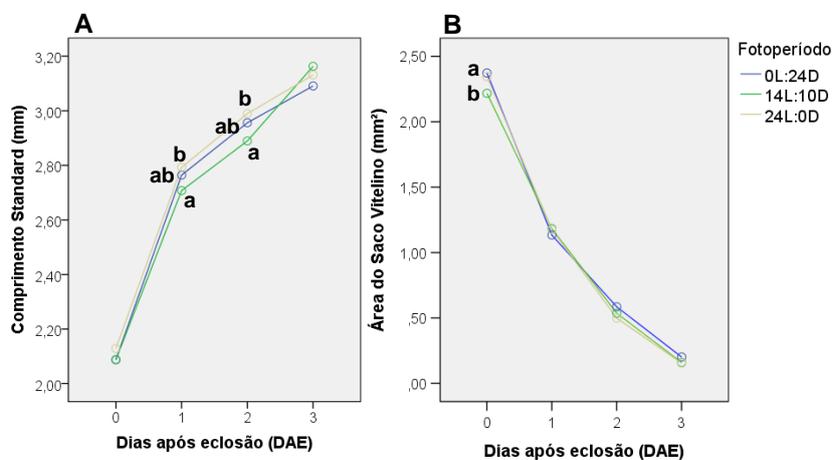


Figura 26: Evolução das variáveis morfométricas, da eclosão (0 DAE) à abertura da boca (3 DAE), em larvas de *S. senegalensis* submetidas a diferentes fotoperíodos. **A** – Comprimento standard (mm). **B** – Área do saco vitelino (mm²). Valores correspondentes à média e letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

3.1.3.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco

A taxa de crescimento em larvas de *S. senegalensis* submetidas a diferentes fotoperíodos variou entre os $35,44 \pm 6,23\%$ (14L:10D) e os $31,09 \pm 6,17\%$ (24L:0D), não se observando diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$) (anexo II). Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 76 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1600 indivíduos.

3.1.3.5 – Ácidos gordos

Na tabela 12 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *S. senegalensis* submetidas a diferentes fotoperíodos e respetiva análise estatística.

Com a exceção do ácido gordo 14:0 e da razão $\omega 3/\omega 6$, todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial ($p < 0,02$). Adicionalmente, à exceção dos ácidos gordos 20:4 ω 6 ARA, 18:0 e outros SFA, em larvas à abertura da boca foram encontradas concentrações significativamente inferiores de ácidos gordos, em relação às da eclosão ($p < 0,02$).

À eclosão, na maioria dos ácidos gordos, foram encontradas concentrações significativamente superiores em larvas submetidas a 14L:10D, em relação aos restantes tratamentos ($p < 0,05$), sendo que, mesmo quando os valores não foram significativamente diferentes, há uma tendência para valores inferiores no controlo. À abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas, entre as concentrações dos diferentes ácidos gordos, nos diferentes tratamentos ($p > 0,05$).

3.1.3.6 – Resumo

No presente ensaio, em larvas de *Solea senegalensis*, parece existir uma tendência para taxas de eclosão e de sobrevivência à abertura da boca superiores em larvas submetidas a fotoperíodos de 24L:0D e inferiores em larvas submetidas a 0L:24D, tal como demonstrado em Hart et al. 1996, que sugere que o fotoperíodo não deverá afetar significativamente as sobrevivências, a menos que as larvas sejam submetidas menos de 6 h de luz. Independentemente do fotoperíodo, todas as larvas eclodiram 27 h após incubação e abriram a boca passadas 96 h, o que sugere a inexistência de diferenças no desenvolvimento larvar.

Em relação ao crescimento larvar, 1 DAE e 2 DAE, as larvas submetidas a 24L:0D apresentarem comprimentos standard significativamente superiores, como descrito em

Hart et al. 1996, onde foi demonstrado um maior crescimento e larvas submetidas de 18 a 24 h de luz. Porém à abertura da boca esta tendência atenuou-se, começando a se notar valores superiores em 14L:10D, confirmando o demonstrado em Villamizar et al. 2011, que ao contrário do autor anterior, sugere melhores taxas de crescimento a 12L:12D.

Paralelamente ao crescimento exponencial das larvas, ocorreu uma redução nas reservas lipídicas ao longo da experiência. Onde, apesar de 0 DAE serem verificados valores significativamente superiores na reserva lipídica, de larvas submetidas a 0L:24D, no total da experiência, não foi encontrada uma tendência para valores superiores ou inferiores em determinado fotoperíodo, contrariamente ao descrito em Villamizar et al. 2011, que sugeriu uma conservação das reservas lipídicas em larvas submetidas a 0L:24D, de 2 dias em relação às submetidas a 12L:12D.

No que toca à composição lipídica, foram verificadas concentrações significativamente inferiores nas larvas à abertura da boca, como descrito em Abi-Ayad et al. 2000 e Cejas et al. 2004. Adicionalmente, à eclosão, larvas submetidas a 14L:0D apresentaram valores significativamente inferiores, em relação às larvas dos restantes tratamentos.

Resumindo e, segundo Pedro Cañavate et al. 2006, em “peixes chatos” foram reportadas algumas melhorias do crescimento em larvas submetidas a períodos de luz mais longos, porém a possibilidade do aparecimento de inúmeras malformações funcionais e morfológicas (Villamizar et al. 2011), levam à necessidade de uma escolha adequada do fotoperíodo em larvas de *Solea senegalensis*. Por fim, segundo Villamizar et al. 2011 o uso de 14L:10D desde o início da alimentação exógena será a melhor opção para a cultura larval de *S. senegalensis*.

3.1.4 – Sargo - *Diplodus sargus*

3.1.4.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da vigésima primeira postura do tanque de reprodutores 4 (R4), tinham as seguintes características: quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem apresentavam diferentes fases de desenvolvimento, 13% estavam em blástula, 67% em gástrula e 20% em nêurula (n=20) (figura 28a). Com um diâmetro médio de $0,99 \pm 0,02$ mm e área média de $3,06 \pm 0,13$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,121 \pm 0,01$ mm².

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 23 h de incubação. Verificando-se diâmetros, áreas do ovo e da gota lipídica significativamente superiores em ovos submetidos a 14L:10D (diâmetro de $1,02 \pm$

0,03 mm, área do ovo de $3,24 \pm 0,20 \text{ mm}^2$ e área da gota lipídica de $0,129 \pm 0,01 \text{ mm}^2$, em relação aos submetidos aos restantes tratamentos ($p < 0,03$).

3.1.4.2 – Taxas de Eclosão

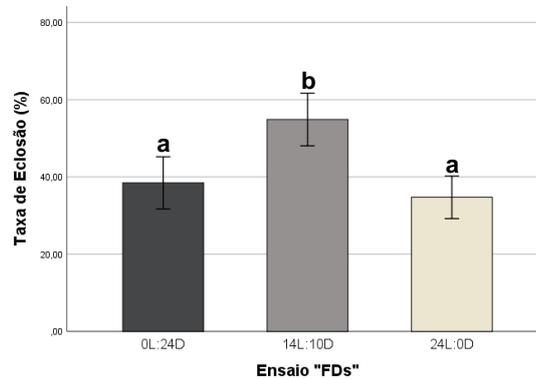


Figura 27: (Ensaio "FDs") Taxas de Eclosão em larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média \pm desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

Em larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes fotoperíodos, a taxa de eclosão variou entre os 35 e os 55%, verificando-se um valor significativamente superior em larvas submetidas a 14L:10D ($54,87 \pm 6,82\%$), relativamente às submetidas a 0L:24D ou 24L:0D ($p < 0,03$) (figura 27 e anexo II).

3.1.4.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

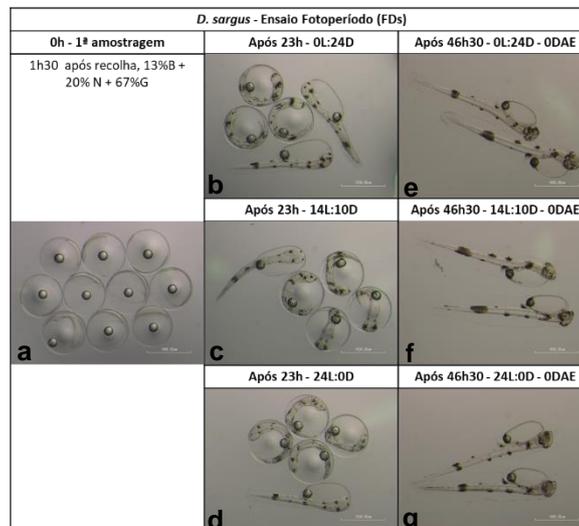


Figura 28: (Ensaio "FDs") Desenvolvimento embrionário e larvar em *D. sargus*. Incubação a $18,5 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 0,4$) e submetidos 3 fotoperíodos. Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 1 h e 30 min após recolha do coletor, início de eclosão após 23 h e eclosão completa após 46 h e 30 min.

Na figura 28 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes fotoperíodos. Na tabela 9 do anexo III pode observar-se a análise descritiva das variáveis morfométricas aos 0 DAE.

Após 23 h de incubação deu-se início à eclosão das larvas (figura 28b/c/d) e após 46 h e 30 min, na segunda amostragem, todas as larvas estavam eclodidas, 0 DAE (figura 28e/f/g). Verificou-se um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 0L:24D ($3,06 \pm 0,16$ mm), em relação às submetidas a 14L:10D ($2,95 \pm 0,30$ mm) ($p < 0,01$), não existindo diferenças significativas dos dois valores com o tratamento de 24L:0D (tabela 9). Nas áreas do saco vitelino não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$), mas verificaram-se áreas da gota lipídica significativamente superior nas larvas submetidas a 24L:0D ($0,110 \pm 0,01$ mm²), em relação às submetidas a 14L:10D ($0,105 \pm 0,01$ mm) ($p < 0,02$), não existindo diferenças significativas dos dois valores com o tratamento de 0L:24D (tabela 9).

3.1.4.4 – Peso Seco

Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 74 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1540 indivíduos. No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes fotoperíodos, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, apesar de ser verificado um peso seco superior em larvas submetidas a 14L:10D ($0,157 \pm 0,03$ mg por 5 larvas), o que coincide com comprimentos standard inferiores (anexo II).

3.1.4.5 – Ácidos gordos

Na tabela 13 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes fotoperíodos e respetiva análise estatística.

Com a exceção do ácido gordo 14:0 e Outros Mufa, todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial ($p < 0,01$).

À eclosão, nos ácidos gordos 18:1 ($\omega_9 + \omega_7 + \omega_5$), Σ Mufa, 20:5 ω_3 EPA, Σ PUFA, Σ ω_3 e na soma de SFA+Mufa+Pufa foram encontradas concentrações significativamente superiores em larvas submetidas a 14L:10D, em relação às submetidas a 24L:0D ($p < 0,05$).

3.1.4.6 – Resumo

No presente ensaio, em larvas de *Diplodus sargus*, parece existir uma tendência para taxas de eclosão significativamente superiores em larvas submetidas a fotoperíodos de 14L:10D. Independentemente do fotoperíodo, todas as larvas eclodiram 46 h e 30 min após incubação, o que sugere a inexistência de diferenças no desenvolvimento larvar.

Em relação ao crescimento larvar, à eclosão, as larvas submetidas a 0L:24D apresentarem comprimentos standard significativamente superiores, contrariamente ao descrito em Tandler and Helps 1985, onde foi demonstrado um maior crescimento, em larvas submetidas a fotoperíodos prolongados.

Paralelamente ao crescimento exponencial das larvas, ocorreu uma redução nas reservas lipídicas ao longo da experiência. Onde, apesar de não esperado, foram encontrados valores superiores nas reservas de larvas submetidas a 24L:0D, contrariamente ao descrito em Villamizar et al. 2011, que sugeriu uma conservação das reservas lipídicas em larvas submetidas a 0L:24D.

No que toca à composição lipídica, foram verificadas concentrações significativamente superiores nas larvas submetidas a 14L:0D, em relação às submetidas a 24L:0D.

3.2 – Discussão (Fotoperíodo)

Nos últimos anos, a comunidade científica tem avaliado os efeitos do fotoperíodo em diversas espécies (Berlinsky et al. 2004; Boeuf and Le Bail 1999; Stuart and Drawbridge 2012; Villamizar et al. 2011), nomeadamente em corvina (Ballagh et al. 2008; Fielder et al. 2005; Shan et al. 2008; Vallés and Estévez 2013), em dourada (Sahin et al. 2001; Tandler and Helps 1985) e em linguado (Cañavate et al. 2006), acreditando-se que seja um dos fatores que possa controlar o crescimento e sobrevivência nos primeiros estados da vida larvar, influenciando os ritmos de alimentação endógena.

Em sistemas de produção larvar intensiva há uma tendência para prolongar artificialmente o período de luz diária, a fim de obter maiores ingestões alimentares e conseqüente crescimento larvar. Assim, quando há o desenvolvimento de protocolos, para a cultura larvar de novas espécies, os produtores tendem a usar longos fotoperíodos, por vezes não tendo em conta as condições que as larvas encontram na natureza (Boeuf and Le Bail 1999; Vallés and Estévez 2013). Adicionalmente, como forma de prolongar as reservas lipídicas, em algumas espécies são aplicados períodos completos de escuridão, como é o caso do cultivo em *Dicentrarchus labrax* (Villamizar et al. 2009). Tornando-se extremamente importante encontrar o fotoperíodo adequado para o cultivo larvar de cada espécie.

No presente estudo, em 3 das 4 espécies marinhas submetidas a diferentes fotoperíodos, não foram observados efeitos significativos do fotoperíodo nas taxas de eclosão e de sobrevivência até à abertura da boca. Em relação às variáveis morfométricas, tal como esperado (Tandler and Helps 1985; Vallés and Estévez 2013), à eclosão foram observados valores superiores de comprimentos standard em larvas submetidas a 24L:0D, com a exceção de *D. sargus*, mas à abertura da boca não foram encontradas diferenças entre os tratamentos. No que toca às áreas do saco vitelino seriam de esperar, como descrito em Vallés and Estévez 2013 e Villamizar et al. 2011, valores inferiores em larvas submetidas a períodos prolongados de luz, porém apenas à eclosão em larvas de *Sparus aurata* foi verificada esta tendência, nos restantes ensaios não foram comprovadas diferenças significativas entre os tratamentos, da eclosão à abertura da boca.

Na composição dos ácidos gordos, tal como seria de esperar e como descrito em Abi-Ayad et al. 2000 e Cejas et al. 2004, em todos os ensaios e na maioria dos ácidos gordos foram encontrados valores significativamente inferiores em larvas à abertura da boca, que poderá ser justificado pela depleção das reservas endógenas, registando-se ainda uma tendência para valores inferiores em períodos prolongados de luz.

Em todas as espécies a abertura da boca ocorreu ao 3 DAE e, quando relacionadas as características entre as diferentes espécies, pôde verificar-se comprimentos standard superiores em esparídeos.

Apesar dos estudos acima mencionados trazerem novas descobertas acerca da possível influência da manipulação de fotoperíodos no desenvolvimento larvar, serão necessários futuros estudos com a interação de fatores como a nutrição, a temperatura e a qualidade da água. Objetivando-se um melhor conhecimento da influência da luz nas diferentes fases larvares, na sobrevivência, no crescimento larvar, no melhoramento das produções e consequentes reduções nos custos (Villamizar et al. 2011).

3.3 – Temperatura Fria

3.3.1 – Corvina - *Argyrosomus regius*

3.3.1.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da décima quarta postura do tanque de reprodutores 7 (R7), tinham as seguintes características: aquando da recolha encontravam-se em fase de gastrulação e passadas 5 h, quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem, 90% dos ovos já se encontravam em fase de nêurula, marcada com o aparecimento do escudo embrionário (figura 30a). Com um diâmetro médio de $1,08 \pm 0,03$ mm e área média de $3,65 \pm 0,15$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,324 \pm 0,11$ mm² (n=20).

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação, referentes ao tratamento de 16 °C. Foi verificada uma área da gota lipídica significativamente inferior nos ovos passadas 24 h de incubação a 16 °C ($0,198 \pm 0,04$ mm²), em relação aos da recolha ($p=0,00$).

3.3.1.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca

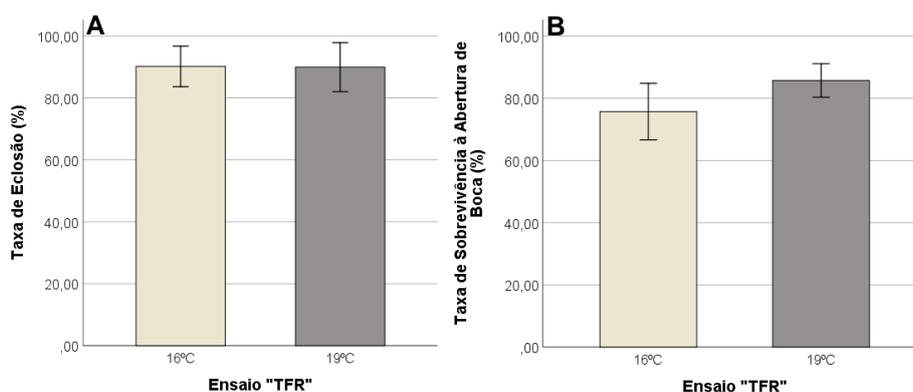


Figura 29: (Ensaio "TFR") Taxas de Eclosão (A) e Taxas de Sobrevivência à Abertura de Boca (B) em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média \pm desvio-padrão. Não existem diferenças significativas entre tratamentos ($p>0,05$).

Em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas, não foram observados efeitos significativos da temperatura nas taxas de eclosão ($p>0,05$) (figura 29A e anexo II). Relativamente à taxa de sobrevivência à abertura da boca, em larvas submetidas a 19 °C verificou-se uma sobrevivência superior ($85,71 \pm 5,39\%$) e uma sobrevivência ligeiramente inferior em larvas submetidas a 16 °C ($75,71 \pm 9,09\%$), ainda assim continuou a não se verificar diferenças significativas entre os valores (figura 29B e anexo II).

3.3.1.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

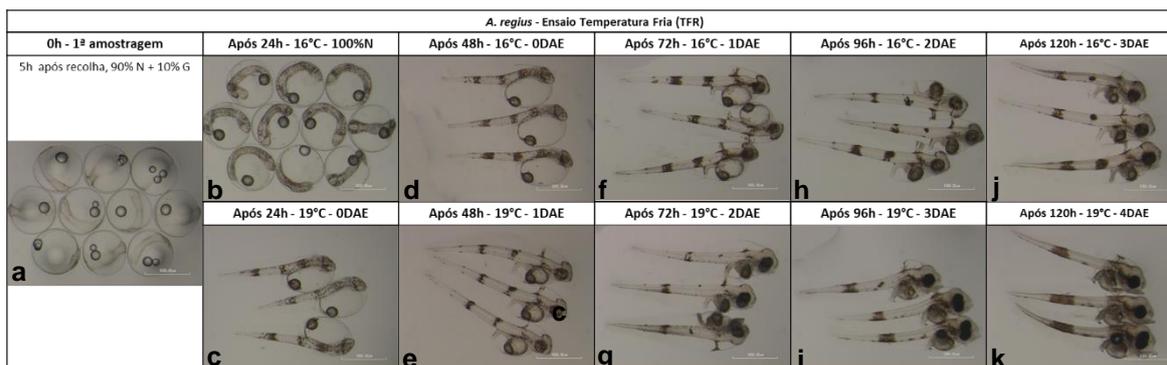


Figura 30: (Ensaio “TFR”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *A. regius*. Incubação a 19,9 °C ($\pm 0,9$) e 16 °C ($\pm 1,0$). Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 5 h após recolha do coletor. Eclosão após 24 h e abertura da boca após 72 h nas larvas submetidas a 19 °C. Eclosão após 48 h e abertura da boca após 120 h nas larvas submetidas a 16 °C.

Na figura 30 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas. Na figura 31 e tabela 6 do anexo III pode analisar-se a evolução das suas variáveis morfométricas, através das curvas de crescimento e de depleção das reservas lipídicas e através da respetiva análise descritiva.

Após 24 h de incubação todas as larvas submetidas a 19 °C já estavam eclodidas (figura 30b), ao contrário das submetidas a 16 °C, que se encontravam ainda em fase de nêurula (figura 30c), eclodindo apenas 48 h após incubação (figura 30d). Com 0 DAE verificou-se um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 16 °C ($2,77 \pm 0,13$ mm), em relação às submetidas a 19 °C ($2,57 \pm 0,11$ mm) ($p=0,00$) (figura 31A e tabela 6). Inversamente, foi verificada uma área do saco vitelino significativamente inferior nas larvas submetidas a 16 °C ($2,32 \pm 0,35$ mm²), em relação às submetidas a 19 °C ($2,55 \pm 0,36$ mm²) ($p=0,00$) (figura 31B e tabela 6). Não foram encontradas diferenças significativas as áreas da gota lipídica dos diferentes tratamentos ($p>0,05$). Estas diferenças poderão ser pelo facto das larvas submetidas a 16 °C eclodirem 24 h depois, havendo mais tempo para crescerem e gastarem as suas reservas lipídicas.

Um dia após eclosão (1 DAE), pôde observar-se um grande decréscimo na área do saco vitelino, cerca de 70% em relação ao seu tamanho à eclosão (figura 30e/f), que coincidiu com maior crescimento dos indivíduos (figura 31A). Apesar de não serem encontradas diferenças significativas entre os comprimentos standard dos diferentes tratamentos ($p>0,05$), devido ao maior crescimento das larvas submetidas a 19 °C, continuou-se a verificar valores superiores em larvas submetidas a 16 °C (figura 31A e tabela 6). No que toca às reservas lipídicas, foi verificada uma área do saco vitelino ($0,84 \pm 0,15$ mm²) e uma área da gota lipídica ($0,141 \pm 0,01$ mm²) significativamente superior em larvas submetidas a 16 °C ($p=0,00$), alterando a tendência em relação aos valores da

eclosão (figura 31B/C e tabela 6). Esta alteração poderá ser justificada pelo grande crescimento das larvas submetidas a 19 °C, com conseqüente consumo das suas reservas e pela conservação das reservas das larvas submetidas à temperatura inferior (16 °C) apesar do atraso de 24 h na eclosão (figura 31B/C).

Dois dias após eclosão (2 DAE), foi novamente verificado um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 16 °C ($3,26 \pm 0,19$ mm), em relação às submetidas a 19 °C ($3,16 \pm 0,14$ mm) ($p=0,00$) (figura 31A e tabela 6). Neste momento, após 72 h, as larvas submetidas a 19 °C abrem a boca e olhos estavam completamente pigmentados. Os sacos vitelinos continuaram a diminuir (figura 30g/h), verificando-se áreas do saco vitelino ($0,19 \pm 0,04$ mm²) e da gota lipídica ($0,06 \pm 0,01$ mm²) significativamente inferiores nas larvas submetidas a 19 °C, em relação às de 16 °C ($p=0,00$) (figura 31C e tabela 6).

Após 120 h, 3 DAE, as larvas submetidas a 16 °C abrem a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e ainda com saco vitelino e gota lipídica (figura 30j). Verificando-se áreas do saco vitelino ($0,17 \pm 0,03$ mm²) e da gota lipídica ($0,05 \pm 0,01$ mm²) significativamente superiores nas larvas submetidas a 16 °C, em relação às de 19 °C ($p=0,00$) (figura 31B/C e tabela 6). Adicionalmente, após 96 h, 3 DAE, as larvas submetidas a 19 °C começaram a formar a bexiga natatória e parcialmente não possuíam saco vitelino, apenas gota lipídica (figura 30i).

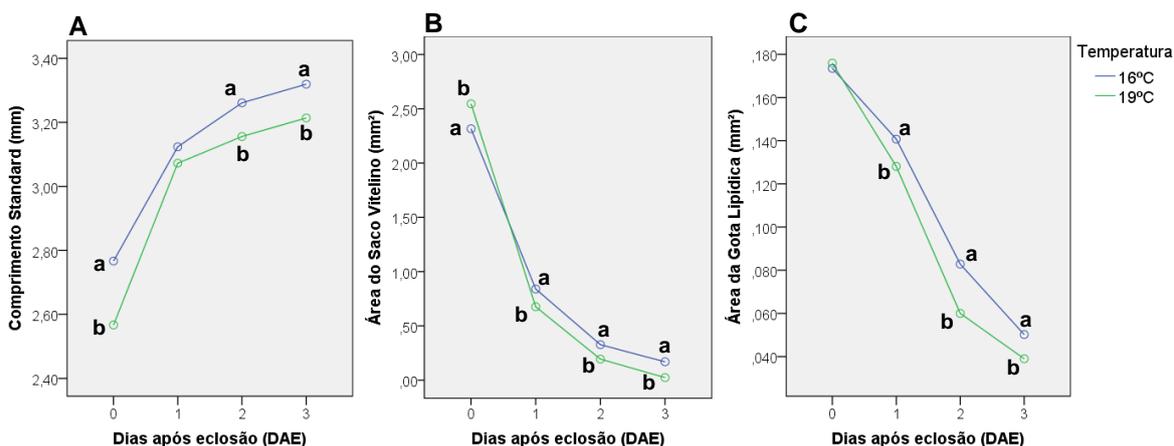


Figura 31: Evolução das variáveis morfológicas, da eclosão (0 DAE) à abertura da boca (2/3 DAE), em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas. **A** – Comprimento standard (mm). **B** – Área do saco vitelino (mm²). **C** – Área da gota lipídica (mm²). Valores correspondentes à média e letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p<0,05$).

3.3.1.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco

Em larvas *A. regius* não foram observadas diferenças significativas entre as taxas de crescimento de larvas submetidas a diferentes temperaturas ($p>0,05$), apesar de uma

tendência para valores superiores em larvas submetidas a 19 °C ($27,66 \pm 5,42\%$), em relação às submetidas a 16 °C ($18,42 \pm 0,74\%$) (anexo II).

Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 55 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1050 indivíduos. No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes temperaturas, tanto à eclosão como à abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$), as larvas à abertura da boca apresentam pesos superiores aos da eclosão, encontrando-se valores superiores em larvas submetidas a 16 °C (anexo II).

3.3.1.5 – Ácidos gordos

Na tabela 14 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas e respetiva análise estatística.

Todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial e às larvas à abertura da boca ($p=0,00$). Adicionalmente, tanto à eclosão como à abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas, entre as concentrações dos diferentes ácidos gordos, nos diferentes tratamentos ($p>0,05$).

3.3.1.6 – Resumo

No presente ensaio, apesar da diminuição da temperatura não parecer afetar as taxas de eclosão em *Argyrosomus regius*, parece existir uma tendência para sobrevivências superiores em larvas submetidas a 19 °C, tal como demonstrado em Georgakopoulou et al. 2010, que sugere o aumento da sobrevivência larvar quando há um aumento de 16 para 19 °C após a abertura da boca.

No desenvolvimento, tal como esperado, larvas submetidas a 19 °C eclodiram 24 h antes e abriram a boca 48 h antes das submetidas a 16 °C, tal como demonstrado em Gracia-López et al. 2004, que sugere que o tempo de incubação será inversamente proporcional à temperatura, por isso larvas submetidas a temperaturas mais baixas levaram mais tempo a eclodir.

Em relação ao crescimento larvar, após um atraso de 24 h na eclosão, as larvas submetidas a 16 °C apresentaram comprimentos standard superiores e reservas com valores inferiores às submetidas a 19 °C com a mesma idade, tendência que se manteve ao longo da experiência no que toca ao comprimento, mas em relação às reservas, houve uma alteração, sugerindo uma maior conservação das reversas em larvas submetidas a

16 °C. Factos comprovados também em Gracia-López et al. 2004, onde são relatados comprimentos larvares superiores a temperaturas mais baixas, tendo uma relação inversa com o tamanho da gota lipídica.

Adicionalmente, apesar de não existirem diferenças significativas entre os tratamentos, a taxa de crescimento parece ser superior em larvas submetidas a uma temperatura superior, que poderá ser justificado pelo rápido crescimento e desenvolvimento. No que toca ao peso seco parece existir uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 16 °C, contrariamente ao demonstrado em Fielder et al. 2005.

No que toca à composição lipídica, foram verificadas concentrações significativamente inferiores nas larvas à abertura da boca, como descrito nos ensaios anteriores e em Abi-Ayad et al. 2000 e Cejas et al. 2004. Porém, à eclosão e à abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, o que sugere que apesar do atraso no desenvolvimento, as larvas apresentam uma composição em ácidos gordos semelhantes em fases de vida iguais.

Resumindo, apesar do tempo de incubação dos ovos a temperaturas mais baixas ser superior (Imsland et al. 2018a), todos os fatores têm de ser ponderados para a escolha adequada da temperatura de cultivo em larvas de *Argyrosomus regius*, já que temperaturas mais elevadas, apesar da rapidez na eclosão, poderão levar a malformações (Imsland et al. 2018a). Assim, tal como demonstrado nos resultados acima descritos e em Fielder et al. 2005, a temperatura de incubação possui um papel importante no efeito do crescimento e desenvolvimento larvar, que poderá alterar dependendo da espécie em estudo.

3.3.2 – Dourada - *Sparus aurata*

3.3.2.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da ducentésima postura do tanque de reprodutores 1 (R1), tinham as seguintes características: aquando da recolha encontravam-se em fase de gastrulação e passadas 2 h, quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem, já se encontravam em fase de nêurula, marcada com o aparecimento do escudo embrionário (figura 33a). Com um diâmetro médio de $1,02 \pm 0,03$ mm e área média de $3,27 \pm 0,18$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,148 \pm 0,02$ mm² (n=20).

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação. Não sendo encontradas diferenças significativas entre as variáveis morfométricas das diferentes temperaturas ($p > 0,05$).

3.3.2.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca

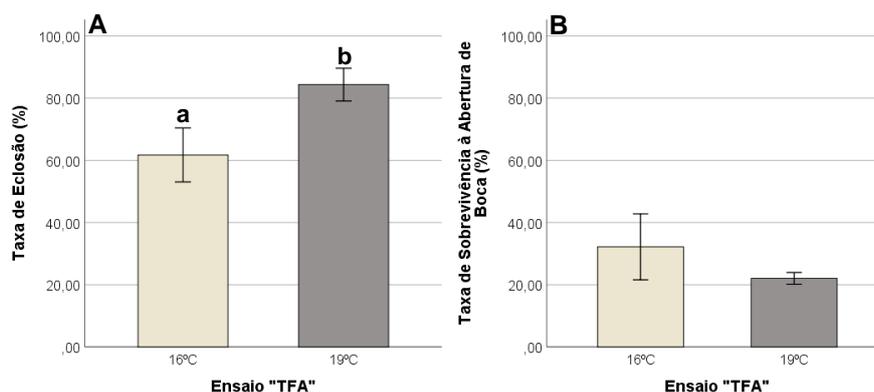


Figura 32: (Ensaio “TFA”) Taxas de Eclosão (A) e Taxas de Sobrevivência à Abertura de Boca (B) em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

Em larvas de *S. aurata*, submetidas a diferentes temperaturas, verificou-se uma taxa de eclosão significativamente superior em larvas submetidas a 19 °C ($84,36 \pm 5,26\%$), em relação às submetidas a 16 °C ($61,73 \pm 8,69\%$) ($p < 0,03$) (figura 32A e anexo II). Relativamente à taxa de sobrevivência à abertura da boca, contrariamente à eclosão, em larvas submetidas a 19 °C verificou-se uma sobrevivência inferior ($22,05 \pm 1,87 \%$) e uma sobrevivência superior em larvas submetidas a 16 °C ($32,19 \pm 10,60\%$), apesar de não serem verificadas diferenças significativas entre os valores (figura 32B e anexo II).

3.3.2.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

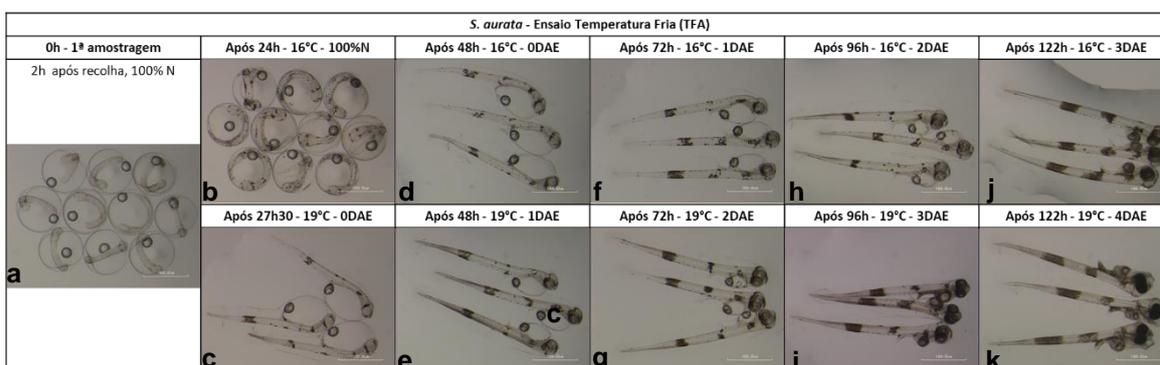


Figura 33: (Ensaio “TFA”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *S. aurata*. Incubação a 18,3 °C ($\pm 0,6$) e 16,1 °C ($\pm 0,8$). Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 2 h após recolha do coletor. Eclosão após 27 h e 30 min e abertura da boca após 96 h nas larvas submetidas a 19 °C. Eclosão após 45 h e 30 min e abertura da boca após 122 h nas larvas submetidas a 16 °C.

Na figura 33 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes temperaturas. Na figura 34 e tabela 7 do anexo III pode analisar-se a evolução das suas variáveis morfométricas, através das curvas de crescimento e de depleção das reservas lipídicas e através da respetiva análise descritiva.

Após 27 h e 30 min de incubação, todas as larvas submetidas a 19 °C já estavam eclodidas (figura 33c), ao contrário das submetidas a 16 °C que se encontravam ainda em fase de nêurula (figura 33b), eclodindo apenas 45 h e 30 min após incubação (figura 33d). Com 0 DAE verificou-se um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 16 °C ($3,03 \pm 0,20$ mm), em relação às submetidas a 19 °C ($2,92 \pm 0,11$ mm) ($p < 0,01$) (figura 34A e tabela 7). Inversamente, foram verificadas áreas do saco vitelino ($1,89 \pm 0,26$ mm²) e da gota lipídica ($0,139 \pm 0,01$ mm²) significativamente inferior nas larvas submetidas a 16 °C, em relação às submetidas a 19 °C ($p < 0,01$) (figura 34B/C e tabela 7). Estas diferenças poderão ser pelo facto das larvas submetidas a 16 °C eclodirem 18 h depois, havendo mais tempo para crescerem e gastarem as suas reservas lipídicas.

Um dia após eclosão (1 DAE), pôde observar-se um grande decréscimo na área do saco vitelino, cerca de 47% em relação ao seu tamanho à eclosão (figura 33e/f), que coincidiu com maior crescimento dos indivíduos (figura 34A). Não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos standard dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$), devido ao maior crescimento das larvas submetidas a 19 °C (figura 34A e tabela 7). No que toca às reservas lipídicas, não foram encontradas diferenças significativas entre as áreas do saco vitelino dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$) e foi novamente verificada uma área da gota lipídica significativamente inferior nas larvas submetidas a 16 °C ($0,124 \pm 0,01$ mm²), em relação às submetidas a 19 °C ($p < 0,05$) (figura 34B/C e tabela 7).

Dois dias após eclosão (2 DAE), não foram encontradas diferenças significativas entre as variáveis morfométricas dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$) (figura 28 e tabela 15) e com uma diferença de 18 h de eclosão, as larvas apresentam características morfológicas semelhantes (figura 33g/h).

Após 96 h e 122 h, 3 DAE, as larvas submetidas a 19 °C e 16 °C, respetivamente, abriram a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e ainda com saco vitelino e gota lipídica (figura 33i/j). Verificando-se novamente médias de comprimentos standard significativamente inferiores em larvas submetidas a 19 °C ($3,49 \pm 0,16$ mm) ($p = 0,00$) (figura 34A e tabela 7). Não foram encontradas diferenças significativas entre as áreas do saco vitelino e gota lipídica dos diferentes tratamentos ($p > 0,05$) (figura 34B/C e tabela 7). Adicionalmente, 4 DAE, após 122 h, as larvas submetidas a 19 °C partitamente não possuíam saco vitelino, apenas gota lipídica (figura 33k).

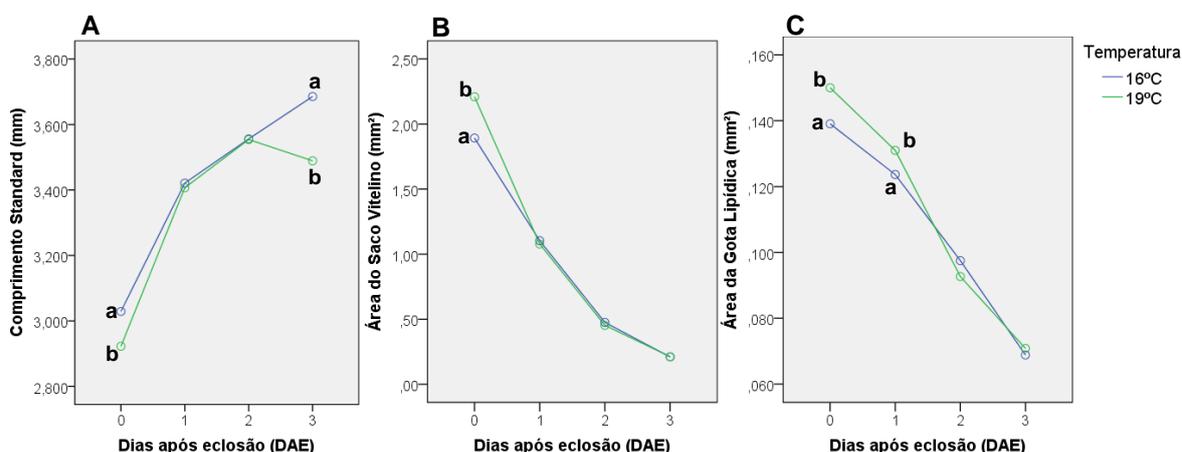


Figura 34: Evolução das variáveis morfométricas, da eclosão (0 DAE) à abertura da boca (3 DAE), em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes temperaturas. **A** – Comprimento standard (mm). **B** – Área do saco vitelino (mm²). **C** – Área da gota lipídica (mm²). Valores correspondentes à média e letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

3.3.2.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco

Em larvas *S. aurata* não foram observadas diferenças significativas entre as taxas de crescimento de larvas submetidas a diferentes temperaturas ($p > 0,05$), apesar de uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 16 °C ($21,81 \pm 2,37\%$), em relação às submetidas a 19 °C ($18,88 \pm 1,38\%$) (anexo II).

Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 58 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1300 indivíduos. No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes temperaturas, tanto à eclosão como à abertura da boca, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$). Tanto à eclosão como à abertura da boca foram encontrados valores superiores em larvas submetidas a 16 °C. Adicionalmente, as larvas à abertura da boca apresentam pesos inferiores aos da eclosão nas larvas submetidas a 16 °C e superiores em larvas submetidas a 19 °C (anexo II).

3.3.2.5 – Ácidos gordos

Na tabela 15 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes temperaturas e respetiva análise estatística.

Com a exceção do ácido gordo 18:3 ω 3 e da razão ω 3/ ω 6, todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial ($p < 0,02$).

À eclosão, nos ácidos gordos 14:0, 16:0 e Σ SFA, foram encontradas concentrações significativamente superiores em larvas submetidas a 19 °C, em relação às submetidas a 16 °C ($p < 0,05$), sendo que, nos restantes ácidos gordos, mesmo quando os valores não foram significativamente diferentes, há uma tendência para valores superiores no controlo. Sendo que, estas diferenças poderão ser pelo facto das larvas submetidas a 16 °C abrirem a boca mais tarde e serem recolhidas após terem consumido mais reservas lipídicas.

3.3.2.6 – Resumo

No presente ensaio, tal como descrito em Gracia-López et al. 2004, a temperatura parece afetar significativamente as taxas de eclosão, existindo uma tendência para eclosões superiores em larvas submetidas a 19 °C em *Sparus aurata*.

No desenvolvimento, tal como esperado, larvas submetidas a 19 °C eclodiram 18 h antes e abriram a boca 26 h antes das submetidas a 16 °C, tal como demonstrado em Gracia-López et al. 2004, que sugere que o tempo de incubação será inversamente proporcional à temperatura, por isso larvas submetidas a temperaturas mais baixas levaram mais tempo a eclodir.

Em relação ao crescimento larvar, após um atraso de 18 h na eclosão, as larvas submetidas a 16 °C apresentaram comprimentos standard superiores e reservas com valores inferiores às submetidas a 19 °C com a mesma idade, tendência que se manteve ao longo da experiência no que toca ao comprimento, mas em relação às reservas, a partir de 1 DAE não foram encontradas diferenças entre os tratamentos. Factos comprovados também em Gracia-López et al. 2004, onde são relatados comprimentos larvares superiores a temperaturas mais baixas, tendo uma relação inversa com o tamanho da gota lipídica.

Adicionalmente, apesar de não existirem diferenças significativas entre os tratamentos, a taxa de crescimento parece ser superior em larvas submetidas a 16 °C, contrariamente ao descrito em *A. regius*. No que toca ao peso seco parece existir uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 16 °C, contrariamente ao demonstrado em Fielder et al. 2005.

No que toca à composição lipídica, parece existir uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 19 °C, que poderá ser justificado pelo facto das larvas submetidas a 16 °C abrirem a boca mais tarde e serem recolhidas após terem consumido mais reservas lipídicas (Cejas et al. 2004).

Resumindo, apesar do tempo de incubação dos ovos a temperaturas mais baixas ser superior (Imsland et al. 2018a) e o aumento da temperatura aumentar o crescimento e absorção da reserva lipídica (Polo et al. 1991), todos os fatores têm de ser ponderados

para a escolha adequada da temperatura de cultivo em larvas de *Sparus aurata*. Assim, tal como demonstrado nos resultados acima descritos e em Fielder et al. 2005, a temperatura de incubação possui um papel importante no efeito do crescimento e desenvolvimento larvar, que poderá alterar dependendo da espécie em estudo. Apesar de Polo et al. 1991 ter retratado os 19 °C como uma temperatura ótima para cultivo de dourada, vários estudos têm ainda de ser realizados.

3.3.3 – Sargo - *Diplodus sargus*

3.3.3.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da quadragésima oitava postura do tanque de reprodutores 4 (R4), tinham as seguintes características: aquando da recolha, colocados no sistema e realizada a primeira amostragem encontravam-se em fase de gastrulação (figura 36a), com um diâmetro médio de $1,00 \pm 0,01$ mm e área média de $3,14 \pm 0,09$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,114 \pm 0,01$ mm² (n=20).

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação. Não sendo encontradas diferenças significativas entre as variáveis morfométricas das diferentes temperaturas ($p > 0,05$).

3.3.3.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca

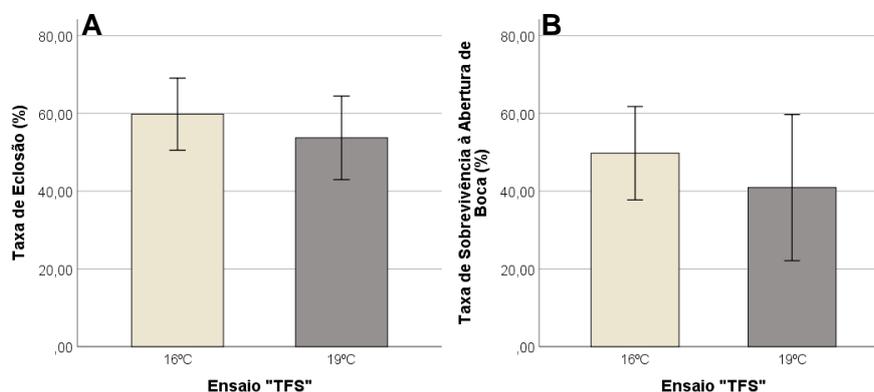


Figura 35: (Ensaio “TFS”) Taxas de Eclosão (A) e Taxas de Sobrevivência à Abertura de Boca (B) em larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média \pm desvio-padrão. Não existem diferenças significativas entre tratamentos ($p > 0,05$).

Em larvas de *D. sargus*, submetidas a diferentes temperaturas, verificou-se uma taxa de eclosão superior em larvas submetidas a 16 °C ($59,79 \pm 9,26\%$), em relação às submetidas a 19 °C ($53,70 \pm 10,74\%$), apesar de não serem verificadas diferenças significativas entre os valores ($p > 0,05$) (figura 35A e anexo II). Relativamente à taxa de

sobrevivência à abertura da boca, larvas submetidas a 19 °C verificou-se uma sobrevivência inferior ($40,91 \pm 18,79\%$) e uma sobrevivência superior em larvas submetidas a 16 °C ($49,76 \pm 12,00\%$), apesar de não serem verificadas novamente diferenças significativas entre os valores (figura 35B e anexo II).

3.3.3.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

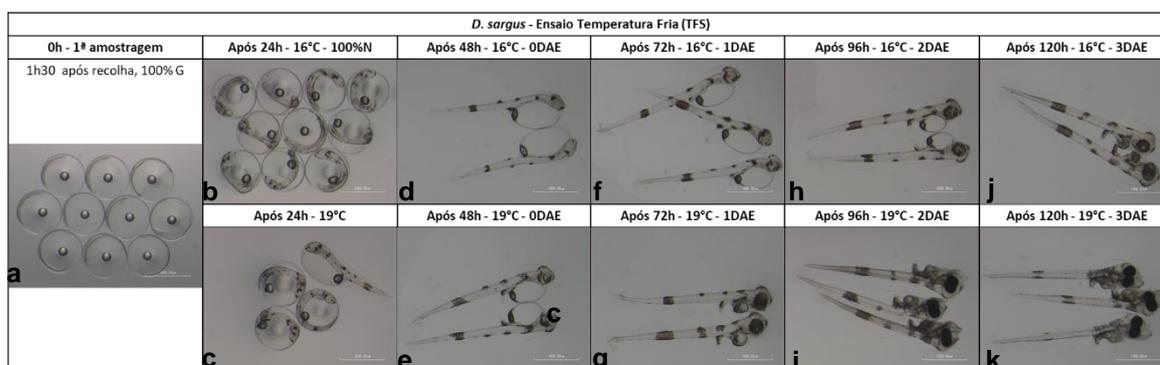


Figura 36: (Ensaio “TFS”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *D. sargus*. Incubação a 19,6 °C ($\pm 0,6$) e 16,5 °C ($\pm 0,8$). Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 1 h e 30 min após recolha do coletor. Após 24 h iniciou-se a eclosão e abertura da boca após 72h nas larvas submetidas a 19 °C. Eclosão após 48 h e abertura da boca após 120 h nas larvas submetidas a 16 °C.

Na figura 36 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes temperaturas. Na figura 37 e tabela 9 do anexo III pode analisar-se a evolução das suas variáveis morfométricas, através das curvas de crescimento e de depleção das reservas lipídicas e através da respetiva análise descritiva.

Após 24 h de incubação deu-se início à eclosão das larvas submetidas a 19 °C (figura 36c) e após 44 h todas as larvas estavam eclodidas, 0 DAE (figura 36e). Paralelamente, após 24 h de incubação, as submetidas a 16 °C ainda se encontravam em fase de nêurula (figura 36b), eclodindo apenas após 48 h, na segunda amostragem (0 DAE) (figura 36d). Com 0 DAE verificou-se um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 19 °C ($3,22 \pm 0,15$ mm), em relação às submetidas a 16 °C ($2,88 \pm 0,13$ mm) ($p=0,00$) (figura 37A e tabela 9). Inversamente, foram verificadas áreas do saco vitelino ($1,21 \pm 0,26$ mm²) e da gota lipídica ($0,095 \pm 0,01$ mm²) significativamente inferior nas larvas submetidas a 19 °C, em relação às submetidas a 16 °C ($p=0,00$) (figura 37B/C e tabela 9). Estas diferenças poderão ser pelo facto das larvas submetidas a 19 °C começarem a eclosão mais cedo, havendo mais tempo para crescerem e gastarem as suas reservas lipídicas.

Após 72 h, 1 DAE, pôde observar-se um grande decréscimo na área do saco vitelino, mais acentuado em larvas submetidas a 19 °C, cerca de 81% em relação ao seu tamanho

à eclosão (figura 36g). Paralelamente, as larvas submetidas a 19 °C abrem a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e ainda tinham saco vitelino e gota lipídica. Foi verificado um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 19 °C ($3,46 \pm 0,13$ mm), em relação às submetidas a 16 °C ($3,35 \pm 0,15$ mm) ($p=0,00$) (figura 37A e tabela 9). No que toca às reservas lipídicas, foi novamente verificada uma área do saco vitelino ($1,46 \pm 0,29$ mm²) e uma área da gota lipídica ($0,097 \pm 0,01$ mm²) significativamente superior em larvas submetidas a 16 °C, em relação às submetidas a 19 °C ($p=0,00$) (figura 37B/C e tabela 9).

Dois dias após eclosão (2 DAE), as larvas submetidas a 16 °C continuaram o seu crescimento normal (figura 37A e figura 36h), enquanto que as submetidas a 19 °C estagnaram o seu crescimento e particamente extinguiram as sua reservas lipídicas (figura 37 e figura 36i), alterando a tendência para comprimentos standard significativamente superiores em larvas submetidas a 16 °C ($3,64 \pm 0,09$ mm) ($p=0,00$) (figura 37A e tabela 9).

Após 120 h, 3 DAE, as larvas submetidas a 16 °C finalmente abrem a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e ainda com saco vitelino e gota lipídica (figura 36j). Verificando-se novamente médias de comprimentos standard significativamente superiores em larvas submetidas a 16 °C ($3,66 \pm 0,15$ mm) ($p=0,00$) (figura 37A e tabela 9), tal como áreas do saco vitelino e gota lipídica ($p<0,01$) (figura 37B/C e tabela 9).

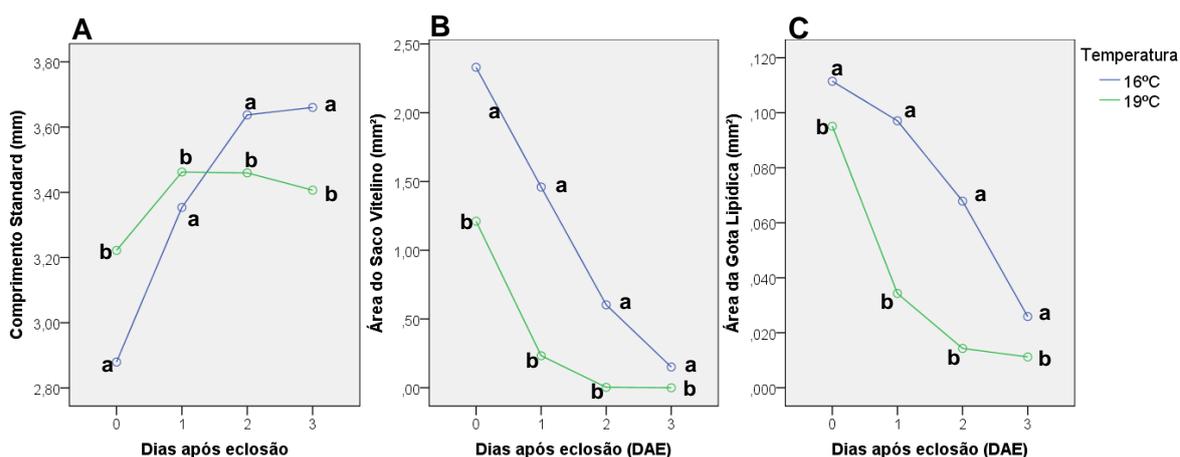


Figura 37: Evolução das variáveis morfológicas, da eclosão (0 DAE) à abertura da boca (1/3 DAE), em larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes temperaturas. **A** – Comprimento standard (mm). **B** – Área do saco vitelino (mm²). **C** – Área da gota lipídica (mm²). Valores correspondentes à média e letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p<0,05$).

3.3.3.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco

Em larvas *D. sargus* não foram observadas diferenças significativas entre as taxas de crescimento de larvas submetidas a diferentes temperaturas ($p>0,05$), apesar de uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 16 °C ($26,03 \pm 2,25\%$), em relação às submetidas a 19 °C ($24,03 \pm 5,21\%$) (anexo II).

Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 59 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1300 indivíduos. No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes temperaturas, tanto à eclosão como à abertura da boca, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$). À eclosão foram encontrados valores superiores em larvas submetidas a 19 °C enquanto que à abertura da boca a tendência inverteu-se, encontrando-se valores superiores em larvas submetidas a 16 °C. Adicionalmente, as larvas à abertura da boca apresentam pesos inferiores aos da eclosão nas larvas submetidas a 19 °C e superiores em larvas submetidas a 16 °C (anexo II).

3.3.3.5 – Ácidos gordos

Na tabela 16 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes temperaturas e respetiva análise estatística.

Quando relacionados os valores dos ovos, das larvas à eclosão e à abertura de boca, na maioria dos ácidos gordos, não foram encontradas diferenças significativas entre os valores ($p>0,05$).

À eclosão, foi verificada uma tendência para concentrações inferiores a 19 °C, apesar de não serem encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$). À abertura da boca, nos ácidos gordos 14:0 e Outros Pufa, foram observadas concentrações significativamente superiores em larvas submetidas a 19 °C, em relação às submetidas a 16 °C ($p<0,05$). Sendo que, nos restantes ácidos gordos, mesmo quando os valores não foram significativamente diferentes, há uma tendência para valores superiores no controlo.

3.3.3.6 – Resumo

No presente ensaio, apesar do descrito em Gracia-López et al. 2004 que sugere que a temperatura parece afetar significativamente as taxas de eclosão, em *Diplodus sargus* não foram encontradas diferenças significativas entre as taxas de eclosão e de abertura da boca em larvas submetidas a diferentes temperaturas, existindo apenas uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 16 °C.

No desenvolvimento, tal como esperado, larvas submetidas a 19 °C começaram a eclosão 24 h antes e abriram a boca 50 h antes das submetidas a 16 °C, tal como demonstrado em Gracia-López et al. 2004, que sugere que o tempo de incubação será inversamente proporcional à temperatura, por isso larvas submetidas a temperaturas mais baixas levaram mais tempo a eclodir.

Em relação ao crescimento larvar, após um atraso de 24 h na eclosão, as larvas submetidas a 16 °C apresentaram comprimentos standard inferiores e reservas com valores superiores às submetidas a 19 °C com a mesma idade. Esta tendência manteve-se ao longo da experiência no que toca às reservas, mas em relação aos comprimentos, a partir de 1 DAE, devido à estagnação do crescimento nas larvas submetidas a 19 °C, foram verificados comprimentos superiores a 16 °C. Factos comprovados também em Gracia-López et al. 2004, onde são relatados comprimentos larvares superiores a temperaturas mais baixas, tendo uma relação inversa com o tamanho da gota lipídica.

Adicionalmente, apesar de não existirem diferenças significativas entre os tratamentos, a taxa de crescimento parece ser superior em larvas submetidas a 16 °C, contrariamente ao descrito em Polo et al. 1991.

No que toca à composição lipídica, contrariamente ao descrito nos ensaios anteriores e esperado em Cejas et al. 2004, não parece existir uma tendência para valores superiores ou inferiores dependendo da idade larvar. Parece ainda existir, à abertura da boca, uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 19 °C, que poderá ser justificado pelo facto das larvas submetidas a 16 °C abrirem a boca mais tarde e serem recolhidas após terem consumido mais reservas lipídicas (Cejas et al. 2004).

Resumindo, apesar do tempo de incubação dos ovos a temperaturas mais baixas ser superior (Imsland et al. 2018a) todos os fatores têm de ser ponderados para a escolha adequada da temperatura de cultivo em larvas de *Diplodus sargus*.

3.4 – Temperatura Quente

3.4.1 – Corvina - *Argyrosomus regius*

3.4.1.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da quarta postura do tanque de reprodutores 8 (R8), tinham as seguintes características: aquando da recolha encontravam-se em fase de gastrulação e passada 1 h e 30 min, quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem, encontravam-se em iniciação à fase de nêurula (figura 39a). Com um diâmetro médio de $0,99 \pm 0,02$ mm e área média de $3,09 \pm 0,11$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,187 \pm 0,05$ mm² (n=20).

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação, referentes ao tratamento de 19 °C. Não sendo encontradas diferenças significativas entre as variáveis morfométricas das diferentes temperaturas ($p > 0,05$).

3.4.1.2 – Taxas de Eclosão e de Sobrevivência à Abertura da Boca

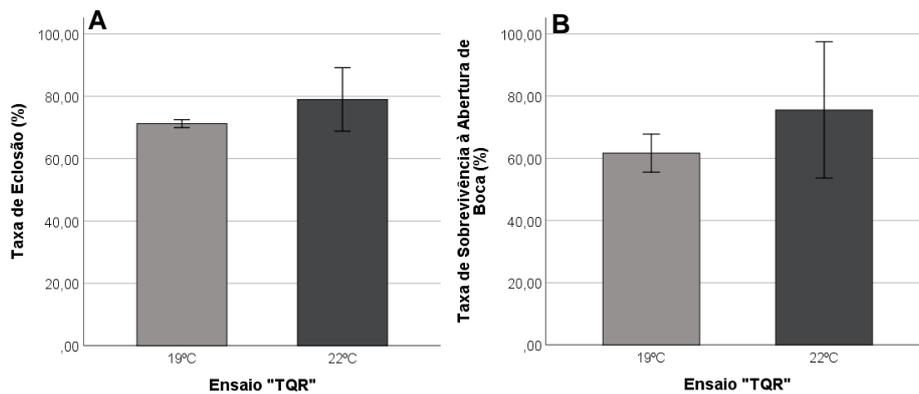


Figura 38: (Ensaio “TQR”) Taxas de Eclosão (A) e Taxas de Sobrevivência à Abertura de Boca (B) em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes Temperaturas. Valores correspondentes à média \pm desvio-padrão. Não existem diferenças significativas entre tratamentos ($p>0,05$).

Em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas, apesar de não serem encontradas diferenças significativas entre os valores ($p>0,05$), verificaram-se valores superiores de eclosão ($78,99 \pm 10,16\%$) e sobrevivência à abertura da boca ($75,56 \pm 21,89\%$) em larvas submetidas a 22 °C, em relação às submetidas a 19 °C (figura 38 e anexo II).

3.4.1.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

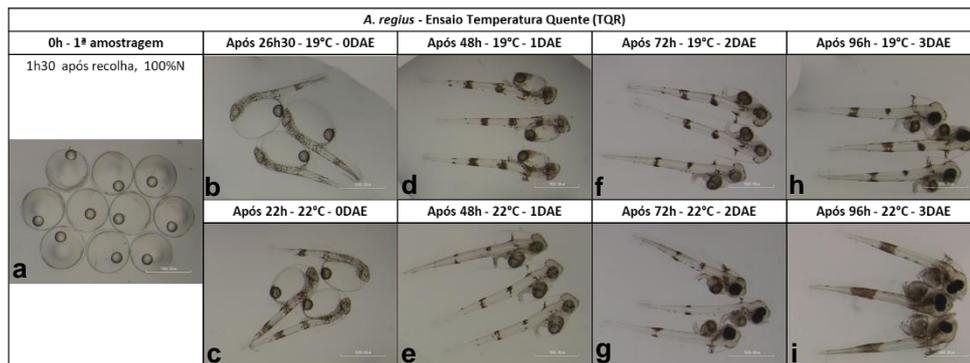


Figura 39: (Ensaio “TQR”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *A. regius*. Incubação a 18,6 °C ($\pm 0,5$) e 21,4 °C ($\pm 0,6$). Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 1 h e 30 min após recolha do coletor. Eclosão após 26 h e 30 min e abertura da boca após 96 h nas larvas submetidas a 19 °C. Eclosão após 22 h e abertura da boca após 72 h nas larvas submetidas a 22 °C.

Na figura 39 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas. Na figura 40 e tabela 6 do anexo III pode analisar-se a evolução das suas variáveis morfométricas, através das curvas de crescimento e de depleção das reservas lipídicas e através da respetiva análise descritiva.

Após 22 h e 26 h e 30 min de incubação, todas as larvas submetidas a 22 °C e 19°C, respetivamente, estavam eclodidas (figura 39b/c). Com 0 DAE verificou-se um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 22 °C ($2,55 \pm 0,11$ mm), em relação às submetidas a 19 °C ($2,31 \pm 0,12$ mm) ($p=0,00$) (figura 40A e tabela 6). Inversamente, foi verificada uma área do saco vitelino significativamente inferior nas larvas submetidas a 22 °C ($1,78 \pm 0,26$ mm²), em relação às submetidas a 19 °C ($2,48 \pm 0,31$ mm²) ($p=0,00$) (figura 40B e tabela 6). Não foram encontradas diferenças significativas as áreas da gota lipídica dos diferentes tratamentos ($p>0,05$). Estas diferenças poderão ser pelo facto das larvas submetidas a 22 °C, apesar de eclodirem no mesmo dia, terem um crescimento acelerado pelo aumento da temperatura e gastarem as suas reservas lipídicas mais depressa.

Um dia após eclosão (1 DAE), pôde observar-se um grande decréscimo na área do saco vitelino, cerca de 70% em relação ao seu tamanho à eclosão (figura 39d/e), que coincidiu com maior crescimento dos indivíduos (figura 40A). Apesar do maior crescimento das larvas submetidas a 19 °C, continuou-se a verificar comprimentos standard significativamente superiores em larvas submetidas a 22 °C ($3,09 \pm 0,1$ mm), em relação às submetidas a 19 °C ($2,97 \pm 0,12$ mm) ($p=0,00$) (figura 40A e tabela 6). No que toca às reservas lipídicas, foi verificada uma área do saco vitelino ($1,05 \pm 0,14$ mm²) e uma área da gota lipídica ($0,176 \pm 0,02$ mm²) significativamente superior em larvas submetidas a 19 °C ($p=0,00$) (figura 40B/C e tabela 6).

Dois dias após eclosão (2 DAE), houve uma alteração na tendência dos valores, sendo verificado um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 19 °C ($3,20 \pm 0,12$ mm), em relação às submetidas a 22 °C, que sofreram uma paragem no crescimento ($3,10 \pm 0,11$ mm) ($p=0,00$) (figura 40A e tabela 6). Neste momento, após 72 h, as larvas submetidas a 22 °C abriram a boca e olhos estavam completamente pigmentados. Os sacos vitelinos continuaram a diminuir (figura 39f/g), verificando-se áreas do saco vitelino ($0,15 \pm 0,02$ mm²) e da gota lipídica ($0,058 \pm 0,01$ mm²) significativamente inferiores nas larvas submetidas a 22 °C, em relação às de 19 °C ($p=0,00$) (figura 40B/C e tabela 6).

Após 96 h, 3 DAE, as larvas submetidas a 19 °C abriram a boca, os olhos estavam completamente pigmentados e ainda com saco vitelino e gota lipídica (figura 39h). Não foram encontradas diferenças significativas entre os comprimentos standard dos diferentes tratamentos ($p>0,05$). Com o maior crescimento das larvas submetidas a 19 °C, continuou-se a verificar valores inferiores em larvas submetidas a 22 °C e uma estagnação no seu crescimento, que poderá ser justificada pela falta de alimento exógeno no fim das suas reservas lipídicas (figura 40A e figura 39i). Verificaram-se áreas do saco vitelino ($0,16 \pm$

0,02 mm²) e da gota lipídica (0,057 ± 0,01 mm²) significativamente superiores nas larvas submetidas a 19 °C, em relação às de 22 °C (p=0,00) (figura 40B/C e tabela 6).

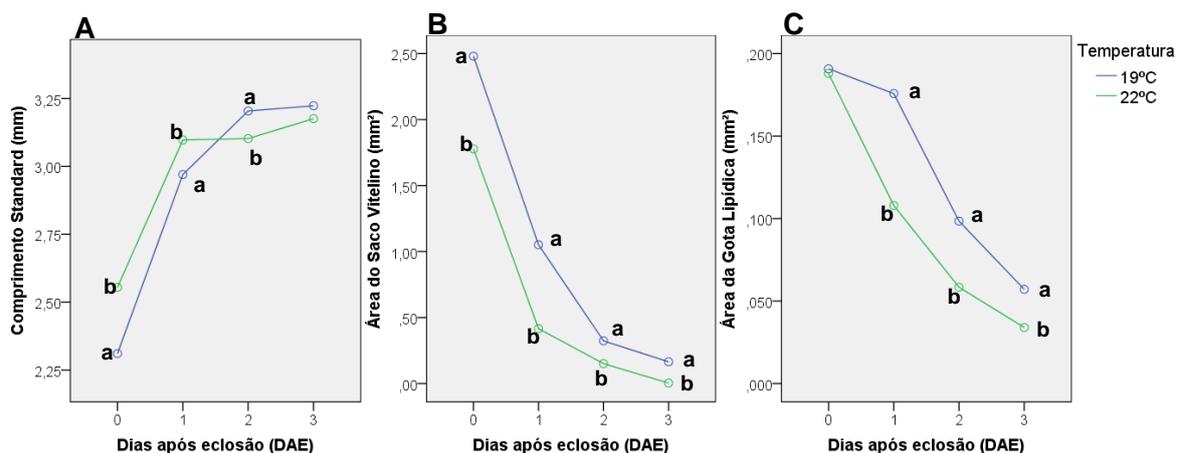


Figura 40: Evolução das variáveis morfométricas, da eclosão (0 DAE) à abertura da boca (2/3 DAE), em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas. **A** – Comprimento standard (mm). **B** – Área do saco vitelino (mm²). **C** – Área da gota lipídica (mm²). Valores correspondentes à média e letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos (p<0,05).

3.4.1.4 – Taxa de Crescimento e Peso Seco

Em larvas *A. regius* não foram observadas diferenças significativas entre as taxas de crescimento de larvas submetidas a diferentes temperaturas (p>0,05), apesar de uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 19 °C (30,57 ± 1,27%), em relação às submetidas a 22 °C (27,31 ± 1,84%) (anexo II).

No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes temperaturas, tanto à eclosão como à abertura da boca, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos (p>0,05), as larvas à abertura da boca apresentam pesos superiores aos da eclosão, encontrando-se valores superiores em larvas submetidas a 22 °C (anexo II).

3.4.1.5 – Ácidos gordos

Na tabela 17 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes temperaturas e respetiva análise estatística.

Com a exceção da razão ω3/ω6, todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial (p=0,00). Adicionalmente, à exceção dos ácidos gordos 18:0 e 20:4ω6 ARA, em larvas à abertura da boca foram encontradas concentrações significativamente inferiores de ácidos gordos, em relação às da eclosão (p=0,00).

À eclosão, na maioria dos ácidos gordos, foram encontradas concentrações significativamente superiores em larvas submetidas a 22 °C, em relação às submetidas a

19 °C ($p < 0,05$), sendo que, mesmo quando os valores não foram significativamente diferentes, há uma tendência para valores inferiores no controlo. À abertura da boca nos ácidos gordos 16:0, 18:0, Σ SFA, 20:4 ω 6 ARA, 22:6 ω 3 DHA, Σ ω 3 e na razão ω 3/ ω 6, foram observadas concentrações significativamente superiores em larvas submetidas a 22 °C, em relação às submetidas a 19 °C ($p < 0,05$). Nos restantes ácidos gordos, mesmo quando os valores não foram significativamente diferentes, há uma tendência para valores inferiores no controlo. Sendo que, estas diferenças poderão ser pelo facto das larvas submetidas a 19 °C abrirem a boca mais tarde e serem recolhidas após terem consumido mais reservas lipídicas.

3.4.1.6 – Resumo

No presente ensaio, apesar do descrito em Gracia-López et al. 2004 que sugere que a temperatura parece afetar significativamente as taxas de eclosão, não foram encontradas diferenças significativas entre as taxas de eclosão e à abertura da boca, em *Argyrosomus regius*, existindo apenas uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 22 °C.

No desenvolvimento, tal como esperado, larvas submetidas a 22 °C eclodiram 4 h e 30 min antes e abriram a boca 24 h antes das submetidas a 19 °C, tal como demonstrado em Gracia-López et al. 2004, que sugere que o tempo de incubação será inversamente proporcional à temperatura, por isso larvas submetidas a temperaturas mais elevadas levaram menos tempo a eclodir.

Em relação ao crescimento larvar, após um atraso de apenas 4 h e 30 min na eclosão, as larvas submetidas a 19 °C apresentaram comprimentos standard inferiores e reservas com valores superiores às submetidas a 22 °C com a mesma idade. Esta tendência manteve-se ao longo da experiência no que toca às reservas, mas em relação aos comprimentos, a partir de 1 DAE, devido à estagnação no crescimento das larvas submetidas a 22 °C, foram verificados comprimentos superiores a 19 °C. Factos comprovados também em Gracia-López et al. 2004, onde são relatados crescimentos superiores a temperaturas mais elevadas, tendo uma relação inversa com o tamanho da gota lipídica.

Adicionalmente, apesar de não existirem diferenças significativas entre os tratamentos, a taxa de crescimento parece ser superior em larvas submetidas a 19 °C, contrariamente ao descrito em Polo et al. 1991, que sugere maiores crescimentos com o aumento da temperatura. No que toca ao peso seco parece existir uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 22 °C, como demonstrado em Fielder et al. 2005, que sugere pesos superiores em larvas submetidas a temperaturas mais altas.

No que toca à composição lipídica, foram verificadas concentrações significativamente inferiores nas larvas à abertura da boca, como descrito nos ensaios anteriores e em Abi-Ayad et al. 2000 e Cejas et al. 2004. Parece ainda existir, tanto à eclosão como à abertura da boca, uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 22 °C, que poderá ser justificado pelo facto das larvas submetidas a 19 °C eclodirem e abrirem a boca mais tarde e serem recolhidas após terem consumido mais reservas lipídicas (Cejas et al. 2004).

Resumindo, apesar do atraso no tempo de incubação dos ovos a temperaturas mais baixas (Imsland et al. 2018a), todos os fatores têm de ser ponderados para a escolha adequada da temperatura de cultivo em larvas de *Argyrosomus regius*, já que temperaturas mais elevadas, apesar da rapidez na eclosão, poderão levar a malformações (Imsland et al. 2018a). Assim, tal como demonstrado nos resultados acima descritos e em Fielder et al. 2005, a temperatura de incubação possui um papel importante no efeito do crescimento e desenvolvimento larvar, que poderá alterar dependendo da espécie em estudo.

3.4.2 – Dourada - *Sparus aurata*

3.4.2.1 – Desenvolvimento Embrionário

Os ovos utilizados neste ensaio, provenientes da ducentésima nona postura do tanque de reprodutores 1 (R1), tinham as seguintes características: aquando da recolha encontravam-se em fase de gastrulação e passadas 2 h, quando colocados no sistema e realizada a primeira amostragem, já se encontravam em fase de nêurula, marcada com o aparecimento do escudo embrionário (figura 42a). Com um diâmetro médio de $1,01 \pm 0,03$ mm e área média de $3,22 \pm 0,19$ mm², a sua maioria apresentavam apenas uma gota lipídica, com uma área média de $0,156 \pm 0,02$ mm² (n=20).

No anexo I pode analisar-se a biometria dos ovos na primeira amostragem e dos ovos não eclodidos após 24 h de incubação, referentes ao tratamento de 19 °C. Foi verificada uma área da gota lipídica significativamente inferior nos ovos, passadas 24 h de incubação a 19 °C ($0,145 \pm 0,02$ mm²), em relação aos da recolha ($p < 0,04$).

3.4.2.2 – Taxas de Eclosão

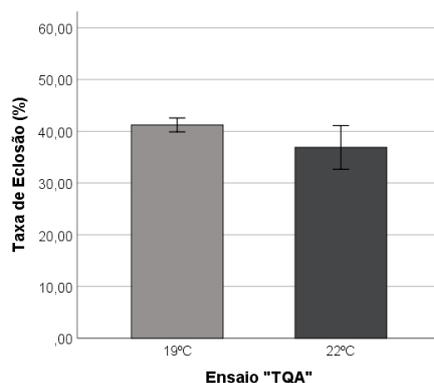


Figura 41: (Ensaio “TQA”) Taxas de Eclosão em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Não existem diferenças significativas entre tratamentos ($p>0,05$).

Em larvas de *S. aurata*, submetidas a diferentes temperaturas, verificou-se uma taxa de eclosão superior em larvas submetidas a 19 °C (41,22 ± 1,35%), em relação às submetidas a 22 °C (36,89 ± 4,23%), apesar de não serem verificadas taxas de eclosão significativamente diferentes entre os tratamentos ($p>0,05$) (figura 41 e anexo II). Sendo que, valores tão baixos de eclosão poderão ser justificados pela baixa viabilidade da postura (66%) e pelo fim da época de reprodução (junho 2016).

3.4.2.3 – Desenvolvimento Larvar e Biometria

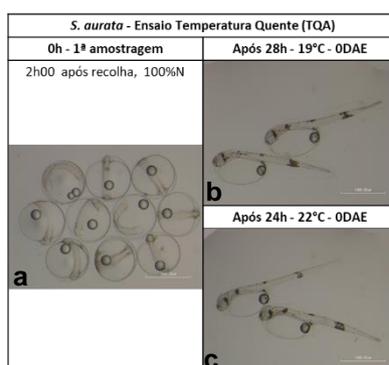


Figura 42: (Ensaio “TQA”) Desenvolvimento embrionário e larvar em *S. aurata*. Incubação a 18.7 °C (± 0,1) e 21.4 °C (± 0,1). Ovos colocados e condicionados no sistema experimental 2 h após recolha do coletor. Eclosão após 28 h nas larvas submetidas a 19 °C e após 24 h nas larvas submetidas a 22 °C.

Na figura 42 pode observar-se as características morfológicas de exemplares de larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes temperaturas. Na tabela 7 do anexo III pode observar-se a análise descritiva das variáveis morfométricas à eclosão.

Após 24 h e 28 h de incubação todas as larvas submetidas a 22 °C e 19 °C, respetivamente, estavam eclodidas (figura 42b/c). Com 0 DAE verificou-se um comprimento standard significativamente superior nas larvas submetidas a 22 °C ($2,85 \pm 0,12$ mm), em relação às submetidas a 19 °C ($2,69 \pm 0,12$ mm) ($p=0,00$) (tabela 7). Inversamente, foi verificada uma área do saco vitelino significativamente inferior nas larvas submetidas a 22 °C ($1,99 \pm 0,26$ mm²), em relação às submetidas a 19 °C ($2,18 \pm 0,30$ mm²) ($p=0,00$) (tabela 7). Não foram encontradas diferenças significativas as áreas da gota lipídica dos diferentes tratamentos ($p>0,05$). Estas diferenças poderão ser pelo facto das larvas submetidas a 22 °C, apesar de eclodirem no mesmo dia, terem um crescimento acelerado pelo aumento da temperatura e gastarem as suas reservas lipídicas mais depressa.

3.4.2.4 – Peso Seco

Quando recolhidos, os ovos possuíam uma média aproximada de 74 mg de peso seco por grama de ovos húmidos e uma média de 1540 indivíduos. No que toca ao peso seco larvar, após incubação a diferentes temperaturas, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos, apesar de ser verificar um peso seco superior em larvas submetidas a 22 °C ($0,158 \pm 0,06$ mg por 5 larvas), o que coincide com comprimentos standard superiores (anexo II).

3.4.2.5 – Ácidos gordos

Na tabela 18 do Anexo IV pode observar-se a composição em ácidos gordos (mg/g) em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes temperaturas e respetiva análise estatística.

Com a exceção da razão $\omega 3/\omega 6$, todos os ácidos gordos apresentaram concentrações significativamente superiores à eclosão, em relação aos ovos do pool inicial ($p=0,00$). À eclosão não foram encontradas diferenças significativas, entre as concentrações dos diferentes ácidos gordos, nos diferentes tratamentos ($p>0,05$).

3.4.2.6 – Resumo

No presente ensaio, apesar do descrito em Gracia-López et al. 2004 que sugere que a temperatura parece afetar significativamente as taxas de eclosão, não foram encontradas diferenças significativas entre as taxas de eclosão, em *Sparus aurata*, existindo apenas uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 19 °C.

No desenvolvimento, tal como esperado, larvas submetidas a 22 °C eclodiram 4 h antes das submetidas a 19 °C, tal como demonstrado em Gracia-López et al. 2004, que sugere que o tempo de incubação será inversamente proporcional à temperatura, por isso larvas submetidas a temperaturas mais elevadas levaram menos tempo a eclodir.

Em relação ao crescimento larvar, à eclosão as larvas submetidas a 22 °C apresentaram comprimentos standard superiores e reservas com valores inferiores às submetidas a 19 °C, tal como demonstrado em Gracia-López et al. 2004, onde são relatados crescimentos superiores a temperaturas mais elevadas, tendo uma relação inversa com o tamanho da gota lipídica.

No que toca ao peso seco parece existir uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 22 °C, como demonstrado em Fielder et al. 2005, que sugere pesos superiores em larvas submetidas a temperaturas mais altas.

Resumindo, apesar do tempo de incubação dos ovos a temperaturas mais altas ser inferior (Imsland et al. 2018a) e como descrito em Georgakopoulou et al. 2010, o aumento da temperatura pode levar a aumentos nas taxas de crescimento, todos os fatores têm de ser ponderados para a escolha adequada da temperatura de cultivo em larvas de *Sparus aurata*, já que relatadas, taxas mais elevadas de deformações na barbatana dorsal em larvas submetidas a cultivos de 22 °C (Georgakopoulou et al. 2010).

3.5 – Discussão (Temperaturas)

Estudos anteriores com várias espécies marinhas têm demonstrado os efeitos da temperatura nas taxas de eclosão, no crescimento, na mortalidade larvar (Gracia-López et al. 2004; Hart et al. 1996) e no desenvolvimento larvar, nomeadamente no tamanho à eclosão e na eficácia do consumo das reservas (Blaxter 1988; Fielder et al. 2005). Sendo que, a alteração de temperaturas, especialmente em espécies ectotérmicos, continua a ser uma das formas de alterar o desenvolvimento embrionário e larval numa escala comercial, podendo ser uma ferramenta para aceleração ou atraso de lotes em Maternidades (Thépot and Jerry 2015). Contudo, estas alterações têm de ser feitas de forma cautelosa e, dependendo da espécie em causa, têm de ser utilizadas escalas de temperaturas típicas, não só no cultivo larvar como em lotes de reprodutores, pois, tal como foi demonstrado em *Sparus aurata* em Camus and Koutsikopoulos 1984 e Hubbs and Bryan 1974, a temperatura a que os reprodutores são submetidos poderá influenciar a temperatura ótima do cultivo das respetivas larvas (Gracia-López et al. 2004; Thépot and Jerry 2015).

No presente estudo, apesar do referido em Gracia-López et al. 2004, apenas em *S. aurata* foram encontradas taxas de eclosão significativamente diferentes em diferentes

temperaturas. Mas no que toca ao tempo de desenvolvimento embrionário e larvar, em todas as espécies, confirmando o descrito em Gracia-López et al. 2004, incubações a temperaturas superiores reduziram o tempo que as larvas levam até ao início da sua eclosão e o tempo entre a eclosão, a abertura da boca e a depleção das reservas lipídicas.

Em relação às variáveis morfométricas, quando submetidas temperaturas de 16 ou 19 °C, tanto corvinas como douradas, 0 DAE apresentaram comprimentos standard superiores quando submetidas a 16 °C, que poderá estar relacionado com o atraso na eclosão, mantendo-se os valores superiores durante todo o ensaio, tal como verificado em Gracia-López et al. 2004. Sargos submetidos a 16 ou 19 °C e corvinas e douradas submetidas a 19 ou 22 °C, 0 DAE apresentam valores superiores em temperaturas superiores, 19 e 22 °C, respetivamente. Porém, após 1 DAE esta tendência é alterada pela estagnação ou diminuição do crescimento das larvas submetidas a temperaturas superiores, facto que poderá ser justificado pela maior depleção das reservas, uma vez que em todos os ensaios foram verificadas reservas lipídicas tendencialmente inferiores em larvas submetidas a temperaturas mais elevadas.

Na composição dos ácidos gordos, tal como seria de esperar e descrito em Abi-Ayad et al. 2000 e Cejas et al. 2004, à exceção do ensaio TFS, em todos os ensaios e na maioria dos ácidos gordos foram encontrados valores significativamente inferiores em larvas à abertura da boca, que poderá ser justificado pela depleção das reservas endógenas. Quando verificadas diferenças entre tratamentos, foram observados valores superiores de composição em ácidos gordos em temperaturas mais elevadas, como é o caso das douradas submetidos a 16 ou 19 °C e corvinas submetidas a 19 ou 22 °C.

Relacionado o desenvolvimento larvar entre espécies, em todos os ensaios quando submetidas a 16 ou 19 °C as larvas atrasaram a eclosão cerca de 1 dia (18 a 24 h). À abertura da boca ocorreu um atraso de mais 1 dia (26 h) no caso de *S. aurata*, ou mais 2 dias (48 a 50 h) em *A. regius* e *D. sargus*. Porém no caso de larvas submetidas a 19 ou 22 °C, apenas foi atrasada a eclosão em cerca de 4 h.

Apesar dos estudos acima mencionados trazerem novas informações e novas espécies, para o estudo da influência da manipulação de temperaturas no desenvolvimento larvar serão necessários futuros estudos, principalmente em espécies produzidas em aquaculturas mediterrâneas, para melhoramento na sobrevivência, no crescimento larvar e na redução de deformações em produções larvares.

Capítulo 4 – Conclusão e considerações finais

Baseado nos resultados destes ensaios, é possível verificar que tanto o fotoperíodo como a temperatura influenciam de alguma forma o desenvolvimento embrionário e larvar das diferentes espécies marinhas em estudo: *Argyrosomus regius*, *Sparus aurata*, *Solea senegalensis*, *Diplodus sargus*.

Em **corvina**, tanto as alterações de fotoperíodos como as de temperaturas não pareceram influenciar as taxas de eclosão e de sobrevivência à abertura da boca, as taxas de crescimento e o peso seco larvar, já que não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos.

Comparados os resultados dos restantes parâmetros avaliados, quando utilizado um fotoperíodo de 0L:24D os ovos apresentaram diâmetros significativamente superiores. Apesar de 0 DAE as larvas submetidas a 24L:0D apresentaram comprimentos standard significativamente superiores, no momento da abertura da boca o fotoperíodo parece não influenciar o tamanho das larvas, bem como a sua utilização das reservas lipídicas. No que toca à composição em ácidos gordos, à abertura da boca foram encontrados valores significativamente inferiores em larvas submetidas a 24L:0D, o que pode indicar a sua utilização como fonte de energia e alteração da qualidade larvar no início do cultivo, facto que só pode ser constatado em cultivos larvares mais prolongados. Aparentemente pode ser mais interessante utilizar fotoperíodos de 0L:24D em larvas de *A. regius*, já que ao haver uma maior conservação dos ácidos gordos essenciais, à abertura da boca em princípio as larvas estarão mais preparadas para o início da alimentação exógena.

Com o aumento da temperatura de cultivo, as larvas levaram menos tempo a eclodirem e a abrirem a boca. Apesar do atraso na eclosão, quando comparadas à mesma idade, larvas submetidas a 16 °C apresentaram comprimentos standard significativamente, mas quando comparadas no momento de abertura da boca, larvas submetidas a 19 °C apresentaram valores superiores de reservas lipídicas. Apesar de 0 DAE as larvas submetidas a 22 °C apresentarem comprimentos standard significativamente superiores às submetidas a 19 °C, no momento da abertura da boca o aumento da temperatura parece não influenciar o tamanho das larvas, mas apenas as reservas lipídicas, apresentando valores superiores em larvas submetidas a 19 °C. Aparentemente pode ser mais interessante utilizar uma temperatura aproximada de 19 °C em larvas de *A. regius*, já que apesar de larvas submetidas a 16 °C apresentarem comprimentos superiores, as submetidas a 19 °C apresentam um desenvolvimento larvar mais rápido e apresentam valores superiores de reservas lipídicas, o que em princípio as levará a uma melhor preparação para o início da alimentação exógena.

Em **dourada**, as alterações de fotoperíodos não pareceram influenciar as taxas de eclosão e de sobrevivência à abertura da boca, as taxas de crescimento e as variáveis morfométricas, já que não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos. Apesar de à eclosão o peso seco larvar ser significativamente superior em larvas submetidas a 0L:24D e a composição em ácidos gordos ser significativamente inferior em larvas submetidas a 14L:10D, no momento da abertura da boca não foram encontradas diferenças significativas. Aparentemente fotoperíodos diferentes parecem não influenciar o início do cultivo larvar, por isso será indiferente a alteração de fotoperíodos na fase estudada.

Com o aumento da temperatura de cultivo, as larvas levaram menos tempo a eclodirem e a abrirem a boca. Apesar do atraso na eclosão, quando comparadas as taxas de eclosão, foram encontrados valores significativamente superiores em larvas submetidas a 19 °C. À eclosão e à abertura da boca larvas submetidas a 16 °C apresentaram comprimentos standard significativamente superiores às submetidas a 19 °C. Em relação às reservas lipídicas, à eclosão as larvas submetidas a 19 °C apresentaram valores significativamente superiores, mas no momento da abertura da boca a diminuição da temperatura de cultivo não parece influenciar utilização das reservas lipídicas. Apesar de 0 DAE as larvas submetidas a 22 °C apresentarem comprimentos standard significativamente superiores e reservas lipídicas significativamente, no momento da abertura da boca não foi possível constatar a influência do aumento da temperatura de cultivo. No que toca à composição em ácidos gordos, à abertura da boca foi encontrada uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 19 °C, que pode ser provocada pela antecipação na abertura da boca. Aparentemente pode ser mais interessante utilizar uma temperatura aproximada de 19 °C em larvas de *S. aurata*, já que estas apresentam um desenvolvimento larvar mais rápido quando comparadas com temperaturas inferiores, taxas de eclosão significativamente superiores, valores superiores em reservas lipídicas no momento da abertura da boca e conteúdos em ácidos gordos superiores, o que em princípio as levará a uma melhor preparação para o início da alimentação exógena.

Em **linguado**, as alterações de fotoperíodos não pareceram influenciar as taxas de eclosão e de sobrevivência à abertura da boca, as variáveis morfométricas, as taxas de crescimento e o peso seco larvar, já que não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos. No que toca à composição em ácidos gordos, à eclosão foram encontrados valores significativamente superiores em larvas submetidas a 14L:10D. Aparentemente pode ser mais interessante utilizar fotoperíodos de 14L:10D em larvas de *S. senegalensis*, já que ao haver uma maior conservação dos ácidos gordos essenciais em princípio as larvas estarão mais preparadas para o início do cultivo larvar início e da alimentação exógena.

Em **sargo**, aparentemente pode ser mais interessante utilizar fotoperíodos de 14L:0D, já que foram encontrados diâmetros de ovos, taxas de eclosão, comprimentos standard, e concentrações em ácidos gordos essenciais significativamente superiores, o que em princípio aumentará a sobrevivência e levará as larvas a estarão mais preparadas para o início do cultivo larvar.

As alterações de temperaturas não pareceram influenciar as taxas de eclosão e de sobrevivência à abertura da boca, as taxas de crescimento e o peso seco larvar, já que não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos.

Com o aumento da temperatura de cultivo, as larvas levaram menos tempo a eclodirem e a abrirem a boca. Apesar de 0 DAE larvas submetidas a 16 °C apresentarem comprimentos standard significativamente inferiores às submetidas a 19 °C, quando comparadas no momento de abertura da boca, larvas submetidas a 16 °C apresentaram valores significativamente superiores. No que toca às reservas lipídicas, à mesma idade as larvas submetidas a 16 °C apresentarem valores superiores, mas quando comparadas no momento da abertura da boca as larvas submetidas a 19 °C parecem apresentar valores superiores em reservas lipídicas. No que toca à composição em ácidos gordos, à abertura da boca foi encontrada uma tendência para valores superiores em larvas submetidas a 19 °C, que pode ser provocada pela antecipação na abertura da boca. Aparentemente pode ser mais interessante utilizar uma temperatura aproximada de 19 °C em larvas de *D. sargus*, já que apesar de larvas submetidas a 16 °C apresentarem comprimentos superiores, as submetidas a 19 °C apresentam um desenvolvimento larvar mais rápido e apresentam valores superiores de reservas lipídicas e uma maior conservação dos ácidos gordos essenciais, à abertura da boca em princípio as larvas estarão mais preparadas para o início da alimentação exógena.

Referências

- Abi-Ayad, S.E.M.A., Kestemont, P., Mélard, C., 2000. Dynamics of total lipids and fatty acids during embryogenesis and larval development of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Fish Physiol. Biochem.* 23, 233–243.
- Abreu, N., Socorro, J.A., Betancor, M.B., Hernandez-Cruz M. C., 2009. Nuevas aportaciones al estudio de la organogénesis en larvas de corvina (*Argyrosomus regius*, Asso 1801), in: XII Congreso Nacional de Acuicultura: Com La Acuicultura Alimentamos Tu Salud. Marm, Sea y Foesa. Madrid, pp. 501–511.
- Ballagh, D.A., Pankhurst, P.M., Fielder, D.S., 2008. Photoperiod and feeding interval requirements of juvenile mulloway, *Argyrosomus japonicus*. *Aquaculture* 277, 52–57.
- Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Miquel, J.C., 1981. Sparidae, in: FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. Eastern Central Atlantic; Fishing Areas 34, 47 (in Part). Canada Funds-in-Trust. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Department of Fisheries and Oceans Canada, Ottawa, Department of Fisheries and Oceans Canada.
- Bell, J.D., Johnson, J.E., Hobday, A.J., 2011. Vulnerability of Tropical Pacific Fisheries and Aquaculture to Climate Change: Summary for Pacific Island Countries and Territories. Secretariat of the Pacific Community, Noumea, New Caledonia.
- Bell, M. V, Tocher, D.R., 1989. Molecular species composition of the major phospholipids in brain and retina from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Occurrence of high levels of di-(n-3)polyunsaturated fatty acid species. *Biochem. J.* 264, 909–15.
- Berlinsky, D.L., Taylor, J.C., Howell, R.A., Bradley, T.M., Smith, T.I.J., 2004. The Effects of Temperature and Salinity on Early Life Stages of Black Sea Bass *Centropristis striata*. *J. World Aquac. Soc.* 35, 335–344.
- Blanco, E., Reglero, P., Ortega, A., de la Gándara, F., Fiksen, Ø., Folkvord, A., 2017. The effects of light, darkness and intermittent feeding on the growth and survival of reared Atlantic bonito and Atlantic bluefin tuna larvae. *Aquaculture* 479, 233–239.
- Blaxter, J.H.S., 1988. Patterns and variety in development., in: Hoar, W.S., Randall, D.J. (Eds.), *Fish Physiology* 11. pp. 1–5.
- Blaxter, J.H.S., 1968. Visual thresholds and spectral sensitivity of herring larvae. *J. Exp. Biol.* 48, 39–53.
- Bobé, J., Labbé, C., 2010. Egg and sperm quality in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165, 535–548.
- Boeuf, G., Le Bail, P.Y., 1999. Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture* 177, 129–152.
- Bosman, R.H., Verdejem, M.C., 2011. Sustainable aquaculture in ponds: principles, practices and limits. *Livest. Sci.* 139, 58–68.
- Brierley, A.S., Kingsford, M.J., 2009. Impacts of Climate Change on Marine Organisms and Ecosystems. *Curr. Biol.* 19, R602–R614.
- Brownell, C.L., 1979. Stages in the early development of 40 marine fish species with pelagic eggs from the cape of Good Hope. *Ichthyological Bulletin of the J.L.B. Smith Institute of Ichthyology*, Rhodes University, Grahamstown.
- Camus, P., Koutsikopoulos, C., 1984. Incubation experimentale et developpement embryonnaire de la daurade royale, *Sparus aurata* (L.), a diferentes temperatures. *Aquaculture* 42, 117–128.
- Cañavate, J.P., Zerolo, R., Fernández-Díaz, C., 2006. Feeding and development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae reared in different photoperiods. *Aquaculture* 258, 368–377.
- Castro, N., Toranzo, A.E., Devesa, S., González, A., Nuñez, S., Magariños, B., 2012. First description of *Edwardsiella tarda* in Senegalese sole, *Solea senegalensis* (Kaup). *J. Fish Dis.* 35, 79–82.
- Cejas, J.R., Almansa, E., Jérez, S., Bolaños, A., Felipe, B., Lorenzo, A., 2004. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus*

- sargus) eggs and larvae. *Comp. Biochem. Physiol. - B Biochem. Mol. Biol.* 139, 209–216.
- Cerqueira, V.R., 2005. Egg Development of *Paralichthys orbignyanus* (Valenciennes, 1839). *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 48, 459–465.
- Cheung, W.W.L., Oyinlola, M.A., 2018. Vulnerability of flatfish and their fisheries to climate change. *J. Sea Res.* 140, 1–10.
- Colen, R., Ramalho, A., Rocha, F., Dinis, M.T., 2014. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Solea* spp. [WWW Document]. FAO Fish. Aquac. Dep.
- Colloca, F., Cerasi, S., 2005. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758). [WWW Document]. FAO Fish. Aquac. Dep.
- Copeman, L.A., Parrish, C.C., Brown, J.A., Harel, M., n.d. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment.
- Costa, S., Afonso, C., Bandarra, N.M., Gueifão, S., Castanheira, I., Carvalho, M.L., Cardoso, C., Nunes, M.L., 2013. The emerging farmed fish species meagre (*Argyrosomus regius*): How culinary treatment affects nutrients and contaminants concentration and associated benefit-risk balance. *Food Chem. Toxicol.* 60, 277–285.
- Cucchi, P., Sucré, E., Santos, R., Leclère, J., Charmantier, G., Castille, R., 2012. Embryonic development of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Helgol. Mar. Res.* 66, 199–209.
- D’Anna, G., Giacalone, V.M., Badalamenti, F., Pipitone, C., 2004. Releasing of hatchery-reared juveniles of the white seabream *Diplodus sargus* (L., 1758) in the Gulf of Castellammare artificial reef area (NWSicily). *Aquaculture* 233, 251–268.
- Dey, M.M., Gosh, K., Valmonte-Santos, R., Rosegrant, M.W., Chen, O.L., 2016. Economic impact of climate change and climate change adaptation strategies for fisheries sector in Solomon Islands: Implication for food security. *Mar. Policy* 67, 171–178.
- 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, 27–38.
- Doney, S.C., Ruckelshaus, M., Emmett Duffy, J., Barry, J.P., Chan, F., English, C.A., Galindo, H.M., Grebmeier, J.M., Hollowed, A.B., Knowlton, N., Polovina, J., Rabalais, N.N., Sydeman, W.J., Talley, L.D., 2012. Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 4, 11–37.
- Duncan, N.J., Estévez, A., Fernández-Palacios, H., Gairin, I., Hernández-Cruz, C.M., Roo, J., Schuchardt, D., Vallés, R., 2013. Aquaculture production of meagre (*Argyrosomus regius*): hatchery techniques, ongrowing and market, in: Allan, G., Burnell, G. (Eds.), *Advances in Aquaculture Hatchery Technology*. Woodhead Publishing, pp. 519–541.
- Engrola, S., Figueira, L., Conceição, L.E.C., Gavaia, P.J., Ribeiro, L., Dinis, M.T., 2009. Co-feeding in Senegalese sole larvae with inert diet from mouth opening promotes growth at weaning. *Aquaculture* 288, 264–272.
- EUMOFA, 2016. The Eu Fish Market 2016 Edition. *Eur. Mark. Obs. Fish. Aquac. Prod.*
- EUROSTAT, 2016. Agriculture, forestry and fishery statistics - 2016 edition, EUROSTAT Statistical books. Luxembourg.
- Falk-Petersen, I.B., 2005. Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish. *Fish Shellfish Immunol.* 19, 397–412.
- FAO, 2016. the State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Food Agric. Organ. United Nations 200.
- FAO, 2014. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Diplodus sargus*. [WWW Document]. FAO Fish. Aquac. Dep.
- FAO, 1997. Aquaculture production statistics 1986-1995, FAO Circular No. 815, Rev.9. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Ferreira, H.A.Q., 2017. Produção integrada de corvinas (*Argyrosomus regius*) e ostras (*Crassostrea gigas*) em tanques de terra. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Instituto Politécnico de Leiria.
- Fielder, D.S., Bardsley, W.J., Allan, G.L., Pankhurst, P.M., 2005. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae.

- Aquaculture 250, 201–214.
- Fiogbe, E.D., Kestemont, P., Micha, J.-C., 2006. Croissance Comparee Chez Les Larves De La Perche Fluviale (*Perca fluviatilis* L.) Nourries Aux Rotiferes D'eau Douce., *Agronomie Africaine*.
- Firat, K., Saka, S., Kamaci, H.O., 2005. Embryonic and larval development of striped sea bream (*Lithognathus mormyrus* L 1758). *Isr. J. Aquac. - Bamidgeh* 57, 131–140.
- Fischer, W., Bauchot, M.-L., Schneider, M., 1987. Fiches Fao D'identification Des Espèces Pour Les Besoins De La Pêche. (Révision 1)., Méditerranée et Mer Noire. Zone de Pêche 37. FAO, Rome.
- Flandrin, J., Montanari, M., 1998. Dos primórdios à idade média, in: *História Da Alimentação*. Terramar, Lisboa, Portugal, pp. 247–50.
- Fuiman, L.A., Ojanguren, A.F., 2011. Fatty acid content of eggs determines antipredator performance of fish larvae. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 407, 155–165.
- Gallego, V., Yoshida, M., Kurokawa, D., Asturiano, J.F., Fraser, G.J., 2017. Embryonic development of the grass pufferfish (*Takifugu niphobles*): From egg to larvae. *Theriogenology* 90, 191–196.
- Gattuso, J.-P., Magnan, A., Billé, R., Cheung, W.W.L., Howes, E.L., Joos, F., Allemand, D., Bopp, L., Cooley, S.R., Eakin, C.M., Hoegh-Guldberg, O., Kelly, R.P., Pörtner, H.-O., Rogers, A.D., Baxter, J.M., Laffoley, D., Osborn, D., Rankovic, A., Rochette, J., Sumaila, U.R., Treyer, S., Turley, C., 2015. Oceanography. Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO₂ emissions scenarios. *Science* 349, aac4722.
- Geffen, A.J., Fox, C.J., Nash, R.D.M., 2006. Temperature-dependent development rates of cod *Gadus morhua* eggs. *J. Fish Biol.* 69, 1060–1080.
- Georgakopoulou, E., Katharios, P., Divanach, P., Koumoundouros, G., 2010. Effect of temperature on the development of skeletal deformities in Gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Aquaculture* 308, 13–19.
- Godbold, J.A., Calosi, P., 2013. Ocean acidification and climate change: advances in ecology and evolution. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 368, 20120448.
- Golomazou, E., Athanassopoulou, F., Vagianou, S., Sabatakou, O., Tsantilas, H., Rigos, G., Kokkokiris, L., 2006. Diseases of white sea bream (*Diplodus sargus* L.) reared in experimental and commercial conditions in Greece. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.* 30, 389–396.
- Gonçalves, J.M., Dinis, M.T., Pousão-Ferreira, P., 1991. Ensaio de adaptações a alimento inerte de larvas de dourada *Sparus aurata* L., Seminário de Aquacultura Mediterrânea. INIP Avulsas, nº19, Lisboa, Portugal.
- Gorjão, R., Azevedo-Martins, A.K., Rodrigues, H.G., Abdulkader, F., Arcisio-Miranda, M., Procopio, J., Curi, R., 2009. Comparative effects of DHA and EPA on cell function. *Pharmacol. Ther.* 122, 56–64.
- Gracia-López, V., Kiewek-Martínez, M., Maldonado-García, M., 2004. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture* 237, 485–498.
- Hardy, R.S., Litvak, M.K., 2004. Effects of Temperature on the Early Development, Growth, and Survival of Shortnose Sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, and Atlantic Sturgeon, *Acipenser oxyrinchus*, *Yolk-Sac Larvae*. *Environ. Biol. Fishes* 70, 145–154.
- Hart, P.R., Hutchinson, W.G., Purser, G.J., 1996. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Gunther, 1862). *Aquaculture* 144, 303–311.
- Huang, S.S.Y., Oo, A.N., Higgs, D.A., Brauner, C.J., Satoh, S., 2007. Effect of dietary canola oil level on the growth performance and fatty acid composition of juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 271, 420–431.
- Hubbs, C., Bryan, C., 1974. Effect of Parental Temperature Experience on Thermal Tolerance of Eggs of *Menidia audens*, in: *The Early Life History of Fish*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 431–435.
- IBM, 2016. IBM SPSS Advanced Statistics 24, Ibm.

- Imsland, A.K., 2010. The Flatfishes (Order: Pleuronectiformes)., in: François, N., Jobling, M., Carter, C., Blier, P., Savoie, A. (Eds.), *Finfish Aquaculture Diversification*. CAB International, Wallingford, UK., pp. 450–488.
- Imsland, A.K., Danielsen, M., Jonassen, T.M., Hangstad, T.A., Flak-Petersen, I.-B., 2018a. Effect of incubation temperature on eggs and larvae of lumpfish (*Cyclopterus lumpus*). *Aquaculture* 498, 217–222.
- Imsland, A.K., Jonassen, T.M., Hangstad, T.A., Stefansson, S.O., Elvegård, T.A., Lemmens, S.C.A., Urskog, T.C., Nytrø, A. V., Reynolds, P., 2018b. The effect of continuous light and compressed photoperiods on growth and maturation in lumpfish *Cyclopterus lumpus*. *Aquaculture* 485, 166–172.
- INE, 2017. *Estatísticas da Pesca 2016*. Lisboa, Portugal.
- Izquierdo, M., Koven, W., 2011. Lipids, in: *Larval Fish Nutrition*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 47–81.
- Izquierdo, M.S., 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquac. Nutr.* 2, 183–191.
- Jerez, S., Rodríguez, C., Cejas, J.R., Martín, M. V, Bolaños, A., Lorenzo, A., 2012. Influence of age of female gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) broodstock on spawning quality throughout the reproductive season. *Aquaculture* 350–353, 54–62.
- Jiménez, M.T., Pastor, E., Grau, A., Alconchel, J.I., Cárdenas, S., 2005. Revisión sobre el cultivo de esciéndidos en el mundo y presentación del Plan nacional de Cría de corvina (*Argyrosomus regius*)., in: *X Congreso Nacional de Acuicultura*. Valencia, pp. 396–397.
- Johnston, T.A., Mathias, J.A., 1994. The effects of temperature on feeding in zooplanktivorous walleye, *Stizostedion vitreum*, larvae. *Environ. Biol. Fishes* 40, 189–198.
- Jonsson, B., Jonsson, N., 2014. Early environment influences later performance in fishes. *J. Fish Biol.* 85, 151–188.
- Kazuyuki, S., Hisashi, K., Shogoro, K., 1988. Changes in low temperature tolerance of the eggs of certain marine fish during embryonic development. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Physiol.* 91, 183–187.
- Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B., Schilling, T.F., 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev. Dyn.* 203, 253–310.
- Kjørsvika, E., Hoehne-Reitan, K., Reitan, K.I., 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 227, 9–20.
- Kohn, Y.Y., Symonds, J.E., 2012. Evaluation of egg quality parameters as predictors of hatching success and early larval survival in hapuku (*Polyprion oxygeneios*). *Aquaculture* 342–343, 42–47.
- Koven, W., Barr, Y., Lutzky, S., Ben-Atia, I., Weiss, R., Harel, M., Behrens, P., Tandler, A., 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 193, 107–122.
- Leu, M.Y., Tai, K.Y., Meng, P.J., Tang, C.H., Wang, P.H., Tew, K.S., 2018. Embryonic, larval and juvenile development of the longfin batfish, *Platax teira* (Forsskål, 1775) under controlled conditions with special regard to mitigate cannibalism for larviculture. *Aquaculture* 493, 204–213.
- Lucas, J.S., Southgate, P.C., 2012. *Aquaculture : farming aquatic animals and plants*, 2nd ed. Wiley-Blackwell.
- Madeira, D., Araújo, J.E., Vitorino, R., Capelo, J.L., Vinagre, C., Diniz, M.S., 2016. Ocean warming alters cellular metabolism and induces mortality in fish early life stages: A proteomic approach. *Environ. Res.* 148, 164–176.
- Manãnos, E., Duncan, N., Mylonas, C., 2008. Reproduction and Control of Ovulation, Spermiation and Spawning in Cultured Fish, in: *Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA, pp. 3–80.

- Martín, I., Rasines, I., Gómez, M., Rodríguez, C., Martínez, P., Chereguini, O., 2014. Evolution of egg production and parental contribution in Senegalese sole, *Solea senegalensis*, during four consecutive spawning seasons. *Aquaculture* 424–425, 45–52.
- Monfort, M.C., 2010. Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. General Fisheries Commission for the Mediterranean. FAO, Rome.
- Morais, S., Aragão, C., Cabrita, E., Conceição, L.E.C., Constenla, M., Costas, B., Dias, J., Duncan, N., Engrola, S., Estevez, A., Gisbert, E., Mañanós, E., Valente, L.M.P., Yúfera, M., Dinis, M.T., 2016. New developments and biological insights into the farming of *Solea senegalensis* reinforcing its aquaculture potential. *Rev. Aquac.* 8, 227–263.
- Morato, T., Afonso, P., Lourinho, P., Nash, A N, R.D.M., Santos, D.R.S., 2003. Reproductive biology and recruitment of the white sea bream in the Azores. *J. Fish Biol.* 63, 59–72.
- Moreira, H.L.M., Vargas, L., Ribeiro, R.P., Zimmermann, S., 2001. Fundamentos da Moderna Aquicultura., Ulblar. ed.
- Morretti, A., Fernandez-Criado, M.P., Cittolin, G., Guidastrri, R., 1999. Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Mouine, N., Francour, P., Ktari, M.-H., Chakroun-Marzouk, N., Chakroun-Marzouk, N., 2007. The reproductive biology of *Diplodus sargus sargus* in the Gulf of Tunis (central Mediterranean). *Sci. Mar.* 71, 461–469.
- Mourente, G., Tocher, D.R., Sargent, J.R., 1991. Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L. *Lipids* 26, 871–877.
- Murias, J., 2018. FIS - Market Reports - Sea Bass/Sea Bream/Sole/Turbot - Monday, February 05, 2018 [WWW Document]. Eurostat. URL <http://www.fis.com/fis/reports/report.asp?l=e&specie=2048>
- Nelson, J.S., Grande, T.C., Wilson, M.V.H., 2016. *Fishes of the World*, 5th ed. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.
- Oberg, E.W., Fuiman, L.A., 2015. Linking fatty acids in the diet and tissues to quality of larval southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 467, 7–15.
- Osse, J.W.M., Van Den Boogaart, J.G.M., 1995. Fish larvae, development, allometric growth, and the aquatic environment. *ICES Mar. Sci. Symp. Copenhagen 201* 21–34.
- Plano Operacional das Pescas 2007/2013, 2007. . Direcção Geral das Pescas e Aquicultura.
- Poli, B.M., Parisi, G., Zampacavallo, G., Iurzan, F., Mecatti, M., Lupi, P., Bonelli, A., 2003. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. *Aquac. Int.* 11, 301–311.
- Polo, A., Yúfera, M., Pascual, E., 1991. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 92, 367–375.
- Pousão-Ferreira, P., 2015. Comunicação Pessoal, Julho 2015, em: Sistemas de Produção Aquática e Aquicultura.
- Pousão-Ferreira, P., 2009. Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para a larvicultura de peixes marinhos. Instituto Nacional de Recursos Biológicos I.P. IPIMAR.
- Pousão-Ferreira, P., Ribeiro, L., Soares, F., Nicolau, L., Mendes, A.C., Castanho, S., Barata, M., Dâmaso-Rodrigues, L., Cabrita, E., Dinis, M.T., 2010. Adaptation to captivity and spawning induction of meagre (*Argyrosomus regius*) at IPIMAR aquaculture research station., in: *Aquaculture Europe 10*. Porto, Portugal.
- Quero, J.-C., Vayne, J.-J., 1985. Le Maigre, *Argyrosomus Regius* (Asso, 1801) (Pisces, Perciformes, Sciaenidae) Du Golfe De Gascogne Et Des Eaux Plus Septentrionales, *Reu. Trau. Inst. Pêches marit.*

- Ré, P., Meneses, I., 2008. Early Stages of Marine Fishes Occurring in the Iberian Peninsula. IMAR/University Lisboa: IPIMAR 282pp.
- Ribeiro, L., Moura, J., Santos, M., Colen, R., Rodrigues, V., Bandarra, N., Soares, F., Ramalho, P., Barata, M., Moura, P., Pousão-Ferreira, P., Dias, J., 2015. Effect of vegetable based diets on growth, intestinal morphology, activity of intestinal enzymes and haematological stress indicators in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* 447, 116–128.
- Ribeiro, L., Soares, F., Quental-Ferreira, H., Gonçalves, A., Pousão-Ferreira, P., 2013. Portuguese research studies: Meagre production in earthen ponds. *Glob. Aquac. advocate* 16, 38–40.
- Rodríguez, C., Cejas, J.R., Martín, M.V., Badía, P., Samper, M., Lorenzo, A., 1998. Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) and on egg quality. *Fish Physiol. Biochem.* 18, 177–187.
- Rodriguez, C., Perez, J.A., Izquierdo, M.S., Mora, J., Lorenzo, A., Fernandez-Palacios, H., 1994. Essential fatty acid requirements of larval gilthead sea bream, *Sparus aurata* (L.). *Aquac. Res.* 25, 295–304.
- Sá, R., Pousão-Ferreira, P., Oliva-Teles, A., 2008. Dietary protein requirement of white sea bream (*Diplodus sargus*) juveniles. *Aquac. Nutr.* 14, 309–317.
- Saavedra, M., Conceição, L.E.C., Pousão-Ferreira, P., Dinis, M.T., 2006. Amino acid profiles of *Diplodus sargus* (L., 1758) larvae: Implications for feed formulation. *Aquaculture* 261, 587–593.
- Saavedra, M., Pereira, T.G., Carvalho, L.M., Pousão-Ferreira, P., Grade, A., Teixeira, B., Quental-Ferreira, H., Mendes, R., Bandarra, N., Gonçalves, A., 2017. Wild and farmed meagre, *Argyrosomus regius*: A nutritional, sensory and histological assessment of quality differences. *J. Food Compos. Anal.* 63, 8–14.
- Sahin, S., Kürat, F., Cüneyt, S., 2001. Effects Of Light Intensity On Early Life Development Of Gilthead Sea Bream Larvae (*Sparus Aurata*), *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*.
- Sargent, J., Mcevoy, L., Estevez, A., Bell, G., Bell, M., Henderson, J., Tocher, D., 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions, *Aquaculture*.
- Scott, A.P., Baynes, S.M., 1979. The effect of unicellular algae on survival and growth of turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Proc. World Symp Finfish Nutr. Fishfeed Technol. Hamburg, 20-23 June, 1978* 18689, 423–433.
- Seginer, I., 2016. Growth models of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) for aquaculture: A review. *Aquac. Eng.* 70, 15–32.
- Shan, X., Xiao, Z., Huang, W., Dou, S., 2008. Effects of photoperiod on growth, mortality and digestive enzymes in miiuy croaker larvae and juveniles. *Aquaculture* 281, 70–76.
- Shi, Y., Zhang, G., Zhu, Y., Liu, J., 2010. Effects of photoperiod, temperature, and salinity on growth and survival of obscure puffer *Takifugu obscurus* larvae. *Aquaculture* 309, 103–108.
- Soares, F., Ribeiro, L., Gamboa, M., Duarte, S., Mendes, A.C., Castanho, S., Barata, M., Lourenço, T.M., Pousão-Ferreira, P., 2015. Comparative analysis on natural spawning of F1 meagre, *Argyrosomus regius*, with wild broodstock spawns in Portugal. *Fish Physiol. Biochem.* 41, 1509–1514.
- Stipa, P., Angelini, M., 2005. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). [WWW Document]. FAO Fish. Aquac. Dep. URL http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en
- Stuart, K.R., Drawbridge, M., 2012. The effect of photoperiod on larval culture performance of two marine finfish species. *Aquaculture* 360–361, 54–57.
- Sund, T., Falk-Petersen, I.-B., 2005. Effects of incubation temperature on development and yolk sac conversion efficiencies of spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen) embryos until hatch. *Aquac. Res.* 36, 1133–1143.
- Tandler, A., Helps, S., 1985. The effects of photoperiod and water exchange rate on growth

- and survival of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, Linnaeus; Sparidae) from hatching to metamorphosis in mass rearing systems. *Aquaculture* 48, 71–82.
- Thépot, V., Jerry, D.R., 2015. The effect of temperature on the embryonic development of barramundi, the Australian strain of *Lates calcarifer* (Bloch) using current hatchery practices. *Aquac. Reports* 2, 132–138.
- Tocher, D.R., 2010. Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquac. Res.* 41, 717–732.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.* 11, 107–184.
- Tocher, D.R., Fraser, A.J., Sargent, J.R., Gamble, J.C., 1985. Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus*, L.). *Lipids* 20, 69–74.
- Tortonese, E., Cautis, I., 1967. Révision Des Poissons De La Famille Des Sparidés Vivant Près Des Côtes De Roumanie. *Ann. del Mus. Civ. di Stor. Nat. Giacomo Doria.* 77, 295–306.
- Turchini, G.M., Torstensen, B.E., Ng, W.-K., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev. Aquac.* 1, 10–57.
- Vallés, R., Estévez, A., 2013. Light conditions for larval rearing of meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* 376–379, 15–19.
- Vaz-Pires, P., 2014. Tecnologia e Qualidade Alimentar. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.
- Villamizar, N., Blanco-Vives, B., Migaud, H., Davie, A., Carboni, S., Sánchez-Vázquez, F.J., 2011. Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: A review. *Aquaculture* 315, 86–94.
- Villamizar, N., García-Alcazar, A., Sánchez-Vázquez, F.J., 2009. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 292, 80–86.
- Watanabe, T., 1993. Importance of Docosahexaenoic Acid in Marine Larval Fish. *J. World Aquac. Soc.* 24, 152–161.
- Woolley, L.D., Qin, J.G., 2010. Swimbladder inflation and its implication to the culture of marine finfish larvae. *Rev. Aquac.* 2, 181–190.
- Xavier, M.J.M. de A., 2015. Effect of dietary phospholipids and docosahexaenoic acid in growth performance and oxidative stress in Meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.
- Zakeri, M., Maramazi, J.G., Kochanian, P., Savari, A., Yavari, V., Haghi, M., 2009. Effects of protein and lipid concentrations in broodstock diets on growth, spawning performance and egg quality of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*). *Aquaculture* 295, 99–105.
- Zar, J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*, 5th ed. Prentice - Hall International Inc.

Anexo I

Ensaio	F (Fotoperíodo)						TF (Temperatura)				TQ (Temperatura)				
	0L:24D		14L:10D		24L:0D		16 °C		19 °C		19 °C		22 °C		
Tratamento	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n		
A. regius															
Diâmetro dos Ovos na Recolha (mm)	0,99 ± 0,02 ab						20	1,08 ± 0,03		20	0,99 ± 0,02				20
Área dos Ovos na Recolha (mm ²)	3,09 ± 0,13 ab						20	3,65 ± 0,15		20	3,09 ± 0,11				20
Área da Gota Lipídica na Recolha (mm ²)	0,179 ± 0,03						20	0,324 ± 0,11 a		20	0,187 ± 0,05				20
Diâmetro dos Ovos após 24 h (mm)	1,00 ± 0,03 a	9	0,98 ± 0,02 ab	21	0,97 ± 0,02 b	7	1,07 ± 0,02	60	-	-	1,00 ± 0,02	56	-	-	
Área dos Ovos após 24 h (mm ²)	3,18 ± 0,22 a	9	3,02 ± 0,13 ab	21	2,97 ± 0,13 b	7	3,63 ± 0,15	60	-	-	3,11 ± 0,12	56	-	-	
Área da Gota Lipídica após 24 h (mm ²)	0,163 ± 0,01	9	0,165 ± 0,01	21	0,160 ± 0,02	7	0,198 ± 0,04 b	60	-	-	0,186 ± 0,02	56	-	-	
S. aurata															
Diâmetro dos Ovos na Recolha (mm)	1,05 ± 0,03						20	1,02 ± 0,03		20	1,01 ± 0,03				20
Área dos Ovos na Recolha (mm ²)	3,47 ± 0,24						20	3,27 ± 0,18		20	3,22 ± 0,19				20
Área da Gota Lipídica na Recolha (mm ²)	0,183 ± 0,02						20	0,148 ± 0,02		20	0,156 ± 0,02 a				20
Diâmetro dos Ovos após 24 h (mm)	1,04 ± 0,04	65	1,05 ± 0,04	59	1,06 ± 0,05	60	1,03 ± 0,04	60	1,03 ± 0,03	9	1,02 ± 0,03	34	-	-	
Área dos Ovos após 24 h (mm ²)	3,42 ± 0,27	65	3,44 ± 0,24	59	3,51 ± 0,31	60	3,37 ± 0,23	60	3,31 ± 0,18	9	3,28 ± 0,18	34	-	-	
Área da Gota Lipídica após 24 h (mm ²)	0,176 ± 0,01	65	0,176 ± 0,02	59	0,179 ± 0,02	60	0,155 ± 0,04	60	0,137 ± 0,01	9	0,145 ± 0,02 b	34	-	-	
S. senegalensis															
Diâmetro dos Ovos na Recolha (mm)	1,03 ± 0,02						20	-		-	-				-
Área dos Ovos na Recolha (mm ²)	3,31 ± 0,13						20	-		-	-				-
Diâmetro dos Ovos após 24 h (mm)	1,06 ± 0,06	2	1,06 ± 0,06	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Área dos Ovos após 24 h (mm ²)	3,53 ± 0,39	2	3,52 ± 0,40	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
D. sargus															
Diâmetro dos Ovos na Recolha (mm)	0,99 ± 0,02 a						30	1,00 ± 0,01		20	-				-
Área dos Ovos na Recolha (mm ²)	3,06 ± 0,13 a						30	3,14 ± 0,09		20	-				-
Área da Gota Lipídica na Recolha (mm ²)	0,121 ± 0,01 a						30	0,114 ± 0,01		20	-				-
Diâmetro dos Ovos após 24 h (mm)	1,00 ± 0,02 a	53	1,02 ± 0,03 b	58	1,00 ± 0,02 a	54	1,01 ± 0,03	60	1,00 ± 0,03	47	-	-	-	-	
Área dos Ovos após 24 h (mm ²)	3,12 ± 0,14 a	53	3,24 ± 0,20 b	58	3,13 ± 0,14 a	54	3,21 ± 0,16	60	3,16 ± 0,16	47	-	-	-	-	
Área da Gota Lipídica após 24 h (mm ²)	0,126 ± 0,11 a	53	0,129 ± 0,01 b	58	0,127 ± 0,01 a	54	0,111 ± 0,01	60	0,116 ± 0,01	47	-	-	-	-	

Tabela 4: Análise descritiva da biometria dos ovos das várias espécies em estudo, à recolha e após 24 h de incubação a diferentes fotoperíodos e temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

Anexo II

Ensaio	Tratamento	Taxa de Eclosão (%)	n	Taxa de Sobrevivência à	n	Taxa de Crescimento (%)	n	Peso seco à Eclosão (mg)	n	Peso seco à Abertura da Boca	n
<i>A. regius</i>											
FR	0L:24D	92,44 ± 9,02	4	74,39 ± 3,63	4	28,29 ± 3,65	114	0,164 ± 0,05	60	0,140 ± 0,02	60
	14L:10D	87,67 ± 10,26	3	83,24 ± 9,45	4	28,16 ± 2,22	99	0,166 ± 0,03	60	0,134 ± 0,01	60
	24L:0D	87,04 ± 12,44	4	76,97 ± 5,69	4	25,95 ± 4,06	114	0,167 ± 0,05	60	0,135 ± 0,02	60
TFR	16 °C	90,17 ± 6,57	3	75,71 ± 9,09	3	18,42 ± 0,74	120	0,166 ± 0,03	60	0,196 ± 0,04	60
	19 °C	89,92 ± 7,90	3	85,71 ± 5,39	2	27,66 ± 5,42	123	0,150 ± 0,04	60	0,183 ± 0,05	60
TQR	19 °C	71,21 ± 1,29	2	61,67 ± 6,13	2	30,57 ± 1,27	120	0,163 ± 0,03	60	0,186 ± 0,04	60
	22 °C	78,99 ± 10,16	3	75,56 ± 21,89	3	27,31 ± 1,84	120	0,152 ± 0,05	60	0,187 ± 0,03	60
<i>S. aurata</i>											
FA	0L:24D	87,60 ± 12,12	4	60,30 ± 5,62	4	16,48 ± 5,86	118	0,169 ± 0,06 a	60	0,146 ± 0,02	60
	14L:10D	94,20 ± 8,70	4	54,04 ± 5,21	4	17,29 ± 6,43	120	0,128 ± 0,05 b	60	0,150 ± 0,04	60
	24L:0D	89,96 ± 8,46	4	60,60 ± 13,69	4	12,80 ± 5,60	120	0,145 ± 0,03 ab	60	0,159 ± 0,03	60
TFA	16 °C	61,73 ± 8,69 a	3	32,19 ± 10,60	2	21,81 ± 2,37	120	0,173 ± 0,04	60	0,160 ± 0,04	60
	19 °C	84,36 ± 5,26 b	3	22,05 ± 1,87	2	18,88 ± 1,38	120	0,142 ± 0,05	60	0,156 ± 0,04	60
TQA	19 °C	41,22 ± 1,35	3	-	-	-	-	0,153 ± 0,05	60	-	-
	22 °C	36,89 ± 4,23	3	-	-	-	-	0,158 ± 0,06	60	-	-
<i>S. senegalensis</i>											
FSs	0L:24D	80,31 ± 7,86	2	62,57 ± 5,63	2	32,99 ± 5,77	58	-	-	-	-
	14L:10D	81,18 ± 5,49	2	67,55 ± 9,81	2	35,44 ± 6,23	57	-	-	-	-
	24L:0D	89,23 ± 11,90	2	84,83 ± 3,10	2	31,09 ± 6,17	60	-	-	-	-
<i>D. sargus</i>											
FDs	0L:24D	38,47 ± 6,75 a	4	-	-	-	-	0,151 ± 0,04	60	-	-
	14L:10D	54,87 ± 6,82 b	3	-	-	-	-	0,157 ± 0,03	60	-	-
	24L:0D	34,74 ± 5,52 a	4	-	-	-	-	0,150 ± 0,03	60	-	-
TFS	16 °C	59,79 ± 9,26	3	49,76 ± 12,00	3	26,03 ± 2,25	120	0,121 ± 0,06	60	0,134 ± 0,04	60
	19 °C	53,70 ± 10,74	3	40,91 ± 18,79	3	24,03 ± 5,21	120	0,126 ± 0,04	60	0,116 ± 0,02	60

Tabela 5: Análise descritiva de diferentes parâmetros avaliados nas espécies em estudo, da eclosão à abertura da boca e submetidas a diferentes fotoperíodos e temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

Anexo III

<i>A. regius</i>														
Ensaio	F (Fotoperíodo)						TF (Temperatura)				TQ (Temperatura)			
Tratamento	0L:24D	n	14L:10D	n	24L:0D	n	16 °C	n	19 °C	n	19 °C	n	22 °C	n
Larvas 0 DAE														
Comprimento Standard (mm)	2,35 ± 0,17 ab	54	2,32 ± 0,11 a	39	2,39 ± 0,12 b	54	2,77 ± 0,13 a	60	2,57 ± 0,11 b	60	2,31 ± 0,12 a	61	2,55 ± 0,11 b	59
Área do Saco Vitelino (mm ²)	2,26 ± 0,43	54	2,29 ± 0,31	39	2,30 ± 0,39	54	2,32 ± 0,35 a	60	2,55 ± 0,36 b	60	2,48 ± 0,31 a	61	1,78 ± 0,26 b	59
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,170 ± 0,02	54	0,167 ± 0,01	39	0,169 ± 0,02	54	0,173 ± 0,01	60	0,176 ± 0,01	60	0,191 ± 0,01	61	0,188 ± 0,01	59
Larvas 1 DAE														
Comprimento Standard (mm)	2,98 ± 0,11	66	2,96 ± 0,14	63	2,95 ± 0,14	63	3,12 ± 0,22	60	3,07 ± 0,14	60	2,97 ± 0,12 a	60	3,09 ± 0,11 b	60
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,62 ± 0,13 a	66	0,68 ± 0,12 b	63	0,61 ± 0,11 a	63	0,84 ± 0,15 a	60	0,68 ± 0,19 b	60	1,05 ± 0,14 a	60	0,42 ± 0,08 b	60
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,133 ± 0,02 a	66	0,143 ± 0,02 b	63	0,137 ± 0,02 a	63	0,141 ± 0,01 a	60	0,128 ± 0,02 b	60	0,176 ± 0,02 a	60	0,108 ± 0,01 b	60
Larvas 2 DAE														
Comprimento Standard (mm)	3,17 ± 0,15 a	60	3,11 ± 0,16 b	60	3,17 ± 0,09 a	58	3,26 ± 0,19 a	60	3,16 ± 0,14 b	63	3,20 ± 0,12 a	60	3,10 ± 0,11 b	60
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,26 ± 0,04	60	0,29 ± 0,04	60	0,26 ± 0,03	58	0,33 ± 0,04 a	60	0,19 ± 0,04 b	63	0,32 ± 0,04 a	60	0,15 ± 0,02 b	60
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,076 ± 0,01 a	60	0,082 ± 0,01 b	60	0,083 ± 0,01 b	58	0,083 ± 0,01 a	60	0,060 ± 0,01 b	63	0,098 ± 0,01 a	60	0,058 ± 0,01 b	60
Larvas 3 DAE														
Comprimento Standard (mm)	3,20 ± 0,12	60	3,15 ± 0,20	60	3,17 ± 0,15	60	3,32 ± 0,11 a	60	3,21 ± 0,07 b	60	3,22 ± 0,10	60	3,18 ± 0,11	20
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,13 ± 0,02	60	0,15 ± 0,02	60	0,13 ± 0,02	60	0,17 ± 0,03 a	60	0,04 ± 0,03 b	60	0,16 ± 0,02 a	60	0,004 ± 0,02 b	20
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,056 ± 0,01	60	0,057 ± 0,01	60	0,055 ± 0,01	60	0,050 ± 0,01 a	60	0,039 ± 0,01 b	60	0,057 ± 0,01 a	60	0,034 ± 0,01 b	20

Tabela 6: Análise descritiva das variáveis morfométricas dos 0 aos 3 Dias Após Eclosão (DAE), em larvas de *A. regius* submetidas a diferentes fotoperíodos e temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

<i>S. aurata</i>														
Ensaio	F (Fotoperíodo)						TF (Temperatura)				TQ (Temperatura)			
Tratamento	0L:24D	n	14L:10D	n	24L:0D	n	16 °C	n	19 °C	n	19 °C	n	22 °C	n
Larvas 0 DAE														
Comprimento Standard (mm)	3,19 ± 0,32	58	3,21 ± 0,35	60	3,27 ± 0,38	60	3,03 ± 0,20 a	54	2,92 ± 0,11 b	60	2,69 ± 0,12 a	60	2,85 ± 0,12 b	60
Área do Saco Vitelino (mm ²)	1,33 ± 0,42 a	58	1,38 ± 0,25 a	60	1,16 ± 0,23 b	60	1,89 ± 0,26 a	54	2,21 ± 0,27 b	60	2,18 ± 0,30 a	60	1,99 ± 0,26 b	60
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,175 ± 0,02 a	58	0,176 ± 0,02 a	60	0,167 ± 0,01 b	60	0,139 ± 0,01 a	54	0,150 ± 0,01 b	60	0,150 ± 0,01	60	0,147 ± 0,01	60
Larvas 1 DAE														
Comprimento Standard (mm)	3,60 ± 0,21	60	3,58 ± 0,33	60	3,53 ± 0,31	60	3,42 ± 0,20	63	3,41 ± 0,19	61	-	-	-	-
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,44 ± 0,12 a	60	0,51 ± 0,13 b	60	0,44 ± 0,14 a	60	1,10 ± 0,22	63	1,08 ± 0,18	61	-	-	-	-
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,119 ± 0,02 a	60	0,127 ± 0,02 b	60	0,122 ± 0,02ab	60	0,124 ± 0,01 a	63	0,131 ± 0,03 b	61	-	-	-	-
Larvas 2 DAE														
Comprimento Standard (mm)	3,66 ± 0,48	60	3,75 ± 0,23	60	3,67 ± 0,22	60	3,56 ± 0,21	60	3,55 ± 0,15	60	-	-	-	-
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,21 ± 0,06	60	0,21 ± 0,04	60	0,18 ± 0,04	60	0,48 ± 0,08	60	0,45 ± 0,07	60	-	-	-	-
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,077 ± 0,02 a	60	0,069 ± 0,01 b	60	0,075 ± 0,02ab	60	0,096 ± 0,02	60	0,093 ± 0,01	60	-	-	-	-
Larvas 3 DAE														
Comprimento Standard (mm)	3,68 ± 0,27	60	3,73 ± 0,25	60	3,66 ± 0,24	60	3,69 ± 0,21 a	60	3,49 ± 0,16 b	60	-	-	-	-
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,00	60	0,00	60	0,00	60	0,21 ± 0,06	60	0,21 ± 0,04	60	-	-	-	-
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,062 ± 0,04	60	0,060 ± 0,02	60	0,059 ± 0,02	60	0,069 ± 0,03	60	0,071 ± 0,02	60	-	-	-	-

Tabela 7: Análise descritiva das variáveis morfométricas dos 0 aos 3 Dias Após Ecloração (DAE), em larvas de *S. aurata* submetidas a diferentes fotoperíodos e temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

<i>S. senegalensis</i>						
Ensaio	F (Fotoperíodo)					
Tratamento	0L:24D	n	14L:10D	n	24L:0D	n
Larvas 0 DAE						
Comprimento Standard (mm)	2,09 ± 0,11	38	2,09 ± 0,15	37	2,13 ± 0,16	40
Área do Saco Vitelino (mm ²)	2,37 ± 0,42 a	38	2,22 ± 0,36 b	37	2,34 ± 0,37 a	40
Larvas 1 DAE						
Comprimento Standard (mm)	2,76 ± 0,19 ab	38	2,71 ± 0,21 a	40	2,79 ± 0,13 b	30
Área do Saco Vitelino (mm ²)	1,13 ± 0,21	38	1,18 ± 0,20	40	1,18 ± 0,15	30
Larvas 2 DAE						
Comprimento Standard (mm)	2,96 ± 0,15 ab	20	2,89 ± 0,19 a	20	2,99 ± 0,18 b	20
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,59 ± 0,15	20	0,54 ± 0,18	20	0,50 ± 0,08	20
Larvas 3 DAE						
Comprimento Standard (mm)	3,09 ± 0,12	20	3,16 ± 0,12	20	3,13 ± 0,16	20
Área do Saco Vitelino (mm ²)	0,20 ± 0,05	20	0,16 ± 0,05	20	0,15 ± 0,04	20

Tabela 8: Análise descritiva das variáveis morfométricas dos 0 aos 3 Dias Após Ecloração (DAE), em larvas de *S. senegalensis* submetidas a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

<i>D. sargus</i>										
Ensaio	F (Fotoperíodo)						TF (Temperatura)			
Tratamento	0L:24D	n	14L:10D	n	24L:0D	n	16 °C	n	19 °C	n
Larvas 0 DAE										
Comprimento Standard (mm)	3,06 ± 0,16 a	60	2,95 ± 0,30 b	60	3,02 ± 0,22 ab	60	2,88 ± 0,13 a	60	3,22 ± 0,15 b	60
Área do Saco Vitelino (mm ²)	1,23 ± 0,22	60	1,24 ± 0,20	60	1,25 ± 0,24	60	2,33 ± 0,37 a	60	1,21 ± 0,26 b	60
Área da Gota Lipídica (mm ²)	0,106 ± 0,01 ab	60	0,105 ± 0,01 a	60	0,110 ± 0,01 b	60	0,111 ± 0,01 a	60	0,095 ± 0,01 b	60
Larvas 1 DAE										
Comprimento Standard (mm)	-	-	-	-	-	-	3,35 ± 0,15 a	61	3,46 ± 0,13 b	60
Área do Saco Vitelino (mm ²)	-	-	-	-	-	-	1,46 ± 0,29 a	61	0,23 ± 0,08 b	60
Área da Gota Lipídica (mm ²)	-	-	-	-	-	-	0,097 ± 0,01 a	61	0,034 ± 0,01 b	60
Larvas 2 DAE										
Comprimento Standard (mm)	-	-	-	-	-	-	3,64 ± 0,09 a	63	3,46 ± 0,12 b	20
Área do Saco Vitelino (mm ²)	-	-	-	-	-	-	0,60 ± 0,11 a	63	0,003 ± 0,01 b	20
Área da Gota Lipídica (mm ²)	-	-	-	-	-	-	0,068 ± 0,01 a	63	0,014 ± 0,01 b	20
Larvas 3 DAE										
Comprimento Standard (mm)	-	-	-	-	-	-	3,66 ± 0,15 a	60	3,41 ± 0,11 b	20
Área do Saco Vitelino (mm ²)	-	-	-	-	-	-	0,15 ± 0,05 a	60	0,00 b	20
Área da Gota Lipídica (mm ²)	-	-	-	-	-	-	0,026 ± 0,01 a	60	0,011 ± 0,01 b	20

Tabela 9: Análise descritiva das variáveis morfométricas dos 0 aos 3 Dias Após Eclosão (DAE), em larvas de *D. sargus* submetidas a diferentes fotoperíodos e temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,05$).

Anexo IV

A. regius - Ensaio Fotoperíodo (FR)										
Tratamento	Pool Inicial	Eclosão			Abertura da boca			Ovos x Eclosão	Ovos x A. boca	Eclosão x A. boca
	Ovos	0L:24D	14L:10D	24L:0D	0L:24D	14L:10D	24L:0D	p-value	p-value	p-value
14:0	3,28 ± 0,57	3,78 ± 0,15	3,88 ± 0,15	4,08 ± 0,57	1,78 ± 0,13	1,75 ± 0,13	1,48 ± 0,13	0,00	0,00	0,00
16:0	26,28 ± 1,78	29,88 ± 1,10	30,68 ± 0,41	31,95 ± 2,94	24,68 ± 1,11 a	24,50 ± 1,10 a	21,60 ± 1,37 b	0,00	0,03	0,00
18:0	5,65 ± 0,30	7,65 ± 0,26	7,88 ± 0,05	8,08 ± 0,49	8,98 ± 0,36 a	8,90 ± 0,24 a	8,30 ± 0,36 b	0,00	0,00	0,00
Outros SFA	4,17 ± 0,42	6,00 ± 0,46 a	6,03 ± 0,17 ab	6,60 ± 0,73 b	4,55 ± 0,13	4,48 ± 0,17	4,35 ± 0,59	0,00	n.s.	0,00
Σ SFA	39,40 ± 3,01	47,35 ± 1,94	48,43 ± 0,54	50,73 ± 4,70	40,00 ± 1,61 a	39,63 ± 1,55 a	35,63 ± 2,44 b	0,00	n.s.	0,00
16:1 (ω9+ω7)	8,18 ± 0,60	9,60 ± 0,36	9,90 ± 0,22	10,35 ± 1,18	5,70 ± 0,36 a	5,65 ± 0,31 a	4,43 ± 0,38 b	0,00	0,00	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	27,62 ± 0,59	32,08 ± 1,39	33,33 ± 0,79	34,05 ± 2,73	23,88 ± 1,28 a	23,55 ± 1,14 a	20,45 ± 1,16 b	0,00	0,00	0,00
Outros Mufa	14,70 ± 2,46	18,45 ± 0,72	19,15 ± 0,66	20,23 ± 2,78	11,33 ± 0,79	11,10 ± 0,63	9,45 ± 0,74	0,00	0,00	0,00
Σ Mufa	50,52 ± 3,39	60,10 ± 2,47	62,35 ± 1,55	64,60 ± 6,68	40,88 ± 2,39 a	40,33 ± 2,06 a	34,63 ± 2,28 b	0,00	0,00	0,00
18:2ω6 Linoleico	16,18 ± 2,33	16,35 ± 0,75	17,30 ± 0,83	17,55 ± 1,71	15,63 ± 0,85 a	15,53 ± 0,84 a	13,30 ± 0,77 b	n.s.	n.s.	0,00
18:3ω3	2,20 ± 0,19	2,15 ± 0,13	2,28 ± 0,15	2,33 ± 0,25	1,53 ± 0,10 ab	1,55 ± 0,13 a	1,30 ± 0,08 b	n.s.	0,00	0,00
20:4ω6 ARA	2,58 ± 0,18	3,23 ± 0,13	3,30 ± 0,08	3,40 ± 0,27	3,83 ± 0,19 a	3,80 ± 0,16 a	3,45 ± 0,17 b	0,00	0,00	0,00
20:5ω3 EPA	8,57 ± 0,66	10,35 ± 0,57	10,83 ± 0,33	11,03 ± 0,93	6,63 ± 0,29 a	6,65 ± 0,34 a	5,70 ± 0,24 b	0,00	0,00	0,00
22:6ω3 DHA	30,13 ± 1,83	38,58 ± 2,00	40,88 ± 1,10	41,30 ± 3,05	33,90 ± 2,03 a	33,55 ± 1,73 a	30,18 ± 1,18 b	0,00	0,02	0,00
Outros Pufa	7,13 ± 0,89	9,50 ± 0,45 a	9,93 ± 0,33 ab	10,08 ± 0,83 b	6,85 ± 0,21 a	6,80 ± 0,29 a	6,03 ± 0,25 b	0,00	n.s.	0,00
Σ PUFA	66,80 ± 1,88	80,08 ± 4,03	84,50 ± 2,67	85,70 ± 6,96	68,38 ± 3,28	67,88 ± 3,38	60,00 ± 2,63	0,00	n.s.	0,00
Σ ω3	45,48 ± 2,83	57,18 ± 3,07	60,40 ± 1,75	61,13 ± 4,76	46,25 ± 2,44 a	45,85 ± 2,30 a	40,90 ± 1,60 b	0,00	n.s.	0,00
Σ ω6	20,30 ± 2,40	21,63 ± 0,95	22,80 ± 0,98	23,18 ± 2,09	21,30 ± 1,04 a	21,23 ± 1,00 a	18,45 ± 1,00 b	0,01	n.s.	0,00
Razão ω3/ω6	2,27 ± 0,40	2,65 ± 0,06	2,68 ± 0,05	2,65 ± 0,06	2,18 ± 0,10	2,20 ± 0,00	2,23 ± 0,05	0,00	n.s.	0,00
SFA+Mufa+Pufa	156,72 ± 7,76	187,50 ± 8,15	195,30 ± 4,43	201,00 ± 18,17	149,28 ± 6,87 a	147,80 ± 7,00 a	130,28 ± 7,30 b	0,00	0,01	0,00

Tabela 10 (Ensaio “FR”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas, à eclosão e à abertura da boca, de *Argyrosomus regius* submetidos a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

À direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos, da eclosão e da abertura da boca, independentemente do tratamento (n.s. corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidônico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenóico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenóico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.

S. aurata - Ensaio Fotoperíodo (FA)										
Tratamento	Pool Inicial	Eclósão			Abertura da boca			Ovos x Eclósão	Ovos x A. boca	Eclósão x A. boca
	Ovos	0L:24D	14L:10D	24L:0D	0L:24D	14L:10D	24L:0D	p-value	p-value	p-value
14:0	3,85 ± 0,52	4,63 ± 0,05 a	3,95 ± 0,91 b	4,58 ± 0,10 a	2,30 ± 0,10	2,38 ± 0,10	2,26 ± 0,13	0,03	0,00	0,00
16:0	27,75 ± 1,66	36,68 ± 0,32 a	30,95 ± 7,05 b	36,20 ± 0,50 a	25,54 ± 0,39	26,31 ± 0,56	25,42 ± 1,03	0,00	n.s.	0,00
18:0	6,40 ± 0,43	8,95 ± 0,06 a	7,55 ± 1,73 b	8,80 ± 0,08 a	8,30 ± 0,15	8,43 ± 0,09	8,37 ± 0,20	0,00	0,00	n.s.
Outros SFA	3,38 ± 0,44	4,48 ± 0,15 a	3,70 ± 0,88 b	4,50 ± 0,14 a	3,15 ± 0,06	3,20 ± 0,08	3,16 ± 0,15	0,00	n.s.	0,00
Σ SFA	41,40 ± 2,46	54,70 ± 0,48 a	46,15 ± 10,56 b	54,10 ± 0,84 a	39,29 ± 0,64	40,32 ± 0,78	39,20 ± 1,50	0,00	n.s.	0,00
16:1 (ω9+ω7)	7,65 ± 0,98	10,83 ± 0,17 a	9,25 ± 2,10 b	10,78 ± 0,17 a	5,21 ± 0,20	5,38 ± 0,32	5,20 ± 0,31	0,00	0,00	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	31,13 ± 2,19	43,33 ± 0,31 a	36,85 ± 8,65 b	42,98 ± 0,69 a	25,01 ± 0,76	26,01 ± 0,82	25,06 ± 1,35	0,00	0,01	0,00
Outros Mufa	7,73 ± 0,38	10,28 ± 0,10 a	8,75 ± 2,02 b	10,35 ± 0,38 a	5,96 ± 0,11	6,44 ± 0,25	6,04 ± 0,31	0,00	0,00	0,00
Σ Mufa	46,48 ± 3,31	64,38 ± 0,51 a	54,80 ± 12,78 b	64,10 ± 1,18 a	36,19 ± 1,05	37,82 ± 1,23	36,30 ± 1,96	0,00	0,00	0,00
18:2ω6 Linoleico	16,88 ± 7,01	30,63 ± 0,29	26,13 ± 6,09	30,40 ± 0,63	17,47 ± 0,57	18,09 ± 0,64	17,48 ± 1,13	0,00	n.s.	0,00
18:3ω3	2,05 ± 0,66	3,33 ± 0,05	2,80 ± 0,68	3,30 ± 0,08	1,58 ± 0,07	1,67 ± 0,07	1,60 ± 0,12	0,00	n.s.	0,00
20:4ω6 ARA	2,80 ± 0,36	4,33 ± 0,05 a	3,65 ± 0,86 b	4,30 ± 0,08 a	3,89 ± 0,07	3,90 ± 0,10	3,89 ± 0,14	0,00	0,00	n.s.
20:5ω3 EPA	8,08 ± 0,65	9,50 ± 0,12 a	8,08 ± 1,94 b	9,35 ± 0,44 a	5,65 ± 0,18	5,94 ± 0,31	5,55 ± 0,38	n.s.	0,00	0,00
22:6ω3 DHA	29,80 ± 1,86	38,88 ± 0,59 a	32,65 ± 7,49 b	38,88 ± 0,96 a	29,49 ± 0,84	29,43 ± 0,86	29,02 ± 1,32	0,00	n.s.	0,00
Outros Pufa	5,68 ± 1,11	9,73 ± 0,10 a	8,33 ± 1,97 b	9,68 ± 0,21	4,98 ± 0,10	5,13 ± 0,18	4,87 ± 0,32	0,00	n.s.	0,00
Σ PUFA	67,43 ± 5,76	96,30 ± 0,98 a	81,60 ± 18,95 b	95,93 ± 2,09 a	65,17 ± 1,71	66,30 ± 1,97	64,39 ± 3,50	0,00	n.s.	0,00
Σ ω3	45,20 ± 2,56	58,20 ± 0,77 a	49,13 ± 11,36 b	58,00 ± 1,41 a	40,80 ± 1,08	41,27 ± 1,21	40,06 ± 1,98	0,00	n.s.	0,00
Σ ω6	21,43 ± 7,30	37,35 ± 0,29	31,85 ± 7,41	37,15 ± 0,73	23,25 ± 0,62	23,89 ± 0,75	23,26 ± 1,39	0,00	n.s.	0,00
Razão ω3/ω6	2,33 ± 0,91	1,58 ± 0,05	1,53 ± 0,05	1,58 ± 0,05	1,72 ± 0,02	1,73 ± 0,01	1,72 ± 0,03	0,00	n.s.	n.s.
SFA+Mufa+Pufa	155,30 ± 9,49	215,43 ± 1,77 a	182,58 ± 42,27 b	214,13 ± 3,78 a	140,64 ± 3,35	144,44 ± 3,79	139,88 ± 6,92	0,00	n.s.	0,00

Tabela 11 (Ensaio “FA”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas, à eclósão e à abertura da boca, de *Sparus aurata* submetidos a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

À direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos, da eclósão e da abertura da boca, independentemente do tratamento (**n.s.** corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidônico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenóico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenóico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.

S. senegalensis - Ensaio Fotoperíodo (FSs)									
	Pool Inicial	Ecloração			Abertura da boca		Ovos x Ecloração	Ovos x A. boca	Ecloração x A. boca
Tratamento	Ovos	0L:24D	14L:10D	24L:0D	0L:24D	14L:10D	p-value	p-value	p-value
14:0	3,60 ± 0,17	3,30 ± 0,42	3,55 ± 0,77	3,45 ± 0,64	2,65 ± 0,07	2,05 ± 0,07	n.s.	0,01	0,01
16:0	26,73 ± 1,08	29,55 ± 4,31 a	41,5 ± 0,28 b	30,55 ± 6,01 a	28,55 ± 0,21	24,35 ± 1,34	0,01	n.s.	0,01
18:0	5,90 ± 0,26	8,25 ± 1,20 a	11,20 ± 0,14 b	8,50 ± 1,70 a	9,05 ± 0,07	9,20 ± 0,00	0,00	0,00	n.s.
Outros SFA	2,50 ± 0,20	3,40 ± 0,57	4,10 ± 0,42	3,50 ± 0,71	3,65 ± 0,07	3,05 ± 0,21	0,01	0,03	n.s.
Σ SFA	38,77 ± 1,64	44,45 ± 6,58 a	60,35 ± 0,78 b	46,00 ± 9,05 a	43,95 ± 0,35	38,60 ± 1,70	0,01	n.s.	0,02
16:1 (ω9+ω7)	9,13 ± 0,38	9,75 ± 1,34 a	13,85 ± 0,21 b	10,15 ± 2,05 a	7,60 ± 0,00	6,05 ± 0,35	0,02	0,02	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	19,87 ± 0,71	23,60 ± 3,54 a	40,40 ± 0,28 b	24,80 ± 4,95 a	18,75 ± 0,21	18,35 ± 0,50	0,00	n.s.	0,00
Outros Mufa	2,43 ± 0,06	3,45 ± 0,50 a	5,00 ± 0,85 b	3,55 ± 0,50 a	3,25 ± 0,07	2,65 ± 0,21	0,00	n.s.	0,01
Σ Mufa	31,47 ± 1,12	36,80 ± 5,37 a	59,20 ± 1,41 b	38,50 ± 7,50 a	29,50 ± 0,28	27,05 ± 1,06	0,00	n.s.	0,00
18:2ω6 Linoleico	9,90 ± 0,40	11,15 ± 1,77 a	16,00 ± 0,00 b	11,95 ± 2,33 a	7,35 ± 0,07	8,55 ± 0,21	0,01	n.s.	0,00
18:3ω3	1,33 ± 0,06	1,40 ± 0,14 a	2,00 ± 0,00 b	1,55 ± 0,35 a	0,80 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,02	0,00	0,00
20:4ω6 ARA	2,23 ± 0,12	2,85 ± 0,49	3,20 ± 0,00	2,90 ± 0,57	2,60 ± 0,00	3,05 ± 0,07	0,01	0,03	n.s.
20:5ω3 EPA	4,67 ± 0,23	5,40 ± 0,85 a	6,85 ± 0,35 b	5,60 ± 1,13 ab	4,10 ± 0,00	4,40 ± 0,14	0,02	n.s.	0,00
22:6ω3 DHA	30,40 ± 1,39	36,15 ± 5,44	41,70 ± 2,55	37,70 ± 7,35	28,55 ± 0,07	33,95 ± 0,92	0,02	n.s.	0,02
Outros Pufa	5,37 ± 0,23	6,90 ± 0,99	8,35 ± 0,64	7,20 ± 1,41	6,10 ± 0,14	5,55 ± 0,78	0,01	n.s.	0,01
Σ PUFA	57,90 ± 2,52	68,65 ± 10,39	84,05 ± 3,75	71,90 ± 14,00	53,10 ± 0,00	60,10 ± 0,14	0,01	n.s.	0,00
Σ ω3	42,40 ± 1,91	50,45 ± 7,57	59,40 ± 3,82	52,65 ± 10,25	39,15 ± 0,07	44,85 ± 0,49	0,01	n.s.	0,01
Σ ω6	14,27 ± 0,51	16,80 ± 2,69 a	22,85 ± 0,07 b	17,75 ± 3,47 a	12,30 ± 0,00	14,05 ± 0,35	0,01	n.s.	0,00
Razão ω3/ω6	2,97 ± 0,06	3,00 ± 0,00 a	2,60 ± 0,14 b	3,00 ± 0,00 a	3,20 ± 0,00	3,20 ± 0,14	n.s.	0,01	0,00
SFA+Mufa+Pufa	128,13 ± 5,27	149,95 ± 22,42 a	203,55 ± 6,01 b	156,40 ± 30,55 a	126,60 ± 0,57	126,20 ± 2,69	0,01	n.s.	0,00

Tabela 12 (Ensaio “FSs”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas, à ecloração e à abertura da boca, de *Solea senegalensis* submetidos a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

À direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos, da ecloração e da abertura da boca, independentemente do tratamento (n.s. corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidónico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenóico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenóico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.

D. sargus - Ensaio Fotoperíodo (FDs)					
Tratamento	Pool Inicial	Eclusão			Ovos x Eclusão
	Ovos	0L:24D	14L:10D	24L:0D	p-value
14:0	2,87 ± 0,38	3,05 ± 0,06	3,07 ± 0,24	2,90 ± 0,10	n.s.
16:0	26,57 ± 1,59	32,53 ± 0,56	33,62 ± 2,35	31,76 ± 0,95	0,00
18:0	6,30 ± 0,44	9,03 ± 0,15	9,47 ± 0,69	8,88 ± 0,40	0,00
Outros SFA	2,73 ± 0,21	3,60 ± 0,14	3,98 ± 0,43	3,58 ± 0,44	0,00
Σ SFA	38,43 ± 2,57	48,15 ± 0,82	50,13 ± 3,60	47,14 ± 1,79	0,00
16:1 (ω9+ω7)	5,63 ± 0,49	6,40 ± 0,12	6,43 ± 0,27	6,26 ± 0,26	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	22,43 ± 0,67	28,23 ± 0,57 ab	30,32 ± 2,42 a	28,08 ± 1,58 b	0,00
Outros Mufa	2,27 ± 0,57	2,63 ± 0,22	2,80 ± 0,53	2,32 ± 0,08	n.s.
Σ Mufa	30,30 ± 1,73	37,28 ± 0,85 ab	39,58 ± 2,38 a	36,70 ± 1,86 b	0,00
18:2ω6 Linoleico	13,20 ± 3,54	20,83 ± 0,46	22,38 ± 1,73	20,92 ± 1,54	0,00
18:3ω3	1,47 ± 0,25	2,03 ± 0,05	2,20 ± 0,17	2,06 ± 0,21	0,00
20:4ω6 ARA	2,50 ± 0,20	3,90 ± 0,12	4,23 ± 0,37	3,88 ± 0,30	0,00
20:5ω3 EPA	8,50 ± 0,72	9,30 ± 0,18 ab	10,30 ± 0,89 a	9,30 ± 0,84 b	0,03
22:6ω3 DHA	28,23 ± 1,31	36,35 ± 0,72	39,73 ± 3,85	35,88 ± 3,54	0,00
Outros Pufa	9,13 ± 0,21	10,58 ± 0,57	11,67 ± 0,93	10,76 ± 1,36	0,01
Σ PUFA	65,03 ± 1,78	85,30 ± 1,90 ab	93,07 ± 8,07 a	84,60 ± 7,02 b	0,00
Σ ω3	47,27 ± 1,65	57,98 ± 1,23 ab	63,43 ± 5,83 a	56,90 ± 4,44 b	0,00
Σ ω6	17,23 ± 3,58	26,68 ± 0,59	28,83 ± 2,31	27,10 ± 2,84	0,00
Razão ω3/ω6	2,87 ± 0,74	2,20 ± 0,00	2,20 ± 0,00	2,10 ± 0,12	0,00
SFA+Mufa+Pufa	133,80 ± 2,62	170,75 ± 3,51 ab	182,80 ± 13,96 a	168,44 ± 10,55 b	0,00

Tabela 13 (Ensaio “FDs”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas à eclusão, de *Diplodus sargus* submetidos a diferentes fotoperíodos. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade (p<0,05).

A direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos e larvas à eclusão, independentemente do tratamento (**n.s.** corresponde a p>0,05). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidónico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenólico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenólico. **Pufa** – Ácidos gordos poliinsaturados.

A. regius - Ensaio Temperatura (TFR)								
Tratamento	Pool Inicial	Ecloração		Abertura da boca		Ovos x Ecloração	Ovos x A. boca	Ecloração x A. boca
	Ovos	16 °C	19 °C	16 °C	19 °C	p-value	p-value	p-value
14:0	3,54 ± 0,60	4,57 ± 0,12	4,73 ± 0,06	2,70 ± 0,10	2,85 ± 0,07	0,00	0,01	0,00
16:0	24,73 ± 1,14	34,37 ± 0,83	35,27 ± 0,06	24,77 ± 0,50	24,75 ± 0,64	0,00	n.s.	0,00
18:0	5,80 ± 0,81	8,10 ± 0,17	8,20 ± 0,00	9,37 ± 0,06	8,95 ± 0,35	0,00	0,00	0,00
Outros SFA	3,89 ± ,34	6,63 ± 0,21	6,67 ± 0,15	4,77 ± 0,15	4,95 ± 0,21	0,00	0,00	0,00
Σ SFA	37,96 ± 2,84	53,67 ± 1,32	54,90 ± 0,17	41,53 ± 0,59	41,50 ± 1,27	0,00	0,01	0,00
16:1 (ω9+ω7)	7,69 ± 0,62	13,47 ± 0,29	13,77 ± 0,06	6,60 ± 0,20	6,75 ± 0,07	0,00	0,00	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	23,83 ± 3,50	36,73 ± 0,67	37,20 ± 0,17	24,83 ± 0,65	25,25 ± 0,35	0,00	n.s.	0,00
Outros Mufa	13,34 ± 0,80	20,20 ± 0,44	20,57 ± 0,15	12,30 ± 0,46	13,00 ± 0,14	0,00	n.s.	0,00
Σ Mufa	44,86 ± 4,57	70,43 ± 1,44	71,50 ± 0,26	43,70 ± 1,31	45,00 ± 0,28	0,00	n.s.	0,00
18:2ω6 Linoleico	13,00 ± 1,83	20,60 ± 0,26	20,70 ± 0,17	13,97 ± 0,35	13,85 ± 0,21	0,00	n.s.	0,00
18:3ω3	1,72 ± 0,32	2,53 ± 0,06	2,60 ± 0,00	1,57 ± 0,06	1,60 ± 0,00	0,00	n.s.	0,00
20:4ω6 ARA	2,03 ± 0,15	3,63 ± 0,06	3,63 ± 0,06	2,97 ± 0,06	2,90 ± 0,14	0,00	0,00	0,00
20:5ω3 EPA	7,06 ± 1,11	10,37 ± 0,21	10,43 ± 0,06	7,63 ± 0,12	7,45 ± 0,21	0,00	n.s.	0,00
22:6ω3 DHA	25,88 ± 2,52	40,53 ± 1,01	40,90 ± 0,52	32,20 ± 0,53	31,15 ± 1,48	0,00	0,00	0,00
Outros Pufa	7,07 ± 1,08	1,47 ± 0,21	10,50 ± 0,17	8,17 ± 0,29	8,10 ± 0,42	0,00	0,03	0,00
Σ PUFA	56,75 ± 6,90	88,23 ± 1,79	88,80 ± 0,46	66,47 ± 1,31	65,05 ± 2,47	0,00	0,01	0,00
Σ ω3	39,13 ± 4,64	60,10 ± 1,31	60,50 ± 0,46	46,80 ± 0,85	45,50 ± 1,98	0,00	0,02	0,00
Σ ω6	16,48 ± 2,10	26,60 ± 0,44	26,70 ± 0,17	18,83 ± 0,40	18,60 ± 0,42	0,00	0,00	0,00
Razão ω3/ω6	2,38 ± 0,03	2,27 ± 0,06	2,27 ± 0,06	2,50 ± 0,00	2,45 ± 0,07	0,00	0,00	0,00
SFA+Mufa+Pufa	139,57 ± 14,12	212,33 ± 4,49	215,13 ± 0,25	151,70 ± 3,16	151,64 ± 4,03	0,00	n.s.	0,00

Tabela 14 (Ensaio “TFR”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas, à ecloração e à abertura da boca, de *Argyrosomus regius* submetidos a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

À direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos, da ecloração e da abertura da boca, independentemente do tratamento (**n.s.** corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidônico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenóico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenóico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.

S. aurata - Ensaio Temperatura (TFA)				
	Pool Inicial	Eclosão		Ovos x Eclosão
Tratamento	Ovos	16 °C	19 °C	p-value
14:0	3,84	5,19 ± 0,08 a	5,40 ± 0,02 b	0,00
16:0	26,34	34,94 ± 0,51 a	36,86 ± 0,30 b	0,00
18:0	6,03	8,51 ± 0,15	8,60 ± 0,07	0,00
Outros SFA	3,66	5,35 ± 0,06	5,49 ± 0,08	0,00
Σ SFA	39,87	54,99 ± 0,79 a	56,35 ± 0,48 b	0,00
16:1 (ω9+ω7)	6,45	10,91 ± 0,19	11,23 ± 0,23	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	28,25	39,36 ± 0,67	40,16 ± 0,81	0,00
Outros Mufa	7,38	10,40 ± 0,18	10,63 ± 0,22	0,01
Σ Mufa	42,08	60,66 ± 1,02	62,02 ± 1,26	0,00
18:2ω6 Linoleico	9,39	13,30 ± 0,24	13,58 ± 0,32	0,02
18:3ω3	1,30	1,77 ± 0,04	1,82 ± 0,05	n.s.
20:4ω6 ARA	2,53	3,60 ± 0,10	3,63 ± 0,05	0,00
20:5ω3 EPA	8,46	11,72 ± 0,31	11,90 ± 0,27	0,00
22:6ω3 DHA	30,74	43,68 ± 1,45	44,51 ± 1,08	0,00
Outros Pufa	4,84	6,90 ± 0,14	7,11 ± 0,19	0,00
Σ PUFA	60,02	84,95 ± 2,36	86,69 ± 2,13	0,00
Σ ω3	45,67	64,61 ± 1,93	65,97 ± 1,73	0,00
Σ ω6	13,75	19,50 ± 0,42	19,87 ± 0,41	0,00
Razão ω3/ω6	3,32	3,31 ± 0,03	3,32 ± 0,03	n.s.
SFA+Mufa+Pufa	141,97	200,61 ± 4,02	205,05 ± 3,77	0,00

Tabela 15 (Ensaio “TFA”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas à eclosão, de *Sparus aurata* submetidos a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

A direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos e larvas à eclosão, independentemente do tratamento (**n.s.** corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidónico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenóico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenóico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.

D. sargus - Ensaio Temperatura (TFS)								
	Pool Inicial	Ecloração		Abertura da boca		Ovos x Ecloração	Ovos x A. boca	Ecloração x A. boca
Tratamento	Ovos	16 °C	19 °C	16 °C	19 °C	p-value	p-value	p-value
14:0	3,00 ± 0,47	3,33 ± 0,12	2,99 ± 0,10	1,93 a	3,24 ± 0,91 b	n.s.	n.s.	n.s.
16:0	27,02 ± 1,92	32,45 ± 1,40	31,18 ± 1,08	26,05	38,50 ± 11,94	n.s.	n.s.	n.s.
18:0	6,41 ± 0,58	8,77 ± 0,27	8,60 ± 0,31	8,70	12,22 ± 3,79	n.s.	0,03	n.s.
Outros SFA	2,84 ± 0,05	3,89 ± 0,08	3,66 ± 0,10	3,11	3,44 ± 2,73	n.s.	n.s.	n.s.
Σ SFA	39,26 ± 3,00	48,45 ± 1,86	46,43 ± 1,86	39,79	57,41 ± 19,38	n.s.	n.s.	n.s.
16:1 (ω9+ω7)	5,72 ± 0,66	6,75 ± 0,22	6,06 ± 0,22	4,00	5,78 ± 2,59	n.s.	n.s.	n.s.
18:1 (ω9+ω7+ω5)	22,65 ± 0,83	28,66 ± 0,93	26,69 ± 0,81	18,91	28,66 ± 8,37	n.s.	n.s.	n.s.
Outros Mufa	2,48 ± 0,55	3,38 ± 0,42	3,12 ± 0,44	2,09	3,04 ± 0,52	n.s.	n.s.	n.s.
Σ Mufa	30,85 ± 2,04	38,79 ± 1,10	35,86 ± 1,32	25,00	37,48 ± 11,48	n.s.	n.s.	n.s.
18:2ω6 Linoleico	11,73 ± 3,37	18,67 ± 0,51	16,96 ± 0,64	7,28	11,27 ± 3,42	0,01	n.s.	0,00
18:3ω3	1,35 ± 0,26	1,94 ± 0,06	1,69 ± 0,10	1,70	2,28 ± 0,66	n.s.	n.s.	n.s.
20:4ω6 ARA	2,42 ± 0,16	3,59 ± 0,12	3,52 ± 0,14	3,06	4,11 ± 1,36	n.s.	n.s.	n.s.
20:5ω3 EPA	8,77 ± 0,70	10,87 ± 0,29	9,80 ± 0,48	8,12	11,59 ± 3,84	n.s.	n.s.	n.s.
22:6ω3 DHA	28,87 ± 1,03	39,11 ± 0,47	37,08 ± 1,42	33,22	45,30 ± 14,64	n.s.	n.s.	n.s.
Outros Pufa	9,07 ± 0,28	12,12 ± 0,10	11,23 ± 0,82	6,83 a	10,57 ± 1,90 b	0,01	n.s.	0,01
Σ PUFA	64,27 ± 1,66	89,04 ± 1,58	82,77 ± 3,69	62,16	87,87 ± 26,75	n.s.	n.s.	n.s.
Σ ω3	47,93 ± 1,63	63,88 ± 0,99	59,57 ± 2,86	49,13	68,55 ± 21,81	n.s.	n.s.	n.s.
Σ ω6	15,71 ± 3,42	24,45 ± 0,59	22,49 ± 0,79	12,29	17,84 ± 5,22	0,01	n.s.	0,01
Razão ω3/ω6	3,14 ± 0,78	2,61 ± 0,03	2,65 ± 0,04	4,00	3,83 ± 0,11	n.s.	0,04	0,00
SFA+Mufa+Pufa	134,37 ± 3,37	176,28 ± 4,35	165,06 ± 6,52	126,94	182,75 ± 57,59	n.s.	n.s.	n.s.

Tabela 16 (Ensaio “TFS”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas, à ecloração e à abertura da boca, de *Diplodus sargus* submetidos a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

À direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos, da ecloração e da abertura da boca, independentemente do tratamento (n.s. corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidónico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenóico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenóico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.

A. regius - Ensaio Temperatura (TQR)								
Tratamento	Pool Inicial	Ecloração		Abertura da boca		Ovos x Ecloração	Ovos x A. boca	Ecloração x A. boca
	Ovos	19 °C	22 °C	19 °C	22 °C	p-value	p-value	p-value
14:0	3,04 ± 0,07	4,00 ± 0,10 a	4,20 ± 0,00 b	2,00 ± 0,10	2,10 ± 0,10	0,00	0,00	0,00
16:0	32,81 ± 0,35	40,70 ± 1,10 a	42,50 ± 0,17 b	29,07 ± 1,16 a	31,13 ± 0,11 b	0,00	0,00	0,00
18:0	6,57 ± 0,07	8,60 ± 0,20 a	9,10 ± 0,00 b	8,87 ± 0,31 a	9,43 ± 0,42 b	0,00	0,00	n.s.
Outros SFA	4,94 ± 0,57	6,33 ± 0,31	6,90 ± 0,30	4,97 ± 0,42	5,37 ± 0,29	0,00	n.s.	0,00
Σ SFA	47,36 ± 0,79	59,63 ± 1,53 a	62,67 ± 0,06 b	44,93 ± 1,90 a	48,13 ± 1,76 b	0,00	n.s.	0,00
16:1 (ω9+ω7)	11,32 ± 0,14	15,07 ± 0,45 a	15,73 ± 0,06 b	9,10 ± 0,40	9,33 ± 0,38	0,00	0,00	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	30,58 ± 0,31	38,70 ± 1,15 a	40,60 ± 0,10 b	26,77 ± 1,05	28,07 ± 1,07	0,00	0,00	0,00
Outros Mufa	13,39 ± 0,59	18,17 ± 0,65 a	19,37 ± 0,21 b	11,77 ± 0,60	12,23 ± 0,83	0,00	0,01	0,00
Σ Mufa	55,29 ± 0,87	71,93 ± 2,25 a	75,67 ± 0,29 b	47,63 ± 2,05	49,60 ± 2,17	0,00	0,00	0,00
18:2ω6 Linoleico	14,26 ± 0,36	17,73 ± 0,55 a	18,60 ± 0,10 b	12,40 ± 0,50	12,67 ± 0,45	0,00	0,00	0,00
18:3ω3	1,22 ± 0,02	1,57 ± 0,06	1,60 ± 0,00	0,90 ± 0,00	0,87 ± 0,06	0,00	0,00	0,00
20:4ω6 ARA	3,03 ± 0,03	3,87 ± 0,12 a	4,13 ± 0,06 b	3,87 ± 0,12 a	4,13 ± 0,15 b	0,00	0,00	n.s.
20:5ω3 EPA	6,06 ± 0,02	7,57 ± 0,25 a	7,93 ± 0,06 b	5,27 ± 0,21	5,50 ± 0,20	0,00	0,00	0,00
22:6ω3 DHA	29,30 ± 0,28	36,80 ± 1,05 a	39,40 ± 0,79 b	32,50 ± 1,20 a	35,00 ± 2,16 b	0,00	0,00	0,00
Outros Pufa	7,30 ± 0,87	9,40 ± 0,60	9,80 ± 0,17	7,20 ± 0,36	7,53 ± 0,40	0,00	n.s.	0,00
Σ PUFA	61,16 ± 0,92	76,90 ± 2,55 a	81,40 ± 0,56 b	62,10 ± 2,41	65,77 ± 3,24	0,00	n.s.	0,00
Σ ω3	40,97 ± 0,21	51,70 ± 1,60 a	55,03 ± 0,59 b	43,13 ± 1,60 a	46,03 ± 2,61 b	0,00	0,01	0,00
Σ ω6	18,98 ± 0,50	23,80 ± 0,75 a	25,03 ± 0,15 b	18,13 ± 0,81	18,87 ± 0,67	0,00	n.s.	0,00
Razão ω3/ω6	2,16 ± 0,05	2,20 ± 0,00	2,20 ± 0,00	2,40 ± 0,00 a	2,47 ± 0,06 b	n.s.	0,00	0,00
SFA+Mufa+Pufa	163,82 ± 2,50	208,50 ± 6,36 a	219,73 ± 0,60 b	154,70 ± 6,36	163,50 ± 6,48	0,00	n.s.	0,00

Tabela 17 (Ensaio “TQR”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas, à ecloração e à abertura da boca, de *Argyrosomus regius* submetidos a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

À direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos, da ecloração e da abertura da boca, independentemente do tratamento (**n.s.** corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidónico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenóico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenóico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.

S. aurata - Ensaio Temperatura (TQA)				
	Pool Inicial	Eclosão		Ovos x Eclosão
Tratamento	Ovos	19 °C	22 °C	p-value
14:0	4,57 ± 0,25	6,13 ± 0,06	6,10 ± 0,20	0,00
16:0	29,77 ± 0,70	39,43 ± 0,29	39,63 ± 0,87	0,00
18:0	6,43 ± 0,15	8,87 ± 0,06	8,90 ± 0,17	0,00
Outros SFA	3,83 ± 0,06	5,33 ± 0,06	5,40 ± 0,10	0,00
Σ SFA	44,60 ± 1,15	59,80 ± 0,44	60,03 ± 1,23	0,00
16:1 (ω9+ω7)	8,80 ± 0,20	11,93 ± 0,12	11,83 ± 0,25	0,00
18:1 (ω9+ω7+ω5)	32,77 ± 0,67	44,17 ± 0,32	44,03 ± 0,91	0,00
Outros Mufa	8,10 ± 0,00	11,07 ± 0,12	11,10 ± 0,30	0,00
Σ Mufa	49,70 ± 0,85	67,17 ± 0,49	67,00 ± 1,51	0,00
18:2ω6 Linoleico	12,43 ± 0,25	16,93 ± 0,12	16,83 ± 0,45	0,00
18:3ω3	1,73 ± 0,06	2,30 ± 0,00	2,27 ± 0,06	0,00
20:4ω6 ARA	2,43 ± 0,06	3,33 ± 0,06	3,37 ± 0,12	0,00
20:5ω3 EPA	8,73 ± 0,06	11,53 ± 0,15	11,43 ± 0,51	0,00
22:6ω3 DHA	31,73 ± 0,15	42,30 ± 0,92	42,53 ± 1,90	0,00
Outros Pufa	6,00 ± 0,10	8,03 ± 0,06	8,10 ± 0,61	0,00
Σ PUFA	66,13 ± 0,59	88,60 ± 1,22	88,60 ± 3,74	0,00
Σ ω3	48,27 ± 0,29	64,33 ± 1,02	64,50 ± 3,01	0,00
Σ ω6	16,67 ± 0,31	22,70 ± 0,20	22,60 ± 0,78	0,00
Razão ω3/ω6	2,90 ± 0,00	2,83 ± 0,06	2,87 ± 0,06	n.s.
SFA+Mufa+Pufa	160,40 ± 2,52	215,57 ± 1,81	215,63 ± 6,47	0,00

Tabela 18 (Ensaio “TQA”): Análise descritiva da composição de ácidos gordos (mg/g) em ovos e larvas à eclosão, de *Sparus aurata* submetidos a diferentes temperaturas. Valores correspondentes à média ± desvio-padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos na mesma idade ($p < 0,05$).

A direita estão representados os resultados estatísticos da relação entre a média dos ácidos gordos dos ovos e larvas à eclosão, independentemente do tratamento (**n.s.** corresponde a $p > 0,05$). **SFA** – Ácidos gordos saturados. **Mufa** – Ácidos gordos monoinsaturados. **20:4ω6 ARA** – Ácido araquidónico. **20:5ω3 EPA** – Ácido eicosapentaenólico. **22:6ω3 DHA** – Ácido docosa-hexaenólico. **Pufa** – Ácidos gordos polinsaturados.