

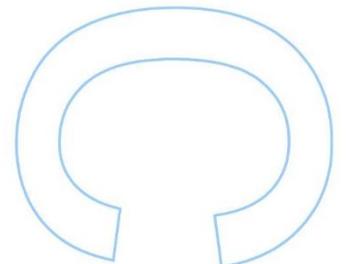
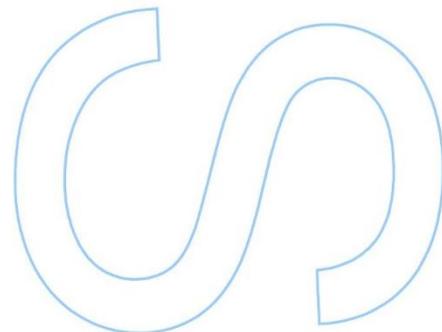
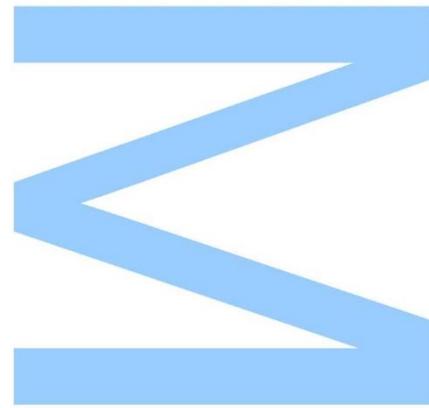
Estágio na Aquacultura Safiestela

**Efeito da manipulação do
fotoperíodo no crescimento e
utilização do alimento em juvenis
de linguado (*Solea senegalensis*)**

Inês Lourenço Cabral

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de
Ciências da Universidade do Porto em Recursos Biológicos
Aquáticos

2014





Estágio na Aquacultura Safiestela

**Efeito da manipulação do
fotoperíodo no crescimento e
utilização do alimento em juvenis
de linguado (*Solea senegalensis*)**

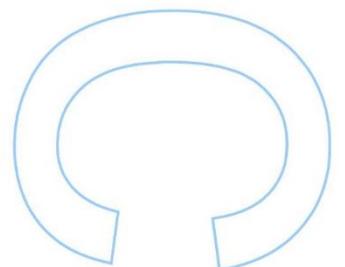
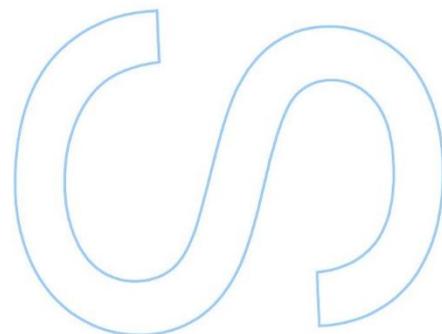
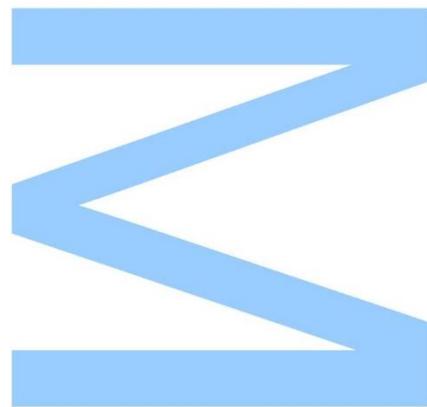
Inês Lourenço Cabral

Mestrado em Recursos Biológicos Aquáticos

Departamento de Biologia

2014

Orientador: Maria Helena Peres, Investigadora, CIIMAR

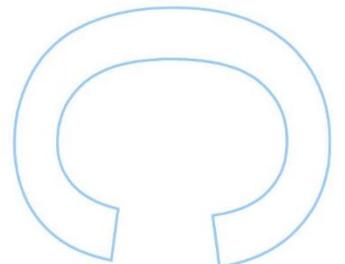
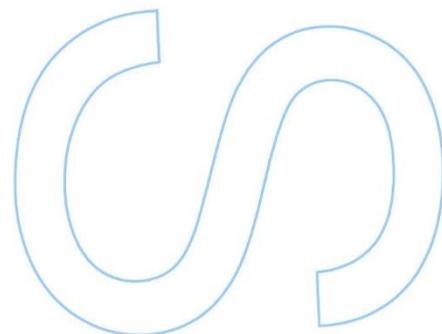
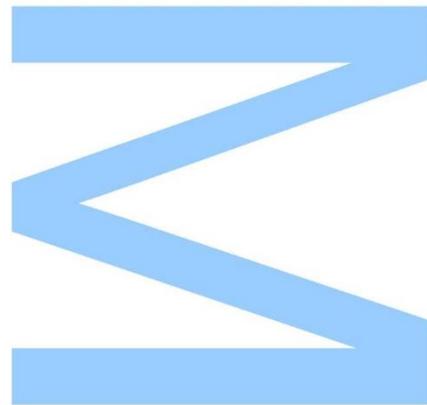




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Índice

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Índice de figuras | 1 |
| Índice de tabelas | 2 |
| Sumário | 3 |
| Abstract | 5 |
| I – Introdução | 7 |
| 1. Estado Global da Aquacultura | 7 |
| 2. Aquacultura em Portugal | 9 |
| 3. Sistema de Recirculação em Aquacultura (RAS) | 12 |
| 3.1 Remoção dos resíduos sólidos | 13 |
| 3.2 Azoto | 14 |
| 3.3 Oxigenação e Controlo do Dióxido de Carbono | 15 |
| 3.4 Sistemas de esterilização da água | 17 |
| 4. Biologia da Espécie: <i>Solea senegalensis</i> | 18 |
| III – Estágio na aquacultura (Sustainable Aqua Farming Investments Lda.) | 20 |
| 1. A Empresa | 20 |
| 2. Estrutura da Safiestela | 21 |
| 2.1 Reprodutores | 21 |
| 2.2 Sala de incubação | 23 |
| 2.3 Sala de cultivo larvar | 23 |
| 2.4 Sala de Rotíferos | 24 |
| 2.5 Sala de Artémia | 25 |
| 2.6 Sala de desmame | 26 |
| 2.7 Sala de Pré-engorda | 28 |
| III – Trabalho Experimental | 31 |
| 1 – Introdução | 31 |
| 2 – Material e Métodos | 34 |
| 2.1 Cálculos | 36 |
| 2.2 Análise dos dados | 36 |
| 3 – Resultados | 37 |
| 4 – Discussão | 39 |
| IV – Conclusão | 42 |
| Bibliografia | 43 |

Índice de figuras

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Capturas mundiais em pesca e produção mundial em aquacultura (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014)..... | 7 |
| Figura 2: 1) Oxidação da amónia em nitritos pela ação das bactérias Nitrosomonas; 2) Oxidação de Nitritos em Nitratos pela ação das bactérias Nitrobacter. | 15 |
| Figura 3: Processos necessários e componentes típicos em sistemas de recirculação numa aquacultura (Ebeling, et al.,1995)..... | 16 |
| Figura 4: Aspeto de <i>Solea senegalensis</i> (Kaup, 1858). Fotografia tirada por Marta Oliveira. | 18 |
| Figura 5: Aspeto de uma das salas de reprodutores e tanques. Fotografia tirada por Isidro Blanquet..... | 22 |
| Figura 6: Aspeto das larvas com 12 a 14 dias vistas ao microscópio numa ampliação de 10x. Fotografia tirada por Isidro Blanquet. | 23 |
| Figura 7: Rotífero (<i>Brachionus plicatilis</i>) visto ao microscópio numa ampliação de 10x. Fotografia tirada por Isidro Blanquet. | 25 |
| Figura 8: Aspeto de um náuplio de Artémia (<i>Artemia salina</i>) visto ao microscópio, com uma ampliação de 10x. Fotografia tirada por Luís Calisto. | 26 |
| Figura 9: Esquema de um <i>raceway</i> , pouco profundo. A) Esquema visto de cima, com um tubo de entrada perfurado e também rede, que limita a entrada dos peixes nesta zona, rede na parte da frente antes do tubo de saída; B) O mesmo sistema visto de lado, que se observa a altura da água (Imsland, et al., 2003)..... | 29 |
| Figura 10: Aspeto da pré-engorda, com tanques tipo “ <i>raceway</i> ” e iluminação desta área com luz azul. Fotografia tirada por Isidro Blanquet. | 30 |
| Figura 11: Evolução do peso médio individual (g) dos linguados dos grupos controlo e teste ao longo do período experimental. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos. | 38 |
| Figura 12: Índice de Crescimento Diário (média ± desvio padrão) do grupo controlo e grupo teste; não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre ambos os tratamentos ($p>0,05$). | 38 |
| Figura 13: Índice de Conversão Alimentar (média ± desvio padrão) do grupo controlo e grupo teste; não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre ambos os tratamentos ($p>0,05$). | 39 |

Índice de tabelas

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Produção aquícola (em quantidade e em percentagem) por regiões. Os dados excluem produção de plantas aquáticas e de produtos não alimentares (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014)..... | 8 |
| Tabela 2: Produção aquícola nacional em águas interiores e oceânicas por tipo de água e regime (Instituto Nacional de Estatística, 2012). | 10 |
| Tabela 3: Valor e quantidade total de produção em aquacultura em Portugal no ano de 2011 (Instituto Nacional de Estatística, IP, 2013)..... | 11 |
| Tabela 4: Manipulação das horas de luz e anoitecer no grupo teste. | 35 |
| Tabela 5: Crescimento, ingestão e utilização do alimento em juvenis de linguado dos grupos controlo e teste, durante 90 dias. | 37 |

Sumário

No âmbito da tese de mestrado, foi realizado um estágio que decorreu nas instalações da “Safiestela – Sustainable Aqua Farming Investments, Lda.”, localizada na Póvoa de Varzim e pertencente à multinacional, SEA8. Esta unidade de produção é a única maternidade de linguado senegalês (*Solea senegalensis*) existente em Portugal, abrangendo desde a fase de produção de ovos e larvas até à manutenção dos linguados, na unidade de pré-engorda, até serem transferidos para uma outra unidade de produção, da mesma empresa, e localizada na Torreira, onde decorre a fase de engorda.

Este estágio teve como principais objetivos a aquisição de conhecimento e experiência na produção e manejo de linguado e decorreu de 1 de outubro de 2013 a 31 de agosto de 2014. O trabalho de estágio envolveu a manutenção, manipulação e tratamento das diferentes fases de vida, desde o ovo até à fase juvenil, passando pela manutenção de alimento vivo fornecido às larvas de linguado. O estágio envolveu também a aprendizagem e aplicação de conhecimentos referentes ao controlo da qualidade da água, nomeadamente teor em oxigénio, temperatura, amónia, nitritos, entre outros. A constante monitorização da qualidade da água nas instalações é de vital importância para a produção, não só por se estar a lidar com fases de vida extremamente delicadas (ovos e larvas) e que podem sofrer grandes taxas de mortalidade, mas também por ser uma aquacultura que funciona, nas fases de desmame e pré-engorda, em regime de circuito de águas fechado, onde a água sofre vários tratamentos físicos, químicos e biológicos permitindo que seja de novo reutilizada.

Paralelamente a este estágio, foi proposto o desenvolvimento de um ensaio experimental nas mesmas instalações, na zona de pré-engorda. Este ensaio teve como objetivo avaliar o efeito da manipulação do fotoperíodo no crescimento e utilização do alimento em juvenis de linguado. A espécie *Solea senegalensis*, sendo uma espécie bentónica e com maior atividade noturna, poderá ter exigência de luminosidade específica, quer no que diz respeito à duração do ciclo diário de luz/escuridão, intensidade da luz e cor. Por exemplo pelo fato de ser bentónica, a cor do espectrofotómetro que mais penetra na água é a luz azul. Atualmente existe evidência crescente que as condições de luz a que os peixes são expostos podem influenciar não só o desenvolvimento da fase larvar, mas também da fase de juvenis.

Com este objetivo, foram estabelecidos os dois tratamentos, um mantendo as condições atuais da aquacultura e outro manipulando o fotoperíodo e intensidade de luz, ao longo do dia, de modo a mimetizar o que ocorre durante a primavera. O grupo controlo estava sujeito ao regime de iluminação recorrente na pré-engorda (quase total escuridão exceto durante a manutenção dos tanques), enquanto no grupo teste havia um controlo da iluminação e intensidade que começava com 4h de luz e aumento gradual até 12h de luz com algum tempo de lusco-fusco de modo a mimetizar o amanhecer e o anoitecer. O ensaio foi realizado em quatro tanques do tipo “*raceways*” de 1,63m×1,80m, em que foram colocados 500 peixes em cada tanque (33±1,8g). Durante o ensaio a temperatura foi mantida constante a 19±1°C e os linguados foram alimentados em contínuo durante 18 horas por dia, durante 90 dias. No final do ensaio de crescimento, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) no desempenho produtivo dos linguados, contudo observou-se um aumento de 13% do índice de crescimento diário (ICD) do grupo teste comparativamente com o grupo controlo. Relativamente à eficiência de utilização do alimento, a eficiência alimentar (EA) não foi significativamente diferente ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Com base nos resultados obtidos podemos concluir que a variação do fotoperíodo não afetou significativamente o crescimento ou a eficiência de utilização do alimento em juvenis de linguado. Contudo, observou-se um aumento de cerca de 13% destes parâmetros, quando os linguados foram expostos a um fotoperíodo similar ao da primavera, quando comparado com os linguados expostos a ciclos contínuos de 24 horas de escuridão.

Abstract

The master thesis took place at the “Safiestela – Sustainable Aqua Farming Investments Ltd.”, located in Póvoa de Varzim belonging to the multinational SEA8. This aquaculture unit is the only hatchery of Senegalese sole in Portugal producing eggs, larvae and juveniles which are transferred to another aquaculture unit, belonging to the same company, located in Torreira, covering the on-growing phase until fish reach the commercial size. This internship had as main objective the acquisition of knowledge and experience in the production and management of Senegalese sole and held from October 1, 2013 to August 31, 2014. This internship involved maintenance, handling and processing of different life stages, from egg to juvenile stage, through the maintenance of living food supplied to the larvae of *Solea senegalensis*. It was also important to strictly control the water quality parameters, like dissolved oxygen concentration, temperature, ammonia among other factors. Constant monitoring of water quality in the facilities is vital to the production not only because we are dealing with extremely delicate phases of life (eggs and larvae) that may suffer high mortality rates, but also for being an aquaculture that works under a closed recirculating water system during the weaning and pre-on-growing phases. The use of a closed recirculating water system requires several physical, chemical and biological water treatments which allow the maintenance of the water quality and its reuse.

Parallel to this internship, it was proposed the development of an experimental trial under commercial rearing conditions at the Safiestela aquaculture unit of production. The main objective of this trial was to evaluate the effect of photoperiod manipulation on growth and feed utilization in juvenile sole. This is a benthonic species, being more active during the night and so it may require specific artificial lighting conditions (daily cycle of light / dark, light intensity and color) to attain its maximum potential of growth. For example, being a benthonic species and due to the absorption spectrum of water Senegalese sole performed better under short wavelengths (blue and green) light. Besides, there are increasing scientific evidences that light conditions to which the fish are exposed may influence not only the development of the larval stages, but also juveniles.

For this purpose, the experimental trial consisted into two treatments: control group was exposed to the same lighting regime currently used in the pre-on-growing unit (almost total

darkness, except during daily management of tanks); and test group were exposed to an artificial controlled lighting regime, including duration of light/dark and light intensity along the daily cycle. At the beginning of the trial, test groups were exposed to 4h of light which was gradually increased up to 12h, mimicking dusk and dawn during spring. The trial was performed in four raceways of 1.63m×1.80m, with 500 fish per tank, with an average initial weight of 33g ± 1.8. During the trial water temperature was kept constant at 19±1° C and sole were fed continuously for 18 hours a day, for 90 days. Even though, at the end of the trial, growth performance was not significantly affected by the light condition treatments ($p > 0.05$), it was observed an increased up to 13% of daily growth index (DGI) of test group comparatively to the control group. No statistically significant differences ($p > 0.05$) were observed on efficiency of feed utilization.

Based on the obtained results it can be concluded that the photoperiod manipulation did not significantly affect growth performance or feed utilization efficiency in Senegalese sole juveniles. Even though it was observed an improvement up to 13% of these parameters when Senegalese sole was submitted to a spring photoperiod rather than of a continuous cycle of 24 hours of darkness.

I – Introdução

1. Estado Global da Aquacultura

A aquacultura é a produção de organismos aquáticos (peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios e plantas aquáticas), tanto em água doce como em água salgada. Esta atividade remonta há mais de 3500-4000 anos, no entanto, nas últimas décadas sofreu uma grande expansão. Em 2012, a produção total da aquacultura rondou os 66 milhões de toneladas (excluindo a produção de plantas aquáticas e de produtos não alimentares) (Figura 1) (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014), representando cerca de metade do peixe consumido pela população mundial. Estima-se que esta participação da aquacultura, no fornecimento de peixe para o consumo humano, aumente até aos 65%, até 2030 (Fisheries - European Commission, 2012).

Atualmente, a aquacultura é uma das mais importantes indústrias de produção de alimento de elevado teor nutritivo. Em todo o mundo, a aquacultura tem contribuído para o bem-estar das populações, representando uma importante fonte de riqueza e um meio de subsistência (FAO Fisheries and Aquaculture Department, 2012). Paralelamente, constitui uma alternativa às formas tradicionais de abastecimento de peixe para consumo, uma crescente preocupação face à atual estabilização das capturas na pesca e ao aumento da população mundial (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014).

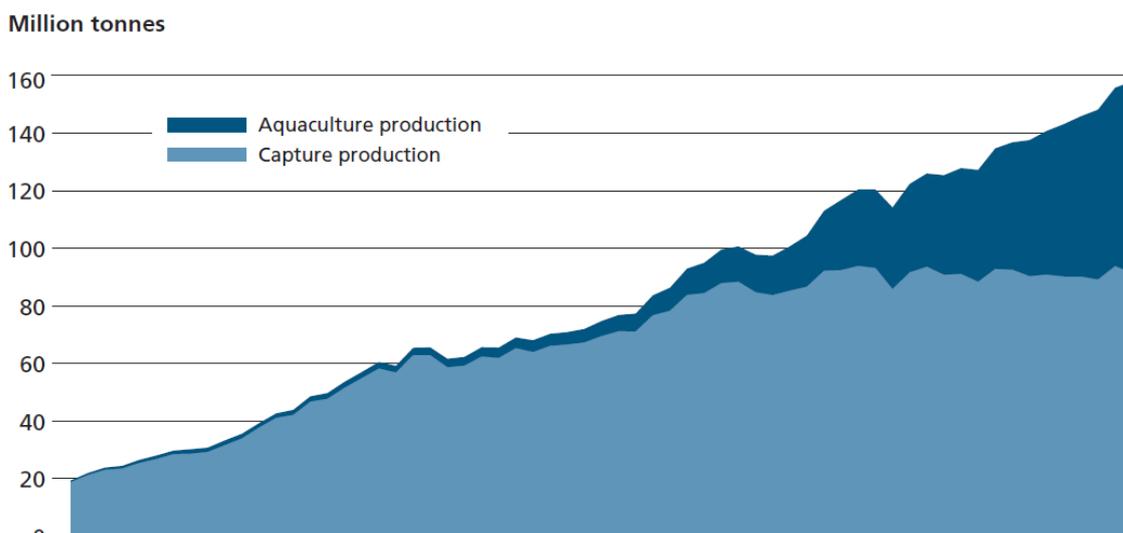


Figura 1: Capturas mundiais em pesca e produção mundial em aquacultura (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014).

São cerca de 600 as espécies criadas em cativeiro (estas incluem peixes, crustáceos e moluscos de águas marinhas e dulciaquícolas, anfíbios, répteis e invertebrados aquáticos), cuja produção varia na sua intensidade e sofisticação tecnológica, destinando-se quer ao consumo humano quer ao repovoamento dos stocks selvagens. A produção mundial é dominada pelos peixes (cerca de 63% do total), seguida pela produção de crustáceos (22,4%). (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014).

Tabela 1: Produção aquícola (em quantidade e em percentagem) por regiões. Os dados excluem produção de plantas aquáticas e de produtos não alimentares (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014).

| Selected groups and countries | | 1990 | 1995 | 2000 | 2005 | 2010 | 2012 |
|---------------------------------------------|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Africa | (tonnes) | 81 015 | 110 292 | 399 688 | 646 182 | 1 286 591 | 1 485 367 |
| | (percentage) | 0.62 | 0.45 | 1.23 | 1.46 | 2.18 | 2.23 |
| North Africa | (tonnes) | 63 831 | 75 316 | 343 986 | 545 217 | 928 530 | 1 030 675 |
| | (percentage) | 0.49 | 0.31 | 1.06 | 1.23 | 1.57 | 1.55 |
| Sub-Saharan Africa | (tonnes) | 17 184 | 34 976 | 55 702 | 100 965 | 358 062 | 454 691 |
| | (percentage) | 0.13 | 0.14 | 0.17 | 0.23 | 0.61 | 0.68 |
| Americas | (tonnes) | 548 479 | 919 571 | 1 423 433 | 2 176 740 | 2 581 089 | 3 187 319 |
| | (percentage) | 4.19 | 3.77 | 4.39 | 4.91 | 4.37 | 4.78 |
| Caribbean | (tonnes) | 12 169 | 28 260 | 39 704 | 29 790 | 37 301 | 28 736 |
| | (percentage) | 0.09 | 0.12 | 0.12 | 0.07 | 0.06 | 0.04 |
| Latin America | (tonnes) | 179 367 | 412 650 | 799 234 | 1 478 443 | 1 885 965 | 2 565 107 |
| | (percentage) | 1.37 | 1.69 | 2.47 | 3.34 | 3.19 | 3.85 |
| North America | (tonnes) | 356 943 | 478 661 | 584 495 | 668 507 | 657 823 | 593 476 |
| | (percentage) | 2.73 | 1.96 | 1.80 | 1.51 | 1.11 | 0.89 |
| Asia | (tonnes) | 10 801 531 | 21 677 062 | 28 420 611 | 39 185 417 | 52 436 025 | 58 895 736 |
| | (percentage) | 82.61 | 88.90 | 87.67 | 88.46 | 88.82 | 88.39 |
| China | (tonnes) | 6 482 402 | 15 855 653 | 21 522 095 | 28 120 690 | 36 734 215 | 41 108 306 |
| | (percentage) | 49.58 | 65.03 | 66.39 | 63.48 | 62.22 | 61.69 |
| Central and Western Asia | (tonnes) | 72 164 | 65 602 | 122 828 | 190 654 | 259 781 | 311 133 |
| | (percentage) | 0.55 | 0.27 | 0.38 | 0.43 | 0.44 | 0.47 |
| Southern and Eastern Asia (excluding China) | (tonnes) | 4 246 965 | 5 755 807 | 6 775 688 | 10 874 073 | 15 442 028 | 17 476 296 |
| | (percentage) | 32.48 | 23.61 | 20.90 | 24.55 | 26.16 | 26.23 |
| Europe | (tonnes) | 1 601 649 | 1 581 359 | 2 052 567 | 2 137 340 | 2 548 094 | 2 880 641 |
| | (percentage) | 12.25 | 6.49 | 6.33 | 4.83 | 4.32 | 4.32 |
| European Union (Member Organization) (28) | (tonnes) | 1 033 857 | 1 182 098 | 1 400 667 | 1 269 958 | 1 280 236 | 1 259 971 |
| | (percentage) | 7.91 | 4.85 | 4.32 | 2.87 | 2.17 | 1.89 |
| Other European countries | (tonnes) | 567 792 | 399 261 | 651 900 | 867 382 | 1 267 858 | 1 620 670 |
| | (percentage) | 4.34 | 1.64 | 2.01 | 1.96 | 2.15 | 2.43 |
| Oceania | (tonnes) | 42 005 | 94 238 | 121 482 | 151 466 | 185 617 | 184 191 |
| | (percentage) | 0.32 | 0.39 | 0.37 | 0.34 | 0.31 | 0.28 |
| World | (tonnes) | 13 074 679 | 24 382 522 | 32 417 781 | 44 297 145 | 59 037 416 | 66 633 253 |

Em termos de regiões produtoras e de produção, em 2012 a grande maioria das aquaculturas localizava-se na Ásia, seguida pela América e pela Europa (Tabela 1). Também nesse ano, a Ásia foi responsável por cerca de 88% da produção mundial em

aquacultura, liderada pela China, cuja produção somou cerca de 61,7% da aquacultura mundial. Já na Europa, a produção aquícola em 2012, foi de cerca de 2,8 milhões de toneladas (4,32% da produção mundial anual), sendo que a principal produção é a de salmão do Atlântico em jaulas, em ambiente marinho. Neste continente, os países que não pertencem à União Europeia dominam a produção, essencialmente a Noruega (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014).

Apesar de todos os avanços tecnológicos, a produção de organismos aquáticos é ainda vulnerável a numerosos impactos, quer sejam naturais, socioeconómicos, ambientais ou tecnológicos. Alguns exemplos são as grandes mortalidades dos animais, causadas por doenças, desastres naturais, ou ainda poluição da água (Food and Agricultural Organization of the United Nation, 2014).

2. Aquacultura em Portugal

O contributo da aquacultura nacional para o fornecimento de peixe para consumo humano é ainda relativamente baixo. Em Portugal, apenas 3% do peixe consumido provém da aquacultura, enquanto na Europa este valor aumenta até aos 50% (Fisheries - European Commission, 2012). Contudo, devido à sua localização geográfica, Portugal dispõe de ótimas condições para a produção em aquacultura (MADRP - Direção Geral das Pescas e Aquicultura, 2007), a qual, associada à estabilização das capturas da pesca pode atuar como um futuro impulsionador da produção aquícola em Portugal (Direção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos, 2013) (Tabela 2).

A aquacultura nacional iniciou-se com a produção de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) em 1965, e disseminou-se rapidamente com a produção de dourada (*Sparus aurata*) e robalo (*Dicentrarchus labrax*), chegando às 6693 toneladas, em 2009 (Kalkan & Canyurt, 2012) e às 9160 toneladas, em 2011. Deste total, cerca de 8051 toneladas foram produzidas em águas salgadas e salobras, incluindo tanto a produção de peixe (4056 toneladas), como a produção de moluscos (3545 toneladas). Em 2011, a produção dulciaquícola contribuiu com 12,1% para a produção aquícola total (Instituto Nacional de Estatística, 2012).

Em Portugal, a principal espécie produzida é a amêijoia boa (*Ruditapes decussatus*). De entre as cerca de 18 espécies marinhas produzidas em Portugal, o pregado (*Psetta maxima*), a dourada (*Sparus aurata*) e o robalo (*Dicentrarchus labrax*)

foram as espécies mais produzidas, em 2011 (Tabela 2) (Direção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos, 2013). Relativamente ao tipo de exploração, a produção em água doce é totalmente realizada em regime intensivo, enquanto em águas salobras e marinhas, 43,5% são produzidas em regime extensivo (essencialmente para a cultura de bivalves), 45,3% em regime intensivo e os restantes 11,2% provêm do regime semi-intensivo (Instituto Nacional de Estatística, 2012).

Tabela 2: Produção aquícola nacional em águas interiores e oceânicas por tipo de água e regime (Instituto Nacional de Estatística, 2012).

| Principais espécies | Águas doces, salobras e marinhas | | | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------------|------------|-----------|------------|-----------|------------|----------------|------------|
| | Total | | Extensivo | | Intensivo | | Semi-intensivo | |
| | t | 1000 Euros | t | 1000 Euros | t | 1000 Euros | t | 1000 Euros |
| 2010 Rv | 8 225 | 47 265 | 3 359 | 20 028 | 3 886 | 21 924 | 979 | 5 314 |
| 2011 | 9 166 | 58 279 | 3 504 | 29 024 | 4 763 | 23 776 | 899 | 5 478 |
| Águas doces | 1 115 | 2 597 | 0 | 0 | 1 115 | 2 597 | 0 | 0 |
| Truta arco-íris | 1 113 | 2 585 | 0 | 0 | 1 113 | 2 585 | 0 | 0 |
| Truta comum | 2 | 13 | 0 | 0 | 2 | 13 | 0 | 0 |
| Águas salobras e marinhas | 8 051 | 55 682 | 3 504 | 29 024 | 3 648 | 21 179 | 899 | 5 478 |
| Peixes | 4 506 | 26 744 | 21 | 118 | 3 586 | 21 148 | 899 | 5 478 |
| Corvina legítima | 15 | 95 | 0 | 0 | 15 | 95 | 0 | 0 |
| Dourada | 828 | 4 561 | 18 | 99 | 302 | 1 371 | 508 | 3 091 |
| Enguia europeia | 1 | 4 | e | 3 | 0 | e | e | 2 |
| Linguado legítimo | 4 | 49 | e | 4 | e | 5 | 3 | 39 |
| Linguados nep | e | e | e | e | 0 | 0 | e | e |
| Pregado | 3 197 | 19 294 | 0 | 0 | 3 197 | 19 294 | 0 | 0 |
| Robalo legítimo | 460 | 2 734 | 2 | 11 | 72 | 382 | 387 | 2 341 |
| Robalos nep | e | e | 0 | 0 | 0 | 0 | e | e |
| Sargo legítimo | e | 3 | e | e | 0 | 0 | e | 2 |
| Sargos nep | e | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | e | 2 |
| Tainhas | 1 | 2 | e | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Diversos | e | 1 | e | e | 0 | 0 | e | 1 |
| Moluscos e Crustáceos | 3 545 | 28 937 | 3 483 | 28 906 | 62 | 31 | e | e |
| Amêijoas (q) | 2 339 | 26 338 | 2 339 | 26 338 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Berbigão vulgar (q) | 89 | 61 | 89 | 61 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Camarinha (q) | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | e | e |
| Choco vulgar (q) | e | e | e | e | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Lambujinha | 3 | 6 | 3 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Longueirão | 1 | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Mexilhões nep | 250 | 117 | 187 | 86 | 62 | 31 | 0 | 0 |
| Ostra japonesa | 373 | 1 108 | 373 | 1 108 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ostra portuguesa | 106 | 253 | 106 | 253 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ostras nep (q) | 385 | 1 049 | 385 | 1 049 | 0 | 0 | 0 | 0 |

(q) Espécies de regime extensivo, produzidas em pisciculturas de tipo misto (extensivo e semi-intensivo) classificadas como semi-intensivas em função do regime de produção predominante.

Segundo os mais recentes dados estatísticos, do Instituto Nacional de Estatística (INE), em 2011 existiam cerca de 1475 estabelecimentos ativos, com uma produção anual de cerca de 9000 toneladas, que perfazem uma superfície ocupada de cerca de 1195 hectares (Tabela 3).

Tabela 3: Valor e quantidade total de produção em aquacultura em Portugal no ano de 2011 (Instituto Nacional de Estatística, IP, 2013).

| Período de referência dos dados | Localização geográfica (NUTS - 2002) | Produção dos estabelecimentos de aquicultura (€) por Localização geográfica (NUTS - 2002) | Produção dos estabelecimentos de aquicultura (t) por Localização geográfica (NUTS - 2002) |
|---------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2011 | Portugal | 58279 | 9166 |
| | Continente | 57601 | 8997 |
| | Região Autónoma dos Açores | 0 | 0 |
| | Região Autónoma da Madeira | 678 | 169 |

Em Portugal, as espécies de peixes marinhos com maior expressão na produção aquícola nacional são o robalo e a dourada e, mais recentemente, começou a produzir-se também pregado e linguado (Tabela 2). A reduzida diversidade de espécies produzidas e a forte competitividade do mercado externo, conduziu a um decréscimo na rentabilidade económica da produção de robalo e dourada, o que colocou em risco muitas explorações e levou inclusivamente, muitas a encerrar a atividade. Neste contexto, a produção de peixes planos, como o linguado (*Solea senegalensis*), de enorme valor comercial tem grande importância para a diversificação da aquacultura em Portugal e na Europa. A produção desta espécie intensificou-se nos últimos cinco anos em Portugal, apresentando um elevado potencial de crescimento face às excelentes condições em Portugal para a produção desta espécie de elevado valor económico. Foi neste contexto de expansão da produção, que a antiga piscicultura Rio Alto, atualmente Safiestela, reconverteu as suas instalações, anteriormente destinadas à produção de pregado, para a produção de linguado.

Conforme explícito na Tabela 2, em Portugal a atividade aquícola é realizada em diferentes regimes, extensivo, semi-intensivo e intensivo, de acordo com a sua capacidade produtiva e com o tipo de alimentação dos peixes. Na aquacultura de regime extensivo a alimentação é exclusivamente natural e a capacidade produtiva baixa; em regime semi-intensivo associa-se ao alimento natural suplementos de alimento artificial aumentando a capacidade produtiva para moderada; e em regime intensivo a alimentação é exclusivamente artificial e a capacidade produtiva elevada.

A empresa Safiestela é uma unidade intensiva de produção de linguado, que compreende uma unidade de reprodutores, maternidade e pré-engorda. A fase de pré-engorda decorre em sistema de recirculação de água fechado ou semifechado. Os sistemas de recirculação de água em aquacultura (RAS) apresentam inúmeras vantagens, nomeadamente ambientais, pois as trocas de água com o exterior são minimizadas. Estes sistemas são, no entanto, complexos e envolvem um controlo muito rigoroso da qualidade de água, por forma a garantir uma qualidade da água adequada para o crescimento dos peixes e seu bem-estar.

3. Sistema de Recirculação em Aquacultura (RAS)

Os sistemas de recirculação de água consistem na reutilização da água através de um prévio tratamento desta, tornando a aquacultura ambientalmente mais sustentável, com um gasto água de 90 a 99% menor do que numa aquacultura convencional, onde a água, após a sua circulação nos tanques, é descarregada nos efluentes muitas vezes sem qualquer tratamento prévio. Por outro lado, o RAS envolve processos de tratamento dos efluentes dos tanques, permitindo a sua reintrodução de novo no sistema de produção. Este tratamento de água envolve processos físicos, químicos e biológicos de modo a controlar a qualidade da água, que é continuamente tratada e reticulada.

O RAS surge como forma de colmatar grandes problemas para a expansão desta indústria, nomeadamente a questão da qualidade da água, à entrada e saída da aquacultura, e a falta de espaço adequado para a implementação das suas instalações. De fato, a diminuição do espaço, devido a competição para outros usos e interesses (Badiola, et al., 2012) e a falta de água com a qualidade adequada à produção aquícola, bem como a crescente preocupação com a carga poluente das pisciculturas e a segurança do produto/alimento produzido incentivou o desenvolvimento do sistema RAS (Zhang, et al., 2011). O recurso ao RAS pode ser a chave para a produção aquícola em grande escala, em relativo isolamento do meio ambiente circundante, o que o torna ecologicamente mais sustentável (Wik, et al., 2009).

Com a quase total recirculação da água, os sistemas RAS permitem um controlo estrito da qualidade da água na aquacultura, mas também dos seus afluentes. Desta forma, o RAS contribuiu para a otimização das condições de produção para a espécie

(controlo da temperatura da água, níveis de oxigénio, de dióxido de carbono, de compostos azotados solúveis); a redução substancial das descargas poluentes de matéria orgânica, que contribuem para a eutrofização das águas (principalmente descargas de azoto e de fósforo); redução de captação/ libertação de agentes infecciosos para o meio ambiente; redução das fugas dos organismos que poderiam eventualmente causar contaminação genética e ecológica dos *stocks* selvagens; conservação do calor gerado por bombas, aerificação, atividade dos organismos, entre outros (Wik, et al., 2009). Desta forma, apesar do elevado investimento inicial que é necessário para garantir uma ótima rentabilização da reutilização da água, este processo torna-se extremamente vantajoso em diferentes sentidos, principalmente em espécies de alto valor de mercado, tais como o linguado senegalês (*Solea senegalensis*), o pregado (*Psetta maxima*), o salmão (*Salmo salar*), entre outras espécies.

Os sistemas RAS são complexos e incluem diversos sistemas de modo a remover os resíduos sólidos, oxidação dos compostos azotados, oxigenação da água, aquecimento/arrefecimento da água.

3.1 Remoção dos resíduos sólidos

A água dos efluentes dos tanques contém diferentes constituintes que têm de ser removidos antes da sua reutilização nos sistemas de produção. Estes incluem matéria orgânica, dissolvida (DOM) ou particulada (POM), e nutrientes como azoto (N), a maioria na forma inorgânica e dissolvido na água e fósforo (P), muitas vezes associado a moléculas orgânicas (Piedrahita, 2003). Estes constituintes estão diretamente ligados à alimentação e à eficiência de utilização do alimento, resultando essencialmente do alimento não ingerido e das fezes. Os resíduos sólidos são constituídos principalmente por alimento não consumido pelos peixes, assim como por matéria fecal. A remoção dos sólidos faz-se principalmente pela captura e separação destes, o que garante a remoção da fração não solúvel de azoto e do fósforo (Piedrahita, 2003; Rijn, 2013).

Na maioria dos sistemas de recirculação de água, a remoção dos resíduos sólidos (por processos físicos) assim como a conversão da amónia em nitratos (por processos biológicos) são geralmente as principais etapas do tratamento da água dentro do ciclo de recirculação (Rijn, 2013).

Os resíduos sólidos são formados por sólidos que sedimentam rapidamente e por sólidos em suspensão. Os sólidos que sedimentam podem ser facilmente removidos

mediante a limpeza dos tanques de cultivo dos peixes, no entanto, os sólidos em suspensão envolvem uma filtração mecânica, como é o caso da filtração através de uma tela (por exemplo através de um rotofiltro ou tambor rotativo) ou filtração num meio granular, como é o caso dos filtros de areia (Ebeling, et al., 1995). Esta filtração da água dos efluentes dos tanques constituiu a primeira fase do ciclo de recirculação da água, e consiste na passagem da água pelo meio filtrante (areia ou tela), onde os resíduos ficam retidos, procedendo-se depois à remoção destes com regularidade de forma a garantir uma maior eficácia na remoção desta carga orgânica. No caso dos filtros de areia, o que se faz é um “backwash” da água, ou seja, faz-se passar água do efluente em sentido inverso ao normal, de modo a que a maior parte do particulado retido seja retirado. No entanto, a eficácia da sedimentação ou das tecnologias de filtração mecânica não é total, uma vez que os sólidos muito finos ou a matéria dissolvida não são eficazmente retirados. Para este tipo de resíduos, o que é mais comumente utilizado, é o fracionamento por espuma, mais conhecido como escumação ou “protein skimming”. Neste processo, a água dos efluentes dos tanques entra numa coluna, onde são introduzidas bolhas de ar em baixo, criando uma espuma no interface ar/água. As bolhas, ao subirem pela coluna de água “agarram-se” à matéria particulada, criando espuma, na parte mais acima deste sistema (Ebeling, et al., 1995).

3.2 Azoto

Para além dos resíduos sólidos, os nutrientes dissolvidos na água dos efluentes podem ser nefastos para os peixes, o que exige a sua remoção. O azoto dissolvido é excretado pelos peixes sobretudo sobre a forma de amónia e em menor quantidade na forma de ureia. Numa aquacultura, o controlo dos níveis de amónia no sistema de recirculação de água é de máxima importância, devendo ser removida dos tanques de cultura a uma taxa igual à taxa de produção, de modo a manter-se em concentrações seguras (Ebeling, et al., 1995). A amónia é altamente tóxica para os peixes e níveis elevados podem levar à morte dos mesmos (Rijn, 2013), mas o nitrato é um composto muito menos tóxico do que a amónia (Schuster & Stelz, 1998).

A amónia é nitrificada em nitrato com o nitrito como intermediário. Numa desnitrificação anóxica, as bactérias heterotróficas facultativas reduzem os nitratos e nitritos em azoto gasoso, através da captura de energia e eletrões da matéria orgânica

biodegradável (Wik, et al., 2009). Num ambiente aeróbio, as bactérias utilizam o oxigénio mais eficientemente para a oxidação da matéria orgânica (Wik, et al., 2009).

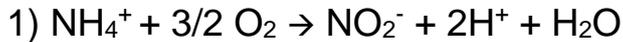


Figura 2: 1) Oxidação da amónia em nitritos pela ação das bactérias Nitrosomonas; 2) Oxidação de Nitritos em Nitratos pela ação das bactérias Nitrobacter.

Há diversas tecnologias para a remoção do azoto amoniacal da água e incluem, “air stripping”, troca de iões e filtração biológica, sendo esta última a mais comumente utilizada em aquacultura. Numa filtração biológica, ou biofiltração, é utilizado um substrato com uma grande área, normalmente “biobolas”, de modo a que as bactérias nitrificantes adiram a este material e o colonizem (Ebeling, et al., 1995), criando um biofilme nestes substratos. O processo de nitrificação exige um grande consumo de oxigénio e produção de dióxido de carbono com conseqüente acidificação da água. Devido à produção destes compostos (dióxido de carbono e iões H^+) vai haver uma redução gradual da concentração de oxigénio da água e do pH da água. É então necessário uma oxigenação constante da água, normalmente assegurado por via de aerificação, de modo a aumentar a concentração de oxigénio e eliminar o dióxido de carbono produzido, mantendo um bom nível destes gases tanto para os peixes como para o biofiltro.

3.3 Oxigenação e Controlo do Dióxido de Carbono

A oxigenação da água em aquacultura, particularmente em sistemas de recirculação, faz com que seja possível uma maior carga de peixes por tanque, uma vez que a concentração de oxigénio é um dos fatores limitantes para a capacidade do sistema. Por outro lado, devido à reutilização intensiva da água e à injeção de oxigénio puro, é também comum encontrar-se taxas elevadas de dióxido de carbono (Summerfelt, et al., 2000). É assim necessário um controlo efetivo dos níveis de dióxido de carbono através da aerificação, assim como o ajuste do pH da água.

A oxigenação da água é garantida pela aerificação constante da água nos tanques e no biofiltro ou mediante a introdução de oxigénio puro. A manutenção de níveis elevados de oxigénio na água pode contribuir para a redução dos custos de

produção de peixe, uma vez que tal como referido anteriormente, o sistema suporta maior concentração de peixe e maiores taxas de alimentação e reduz a taxa de renovação da água no sistema. Isto, por sua vez, vai reduzir os custos e a quantidade de água bombeada, reduzindo o custo da reutilização de água (Summerfelt, et al., 2000; Ebeling, et al., 1995).

Existem vários tipos de unidades de transferência de oxigénio para a água e podem ser dois tipos: tipo aberto ou tipo fechado. As unidades tipo aberto operam à pressão atmosférica e podem ser oxigenadores a múltiplos estágios de baixa pressão (multi-staged low head oxygenators, LHO™), colunas de enchimento e torres de pulverização. As unidades tipo fechado operam a pressão mais elevada que a pressão atmosférica e incluem sistemas com tubos em U, colunas seladas, cones de oxigénio, assim como aspiradores de oxigénio (Summerfelt, et al., 2000).

Quando ocorre injeção de oxigénio puro no sistema, surgem problemas como o aumento de dióxido de carbono que é normalmente removido pela aerificação da água. Assim, a não ser que haja uma diminuição deste gás, não deveria haver uma reutilização da água a não ser que passe por um sistema de “air-stripping”, adição de ar na água, ou a introdução de um químico para reduzir as concentrações deste composto (Summerfelt, et al., 2000). Para verificar se existem altas taxas de CO₂, e consequentemente um pH ácido faz-se testes colorimétricos com um indicador universal (Ebeling, et al., 1995).

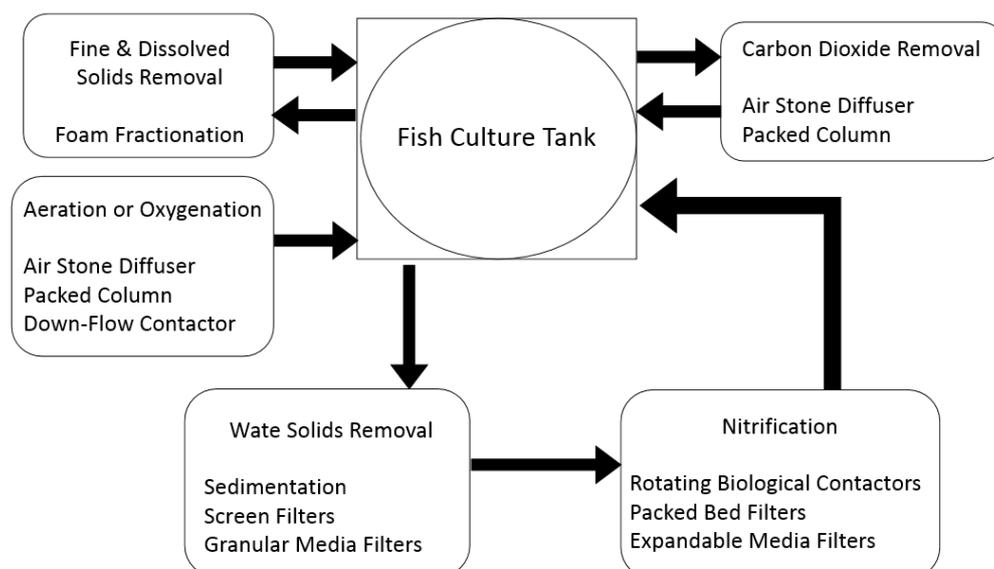


Figura 3: Processos necessários e componentes típicos em sistemas de recirculação numa aquacultura (Ebeling, et al., 1995).

3.4 Sistemas de esterilização da água

Existem dois principais sistemas de esterilização num Sistema de Recirculação de Água, o ozono ou a radiação de ultravioleta. A introdução de ozono num sistema de recirculação utiliza-se tanto para a desinfeção da água como para uma otimização da qualidade da água (Tango & Gagnon, 2003). Este sistema utiliza-se para inativar os agentes patogénicos dos peixes, oxidar os resíduos orgânicos e os nitritos, assim como para suplementar a eficácia de outras unidades de tratamento da água (Summerfelt S. T., 2003), ou seja, completa a oxidação dos nitritos, amónia ou as partículas finas em suspensão (Tango & Gagnon, 2003), afetando mesmo a cor da água (Martins, et al., 2010). A radiação ultravioleta (UV) é também muito utilizada em aquacultura, mas sobretudo para desinfeção (Summerfelt S. T., 2003).

Para a desinfeção da água com ozono, utiliza-se normalmente o método de descarga em coroa em que é utilizado o oxigénio puro como gás de alimentação, e este é transferido para a água. A quantidade de ozono utilizada na água é proporcional à quantidade de alimento fornecido de modo a manter uma ótima qualidade da água (Martins, et al., 2010). No entanto, a utilização em largas quantidades de ozono pode aumentar o nível de brometos na água. O brometo é um subproduto do ozono, que em elevadas concentrações pode ter várias consequências nos peixes, como por exemplo a nível genético (Tango & Gagnon, 2003).

A radiação UV pode ser usada para destruir os resíduos de ozono (catalisando a conversão de O_3 em O_2) e é utilizada principalmente, para desnaturar o ADN dos microrganismos, fazendo com que estes morram ou percam as suas funções. A destruição do ozono e a inativação dos microrganismos depende do comprimento de onda utilizado na luz U.V., dependendo da quantidade de energia transmitida à água (Summerfelt S. T., 2003). Num sistema de recirculação em que se utilize luz U.V., a água é forçada a passar por luzes com esta radiação, no entanto, a água deve sofrer um tratamento prévio para remoção da maior parte das partículas, e deve passar também em pequenas quantidades pelo sistema U.V. de modo a que o tratamento por este método seja mais eficaz.

4. Biologia da Espécie: *Solea senegalensis*

O linguado (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) é um peixe vulgarmente encontrado no Mediterrâneo e no Atlântico Sul (Dinis, et al., 1999) e distribui-se desde a baía de Biscaia até ao Senegal no Atlântico Sul (Arjona, et al., 2010). Pertence à classe Actinopterygii, ordem Pleuronectiformes, família Soleidae e género *solea*.

Esta espécie apresenta uma fisionomia oval, assimétrica, com ambos os olhos na parte direita. A barbatana dorsal, assim como a barbatana anal estão unidas com a barbatana caudal (Nelson, 2006). A face onde se encontram os olhos, apresenta uma cor castanha-acinzentada, com manchas azuladas, enquanto a face posterior apresenta uma coloração clara, quase branca (Castelo Branco & Ramos, 1998). É uma espécie marinha bentónica, que vive habitualmente em fundos de areia ou lama até aos 100 metros de profundidade. É uma espécie dioica, muito parecida com a solha comum (*Solea vulgaris*) e pode atingir um comprimento total de 32 cm (Dinis, et al., 1999). A época natural de desova é anual e ocorre na primavera, entre março/abril e junho (Dinis, et al., 1999), em águas costeiras (Castelo Branco, 2003). A média de oócitos produzidos por indivíduo é de cerca de 509 por grama (Dinis, et al., 1999). No meio natural, alimenta-se sobretudo de poliquetas (principalmente a espécie *Hediste diversicolor*), podendo ainda alimentar-se de anfípodes, copépodes ou isópodes (Dinis, et al., 1999).



Figura 4: Aspeto de *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). Fotografia tirada por Marta Oliveira.

Esta espécie pode ser facilmente produzida em regime extensivo, alimentando-se da produção natural do meio (Castelo Branco & Ramos, 1998), em tanques de terra

(Castelo Branco, 2003) ou em antigas salinas (Castelo Branco & Ramos, 1998), aguentando altos níveis de salinidade (Arjona, et al., 2010). Esta espécie pode ser produzida em regime de policultura conjuntamente com outras espécies como a dourada (*Sparus aurata*) (Dinis, et al., 1999).

Apesar da facilidade de produção em regime extensivo, em relação ao regime intensivo, a produção torna-se mais complicada, uma vez que é necessário capturar os reprodutores em meio natural. Estes têm de ser capturados fora da época da desova, nomeadamente entre julho e dezembro, uma vez durante o período de desova as fêmeas têm poucas probabilidades de sobrevivência ou podem, eventualmente, reabsorver as gónadas (Dinis, et al., 1999).

À semelhança de outras espécies de água salgada, um dos constrangimentos à produção de linguado centra-se na fase larvar, especialmente aquando a metamorfose ou a passagem do alimento vivo para alimento inerte, que provoca grandes mortalidades (Cañavate & Fernández-Díaz, 1999). Contudo, a produção de linguado está, também, fortemente condicionada pela sua elevada sensibilidade a diferentes agentes de *stress* e a doenças infecciosas, que resultam em perdas económicas para a piscicultura. No que se refere às infeções, as principais que ocorrem no linguado são a pasteurelose, provocada pela *Photobacterium damsela* ssp *piscicida*, e a vibriose, provocada por várias espécies do género *Vibrio*, principalmente a *Listonella anguillarum* e a flexibacteriose, provocada por *Tenacibaculum maritimum* (Howell, et al., 2006).

Apesar destes contras à produção do linguado, esta torna-se economicamente muito competitiva, dado o seu alto valor comercial, podendo ser três vezes superior ao valor do robalo ou da dourada, espécies estas já recorrentemente cultivadas em aquacultura.

III – Estágio na aquacultura (Sustainable Aqua Farming Investments Lda.)

1. A Empresa

A Safiestela é uma empresa de produção intensiva de peixe em água salgada, sediada no Lugar do Rio Alto, pertencente ao concelho da Póvoa de Varzim. A Safiestela, conjuntamente com a Aquacria Piscícolas, S.A., localizada na Torreira, pertencem ao grupo espanhol Sea8. Aquando do início desta empresa, o pregado (*Psetta maxima*) era o peixe produzido, apenas na fase de engorda, onde os juvenis eram comprados a Espanha. No entanto, devido à criação da Acuinova, empresa pertencente ao grupo PESCANOVA com cerca de 206 hectares, também esta produtora de pregado, veio trazer uma concorrência impossível de superar a empresas mais pequenas.

Por este motivo, a estratégia de expansão desta empresa passou pela requalificação das instalações, passando a produzir linguado senegalês (*Solea senegalensis*). O objetivo do grupo Sea8 é a produção em massa de juvenis na sua unidade da Safiestela, Póvoa de Varzim, seguida da fase de engorda nas instalações da unidade Aquacria, Torreira. A produção iniciar-se-á na Safiestela, onde será feita a reprodução, a manutenção das larvas até à fase de pré-engorda que, seguidamente serão transportados para a Aquacria, onde se irá fazer a engorda dos indivíduos. Apesar de este grupo ter iniciado a sua produção há dois anos, o enorme investimento na modernização e requalificação da unidade da Safiestela, colocam-na na vanguarda da aquacultura em Portugal. É de prever, que num curto espaço de tempo esta empresa passe a ser a número um na produção de linguado da Península Ibérica. O domínio completo de todo o ciclo produtivo do linguado dará uma enorme vantagem económica e competitiva a esta empresa.

Na Safiestela, a produção de ovos, a partir de reprodutores selvagens, faz-se durante todo o ano, mediante a regulação da temperatura e fotoperíodo, assegurando uma produção de linguado em contínuo. A produção das larvas faz-se em regime de águas aberto, enquanto na fase de pré-engorda, a produção de linguado faz-se em raceways, dispostos verticalmente, em regime fechado de recirculação de água, o que permite um controlo muito rigoroso da qualidade físico-química e bacteriológica da água.

2. Estrutura da Safiestela

A empresa Safiestela está organizada em diferentes partes que distinguem as diversas fases de produção da espécie, nomeadamente, reprodutores, sala de incubação, sala de desenvolvimento larvar, sala de cultivo de rotíferos, sala de cultivo de artémia, zona de desmame e, finalmente zona de pré-engorda.

2.1 Reprodutores

Apenas os linguados capturados no meio selvagem conseguem levar a sua reprodução até ao fim, uma vez que, indivíduos criados em cativeiro e mesmo descendentes de peixes selvagens criados em cativeiro têm a sua reprodução comprometida, sendo que poderá haver libertação de ovos, mas estes não são viáveis porque não estão fertilizados (Guzmán, et al., 2008).

Os linguados são apanhados entre desovas, apesar de nesta altura ser difícil a identificação dos sexos e são mantidos em baixas densidades, ou seja, entre 1-1,5 kg/m². Esta empresa é a única em Portugal com maternidade de linguado, sendo assim autossuficiente na medida em que consegue obter ovos em qualquer altura e, sendo portanto a base de toda a empresa.

Os reprodutores são mantidos em grupos de tanques que são divididos por estações do ano, conseguindo desta forma que a produção de ovos seja regular durante todo o ano (Figura 5).

Em relação à produção de gâmetas, no que se refere aos machos, observa-se a produção de esperma durante todo o ano, em condições naturais, embora haja uma maior produção na primavera, indicando uma contribuição das fêmeas na espermiacção; nestas, o maior desenvolvimento dos ovários verifica-se entre outubro e maio (Anguis & Cañavate, 2005; Cabrita, et al., 2011) no meio natural.

Cada sala corresponde a uma estação do ano e possui três a quatro tanques compostos por reprodutores em que o número de machos é normalmente superior ao das fêmeas. A manipulação de cada estação envolve condições como fotoperíodo, temperatura da água e alimentação.

A todos os reprodutores é colocado um chip, que os identifica por sexo e com um número específico. Cada indivíduo passa primeiramente por tanques de quarentena, onde são recolhidas amostras de sangue, que visam o rastreio de diversas doenças quer bacterianas quer víricas.

Em cada tanque está acoplado um coletor de ovos, que recolhe os ovos da água por filtração da água da saída dos tanques e que é depois encaminhado para o sistema

de recirculação. Os coletores possuem uma malha de 400 μm , uma vez que os ovos têm dimensão de cerca de 800 μm . Os ovos, quando recolhidos são pesados e é testada a sua viabilidade: os ovos que flutuam são viáveis a uma salinidade entre 30 e 35‰. A alimentação fornecida aos reprodutores é composta essencialmente por alimento seco, exceto quando se pretende que os indivíduos madurem, que neste caso é-lhes fornecido ou poliquetas (*Hediste diversicolor*) ou mexilhão (*Mytilus edulis*).



Figura 5: Aspeto de uma das salas de reprodutores e tanques. Fotografia tirada por Isidro Blanquet.

As rotinas diárias na zona dos reprodutores envolvem desde a preparação do alimento seco e o seu fornecimento, a limpeza dos tanques, a lavagem e desinfeção do chão, recolha de água para posterior análise, controlo de oxigénio e da temperatura em cada um dos tanques, limpeza dos filtros de areia por “backwash” – este processo faz-se pela inversão do trajeto regular da água nestes filtros de modo a remover as partículas retidas, que vão para o esgoto e para a descompactação da areia. São também verificadas as bombas que transportam a água para o sistema, os filtros de UV (visam a desinfeção da água para eliminar microrganismos presentes na água e potencialmente patogénicos) e verificação dos permutadores de calor, quer de aquecimento, quer de arrefecimento da água.

2.2 Sala de incubação

Após a recolha dos ovos e o teste de viabilidade, os ovos são colocados em tanques cilíndricos, com coluna de água de cerca de 1,5 m e com uma temperatura que deverá ser equivalente à do tanque proveniente de forma a evitar choques térmicos. Os ovos demoram cerca de dois dias a eclodir, altura em que as larvas são transferidas para a sala de larvas e faz-se uma estimativa do número de larvas. Estas são transferidas por sifonagem.

2.3 Sala de cultivo larvar

Esta fase é uma das mais sensíveis uma vez que as larvas são altamente sensíveis quer a alterações de oxigénio e temperatura, luminosidade, alimentação e a agentes patogénicos. As larvas (Figura 2) são mantidas em tanques cilindro-cónicos, que podem conter quase 100000 larvas e que ocupam toda a coluna de água. Após a metamorfose, estas “sedimentam” no fundo, altura em que apresentam já o habitual comportamento de peixe bentónico; nesta fase são transferidas para um diferente sistema. A temperatura deverá rondar os 18 a 20°C e os níveis de saturação de oxigénio na água deverão estar entre os 90 e os 100%.



Figura 6: Aspeto das larvas com 12 a 14 dias vistas ao microscópio numa ampliação de 10x. Fotografia tirada por Isidro Blanquet.

A alimentação durante a fase larvar é extremamente importante, uma vez que uma alimentação inadequada pode levar a deformações esqueléticas, à despigmentação, a uma maior incidência de doenças e mesmo à morte. São alimentadas inicialmente com *Brachionus plicatilis*, durante 3 a 5 dias após a eclosão e ao 4º dia é fornecido também *Artemia salina* (Imsland, et al., 2003). Quando estão num bom estado nutricional, poderão chegar aos 8 mm 15 dias após a eclosão (Dinis, et al., 1999). Nesta fase, as larvas são alimentadas normalmente 2 a 4 vezes por dia, podendo ser realimentadas 2 horas após a primeira alimentação (Ronnestad & Conceição, 2012).

As atividades diárias nesta zona envolvem a manutenção da qualidade ótima da água (através da monitorização do pH, oxigénio, temperatura, cloro, amónia e nitritos). Deve-se também proceder à limpeza dos tanques e à remoção dos mortos que podem alterar as condições da água. Durante esta fase, as larvas são mantidas em sistema aberto de água. O tratamento da água proveniente do mar incluiu tratamento de desinfecção, por radiação ultravioleta e ozono (este é ótimo na eliminação de vírus e bactérias da água, assim como reduz o paladar e o odor da água); a água passa também por uma filtração mecânica, quer por filtros de areia, de cartucho (água passa por folhas de malha extremamente fina de cartão de forma a que o particulado fino em suspensão fique retido) e também por filtros biológicos (biofiltro).

Após a metamorfose, a fase pós-larvar é transferida para novos tanques, quadrangulares e, sendo peixes bentónicos, já não necessitam de grande coluna de água, e, sendo assim, estes tanques têm uma altura de água de cerca de 20 cm. Estes tanques estão já inseridos na sala designada de “Desmame”. A metamorfose (início da migração do olho) inicia-se 11 dias após a eclosão, quando as larvas têm cerca de 4,1 mm, e está completa no 19º dia, quando os indivíduos têm um comprimento médio de $7,3 \pm 0,8$ mm (Imsland, et al., 2003).

As principais alterações que se verificam nas larvas com a metamorfose são a migração do olho da esquerda para a parte direita e torção dos órgãos internos durante a migração do olho (Imsland, et al., 2003).

2.4 Sala de Rotíferos

A espécie utilizada (*Brachionus plicatilis*) está presente em toda a coluna de água para que seja mais fácil as larvas de linguado alimentarem-se destes. Os rotíferos são o primeiro alimento das larvas. Estes são mantidos em tanques cilíndricos, num

processo de produção contínuo. São mantidos a uma temperatura de cerca de 28°C, a uma salinidade de 24‰ e com taxa de saturação de oxigénio de 80%.



Figura 7: Rotífero (*Brachionus plicatilis*) visto ao microscópio numa ampliação de 10x. Fotografia tirada por Isidro Blanquet.

São alimentados várias vezes por dia com um preparado de algas e leveduras. Antes do fornecimento deste alimento vivo às larvas, os rotíferos têm que ser enriquecidos na noite anterior, alimentando-se nesta altura com um suplemento rico em ácidos gordos.

As rotinas diárias prendem-se com o controlo de oxigénio de quatro em quatro horas, limpeza dos tanques, lavagem do chão, contagens diárias para verificar o aumento do efetivo da população – para isto, os silos são filtrados quando os rotíferos têm 3 dias de idade, iniciando-se assim um novo ciclo.

2.5 Sala de Artémia

Como estes organismos são ricos em proteínas, vitaminas e sais minerais, são um ótimo alimento para as larvas de linguado. Para além disso, sendo organismos filtradores que vivem na coluna de água, tornam-se ótimos para a alimentação das larvas. Para potenciar o crescimento do estado larvar de linguado, a artémia passa por uma fase de enriquecimento, através de um suplemento alimentar rico em ácidos

gordos. Este processo de enriquecimento designa-se de bioencapsulação (Ferreira, 2009).

Os silos de artémia são mantidos a uma temperatura de cerca de 28°C, salinidade de 30 a 35‰ e taxa de saturação de oxigénio de 80%. O pH da água está normalmente a cerca de 8, para o controlo deste parâmetro adiciona-se uma base forte nomeadamente o hidróxido de sódio (NaOH), ou seja, soda cáustica, uma vez que o pH tem tendência a baixar ao longo do processo. Para a produção da artémia, colocam-se a eclodir o peso necessário (calculado pelos milhões de artémia), dependendo do número de larvas que se quer alimentar. Após 18 a 24h da eclosão efetua-se uma primeira filtração para separar os cistos que não eclodiram e as cápsulas vazias. Efetuam-se contagens para saber qual o número da população.



Figura 8:Aspeto de um náuplio de Artémia (*Artemia salina*) visto ao microscópio, com uma ampliação de 10x. Fotografia tirada por Luís Calisto.

As rotinas diárias passam pela medição do oxigénio, de quatro em quatro horas, controlo do pH e se necessário adiciona-se a soda de seis em seis horas, limpeza dos tanques e lavagem e desinfeção do chão e pedilúvios.

2.6 Sala de desmame

A fase de desmame ocorre após a passagem das larvas para a sua aparência bentónica por volta dos 17 a 20 dias após a eclosão, sendo estas transferidas da sala

com tanques cilindro-cónicos para tanques quadrados com pouca profundidade. Esta fase é assim designada uma vez que é nesta fase em que há a transição de alimento vivo para alimento inerte, ou seja, a ração. É uma fase crítica que pode apresentar grandes taxas de mortalidade, devido a este mesmo fator, uma vez que nem todos os peixes são capazes de se adaptar ao alimento inerte. Nesta fase, os indivíduos são já designados de juvenis, precisamente aquando desta transição de alimento, deixando assim de se designar larvas.

Nesta fase há um controlo diário e regular de vários parâmetros: a temperatura é registada de quatro em quatro horas e deverá estar entre os 18,5 e os 20°C; a salinidade também é medida todos os dias por um refratómetro e deverá estar entre os 30 e os 35‰. Este parâmetro é importante uma vez que pode variar com a altura do ano. A amónia e os nitritos são também analisados todos os dias, sendo muito importante, uma vez que varia essencialmente com a quantidade de alimento ingerido e eficiência do biofiltro do sistema. As medições destes compostos são feitas por métodos colorimétricos por espectrofotometria. Em relação à amónia, o método utilizado é o “Método Salicilato”, que utiliza comprimento de onda (λ) de 655 nm, utilizando-se os reagentes salicilato de amónia e cianurato de amónia; em relação aos nitritos, faz-se pelo “método diazótico” com um comprimento de onda de 507 nm, usando-se o reagente *Nitriver 3*. Os níveis de amónia são muito importantes na zona de desmame, uma vez que o circuito da água é semifechado com uma renovação de água de 5% ao dia. Quando a amónia se encontra a altas concentrações procede-se à renovação da água deste circuito, assim como do biofiltro.

O valor do redox (potencial de oxidação-redução) é também controlado através de uma sonda assim como o oxigénio, que deve estar a uma taxa de saturação na entrada de água de cada tanque de cerca de 150%, medindo-se de quatro em quatro horas. Esta alta concentração serve para compensar as flutuações diárias de oxigénio devido a fatores como a alimentação, temperatura, etc..

Em relação à alimentação, após a transferência para os tanques quadrados, numa primeira fase são ainda alimentadas com artémia enriquecida, sendo depois alimentadas apenas com ração. A ração é quantificada (quantidade e tamanho do grão) para cada tanque dependendo da densidade de cada tanque, do aumento de peso e do peso médio de cada tanque, obtidos semanalmente. Desta forma, ajusta-se continuamente a quantidade de alimento a fornecer a cada tanque, calculando-se o respetivo índice de conversão alimentar (ICA). O fornecimento da ração é feito à mão na fase de larvas e pré-juvenis, enquanto nos juvenis esta é feita por alimentador

automático temporizado tipo hélice, complementando com a alimentação à mão (antes a alimentação era feita à mão e com alimentador de correia).

O linguado cresce (peso e tamanho) de maneira muito diferente mesmo nos mesmos tanques e com a mesma idade. Assim, com o objetivo de homogeneizar as populações dentro de cada tanque, são feitas triagens periódicas nos tanques do mesmo lote (mesma idade). Esta técnica tem várias vantagens, uma vez que desta forma o peixe é analisado com muito mais pormenor, identificando indivíduos com deformações ou patologias, resultando numa população homogénea que promove uma menor competição pelo alimento. Os tanques à medida que são triados vão sendo lavados e desinfetados. Para a triagem são utilizadas cestas em que o tamanho da malha corresponde ao tamanho do peixe que se quer triar (e conseqüentemente separar), sendo que o peixe mais pequeno consegue passar por entre a malha da cesta e o maior fica aí retido, sendo rapidamente transportado para um novo taque.

As rotinas diárias nesta sala passam pela limpeza dos tanques, incluindo os tubos de entrada e saída de água; lavagem e desinfecção do chão; recolha de água para análise, medição dos níveis de oxigénio e temperatura; alimentação do peixe; manutenção das tinas de desinfecção do material e lavagem e enchimento dos pedilúvios.

Outras tarefas são também necessárias sendo efetuadas com periodicidade variável ou no fim ou início de cada dia, estas tarefas envolvem o “backwash” dos filtros de areia, preparação do alimento que vai ser fornecido à mão e verificação dos silos do alimentador; verificação do nível da água no “skimmer”, verificação dos pré-filtros das bombas, assim como a verificação destas; verificação dos filtros de UV, verificação dos filtros de cartucho, verificação dos biofiltros e dos permutadores de calor e verificação do nível do depósito de oxigénio.

2.7 Sala de Pré-engorda

Quando os indivíduos atingem cerca de 1 grama e depois de triados, são transferidos para a zona de pré-engorda, até por volta das 40 gramas, altura em que são transportados para a Aquacria, situada em Aveiro para a fase de engorda. Nesta fase, os peixes são mantidos em “raceways” de 12m (Figura 9). A alimentação é fornecida várias vezes ao longo do dia e da noite, sendo calculada de acordo com a

densidade do tanque, o ganho de peso e os pesos médios do linguado de cada tanque. O tamanho do grão vai também depender do peso médio do peixe. Há assim um contínuo ajustamento da quantidade de alimento a fornecer de modo a minimizar o desperdício de ração. Na fase de pré-engorda, a alimentação era feita, até há pouco tempo, à mão, sendo agora utilizado alimentador automático temporizado tipo hélice.

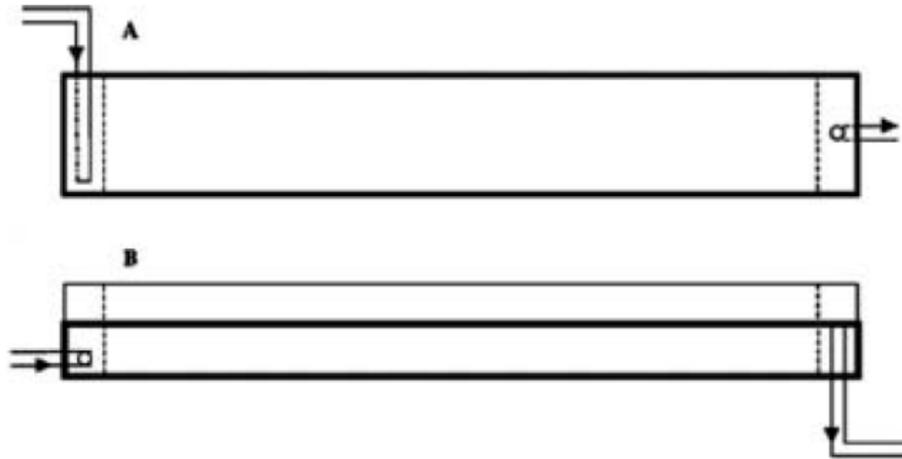


Figura 9: Esquema de um *raceway*, pouco profundo. A) Esquema visto de cima, com um tubo de entrada perfurado e também rede, que limita a entrada dos peixes nesta zona, rede na parte da frente antes do tubo de saída; B) O mesmo sistema visto de lado, que se observa a altura da água (Imslund, et al., 2003).

Todos os dias são controlados vários parâmetros, como a temperatura, medida regularmente ao longo do dia; o oxigénio, também controlado ao longo do dia, em todos os tanques; salinidade, que deve estar entre os 30 e os 35‰; são feitas análises à água para quantificar os níveis de nitritos, amónia, potencial redox, pH, entre outros. Os juvenis são mantidos com níveis baixos de luminosidade, com uma luz de cor azul, uma vez que, como são animais que vivem no fundo, esta é a cor do espectrofotómetro que prevalece, sendo que nas instalações, esta luz causa menos *stress* ao peixe.

Para que o peixe se mantenha com um tamanho uniforme, e como esta espécie pode ter tamanhos muito variáveis mesmo entre indivíduos da mesma idade são efetuadas pelo menos duas triagens em cada lote, sendo também importante para a verificação de doenças ou deformidades nos peixes. Esta triagem era feita inicialmente à mão numa mesa de triagem própria para o efeito e a separação do peixe dependia do peso médio e análise da dispersão no tanque. A triagem é agora realizada numa máquina desenhada especialmente para a Safiestela, que divide o peixe, dependendo

das análises de dispersão calculadas para cada tanque. Esta máquina tem muitas mais vantagens, uma vez que exige menos mão-de-obra, é mais rápida do que a triagem feita à mão e muito mais eficaz, verificando-se muito menos erros aquando da separação do peixe.

As rotinas diárias feitas numa unidade de pré-engorda envolvem a limpeza dos tanques, que inclui a escovagem dos fundos, das marcas de água e ainda da zona de entrada de água para o tanque e de saída de água, a lavagem e desinfeção do chão e dos pedilúvios, medição dos vários parâmetros e manutenção das tinas de desinfeção do material. Para além disto, o equipamento e as várias fases do sistema de recirculação da água, assim como as sondas de medição dos variados parâmetros de controlo da qualidade da água devem ser monitorizados diariamente, existindo protocolos a seguir para o efeito.



Figura 10: Aspeto da pré-engorda, com tanques tipo “raceway” e iluminação desta área com luz azul. Fotografia tirada por Isidro Blanquet.

III – Trabalho Experimental

Efeito da manipulação do fotoperíodo no crescimento e utilização do alimento em juvenis de linguado (*Solea senegalensis*)

1 – Introdução

Durante o estágio na Safiestela surgiu a oportunidade de realizar um ensaio experimental no âmbito do “Maximus Project”, este projeto visa melhorar as condições de cultura e abate de linguado e de pregado e desta forma promover o bem-estar destas espécies em aquacultura.

Os peixes, como organismos aquáticos e poiquilotérmicos, são dependentes de vários fatores abióticos externos, como por exemplo a temperatura, pH, concentração de oxigénio dissolvido, substâncias tóxicas que ocorrem naturalmente na água, como a amónia, assim como, na maior parte das espécies, a luz. Este fator abiótico é um dos que poderá ter uma maior influência no comportamento alimentar dos peixes, quer seja devido à sua intensidade, espetro de cor e variações diárias e sazonais do comprimento do dia (fotoperíodo) (Houlihan, 2001). Outra particularidade do comportamento da luz é que na água, os diferentes raios de luz com diferentes comprimentos de onda passam até diferentes profundidades, dependendo da absorção e da difusão de luz (Ruchin, 2004). Assim, abaixo da superfície da água, os extremos do espectro visível, como o ultravioleta, o vermelho e o infravermelho, são absorvidos primeiro à medida que a profundidade aumenta (Oliveira, et al., 2007), desta forma esta torna-se monocromática com a profundidade uma vez que o perfil espectral se vai atenuando (Blanco-Vives, et al., 2012). Em condições práticas de aquacultura, a luz (intensidade e fotoperíodo) é também um aspeto importante pois os técnicos de aquacultura necessitam de luz para o manejo dos animais e rotinas nas instalações. Paralelamente, o desenvolvimento de tecnologia inovadora tem permitido o desenvolvimento do sistema de iluminação, em que se conjuga o número de horas de luz/escurecimento e a cor da luz e que mimetizam a variação da intensidade de luz ao longo do ciclo diurno.

A perceção da luz nos peixes depende da estimulação de células fotorrecetoras específicas presentes na retina e na glândula pineal (Boeuf & Le Bail, 1999). As células

da glândula pineal e da retina sintetizam melatonina (apenas a glândula pineal é responsável pela libertação da hormona no sangue), cuja produção está associada aos ciclos de luz-escuro diários (Boeuf & Le Bail, 1999). A melatonina é sintetizada em maior quantidade durante a noite, sendo que os níveis de melatonina plasmática são mais elevados durante a noite, o que permite que os peixes obtenham informação sobre a altura do dia assim como a altura do ano (Bayarri, et al., 2004), apresentando desta forma um papel importante no ritmo circadiano do peixe.

Em várias espécies de peixes é já reconhecida a influência do fotoperíodo na otimização do crescimento da espécie. No caso da arinca (*Melanogrammus aeglefinus*) que, apesar de na fase adulta ser um peixe de profundidade, os juvenis preferem águas pouco profundas, estando portanto mais suscetíveis à variação das condições de luz. Em condições experimentais, verificou-se que um aumento do número de horas de luz de 12 para 20 horas por dia, promoveu uma maior ingestão de alimento nos juvenis desta espécie e, conseqüentemente, um aumento da taxa de crescimento; contudo o aumento para 24h de luminosidade foi já excessivo (Trippel & Neil, 2003). No caso da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) observou-se uma otimização do crescimento com o aumento do número de horas de luz para 24 horas/dia (luz contínua) quando comparados com outros fotoperíodos, nomeadamente 8/16 ou 18/6 horas de luz/escuridão (Taylor, et al., 2005; Taylor, et al., 2006).

Em contexto de aquacultura, uma outra característica importante da luz, está relacionada com a sua cor. Diferentes estudos têm demonstrado que este fator é muito importante para o bem-estar dos peixes, podendo mesmo melhorar o crescimento do animal como descrito abaixo. A otimização da cor da luz irá depender da profundidade da água do habitat de cada espécie. Um exemplo é o caso de juvenis da espécie *Tinca tinca* (nome comum, Tenca). Esta vive em águas turvas e assim a luz branca e intensa induz *stress*, enquanto quando expostos a luz vermelha, observa-se uma maior atividade e menos *stress*, tal como se verifica na obscuridade (Owen, et al., 2010).

No caso da espécie em estudo, o linguado senegalês (*Solea senegalensis*), o fotoperíodo e a cor da luz são muito importantes em diversas fases do ciclo de vida.

Em relação à reprodução, o fotoperíodo associado conjuntamente com alterações na temperatura influenciam a maturação de ambos os sexos nesta espécie,

sendo um ponto fulcral na obtenção de ovos fertilizados num ambiente controlado (García-López, et al., 2006).

No caso das larvas, verificou-se que a luz (fotoperíodo, intensidade ou cor) é determinante para o desenvolvimento da pigmentação e adequada metamorfose (Cañavate et al., 2006; Blanco-Vives et al., 2010). Durante a fase larvar, verificou-se que a alteração do número de horas de luz-escuridão, combinada com a utilização de luz azul, durante o ciclo de luz, preveniu a incidência de malformações no maxilar, que ocorrem devido a uma metamorfose incompleta, assim como uma maior sobrevivência das larvas, em detrimento da utilização de outras cores de luz ou de ciclos ininterruptos de luz ou de escuridão (Blanco-Vives, et al., 2010). Estudos têm demonstrado que quando as larvas de linguado são expostas a ciclos contínuos de luz (24h de luz), há um maior gasto de energia, havendo um menor crescimento, uma vez que estas nadam quase ininterruptamente (Cañavate, et al., 2006). A luz azul é importante nesta fase, uma vez que sendo uma espécie carnívora, depende do contraste entre a luz do meio em que se encontra e a presa para se alimentar. (Blanco-Vives, et al., 2012).

Em relação à fase adulta e juvenil de linguado expostos a fotoperíodo de 12 horas de dia e 12 horas de noite, demonstram um comportamento noturno, principalmente na primeira fase deste período, observando-se um pico de melatonina plasmática nesse período e uma maior atividade locomotora (Bayarri, et al., 2004). Também a cor da luz utilizada nas instalações de produção tem um papel muito importante no bem-estar e crescimento do linguado, uma vez que sendo uma espécie de fundo, os fotopigmentos do linguado senegalês estão mais bem adaptados a uma cor da luz azul-verde. Em linguado observou-se que a alteração da cor da luz afeta a produção de melatonina: quando expostos a luz de cor vermelha não houve significativa inibição da produção de melatonina, enquanto, quando expostos a luz de cor branca ou violeta houve inibição da produção desta hormona provocando alterações no comportamento alimentar, assim como aumento do *stress* (Oliveira, et al., 2007).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do aumento do comprimento dos dias, combinando a intensidade e duração de luz azul nos tanques teste de forma a mimetizar o ambiente natural desta espécie e avaliar a performance de crescimento.

Este ensaio torna-se assim importante, na medida em que poderá vir a beneficiar o crescimento de linguado senegalês e, desta forma, será vantajoso para a empresa Sea8.

2 – Material e Métodos

O ensaio decorreu na zona de pré-engorda da empresa Safiestela. Este teve a duração de 90 dias, tendo começado no dia 4 de fevereiro de 2014 e terminado a 2 de maio do mesmo ano. Foram utilizados 4 tanques tipo “raceway” de fibra de vidro, 2 para o grupo controlo (dispostos na vertical, um acima do outro) e 2 para o grupo teste, dispostos da mesma forma que os tanques no controlo, com 1,80m de largura e 1,63m de comprimento, em sistema fechado de circulação de água (RAS).

Para o teste de iluminação, os dois tanques do grupo controlo foram sujeitos ao regime de luz que ocorre diariamente nas instalações da pré-engorda, ou seja por volta de 24h de escuridão, exceto durante as rotinas diárias de tratamento dos tanques. Nos dois tanques do grupo teste, houve um controlo total da iluminação. Para tal, estes tanques foram isolados com cortinas de plástico preto, de modo a impedir a entrada e influência de outras luzes nestes dois tanques. Ao longo de todo o ensaio, os tanques de teste foram sujeitos a variação do número de horas de luz/escuridão, bem como ao tempo de anoitecer, mimetizando os ciclos de luz que ocorrem na primavera, quando os dias aumentam. A manipulação das horas de “dia” e de anoitecer foi iniciada com uma hora de dia e duas horas e meia de anoitecer. O tempo de amanhecer foi mantido constante ao longo de todo o ensaio e regulado para meia hora. A cada 15 dias de ensaio, o número de horas de luz/escuridão e o tempo do anoitecer foram ajustadas, tendo terminado em 6 horas de dia e 5 horas e meia anoitecer, de acordo com o esquema apresentado na Tabela 4. No meio de cada tanque do grupo teste foi colocada uma lâmpada de luz azul, sendo que o comprimento do dia e do anoitecer foi manipulado manualmente. Durante o período de obscuridade, os dois tanques teste não recebiam qualquer fonte de luz, enquanto no amanhecer, dia e anoitecer, a intensidade da luz foi controlada recorrendo a um luxímetro. Durante o dia a luz era mantida no máximo, a 50 lux, enquanto ao amanhecer e anoitecer a intensidade da luz era mantida entre 18 a 25 lux.

No início do ensaio, foram constituídos 4 lotes de 500 peixes distribuídos aleatoriamente pelos tanques, com um peso inicial de $33 \pm 1,8$ g de modo a obter uma densidade inicial de 100% ou seja 170 peixes/m², de modo a que todo o fundo do tanque fosse preenchido. Para a constituição destes lotes foram pesados conjuntos de 100 peixes de cada vez, calculado o seu peso médio, de maneira a que não houvesse diferenças significativas no peso inicial entre tanques.

Durante o decorrer do ensaio foram realizadas pesagens intercalares, a cada 15 dias, pesando em conjunto 100 peixes (primeira pesagem intercalar) ou pesando 50 peixes nas restantes pesagens. No final do ensaio (dia 90), todos os peixes de cada tanque foram pesados individualmente.

Tabela 4: Manipulação das horas de luz e anoitecer no grupo teste.

| | Dias 0- 15 | Dias 15- 30 | Dias 30- 45 | Dias 45- 60 | Dias 60- 75 | Dias 75- 90 |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Horas de luz | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 6h |
| Horas de escuro | 20h | 18h | 17h | 15h | 14h | 12h |
| Amanhecer e anoitecer (h) | $\frac{1}{2} + 2 \frac{1}{2}$ | $\frac{1}{2} + 3 \frac{1}{2}$ | $\frac{1}{2} + 3 \frac{1}{2}$ | $\frac{1}{2} + 4 \frac{1}{2}$ | $\frac{1}{2} + 4 \frac{1}{2}$ | $\frac{1}{2} + 5 \frac{1}{2}$ |
| Σ Horas | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 |
| Duração (dias) | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 | 15 |

Cada tanque foi alimentado em contínuo durante 18h com recurso a alimentadores de correia. O tamanho dos *pellets* foi ajustado ao tamanho do peixe (2.0 mm) e a quantidade de alimento a fornecer a cada tanque foi ajustada cada 15 dias e de acordo com o a biomassa do tanque (1,3% da biomassa). A alimentação era iniciada após as rotinas diárias de limpeza dos tanques.

Durante todo o ensaio, a cada tanque era fornecida água do mar com salinidade de 35 ± 1 ‰, filtrada e aquecida (19 ± 1 °C), com um caudal de circulação de 140 L/min e uma altura de coluna de água de 10 cm. Durante todo o ensaio foram monitorizados diariamente parâmetros da água como o oxigénio dissolvido (que foi mantido acima dos 90% de saturação), pH e compostos nitrogenados; sendo estes mantidos dentro dos

níveis recomendados, ou seja o pH próximo de 8, amónia até 1 mg/L e nitritos não podiam ultrapassar os 2 mg/L.

2.1 Cálculos

A avaliação das performances de crescimento e de utilização do alimento foi efetuada, no final do ensaio, usando os seguintes indicadores:

Peso médio

$$PM = (W_1 + W_0) / 2$$

em que W_1 e W_0 correspondem respetivamente ao peso médio final e inicial dos peixes (g).

Ganho de peso (% Peso inicial)

$$GP = [(W_1 - W_0) \times 100] / W_0$$

Índice de Crescimento Diário (ICD):

$$ICD = [(W_1)^{1/3} - (W_0)^{1/3}] \times (\text{duração do ensaio, dias})^{-1} \times 100$$

Ingestão (g MS/kg PM/dia):

$$Ing = [(\text{peso seco do alimento ingerido (g)}) \times 1000] / [(W_1 + W_0)/2 \times \text{duração do ensaio, dias}]$$

Índice de conversão alimentar (ICA):

$$ICA = \text{peso seco do alimento ingerido (g)} \times \text{ganho peso}^{-1} \text{ (g)}$$

Eficiência alimentar (EA):

$$EA = \text{ganho de peso (g)} \times \text{peso seco de alimento ingerido}^{-1} \text{ (g)}$$

2.2 Análise dos dados

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os resultados de crescimento e utilização do alimento obtidos foram submetidos a uma análise de

comparação de média, aplicando o teste de *t-student*, com um nível de significância de 5%.

3 – Resultados

No primeiro mês do ensaio, nos tanques teste metade da quantidade total diária de alimento foi fornecida ao anoitecer de maneira a verificar se os peixes se alimentavam melhor nesta altura do dia. No entanto, observou-se que uma grande parte do alimento fornecido não era ingerido, pelo que o alimento passou a ser fornecido equitativamente durante 18 horas.

Na tabela 5 são apresentados os dados obtidos de crescimento e de eficiência de utilização do alimento dos juvenis de linguado do grupo controlo e grupo teste.

Tabela 5: Crescimento, ingestão e utilização do alimento em juvenis de linguado dos grupos controlo e teste, durante 90 dias*.

| | <i>Tratamentos</i> | |
|----------------------------------------------------|--------------------|--------------|
| | Controlo | Teste |
| Crescimento | | |
| <i>Peso inicial (g)</i> | 32,84 ± 0,37 | 33,36 ± 0,21 |
| <i>Peso final (g)</i> | 77,08 ± 5,46 | 85,63 ± 1,16 |
| <i>Ganho de peso (% peso inicial)</i> ¹ | 134,8 ± 19,2 | 156,7 ± 5,1 |
| <i>Índice de crescimento diário</i> ² | 1,17 ± 0,12 | 1,32 ± 0,03 |
| Utilização Alimento | | |
| <i>Ingestão (g MS/kg PM/dia)</i> ³ | 10,3 ± 0,4 | 9,9 ± 0,03 |
| <i>Índice de conversão alimentar</i> ⁴ | 1,16 ± 0,14 | 1,01 ± 0,05 |
| <i>Eficiência alimentar</i> | 0,87 ± 0,11 | 0,99 ± 0,05 |

*Os valores são representados como média ± desvio padrão e foram submetidos a uma análise de comparação de média, aplicando o teste de *t-student*, com um nível de significância de 5%.

¹ GP = $[(W_1 - W_0) \times 100] / W_0$

² ICD = $[(W_1)^{1/3} - (W_0)^{1/3}] \times (\text{duração do ensaio, dias})^{-1} \times 100$

³ Ing = $[(\text{peso seco de alimento ingerido (g)} \times 1000) / ((W_1 + W_0)/2) \times \text{duração ensaio, dias}]$

⁴ ICA = $\text{peso seco do alimento ingerido (g)} \times \text{ganho peso}^{-1} \text{ (g)}$

⁵EA = $\text{ganho de peso (g)} \times \text{peso seco de alimento ingerido}^{-1} \text{ (g)}$

PM: peso médio (g); W0: Peso inicial (g); W1: peso final (g)

No início do ensaio, o peso médio individual dos linguados do grupo controlo foi de $32,84 \pm 0,37$ g e do grupo teste foi de $33,36 \pm 0,21$ g. Após os 90 dias de ensaio, ambos os grupos mais do que duplicaram o seu peso inicial: o grupo controlo terminou com um peso médio individual de $77,08 \pm 5,46$ g e o grupo teste com $85,63 \pm 1,16$ g. Apesar das diferenças entre grupos, estas não foram estatisticamente significativas.

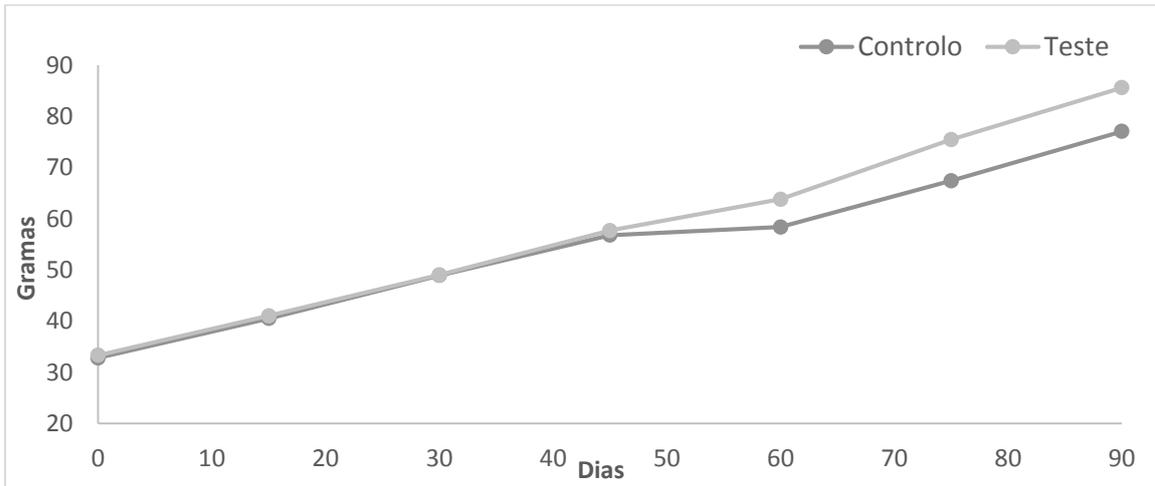


Figura 11: Evolução do peso médio individual (g) dos linguados dos grupos controlo e teste ao longo do período experimental. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos.

Em relação ao índice de crescimento diário (ICD), não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre tratamentos, apesar de no grupo teste se ter observado um aumento de 12,9% do ICD quando comparado com o grupo controlo (Tabela 5, Figura 12).

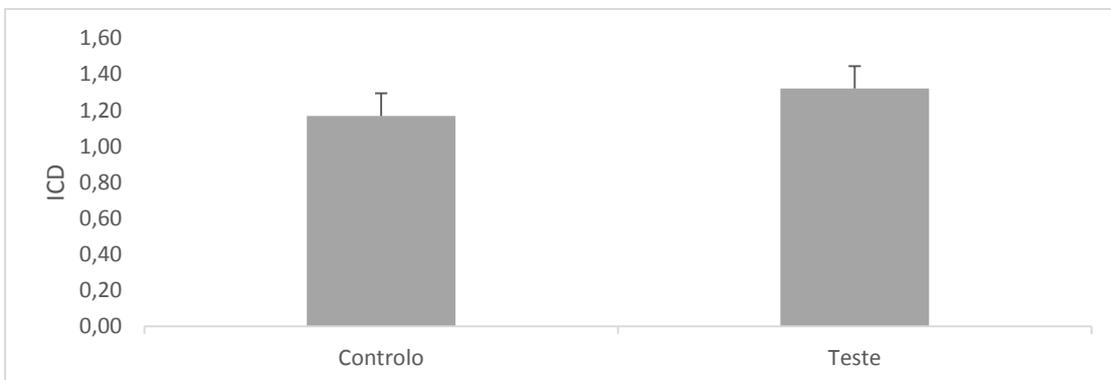


Figura 12: Índice de Crescimento Diário (média ± desvio padrão) do grupo controlo e grupo teste; não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre ambos os tratamentos ($p > 0,05$).

Esta tendência também se observou no índice de conversão alimentar (ICA), onde os valores foram de 1,01 no grupo teste e 1,16 no grupo controlo que, apesar de não ser estatisticamente distinto ($p > 0,05$), foi cerca de 12,6% superior no grupo controlo que no grupo teste (Tabela 5, Figura 13).

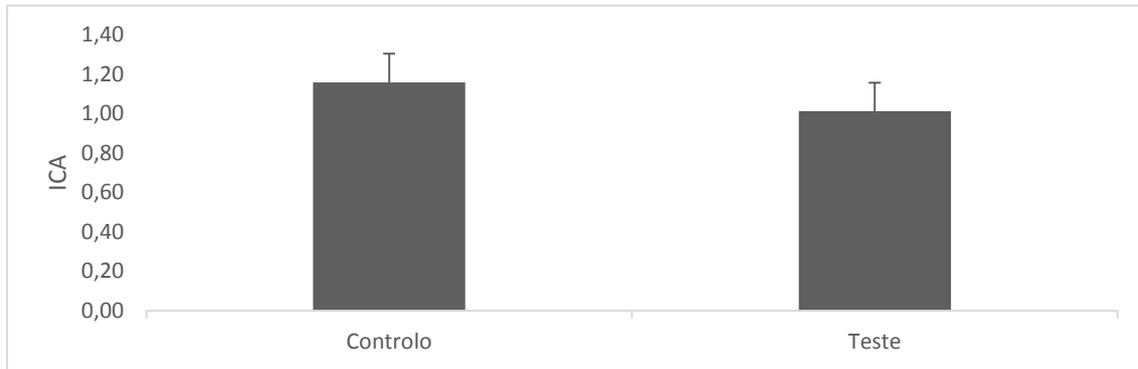


Figura 13: Índice de Conversão Alimentar (média ± desvio padrão) do grupo controlo e grupo teste; não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre ambos os tratamentos ($p > 0,05$).

4 – Discussão

O crescimento dos peixes é influenciado por diversos fatores bióticos e abióticos. Este é o caso do fotoperíodo, pois é reconhecido como tendo uma influência direta no sistema endócrino, influenciando a secreção da hormona do crescimento, serotonina e melatonina (Bjornsson, 1997; Bromage et al., 2001; Reddy & Leatherland, 2003; Falcon, et al., 2011; Mukherjee et al., 2014) Em aquacultura foi verificado que a manipulação do fotoperíodo pode ter uma grande influência no crescimento, comportamento e bem-estar de diversas espécies de peixes, tanto nas fases larvares como em juvenis, ou na manipulação da desova. Um exemplo é o Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) em que se verificou um maior crescimento quando os indivíduos eram expostos a uma luz contínua em comparação com indivíduos criados a um fotoperíodo natural (Hansen, et al., 1992). Também no alabote-do-Atlântico (*Hippoglossus hippoglossus*), um aumento do número de horas de luz de 8h para 24h resultou num maior crescimento (Simensen, et al., 2000). Contrariamente, um estudo com rodovalho revelou que o crescimento era negativamente influenciado quando expostos a um

fotoperíodo contínuo, recomendando a sua produção num regime de 16/8 horas luz/escuridão (Imslund, et al., 2013).

Para o linguado são poucos os trabalhos que visam estudar o efeito do fotoperíodo, assim como do comprimento de onda da luz, no crescimento, utilização do alimento ou bem-estar de juvenis. Contudo, na fase larvar e na reprodução de linguado senegalês existem diversos estudos sobre o efeito da luz no crescimento, sobrevivência e pigmentação das larvas (Blanco-Vives, et al., 2010, 2012; Lund & Steinfeld, 2010; Carazo, et al., 2013) ou na taxa de reprodução (García-López, 2005, 2006). Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que o crescimento e a utilização do alimento nos linguados mantidos com um fotoperíodo contínuo de 24h de escuridão ou num fotoperíodo que mimetiza o fotoperíodo da primavera não foi significativamente diferente. Contudo, foi observada uma tendência para o aumento do crescimento e da eficiência de utilização do alimento, na ordem dos 13%, quando os linguados foram mantidos sob um fotoperíodo que mimetizava o da primavera, comparativamente com o ciclo diário de 24h de escuridão.

Estudos demonstram que o linguado é muito sensível quer à intensidade de luz quer ao seu comprimento de onda, alterando o seu comportamento e os níveis de melatonina plasmática (Bayarri, et al., 2004; García-López, et al., 2006; Blanco-Vives, et al., 2010; Oliveira, et al., 2007; Blanco-Vives, et al., 2012). Este fator abiótico interfere em diversas fases do ciclo de vida, por exemplo. Na reprodução, a exposição a luz contínua reduz a maturação em fêmeas e a produção de esperma nos machos de linguado (García-López et al., 2006; Oliveira et al., 2010, 2011). Um estudo recente demonstrou que a cor e a intensidade da luz durante a noite afetam também o comportamento dos reprodutores. Assim, quando os linguados foram expostos a uma luz vermelha moderada (5 lux) ou a infravermelhos não se verificou uma alteração do comportamento (ritmo da atividade locomotora noturna e comportamentos relacionados com reações de fuga e medo), e dos níveis de melatonina plasmática, os quais foram significativamente alterados quando expostos a uma luz vermelha intensa (50 lux) (Carazo, et al., 2013).

Também na fase larvar da espécie estudada, a influência do fotoperíodo é muito importante. Quando as larvas foram expostas a luz contínua, luz vermelha ou completa escuridão, observou-se uma maior incidência de malformações no maxilar e um decréscimo no crescimento, verificando-se que a luz azul é a mais favorável para o

correto desenvolvimento desta fase (Blanco-Vives, et al., 2010). Já no caso dos juvenis, as variações diárias de luz e do comprimento de onda são também duas variáveis muito importantes para o bem-estar dos linguados. Esta espécie demonstra um comportamento noturno e uma variação de melatonina plasmática ao longo de 24h, sendo que esta hormona é produzida em maior quantidade nas primeiras horas de escuro (Bayarri, et al., 2004). Já em relação à cor, Oliveira et al. (2007), refere que a luz vermelha não é perceptível pelo linguado, não alterando a produção de melatonina plasmática, enquanto a luz branca e luz azul afeta a produção desta hormona, pelo que a luz vermelha pode ser utilizada de forma segura durante amostragens que se realizem à noite .

Em diversas espécies, estas variáveis são também importantes, um exemplo é no caso do pregado (*Scophthalmus maximus*) em que indivíduos expostos a luz contínua (24h de luz) apresentavam um atraso no crescimento bem como atraso na maturação nas fêmeas e a redução da produção de esperma nos machos (Imsland, et al., 2013).

Também na Tenca (*Tinca tinca*), uma espécie noctívaga e muito sensível à luz, verificou-se que a cor da luz influencia o comportamento. Peixes mantidos sob luz vermelha ou em total escuridão apresentaram um atividade locomotora semelhante e mais elevada do que os expostos a uma luz azul ou branca. Os níveis de cortisol foram também mais elevados nos peixes mantidos sob uma luz azul ou branca, demonstrando que estes se encontram sob maior *stress*. Estes resultados parecem revelar que esta espécie é incapaz de ver a cor vermelha ou que a quantidade desta luz pode ser ínfima para ser perceptível (Owen, et al.,2010).

IV – Conclusão

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que o crescimento ou a eficiência de utilização do alimento dos linguados mantidos sob um ciclo de 24h de escuridão ou sob um ciclo de luz/escuridão que mimetize os dias de primavera não foram significativamente diferentes ($p>0,05$). No entanto, verificou-se uma tendência para o aumento do ganho de peso, do índice de crescimento diário e do índice de conversão alimentar quando os linguados foram expostos a um regime de fotoperíodo mimetizando a primavera.

Apesar destas tendências serão necessários mais estudos para a validação dos resultados obtidos, como por exemplo a extensão da duração do período de ensaio. Pequenos ajustes ao desenho experimental seguido neste estudo poderão, também, ajudar a afinar/confirmar os resultados obtidos. Entre eles destaca-se a necessidade de isolar igualmente todos os tanques, e não só os tanques teste, assim como usar tanques que se encontrem todos no mesmo patamar. Estas duas variáveis poderão ter contribuído, pelo menos em parte, para a redução do stress nos peixes, uma vez que se verificou que em ambos os grupos, um maior crescimento nos tanques mantidos no patamar superior.

É de salientar que a realização de ensaios experimentais, em condições laboratoriais ou em condições reais de produção, é diferente, pois em laboratório é mais fácil o controlo das diferentes variáveis abióticas e bióticas, que podem afetar o ensaio, dada a sua menor escala. No entanto, a transferência de conhecimento do laboratório para as aquaculturas é de primordial importância, bem como o seu ajuste às condições particulares de produção de cada aquacultura, de modo a garantir um crescimento mais sustentado e mais produtivo desta indústria.

Bibliografia

- Arjona, F. J., Ruiz-Jarabo, I., Vargas-Chacoff, L., Martín del Río, M. P., Flik, G., Mancera, J. M., & Klaren, P. H. (2010). Acclimation of *Solea senegalensis* to different ambient temperatures: implications for thyroidal status and osmoregulation. *Marine Biology*, *157*, 1325-1335.
- Badiola, M., Mendiola, D., & Bostock, J. (2012). Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*, *51*, 26-35.
- Bayarri, M., Muñoz-Cueto, J., López-Olmeda, J., Vera, L., Rol de Lama, M., Madrid, J., & Sánchez-Vázquez, F. (2004). Daily locomotor activity and melatonin rhythms in Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Physiology and Behaviour*, *81*, 577-583.
- Bjornsson, B. (1997). The biology of salmon growth hormone: from daylight to dominance. *Fish Physiology and Biochemistry*, *17*, 9-24.
- Blanco-Vives, B., Aliago-Guerrero, M., Cañavate, J., García-Mateos, G., Martín-Robles, A., Herrera-Pérez, P., Sánchez-Vázquez, F. (2012). Metamorphosis induces a light-dependent switch in senegalese sole (*Solea senegalensis*) from diurnal to nocturnal behavior. *Journal of Biological Rhythms*, *27*, 135-144.
- Blanco-Vives, B., Villamizar, N., Ramos, J., Bayarri, M., Chereguini, O., & Sánchez-Vázquez, F. (2010). Effect of daily thermo- and photo-cycles of different light spectrum on the development of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture*, *306*, 137-145.
- Boeuf, G., & Le Bail, P.-Y. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, *177*, 129-152.
- Bromage, N., Porter, M., & Randall, C. (2001). The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*, *197*, 63-98.
- Cañavate, J. P., & Fernández-Díaz, C. (1999). Influence of co-feeding larvae with live and inert diets on weaning the sole *Solea senegalensis* onto commercial dry feeds. *Aquaculture*, *174*, 255-263.

- 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.
- Carazo, I., Norambuena, F., Oliveira, F., Sánchez-Vázquez, F., & Duncan, N. (2013). The effect of night illumination, red and infrared light, on locomotor activity, behaviour and melatonin of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) broodstock. *Physiology & Behaviour*, 118, 201-207.
- Castelo Branco, M. A. (2003). Estudo da Produção de Linguado (*Solea senegalensis* KAUP, 1858) em Tanques de Terra. Lisboa: Instituto Nacional Agrária e das Pescas-IPIMAR.
- Castelo Branco, M. A., & Ramos, M. A. (1998). Crescimento de Pós-Larvas de Linguado-Branco (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) em Pisciculturas do Estuário do Sado. Lisboa: Instituto de Investigação das Pescas e do Mar-IPIMAR.
- 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.
- Direção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos. (2013). *Aquicultura*. Obtido de www.dgrm.min-agricultura.pt
- Ebeling, J., Jensen, G., Losordo, T., Masser, M., McMullen, J., Pfeiffer, L., Sette, M. (1995). Model Aquaculture Recirculation System (MARS). Iowa State University, Agricultural Education and Studies, Ames, Iowa.
- Falcon, J., Besseau, L., Magnanou, E., Herrero, M., Nagai, M., & Boeuf, G. (2011). Melatonin, the time keeper: biosynthesis and effects in fish. *Cybium*, 35, 3-18.
- FAO Fisheries and Aquaculture Department. (2012). The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Ferreira, P. M. (2009). Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para a larvicultura de peixes marinhos (IPIMAR ed.). Lisboa, Portugal.
- Fisheries - European Commission. (2012). Facts and Figures on the Common Fisheries Policy. p. 52pp.

- Food and Agricultural Organization of the United Nation. (2014). The State of World Fisheries and Aquaculture: Opportunities and Challenges. Rome: FAO.
- García-López, Á., Pascual, E., Sarasquete, C., & Martínez-Rodríguez, G. (2006). Disruption of gonadal maturation in cultured Senegalese sole *Solea senegalensis* Kaup by continuous light and/or constant temperature regimes. *Aquaculture*, 261, 789-798.
- Guzmán, J. M., Norberg, B., Ramos, J., Mylonas, C. C., & Mañanos, E. L. (2008). Vitellogenin, steroid plasma levels and spawning performance of cultured female Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *General and Comparative Endocrinology*, 156, 285-297.
- Hallaraker, H., Folkvord, A., & Stefansson, S. (1995). Growth of juvenile halibut (*Hipoglossus hipoglossus*) related to temperature, day length and feeding regime. *Netherlands Journal of Sea Research*, 34, 139-147.
- Hansen, T., Stefansson, S., & Taranger, G. (1992). Growth and sexual maturation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., reared in sea cages at two different light regimes. *Aquaculture Research*, 23, 275-280.
- Houlihan, D. (2001). Environmental Factors and Feed Intake: Mechanisms and Interactions. Em *Food intake in fish* (pp. 131-156). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Howell, B., Cañavate, P., Prickett, R., & Conceição, L. (2006). The Cultivation of Soles. *Report of a Third Workshop held at CIFPA*. El Toruño, Cadiz, Spain.
- Imsland, A. K., Foss, A., Conceição, L. E., Dinis, M. T., Delbare, D., Schram, E., White, P. (2003). A review of the culture potential of *Solea solea* and *S. senegalensis*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 13, 379-407.
- Imsland, A., Gunnarsson, S., Roth, B., Foss, A., Le Deuf, S., Norberg, B., Helming, T. (2013). Long-term effect of photoperiod manipulation on growth, maturation and flesh quality in turbot. *Aquaculture*, 416-417, 152-160.
- Instituto Nacional de Estatística. (2012). Estatísticas da Pesca. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I.P.
- Instituto Nacional de Estatística, IP. (2013). Dados Estatísticos - Agricultura, floresta e pescas. Obtido de www.ine.pt

- Kalkan, S., & Canyurt, A. M. (2012). The Fishery Potential and Sustainable Aquaculture in Portugal. *Third International Symposium on Sustainable Development*. Sarajevo.
- Lund, I., & Steenfeld, S. J. (2010). Influence of dietary arachidonic acid combined with light intensity and tank colour on pigmentation of common sole (*Solea solea* L.) larvae. *Aquaculture*, 308, 159-165.
- MADRP - Direção Geral das Pescas e Aquicultura. (2007). Programa Operacional Pesca 2007-2013.
- Martins, C., Eding, E., Verdegem, M., Heinsbroek, L., Schneider, J., Roque d'Orbcastel, E., & Verreth, J. (2010). New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability. *Aquacultural Engineering*, 43, 83-93.
- Mukherjee, S., Moniruzzaman, M., & Maitra, S. (2014). . Daily and seasonal profiles of gut melatonin and their temporal relationship with pineal and serum melatonin in carp *Catla catla* under natural photo-thermal conditions. *Biological Rhythm Research*, 45, 301-315.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the World* (Fourth Edition ed.). Canada: John Wiley & Sons, Inc.
- Oliveira, C., Duncan, N., Pousão-Ferreira, P., Mañanós, E., & Sánchez-Vázquez, F. (2010). Influence of the lunar cycle on plasmamelatonin, vitellogenin and sex steroids rhythms in Senegal sole, *Solea senegalensis*. *Aquaculture*, 306, 343-347.
- Oliveira, C., Ortega, A., López-Olmeda, J. F., Vera, L. M., & Sánchez-Vázquez, F. J. (2007). Influence of constant light and darkness, light intensity, and light spectrum on plasma melatonin rhythms in senegal sole. *Chronobiology International*, 24(4), 615-627.
- Olivera, C., Mañanos, E., Ramos, J., & Sánchez-Vázquez, F. (2011). Impact of photoperiod manipulation on day/night changes in melatonin, sex steroids and vitellogenin plasma levels and spawning rhythms in Senegal sole, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, 159, 291-295.

- Owen, M. A., Davies, S. J., & Sloman, K. A. (2010). Light colour influences the behaviour and stress physiology of captive tench (*Tinca tinca*). *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20, 375-380.
- Piedrahita, R. H. (2003). Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture*, 226, 35-44.
- Reddy, P., & Leatherland, J. (2003). Influences of photoperiod and alternate days of feeding on plasma growth hormone and thyroid hormone levels in juvenile rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 63, 197-212.
- Rijn, J. (2013). Waste treatment in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 53, 49-56.
- Rønnestad, I., & Conceição, L. E. (2012). Artemia protein is processed very fast in *Solea senegalensis* larvae: A dynamic simulation model. *Aquaculture*, 350-353, 154-161.
- Ruchin, A. (2004). Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 30, 175-178.
- Schuster, C., & Stelz, H. (1998). Reduction in the make-up water in semi-closed recirculating aquaculture systems. *Aquaculture Engineering*, 17, 167-174.
- Simensen, L., Jonassen, T., Imsland, A., & Stefansson, S. (2000). Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 190, 119-128.
- Summerfelt, S. T. (2003). Ozonation and UV irradiation - an introduction and examples of current applications. *Aquacultural Engineering*, 28, 21-36.
- Summerfelt, S., Vinci, B., & Piedrahita, R. (2000). Oxygenation and carbon dioxide control in water reuse systems. *Aquacultural Engineering*, 22, 87-108.
- Tango, M. M., & Gagnon, G. A. (2003). Impact of ozonation on water quality in marine recirculation systems. *Aquacultural Engineering*, 29, 125-137.
- Taylor, J., Migaud, H., Porter, M., & Bromage, N. (2005). Photoperiod influences growth rate and plasma insulin-like growth factor-I levels in juvenile rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 142, 169-185.

- Taylor, J., North, B., Porter, M., Bromage, N., & Migaud, H. (2006). Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 256, 216-234.
- Trippel, E. A., & Neil, S. R. (2003). Effects of photoperiod and light intensity on growth and activity of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture*, 217, 633-645.
- Wik, T. E., Lindén, B. T., & Wrammer, P. I. (2009). Integrated dynamic aquaculture and wastewater treatment modelling for recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 287, 361-370.
- Zhang, S.-Y., Li, G., Wu, H.-B., Liu, X.-G., Yao, Y.-H., Tao, L., & Liu, H. (2011). An integrated recirculating aquaculture system (RAS) for land-based fish farming: The effects on water quality and fish production. *Aquacultural Engineering*, 45, 93-102.