

PAULA CRISTINA ENES OLIVEIRA DA SILVA

**UTILIZAÇÃO DE UMA DIETA MICROALGAL, DE UM EFLUENTE PISCÍCOLA
E DE DOIS SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA ALIMENTAR
NA CULTURA DE JUVENIS DE *Tapes decussatus* (L.)**

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO

1996

PAULA CRISTINA ENES OLIVEIRA DA SILVA

UTILIZAÇÃO DE UMA DIETA MICROALGAL, DE UM EFLUENTE PISCÍCOLA
E DE DOIS SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA ALIMENTAR
NA CULTURA DE JUVENIS DE *Tapes decussatus* (L.)

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre
em Ecologia Aplicada, apresentada à Faculdade
de Ciências da Universidade do Porto

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO
1996

Dissertação realizada no âmbito da Bolsa
PRAXIX XXI / BM / 7214 / 95 da JNICT

AGRADECIMENTOS

A minha actividade foi possível pela concessão de uma Bolsa de Estudos pela Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica, a quem expresso o meu penhorado agradecimento.

À Prof. Doutora Teresa Borges, pelo interesse, dedicação e saber com que orientou o presente estudo até à elaboração desta dissertação, sou devedora de profunda gratidão.

Ao Dr. Luis Filipe Oliva Teles e ao Dr. António Paulo, pelo auxilio prestado no tratamento estatísticos dos resultados.

Ao Professor Doutor João Machado Cruz, pelo interesse demonstrado na fase inicial deste trabalho.

À colega e amiga Dr^a Lúcia Moreira, pela ajuda, companheirismo e amizade demonstrada, que muito contribuíram para ultrapassar os momentos mais difíceis.

À Dr^a Helena Peres, pela cedência do efluente piscícola.

À Eng^a Zulmira Coelho da Estação Regional de Leite e Lacticínios de Paços de Ferreira, pela cedência do lacto-soro.

Ao Eng^o José Lopes Borges da Nestlé por nos alertar para a problemática da borra de café.

Ao Departamento de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, pela cedência da bibliografia relativa ao café.

Aos funcionários da Estação de Zoologia Marítima "Dr. Augusto Nobre", da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, salientando-se o Sr. Pedro Correia.

À Dr^a Teresa Santos, pela simpatia e valiosa ajuda prestada nas análises bacteriológicas.

Ao Dr. Paulo Santos por me ter ensinado a manusear o contador electrónico de partículas, e pela sua pronta ajuda perante qualquer duvida surgida com a utilização do mesmo.

Ao Sr. Vitor Alves, pela paciência, simpatia e disponibilidade demonstradas na resolução dos problemas informáticos.

À minha amiga Paula, pelo auxilio prestado na correcção ortográfica deste trabalho, bem como pela sua amizade, apoio e compreensão uma vez mais demonstrados.

Ao meu namorado Paulo, por todas as ajudas prestadas, sobretudo as relacionadas com a parte gráfica deste trabalho, assim como, pelo apoio, paciência e carinho demonstrados ao longo de toda a sua realização.

À Pormotor pelo interesse demonstrado na elaboração deste trabalho.

Por fim, mas não em último, um agradecimento muito especial aos meus pais, os quais acompanharam de perto o decorrer deste trabalho, vivendo em conjunto comigo todos os problemas sentidos, apoiando-me e ajudando-me em todos os momentos, sobretudo, nos mais difíceis, com as suas palavras de encorajamento e com todo o carinho prestado.

RESUMO

A cultura de microalgas, as quais são a principal fonte alimentar das sementes de bivalves, apresenta-se como o principal factor responsável por grande parte dos custos de operação das instalações de reprodução e pré-engorda. Deste modo e na tentativa de reduzir esses custos, avaliaram-se as potencialidades de um efluente piscícola proveniente de tanques de cultivo experimental de robalo, bem como de dois subprodutos da indústria alimentar - soro de queijo St. Paulin e borra de café, para a nutrição de sementes de Tapes decussatus. Visto até ao momento não existir uma dieta de referência, em termos qualitativos e quantitativos para a espécie referida, foi testada uma dieta microalgal constituída pelas espécies Tetraselmis suecica e Phaeodactylum tricornutum, numa razão de 1:2 (como peso seco) tendo sido determinada a concentração mais favorável ao crescimento destes bivalves.

Submeteram-se 600 indivíduos a cada uma das dietas testadas, por períodos de 30 dias tendo sido comparados os seus coeficientes de crescimento, a sua condição e a sobrevivência obtida no final.

Determinaram-se na água dos vários tanques experimentais, os parâmetros físico-químicos: temperatura, pH, oxigénio dissolvido, salinidade, amónia, clorofilas a, b, e c, e sólidos suspensos totais, de modo a conseguir-se o controlo adequado das condições experimentais.

Os valores de temperatura, testados nas diferentes séries experimentais (13, 18 e 21°C) influenciaram as taxas de filtração obtidas e logo o crescimento, verificando-se um aumento destas com o aumento registado na temperatura.

Foi igualmente avaliada a distribuição, por tamanhos, das partículas que compunham as rações constituídas por microalgas, efluente piscícola e lacto-soro, registando-se no 1º caso uma maior frequência destas nos tamanhos 2.69 e 3.36 µm, seguida dos tamanhos de 5.38 e 6.73 µm. Nas duas últimas os tamanhos com maior número de partículas foram os de 1.35 e 2.02 µm.

Verificou-se um aumento nos valores de crescimento à medida que diminuiu a concentração da dieta microalgal, baseada inicialmente em 2.5 % da biomassa usada, tendo os melhores resultados de crescimento sido obtidos com a dieta constituída por 25 % do teor microalgal máximo calculado por tanque.

O efluente piscícola, assim como o lacto-soro, quando fornecidos isoladamente aos bivalves, conduziram a resultados de crescimento insatisfatórios, verificando-se um incremento considerável no crescimento, apenas aquando da junção de microalgas. O lacto-soro, quando fornecido conjuntamente com a dieta microalgal em diferentes concentrações revelou uma interacção sinérgica quanto ao crescimento. Os melhores resultados aquando da combinação de efluente piscícola e lacto-soro, com microalgas, foram obtidos com a adição da dieta microalgal que conduziu isoladamente aos valores mais elevados de crescimento. Relativamente ao soro, foram ainda quantificadas as bactérias heterotróficas presentes na água dos tanques aos quais este foi fornecido, apresentando-se este como um bom substracto para o seu desenvolvimento. Foi ainda observada uma possível utilização das bactérias como fonte alimentar por parte dos bivalves.

A adição de borra de café à melhor combinação de lacto-soro e microalgas, parece não ter tido qualquer efeito sobre o crescimento dos bivalves, atendendo aos valores de peso fresco total e comprimento. Relativamente ao parâmetro biométrico peso seco da carne, este indicia a possibilidade de um maior crescimento, com a dieta contendo 5 mg/l deste subproduto sendo, no entanto, necessários outros tipos de ensaios para comprovar o observado.

ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO	1
1.1 - <u>Tapes decussatus</u> como objecto de cultura	2
1.2 - Considerações gerais sobre os aspectos anatómicos e fisiológicos de <u>Tapes decussatus</u> relacionados com a sua alimentação	3
1.3 - Alimentação natural e artificial de <u>Tapes decussatus</u>	4
1.3.1 - Microalgas	4
1.3.2 - Efluentes piscícolas	6
1.3.3 - Soro de queijo	8
1.3.4 - Borra de café	10
1.4 - Objectivos experimentais	15
2 - MATERIAIS E MÉTODOS	16
2.1 - Animais experimentais	16
2.2 - Condições experimentais	16
2.3 - Alimento	17
2.3.1 - Microalgas	17
2.3.2 - Soro de queijo	18
2.3.3 - Efluente piscícola	19
2.3.4 - Borra de café	19
2.4 - Parâmetros físico-químicos analisados	20
2.5 - Análises bacteriológicas	20
2.6 - Análise das partículas em suspensão	21
2.7 - Métodos de avaliação de crescimento, mortalidade, índices de condição e taxa de filtração	21
2.8 - Análise estatística	23
3 - RESULTADOS	24
3.1 - Primeira experiência	24
3.1.1 - 1ª experiência - primeira fase	24
3.1.1.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques	24
3.1.1.2 - Biometria	30
3.1.1.3 - Coeficientes de Crescimento: Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento	31
3.1.1.4 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal	32
3.1.1.5 - Taxas de filtração e análises das partículas em suspensão	33
3.1.2 - 1ª experiência - 2ª fase	37
3.1.2.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques	37
3.1.2.2 - Biometria	41
3.1.2.3 - Coeficientes de Crescimento: Taxa de crescimento Relativo	

e Acréscimo Relativo de Crescimento.....	46
3.1.2.4 - Índices de Condição.....	49
3.1.2.5 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal.....	51
3.1.2.6 - Taxas de filtração.....	52
3.2 - Segunda experiência.....	55
3.2.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques.....	55
3.2.2 - Biometria.....	59
3.2.3 - Coeficiente de Crescimento: Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento.....	64
3.2.4 - Índices de Condição.....	67
3.2.5 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal.....	68
3.2.6 - Análise bacteriológica.....	71
3.2.7 - Taxas de filtração e análise das partículas em suspensão.....	73
3.3 - Terceira experiência.....	80
3.3.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques.....	80
3.3.2 - Biometria.....	85
3.3.3 - Coeficientes de Crescimento: Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento.....	89
3.3.4 - Índices de Condição.....	93
3.3.5 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal.....	95
3.3.6 - Taxas de filtração.....	97
4 - DISCUSSÃO.....	99
4.1 - Parâmetros físico-químicos.....	99
4.2 - Dietas microalgais.....	102
4.3 - Dietas não algais.....	108
4.3.1 - Efluente piscícola.....	108
4.3.2 - Soro de queijo.....	110
4.3.3 - Borra de café.....	114
5 - CONCLUSÕES.....	117
6 - BIBLIOGRAFIA.....	120

1 - INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a Aquacultura tem sofrido um grande incremento, o qual está directamente relacionado com a necessidade cada vez mais urgente de aumentar os produtos alimentares de natureza proteica, e ao esgotamento de muitos dos recursos naturais em consequência da sua sobreexploração. A cultura de Moluscos Bivalves é uma das vias encontradas para a nutrição humana, com maiores probabilidades de êxito (UKELES, 1971; BARDACH *et al.*, 1972 *in*: BORGES, 1989).

A principal metodologia de cultura de moluscos bivalves utilizada nos principais países produtores (Japão, Itália, França e Espanha) consistiu até aos nossos dias na: exploração dos bancos naturais existentes, gestão, melhoramento e criação de novos bancos e realização de semi-culturas, por captação de juvenis e posterior engorda em ambiente semi-controlado.

No entanto, quer a crescente destruição de bancos naturais (por sobreexploração, enfermidades e poluição), quer a forte pressão alimentar exercida pelo aumento populacional, conduziram a um estudo de técnicas de reprodução controlada, que permitissem produzir artificialmente larvas de moluscos bivalves a partir de progenitores condicionados, isto é, em qualquer época do ano e para numerosas espécies de bivalves.

Tendo por base estas pesquisas, foram criadas um pouco por todo o mundo várias instalações de reprodução vulgarmente designadas por "hatcheries". Actualmente, muitas tiveram que encerrar devido a uma produção insuficiente e/ou irregular, aos problemas tecnológicos que ainda subsistem na aplicação das técnicas de reprodução artificial de bivalves à escala industrial, e aos custos tidos com a alimentação destes animais, como será referido adiante.

Com o desenvolvimento das "hatcheries", surgiu a necessidade de se criarem instalações de pré-engorda, as "nurseries", devido a razões de ordem biológica e económica, tais como: garantir a transição entre o meio totalmente controlado e o natural, e diminuir o grau de exigência tecnológica. As "nurseries" podem ser utilizadas por indivíduos dos 0.5 aos 20 mm.

Posteriormente, desenvolveram-se métodos de engorda de juvenis no meio natural, directamente sobre o solo, acima deste, ou em suspensão.

Nas "hatcheries", os moluscos bivalves são normalmente alimentados com culturas, em massa, de microalgas vivas, ou com microalgas obtidas a partir do seu meio natural. Contudo, a produção de microalgas marinhas em grande escala envolve custos muito elevados, podendo ser responsável por 15 a 85 % dos custos de operação de "hatcheries / nurseries" (BOLTON, 1982 *in*: URBAN & LANGDON, 1984).

Num inquérito realizado em 1990 por COUTTEAU & SORGELLOOS, a cerca de 50 "hatcheries" espalhadas por todo o mundo, 20 das inquiridas comunicaram um valor para o custo total anual obtido com a produção de microalgas para a alimentação de bivalves, próximo de 700.000 US \$, ou seja cerca de 1071 contos (COUTTEAU & SORGELLOOS, 1992).

Além de dispendiosa, a cultura de microalgas está muitas vezes sujeita ao colapso total ou parcial, bem como a enormes variações na sua composição bioquímica (WEBB & CHU, 1981).

Ao desenvolvimento de culturas intensivas e controladas de moluscos bivalves, para fins comerciais, impõe-se uma grande restrição que é a impossibilidade das "hatcheries" produzirem, economicamente, quantidades adequadas de microalgas utilizadas na alimentação destes animais (EPIFANIO, 1975 *in*: URBAN, 1982), quantidades essas que vão sendo cada vez maiores, com o correspondente aumento, em tamanho, dos bivalves em cultura.

Daí que, a procura de alternativas alimentares mais económicas, que permitam uma substituição ou uma suplementação do alimento vivo, seja um passo extremamente importante para o incremento da moluscicultura. Várias tentativas de desenvolvimento de dietas artificiais para bivalves têm tido, até ao momento, um sucesso relativo (CASTELL & TRIDER, 1974; LANGDON &

SIEGFRIED, 1984; LAING *et al.*, 1987; COUTTEAU *et al.*, 1990; LAING & GIL, 1991 *in*: BORGES *et al.*, 1995), podendo, nos casos mais favoráveis, referir-se a possibilidade de uma substituição, apenas parcial, do alimento vivo.

As razões para este relativo insucesso, quando comparado com os conhecimentos existentes neste campo para os peixes em cultura intensiva, deve-se, em grande parte, ao desconhecimento dos requisitos alimentares destes animais, quer no aspecto quantitativo quer no aspecto qualitativo.

Além deste factor, existe outro não menos importante a ter em conta na elaboração de dietas alternativas, que deverá ser o aspecto económico das mesmas. Isto, porque não é viável utilizar dietas que embora conduzam a bons resultados, sejam tanto ou mais dispendiosas do que as tradicionais dietas microalgais. O inverso também não se apresenta favorável, isto é, não interessa recorrer-se a dietas que, apesar de económicas, não produzam bons resultados em termos de cultura. Deve-se, sim, tentar encontrar um ponto de equilíbrio na relação qualidade / preço das dietas a utilizar.

No presente trabalho, recorreu-se à utilização de subprodutos que se enquadram no referido equilíbrio, tais como: - um efluente piscícola;

- soro de queijo e
- borra de café,

os quais, à excepção do último, foram testados no passado com resultados relativamente satisfatórios para alguns bivalves.

Uma descrição mais pormenorizada dos mesmos será feita mais adiante, parecendo-nos desde já importante fazer, em primeiro lugar, uma referência aos aspectos decisivos que levaram à escolha da espécie Tapes decussatus como animal experimental.

Para um melhor conhecimento da espécie em causa, será feita, também, uma breve descrição da anatomia e dos aspectos fisiológicos relacionados com a nutrição da mesma.

1.1 - Tapes decussatus como objecto de cultura

Os moluscos têm merecido a atenção do Homem desde os seus primórdios, podendo mesmo ser considerados os precursores da Aquacultura Marinha. No entanto, a cultura de moluscos marinhos tem-se centrado, essencialmente, num pequeno número de espécies de bivalves com importância comercial reconhecida (BORGES, 1989).

Entre essas espécies, destaca-se Tapes decussatus, frequentemente referida como ameijoia boa, cuja posição sistemática é a seguinte:

PHYLUM	MOLLUSCA
CLASSE	BIVALVIA (LINNAEUS, 1758)
SUB- CLASSE	HETERODONTA (NEUMAYR, 1884)
ORDEM	VENEROIDA (H. & A. ADAMS, 1815)
SUPER-FAMÍLIA	VENEROIDEA (RAFINESQUE, 1815)
FAMÍLIA	VENERIDAE (RAFINESQUE, 1815)
SUB-FAMÍLIA	TAPETINAE (GRAY, 1815)
GÉNERO	<u>Tapes</u> (VON MUEHLFELD, 1811)
SUB-GÉNERO	<u>Ruditapes</u> (CHIAMENTI, 1900)
ESPÉCIE	<u>Tapes decussatus</u> (LINNAEUS, 1758)

(Extraído de BORGES M. TEIXEIRA, 1993)

A utilização deste bivalve no presente trabalho tem a ver com o facto de T. decussatus se apresentar como uma das espécies de maior interesse comercial em vários países europeus, incluindo Portugal.

Assim, em 1992, o preço de venda ao público destes animais no nosso país, foi de 2370 escudos por kg (BORGES M. TEIXEIRA, 1993), valor esse que no presente ano se elevou para 2593 escudos (observação pessoal).

Convém referir que os preços praticados se, aplicaram a animais com um tamanho compreendido entre os 35 e os 40 mm.

Este aspecto, aliado à crescente procura de que a espécie tem sido alvo, e à função social que desempenha no nosso país a sua cultura, já que grande número de pessoas se encontram directa, ou indirectamente ligadas ao sector, justifica todo e qualquer esforço de investigação, no sentido de melhorar os rendimentos das culturas existentes. Este esforço passa pela tentativa de substituir completamente, ou pelo menos, parcialmente, as tradicionais dietas algais por dietas artificiais menos dispendiosas, uma vez que (como foi referido anteriormente), as primeiras se apresentam como uma das principais causas de encarecimento do processo de cultura.

A zona de maior produção deste bivalve no nosso país é a Ria Formosa, no Sotavento Algarvio, existindo 1500 viveiros que ocupam uma área de 1000 ha. Existem, no entanto, outros locais ao longo da costa portuguesa com potencialidades para a cultura destes bivalves. Podem citar-se os estuários do Tejo e do Sado, a Lagoa de Óbidos, a ria de Aveiro, e mais a Norte, estuários como os dos rios Mondego, Lima e Minho, bem como salinas reconvertidas para a Aquacultura (Aveiro, Meadela) (BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

Recentemente, segundo o autor citado, nas rias Formosa e de Alvor, têm ocorrido mortalidades anormais de T. decussatus, com taxas de mortalidade da ordem dos 80 % em alguns viveiros, por causas ainda não esclarecidas. Por este facto, os níveis de produção têm decaído muito no nosso país, com repercursões económicas bastante desfavoráveis.

1.2 - Considerações gerais sobre os aspectos anatómicos e fisiológicos de Tapes decussatus relacionados com a sua alimentação.

A ameijoia boa Tapes decussatus é um molusco pertencente à classe BIVALVIA, a qual inclui, além das ameijoas, os mexilhões e as ostras.

As ameijoas, contrariamente às ostras e aos mexilhões, possuem na parte posterior do corpo uma abertura ventral modificada designada por sifão inalante, e uma outra dorsal designada de sifão exalante.

De acordo com BORGES M. TEIXEIRA (1993) estas duas estruturas estão directamente relacionadas com a alimentação destes bivalves, sendo através do sifão inalante que ocorre a entrada de água com possíveis partículas alimentares, para o interior do animal, e por onde é expulso o material rejeitado - as pseudofeces. Pelo sifão exalante ocorre a expulsão dos produtos resultantes da digestão, bem como do material não digerido.

As brânquias para além de efectuarem trocas gasosas directamente com a água circundante, e de acumularem reservas, estão igualmente relacionadas com o processo alimentar. São constituídas por uma estrutura filamentosa, com glândulas mucosas e abundantes cílios, que permitem criar, com o seu batimento, correntes de água que levam o oxigénio e os alimentos.

É pela filtração das partículas alimentares (microalgas, detritos ou bactérias), realizada pelos cílios branquiais, que tem início o processo de nutrição nos bivalves jovens e adultos.

Segundo o autor referido, a selecção das partículas filtradas parece estar relacionada, apenas, com o tamanho das mesmas e com as características dos filtros ciliares.

Assim, o alimento que possua características adequadas à filtração é envolvido, a nível das brânquias, por muco e, empurrado para os palpos labiais, onde é conduzido para a boca. Chega depois ao estômago, onde existe um estilete cristalino, que contém enzimas digestivas (KUKENTHAL, MATTHES & RENNER, 1986), responsável pela acção mecânica e química a que as partículas vão ser sujeitas.

No estômago, ocorre nova selecção do alimento, sendo as partículas mais finas dirigidas para os túbulos da glândula digestiva, que circunda o estômago, e que é também designada por hepatopâncreas. Ocorre, então, a absorção e uma nova digestão, com a diferença de esta ser intracelular.

As partículas não digeríveis são conduzidas para o intestino, onde vão formar as fezes, que conjuntamente com a urina, são, como já foi dito, expelidas pelo sifão exalante.

Caso as partículas que cheguem às brânquias, possuam diâmetro ou peso excessivo, ou ainda, no caso de existirem em concentrações elevadas, serão envolvidas por muco e rejeitadas, constituindo as pseudofezes, que são expulsas pelo sifão inalante (BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

Os Venerídeos são animais que apresentam, normalmente, sexos separados, estando dependente o aspecto e estrutura das gónadas, da idade do organismo e da época do ano.

Admite-se que a maturação sexual ocorra para um determinado indivíduo mais em função do seu tamanho do que da sua idade (CAMACHO, 1980).

A quantidade de ovos postos é normalmente muito elevada, podendo haver um ou mais períodos de postura ao longo do ano, os quais dependem da temperatura e da espécie.

De modo idêntico à maior parte dos bivalves, a fecundação é externa, e o embrião que se forma passa por diversos estados (larva trócofora, velígera, jovem), até atingir a fase adulta .

1.3 - Alimentação natural e artificial de Tapes decussatus

1.3.1 - Microalgas

Tem-se especulado bastante acerca das fontes alimentares dos bivalves no meio natural e, embora existam provas de que estes organismos possam satisfazer algumas das suas necessidades nutricionais através da utilização de compostos orgânicos dissolvidos na água ou pela ingestão de material detritico, a maior parte dos investigadores concorda que o fitoplancton é a principal fonte alimentar dos bivalves filtradores (UKELES, 1971).

Como até ao momento, uma substituição de microalgas por alimentos inertes ainda não é viável para o caso dos moluscos bivalves, a fonte alimentar tradicionalmente empregue e que conduz a resultados mais consistentes em experiências de nutrição com estes animais, são precisamente as microalgas vivas, embora como já foi referido anteriormente, estas sejam as principais responsáveis pelo encarecimento da produção destes animais.

Apesar de na literatura se encontrarem dados muitas vezes contraditórios e confusos quanto à utilidade de determinadas espécies de microalgas como alimento, conseguiu-se chegar a um critério geral, definidor das características que permitem considerar uma determinada espécie fitoplanctónica como fonte potencial de alimento para bivalves. Assim, ela terá de possuir um tamanho adequado à

filtração, ter uma parede celulósica digerível, não ser tóxica e apresentar uma composição bioquímica geral o mais adequada possível às necessidades dos moluscos.

A composição química das microalgas é naturalmente um dado de extremo interesse para apreciar o seu valor nutritivo. Todavia, parece não ser abundante e generalizável a bibliografia sobre este assunto. De facto um dos trabalhos mais completos encontrado à cerca desta matéria foi o de PARSONS *et al.*, reportando-se a 1961, o qual abrange cinco grandes grupos de microalgas (CHLOROPHYTA, CHRYSOPHYTA, BACILLARIOPHYTA, DYNOPHYCEAE e MYXOPHYCEAE). Deste trabalho conclui-se que as proteínas são o constituinte orgânico principal das microalgas estudadas (à excepção dos Dinoflagelados), diferindo, no entanto, a quantidade existente, consideravelmente, entre as espécies analisadas.

A literatura da especialidade existente sugere também que a composição em aminoácidos das proteínas microalgais é bastante semelhante em todas as espécies, não sendo, então, provável que as diferenças na qualidade nutricional das espécies fitoplanctónicas se devam a variações da composição em aminoácidos (WEBB & CHU, 1981). No entanto, as conclusões tiradas a respeito da importância dos aminoácidos são baseadas mais numa análise subjectiva dos dados experimentais, do que numa determinação quantitativa rigorosa (WEBB & CHU, 1981).

Relativamente aos carboidratos, verificou-se que a sua composição é semelhante entre as espécies microalgais estudadas, não devendo existir, então, uma relação directa entre o valor nutricional das microalgas e o seu conteúdo em carboidratos (WEBB & CHU, *op. cit.*).

A maior parte das espécies microalgais analisadas apresenta ácidos gordos saturados numa percentagem de 15 a 64 % do total dos lípidos, dominando os ácidos 14:0 e 16:0. Os ácidos gordos insaturados representam a maior parte dos ácidos gordos algais, predominando as séries C16, C18, C20 e C22. Existe, no entanto, alguma variação no tipo de lípidos entre os diferentes taxa microalgais. Por exemplo, as microalgas verdes têm mais ácido linoléico (18:2) e nas diatomáceas, o ácido linoleico (18:2) é um constituinte menor, sendo mais representativos os ácidos palmítico (16:0) e o hexadecenoico (16:1) (BORGES, 1989).

A presença de alguns ácidos gordos poliinsaturados de cadeia longa (20:5w3 e 22:6w3), produzidos por certas microalgas, é considerada como essencial para o crescimento e sobrevivência dos bivalves (LANGDON & WALDOCK, 1981 *in*: BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

Por último, convém referir que a composição bioquímica das microalgas está altamente dependente das condições de cultura, tendo especial importância parâmetros como: temperatura, intensidade luminosa, limitações em nutrientes, fonte de nutrientes, pressão osmótica e fase no ciclo de crescimento (BORGES M. TEIXEIRA, *op. cit.*).

Foi utilizada no presente trabalho uma dieta microalgal mista, composta por duas espécies de microalgas marinhas, *Tetraselmis suecica* e *Phaeodactylum tricornutum*, visto este tipo de dietas serem consideradas mais equilibradas, para os bivalves, já que as deficiências nutricionais de uma ou mais microalgas usadas poderão ser superadas pela presença de outras.

A utilização de *T. suecica* tem a ver com o facto de esta ser uma das microalgas mais vulgarmente empregues pelas instalações de reprodução ("hatcheries") e de engorda ("nurseries"), além de ser relativamente fácil a sua manutenção em cultura, obtendo-se elevadas densidades num curto espaço de tempo. O uso de *P. tricornutum*, deve-se, além deste último aspecto referido para *T. suecica*, ao facto desta ser uma espécie bentónica, tal como *Tapes decussatus*, o que leva a crer que esta possa ser frequentemente utilizada como fonte alimentar no meio natural. De seguida, será feita uma breve descrição de ambas as espécies microalgais, com especial referência para os seus aspectos dimensionais e bioquímicos.

- Tetraselmis suecica BUTCH

É uma microalga marinha pertencente à classe das PRASINOPHYCEAE. É unicelular, móvel, com cor verde, sendo considerada como o flagelado nú marinho mais fácil de cultivar em grande escala, e um alimento bom a razoável em aquacultura (BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

As suas células têm um diâmetro compreendido entre 7 e 10 μ , uma parede celular tipo médio a espesso, mais ou menos rígida, de natureza celulósica. A sua forma é elipsóide a ovóide, lateralmente achatada, possuindo quatro flagelos de igual tamanho.

Segundo FERNÁNDEZ - REIRIZ (1989), esta microalga é composta por 40.80 % de proteínas, 12.30 % de carboidratos e 24.40 % de lípidos, referindo-se estes valores a percentagens de peso orgânico.

- Phaeodactylum tricornutum BOHLIN

É uma microalga marinha pertencente à classe das BACILLARIOPHYCEAE. É unicelular, imóvel, com cor castanha, tendo 3 a 5 μ de largura e 25 a 35 μ de comprimento (CHRETIENNOT-DINET *et al.*, 1986).

Segundo PARSONS *et al.* (1961), esta microalga é composta por 33 % de proteínas, 24 % de carboidratos e 6.6 % de lípidos, referindo-se estes valores a percentagens do peso seco celular.

1.3.2 - Efluentes piscícolas

Os efluentes piscícolas, provenientes da produção intensiva de peixes em instalações apropriadas, apresentam, em termos de constituição, composições semelhantes, podendo, no entanto, variar grandemente a concentração dos mesmos (PILLAY, 1992).

As diferenças que possam existir na qualidade e quantidade dos seus componentes estão relacionadas com determinados factores, tais como:

- a espécie a ser cultivada
- a densidade de animais em cultura
- o tempo de retenção da água nos tanques de cultura e
- o tipo, composição e quantidade de alimento fornecido

Quanto ao último factor e, ao nível da sua composição, convém salientar que, embora existam diferenças significativas na constituição das rações disponíveis no mercado, todas elas contêm como componentes principais, proteínas, carboidratos e gorduras, além de aditivos como, vitaminas e pigmentos.

Actualmente, a Aquacultura em regime intensivo, é considerada como uma actividade poluidora, devido às descargas dos seus efluentes provocarem, nas águas que os recebem, um aumento do teor de sólidos em suspensão e de nutrientes (amónia, nitratos e fosfatos), o que conduz a processos de eutrofização, e logo a reduções nos teores de oxigénio dissolvido. Se estas reduções forem muito significativas, o sedimento torna-se anóxico, o que conduz a alterações importantes nos processos biológicos, químicos e na ecologia dos organismos bênticos (PILLAY, 1992).

Desta forma, a Aquacultura está hoje em dia sujeita a legislação (Decretos-lei 468/71 de 5 de Novembro, 747/86 de 16 de Dezembro, 11/87 de 7 de Abril, 254/87 de 24 de Junho e 27/87 de 7 de Julho), sendo exigido, inclusivamente, um estudo de impacte ambiental, aquando da abertura de novas instalações.

Os principais detritos contidos nos efluentes deste tipo de instalações correspondem, essencialmente, aos provenientes da alimentação, incluindo não só fezes e urina, mas também alimento não consumido. A composição das fezes e da urina está dependente da digestibilidade dos componentes da ração, sendo que a da urina é influenciada, sobretudo, pelos conteúdos proteicos desta (RYCHLY, 1980).

Os principais produtos que compõem as fezes e a urina são do tipo azotado - ureia e amónia, atingindo esta última quantidades elevadíssimas, como se pode ver pelos valores fornecidos por LIAO & MAYO (1984) e WILLOUGHBY *et al.* (1972), os quais referem 28.9 a 32 kg de amónia excretada, por tonelada de alimento consumido em "hatcheries" com culturas de salmonídeos.

Estima-se que, do total de detritos azotados excretados pelo peixe, aproximadamente 11 % sejam eliminados por via fecal e 55 % por via urinária (STEFFENS, 1987 *in*: JARA-JARA *et al.*, 1995).

A quantidade de alimento, que o animal deixa de ingerir, e que passa a fazer parte do material particulado em suspensão, não é de todo fácil de determinar com exatidão, estimando STEFFENS (1987) *in*: JARA-JARA *et al.* (1995) estar entre 3 a 20 % do alimento fornecido, dependendo da técnica utilizada na alimentação. Além deste factor existem ainda, outros dois que influenciam as perdas de alimento, como sejam o comportamento alimentar dos animais e a estabilidade do alimento na água.

Os detritos, provenientes da alimentação (alimento não ingerido, fezes e urina), podem ocorrer nos efluentes sob a forma de matéria orgânica particulada ou dissolvida. A particulada engloba restos de alimento não dissolvido e fezes, enquanto a segunda é composta pelos constituintes solúveis do alimento (ácidos aminados, lípidos, carboidratos e vitaminas), das fezes e da urina.

Aliado ao material detritico encontram-se, geralmente, bactérias que, devido às condições propícias do meio, rapidamente se desenvolvem, atingindo normalmente densidades elevadas.

Estes efluentes, apresentam-se como subprodutos da indústria piscícola, que oferecem boas possibilidades de ser utilizados como suplementos em dietas para bivalves. E isto porque estes animais possuem a capacidade de filtrar, não só o material orgânico particulado, como também o material dissolvido na água.

A capacidade de utilização deste último foi demonstrada por PÉQUIGNAT (1973) em juvenis de *Mytilus edulis* e, mais recentemente, por STEPHENS & MANAHAN (1984), com larvas de *Crassostrea virginica* e adultos de *M. edulis*.

Os bivalves possuem, ainda, a capacidade de utilizar as bactérias, como as presentes nos efluentes, como fonte de alimento.

Experiências realizadas com bactérias usadas isoladamente, ou como suplementos de dietas algais para larvas e adultos de *Mytilus galloprovincialis*, feitas por MARTIN (1976-1978) e MARTIN & MENGUS (1977), permitem concluir a sua utilização por estes animais.

Vários foram os investigadores que usaram os efluentes piscícolas como única fonte de alimento ou, como suplemento de dietas para bivalves. Destacam-se, pelos seus resultados neste campo, SHPIGEL & FRIDMAN (1990), que utilizou efluentes piscícolas provenientes de tanques de terra, como única fonte de alimento da espécie *Tapes semidecussatus*, obtendo, ao fim de 13 meses, um acréscimo de peso de 16.45 g, com taxas de mortalidade da ordem dos 10-12 %. Também GUERRERO & OTERO (1991), analisaram as possibilidades de crescimento e sobrevivência de *T. decussatus*, utilizando um efluente de uma piscicultura na ria Arosa, obtendo igualmente bons resultados. Mais recentemente, MUÑOZ *et al.* (1995) e JARA-JARA *et al.*, (1995) estudaram o crescimento de *Venerupis pullastra* (M.) em efluente de robalo, e de *Ruditapes philipinarum* (REEVE) num efluente de dourada respectivamente. Os melhores resultados foram obtidos em ambos os casos, quando eram empregues maiores fluxos de água residual.

De tudo o que foi dito, poder-se-á concluir que a associação de cultivos de ameijoas, com cultivos de algumas espécies de peixes, como a dourada e o robalo, pode ser entendida não só como uma forma de depurar os seus efluentes (NEORI *et al.*, 1989; CASTRO, 1990; SHPIGEL *et al.*, 1993; SHPIGEL & BLAYLOCK, 1991 *in*: MUÑOZ *et al.*, 1995), mas também como um método de obter bons resultados na engorda de bivalves (SILVA & VALLE, 1993; SHPIGEL & FRIDMAN, 1990 *in*: MUÑOZ *et al.*, 1995).

1.3.3 - Soro de queijo

O lacto-soro, ou mais simplesmente soro, é a parte aquosa que se separa da coalhada no decorrer da fabricação dos queijos.

A maior parte da água do leite encontra-se no lacto-soro, e com ela todas as substâncias solúveis, tais como: lactose, proteínas solúveis, sais minerais e um pouco de matéria gorda.

No queijo, encontra-se a caseína, a maior parte da matéria gorda e os minerais, cujo teor varia em função do pH existente no momento da fabricação.

Na tabela 1 podemos ver, como exemplo, a repartição das matérias secas do leite entre o queijo e o lacto-soro, sendo que o leite utilizado na fabricação de queijo possuía 129 g/l de matéria seca, 38 g/l de matéria gorda e 32 g/l de matéria azotada.

Tabela 1 - Repartição das matérias secas do leite entre o queijo e o lacto- soro.

Lacto-soro	Queijo
66 g de matéria seca	63 g de matéria seca
49 g de lactose	34 g de matéria gorda
8 g de proteínas solúveis	26 g de caseína
5 g de cinzas	3 g de sais minerais
4 g de matéria gorda	(principalmente Ca e P)

(Extraído de LUQUET, 1985)

Conforme a acidez, podem ser distinguidos dois tipos de soro: ácido e doce, sendo esta designação atribuída para valores de pH mais próximos de 7.

O lacto-soro utilizado neste trabalho, é do tipo doce (pH - 6.5) e provém do fabrico do queijo St. Paulin até ao 1º dessoramento (pasta prensada não cozida).

A sua composição geral, em percentagem de matéria seca e de minerais, encontra-se apresentada na tabela 2. De referir que esta composição, para o 1º dessoramento, é em tudo idêntica à do queijo tipo Edam, mais conhecido (Eng^a Zulmira Coelho, DRAEDM, comunicação pessoal).

Tabela 2 - Composição do lacto-soro proveniente do fabrico do queijo tipo St. Paulin (1º dessoramento) em termos de percentagem de matéria seca e de minerais.

Lacto-soro			
Matéria seca em %		Minerais em %	
Lactose	75	Cálcio	0,65
Proteínas	13,5	Fósforo	0,65
Cinzas	8,5	Cloretos (ClNa)	2,5
Ácido láctico	2		
Matéria gorda	1		

(Extraído de LUQUET, 1985)

As proteínas presentes no soro possuem considerável interesse devido ao seu elevado valor nutritivo. A sua composição em aminoácidos essenciais é muito rica, sobretudo em lisina e leucina como se pode ver na tabela 3, que refere a composição em aminoácidos essenciais da proteína do soro e do queijo (caseína).

Tabela 3 - Composição em aminoácidos essenciais da proteína do soro e do queijo (caseína), em g por 100 g de proteína.

Aminoácidos	Proteína do soro (g/100g de proteína)	Proteína do queijo (g/100g de proteína)
Isoleucina	6,55	5,80
Leucina	14,00	9,50
Lisina	10,90	7,60
Metionina	2,35	2,95
Cistina	3,15	0,45
Fenilalanina	4,05	5,40
Tirosina	4,80	5,70
Treonina	6,70	4,00
Triptofano	3,20	1,30
Valina	6,85	6,80
Total	62,55	49,45

(Extraído de LUQUET, 1985)

Durante muitos anos, a utilização ou o tratamento do lacto-soro não era tomada em consideração aquando da fabricação dos queijos. Por conseguinte, caso o soro proveniente das queijarias fosse conduzido para o esgoto público sem qualquer tratamento prévio, o impacto ambiental provocado por essas descargas traria consequências bastante negativas.

Por exemplo, estima-se que 50.000 litros de soro provoquem a mesma poluição, que uma cidade com cerca de 25.000 habitantes, e isto porque um litro de soro ocasiona uma carência biológica de oxigénio de 30 a 45 g/l, sendo necessários 4.500 litros de água não poluída para anular o efeito causado por essa quantidade de soro (LUQUET, 1985).

A implantação de pocilgas nas proximidades de queijarias, foi uma das soluções encontradas para minorar este problema, não se mostrando, no entanto, eficaz, pois, para além de apresentar inconvenientes no plano higiénico, apenas resolvia parcialmente o problema da poluição.

Actualmente, o lacto-soro é empregue, na sua forma mais simples, como alimento para o gado, ou sob uma forma mais elaborada, em produtos farmacêuticos ou dietéticos.

A sua aplicação em Aquacultura, nomeadamente como suplemento para moluscos bivalves, tem vindo a ser testada por alguns investigadores, devido ao seu elevado valor nutritivo (como já referido) e ao baixo custo comercial, o qual se deve ao facto do soro de queijo ser um abundante subproduto das indústrias de lacticínios.

A digestão e utilização desta matéria por parte dos bivalves parece ser possível devido ao facto de grande número destes produzirem a enzima B-galactosidase (KRISTENSEN, 1972 *in*: URBAN, 1982), capaz de quebrar a ponte existente entre as várias moléculas de glucose e galactose que constituem a lactose.

Podem também intervir neste processo bactérias existentes em suspensão no soro ou no sistema digestivo dos bivalves, devido a algumas (ex: *Escherichia coli*) poderem ser induzidas pela lactose a produzir B-galactosidase (URBAN, 1982).

Assim, LUNDE (1973) *in*: URBAN (1982) utilizou soro para suplementar as microalgas fornecidas numa dieta para larvas de *Crassostrea gigas*, com bons resultados. Contudo, o uso isolado da lactose, demonstrou produzir um acréscimo insatisfatório no crescimento quando usada na alimentação larvar de *Mercenaria mercenaria* (CHANLEY & NORMANDIN, 1967 *in*: URBAN, 1982).

Mais recentemente, URBAN (*op. cit.*), utilizou soro proveniente da indústria de lacticínios, como suplemento de dietas para *Crassostrea virginica*, obtendo bons resultados com a posterior adição de caulino. Este soro continha 75 % de lactose, 12 % de proteínas, 10 % de cinzas, 3 % de ácido láctico e quantidades elevadas de vitaminas A e B. Não foram encontradas referências à cerca da utilização deste subproduto na alimentação de *Tapes decussatus*.

Será, portanto, de todo o interesse realizar experimentação que permita determinar o papel deste subproduto como dieta, ou suplemento das dietas para outros tipos de bivalves, além dos anteriormente referidos, já que até hoje pouco ou nada tem sido feito nesse sentido.

1.3.4 - Borra de café

Nos nossos dias, o café, além de bebida social, é um hábito alimentar da maioria dos portugueses e que se encontra em franca ascensão - basta atentar no número de cafetarias que abrem, quase diariamente, na nossa região. Desta forma, deparamo-nos actualmente com um crescente aumento do subproduto resultante da preparação da bebida café, tendo sido essa uma das razões que levaram à sua utilização no presente trabalho.

Entre o grão de café, sem qualquer tratamento prévio, e a bebida propriamente dita, existem estados intermédios, tais como: torrefacção do grão, moagem do mesmo e infusão com água para a obtenção do produto final.

O produto utilizado no presente trabalho é usualmente designado por borra de café, situando-se no final dos estados anteriormente referidos. Desta forma, a borra será, nada mais nada menos, do que o pó de café que resta após a água utilizada na preparação da bebida ter passado por este, e terem sido extraídas parte das substâncias que o constituíam.

Não foi encontrada qualquer bibliografia que referisse a composição química deste subproduto. Por isso, recorreu-se às composições dos estados anteriores e da bebida, a fim de tentar formular a sua própria composição.

Assim, por exemplo a água, é um componente especialmente importante do café e seus produtos, estando presente em cerca de 10-13 % (w/w) no grão colhido, enquanto que no grão torrado podem ser encontrados valores até 5% (w/w) (CLARKE, 1989). Estes teores, estão, no entanto, dependentes da temperatura e humidade do ar, com as quais os diferentes produtos estiveram ou estão em contacto.

Relativamente aos conteúdos em água dos extractos de café, poder-se-á referir que os extractos líquidos resultantes do processo de extracção feito a partir do café torrado, apresentam uma variada gama, situada entre o teor mais elevado de 99 % (w/w) nos extratos obtidos através de processos caseiros, e um teor mais baixo, de 30 %, após ser sujeito a processos de evaporação (CLARKE, 1989).

Estimar os teores em água na borra do café apresenta-se como uma tarefa difícil, visto estes estarem dependentes do processo de obtenção da bebida e, sobretudo, da temperatura e humidade do ar presentes no local de armazenamento.

Relativamente às substâncias minerais, estas encontram-se presentes no café a um nível relativamente baixo, não deixando, no entanto, de se apresentarem como substâncias importantes.

O conteúdo em minerais presentes nas cinzas obtidas a partir do café não torrado, é em média, de cerca de 4 % do peso seco destas, sendo o potássio o seu maior constituinte, representando 40 % daquele teor (CLARKE, 1989). O cálcio e o magnésio estão igualmente presentes, mas em menores quantidades, bem como elementos não metálicos tais como, o fósforo e o enxofre.

Todos os teores referidos, estão dependentes, no entanto, da origem e métodos de processamento do café.

Encontram-se apenas disponíveis alguns dados referentes ao conteúdo em cinzas do café torrado, estando este dependente do grau de torrefacção e, sobretudo, das perdas de matéria seca, as quais não são usualmente determinadas.

Não é, contudo, esperado que haja alguma perda em termos de constituintes minerais durante a torrefacção, excepto no caso do enxofre e do fósforo, as quais ocorrem num pequeno grau. O potássio, apresenta-se novamente como o elemento metálico, presente em maior quantidade nas cinzas (41 %).

Estima-se que na preparação da bebida caseira, a partir do café torrado, pelo menos 90 % dos constituintes (e mais concretamente o potássio), sejam extraídos deste e passem a fazer parte da bebida ficando possivelmente os 10 % que restam, retidos na borra.

O café não torrado, é composto por uma gama de diferentes carboidratos, repartidos pelos grupos dos polissacarídios e pelos açúcares de baixo peso molecular, os quais incluem tri, di e monossacarídios. Estes podem, ainda, ser divididos em açúcares redutores e não redutores, sendo a sacarose o principal açúcar livre presente no café não torrado.

As quantidades encontradas de açúcares redutores são, geralmente, muito pequenas, registando-se, apenas, vestígios de arabinose, manose, galactose, ribose e ramosa, verificando-se, no entanto, níveis elevados de glicose e frutose.

Os polissacarídios, são constituintes importantes do café não torrado, estando presentes em quantidades de 40-50 % peso seco (TRUGO, 1989). Segundo o autor citado, estes polissacarídios serão glucano, manano e arabinogalactano.

As pectinas presentes tendem a ser misturas ou combinações de vários polissacarídios, sendo o galacturonano o seu maior componente. Dados precisos àcerca do conteúdo em pectinas no café são escassos, embora quantidades até 3 % sejam possíveis (TRUGO, 1989).

No processo de torrefacção ocorrem algumas alterações nos carboidratos, dependendo essas do grau atingido. Assim e, no que diz respeito aos açúcares de baixo peso molecular, podemos referir que a sacarose é rapidamente perdida, mesmo no café menos tostado, onde apenas 3-4 % do conteúdo inicial permanece no café torrado. Numa torrefacção média, apenas deverá permanecer 1%, enquanto, que na mais severa, a sacarose é completamente perdida.

Outros açúcares simples presentes, particularmente a arabinose, glucose e frutose, são igualmente destruídos no processo, existindo, contudo, algumas evidências de que poderá haver algum incremento dos dois últimos nos estados iniciais de torrefacção, devido à inversão da sacarose.

Existe, igualmente, uma considerável perda em peso de polissacarídios, a qual aumenta com o incremento da temperatura, provocando ainda algumas modificações na solubilidade e estrutura dos mesmos. Contudo, os dados existentes apontam para que 75 % dos polissacarídios permaneçam, no grão de café submetido a uma torrefacção média (TRUGO, 1989).

Aquando da preparação da bebida, e no caso de serem empregues temperaturas da água entre 80 e 100°C, não ocorre extracção exaustiva de polissacarídios do grão torrado, ficando o restante a fazer parte da borra.

No entanto, nas extracções com temperaturas superiores a 100°C, e sob condições de pressão, são obtidas, na bebida, quantidades substancialmente maiores de polissacarídios registando-se, contudo, apenas um ligeiro incremento de monossacarídios relativamente a temperaturas inferiores.

No que respeita aos componentes azotados presentes no café, sabe-se que estes se encontram divididos em três grupos principais, nomeadamente: os alcaloides (entre eles a cafeína), a trigonelina (juntamente com o ácido nicotínico), as proteínas e aminoácidos livres.

Durante a torrefacção, as perdas de cafeína são relativamente pequenas, a não ser que sejam empregues rigorosas condições de temperatura, que ultrapassem o seu ponto de sublimação (178°C).

Uma vez que a solubilidade da cafeína na água aumenta rapidamente com a elevação da temperatura, e que para a obtenção da bebida café, a partir do grão torrado, são necessárias temperaturas de água elevadas, é possível, então, que toda a cafeína passe para a bebida, não devendo estar, por isso, presente na borra.

Para além dos alcaloides, foram apontadas como fazendo parte do café outras bases azotadas, que se podem classificar em dois grupos: as que são inerentemente estáveis nas temperaturas de torrefacção (amónia, betaína e colina), e as que são imediatamente decompostas, originando componentes voláteis (amidas de serotonina e trigonelina).

A trigonelina é rapidamente degradada durante a torrefacção, tendo sido verificadas perdas da ordem dos 50 a 80 %, as quais dependem da temperatura e demora do processo.

A percentagem que não é degradada será completamente extraída para a bebida, aquando da sua preparação, não devendo estar por isso presente na borra.

Também o ácido nicotínico é muito solúvel na água, principalmente com temperaturas elevadas, sendo por isso praticamente todo extraído para a bebida, não aparecendo, portanto, na borra.

Relativamente às proteínas presentes no café não torrado, estas encontram-se sob duas formas: ligadas a polissacarídeos nas paredes das células, ou livres no citoplasma.

Estima-se que estas proteínas estejam presentes num valor médio de 11.5 % (peso seco), fazendo parte de duas fracções: a solúvel na água, da qual faz parte a albumina, e a insolúvel.

As elevadas temperaturas às quais o grão é sujeito durante a torrefacção vão desnaturar e degradar as proteínas, produzindo-se fragmentos de baixo peso molecular, podendo ainda estas reagir com carboidratos e compostos fenólicos. As perdas no teor proteico dependem da severidade do processo de torrefacção, sendo usualmente da ordem dos 20 a 40 %, embora possam exceder os 50 % sob condições severas (MACRAE, 1989).

Existem, apenas, informações escassas acerca do conteúdo proteico das bebidas de café, dos extractos e do café instantâneo. No entanto, sabe-se que as proteínas desnaturadas no processo anterior, se tornam insolúveis, o que impede a sua pronta passagem para os extractos, ficando, possivelmente, a fazer parte da borra.

Além dos aminoácidos componentes das proteínas existem, também, aminoácidos livres, presentes nos grãos de café não tratado. Estes, estão presentes em níveis baixos, da ordem dos 0.15 a 0.25 %, e são destruídos, quase na totalidade, durante a torrefacção dependendo, no entanto, das condições empregues. Mas, também podem estar combinados com outros componentes, resultando daí, uma complexa mistura de componentes voláteis e não voláteis. Visto serem severamente degradados, apenas se encontram vestígios na bebida, e muito provavelmente estarão ausentes na borra de café.

Os lípidos dos grãos de café, são compostos por um óleo (10-15%), presente substancialmente no endosperma, e por pequenas quantidades (0.25% do peso seco) de uma cera localizada nas camadas mais exteriores do grão (FOLSTAR, 1989).

O óleo contém na sua constituição não só triglicerídeos, mas também uma considerável proporção (10 a 18 %) de outros componentes lipídicos, tais como: esteróis, tocoferóis e alcoóis diterpenos, entre outros.

Os teores em óleo do café torrado são superiores aos verificados no grão, devido à perda total de conteúdo da matéria seca durante a torrefacção, onde a perda de material lipídico é menor.

A presença de ácidos gordos livres foi referida por vários autores, como KAUFMANN & HAMSAGAR (1962), os quais referiram valores de 3.14 - 4.16 % para o tostado, não se registando alterações, neste último, quanto à composição dos ácidos gordos.

Dada a virtual ausência de mais referências bibliográficas, não foi possível estimar a composição lipídica da borra.

Visto não ter sido encontrada, uma vez mais, bibliografia que nos desse uma ideia acerca da quantificação e possíveis soluções encontradas para o problema do crescente aumento do desperdício-borra de café, será feita neste item uma referência a um outro tipo de subproduto, proveniente da indústria do café instantâneo, bem como às soluções postas em prática para a resolução do problema de eliminação destes resíduos sólidos.

Nos anos mais recentes verificou-se um incremento no mercado do café instantâneo, que conduziu a um aumento da sua produção e, conseqüentemente, a um aumento de resíduos insolúveis resultantes do processo.

Estes apresentam-se, assim, como subprodutos destas indústrias, constituindo um problema significativo para as mesmas. É difícil, contudo, obter informações precisas acerca da sua extensão, devido à relutância dos industriais em fornecer informações acerca dos níveis e processos de produção.

Uma perspectiva acerca das quantidades deste subproduto, é conseguida atendendo ao facto de se saber que uma tonelada de café liberta 480 kg deste, assumindo-se uma perda de 20 % na torrefacção, e uma eficiência de 40 % (ADAMS & DOUGAN, 1989).

Das diferentes soluções propostas para resolver o problema da eliminação dos resíduos insolúveis resultantes da fabricação do café instantâneo, existem duas que se apresentam economicamente viáveis. São elas: o uso como alimento para animais ou, como combustível.

A primeira solução não é de todo inovadora, visto MORGEM já, em 1918, ter levado a cabo experiências nas quais incorporou 30 % destes resíduos em rações de ovelha, não obtendo, no entanto, resultados satisfatórios.

A sua incorporação em rações de animais foi realizada mais recentemente, sendo o seu uso expandido com o incremento da produção do café instantâneo.

Este subproduto é normalmente recomendado para rações de ruminantes, devido aos seus elevados teores em fibras, sendo usado em níveis de até 7.5 %, limitando o seu ligeiro sabor amargo, as quantidades utilizadas.

Desde 1970 que, aproximadamente, 40.000 toneladas por ano foram consumidas em alimentos para animais, principalmente em rações para vacas e outros ruminantes.

No presente trabalho foi testada a utilização de um outro destes subprodutos, na alimentação de moluscos bivalves, com o intuito de se verificar se este poderia ter ainda potencialidades nutricionais, mesmo que muito baixas, bem como se poderia ou não ser apontado como um substituto do material inorgânico - o lodo esterilizado ("silt") ou o caulino, vulgarmente utilizado com sucesso, em culturas de ostras e mexilhões. Várias foram as experiências que demonstraram que a inclusão de "silt" ou de caulino em dietas algais ou semialgais para *Mytilus edulis* (WINTER, 1975; MURKEN, 1975; KIORBOE et al., 1981) e *Crassostrea virginica* (URBAN, 1982; LANGDON & SIEGFRIED, 1984; URBAN & LANGDON, 1984) era favorável ao seu crescimento.

Visto que, na maioria destes trabalhos, as espécies utilizadas são geralmente mexilhões e ostras, será conveniente explorar esta área de investigação através da utilização de outros bivalves, nomeadamente ameijoas, para as quais pouco tem sido feito até hoje neste campo.

Deste modo a inclusão, nesta experiência, de resíduos sólidos como a borra de café, nas dietas de *T. decussatus*, reveste-se de acrescida importância.

1.4 - Objectivos experimentais

A realização deste trabalho englobará os seguintes objectivos:

- Elaboração de uma dieta microalgal de referência para o bivalve T. decussatus, com especial incidência no aspecto quantitativo, utilizando-se para o efeito microalgas com valor alimentar reconhecido, testadas em diferentes combinações e concentrações.

- Caracterização físico-química de uma das dietas alternativas, efluente piscícola, tendo para esta dieta assim, como para o lacto-soro, sido igualmente avaliado o tamanho das partículas das rações obtidas.

- Avaliação do valor nutricional das dietas alternativas, quer isoladamente, quer em diferentes combinações com o alimento vivo. Esta avaliação foi feita com base nos parâmetros de crescimento (concha e carne), sobrevivência, condição e utilização do alimento pelos animais através do cálculo da taxa de filtração. As dietas com as quais se obtiveram melhores resultados de crescimento, em cada experiência, foram usadas como dietas básicas nas experiências subseqüentes.

- Determinação dos parâmetros físico-químicos do meio de cultura, de modo a conseguir-se o controlo adequado das condições de experimentação.

- Quantificação do número de bactérias heterotróficas, sobretudo nos tanques com lacto-soro, para desta forma se tentar obter uma estimativa da sua contribuição como fonte de alimento.

- De salientar que este trabalho engloba duas perspetivações, novas e importantes na actualidade :

- O incremento da Moluscicultura, mediante o aperfeiçoamento das condições de cultura, por via nutricional.

- O aproveitamento de resíduos/subprodutos, no sentido de os valorizar por um lado e diminuir o seu impacto ambiental, por outro.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho empregámos exemplares da ameijoia boa Tapes decussatus, em fase de semente ("spat"), que foram cultivados de acordo com as condições experimentais adiante referidas.

Estes bivalves foram alimentados com dietas algais e não algais, combinadas entre si ou fornecidas isoladamente, tendo-se, para cada dieta, analisado além dos parâmetros físico-químicos e bacteriológicos da água dos tanques, o crescimento, mortalidade, índices de condição e taxas de filtração dos indivíduos cultivados.

2.1 - Animais experimentais

As sementes ("spats") da ameijoia boa Tapes decussatus (L.), com idade aproximada de 150 dias, foram obtidas numa "hatchery" espanhola - A Ostreira, S.A., situada na localidade de Malpica, La Coruña, sendo transportadas para a Estação de Zoologia Marítima, Dr. Augusto Nobre - Porto (FCUP), onde tiveram lugar os vários ensaios experimentais.

Os animais foram mantidos à temperatura ambiente, em água do mar filtrada (14°C, 30‰ Salinidade - 1ª experiência ; 17°C, 34 ‰ Salinidade - 2ª experiência e 22°C, 32 ‰ Salinidade - 3ª experiência), durante dois dias antes de cada experiência, para assegurar a eliminação dos conteúdos estomacais.

A média inicial do peso fresco individual foi de 22.21500 ± 2.66438 mg e, o comprimento médio de 4.47500 ± 0.18942 mm na experiência 1 e na experiência 2 foi de 24.32417 ± 2.10555 mg e de 4.32130 ± 0.30116 mm; já para a experiência 3 se registaram valores de 13.05667 ± 1.06425 mg e 3.68400 ± 0.29003 mm, para o peso e comprimento respectivamente.

Foram utilizados bivalves de pequenas dimensões, devido a estes apresentarem taxas de crescimento relativamente elevadas (LANDE, 1973 in: LANGTON & WINTER, 1975), além de se conseguir satisfazer mais facilmente o consumo de alimento, quando comparado com animais de maiores dimensões. Este é também o tamanho utilizado para início de operação de pré-engorda nas "nurseries", nas quais se desenrola a fase mais crítica da cultura controlada, e a mais exigente em termos nutricionais.

Grupos com 300 indivíduos cada foram escolhidos casualmente, a partir de uma população de tamanho e peso semelhantes sendo, deste modo, evitada logo de início, a introdução de diferenças significativas entre os vários grupos experimentais.

2.2 - Condições experimentais

Cada grupo de 300 indivíduos foi colocado em cilindros de PVC (11 cm de diâmetro; 7.5 cm de altura) providos na sua base de uma rede de plástico com malha de 2 mm, e de um sistema de air-lift, com o qual se obteve nos cilindros uma circulação de água de baixo para cima. Os cilindros foram suspensos em tanques rectangulares de PVC (40 x 30 x 16.5 cm), mantidos à temperatura ambiente e em sistema fechado, com uma capacidade de 15 litros (experiência 1). Nas restantes experiências (2 e 3), os tanques utilizados diferiram dos anteriores em relação ao tamanho e à capacidade. Estes últimos

apresentaram menores dimensões (34.5 x 28.5 x 13 cm), e conseqüentemente uma menor capacidade (10 litros).

Os referidos tanques foram utilizados na montagem de um sistema, que tinha por finalidade manter constante a temperatura da água no seu interior, evitando desta forma as oscilações verificadas na 1ª experiência, na qual se atingiram, por vezes, valores muito baixos (10°C).

A temperatura escolhida foi de 18°C devido a esta ser considerada como a mais adequada ao desenvolvimento da espécie em causa (BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

O sistema experimental, era constituído por um aquário de vidro (130 x 65 x 37 cm) preenchido com água doce até meia altura, no interior do qual eram colocados os tanques descritos anteriormente. Estes encontravam-se em cima de suportes que os mantinham a 7 cm da base. A água do aquário era aquecida por intermédio de um termorregulador, programado para 19°C, de modo a manter a temperatura no interior dos tanques a 18°C. O motivo para a utilização de tanques de menores dimensões, relativamente aos usados na experiência 1, deve-se ao facto destes possuírem um tamanho que permitia que um maior número destes recipientes pudesse ser colocado no interior do aquário de vidro, bem como devido a ser mais rápida e menos dispendiosa a manutenção da temperatura da água constante, uma vez que se utilizava um menor volume desta.

Os volumes de água do mar colocados em cada tanque experimental, foram de 12 litros para a 1ª experiência e de 8 litros para as restantes, tendo sido empregues dois cilindros com bivalves para cada dieta.

Em cada tanque foi colocado um arejador não só, para que a percentagem de oxigénio dissolvido na água, permanecesse elevada e sensivelmente constante, mas também para evitar a deposição das microalgas e das partículas dos suplementos no fundo dos tanques.

A água dos tanques foi substituída por água limpa duas vezes por semana na experiência 1 e três vezes por semana nas restantes, devido ao volume empregue ser inferior.

A água do mar utilizada, cuja salinidade variou entre 30 ‰ e 36 ‰, foi mantida durante cerca de 12 horas em taques de sedimentação, sendo de seguida filtrada através de filtros de cartucho de poro de 10, 5, e 1 µ antes de ser usada em cada experiência.

2.3 - Alimento

2.3.1 - Microalgas

As duas espécies de microalgas utilizadas nas dietas microalgais foram: a diatomácea Phaeodactylum tricornutum BOHLIN e a clorófito Tetraselmis suecica BUTCH.

A cultura destas espécies foi monoespecífica e realizada em balões de vidro de 6 litros, mantidos em constante agitação. Sobre os balões incidia uma luz contínua, tendo sido, para o efeito, montados dois conjuntos de lâmpadas: duas lâmpadas PHILIPS 36 W de luz branca fluorescente e uma GROLUX 36 W de espectro violeta por cima dos recipientes, e por baixo dos mesmos, quatro lâmpadas PHILIPS 36 W, igualmente de luz branca fluorescente.

Estas culturas foram efectuadas numa sala termostata, de modo que a temperatura ambiente foi controlada e mantida sensivelmente constante (22°C).

A água do mar usada na cultura foi filtrada através de filtros de cartucho de 10, 5 e 1 µ e previamente esterilizada em autoclave a 120°C durante 20 minutos, antes de ser utilizada.

As culturas realizadas foram não axénicas, embora se tivesse o cuidado de as manusear perto da chama, para evitar contaminações.

O meio de cultura utilizado foi o de FÁBREGAS *et al.* (1985), que tem a seguinte composição: Bloco 1: No_3Na 17g; $\text{Po}_4\text{NaH}_2\text{H}_2\text{O}$ 1.6g; TRIS 1.8 g; Ajuste de pH 7.2-7.4; H_2O destilada 600 ml.

Bloco 2: Citrato férrico 0.67g; EDTA 0.67g; H_2O destilada 200 ml.

Bloco 3: Tiamina 3.5 mg; Biotina 0.5 mg; B12 0.3 mg; H_2O destilada 100 ml.

Bloco 4: Cl_2Zn 13.6 mg; $\text{Cl}_2\text{Mn}_4\text{H}_2\text{O}$ 19.7 mg; $\text{MoO}_4\text{Na}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 24.2 mg; $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.375 mg; $\text{So}_4\text{Cu}_5\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 2.49 mg; EDTA 238 mg; H_2O destilada 100 ml.

Foram adicionados 10 ml deste meio, por cada litro de água do mar utilizada.

As microalgas *Phaeodactylum tricorutum* - 2.0×10^{-8} mg peso seco/célula, (NELL & O'CONNOR, 1991) e *Tetraselmis suecica* - 5.2×10^{-8} mg peso seco/ célula, (NELL & O'CONNOR, 1991) foram adicionadas às culturas de bivalves numa mistura, com a proporção de duas partes de *P. tricorutum*, para uma de *T. suecica* (como peso seco), fornecidas uma vez por dia, utilizando-se como alimentadores garrafas de soro fisiológico invertidas.

As rações diárias foram calculadas tendo como base 2.5 % do peso fresco total de indivíduos por tanque (COUTTEAU *et al.*, 1990; BORGES *et al.*, 1995), o que, correspondeu a uma concentração máxima de 9.79×10^5 células/ml de *P. tricorutum* e de 1.88×10^5 células/ml de *T. suecica* (experiência 1), 1.47×10^6 células/ml de *P. tricorutum* e 2.83×10^5 células/ml de *T. suecica* (experiência 2); finalmente, para a experiência 3, a concentração microalgal máxima foi de 8.38×10^5 células/ml de *P. tricorutum* e 1.63×10^5 células/ml de *T. suecica*.

As quantidades de microalgas fornecidas a cada tanque, em cada experiência, encontram-se referidas no capítulo relativo à apresentação dos resultados experimentais.

A concentração das culturas microalgais foi determinada antes do seu fornecimento, utilizando-se para o efeito um hemocitómetro (câmara de Neubauer).

Na experiência 1, e apenas durante os primeiros quatro dias, foi fornecida, conjuntamente com *T. suecica* e *P. tricorutum*, e na proporção de 1:1:1, a diatomácea *Chaetoceros calcitrans* que apresentava 2.0×10^{-8} mg peso seco/célula (GERDES, 1983).

A concentração máxima de células presentes nos tanques de cultura dos bivalves durante esse período, foi de 5.0×10^5 células/ml de *P. tricorutum*, 1.88×10^5 células/ml de *T. suecica* e 1.88×10^5 células de *C. calcitrans*.

O modo de cultura desta microalga foi igual ao referido para as outras duas espécies, tendo-se posteriormente, abandonado a sua utilização, uma vez que todas as culturas realizadas acabaram por colapsar. É possível que este facto se encontre relacionado com as condições do stock do qual foram retirados os vários inóculos, pois a sua observação microscópica revelou um elevado grau de contaminação bacteriana.

2.3.2 - Soro de queijo

O soro utilizado foi cedido pela Estação Regional de Leite e Lacticínios de Paços de Ferreira (DRAEDM) e provinha do fabrico do queijo St. PAULIN, sendo obtido após o 1º dessoramento da coalhada. Este alimento foi congelado aquando da sua chegada, para desta forma se evitarem alterações na sua composição, sendo descongelado apenas horas antes de ser fornecido como alimento aos bivalves.

Da sua composição destaca-se o seu teor em lactose e proteínas, sendo o primeiro de 49 g/l e o segundo de 8 g/l (Eng^a Zulmira Coelho, DRAEDM, comunicação pessoal).

O volume de soro utilizado por tanque foi calculado com base no seu teor proteico e no teor proteico da dieta microalgal, de modo a que, para uma determinada concentração de microalgas a fornecer, correspondesse um volume de soro com o mesmo teor proteico da ração microalgal.

2.3.3 - Efluente piscícola

O efluente piscícola foi obtido de tanques de cultivo experimental de robalo (*Dicentrarchus labrax* L.), situados no mesmo local onde decorreu este trabalho, os quais continham na totalidade 300 peixes, e uma carga de 2.59 kg/m³. O fluxo registado era de 3 l/min., com uma taxa de renovação total de água de 25 % dia.

O alimento foi fornecido aos peixes duas vezes por dia, sendo do tipo granulado com a seguinte composição: 40-60 % de proteína, 12 % de lípidos, celulose, óleo de fígado de bacalhau e um complexo vitamino-mineral (HELENA PERES, 1996; comunicação pessoal).

Os parâmetros físico-químicos do efluente piscícola utilizado encontram-se registados na tabela 4, e referem-se a valores médios obtidos.

Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos do efluente piscícola utilizado.

Temperatura (°C)	25
pH	7
Salinidade (‰)	34
Nitritos (ug at N- NO ₂ /l)	9,16
Nitratos (ug at N-NO ₃ /l)	67,23
Fosfatos (ug at P-PO ₄ /l)	39,54
Silicatos (ug at S-SO ₃ /l)	0,72
Amónia (ug at N-NH ₄ /l)	27,89
Sólidos suspensos totais (mg/l)	33,95
Sólidos voláteis (mg/l)	29,55

(MOREIRA, 1996; comunicação pessoal)

2.3.4 - Borra de café

A borra de café utilizada foi obtida num estabelecimento da especialidade, sendo a sua composição química calculada tendo como base um rendimento de 22.8 ± 0.3 % para a extracção,

ocorrida no pó de café durante o processo de obtenção da bebida (PICTET, 1989). Essa composição encontra-se referida na tabela 5.

Tabela 5 - Composição química da borra de café, elaborada tendo por base o valor do rendimento para a extração ocorrida no pó de café durante o processo de obtenção da bebida.

Compostos químicos	% de peso seco
Minerais	3,66
Cafeína	1,16
Trigonelina	0,62
Ácidos clorogênicos	1,16
Polissacarídeos	15,02
Oligossacarídeos	2,70
Proteínas	11,55

2.4 - Parâmetros físico-químicos analisados

Os parâmetros temperatura, salinidade, pH e oxigênio dissolvido, foram determinados três vezes por semana: a temperatura, com um termômetro de mercúrio graduado de -10/60 graus centígrados; a salinidade, com um refractômetro (marca YSI); o pH, com uma caneta medidora (modelo A 5050, F. Ribeiro Lda.) e o oxigênio dissolvido, com um oxímetro (modelo WTW OXI 91).

Os pigmentos (clorofila a, b e c) e os níveis de amônia presentes na água dos tanques, foram determinados duas vezes por semana, após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento. A amônia, foi doseada através da técnica de KOROLEFF (1983) e os pigmentos, pela técnica referida em STRICKLAND & PARSONS (1972).

A matéria orgânica particulada (MOP) foi avaliada uma vez por semana. Usaram-se na sua determinação, filtros de fibra de vidro Whatman GF/C, com um tamanho de poro de 0.45 μm , previamente lavados, secos (120°C durante 60 minutos) pesados e colocados na mufla (450 °C durante 20 minutos), para eliminação de uma possível matéria orgânica neles contida, sendo pesados novamente no final.

As várias amostras a analisar foram filtradas através de vácuo, lavadas com uma solução de 0.9 w/v de formiato de amônia, para remover os sais presentes na água do mar, sendo de seguida determinada a MOP de acordo com a técnica referida em STRICKLAND & PARSONS (1972).

2.5 - Análises bacteriológicas

A contagem do número de bactérias heterotróficas presentes nos diversos tanques amostrados, foi obtida através da técnica de incorporação em gelose nutritiva, com incubação a 23°C durante cinco dias (SANTOS, 1994).

O meio de cultura utilizado foi Marine Agar (DIFCO), meio este isento de substâncias inibidoras e de indicadores, concebido essencialmente para a determinação do número total de germes na água salgada.

Esta técnica apenas permite quantificar as bactérias viáveis, sendo o resultado expresso em unidades formadoras de colónias por ml (CFU/ml).

O seu número foi determinado utilizando-se a fórmula $X \times 1/f.d. \times 1/V$, sendo que:

X - média de CFU das placas de petri usadas em cada diluição

f. d. - factor de diluição

V - volume de amostra em ml

2.6 - Análise das partículas em suspensão

Esta análise foi efectada através da utilização de um contador electrónico de partículas (Coulter Counter Multisizer II). Este aparelho determina o número e tamanho de partículas em suspensão num líquido condutor (ISOTON), através da monitorização da corrente eléctrica entre dois eléctrodos imersos nesse líquido, havendo uma pequena abertura por onde as partículas em suspensão são forçadas a passar.

À medida que cada partícula passa através da abertura, muda a impedância entre os eléctrodos e é criada uma corrente eléctrica de curta duração, com uma grandeza proporcional ao volume da partícula. As séries de movimentos são electrónicamente contadas, sendo estabelecida uma escala para a construção de um gráfico com a curva de distribuição do tamanho das partículas.

Esta análise é extremamente importante em nutrição de bivalves, já que estes são filtradores, dependendo a sua taxa de filtração do número e dimensão das partículas objecto de filtração (WINTER, 1978).

2.7 - Métodos de avaliação do crescimento, mortalidade, índices de condição e taxa de filtração.

Após os dois dias de jejum a que os indivíduos foram sujeitos antes do início de cada experiência, foi determinado o peso fresco individual (60 indivíduos por tanque) e colectivo do grupo de 300 indivíduos colocados em cada cilindro.

As pesagens repetiram-se novamente, a meio e no final de cada experiência, ou seja após 15 e 30 dias de cultura, respectivamente, tendo-se utilizado uma balança electrónica (A & D instruments, HR-200) com precisão de 0.1 mg, para o efeito.

Antes de cada pesagem, os animais foram enxugados em papel absorvente para, que desse modo, fosse eliminado o excesso de água neles contido, tendo, igualmente sido retirados e registados os indivíduos mortos presentes.

Outro dos parâmetros de crescimento avaliado no início e no final de cada experiência, foi o comprimento (eixo antero - posterior da concha).

Para o efeito, recorreu-se à técnica utilizada por HAINES (1973), que consiste em determinar o comprimento dos indivíduos a partir de fotocópias dos mesmos. Um cuidado prévio a ter com a utilização desta técnica, foi a avaliação de possíveis distorções da imagem, por parte da fotocopiadora.

Esta técnica, apresenta vantagens em relação às medições feitas directamente nos indivíduos, já que não se correm riscos de esmagar os animais aquando da sua medição (o que acontece

facilmente com animais de pequenas dimensões), para além de que estas podem ser efectuadas em qualquer altura e local.

Todas as medições biométricas foram posteriormente obtidas usando sobre a fotocópia uma craveira MITUTOYO, com precisão de 0.01 mm.

O crescimento foi expresso como Taxa de Crescimento Relativa (K) em função do peso fresco total (em mg), peso seco da carne (em mg) e do comprimento (em mm) (WALNE & MANN, 1975), e como Acréscimos Relativos de Crescimento (ARC), com base nos mesmos parâmetros (BORGES, 1984), segundo as fórmulas:

$$K = \ln W2 - \ln W1 / T \text{ em que:}$$

W1- média do peso fresco ou seco inicial

W2- média do peso fresco ou seco final

T- duração da experiência em dias

Para o cálculo de K em função do comprimento, W1 e W2 são substituídos respectivamente pela média do comprimento inicial e final.

$$ARC = \ln l_t - \ln l_o / l_o \times 100 \text{ em que:}$$

l_o- comprimento inicial da concha

l_t- comprimento final da concha

Para o cálculo de ARC em função do peso fresco, l_o e l_t são substituídos respectivamente pela média do peso fresco total (ou seco) inicial e final.

Nas experiências efectuadas, a contagem do número dos indivíduos vivos e mortos, após 15 e 30 dias de experimentação, permitiu estabelecer percentagens de sobrevivência e, concomitantemente de mortalidade para cada dieta.

A mortalidade foi calculada como Taxa Instantânea de Mortalidade mensal, Z_{m30} (WALNE, 1976; MOREIRA, 1978 *in*: BORGES M. TEIXEIRA, 1993), para permitir a comparação dos resultados obtidos com os dados da literatura. A fórmula utilizada foi a seguinte:

$$Z_{m30} = \ln N1/N2 \times 30/At \text{ em que:}$$

N1- número inicial de indivíduos

N2- número final de indivíduos

At- duração da experiência em dias

No final de cada experiência foi retirada uma amostra de 20-30 indivíduos de cada um dos tanques, para o cálculo do índice de condição (IC) segundo MANN & GLOMB (1978). Para esse efeito, removeu-se a carne do interior da concha e ambos foram secos numa estufa a 60°C, até apresentarem peso constante. O índice de condição foi calculado através da equação:

IC = Wd / Ws em que:

Wd- média do peso seco da carne em mg

Ws- média do peso seco da concha em mg

A Taxa de Filtração dos bivalves para as diferentes dietas microalgais, foi determinada através da quantificação do número de microalgas adicionadas diariamente, e do número que permanecia após 24 horas. As amostras retiradas foram preservadas com uma solução de lugol, para posterior observação microscópica.

A determinação do número de células foi feita com um hemocítmetro (câmara de Neubauer), tendo-se tido o cuidado de determinar, separadamente, o número de células das duas espécies microalgais utilizadas como alimento.

A taxa de filtração foi determinada diariamente e, durante 8 dias, para cada dieta alimentar. Para o seu cálculo foi utilizada a seguinte equação (WALNE, 1974):

$TF = V/n \times \log Co - \log Cz / 0.4343 t$, sendo que:

V- volume de água em litros

n- número de indivíduos por tanque

log Co- concentração inicial das partículas no meio

log Cz- concentração final das partículas no meio

t- duração da experiência em horas

Nas dietas não algais, apenas se quantificaram as partículas presentes através de um contador electrónico de partículas (Coulter Counter Multisizer II), para que desta forma se pudesse ter uma ideia do seu número e distribuição por tamanhos.

2.8 - Análises estatísticas

O valor alimentar das dietas foi determinado comparando os comprimentos, pesos frescos totais e secos individuais, registados nos diferentes tratamentos, usando-se para o efeito uma análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida de um teste de comparação múltipla à posteriori, DUNCAN, com um grau de confiança de 95 % ($p < 0.05$).

Deste modo foi possível determinar se os crescimentos obtidos no final de cada experiência, foram ou não significativamente diferentes para cada dieta alimentar.

3 - RESULTADOS

3.1 - Primeira experiência

Na primeira experiência, pretendeu-se avaliar a capacidade nutricional de um efluente piscícola no crescimento (peso fresco total, peso seco da carne e comprimento) de *Tapes decussatus*, quando empregue isoladamente ou combinado com uma dieta microalgal composta por *Tetraselmis suecica* e *Phaeodactylum tricornutum*, numa razão de 1:2 como peso seco, respectivamente.

Foram, ainda, fornecidas várias concentrações da dieta microalgal referida (tabela 8 e 15), na tentativa de determinar a melhor dieta do ponto de vista quantitativo.

Esta experiência engloba duas fases, as quais diferiram apenas no cálculo da ração máxima microalgal diária. Assim, e na primeira fase, esta foi calculada tendo por base 2.5 % do peso fresco total de bivalves por tanque, tendo-se reduzido este valor para metade na segunda.

Os ensaios tiveram a duração de 30 dias em cada uma das fases, tendo sido consideradas as situações de jejum (D1), efluente piscícola (D2), água do mar filtrada com adição de 352.500 mg da dieta microalgal referida (D3) e efluente piscícola combinado com 352.500 (D4), 176.250 (D5) e 88.125 (D6) mg da respectiva dieta microalgal. As situações descritas referem-se à 1ª fase experimental, verificando-se na 2ª, como principal diferença, a redução de todos os teores microalgais empregues para metade. Outra diferença verificada, tem a ver com o facto de na 2ª fase se registarem ligeiras alterações na composição físico-química da água do mar filtrada e do efluente piscícola utilizado (tabelas 7 e 14). Em ambos os casos a temperatura experimental foi de, aproximadamente 13°C.

O alimento foi fornecido diariamente, e a água dos tanques substituída duas vezes por semana.

Os parâmetros físico-químicos determinados (temperatura, pH, oxigénio dissolvido, salinidade, amónia, clorofila a, b e c) foram avaliados duas vezes por semana. A 1ª avaliação foi feita após um dia de ter sido fornecido o alimento aos bivalves, e a 2ª após dois dias, o que explica os números 1 e 2 referidos como dias nos diversos gráficos apresentados. Os sólidos suspensos totais foram apenas determinados uma vez por semana e no 2º dia após ter sido fornecido o alimento.

Os animais utilizados na 2ª fase foram os mesmos da fase anterior, referindo-se os parâmetros biométricos comprimento e peso seco da carne (os quais foram obtidos no final da 2ª fase experimental) a indivíduos da 1ª e 2ª fase. Os pesos frescos totais foram obtidos no final de cada uma das fases.

3.1.1 - 1ª experiência - primeira fase

3.1.1.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques

Os parâmetros temperatura, pH, oxigénio dissolvido e salinidade, registados na água dos tanques durante a 1ª fase desta experiência, encontram-se sintetizados na tabela 6.

Tabela 6 - Características ambientais observadas na água dos tanques de cultura durante o período experimental (1ª experiência, 1ª fase).

Parâmetros físico-químicos	Mínimo	Máximo	Média ± desvio padrão
Temperatura (°C)	10,00	15,00	12,78 ± 1,474
Salinidade (‰)	30,00	36,00	32,17 ± 2,075
pH	6,60	7,20	6,98 ± 0,166
Oxigénio (% saturação)	89,00	96,00	92,33 ± 1,986

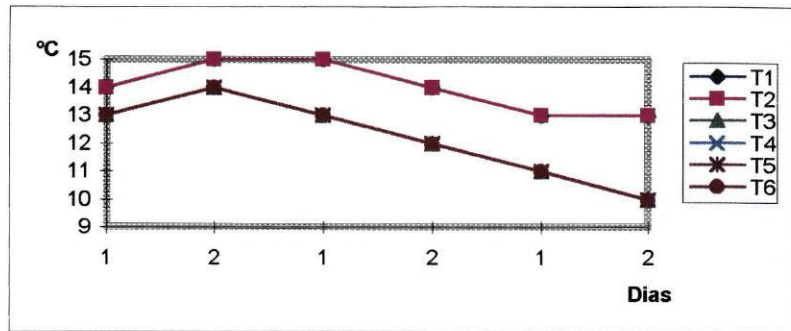
Assim, e relativamente à temperatura da água dos tanques (figura 1A), verificámos que esta sofreu algumas oscilações no decurso da experiência, iniciando-se com um valor de 13-14°C, e atingindo o valor máximo (15°C) na 1ª metade desta. Registou-se, de seguida, um decréscimo até ao final da mesma, obtendo-se como valor mínimo 10°C.

O pH da água de cada um dos tanques (figura 1B) sofreu apenas ligeiras variações ao longo da experiência (0.2 como máximo e 0.1 como mínimo). De uma maneira geral, os valores mais elevados de pH foram observados nos tanques que apresentavam microalgas como parte da dieta.

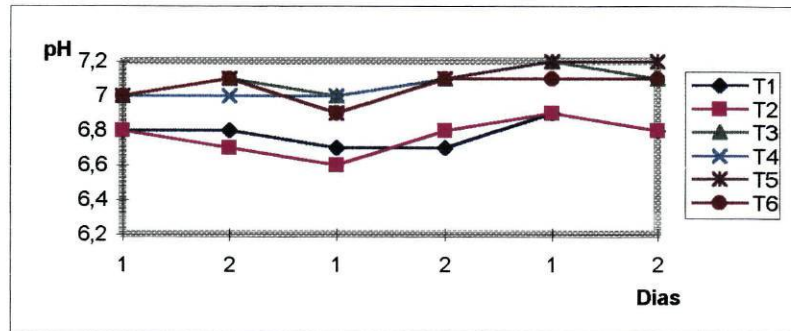
O oxigénio dissolvido na água (figura 1C), embora com algumas oscilações registadas em todos os tanques, apresentou um valor mínimo, já de si elevado, de 89 % de saturação para o tanque 2 (efluente piscícola) e um valor máximo de 96 % de saturação para o tanque 5 (176.250 mg algas + efluente piscícola). Os restantes tanques apresentaram valores intermédios de oxigenação.

A salinidade (figura 1D) sofreu mais variações nos tanques que continham microalgas como parte da dieta, como é o caso do tanque 3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) e do tanque 4 (352.500 mg algas + efluente piscícola), os quais apresentaram ao longo de toda a experiência valores iguais entre si, bem como os tanques 1 e 2, apresentando estes valores mais baixos que os anteriores. Os tanques 5 (176.250 mg algas + efluente piscícola) e 6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), registaram valores que apenas diferiram dos obtidos nos tanques 3 e 4, em duas das determinações efectuadas.

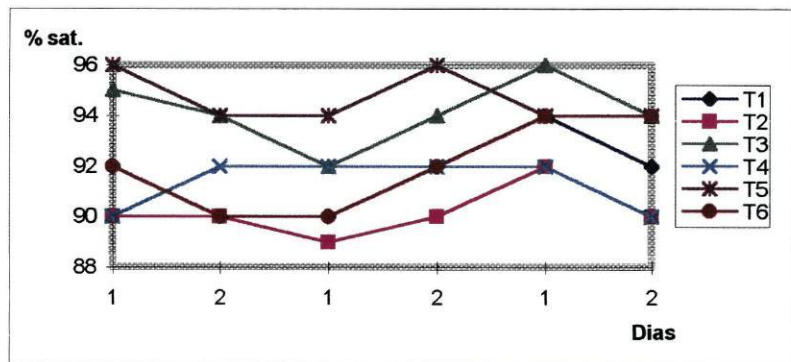
Os valores registados para os parâmetros amónia, pigmentos e sólidos suspensos totais, encontram-se referidos na tabela 7. Dizem respeito a valores médios das determinações efectuadas na água dos tanques após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves.



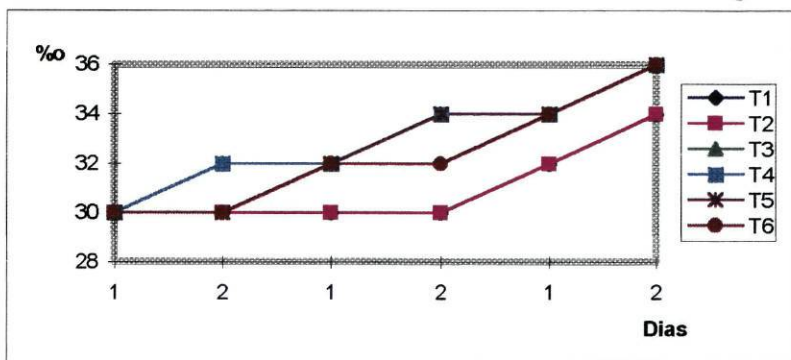
A



B



C



D

Fig. 1 - Valores de temperatura (1A), pH (1B), oxigênio dissolvido (1C) e salinidade (1D) registados na água dos tanques durante a 1ª experiência (1ª fase).

Tabela 7 - Valores médios de amônia, de clorofila a, b, e c, e de sólidos suspensos totais registados na água dos tanques da 1ª experiência (1ª fase) após um e dois dias de alimentação.

Tanques	Amônia (ug at N-NH4/l)		Clorofila a (mg/m3)		Clorofila b (mg/m3)		Clorofila c (mg/m3)		SST (mg/l)
	1 dia de alimento *	2 dias de alimento	1 dia de alimento	2 dias de alimento	1 dia de alimento	2 dias de alimento	1 dia de alimento	2 dias de alimento	2 dias de alimento
T1 (jejum)	0,4200	0,8952 ± 0,0495	-	-	-	-	-	-	17,3750 ± 0,6250
T2 (efluente piscícola)	7,1849	14,1630 ± 1,2070	-	-	-	-	-	-	37,1250 ± 3,8750
T3 (352,500 mg A+ AMF)	0,1248	0,0000	286,0489 ± 26,2919	627,6025 ± 154,5835	199,6090 ± 73,4550	344,0900 ± 53,1080	103,3010 ± 34,5770	280,5080 ± 97,5040	109,0000 ± 35,0000
T4 (352,500 mg A+ EP)	0,0000	0,0000	304,0279 ± 5,9752	450,8585 ± 216,1565	131,8850 ± 31,4110	275,8900 ± 21,7180	62,6730 ± 16,2130	231,4770 ± 70,6410	11,7500 ± 26,2500
T5 (176,250 mg A+ EP)	0,2101	0,0000	164,4899 ± 1,9929	201,8375 ± 132,8555	58,1370 ± 28,6830	112,3490 ± 11,9200	21,3050 ± 11,0000	106,2940 ± 30,5960	80,0000 ± 39,0000
T6 (88,125 mg A + EP)	11,5126	0,2599 ± 0,0610	53,7343 ± 12,6388	103,4978 ± 23,1848	32,1660 ± 9,4570	48,9910 ± 2,5920	13,2685 ± 0,0545	33,9595 ± 7,1215	35,3750 ± 18,1250

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

* A ausência de desvio padrão, deve-se ao facto de apenas ter sido efectuada uma determinação

Da análise do parâmetro amônia (figura 2) verificámos que esta apresentou os valores médios mais elevados com as dietas D1 (jejum) e D2 (efluente piscícola), no 2º dia de alimentação relativamente ao 1º, enquanto que nas restantes os valores obtidos foram ligeiramente superiores após um dia de alimento fornecido, registando-se uma diferença mais notória com a dieta D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), que reduziu o valor de 11.5126 µg at N-NH4/l no 1º dia, para 0.2599 no 2º.

Em ambos os dias, o valor mais elevado registou-se com a dieta D2 (efluente piscícola) seguida de D1 (jejum) no 2º dia e de D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola) no 1º. Entre as dietas algais os valores mais baixos foram sempre registados com D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola), apresentando sempre D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola) o valor mais elevado entre elas.

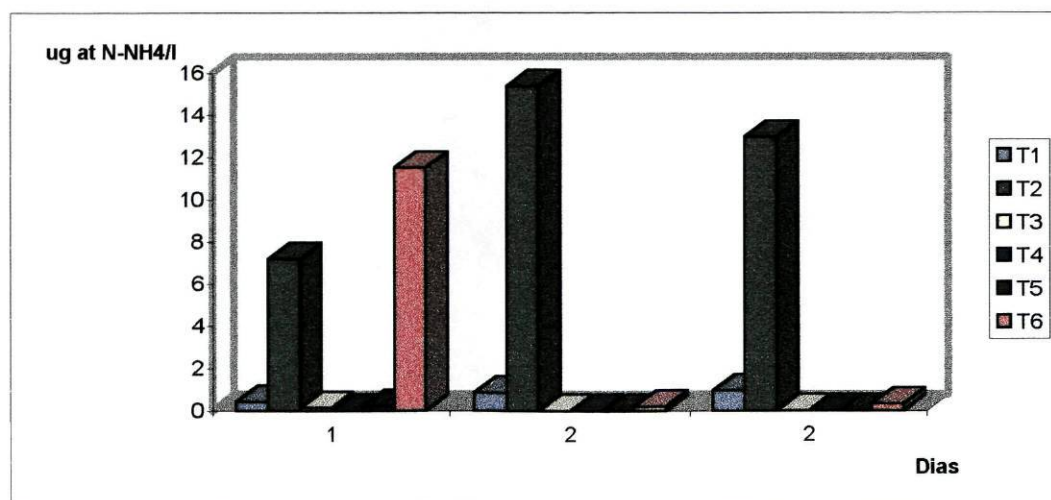


Fig. 2 - Valores de amônia registados na água dos tanques durante a 1ª experiência (1ª fase).

Os sólidos suspensos totais (figura 3), foram determinados ao fim do 2º dia de alimentação, registrando-se o valor mínimo com dieta D1 (jejum), seguida de D2 (efluente piscícola). Nas restantes verificou-se um valor máximo e semelhante com as dietas D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola), seguindo-se D5 (176.250 mg algas + efluente piscícola) e D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), esta última com um valor inferior ao registado com a dieta D2 (efluente piscícola).

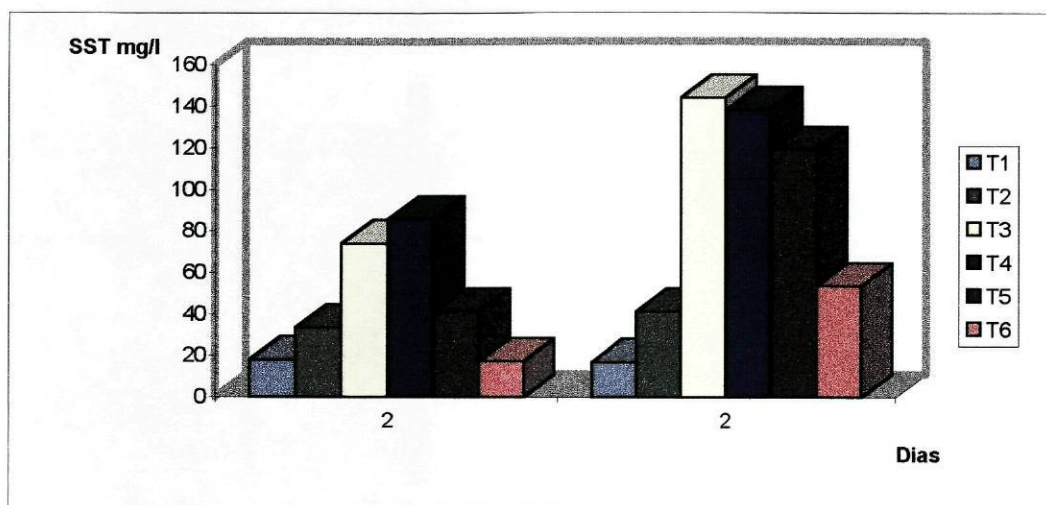


Fig. 3 - Sólidos suspensos totais registados na água dos tanques durante a 1ª experiência (1ª fase).

Os pigmentos foram expressos em termos de clorofilas a, b e c (figura 4A, B e C), verificando-se que os valores de clorofila a foram bastante superiores aos restantes, quer após um ou dois dias de alimentação. Os mais elevados registaram-se com as dietas D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola), ou seja, nas que continham uma maior concentração de algas, seguidas de D5 (176.250 mg algas + efluente piscícola) e D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), esta última com um menor valor. No 2º dia de alimentação todos os teores foram superiores aos do 1º, diferença essa mais notória com as dietas D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola). Os resultados do 2º dia seguiram a tendência referida anteriormente, ou seja, a do 1º dia de alimentação.

Os teores em clorofila b foram inferiores aos de clorofila a, mas no entanto superiores aos de clorofila c, tendo-se verificado em ambos, e para todas as dietas, uma evolução semelhante à referida para a clorofila a, quer após um ou dois dias de alimentação.

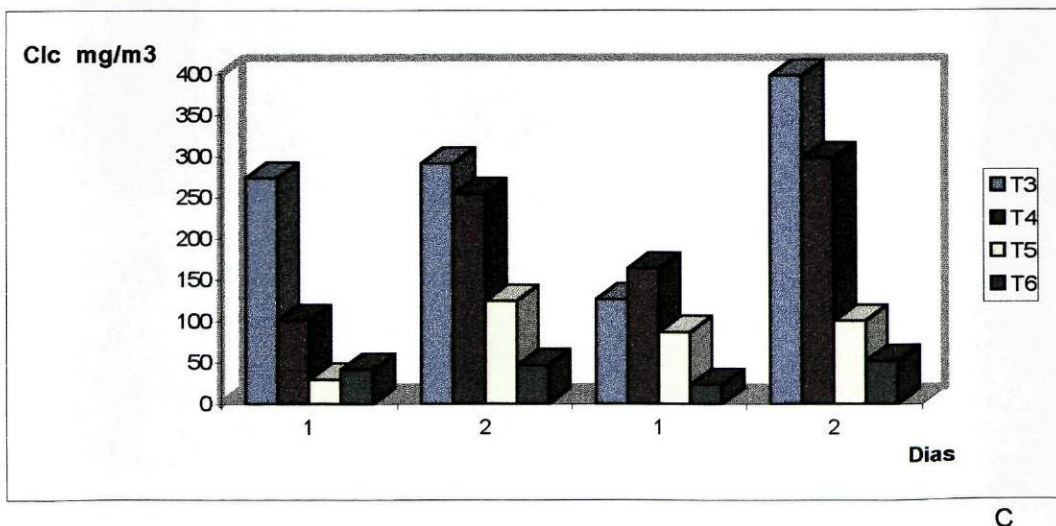
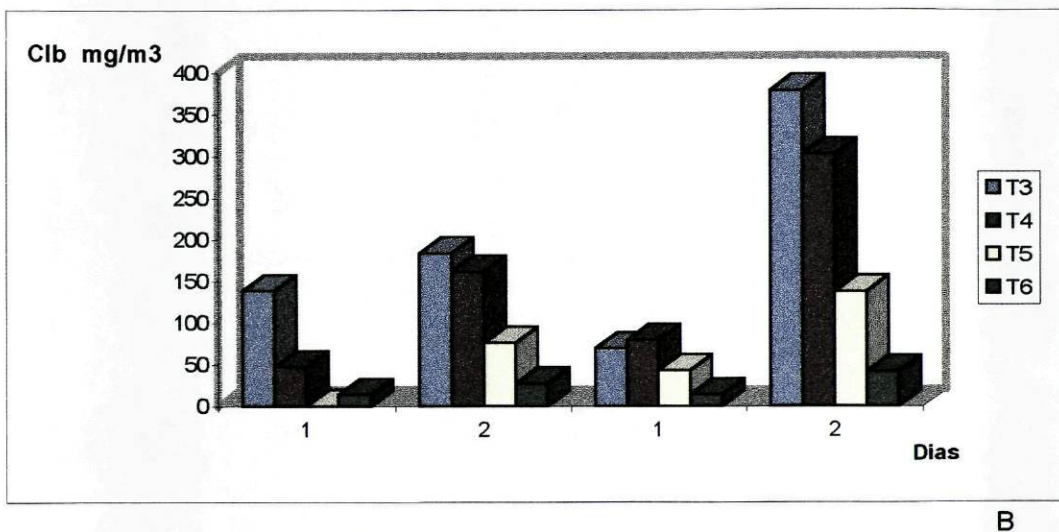
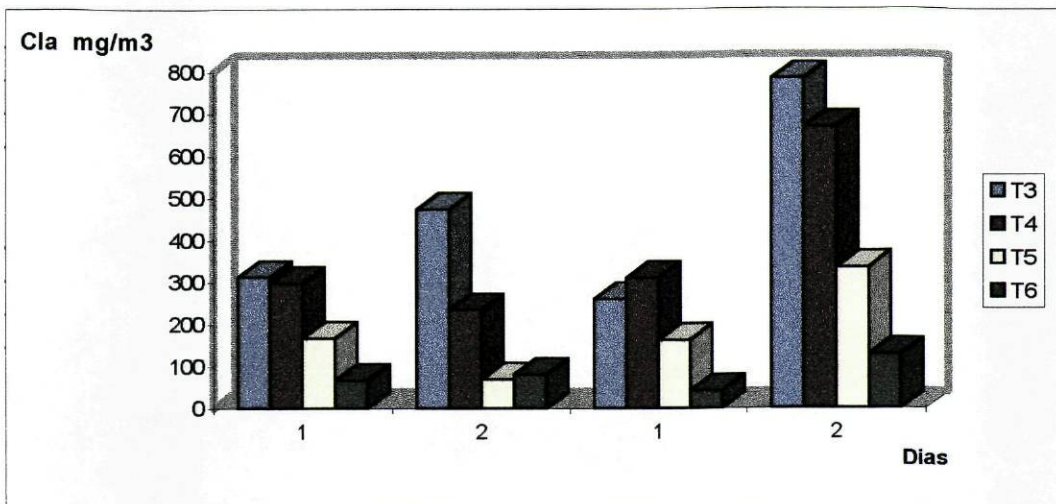


Fig. 4 - Valores de clorofila a (4A), b (4B) e c (4C) registrados durante a 1ª experiência (1ª fase) na água dos tanques aos quais foram fornecidas dietas microalgais.

3.1.1.2 - Biometria

Na primeira fase da experiência 1, as medidas biométricas efectuadas reduziram-se ao peso fresco total, tendo o comprimento e o peso seco da carne sido obtidos apenas no final da segunda fase, evitando deste modo a manipulação e perda destes animais durante os processos de obtenção de tais parâmetros.

Assim, na tabela 8 são apresentados os resultados da análise do peso fresco total inicial (Pfi) e final (Pff), efectuada em exemplares de *Tapes decussatus*, alimentados com efluente piscícola, combinado ou não com dietas microalgais em diferentes concentrações, para a 1ª fase.

Tabela 8 - Biometria de *Tapes decussatus*, alimentada com diferentes rações microalgais combinadas com efluente piscícola (1ª experiência, 1ª fase).

Dietas	Ração diária (mg algas/dia)	Peso fresco total inicial (mg)	Peso fresco total final (mg)	Duncan *
D1	Jejum	22,132 ± 2,931	22,878 ± 2,916	a
D2	Efluente piscícola	22,298 ± 2,365	24,298 ± 3,067	b
D3	352,500 mg algas+água do mar filtrada	22,100 ± 2,402	28,347 ± 3,498	c
D4	352,500 mg algas+efluente piscícola	22,275 ± 2,451	27,532 ± 3,494	c
D5	176,250 mg algas+efluente piscícola	22,325 ± 2,543	28,805 ± 3,941	c
D6	88,125 mg algas+efluente piscícola	22,295 ± 2,280	32,705 ± 5,717	d

* Dietas que apresentem letras iguais não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$).

Da análise da tabela 8 pode dizer-se que houve um incremento nítido do peso fresco total final, relativamente à situação inicial, à excepção das dietas D1 (jejum) e D2 (efluente piscícola), nas quais não se registaram incrementos tão significativos.

O melhor valor obtido, foi de 32.705 mg para D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), seguindo-se D5 (176.250 mg algas + efluente piscícola), D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola), com pesos finais de 28.805, 28.347 e 27.532 mg respectivamente.

Estes resultados mostram uma tendência para um aumento de crescimento com a diminuição da concentração da ração microalgal, embora as dietas D3 (352.500 mg + água do mar filtrada), D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola) e D5 (176.250 mg + efluente piscícola) sejam estatisticamente iguais entre si ($p > 0,05$).

O efluente piscícola não influenciou significativamente o crescimento na situação D4 (352.500 mg + efluente piscícola), D5 (176.250 + efluente piscícola) e D6 (88.125 mg + efluente piscícola) contribuindo, apenas, com um ganho bruto de 2 mg para o peso fresco final. Deste modo, o incremento observado nas dietas microalgais pode ser atribuído, quase na sua totalidade, à dieta microalgal empregue.

Embora as dietas D4 (352.500 mg + efluente piscícola) e D3 (352.500 mg + água do mar filtrada) não sejam estatisticamente diferentes ($p > 0.05$), observa-se que esta última conduziu a um crescimento ligeiramente superior ao obtido com a primeira.

3.1.1.3 - Coeficientes de Crescimento: Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento

Na tabela 9, estão representadas a Taxa de Crescimento Relativo (figura 5) e o Acréscimo Relativo de Crescimento verificados em Tapes decussatus, após 30 dias de experimentação com as dietas anteriormente referidas.

Tabela 9 - Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento em função do peso fresco total, em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (1ª experiência, 1ª fase).

Dietas	Taxa de Crescimento Relativo para 30 dias	Acréscimo Relativo de Crescimento para 30 dias (%)
D1 (jejum)	0,00111	3,37379
D2 (efluente piscícola)	0,00286	8,97033
D3 (352,500 mg A+AMF)	0,00822	27,97730
D4 (352,500 mg A+EP)	0,00706	23,59943
D5 (176,250 mg A+EP)	0,00847	29,02473
D6 (88,125 mg A+EP)	0,01276	46,69044

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Verifica-se que ambos os coeficientes de crescimento foram positivos para todas as dietas, correspondendo os melhores valores às dietas D6 (88.125 mg + efluente piscícola), D5 (176.250 mg + efluente piscícola), D3 (352.500 mg + água do mar filtrada) e em menor escala D4 (352.500 mg + efluente piscícola). Os valores mais baixos atingiram-se com as dietas D2 (efluente piscícola) e D1 (jejum).

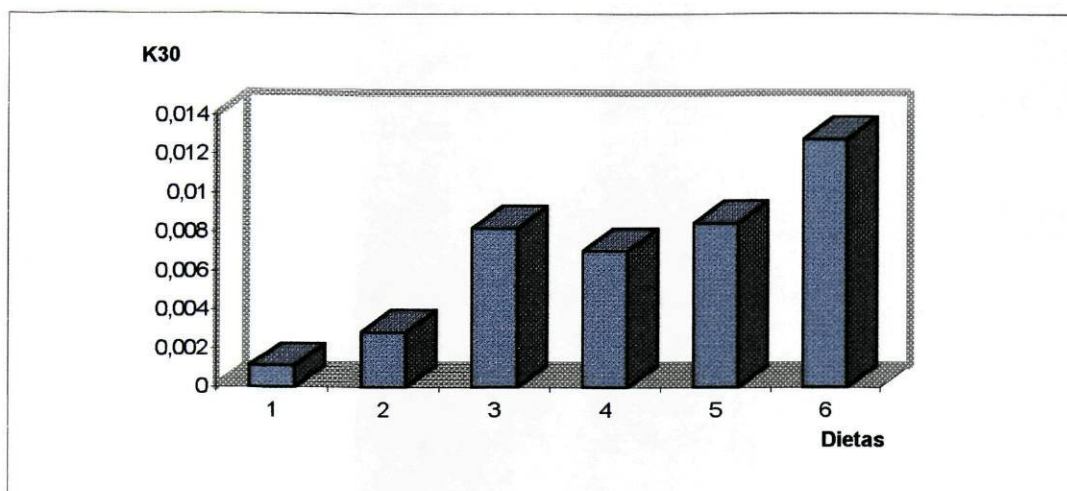


Fig. 5 -Taxa de Crescimento Relativo, com base nos pesos frescos totais, verificada por dieta, na 1ª experiência (1ª fase).

3.1.1.4 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal

As Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal registadas após 30 dias de experimentação podem encontrar-se na tabela 10.

Tabela 10 - Percentagem de Sobrevivência e Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm30) em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (1ª experiência, 1ª fase).

Dieta	Percentagem de Sobrevivência ao fim de 30 dias	Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm30)
D1 (jejum)	63,33	0,4581
D2 (efluente piscícola)	89,83	0,1072
D3 (352,500 mg A+AMF)	95,17	0,0495
D4 (352,500 mg A+EP)	95,83	0,0426
D5 (176,250 mg A+EP)	96,33	0,0374
D6 (88,125 mg A+EP)	97,50	0,0253

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Registaram-se valores elevados de sobrevivência para todas as dietas, à excepção de D1 (jejum), onde foi observada a sobrevivência mínima com 63.33 %.

O valor mais elevado, da ordem dos 97.50 % foi obtido com a dieta D6 (88.125 mg + efluente piscícola), seguindo-se com resultados próximos (96.33, 95.83, 95.17 %) as dietas D5 (176.250 mg + efluente piscícola), D4 (352.500 mg + efluente piscícola) e D3 (352.500 mg + água do mar filtrada).

A sobrevivência de D2 (efluente piscícola), foi, depois da D1 (jejum), o valor mais baixo registado, sendo este no entanto de 89.83 %.

As mortalidades verificadas foram expressas em termos de Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm30), dado este parâmetro ser também bastante usado nos estudos referentes a bivalves (tabela 10). A referida taxa segue evolução idêntica à registada anteriormente, com os valores mais elevados a serem obtidos com a dieta D1 (jejum) e D2 (efluente piscícola) e os mais baixos com as dietas D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), D5 (176.250 mg algas + efluente piscícola), D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola) e D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada), observando-se nas duas últimas valores extremamente próximos de 0.0426 e 0.0495, respectivamente.

3.1.1.5 - Taxas de filtração e análise das partículas em suspensão

Os valores médios das taxas de filtração obtidas para as duas espécies microalgais empregues, bem como das taxas de filtração considerando as duas espécies em simultâneo (taxa de filtração total), podem ser observados na tabela 11, com respectiva representação gráfica na figura 6.

Convém referir que estes valores foram calculados com base em contagens realizadas com um hemocítmetro (câmara de Neubauer), das microalgas presentes logo após ter sido fornecido o alimento aos bivalves, e passadas 24 horas deste ter sido administrado.

Tabela 11 - Valores médios das taxas de filtração calculadas para cada uma das microalgas utilizadas e considerando as duas conjuntamente (1ª experiência, 1ª fase). Temperatura média de 12,78°C.

Taxa de filtração (ml/min)	Dieta D3 (352,500 mg A + AMF)	Dieta D4 (352,500 mg A + EP)	Dieta D5 (176,250 mg A + EP)	Dieta D6 (88,125 mg A + EP)
<i>Tetraselmis suecica</i>	0,00302 ± 0,00105	0,01191 ± 0,00987	0,01291 ± 0,00897	0,01331 ± 0,00789
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	0,00414 ± 0,00256	0,00279 ± 0,00125	0,00762 ± 0,00547	0,01346 ± 0,00875
Taxa de filtração total	0,00422 ± 0,00358	0,00377 ± 0,00129	0,00817 ± 0,00465	0,01357 ± 0,00632

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Da análise da tabela 11 e figura 6 podemos verificar que a taxa de filtração total apresentou um valor mais elevado com a dieta D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), seguida da dieta D5 (176.25 mg algas + efluente piscícola), esta no entanto, com um valor bastante inferior. Para as restantes dietas, D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (352.500 mg algas + efluente piscícola), observou-se que a dieta D3 conduziu a um valor de taxa de filtração superior ao obtido com a dieta D4.

Relativamente às taxas de filtração calculadas separadamente para cada uma das espécies microalgais utilizadas, e à excepção do observado com as dietas D4 e D5, a taxa de filtração calculada para *Phaeodactylum tricornutum* registou valores superiores com as dietas D3 e D6, aos obtidos com a espécie *Tetraselmis suecica*, diferença essa mais notória com a dieta D3. Desta forma, as dietas que

apresentaram as maiores taxas de filtração para a microalga *P.tricornutum*, foram a dieta D6 seguida da D5, D3 e D4, verificando-se tendência semelhante com a microalga *T. suecica*, com a exceção da dieta D4, apresentar um valor superior ao registado com a dieta D3.

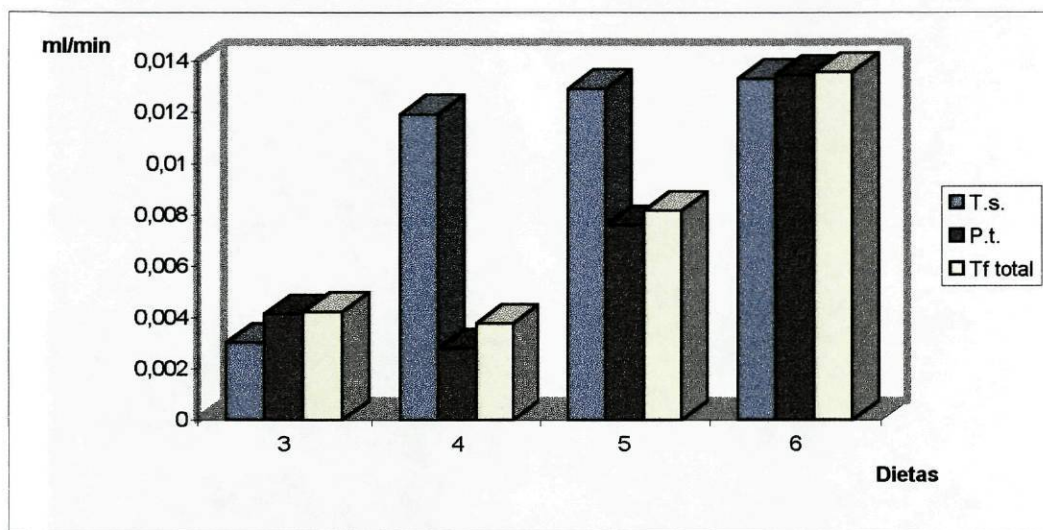


Fig. 6 - Taxas de filtração médias calculadas separadamente para as duas microalgas empregues, e considerando as duas espécies conjuntamente, para cada dieta testada (1ª experiência, 1ª fase).

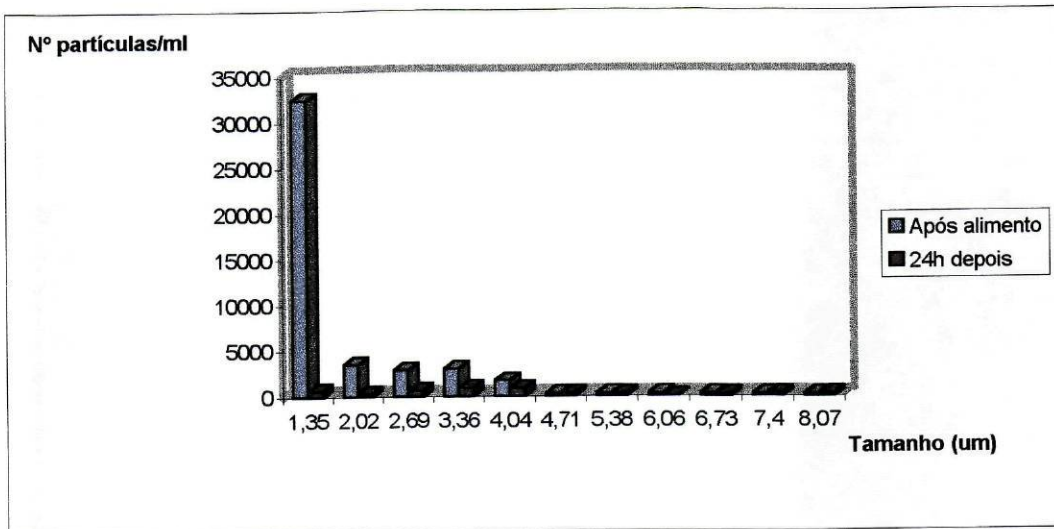
Na tabela 12 e figuras 7a e 7b, estão representadas as contagens médias das partículas totais existentes na água dos diversos tanques experimentais, bem como a sua distribuição por tamanhos, na altura de ter sido fornecido o alimento aos bivalves e 24 horas depois tendo-se, para o devido efeito, recorrido ao auxílio de um contador electrónico de partículas.

Convém mencionar que apenas estão representados os tamanhos de partículas para os quais se registaram frequências consideráveis das mesmas.

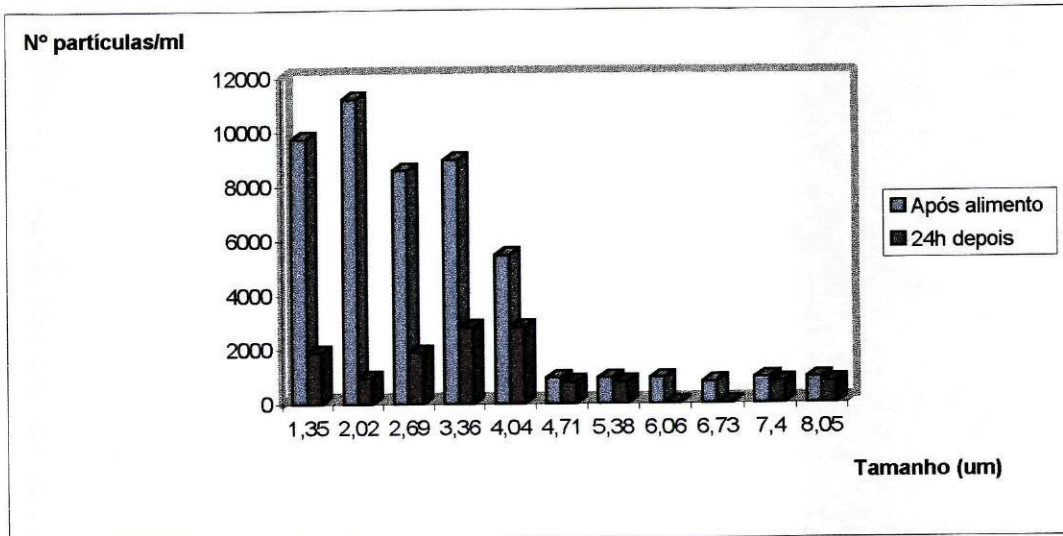
Tabela 12 - Número médio de partículas registadas na água dos tanques experimentais, e sua distribuição por tamanhos, após ser fornecido o alimento, e 24 horas depois (1ª experiência, 1ª fase).

Tamanho (um)	Jejum		Efluente piscícola		Dieta D3 (352,500 mg A + AMF)		Dieta D4 (352,500 mg A + EP)		Dieta D5 (176,250 mg A + EP)		Dieta D6 (88,125 mg A + EP)	
	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas
1,35	32495 ± 5218	620 ± 458	9750 ± 2369	1880 ± 625	60125 ± 24375	25900 ± 14900	88540 ± 39060	31875 ± 14875	41200 ± 7600	21855 ± 11625	4630 ± 1070	4060 ± 340
2,02	3500 ± 1897	300 ± 195	11210 ± 6450	940 ± 479	51525 ± 26825	41400 ± 23400	94740 ± 1860	28675 ± 14675	32000 ± 2400	22320 ± 11160	6975 ± 2525	6470 ± 970
2,69	2860 ± 987	621 ± 289	8580 ± 3741	1880 ± 458	194775 ± 120425	80900 ± 19900	237090 ± 69930	86750 ± 7250	102800 ± 20400	29760 ± 13020	17005 ± 950	7865 ± 2365
3,36	2993 ± 1536	900 ± 478	8970 ± 1998	2820 ± 987	209925 ± 100725	56400 ± 400	166180 ± 98740	18250 ± 9750	81600 ± 13600	25575 ± 10695	24275 ± 2425	5455 ± 1055
4,04	1720 ± 900	856 ± 425	5460 ± 1657	2820 ± 823	59175 ± 23475	15300 ± 1700	34620 ± 16980	18250 ± 12740	22800 ± 7600	9300 ± 3720	9585 ± 1985	5920 ± 1520
4,71	292 ± 125	259 ± 110	940 ± 321	780 ± 126	42000 ± 2100	35400 ± 18600	36825 ± 10457	14940 ± 10250	17205 ± 1760	11840 ± 9874	6885 ± 235	6090 ± 510
5,38	262 ± 98	245 ± 105	940 ± 254	780 ± 100	97325 ± 1375	74500 ± 30500	59500 ± 32568	36330 ± 28546	30000 ± 14800	14880 ± 10250	20565 ± 3465	7400 ± 1900
6,06	250 ± 104	0	941 ± 356	0	105450 ± 12250	64700 ± 26300	44400 ± 25698	33380 ± 15124	30800 ± 11600	8370 ± 465	16915 ± 2665	5160 ± 1440
6,73	262 ± 100	150 ± 100	780 ± 250	0	61125 ± 15525	22300 ± 8700	33280 ± 11440	19325 ± 11675	22000 ± 1480	2790 ± 954	11605 ± 3595	2580 ± 720
7,40	300 ± 145	200 ± 102	940 ± 289	780 ± 150	27650 ± 14350	4500 ± 1250	13630 ± 2710	4500 ± 1250	9200 ± 400	0	7865 ± 1635	1565 ± 635
8,07	250 ± 98	208 ± 123	940 ± 200	780 ± 121	3150 ± 785	1000 ± 345	1260 ± 568	500 ± 125	1200 ± 356	0	475 ± 125	0

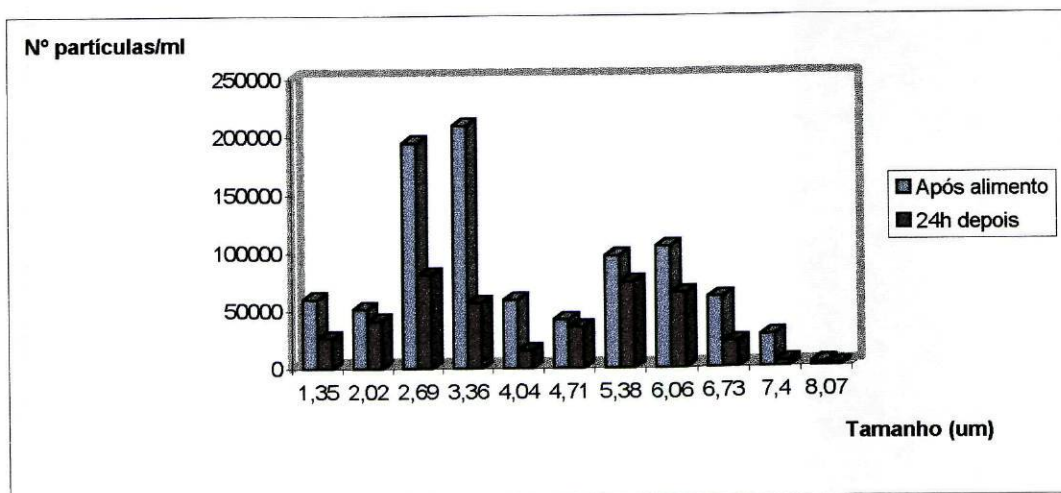
AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas



A

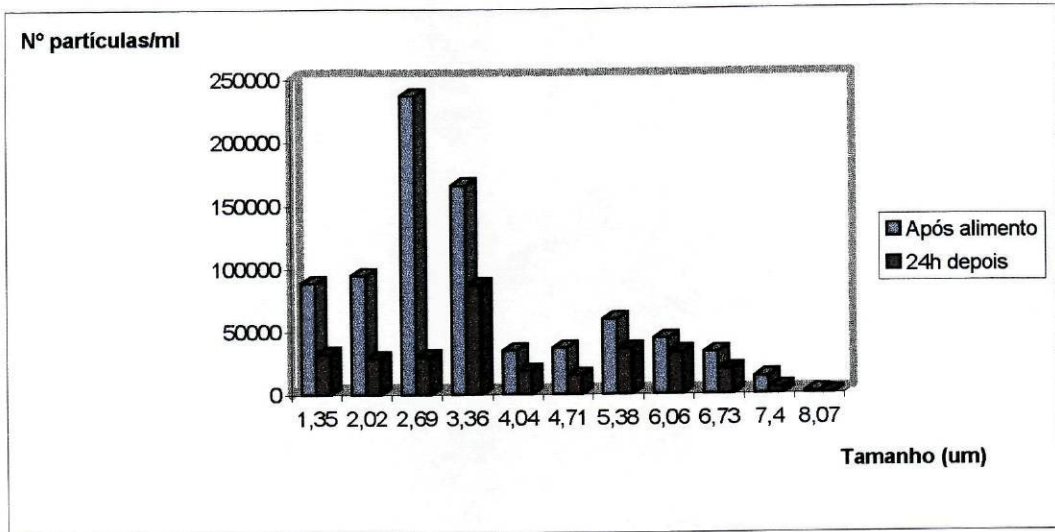


B

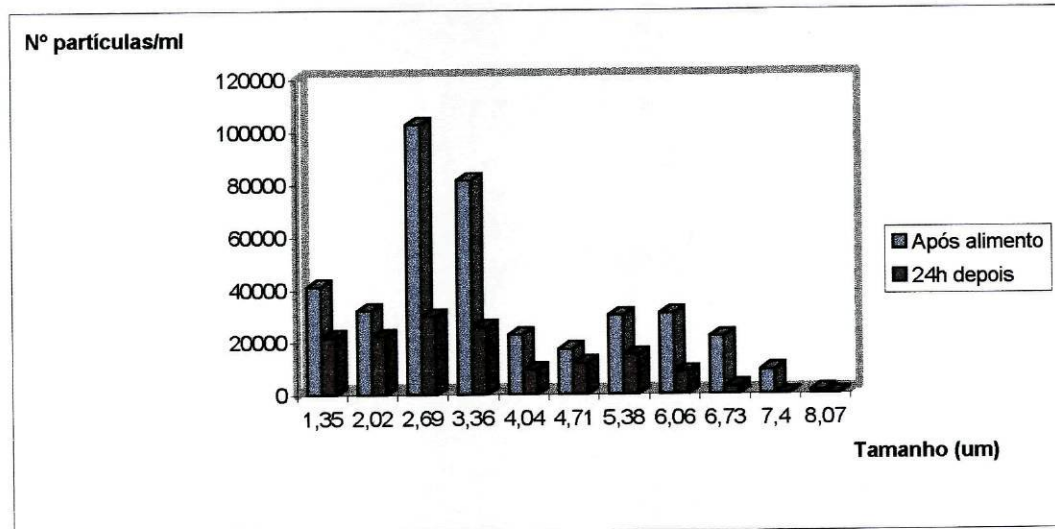


C

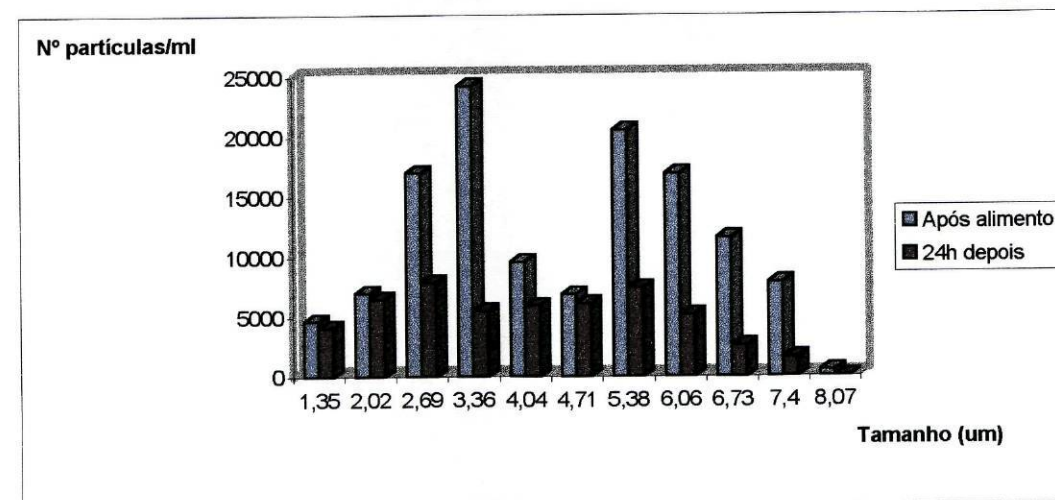
Fig. 7a - Número médio de partículas registadas na água do tanques 1 (7A), 2 (7B) e 3 (7C), e sua distribuição por tamanhos, após ser fornecido o alimento, e 24 horas depois (1ª experiência, 1ª fase).



D



E



F

Fig. 7b - Número médio de partículas registadas na água dos tanques 4 (7D), 5 (7E) e 6 (7F), e sua distribuição por tamanhos, após ser fornecido o alimento, e 24 horas depois (1ª experiência, 1ª fase).

Da análise da tabela 12 e dos respectivos gráficos (figuras 7a e 7b), verificamos, relativamente às dietas que continham microalgas na sua composição (D3, D4, D5 e D6), que após ter sido fornecido o alimento aos bivalves, os tamanhos que registaram maior número de partículas, foram os de 2.69 e 3.36 μm , nas dietas D3, D4 e D5, registando este último tamanho um valor de partículas superior ao 1º no tanque com a dieta D3, verificando-se o oposto com as dietas D4 e D5. Com a dieta D6 os tamanhos com maior número de partículas foram os de 3.36 e 5.38 μm , seguindo-se o tamanho de 2.69 μm , e os compreendidos entre 6.06 e 6.73 μm .

Em relação aos restantes tamanhos analisados, a gama compreendida entre 5.38 e 6.73 μm foi a que registou os valores mais elevados de partículas para a dieta D3, a seguir aos tamanhos referidos anteriormente, para esta dieta. Tal não se verificou com as dietas D4 e D5, onde os tamanhos 1.35 e 2.02 μm foram os que registaram os segundos maiores valores em número de partículas, seguindo-se então a referida gama.

No jejum (D1), o tamanho 1.35 μm foi o mais frequente, seguindo-se os tamanhos 2.02, 3.36 e 2.69 μm , estes dois últimos com valores bastante próximos.

Finalmente e com a dieta D2, observa-se que o tamanho com maior frequência de partículas correspondeu a 2.02 μm seguido de 1.35, 3.36 e 2.69 μm , estes últimos novamente com valores semelhantes.

Da análise dos valores de número de partículas obtidos após 24 horas de ter sido fornecido o alimento aos bivalves, verificamos que estes, e para todos os tamanhos registados, bem como para todas as dietas, se apresentaram inferiores aos obtidos após fornecido o alimento.

De uma maneira geral, os maiores decréscimos verificaram-se nos tamanhos onde tinham sido observados os números mais elevados de partículas, após ser fornecido o alimento. Relativamente aos tamanhos que registaram maior frequência de partículas, estes, e com todas as dietas, apresentaram tendência semelhante à descrita aquando da análise dos valores obtidos após fornecido o alimento.

3.1.2 - 1ª experiência - segunda fase

3.1.2.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques

Os valores dos parâmetros registados na água dos diversos tanques experimentais, encontram-se sintetizados na tabela 13.

Tabela 13 - Características ambientais observadas na água dos tanques de cultura durante o período experimental (1ª experiência, 2ª fase).

Parâmetros físico-químicos	Mínimo	Máximo	Média \pm desvio padrão
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	12,00	15,50	13,29 \pm 1,097
Salinidade (%o)	34,00	40,00	36,33 \pm 2,028
pH	7,00	7,50	7,28 \pm 0,137
Oxigénio (% saturação)	92,00	99,00	95,39 \pm 1,688

Para o parâmetro temperatura (figura 8A) verifica-se, através da representação gráfica, que todos os tanques apresentaram ao longo da experiência as mesmas variações de temperatura, registando-se como valor mínimo 12°C, valor este, superior ao mínimo observado na 1ª fase. A temperatura máxima (15°C) apenas diferiu da obtida na 1ª fase em 0,5°C.

Os valores de pH (figura 8B) registados na água dos diversos tanques, não apresentaram grandes oscilações, registando-se nos cinco primeiros tanques uma variação de 0,3, e no 6º tanque (44.063 mg algas + efluente piscícola), de 0,4. O valor mínimo registado (7,0) foi superior ao da 1ª fase, bem como o máximo (7,5), este no entanto em menor grau.

Diferenças significativas não foram, portanto, observadas entre os valores de pH desta fase e os da anterior.

O oxigénio dissolvido na água dos tanques (figura 8C) registou valores mais elevados do que os da 1ª fase, obtendo-se um valor máximo de 99% de saturação, ou seja perto da saturação máxima. O valor mínimo, 92% de saturação, foi igualmente elevado para o parâmetro em questão.

Os teores observados para cada tanque apresentaram variações diferentes entre si, com valores intermédios aos referidos como mínimo e máximo.

O parâmetro salinidade (figura 8D) apresentou ao longo da experiência uma variação idêntica nos tanques 1 (jejum) e 2 (efluente piscícola), e nos tanques 4 (176.250mg algas + efluente piscícola) e 5 (88.125mg algas + efluente piscícola), registando-se nestes dois últimos valores geralmente superiores.

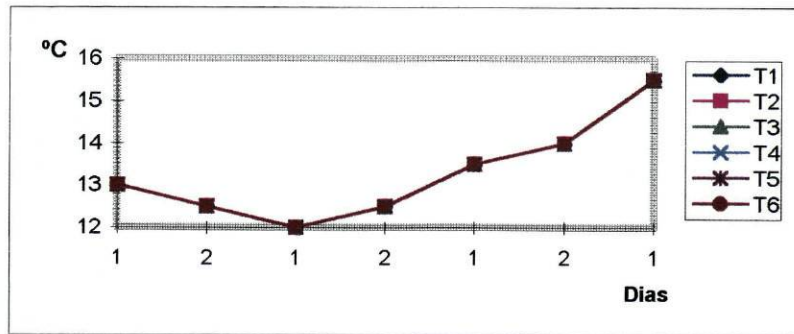
A salinidade mínima registada (34‰) foi superior à da 1ª fase (30‰), assim como o valor máximo obtido (40‰), apresentando ambos incrementos iguais.

Os parâmetros amónia, sólidos suspensos totais e os pigmentos foram determinados após um e dois dias de ter sido fornecido alimento aos bivalves, encontrando-se os valores médios dessas determinações referidos na tabela 14.

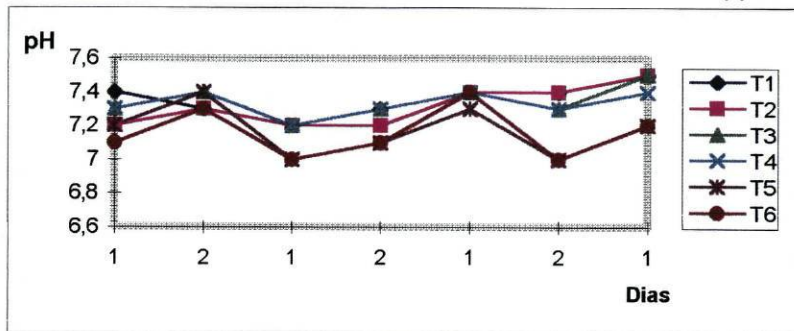
Tabela 14 - Valores médios de amónia, de clorofila a, b e c e de sólidos suspensos totais registados na água dos tanques da 1ª experiência (2ª fase), após um e dois dias de alimentação.

Tanques	Amónia (ug at N-NH4/I)		Clorofila a (mg/m3)		Clorofila b (mg/m3)		Clorofila c (mg/m3)		SST (mg/l)
	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	
T1 (jejum)	1,7658 ± 0,2280	2,5170 ± 0,1445	-	-	-	-	-	-	3,6500 ± 0,9500
T2 (efluente piscícola)	11,7914 ± 1,2621	11,2432 ± 3,1597	-	-	-	-	-	-	30,5000 ± 0,5000
T3 (176,250 mg A+ AMF)	2,4188 ± 0,0748	0,6767 ± 0,3351	136,7825 ± 22,0975	633,4730 ± 72,4950	59,7867 ± 13,4887	306,9930 ± 29,2830	44,1397 ± 5,4867	261,8260 ± 41,8540	28,6250 ± 2,3750
T4 (176,250 mg A+ EP)	1,6359 ± 0,3733	0,3642 ± 0,0734	139,1369 ± 22,7352	535,2295 ± 77,6915	57,9340 ± 15,1220	220,2860 ± 35,9860	47,4217 ± 5,3837	209,2630 ± 37,6990	30,1250 ± 4,6250
T5 (88,125 mg A + EP)	6,4429 ± 0,3371	2,4015 ± 0,5966	38,1198 ± 13,8460	152,3122 ± 22,5989	15,7118 ± 6,2334	69,6282 ± 7,6108	9,9964 ± 2,3752	46,2403 ± 5,7577	8,3500 ± 1,6500
T6 (44,063 mg A+ EP)	9,4978 ± 0,2350	4,7310 ± 0,4293	9,4460 ± 3,7480	28,5667 ± 14,5777	4,3760 ± 2,2836	9,7585 ± 4,9365	5,5152 ± 4,1400	3,5660 ± 0,3955	5,1000 ± 1,5000

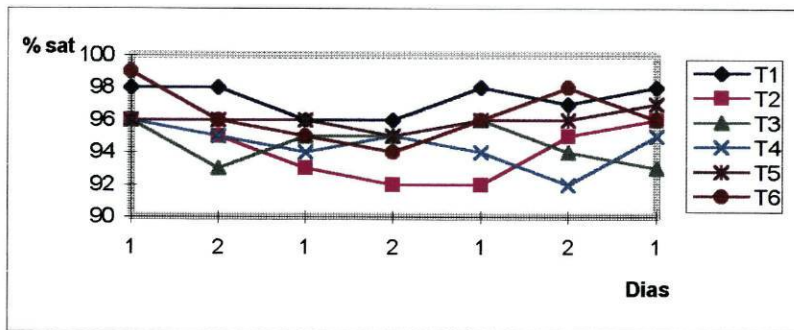
AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas



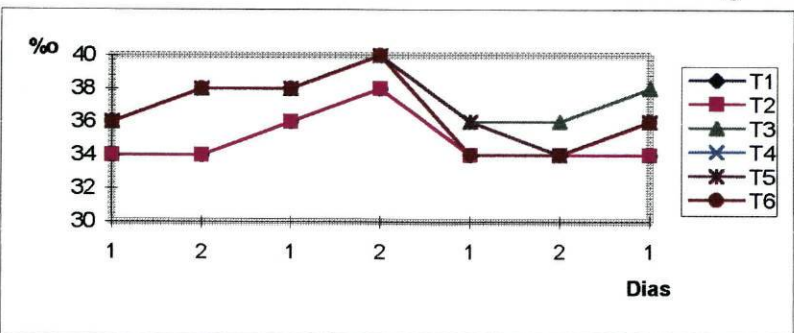
A



B



C



D

Fig. 8 - Valores de temperatura (8A), pH (8B), oxigênio dissolvido (8C) e salinidade (8D) registrados na água dos tanques durante a 1ª experiência (2ª fase).

Os valores de amónia (figura 9) registados na água dos tanques que continham microalgas (T3, T4, T5, T6), apresentaram um comportamento semelhante ao observado na 1ª fase desta experiência.

Assim, e para todos estes tanques, as determinações efectuadas no 2º dia de alimentação conduziram a valores inferiores aos observados no 1º dia, diferença essa mais notória na água dos tanques 5 (88.125 mg algas + efluente piscícola) e 6 (44.063mg algas + efluente piscícola).

Nos tanques 3 (176.250 mg algas + água do mar filtrada) e 4 (176.250mg algas + efluente piscícola), registaram-se novamente os valores mais baixos de amónia, em ambas as determinações efectuadas.

Embora a tendência observada nestes tanques fosse semelhante à registada na fase anterior, convém referir que todos os valores determinados, à excepção do teor de amónia após um dia de alimentação para o tanque T6 (2ª fase), foram superiores aos da 1ª fase.

Relativamente aos teores presentes na água dos tanques 1 (jejum) e 2 (efluente piscícola), o 2º apresentou de novo um valor bastante superior ao do 1º, registando, no entanto, um valor de amónia ligeiramente inferior no 2º dia, em relação ao 1º.

No tanque 1 (jejum), e para ambas as determinações, observou-se um teor em amónia superior ao registado no mesmo tanque, na 1ª fase, apresentando T2 (efluente piscícola) para o 1º dia de alimentação um valor médio superior, e para o 2º inferior, relativamente aos da 1ª fase.

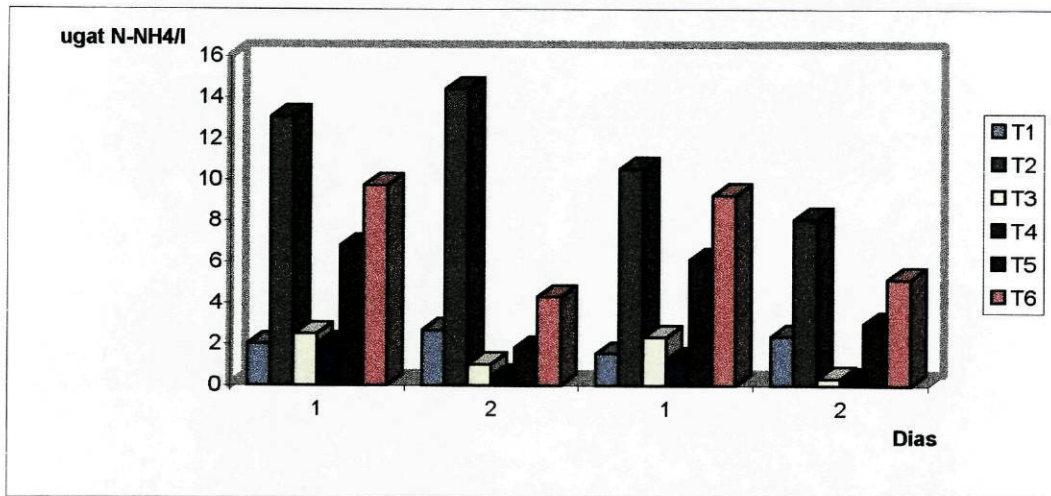


Fig. 9 - Valores de amónia registados na água dos tanques durante a 1ª experiência (2ª fase).

Os sólidos suspensos totais (figura 10) determinados na água de todos os tanques, foram, à excepção do tanque 2 (efluente piscícola), bastante inferiores aos da 1ª fase, registando-se novamente nos tanques 3 (176.250mg algas + água do mar filtrada) e 4 (176.250mg algas + efluente piscícola) os valores mais elevados, apresentando este último um valor muito próximo do observado em T2 (efluente piscícola).

No tanque 1 (jejum), foi registado o valor mínimo, seguindo-se a este o valor do tanque 6 (44.063mg algas + efluente piscícola).

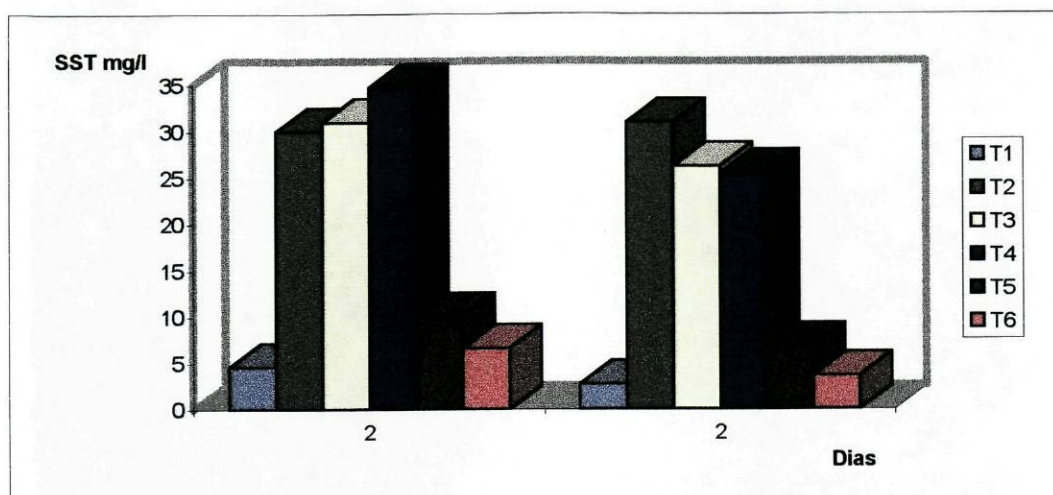


Fig. 10 - Sólidos suspensos totais registados na água dos tanques durante a 1ª experiência (2ª fase).

Os pigmentos determinados sob a forma de clorofilas a, b e c (figura 11A, B e C) apresentaram, à exceção de um ou outro valor, teores em ambas as determinações, bastante inferiores aos da 1ª fase. Esses teores foram sempre superiores no 2º dia de alimentação relativamente ao 1º, registando-se nos tanques 3 e 4 os valores máximos, e os mínimos no tanque 6.

Como já tinha sido verificado na 1ª fase, a água dos tanques registou, para os três parâmetros determinados, teores mais elevados em clorofila a e mais baixos em clorofila c.

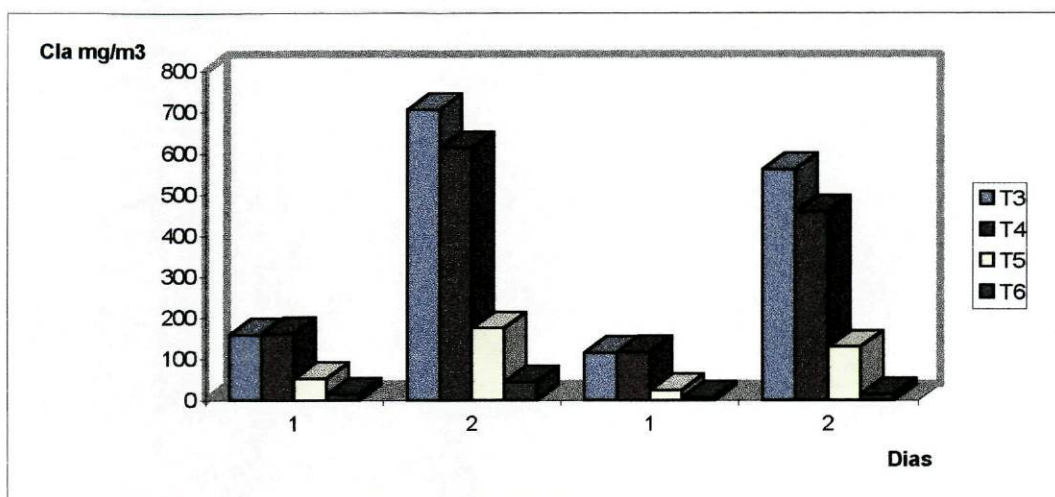
3.1.2.2 - Biometria

Uma ideia dos resultados da avaliação dos pesos frescos totais, no início da 2ª fase da experiência, após 15 dias de experimentação e no final da mesma fase experimental, bem como dos comprimentos e pesos secos registados após 60 dias de experimentação, pode ser obtida pela análise da tabela 15.

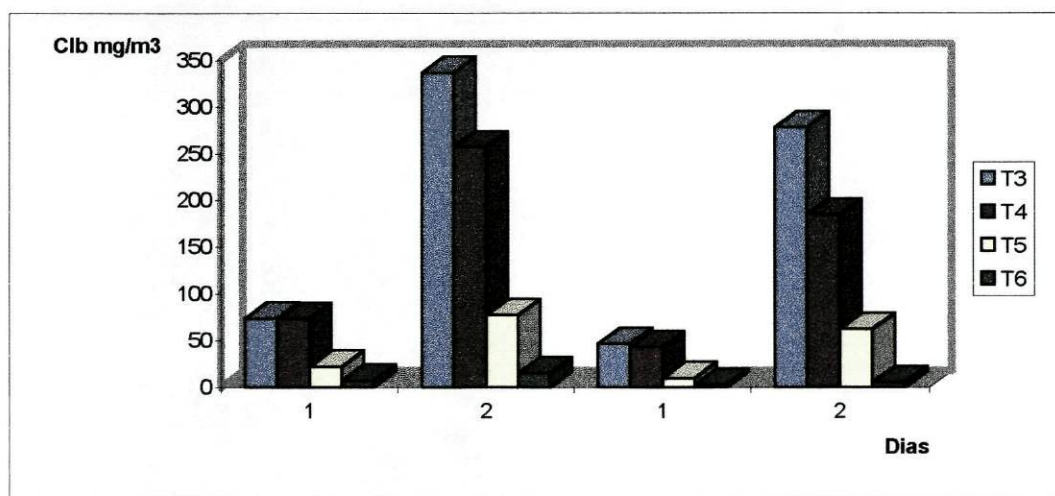
Nela estão representados os valores do comprimento e pesos secos da carne (figura 12A e B) bem como os pesos frescos totais iniciais (Pfti), intermédios (Pftm) e finais (Pftf) para esta fase experimental (figura 13), obtidos em *Tapes decussatus*, alimentada com dietas que diferiram das anteriores apenas no que diz respeito ao cálculo da ração microalgal diária.

Da análise dos valores de comprimento, obtidos após 60 dias de experimentação (figura 12A), verifica-se que o melhor resultado foi atingido com a dieta D6 (1ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 44.063 mg algas + efluente piscícola). Contudo, a análise estatística efectuada, permite considerar que as dietas D6 e D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola) não diferem uma da outra do ponto de vista estatístico ($p > 0.05$).

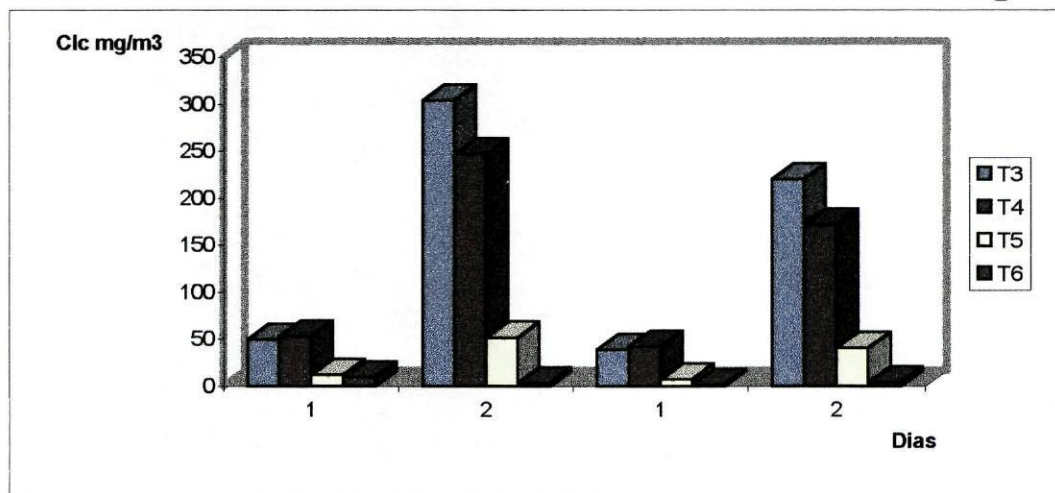
Seguidamente, e ao contrário do que se verifica para os pesos frescos totais e pesos secos da carne (tabela 15), a dieta D4 (1ª fase - 352.500 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola) promoveu um maior crescimento, 6.418 mm, relativamente à dieta D3 (1ª



A



B



C

Fig. 11 - Valores de clorofila a (11A), b (11B) e c (11C) registados durante a 1ª experiência (2ª fase) na água dos tanques aos quais foram fornecidas dietas microalgais.

Tabela 15 - Biometria de *Tapes decussatus* alimentada com diferentes rações microalgais combinadas com efluente piscícola (1ª experiência, 1ª e 2ª fase).

Dietas	Ração diária	Comp. inicial (mm) **	Comp. final (mm)	Duncan*	P. f. t. inicial (mg)***	P. f. t. interm. (mg)	Duncan*	P. f. t. final (mg)	Duncan*	P. s. carne inicial (mg) **	P. s. carne final (mg)	Duncan*
D1	Jejum	4,475 ± 0,189	4,504 ± 0,213	a	22,878 ± 2,916	22,823 ± 3,115	a	22,807 ± 2,770	a	0,700 ± 0,170	0,813 ± 0,933	a
D2	Efluente piscícola	4,475 ± 0,191	5,012 ± 0,353	b	24,298 ± 3,067	25,722 ± 3,183	b	27,052 ± 4,184	b	0,700 ± 0,172	1,224 ± 0,705	a
D3	352,500/176,250 mg A+AMF	4,475 ± 0,193	6,140 ± 0,529	c	28,347 ± 3,494	38,087 ± 7,089	c	44,705 ± 7,358	c	0,700 ± 0,174	3,630 ± 0,688	b
D4	352,500/176,250 mg A + EP	4,475 ± 0,195	6,418 ± 0,547	d	27,532 ± 3,494	36,247 ± 6,878	d	42,887 ± 8,617	c	0,700 ± 0,176	3,030 ± 0,596	c
D5	176,250/88,125 mg A + EP	4,475 ± 0,197	7,150 ± 0,624	e	28,805 ± 3,941	39,443 ± 7,215	c	52,798 ± 11,720	d	0,700 ± 0,178	4,018 ± 0,805	be
D6	88,125/44,063 mg A + EP	4,475 ± 0,199	7,268 ± 0,530	e	32,705 ± 5,717	43,162 ± 8,458	e	57,375 ± 10,005	e	0,700 ± 0,180	4,105 ± 0,946	e

* Dietas que apresentam letras iguais não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$)

** Valores respeitantes ao início da 1ª experiência, 1ª fase

*** Valores respeitantes ao início da 1ª experiência, 2ª fase

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

fase - 352.500 mg algas + água do mar filtrada; 2ª fase - 176.250 mg algas + água do mar filtrada), 6.140 mm.

Os valores mais baixos foram registados com a dieta D1 (jejum), com a qual se obteve um ganho bruto de apenas 0.029 mm, e com a dieta D2 (efluente piscícola), onde o ganho foi de 0.535 mm.

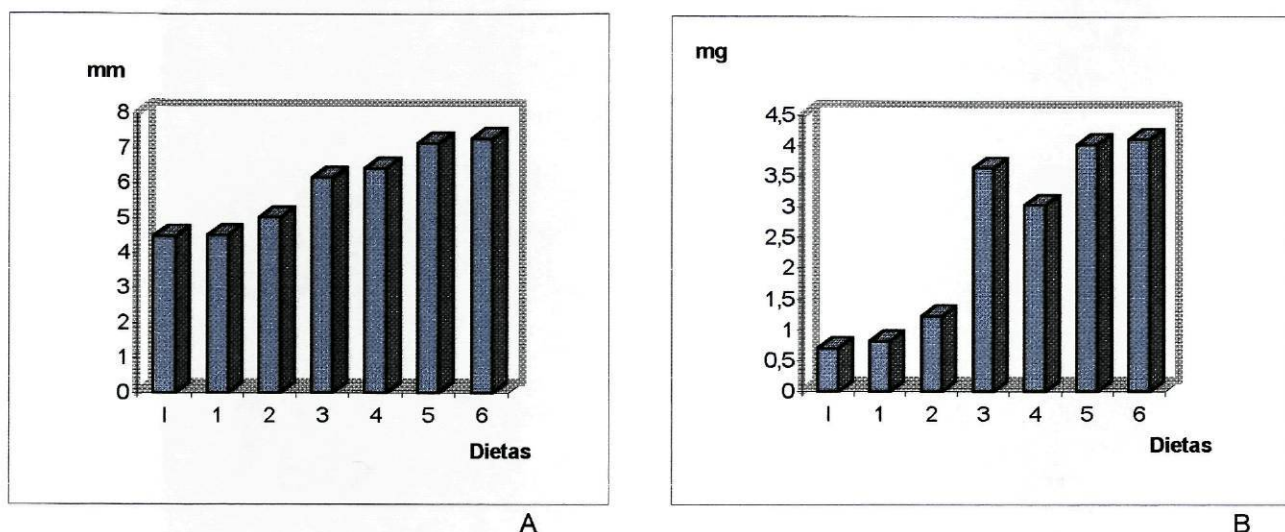


Fig. 12 - Comprimento (12A) e peso seco da carne (12B) inicial e final para Tapes decussatus, de acordo com a dieta (1ª experiência, 1ª e 2ª fase).
I - situação inicial.

Relativamente aos pesos frescos totais (figura 13), os incrementos registados seguiram tendências evolutivas muito próximas das anteriores, com a excepção já referida das dietas D3 (176.250 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (176.250 mg algas + efluente piscícola).

Assim, o melhor valor foi uma vez mais obtido com a dieta D6 (44.063 mg algas + efluente piscícola), seguida de D5 (88.125 mg algas + efluente piscícola), D3 e D4. Esta tendência foi observada nos pesos frescos totais registados no final de 15 e 30 dias de experiência, observando-se, no entanto, diferenças nos resultados dos testes estatísticos.

Deste modo, e relativamente aos pesos frescos intermédios, D3 e D5 conduziram a valores muito próximos (38.087 e 39.443mg), não sendo por isso detectada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre elas ($p > 0.05$).

Os pesos frescos totais finais, alteram o anteriormente referido, ao considerar estatisticamente iguais apenas as dietas D3 e D4 ($p > 0.05$).

De uma maneira geral, os pesos frescos finais foram superiores aos verificados na 1ª quinzena da experiência, não sendo essa diferença tão notória com as dietas D1 (jejum) e D2 (efluente piscícola).

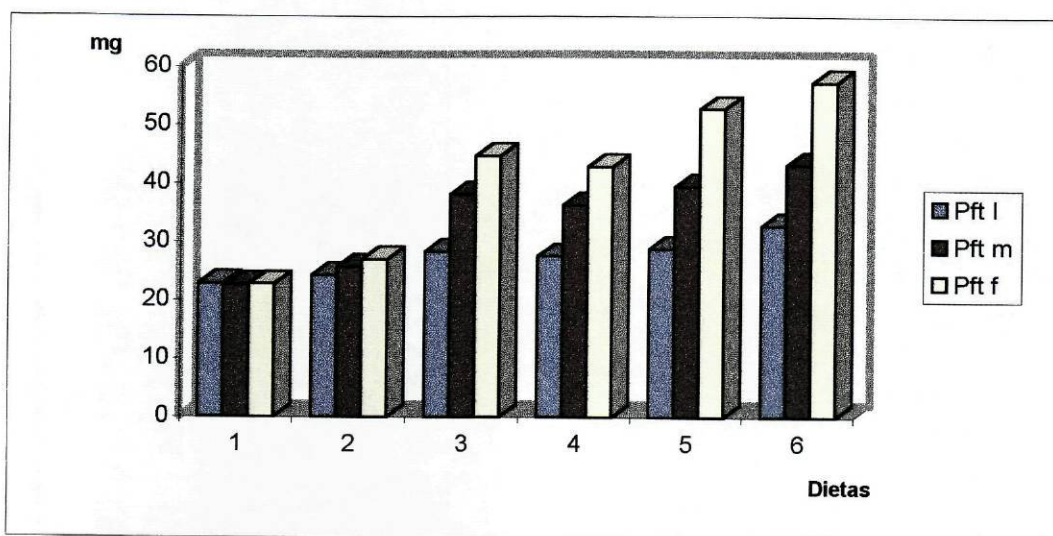


Fig. 13 - Peso fresco total inicial, intermédio e final em Tapes decussatus de acordo com a dieta (1ª experiência, 2ª fase).

Os pesos secos da carne (figura 12B) apenas foram obtidos no final do período experimental (60 dias), pelas razões já apresentadas, registando esta evolução idêntica à acabada de referir para os pesos frescos totais intermédios e finais, notando-se, contudo, uma maior proximidade entre os valores obtidos para as diferentes dietas, à excepção do jejum e do efluente piscícola.

Todas as dietas, excepto a D1 (jejum) promoveram um incremento significativo do peso seco da carne, o qual foi mais notório com D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola) e D6 (1ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 44.063 mg algas + efluente piscícola), para as quais se registaram valores muito próximos, não sendo, por isso, consideradas estatisticamente diferentes ($p > 0.05$). Segundo o mesmo teste, D1 e D2 (efluente piscícola) também não diferem entre si estatisticamente, bem como D3 (1ª fase - 352.500 mg algas + água do mar filtrada; 2ª fase - 176.250 mg algas + água do mar filtrada) e D5.

Comparando os pesos frescos finais obtidos em ambas as fases (figura 14), verificámos que a alteração da ração algal diária foi benéfica, visto o ganho bruto como peso atingido nesta fase ser bastante superior (ultrapassando o dobro) do registado na fase inicial.

A alteração da dieta D5 foi a que mostrou ser mais benéfica, passando-se de um ganho bruto de 6.480 mg registado com esta na 1ª fase, para um ganho de 23.993 mg na 2ª. Seguiu-se a dieta D6, que na 1ª fase conduziu a um ganho de 10.410 mg, atingindo agora 24.670 mg.

Com as dietas D3 e D4, registaram-se, novamente, ganhos brutos muito próximos, 16.358 e 15.355 mg respectivamente, tendo estas dietas atingido valores para o parâmetro referido de 6.247 e 5.257 mg na 1ª fase.

Como as dietas D1 (jejum) e D2 (efluente piscícola), não sofreram qualquer alteração nesta fase de experiência, conduziram, por isso, a comportamentos semelhantes aos verificados na 1ª fase. O ganho bruto com D2 (efluente piscícola), embora superior (2.754 mg), não se distanciou em grande

escala do obtido na 1ª fase (2 mg), verificando-se com D1 (jejum), uma ligeira diminuição do peso fresco final dos animais relativamente ao inicial.

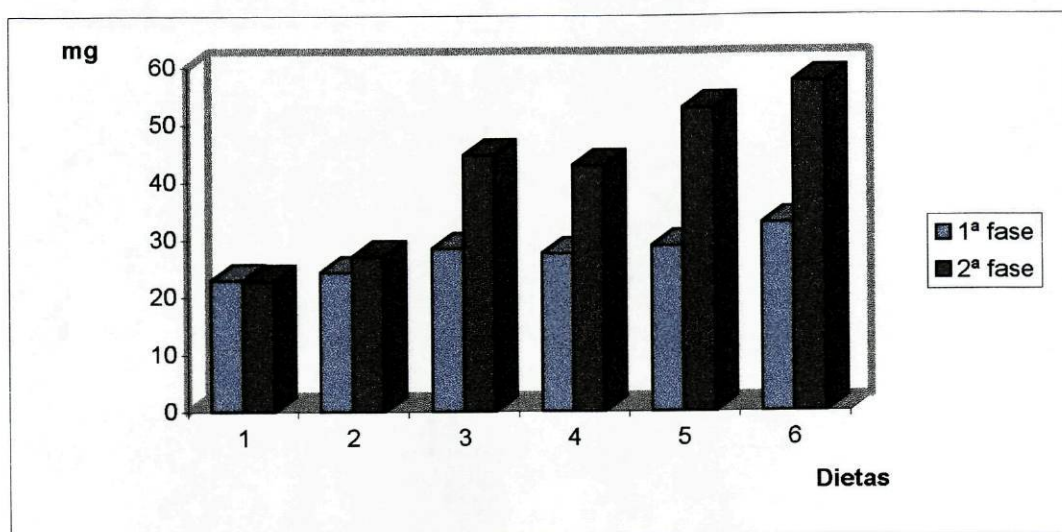


Fig. 14 - Pesos frescos totais finais registados na 1ª e 2ª fase experimental em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (1ª experiência).

3.1.2.3 - Coeficientes de Crescimento: Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento

A Taxa de Crescimento Relativo e o Acréscimo Relativo de Crescimento foram calculados tendo por base os comprimentos e os pesos frescos totais e secos da carne, obtidos por dieta.

No 1º e no último caso, os valores para ambos os coeficientes foram obtidos após 60 dias de experiência (tabela 16, figura 15), tendo-se calculado para o 2º os valores intermédios e finais respeitantes à segunda fase experimental (tabela 17, figura 16).

Tabela 16 - Taxa de Crescimento Relativo (K) e Acréscimo Relativo de Crescimento (ARC), este em percentagem, em função do comprimento e peso seco da carne, em Tapes decussatus, de acordo com a dieta, após 60 dias de experiência (1ª experiência, 1ª e 2ª fase).

Dietas	Comprimento		Peso seco carne	
	K60	ARC60	K60	ARC60
D1 (jejum)	0,00011	0,64805	0,00502	16,27143
D2 (efluente piscícola)	0,00189	11,99628	0,00189	76,08571
D3 (352,500/176,250 mgA+AMF)	0,00534	37,80261	0,05370	402,50000
D4 (352,500/176,250 mgA+EP)	0,00601	43,41899	0,04883	332,85710
D5 (176,250/88,125 mgA+EP)	0,00783	59,99627	0,05824	473,92860
D6 (88,125/44,063 mgA+EP)	0,00808	62,41340	0,05891	486,42586

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Os coeficientes de crescimento obtidos com base nos comprimentos (tabela 16, figura 15) apresentaram evolução igual à referida aquando da análise biométrica destes. Assim, e para ambos os coeficientes, a dieta D6 (1ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 44.063 mg algas + efluente piscícola) foi a que conduziu aos valores mais elevados, tendo-se com a dieta D1 (jejum) obtido os valores mais baixos. A D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola) apresentou-se como a segunda melhor dieta, seguindo-se, por ordem decrescente, as dietas D4 (1ª fase - 352.500 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola), D3 (1ª fase - 352.500 mg algas + água do mar filtrada; 2ª fase - 176.250 mg algas + água do mar filtrada) e D2 (efluente piscícola).

Comparando estes coeficientes com os obtidos com base nos pesos frescos totais e secos da carne, verificámos que os primeiros são inferiores aos restantes, sendo essa diferença mais significativa em relação aos coeficientes calculados a partir dos pesos secos da carne.

Apenas com a dieta 1, se verificaram valores, para ambos os coeficientes, superiores aos obtidos com base no peso fresco total.

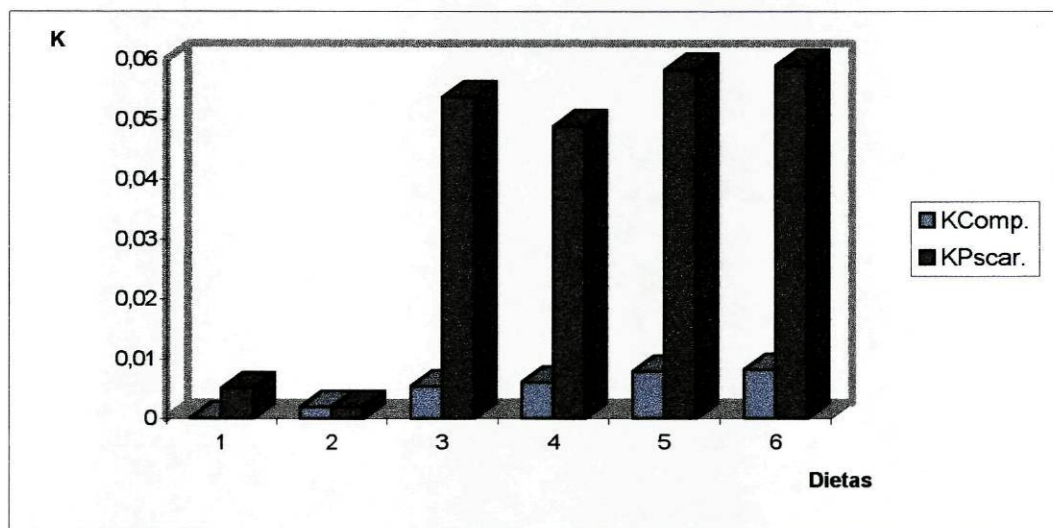


Fig.15 - Taxa de Crescimento Relativo, com base no comprimento e peso seco da carne, verificada por dieta ao fim de 60 dias da 1ª experiência (1ª e 2ª fase).

Os coeficientes obtidos para os pesos secos da carne (tabela 16, figura 15) assemelham-se, em termos de evolução, à observada com os pesos frescos totais, à excepção da dieta D6 (1ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 44.063 mg efluente piscícola), que conduziu a melhores resultados que a D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola).

Os valores do acréscimo relativo de crescimento foram bastante superiores aos registados com as outras medidas biométricas, apresentando com as dietas D5 e D6 valores próximos de 500%.

Tabela 17 - Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento em função do peso fresco total, em Tapes decussatus de acordo com a dieta, após 15 e 30 dias de experiência (1ª experiência , 2ª fase).

Dietas	Taxa de Crescimento Relativo com base no peso fresco total		Acréscimo Relativo de Crescimento com base no peso fresco total (%)	
	K15	K30	ARC15	ARC30
D1(jejum)	-0,00075	-0,00010	-1,11463	-0,31368
D2 (EP)	0,00370	0,03580	5,85801	11,33158
D3 (176,250 mg A+AMF)	0,01969	0,01519	34,36690	57,71456
D4 (176,250 mg A + EP)	0,01833	0,01477	31,65477	55,77251
D5 (88,125 mg A + EP)	0,02090	0,02022	37,09466	83,54069
D6 (44,063 mg A + EP)	0,01853	0,01875	32,09183	75,58452

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Os coeficientes calculados com base nos pesos frescos totais (tabela 17, figura 16)) registaram alterações à evolução descrita anteriormente para o comprimento, obtendo-se neste caso valores superiores para ambos os coeficientes com a dieta D5 (88.125 mg algas + efluente piscícola).

A esta seguiu-se, então, a dieta D6 (44.063 mg algas + efluente piscícola), verificando-se nova alteração entre as dietas D3 (176.250 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (176.250 mg algas + efluente piscícola), apresentando agora a 1ª um melhor resultado relativamente à 2ª. Mantiveram-se sem alterações as duas restantes, com D1 (jejum) a conduzir, novamente, aos valores mais baixos obtidos.

Convém referir que os valores da 1ª quinzena apontavam como melhores dietas a D5 e a D3, como se pode observar na figura 16, seguida da D6 e da D4, tendência essa que, como foi referido anteriormente, não se veio a verificar.

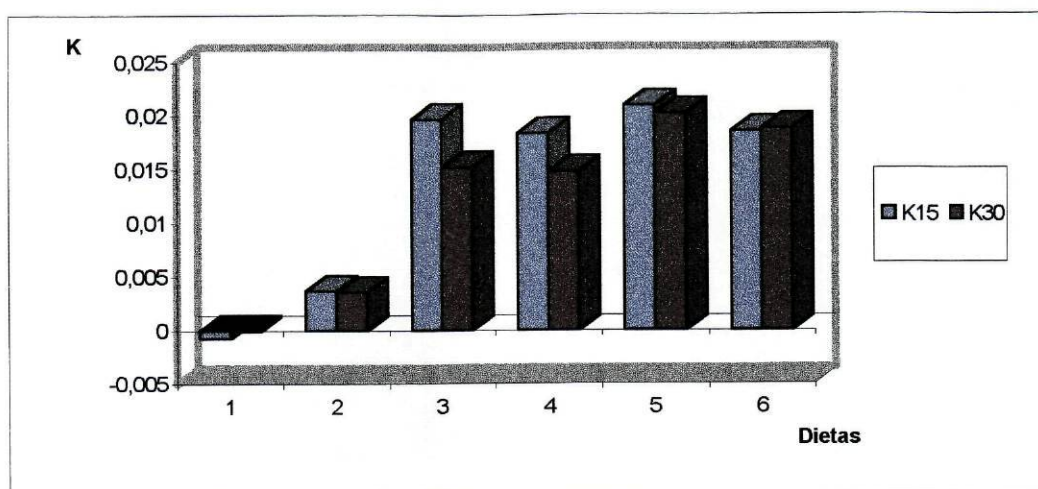


Fig. 16 - Taxa de Crescimento Relativo, com base nos pesos frescos totais, verificados por dieta na 1ª experiência (2ª fase). Valores intermédios (k15) e finais (k30).

Com a mudança da ração algal diária (da 1ª para a 2ª fase), notaram-se francas alterações nos valores obtidos para o parâmetro peso fresco total.

Assim, na 2ª fase da experiência, registaram-se valores para os coeficientes calculados, superiores aos da 1ª, à excepção da dieta D1 (jejum), observando-se ter sido a dieta D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola) a que mais beneficiou desta alteração, passando de uma taxa de crescimento de 0.008 e de um acréscimo de crescimento de 29.0 % para 0.020 e 83.5 %, respectivamente.

A dieta D4 (1ª fase - 352.500 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola), seguiu-se à anterior, aproximando-se desta forma da D3 (1ª fase - 352.500 mg algas + água do mar filtrada; 2ª fase - 176.250 mg algas + água do mar filtrada).

A que menos beneficiou com esta alteração foi a D6 (1ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 44.063 mg algas + efluente piscícola), passando de uma taxa de crescimento de 0.012 e de um acréscimo de 46.7 % para 0.018 e 75.6 %, respectivamente.

3.1.2.4 - Índices de Condição

Visto a técnica utilizada na obtenção dos Índices de Condição implicar a perda de alguns destes animais, apenas se calculou este parâmetro no final desta fase experimental.

Os Índices de Condição observados para *Tapes decussatus* alimentada com as dietas já referidas, encontram-se na tabela 18, e ilustram-se na figura 17.

Tabela 18 - Índices de Condição obtidos em Tapes decussatus de acordo com a dieta (1ª experiência, 1ª e 2ª fase).

Dietas	Índices de Condição
Inicial	62,330
D1 (jejum)	40,236
D2 (efluente piscícola)	65,574
D3 (352,500/176,250mgA+AMF)	133,412
D4 (352,00/176,250mgA+EP)	132,320
D5 (176,250/88,125 mgA+EP)	150,444
D6 (88,125/44,063 mgA+EP)	158,568

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Verifica-se que, a partir de um valor inicialmente baixo (62.34), todas as dietas, à exceção de D1 (jejum), conduziram a uma subida da condição de T. decussatus, atingindo-se um valor máximo de 158.57 com a dieta D6 (1ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 44.063 mg algas + efluente piscícola), logo seguida pela D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola), D3 (1ª fase - 352.500 mg algas + água do mar filtrada; 2ª fase - 176.250 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (1ª fase - 352.500 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola), registando-se para estas duas últimas valores muito próximos entre si.

Segundo MARTEIL (1976), os valores obtidos para as dietas D3, D4, D5, e D6 são indicadores da presença de animais de elevada qualidade.

Apenas com a dieta D2 (efluente piscícola) se verificou um valor próximo do inicial (65.57), tendo a dieta D1 (jejum) conduzido a uma ligeira perda de condição de T. decussatus, relativamente ao valor inicial.

Os resultados obtidos para ambas as dietas referidas, indicam-nos, segundo o mesmo autor, que a qualidade destes animais pode ser considerada medíocre.

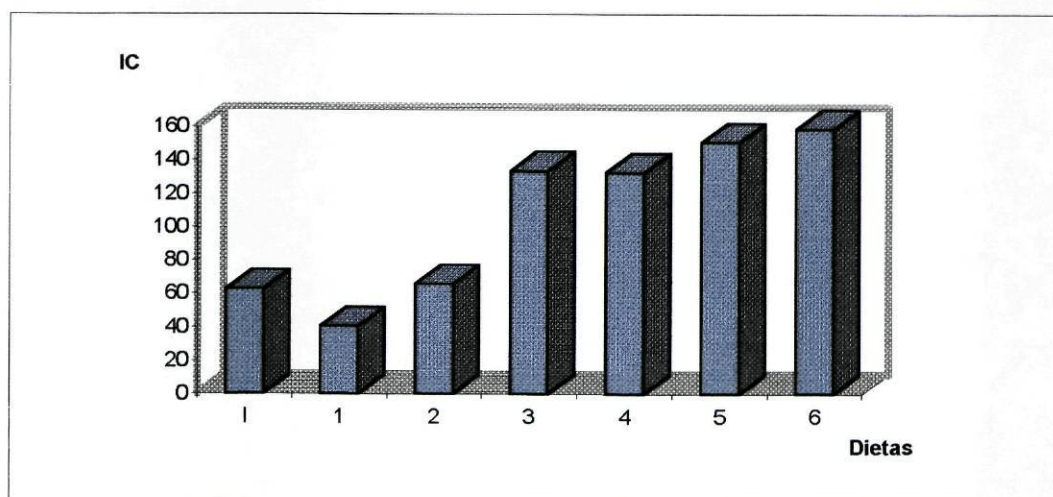


Fig. 17 - Índices de Condição calculados para Tapes decussatus no final da 1ª experiência (1ª e 2ª fase), de acordo com a dieta.

3.1.2.5 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal

A tabela 19 refere os valores observados quanto a Sobrevivência e Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm30) durante a 2ª fase da 1ª experiência.

Tabela 19 - Percentagem de Sobrevivência e Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm30) em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (1ª experiência, 2ª fase)

Diets	Percentagem de Sobrevivência		Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm 30)
	Ao fim de 15 dias	Ao fim de 30 dias	
D1 (jejum)	78,58	43,44	0,8392
D2 (efluente piscícola)	93,14	89,42	0,1180
D3(176,250 mgA+AMF)	97,37	94,74	0,0540
D4 (176,250 mg A+EP)	97,91	94,78	0,0536
D5 (88,125 mg A+EP)	98,27	96,54	0,0352
D6 (44,063 mg A+EP)	98,98	97,27	0,0277

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Registaram-se, novamente, valores elevados de sobrevivência com todas as dietas testadas (figura 18), à exceção de D1 (jejum), onde foi observada a sobrevivência mínima de 78.58 % e 43.44 %, após 15 e 30 dias de experimentação, respectivamente. O valor final para este parâmetro apresenta-se bastante inferior ao obtido na 1ª fase desta experiência, para a mesma dieta, que foi de 63.33 %.

A sobrevivência com D2 (efluente piscícola) foi de novo o valor mais baixo registado a seguir a D1 (jejum), atingindo, no entanto, valores muito superiores aos desta dieta. Da comparação dos resultados finais, obtidos em ambas as fases da experiência para a referida dieta, podemos constatar que estas conduziram a valores extremamente próximos, sendo no entanto o de D2 (efluente piscícola), 1ª fase, ligeiramente superior (1ª fase - 89.83 %; 2ª fase - 89.42%).

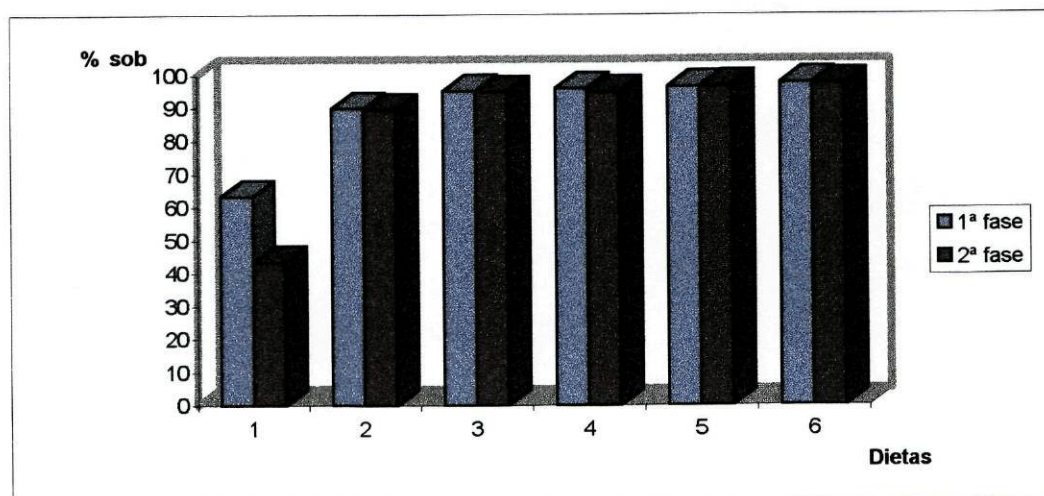


Fig. 18 - Percentagem de Sobrevivência observada no final da 1ª e 2ª fase da 1ª experiência.

Nas restantes dietas, a tendência registada, quer ao fim de 15 dias, quer no final da experiência, foi igual à verificada na 1ª fase, ou seja, o valor mais elevado foi obtido em ambas as situações, com a dieta D6 (1ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 44.063 mg algas + efluente piscícola), seguida de D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola), D4 (1ª fase - 352.500 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola) e D3 (1ª fase - 352.500 mg algas + água do mar filtrada; 2ª fase - 17.250 mg algas + água do mar filtrada) .

Todos os valores finais, à excepção de D5, foram ligeiramente inferiores aos verificados na 1ª fase.

Comparando as percentagens de sobrevivência obtidas ao fim de 15 e 30 dias de experimentação, verificamos que as finais foram todas ligeiramente inferiores às registadas na 1ª quinzena, sendo a diferença mais notória observada com a dieta D1 (jejum).

No que diz respeito aos valores da taxa instantânea de mortalidade mensal (tabela 19), estes, como já verificado anteriormente, seguem a tendência atrás referida. Assim, as dietas que conduziram a maior mortalidade, foram a D1 (jejum) e D2 (efluente piscícola), atingindo a 1ª, o valor mais elevado, 0.84, o qual comparado com o da primeira fase (0.46), se aproxima do dobro do então observado.

Com a dieta D6 (44.063 mg algas + efluente piscícola), obteve-se de novo a taxa de mortalidade mais baixa (0.028), logo seguida das dietas D5 (88.125 mg algas + efluente piscícola), D4 (176.250 mg algas + efluente piscícola) e D3 (176.250 mg algas + água do mar filtrada), apresentando as duas últimas valores muito idênticos, de 0.0536 para D4 e de 0.0540 para D3.

Comparando os resultados obtidos em ambas as fases, verificamos que os valores da 2ª fase se apresentam ligeiramente superiores, à excepção de D5 (1ª fase - 176.250 mg algas + efluente piscícola; 2ª fase - 88.125 mg algas + efluente piscícola), a qual apresenta um valor ligeiramente inferior.

3.1.2.6 - Taxas de filtração

Os valores médios das taxas de filtração calculadas para as duas espécies microalgais empregues, bem como das taxas de filtração considerando as duas espécies em simultâneo (taxa de filtração total) podem ser observados na tabela 20, com respectiva representação gráfica na figura 19.

Estes valores foram calculados, novamente, com base nas contagens efectuadas com um hemocitómetro (câmara de Neubauer), das microalgas presentes na água dos tanques após ter sido fornecido o alimento aos bivalves, e passadas 24 horas deste ter sido administrado.

Convém lembrar que nesta fase experimental, foram empregues as mesmas dietas da fase anterior, com a diferença dos teores microalgais terem sido todos reduzidos para metade. Deste modo, a dieta D3 passou a ser constituída por 176.250 mg de microalgas e água do mar filtrada, a D4 por 176.250 mg de microalgas e efluente piscícola e a D5 e D6 por 88.125 e 44.063 mg de microalgas e efluente piscícola respectivamente.

Tabela 20 - Valores médios de taxas das filtração, calculadas para cada uma das microalgas utilizadas e considerando as duas conjuntamente (1ª experiência, 2ª fase). Temperatura média de 13,29°C.

Taxa de filtração (ml/min)	Dieta D3 (176,250 mg A + AMF)	Dieta D4 (176,250 mg A + EP)	Dieta D5 (88,125 mg A + EP)	Dieta D6 (44,063 mg A + EP)
<i>Tetraselmis suecica</i>	0,00449 ± 0,00201	0,01250 ± 0,00891	0,02189 ± 0,00987	0,00806 ± 0,00525
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	0,00491 ± 0,00102	0,00225 ± 0,00123	0,02595 ± 0,01000	0,01250 ± 0,00978
Taxa de filtração total	0,00959 ± 0,00198	0,00917 ± 0,00157	0,02250 ± 0,00999	0,01320 ± 0,00745

AMF - água do mar filtrada; EP - efluente piscícola; A - algas

Assim, e com a dieta D5 (88.125 mg algas + efluente piscícola) registou-se a maior taxa de filtração total observada, seguindo-se por ordem decrescente as dietas D6 (44.063 mg algas + efluente piscícola), D3 (176.250 mg algas + água do mar filtrada) e D4 (176.250 mg algas + efluente piscícola), estas duas últimas, no entanto, com valores próximos entre si.

Relativamente às taxas de filtração calculadas separadamente para cada uma das espécies microalgais utilizadas, e à excepção do valor registado com a dieta D4, a taxa de filtração calculada para *Phaeodactylum tricornutum* foi superior nos restantes tanques à obtida com a microalga *Tetraselmis suecica*. Esta última registou os valores mais elevados de filtração nos animais sujeitos à dieta D5, seguindo-se as dietas D4, D6 e D3. Para a microalga *P. tricornutum* os valores obtidos para a respectiva taxa de filtração atingiram o valor máximo com a dieta D5, seguido por ordem decrescente das dietas D6, D3 e D4.

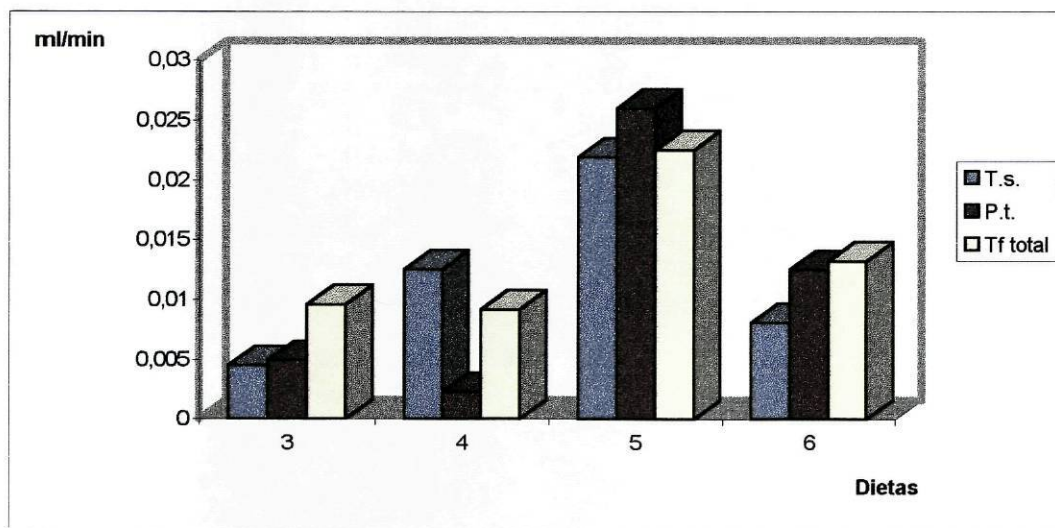


Fig. 19 - Taxas de filtração médias calculadas separadamente para as duas microalgas empregues e considerando a duas espécies conjuntamente, para cada dieta testada (1ª experiência, 2ª fase).

Comparando os valores da taxa de filtração total obtidos na 1ª fase com os registados nesta, onde os teores microalgais de todas as dietas foram reduzidos para metade do valor da fase anterior, verificámos que as taxas de filtração da 2ª fase se apresentam para todas as dietas, à excepção da D6, superiores às obtidas na 1ª fase experimental.

Relativamente às taxas de filtração calculadas separadamente para cada uma das espécies microalgais utilizadas, e à exceção dos valores registados para a microalga P. tricornutum com as dietas D4 e D6 e para a microalga T. suecica com a dieta D6, todos os restantes valores foram superiores aos verificados na 1ª fase.

Comparando agora, as dietas que apresentam igual teor de microalgas, ou seja, as dietas D3 e D4 da 2ª fase com a dieta D5 da 1ª, e a dieta D5 da 2ª com a dieta D6 da 1ª, verificámos que para o mesmo teor microalgal, e relativamente à taxa de filtração total, os valores registados nesta fase foram superiores aos da fase anterior, sendo essa diferença mais notória com as dietas D6 da 1ª fase e a de igual teor microalgal na 2ª, D5.

Relativamente às taxas de filtração calculadas separadamente para cada uma das espécies microalgais utilizadas, verificámos que as dietas D3 e D4 da 2ª fase, apresentaram para ambas as microalgas utilizadas, taxas de filtração inferiores às registadas com a dieta de igual teor microalgal na fase anterior, ou seja, D5. No entanto, a dieta D5 da 2ª fase, conduziu a taxas de filtração para as microalgas P. tricornutum e T. suecica superiores às verificadas na 1ª fase com a dieta de igual teor microalgal, ou seja, D6.

Relativamente à análise das partículas em suspensão, esta não foi realizada visto a alteração verificada nas dietas da 1ª fase ter sido apenas quantitativa. Logo, a distribuição das partículas por tamanhos deveria ser semelhante à observada na fase anterior, com a diferença de que os números de partículas registados após o fornecimento do alimento, serem menores com as dietas D3, D4, D5 e D6.

3.2 - Segunda experiência

Na segunda experiência, pretendeu-se comparar o efeito da dieta microalgal utilizada na primeira experiência (1ª fase), com outra não algal (soro de queijo St. Paulin), através dos parâmetros biométricos, índices de condição e sobrevivência obtidos em *Tapes decussatus*.

A dieta não algal foi testada em concentrações que equivaliam às da dieta microalgal em termos de teor proteico.

O uso de diferentes concentrações de microalgas e de lacto-soro, teve novamente como objectivo tentar encontrar a que permitia melhores resultados de crescimento.

Convém referir, que relativamente à dieta microalgal foram empregues concentrações semelhantes às utilizadas na 1ª fase da 1ª experiência, tendo estas, no entanto, sido testadas a uma temperatura superior (18°C) a qual foi mantida constante durante toda a experiência.

O ensaio experimental teve a duração de 30 dias, tendo sido consideradas as situações de jejum (D1), 360.000 mg de dieta microalgal utilizada (D2), 270.000 (D3), 180.000 (D4) e 90.000 (D5) mg da respectiva dieta. Relativamente à dieta não algal foram consideradas as situações em que se forneceram 15.125 ml de soro (D6), 11.344 (D7) e 7.563 e 3.781 ml de soro nas dietas D8 e D9, respectivamente.

O alimento foi fornecido diariamente, e a água dos tanques substituída três vezes por semana.

Os parâmetros físico-químicos pH, oxigénio dissolvido e salinidade foram determinados três vezes por semana, após enchimento dos tanques com água do mar fresca, e no final de dois dias de alimentação, o que explica o aparecimento dos números 0 e 2 como dias, nos gráficos de variação dos factores considerados. Os restantes parâmetros foram determinados após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento, à excepção dos sólidos suspensos totais, que foram determinados no 2º dia. Na representação gráfica, estes dias de amostragem surgem como dias 1 e 2, respectivamente.

3.2.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques

Os parâmetros pH, oxigénio dissolvido e salinidade registados na água dos tanques durante a 2ª experiência, encontram-se sintetizados na tabela 21.

Tabela 21 - Características ambientais observadas na água dos tanques de cultura durante o período experimental (2ª experiência).

Parâmetros físico-químicos	Mínimo	Máximo	Média ± desvio padrão
Salinidade (‰)	30,00	42,00	34,84 ± 2,701
pH	7,60	7,80	7,72 ± 0,055
Oxigénio (% saturação)	89,00	100,00	95,32 ± 2,997

Assim, e relativamente aos valores de pH (figura 20A), registados na água dos tanques, estes não sofreram grandes oscilações ao longo da experiência, atingindo-se uma variação mínima de 0.1

nos tanques 1 (jejum), 2 (360.000 mg algas), 3 (270.000 mg algas) e 9 (3.781 ml soro), e máxima (0.2) nos restantes. O valor de pH mais elevado foi de 7.8 e o mais baixo de 7.6.

O oxigénio dissolvido na água (figura 20B) apresentou várias oscilações ao longo da experiência, registando-se um valor máximo de saturação (100%) para os tanques T2 (360.000 mg de algas), T3 (270.000 mg de algas), T4 (180.000 mg de algas), T5 (90.000 mg de algas) e T6 (15.125 ml de soro), e um valor mínimo, já de si elevado de 89 % para o tanque T7 (11.344 ml de soro). Os restantes tanques apresentaram valores intermédios de oxigenação.

A salinidade (figura 20C) apresentou a mesma variação, ao longo da experiência, para os tanques 1 (jejum) e para os que continham lacto-soro como alimento, registando-se em todos eles um valor mínimo de 30 ‰ e máximo de 36 ‰.

Nas dietas microalgais, o tanque 2 (360.000 mg algas) apresentou valores próximos do tanque 3 (270.000 mg algas), atingindo-se no 1º o valor máximo de toda a experiência, 42 ‰.

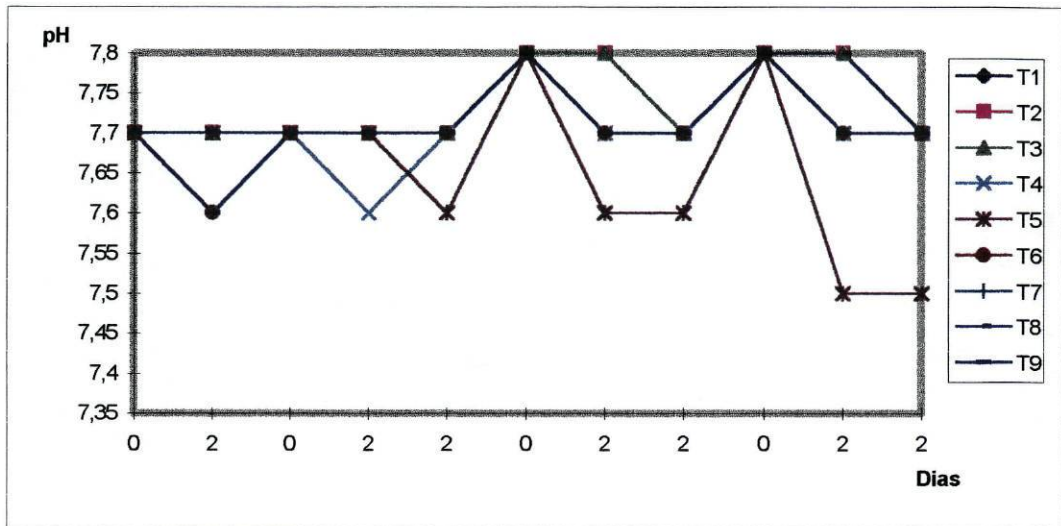
Os restantes dois tanques aproximaram-se entre si, e com valores inferiores aos registados nos dois anteriores.

Os valores registados para os parâmetros amónia, sólidos suspensos totais e pigmentos, encontram-se referidos na tabela 22, os quais dizem respeito a valores médios das determinações efectuadas na água dos tanques, após 1 e 2 dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves.

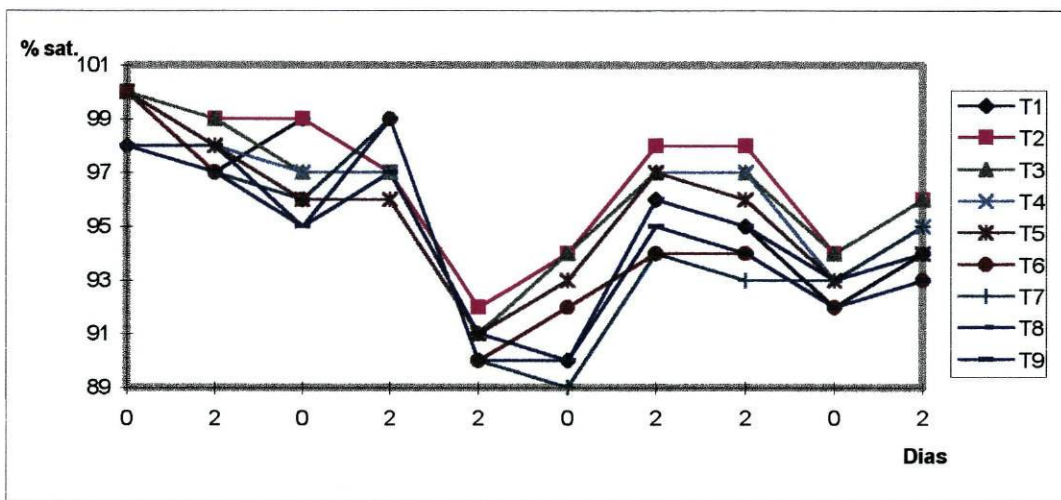
Tabela 22 - Valores médios de amónia, de clorofila a, b e c e de sólidos suspensos totais registados na água dos tanques da 2ª experiência, após um e dois dias de alimentação.

Tanques	Amónia (ug al N-NH4/l)		Clorofila a (mg/m3)		Clorofila b (mg/m3)		Clorofila c (mg/m3)		SST (mg/l)
	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	
T1 (jejum)	6,2077 ± 0,6999	7,5794 ± 1,7914	-	-	-	-	-	-	11,9125 ± 5,9767
T2 (360,000 mg A)	0,5895 ± 0,3910	0,2639 ± 0,0873	565,9617 ± 98,2473	946,5403 ± 68,5658	343,4493 ± 64,4625	758,8595 ± 139,3581	197,5553 ± 62,3955	667,7925 ± 180,5496	114,2500 ± 15,4980
T3 (270,000 mg A)	0,6769 ± 0,4727	0,5202 ± 0,3020	457,9313 ± 111,1885	632,2100 ± 291,0333	263,8053 ± 71,7274	377,6335 ± 229,5279	134,1240 ± 51,9112	307,7980 ± 175,4769	96,6250 ± 28,6212
T4 (180,000 mg A)	0,7856 ± 0,4781	0,6498 ± 0,3259	256,6387 ± 82,3802	494,1935 ± 76,3667	116,9818 ± 59,2235	296,2128 ± 266,7281	53,3733 ± 35,3733	184,9590 ± 60,7392	78,6250 ± 24,7623
T5 (90,000 mg A)	4,1972 ± 2,4757	5,3408 ± 1,4905	42,8610 ± 23,8609	52,4581 ± 14,4064	14,1664 ± 9,6938	27,7348 ± 6,7598	0,0000	7,5830 ± 2,0132	15,7250 ± 5,6113
T6 (15,125 ml soro)	0,1189 ± 0,0680	0,5630 ± 0,4004	-	-	-	-	-	-	51,5625 ± 7,4296
T7 (11,344 ml soro)	0,4386 ± 0,3598	0,6627 ± 0,4087	-	-	-	-	-	-	42,7500 ± 7,1894
T8 (7,563 ml soro)	0,4248 ± 0,2373	0,4363 ± 0,2799	-	-	-	-	-	-	31,0833 ± 9,8754
T9 (3,781 ml soro)	0,2436 ± 0,0931	0,2509 ± 0,2170	-	-	-	-	-	-	21,5750 ± 8,4431

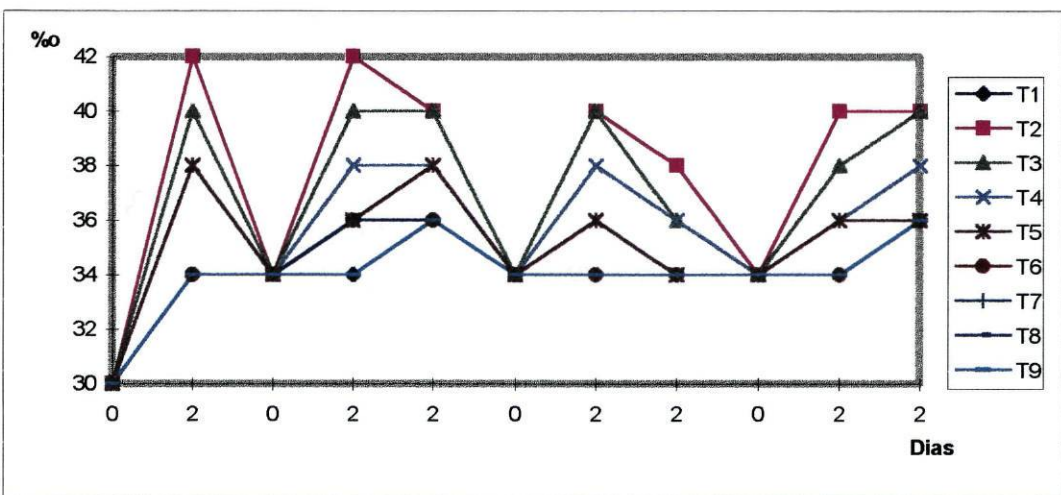
A - algas



A



B



C

Fig. 20 - Valores de pH (20A), oxigênio dissolvido (20B) e salinidade (20C) registados na água dos tanques durante a 2ª experiência.

Da análise do parâmetro amónia (figura 21) verificamos que o tanque em jejum registou o valor mais elevado, quer após um ou dois dias de alimentação, relativamente aos restantes tanques.

Nas dietas compostas por microalgas, observou-se a tendência já verificada na 1ª experiência para, à medida que a concentração de algas diminui, aumentar o valor de amónia, tendo esse aumento sido mais notório no tanque 5 (90.000 mg algas), ao qual tinha sido fornecida a menor concentração algal. De novo se registaram teores de amónia inferiores no 2º dia de alimentação em relação ao 1º, à excepção do tanque 5, que registou um valor ligeiramente superior, contrariando assim essa tendência.

Nos tanques em que a dieta administrada consistiu em lacto-soro, não foi possível, para ambas as determinações, estabelecer-se uma tendência; apenas se verificou que todos os valores obtidos após dois dias de alimentação eram superiores aos do 1º dia, diferença essa que não foi tão notória nos tanques 8 (7.563 ml soro) e 9 (3.781 ml soro). Os teores mais elevados, obtidos após um dia de alimento, foram registados nos tanques 7 (11.344 ml soro) e 8, e no 2º dia de alimentação nos tanques 6 (15.125 ml soro) e 7.

O tanque que registou o valor mínimo de amónia diferiu nas determinações efectuadas após um e dois dias de alimentação, tendo sido o tanque 6 ao fim do 1º dia e o tanque 9 ao fim de dois dias.

Determinou-se, ainda, o teor médio de amónia da água do mar filtrada, utilizada nas culturas, registando esta um valor bastante elevado ($2.3346 \pm 0.6293 \mu\text{g at N-NH}_4/\text{l}$). Em todos os tanques, e à excepção do jejum e do tanque 5 (90.000 mg algas), verificou-se que os valores finais de amónia foram bastante inferiores aos registados na água do mar filtrada (ou seja ao valor inicial).

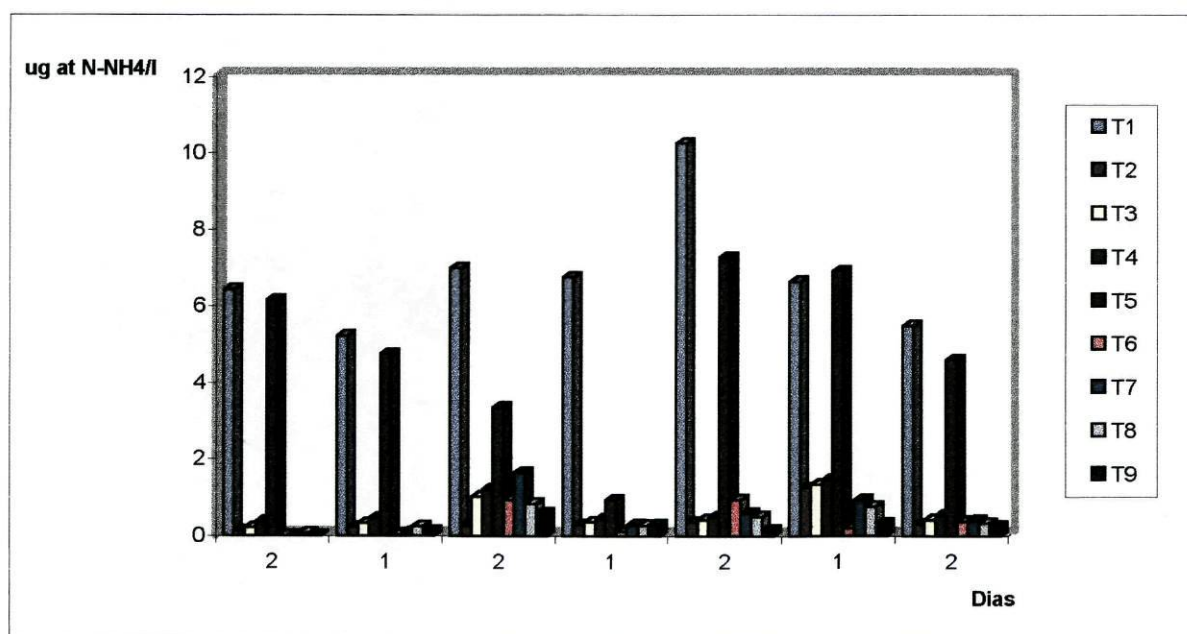


Fig. 21 - Valores de amónia registados na água dos tanques durante a 2ª experiência.

Os sólidos suspensos totais (figura 22), foram determinados ao fim do 2º dia de alimentação, registando-se o valor mínimo com a dieta D1 (jejum). Para os tanques aos quais tinham sido administradas microalgas obteve-se o valor mais elevado quanto a este parâmetro no tanque que

recebeu a maior concentração algal (T2- 360.000 mg algas) e o mais baixo no que recebeu a menor concentração. Os dois restantes apresentaram tendência idêntica.

Nos tanques com lacto-soro verificou-se igual comportamento ao referido para as microalgas, ou seja, à medida que aumentou a sua concentração, registaram-se valores sucessivamente crescentes de sólidos suspensos totais.

Comparando os valores obtidos nestes últimos tanques, com os das dietas microalgais, verificamos que com estas, à excepção do tanque 5 (90.000 mg algas), se registaram níveis de sólidos suspensos totais bastante mais elevados.

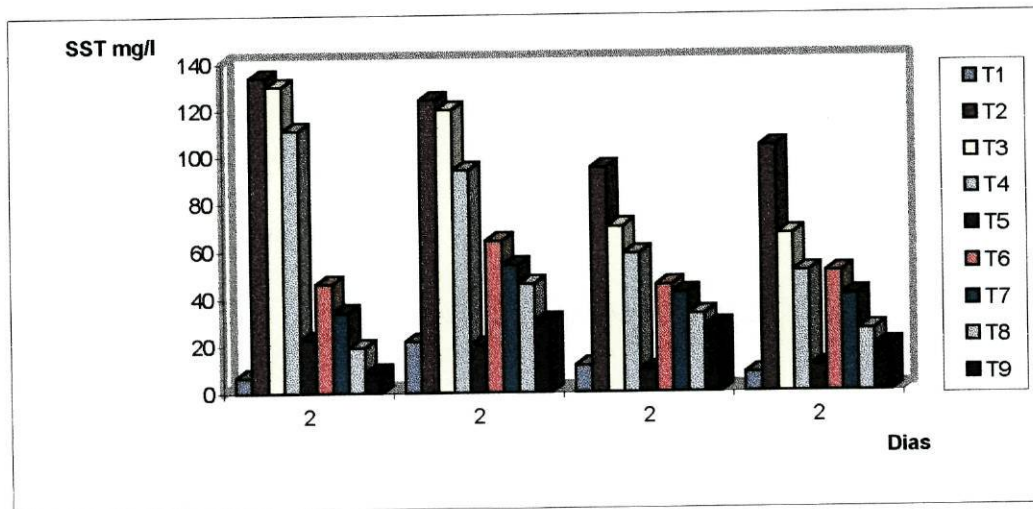


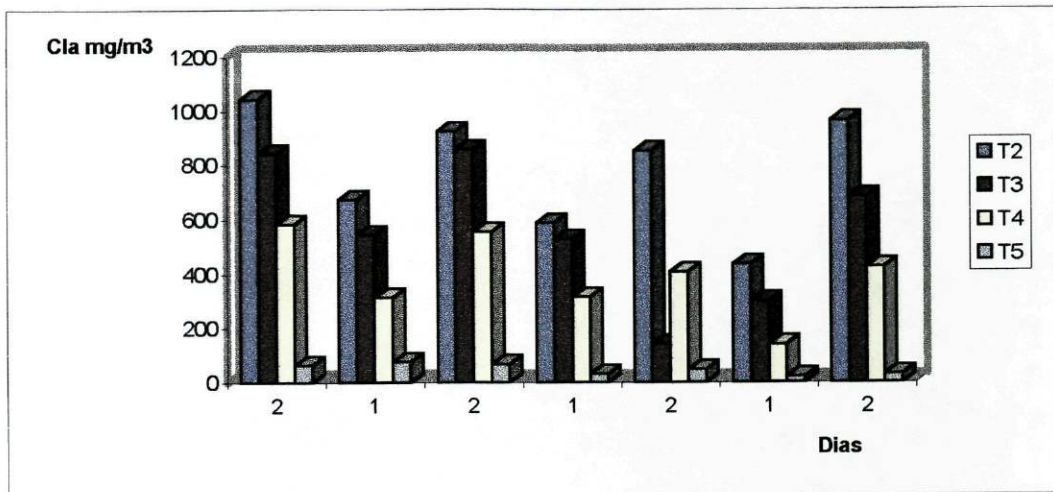
Fig. 22 - Sólidos suspensos totais registados na água dos tanques durante a 2ª experiência.

Os valores de clorofilas a, b e c (figura 23 A, B e C), registaram a mesma tendência referida aquando da sua análise na 1ª experiência. Assim, e a maiores concentrações microalgais, corresponderam os teores mais elevados de clorofilas a, b e c, quer após um ou dois dias de alimentação, sendo os valores de clorofila a, em ambos os casos, superiores aos restantes.

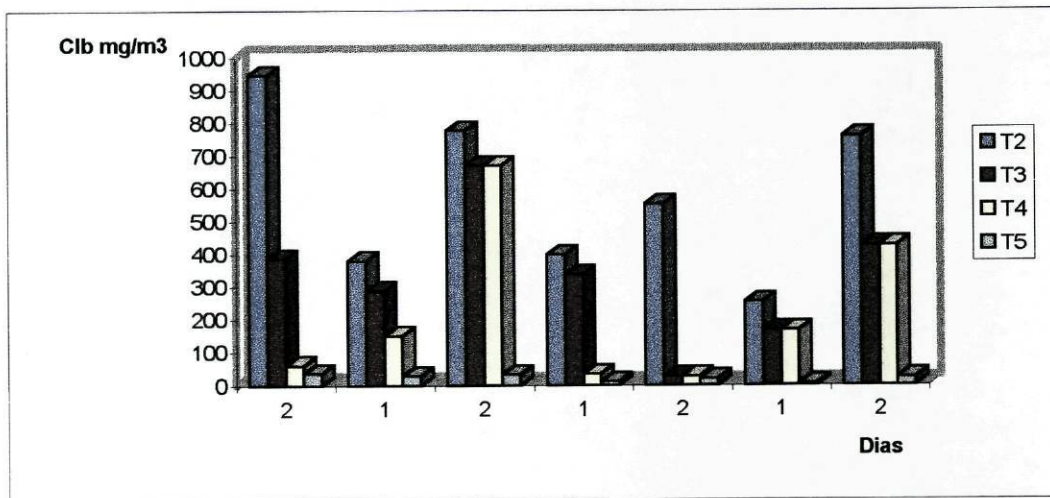
Os teores de clorofila b foram superiores aos de clorofila c, registando-se nestes últimos um valor nulo com a dieta D5 (90.000 mg algas) no 1º dia de alimentação. Os valores determinados para o 2º dia, foram todos superiores aos do 1º, diferença essa mais notória nos tanques 1 (jejum) e 2 (360.000 mg algas).

3.2.2 - Biometria

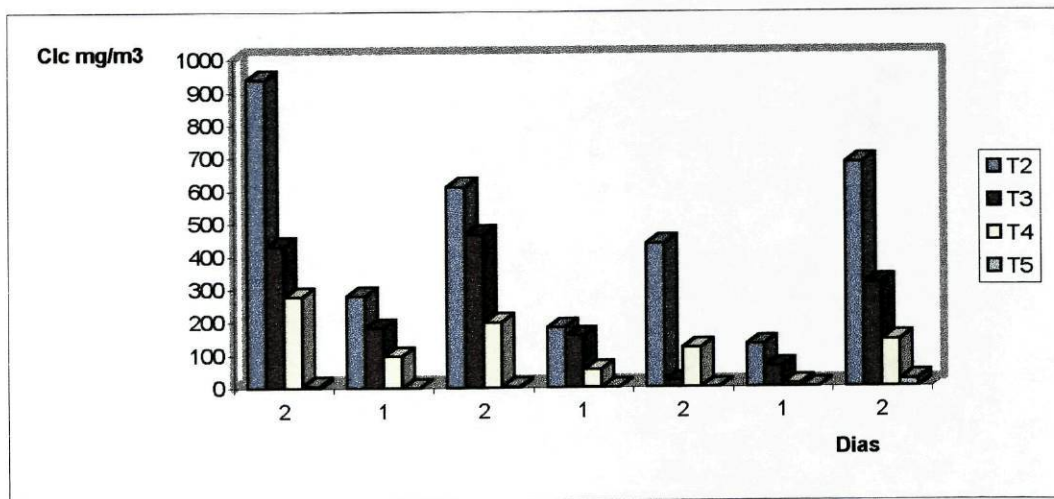
Na tabela 23, são apresentados os resultados da análise do comprimento final e dos pesos frescos totais iniciais (Pfti), intermédios (Pftm) e finais (Pftf), bem como dos pesos secos da carne (Pscar) obtidos com as dietas algais e não algais nas diferentes concentrações empregues. A respectiva representação gráfica pode ser vista nas figuras 24 A e 24B e 25.



A



B



C

Fig. 23 - Valores de clorofila a (23A) , b (23B) e c (23C) registados na água dos tanques com microalgas durante a 2ª experiência.

Tabela 23 - Biometria de *Lapes decussatus* alimentada com dietas microalgais e com soro de queijo em diferentes concentrações (2ª experiência).

Dietas	Ração diária	Comp. inicial (mm)	Comp. final (mm)	Duncan*	P.f.t. inicial (mg)	P.f.t. interm. (mg)	Duncan*	P.f.t. final (mg)	Duncan*	P.s.carne inicial (mg)	P.s.carne final (mg)	Duncan*
D1	Jejum	4,321 ± 0,301	4,548 ± 0,319	a	24,012 ± 1,723	22,077 ± 2,412	a	22,412 ± 2,380	a	0,700 ± 0,170	0,823 ± 1,652	a
D2	360,000 mg algas	4,321 ± 0,303	6,071 ± 0,405	b	24,353 ± 2,007	31,103 ± 5,648	b	37,018 ± 6,575	b	0,700 ± 0,172	2,753 ± 0,760	b
D3	270,000 mg algas	4,321 ± 0,305	6,493 ± 0,499	c	24,295 ± 2,199	31,147 ± 5,622	b	42,827 ± 7,623	c	0,700 ± 0,174	3,163 ± 0,799	b
D4	180,000 mg algas	4,321 ± 0,307	6,711 ± 0,447	d	24,290 ± 1,969	33,983 ± 6,147	c	46,625 ± 7,088	d	0,700 ± 0,176	4,508 ± 1,237	c
D5	90,000 ml soro	4,321 ± 0,309	7,425 ± 0,528	e	24,290 ± 1,815	42,793 ± 11,627	d	58,993 ± 10,346	e	0,700 ± 0,178	5,318 ± 1,073	d
D6	15,125 ml soro	4,321 ± 0,311	5,615 ± 0,538	f	24,247 ± 6,275	27,748 ± 6,275	e	30,727 ± 5,032	f	0,700 ± 0,180	1,520 ± 0,987	e
D7	11,344 ml soro	4,321 ± 0,313	5,488 ± 0,401	fg	24,118 ± 2,012	26,770 ± 6,275	ef	32,222 ± 6,088	f	0,700 ± 0,182	1,513 ± 0,376	e
D8	7,563 ml soro	4,321 ± 0,315	5,413 ± 0,535	g	24,022 ± 1,690	27,100 ± 6,413	e	30,202 ± 5,040	f	0,700 ± 0,184	1,455 ± 0,357	e
D9	3,781 ml soro	4,321 ± 0,317	5,362 ± 0,336	g	24,110 ± 1,992	24,603 ± 4,024	f	28,222 ± 4,210	g	0,700 ± 0,186	1,418 ± 0,430	e

* Dietas que apresentam letras iguais não diferem entre si estatisticamente (p > 0,05)

Da análise dos valores de comprimento, obtidos após 30 dias de experimentação (figura 24A), verifica-se que todos sem excepção se apresentam superiores ao valor inicial, embora com a dieta D1 (jejum) essa diferença seja menos notória.

Os melhores resultados foram atingidos com as dietas microalgais, destacando-se entre elas a dieta D5 (90.000 mg algas) com 7.425 mm de comprimento final, seguida de D4 (180.000 mg algas), D3 (270.000 mg algas) e D2 (360.000 mg algas).

As restantes dietas, à excepção de D1, apresentaram valores muito próximos entre si (5.362 a 5.615 mm). Efectivamente, as dietas D7 (11.344 ml soro), D8 (7.563 ml soro) e D9 (3.781 ml soro) são consideradas estatisticamente iguais entre si, bem como as dietas D6 (15.125 ml soro) e D7 ($p > 0.05$).

No entanto para o soro, e em termos de valor absoluto, a D6 mostrou ser a dieta mais benéfica e a D9 a que conduziu a piores resultados.

Finalmente, é interessante referir que a dieta D6 conduziu a um resultado próximo do obtido com a dieta algal de correspondente teor proteico (D2), verificando-se o maior distanciamento entre D9 e a sua dieta algal de correspondente teor proteico D5.

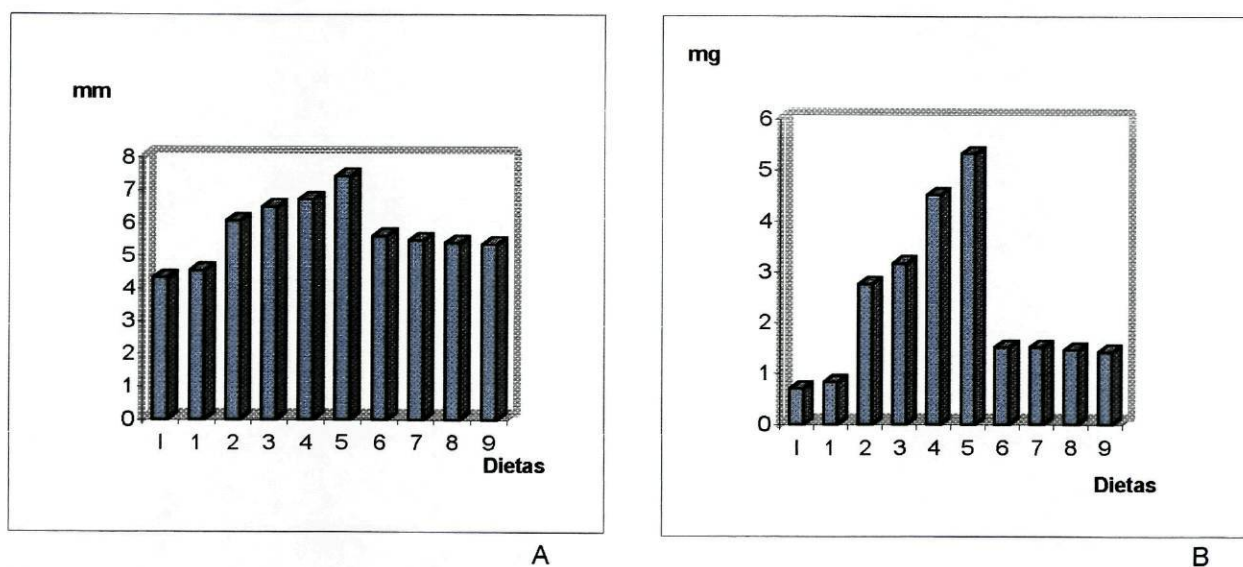


Fig. 24 - Comprimento (24A) e peso seco da carne (24B) inicial e final para *Tapes decussatus*, de acordo com a dieta (2ª experiência).
I - situação inicial

Relativamente aos pesos frescos totais (figura 25), todas as dietas, à excepção de D1 (jejum) com a qual se registou um valor inferior, conduziram a um incremento de peso após 15 e 30 dias de experiência, comparativamente ao valor inicial. Esse incremento foi, no entanto, mais significativo no final da experiência.

As dietas microalgais foram novamente as que registaram melhores resultados de crescimento, destacando-se igualmente a D5 (90.000 mg algas), seguida por ordem decrescente da D4 (180.000 mg algas), D3 (270.000 mg algas) e D2 (360.000 mg algas).

As duas últimas, e apenas na 1ª quinzena, apresentaram valores muito próximos entre si, 31,147 e 31,103 mg respectivamente, não sendo consideradas estatisticamente diferentes ($p > 0.05$).

Com as dietas não algais, à exceção de D1 que manteve sempre a mesma tendência, as restantes conduziram a resultados intermédios e finais muito diferentes entre si.

Assim, e nos primeiros 15 dias, D6 (15.125 ml soro) e D8 (7.563 ml soro) foram as dietas com as quais se obtiveram os valores mais elevados de peso fresco total, seguidas de D7 (11.344 ml soro) e D9 (3.781 ml soro), esta última, no entanto, com um valor um pouco inferior.

A análise estatística revela, contudo, não existirem diferenças entre as dietas D6, D7 e D8 e ainda entre D7 e D9 ($p > 0.05$).

Os resultados finais aos 30 dias, alteram o anteriormente verificado, ao considerar apenas iguais as dietas D8 e D9 ($p > 0.05$).

O valor mais elevado foi desta vez obtido com a dieta D7, seguida por ordem decrescente de D6, D8 e D9.

Novamente se verificou que a D6 foi a dieta que mais se aproximou da dieta algal de correspondente teor proteico, D2, e a D9 a que mais se distanciou.

Comparando os resultados dos pesos frescos totais finais obtidos nesta experiência com as dietas microalgais D2 (360.000 mg algas), D4 (180.000 mg algas) e D5 (90.000 mg algas), com os registados na 1ª fase da 1ª experiência, com as dietas microalgais de concentração semelhante, ou seja, as dietas D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada), D5 (176.125 mg algas + efluente piscícola) e D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), verificámos que os valores obtidos nesta fase se apresentaram bastante superiores aos registados na 1ª fase da 1ª experiência, sobretudo o verificado com a dieta que continha o menor teor microalgal, a qual conduziu a um ganho bruto em peso fresco total de 10.410 mg na 1ª fase da 1ª experiência (D6), tendo nesta experiência conduzido a um ganho bruto de 34.703 mg (D5), ou seja, superior ao triplo.

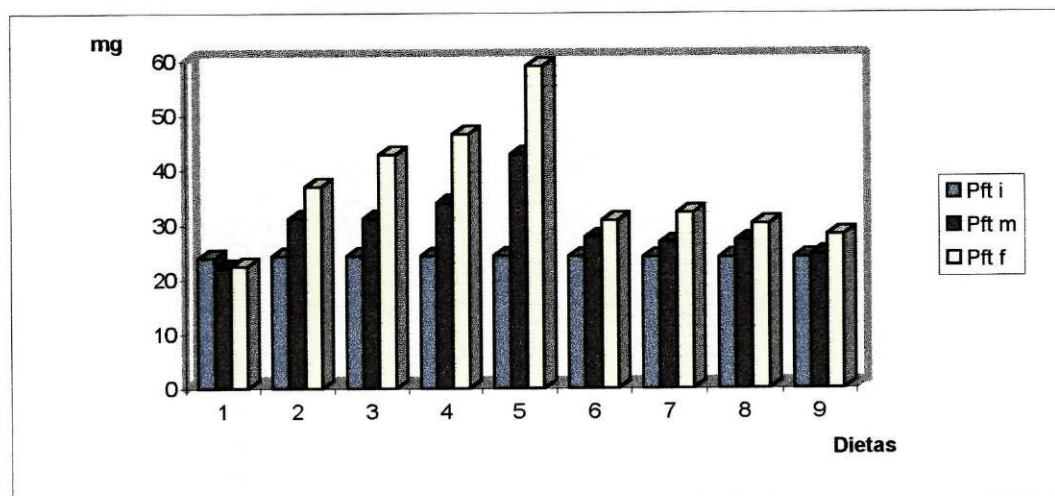


Fig. 25 - Peso fresco inicial, intermédio, final em Tapetes decussatus de acordo com a dieta (2ª experiência).

Os pesos secos da carne (24B) apenas foram obtidos no final do período experimental, registando as dietas microalgais a evolução referida para os dois parâmetros biométricos anteriores. Estatisticamente, as dietas D2 e D3 foram consideradas iguais entre si ($p > 0.05$).

Relativamente às dietas não algais estas mostraram a tendência já verificada aquando da análise do comprimento, não sendo no entanto distinguidas umas das outras estatisticamente, à exceção do jejum ($p > 0.05$).

3.2.3 - Coeficientes de Crescimento: Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento

A Taxa de Crescimento Relativo e o Acréscimo Relativo de Crescimento foram calculados tendo por base os comprimentos e os pesos frescos totais e secos da carne, obtidos com as dietas microalgais e não algais empregues.

Com o comprimento e peso seco da carne apenas se determinaram os valores finais para ambos os coeficientes, ou seja após 30 dias de experiência (tabela 24, figura 26), tendo-se calculado também os coeficientes ao fim de 15 dias de experiência para os pesos frescos totais (tabela 25, figura 27).

Tabela 24 - Taxa de Crescimento Relativo (K) e Acréscimo Relativo de Crescimento (ARC), este em percentagem, em função do comprimento e peso seco da carne, em Tapes decussatus, acordo com a dieta, após 30 dias de experiência (2ª experiência).

Dietas	Comprimento		Peso seco carne	
	K30	ARC30	K30	ARC30
D1 (jejum)	0,00167	5,24184	0,00537	15,50000
D2 (360,000 mg algas)	0,01133	40,51146	0,04544	293,21430
D3 (270,000 mg algas)	0,01357	50,26614	0,05024	351,78570
D4 (180,000 mg algas)	0,01467	55,29970	0,06204	543,92860
D5 (90,000 mg algas)	0,01804	71,83522	0,06739	659,64290
D6 (15,125 ml soro)	0,00872	29,94677	0,00279	117,14290
D7 (11,344 ml soro)	0,00797	26,99607	0,02566	116,07140
D8 (7,563 ml soro)	0,00750	25,27193	0,02437	107,85710
D9 (3,781 ml soro)	0,00719	24,09165	0,02339	102,51000

Os coeficientes de crescimento determinados com base nos comprimentos (tabela 24, figura 26) apresentaram igual evolução à referida aquando da análise destes. Assim, e relativamente às dietas microalgais a D5 (90.000 mg algas) foi a que conduziu aos valores mais elevados para ambos os coeficientes, e a D2 (360.000 mg algas) aos valores mais baixos. A D4 (180.000 mg algas) apresentou-se como a segunda melhor dieta, seguida de D3 (270.000 mg algas).

Com as restantes obtiveram-se valores inferiores aos registados com as dietas microalgais para ambos os coeficientes, com D1 (jejum) a apresentar o valor mais baixo e D6 (15.125 ml soro) o valor mais elevado, seguido por ordem decrescente de D7 (11.344 ml soro), D8 (7.563 ml soro) e D9 (3.781 ml soro).

Comparando estes coeficientes com os obtidos com base nos pesos frescos totais e secos da carne, verificamos que relativamente às taxas de crescimento relativo estas foram em todas as dietas inferiores às obtidas a partir dos dois restantes parâmetros biométricos, sendo essa diferença mais significativa em relação aos coeficientes calculados a partir dos pesos secos da carne. Os acréscimos de crescimento apresentaram a tendência acabada de referir para as taxas de crescimento, com a exceção dos valores obtidos com as dietas D6 (15.125 ml soro) e D9 (3.781 ml soro), calculadas com base nos comprimentos registarem valores superiores aos calculados com base nos pesos frescos totais, diferença essa mais notória com a dieta D9.

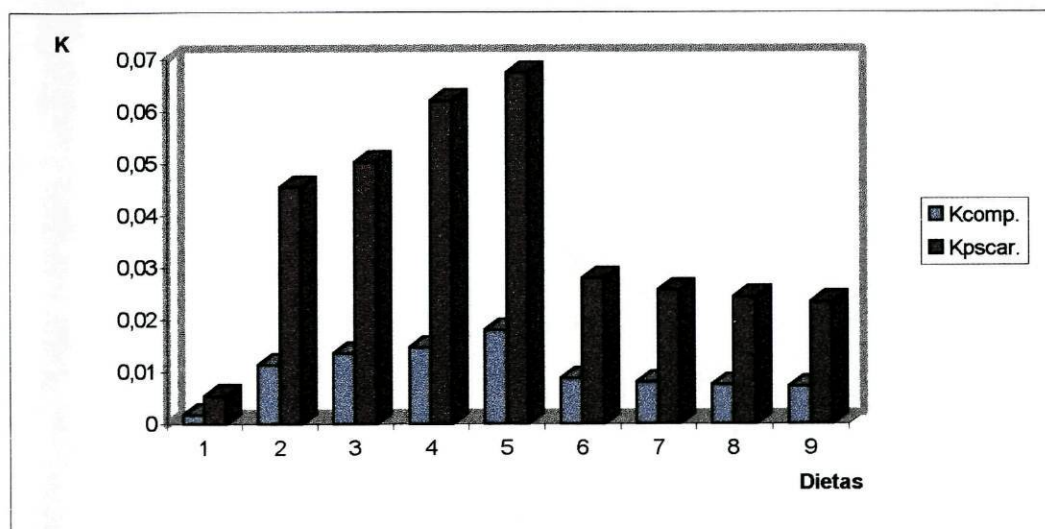


Fig. 26 - Taxa de Crescimento Relativo, com base no comprimento e peso seco da carne, verificada, por dieta, na 2ª experiência. Valores calculados após 30 dias de experiência.

Os coeficientes calculados a partir dos pesos secos da carne (tabela 24, figura 26), assemelham-se em termos de tendências às registadas nos coeficientes com base nos comprimentos, tendo-se obtido no entanto valores bastante superiores, sobretudo com o parâmetro acréscimo relativo de crescimento, que apresentou com a dieta D5 (90.000 mg algas) um valor superior a 600 %.

Tabela 25 -Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento em função do peso fresco total, em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (2ª experiência).

Dietas	Taxa de Crescimento Relativo com base no peso fresco total		Acréscimo Relativo de Crescimento com base no peso fresco total (%)	
	K15	K30	ARC15	ARC30
D1(jejum)	-0,00562	-0,00230	-8,05872	-6,66355
D2 (360,000 mg algas)	0,01631	0,01394	27,71521	52,00006
D3 (270,000 mg algas)	0,01653	0,01885	28,20052	76,28087
D4 (180,000 mg algas)	0,02229	0,02169	39,69615	91,66206
D5 (90,000 mg algas)	0,03768	0,02957	76,18030	142,86910
D6 (15,125 ml soro)	0,0089	0,00788	14,44188	26,67054
D7 (11,344 ml soro)	0,00694	0,00965	10,98765	32,97019
D8 (7,563 ml soro)	0,00803	0,00763	12,80732	25,71864
D9 (3,781 ml soro)	0,00135	0,00525	2,04571	17,05776

Os coeficientes de crescimento obtidos a partir dos pesos frescos totais (tabela 25, figura 27) apenas apresentaram diferenças, relativamente aos anteriores, no que diz respeito às dietas não algais. Desta forma, os melhores valores finais em ambos os coeficientes, foram registados com a dieta D7 (11.344 ml soro), seguida por ordem decrescente das D6 (15.125 ml soro), D8 (7.563 ml soro) e D9 (3.781 ml soro), apresentando D1 (jejum), novamente, o valor mais baixo.

Convém referir que os valores da 1ª quinzena apontavam (para as mesmas dietas), como melhores a D6 seguida da D8 e da D7 e finalmente da D9, tendência essa que, como foi dito anteriormente, não se veio a verificar.

Comparando estes coeficientes com os obtidos com base nos pesos secos da carne, os primeiros apresentaram, relativamente aos segundos, valores bastante inferiores.

Por fim, e comparando os coeficientes de crescimento obtidos nesta experiência com as dietas microalgais D2 (360.000 mg algas), D4 (180.000 mg algas) e D5 (90.000 mg algas) e as de teor microalgal semelhante na 1ª experiência (1ª fase), ou seja, as dietas D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada), D5 (176.125 mg algas + efluente piscícola) e D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), verificámos que os coeficientes de crescimento obtidos nesta experiência são bastante superiores aos

registados na 1ª experiência (1ª fase). Essa diferença é mais notória relativamente ao acréscimo relativo de crescimento, o qual foi de 27.98, 29.02 e 46.69 % para as dietas D3, D5 e D6, respectivamente, na 1ª experiência (1ª fase), registando nesta experiência as dietas de teor microalgal semelhante, valores de 52.00, 91.67 e 142.87 % para as dietas D2, D4 e D5, respectivamente.

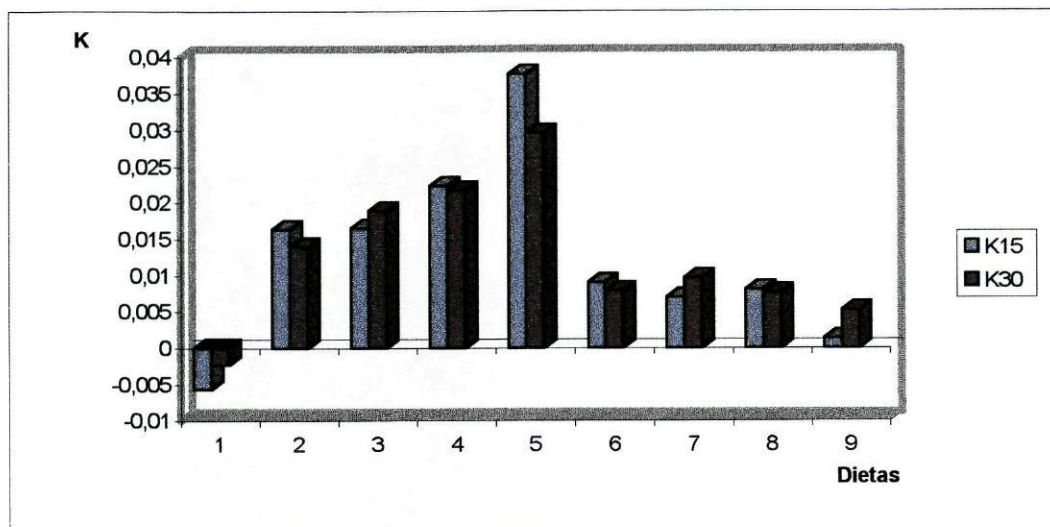


Fig. 27 - Taxa de Crescimento Relativo, com base nos pesos frescos totais, verificada por dieta na 2ª experiência. Valores ao fim da 1ª quinzena (K15) e no final da experiência (K30).

3.2.4 - Índices de Condição

Na tabela 26 e figura 28, estão representados os Índices de Condição obtidos em Tapes decussatus, após 30 dias de experimentação, com as dietas anteriormente descritas.

Tabela 26 -Índices de Condição obtidos em Tapes decussatus de acordo com a dieta (2ª experiência).

Dietas	Índices de condição
Inicial	62,330
D1 (jejum)	39,399
D2 (360,000 mg algas)	110,066
D3 (270,000 mg algas)	118,979
D4 (180,00 mg algas)	132,998
D5 (90,000 mg algas)	140,479
D6 (15,125 ml soro)	75,027
D7 (11,344 ml soro)	73,550
D8 (7,563 ml soro)	71,792
D9 (3,781 ml soro)	62,261

Verifica-se que a partir de um valor inicialmente baixo (62,34), todas as dietas, à exceção de D1 (jejum) e D9 (3.781 ml soro), conduziram a uma subida da condição de T. decussatus, atingindo-se um valor máximo de 140,48 com a dieta D5 (90.000 mg algas), seguida de perto pela D4 (180.000 mg algas) com 132,90.

Imediatamente a seguir, situaram-se as dietas D3 (270.000 mg algas) e D2 (360.000 mg algas), igualmente com valores muito próximos entre si, 118,98 e 111,07, respectivamente.

As dietas não algais, à exceção de D1 (jejum) e D9 (3.781 ml soro) apresentaram valores muito semelhantes entre si, registando-se, no entanto, com a dieta D6 (15.125 ml soro), o melhor resultado, com 75,03.

Com a dieta D9 (3.781 ml soro) atingiu-se um valor próximo do inicial, ainda que menor (62,26), tendo D1 (jejum) conduzido a uma perda de condição de T. decussatus, relativamente ao valor inicial.

Comparando-se os índices de condição das dietas microalgais com as correspondentes dietas não algais, deparamos que as primeiras apresentam, relativamente às segundas, valores bastantes mais elevados, correspondendo estes segundo MARTEIL (1976), a animais de elevada qualidade, apresentando os restantes uma qualidade considerada como medíocre.

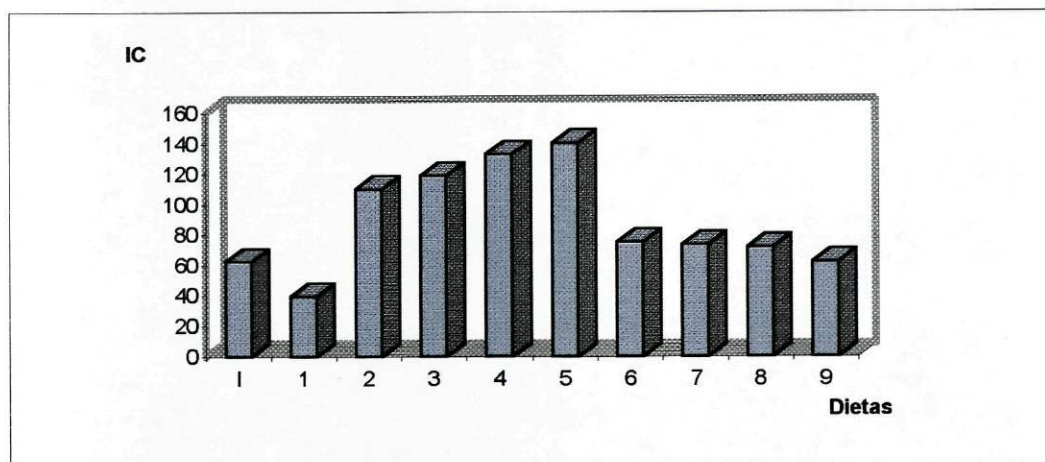


Fig. 28 - Índices de Condição obtidos em Tapes decussatus durante a 2ª experiência, de acordo com a dieta.

1 - situação inicial

3.2.5 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal

A tabela 27 refere os valores observados quanto a Sobrevivência e Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm 30) durante a 2ª experiência, com representação gráfica da Percentagem de Sobrevivência na figura 29.

Tabela 27 - Percentagem de Sobrevivência e Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm30) em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (2ª experiência).

Dietas	Percentagem de Sobrevivência		Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm 30)
	Ao fim de 15 dias	Ao fim de 30 dias	
D1 (jejum)	86,50	64,17	0,4465
D2 (360,000 mg algas)	97,83	97,67	0,0236
D3 (270,000 mg algas)	98,83	98,33	0,0168
D4 (180,000 mg algas)	98,33	97,83	0,0219
D5 (90,000 mg algas)	99,17	98,67	0,0134
D6 (15,125 ml soro)	97,67	91,00	0,0946
D7 (11,344 ml soro)	98,17	96,33	0,0374
D8 (7,563 ml soro)	95,33	94,17	0,0602
D9 (3,781 ml soro)	94,67	90,50	0,0998

Registraram-se, para a 1ª quinzena e no final da experiência, valores elevados de sobrevivência para todas as dietas, à exceção do valor final apresentado com a dieta D1 (jejum), o qual foi de 64,17% .

Comparando os valores obtidos ao fim de 15 e 30 dias de experiência, verificamos que os primeiros são em todas as dietas superiores aos atingidos no final, sendo essa diferença mais notória com as dietas D1 (jejum), D6 (15.125 ml soro) e D9 (3.781 ml soro).

Assim, e para a 1ª quinzena, o valor máximo de sobrevivência, 99.17 %, foi atingido com a dieta D5 (90.000 mg algas), seguindo-se com resultados próximos (98,83 a 97,67%) as dietas D3 (270.000 mg algas), D4 (180.000 mg algas), D7 (11.344 ml soro), D2 (360.000 mg algas) e D6 (15.125 ml soro).

A sobrevivência mínima foi obtida com a dieta D1 (86.5%) seguida de D9 (3.781 ml soro) e D8 (7.563 ml soro), com 94,67 e 95,33% respectivamente.

Os valores finais seguem uma tendência semelhante, à exceção da dieta D6, que passa a situar-se nos valores mínimos obtidos, entre a dieta D9 e D8 com 91,00%, registando, assim, a maior descida na sobrevivência a seguir à verificada com a dieta D1.

Relativamente aos valores máximos, D2 troca de posição com D7, ao apresentar um valor ligeiramente mais elevado que esta última (97,67 e 96,33% respectivamente) aos 30 dias de experiência.

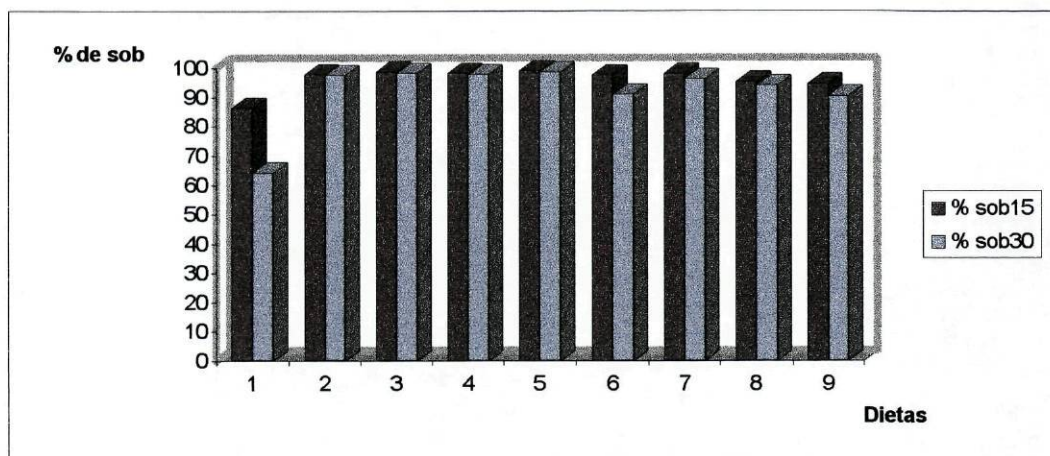


Fig. 29 - Percentagem de Sobrevivência observada durante a segunda experiência. Valores ao fim da 1ª quinzena (% sob15) e no final da experiência (% sob30).

A Taxa Instantânea de Mortalidade mensal, segue uma evolução idêntica à anteriormente referida para a sobrevivência final.

A dieta D5 (90.000 mg algas) apresenta-se novamente como sendo a que conduziu a melhores resultados, registando o valor mais baixo para este parâmetro (0,0134). Seguiu-se a dieta D3 (270.000 mg algas), e logo depois D4 (180.000 mg algas) e D2 (360.000 mg algas), estas duas últimas com valores muito próximos entre si, de 0,0219 e 0,0236, respectivamente.

Das restantes dietas, D7 (11.344 ml soro) foi a que apresentou o valor mais baixo (0,0374), seguida de D8 (7.563 ml soro), D6 (15.125 ml soro) e D9 (3.781 ml soro). A dieta D1 (jejum) apresentou o valor mais elevado, registando uma mortalidade de 0,4465.

Comparando os valores finais verificados com as dietas microalgais (D2, D3, D4 e D5), com os valores obtidos com as dietas não algais de correspondente teor proteico (D6, D7, D8 e D9), as primeiras conduziram a melhores valores de sobrevivência e de mortalidade que as segundas.

Com as dietas D3 e D4 registaram-se valores para ambos os parâmetros, mais próximos dos obtidos com as dietas não algais correspondentes em teor proteico, ou seja, D7 e D8 respectivamente.

O maior distanciamento verificou-se entre a dieta algal D5 e a dieta não algal correspondente em teor proteico D9, logo seguida da dieta algal D2 e da dieta não algal correspondente em teor proteico D6.

Por fim, e comparando as percentagens de sobrevivência, e taxas instantâneas de mortalidade mensal, obtidas nesta experiência com as dietas microalgais D2 (360.000 mg algas), D4 (180.000 mg algas) e D5 (90.000 mg algas) e as de teor microalgal semelhante na 1ª experiência (1ª fase), ou seja, as dietas D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada), D5 (176.125 mg algas + efluente piscícola) e D6 (88.125 mg algas + efluente piscícola), verificámos que os valores de sobrevivência obtidos nesta experiência, se apresentaram ligeiramente superiores aos registados na 1ª experiência (1ª fase). No que se refere à taxa instantânea de mortalidade, esta registou valores superiores na 1ª experiência (1ª fase), relativamente aos obtidos nesta, com a dieta D3 (352.500 mg algas + água do mar filtrada) a conduzir a um valor superior ao dobro do obtido nesta experiência com a dieta de teor microalgal semelhante, ou seja, D2 (360.000 mg algas).

3.2.6 - Análise bacteriológica

A análise bacteriológica da água dos tanques foi efectuada através da técnica de incorporação em gelose nutritiva, com incubação a 23 °C durante 5 dias, tendo o meio de cultura utilizado sido Marine Agar (DIFCO).

A determinação bacteriológica foi efectuada após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves, utilizando-se, novamente, os números 1 e 2 como correspondentes aos dias referidos, nos respectivos gráficos.

A análise não foi realizada nas dietas D3 (270.000 mg algas) e D7 (11.344 ml soro), visto estas apresentarem concentrações de microalgas e de lacto-soro, próximas das dietas D2 (360.000 mg algas) e D6 (15.125 ml soro) respectivamente, podendo desta forma extrapolar-se os seus resultados, a partir da análise destes últimos. A razão apontada para este procedimento prende-se com o facto desta técnica de análise bacteriana se apresentar muito trabalhosa, demorando bastante tempo a sua execução.

As determinações foram efectuadas nos tanques experimentais, e noutra sistema de tanques montados de modo idêntico aos anteriores, e que apenas diferiram destes por não possuírem os bivalves em estudo. Deste modo, pretendeu-se avaliar a quantidade de bactérias possivelmente utilizadas pelos bivalves como fonte alimentar. Será importante referir que este procedimento apenas foi realizado nos tanques em que tinham sido fornecidas dietas não algais.

A tabela 28 refere os valores médios das várias determinações efectuadas na água dos tanques, na presença e ausência de bivalves. É conveniente esclarecer que nos tanques aos quais foi fornecido lacto-soro em iguais concentrações às utilizadas nos tanques experimentais, os valores obtidos para o 1º dia, dado não terem sido feitas as diluições adequadas, foram todos superiores a 300 colónias por placa inoculada, sendo por isso a sua contagem rejeitada, o que explica a sua omissão no respectivo gráfico (figura 30).

Tabela 28 - Número de Unidades Formadoras de Colónias (CFU/ml) registadas na água dos tanques amostrados, na ausência e na presença de bivalves, após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento a estes animais (2ª experiência).

Dietas	Ausência de bivalves		Presença de bivalves	
	Após 1 dia de alimento	Após 2 dias de alimento	Após 1 dia de alimento	Após 2 dias de alimento
	(CFU/ml)		(CFU/ml)	
D2 (360,00 mg algas)	-	-	15800 ± 750	2340 ± 110
D4 (180,00 mg algas)	-	-	10810 ± 559,5	6700 ± 900
D5 (90,00 mg algas)	-	-	5750 ± 1600	1710 ± 10
D6 (15,125 ml soro)	>300	3500000 ± 500000	45325 ± 3475	11925 ± 675
D8 (7,563 ml soro)	>300	1425000 ± 175000	33775 ± 4525	15425 ± 325
D9 (3,781 ml soro)	>300	342500 ± 122500	25975 ± 75	20920 ± 231
Água do mar filtrada	>300	9748 ± 52,5	-	663 ± 213

Assim, e da análise da tabela 28 e respectiva figura 30, observa-se na ausência de bivalves, que a dieta que continha o maior teor de lacto-soro, 15.125 ml, foi a que apresentou o valor médio mais elevado de CFU/ml (unidades formadoras de colónias por mililitro). Seguem-se as D8 (7.563 ml soro) e D9 (3.781 ml soro), esta última com o menor valor observado para este alimento. A água do mar filtrada contém um teor em bactérias bastante inferior ao registado com as dietas não algais, contribuindo, no entanto, com um valor médio de 9748 CFU/ml nas determinações efectuadas com as referidas dietas.

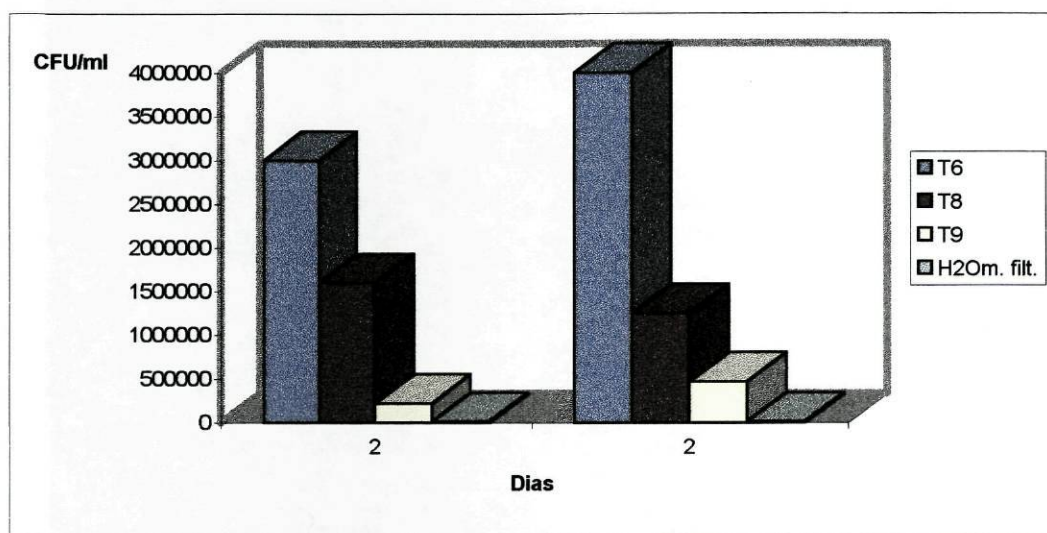


Fig. 30 - Número de Unidades Formadoras de Colónias registadas por ml na água dos tanques amostrados, na ausência de bivalves, após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento (2ª experiência).

Na tabela 28 e figura 31, estão representados os valores de CFU/ml registados na água dos tanques amostrados após 1 e 2 dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves.

Da análise de ambas, verificámos que com todas as dietas os valores médios registados após 1 dia de alimentação eram superiores aos observados após 2 dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves. Os tanques com alimento não algal, foram aqueles onde se verificaram, em ambos os dias, os valores mais elevados de CFU/ml, registando estes, e relativamente ao segundo dia de alimentação, valores com uma ordem de grandeza bastante inferior à registada para o mesmo dia, nos tanques que diferiram destes pela ausência dos bivalves. Nos tanques com alimento microalgal, observou-se para um dia de alimentação um decréscimo no número de CFU/ml, à medida que a concentração microalgal diminuiu. O mesmo não se verificou após dois dias de alimentação, onde o valor mais elevado foi obtido com a dieta D4 (180.000 mg algas).

O valor de CFU/ml apresentado na água do mar filtrada, ao 2º dia, foi bastante inferior ao registado nos restantes tanques, e igualmente inferior ao verificado na outra montagem experimental.

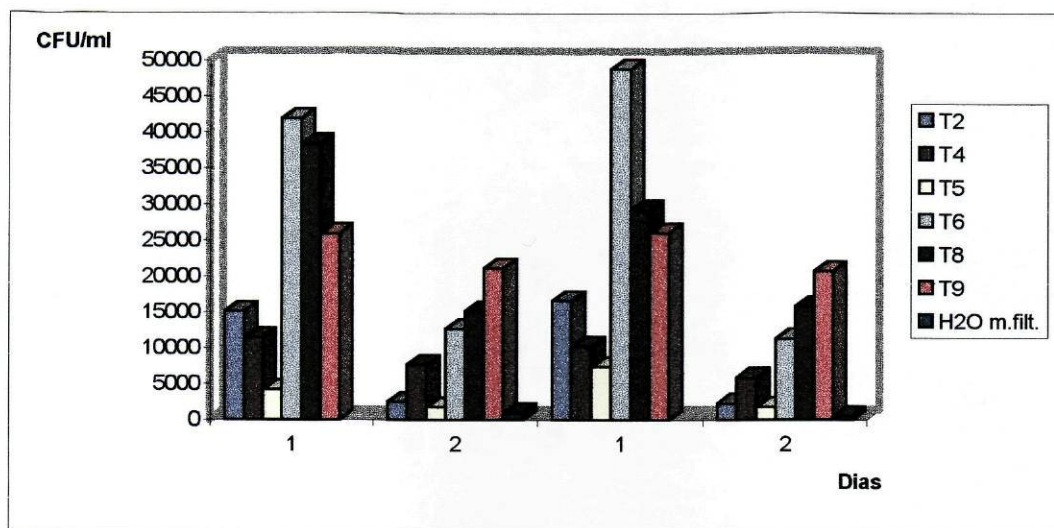


Fig. 31 - Número de Unidades Formadoras de Colónias registadas por ml na água dos tanques amostrados, após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves (2ª experiência).

3.2.7 - Taxas de filtração e análise das partículas em suspensão

Os valores médios das taxas de filtração avaliadas para as duas espécies microalgais empregues, bem como das taxas de filtração considerando as duas espécies em simultâneo (taxa de filtração total), podem ser observados na tabela 29, com respectiva representação gráfica na figura 32.

Convém novamente referir que estes valores foram calculados através de contagens realizadas com um hemocitómetro (câmara de Neubauer), após ter sido fornecido o alimento aos bivalves e passadas 24 horas do seu fornecimento.

Tabela 29 - Valores médios das taxas de filtração calculados para cada uma das microalgas utilizadas e considerando as duas conjuntamente (2ª experiência). Temperatura de 18°C.

Taxa de filtração (ml/min)	Dieta			
	D2 (360,000 mg algas)	D3 (270,000 mg algas)	D4 (180,000 mg algas)	D5 (90,000 mg algas)
<i>Tetraselmis suecica</i>	0,00456 ± 0,00152	0,00697 ± 0,00178	0,00213 ± 0,00987	0,02723 ± 0,01470
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	0,00476 ± 0,00256	0,00637 ± 0,00298	0,01277 ± 0,00845	0,02879 ± 0,00890
Taxa de filtração total	0,01114 ± 0,00314	0,01358 ± 0,00312	0,02778 ± 0,00723	0,03075 ± 0,01891

Da análise dos dados obtidos (tabela 29, figura 32) podemos verificar que a taxa de filtração total apresentou o valor mais elevado com a dieta D6 (90.000 mg algas), seguida da dieta D5

(180.000 mg algas), da D4 (270.000 mg algas) e da D3 (360.000 mg algas), estas duas últimas com valores mais próximos entre si. Comparando as taxas de filtração obtidas nesta experiência, com as verificadas na 1ª experiência, (1ª fase) para as dietas microalgais com concentração semelhante, verificámos que as taxas da 1ª experiência foram todas inferiores às registadas na 2ª experiência.

Relativamente às taxas de filtração calculadas separadamente para cada uma das espécies microalgais utilizadas, e à excepção do observado com a dieta D4, a taxa de filtração para a microalga *Phaeodactylum tricornutum* foi superior à da microalga *Tetraselmis suecica*. Esta última registou a maior taxa de filtração com a dieta D6, seguida de dieta D4, D3 e D5. Relativamente à taxa de filtração calculada com base em *P. tricornutum*, verificamos que esta apresentou tendência semelhante à verificada para a outra microalga empregue.

Comparando as taxas de filtração obtidas nesta experiência para cada uma das microalgas utilizadas, com as verificadas na 1ª experiência (1ª fase) para as dietas microalgais com concentração semelhante, verificámos que à excepção do valor registado nesta experiência com a dieta D6 (180.000 mg algas) para a microalga *T. suecica*, os restantes valores, e para as duas microalgas utilizadas, foram superiores aos obtidos na 1ª experiência (1ª fase), com as dietas microalgais de teor semelhante.

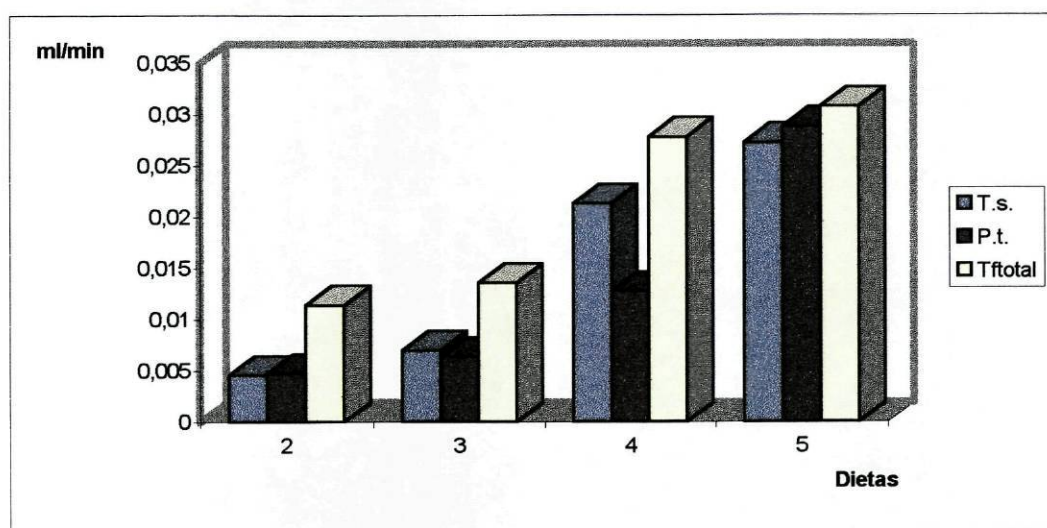


Fig. 32 - Taxas de filtração médias calculadas separadamente para as duas microalgas empregues, e considerando as duas espécies conjuntamente para cada dieta testada (2ª experiência).

Na tabela 30 e figuras 33a, 33b e 33c, estão representadas as contagens médias das partículas totais existentes na água dos diversos tanques experimentais, bem como a sua distribuição por tamanhos, na altura de ter sido fornecido o alimento aos bivalves e 24 horas depois tendo-se, para o devido efeito recorrido novamente ao auxílio de um contador electrónico de partículas.

Convém mencionar, que uma vez mais, apenas estão representados os tamanhos de partículas para os quais se registaram frequências consideráveis das mesmas.

Tabela 30 - Número médio de partículas registradas na água dos tanques experimentais, e sua distribuição por tamanhos, após ser fornecido o alimento, e 24 horas depois (2ª experiência).

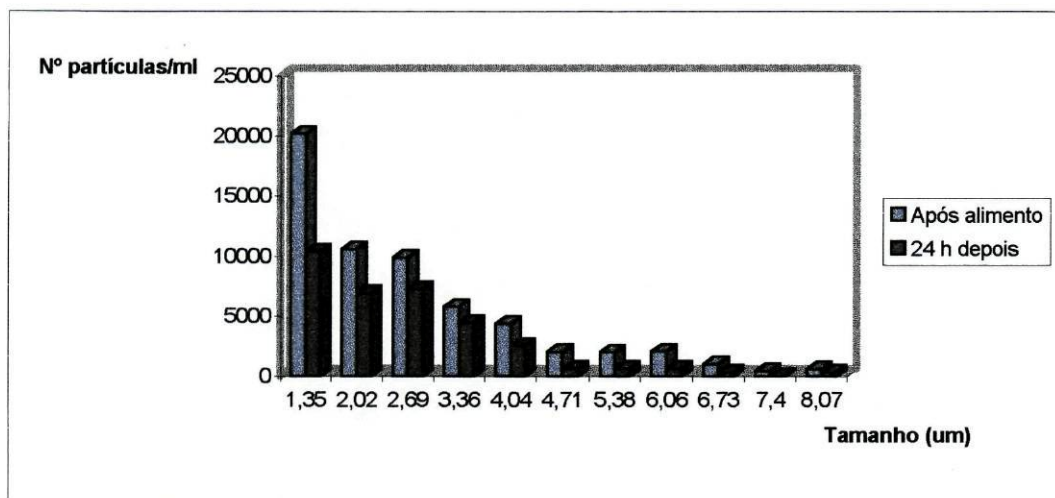
Tamanho (µm)	Jejum		Dieta D2 (360,000 mg algas)		Dieta D3 (270,000 mg algas)		Dieta D4 (180,000 mg algas)		Dieta D5 (90,000 mg algas)		Dieta D6 (15,125 ml soro)		Dieta D7 (11,344 ml soro)		Dieta D8 (7,565 ml soro)		Dieta D9 (3,781 ml soro)	
	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas	Após alimento	24 horas
1,35	20178 ± 10236	10395 ± 5698	67735 ± 36135	39350 ± 10523	66650 ± 35490	50890 ± 20569	28904 ± 15056	10640 ± 7456	14553 ± 6463	5400 ± 1004	209100 ± 43648	115669 ± 85698	85050 ± 25650	52587 ± 10365	71825 ± 2565	48273 ± 10569	24120 ± 8628	15163 ± 10365
2,02	10569 ± 5478	6930 ± 2369	47951 ± 11216	24485 ± 9875	42299 ± 35701	39750 ± 12458	29465 ± 21275	11020 ± 5423	12179 ± 7835	8400 ± 3245	48405 ± 13635	38550 ± 10326	28755 ± 1377	18825 ± 8874	42075 ± 13760	22322 ± 10236	16560 ± 3653	10418 ± 8875
2,69	9875 ± 3569	7245 ± 2147	16183 ± 44673	77290 ± 25410	139279 ± 102196	69750 ± 20417	70720 ± 45550	11400 ± 3652	29210 ± 14950	15750 ± 8977	22978 ± 7318	11900 ± 7569	14985 ± 10365	13688 ± 6569	19975 ± 9874	15275 ± 10051	8280 ± 1369	6508 ± 887
3,36	5788 ± 1256	4410 ± 1358	220562 ± 2937	73455 ± 32564	105024 ± 19801	54250 ± 11369	55989 ± 3098	10640 ± 2789	18633 ± 343	3150 ± 545	14888 ± 2988	3825 ± 1002	10847 ± 9856	7290 ± 1056	8127 ± 987	8500 ± 1265	4663 ± 1003	1080 ± 589
4,04	4365 ± 987	2520 ± 875	85968 ± 23163	30395 ± 7696	38107 ± 17632	18910 ± 5478	24628 ± 16029	4940 ± 1050	8150 ± 3320	2800 ± 568	9240 ± 250	1700 ± 356	4880 ± 987	5285 ± 569	5727 ± 2369	4675 ± 1256	2584 ± 431	1800 ± 498
4,71	2005 ± 654	630 ± 356	29829 ± 8203	9735 ± 2316	12042 ± 4567	6510 ± 2451	9678 ± 4948	6460 ± 987	3223 ± 807	1050 ± 236	6910 ± 340	1275 ± 321	4133 ± 698	3240 ± 1036	4640 ± 1456	2550 ± 969	3600 ± 1456	1709 ± 587
5,38	1998 ± 257	630 ± 456	30009 ± 14231	27140 ± 8569	15500 ± 5704	14122 ± 9874	16340 ± 773	9548 ± 2545	7568 ± 1023	1050 ± 236	4038 ± 22,5	1700 ± 425	5224 ± 232	1620 ± 395	2798 ± 789	2129 ± 569	3600 ± 1236	1542 ± 459
6,06	2041 ± 887	630 ± 247	82514 ± 23347	46020 ± 10256	38675 ± 926	25110 ± 10236	23809 ± 701	14820 ± 10365	10118 ± 113	700 ± 102	1880 ± 430	425 ± 89	1620 ± 256	405 ± 125	984 ± 245	425 ± 123	720 ± 140	657 ± 245
6,73	987 ± 546	315 ± 489	98819 ± 9412	38940 ± 9582	46199 ± 856	17690 ± 8795	29409 ± 1889	7600 ± 564	14340 ± 540	700 ± 132	1708 ± 613	425 ± 85	563 ± 86	0	1212 ± 456	425 ± 96	1440 ± 536	657 ± 125
7,40	427 ± 85	0	70125 ± 6135	21535 ± 12764	37440 ± 1680	13640 ± 7456	21497 ± 6877	2280 ± 325	9875 ± 1585	350 ± 95	1128 ± 33	0	563 ± 122	405 ± 69	832 ± 45	326 ± 36	1080 ± 698	475 ± 174
8,07	589 ± 245	315 ± 45	32103 ± 2083	6460 ± 2514	16948 ± 1024	3410 ± 1506	11079 ± 326	390 ± 150	5498 ± 1013	350 ± 89	473 ± 108	0	405 ± 285	364 ± 56	529 ± 35	425 ± 232	360 ± 140	335 ± 450

Da análise da tabela 30 e das figuras 33a, 33b e 33c, verificámos, relativamente às dietas microalgais (D2, D3, D4 e D5), que após o alimento ter sido fornecido aos bivalves, os tamanhos que registaram maior número de partículas, foram como já tinha sido observado na 1ª experiência (1ª fase), os de 2.69 e 3.36 μm , registando este último um valor de partículas superior ao primeiro no tanque com a dieta D2. Nos restantes tanques, o tamanho com maior número de partículas foi o de 2.69 μm . Em relação aos outros tamanhos analisados, a gama compreendida entre 6.06 e 6.73 μm foi a que registou a maior frequência de partículas, com o tamanho 6.73 μm a apresentar um valor de partículas superior ao 1º para todas as concentrações microalgais empregues.

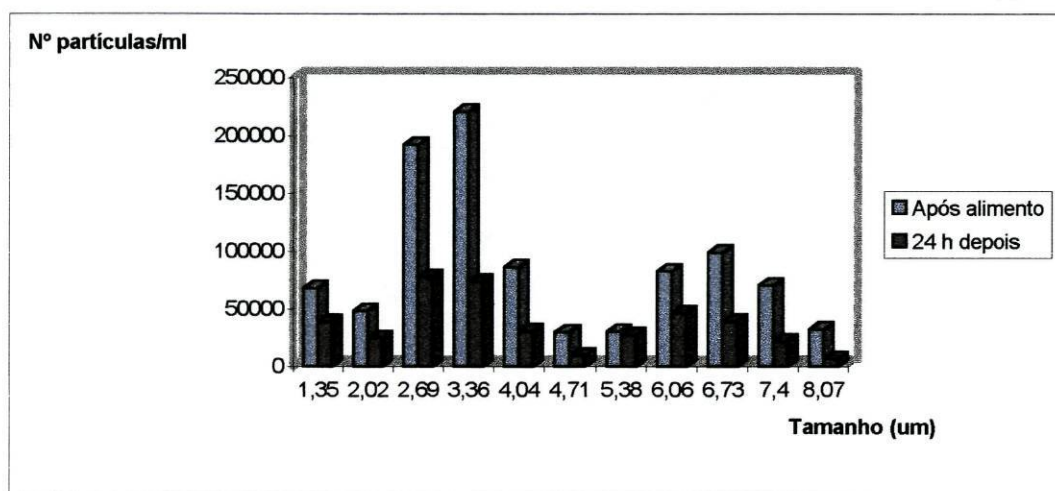
Nas dietas constituídas por lacto-soro (D6, D7, D8 e D9), o tamanho que apresentou o maior número de partículas foi o de 1.35 μm para todas as dietas, seguido do tamanho 2.02 μm e 2.69 μm este último com um valor de partículas bastante inferior aos dois primeiros.

No jejum (D1), o tamanho 1.35 μm foi o que registou maior frequência de partículas, seguindo-se os tamanhos 2.02 e 2.69 μm com valores bastante próximos entre si.

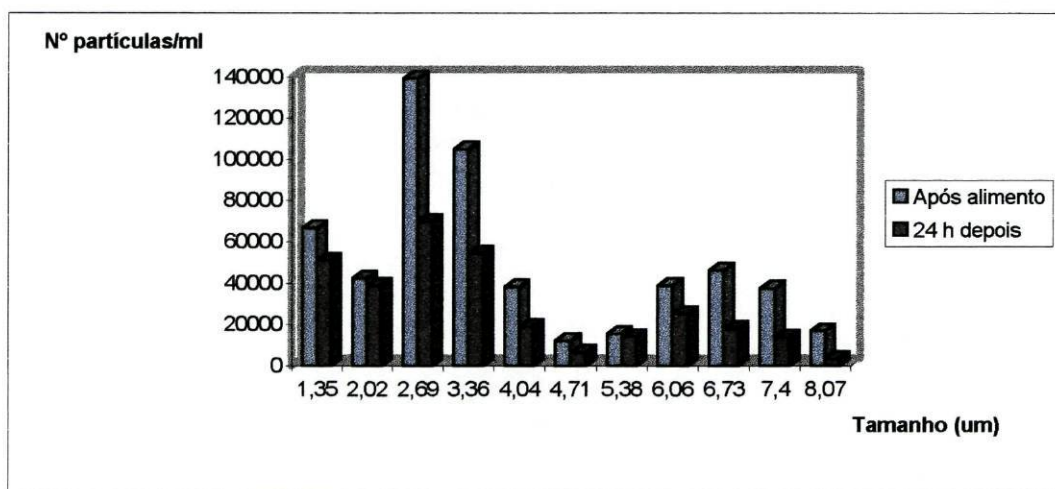
Da análise dos valores obtidos após 24 horas de ter sido fornecido o alimento aos bivalves, verificamos que estes e para todos os tamanhos registados, bem como para todas as dietas, se apresentaram inferiores aos obtidos após ter sido fornecido o alimento. De uma maneira geral, os maiores decréscimos verificaram-se nos tamanhos onde tinham sido observados os números mais elevados de partículas após fornecido o alimento. Relativamente aos tamanhos que registaram maior frequência de partículas, estes, e com todas as dietas apresentaram tendência semelhante à descrita aquando da análise dos valores obtidos imediatamente após a alimentação.



A

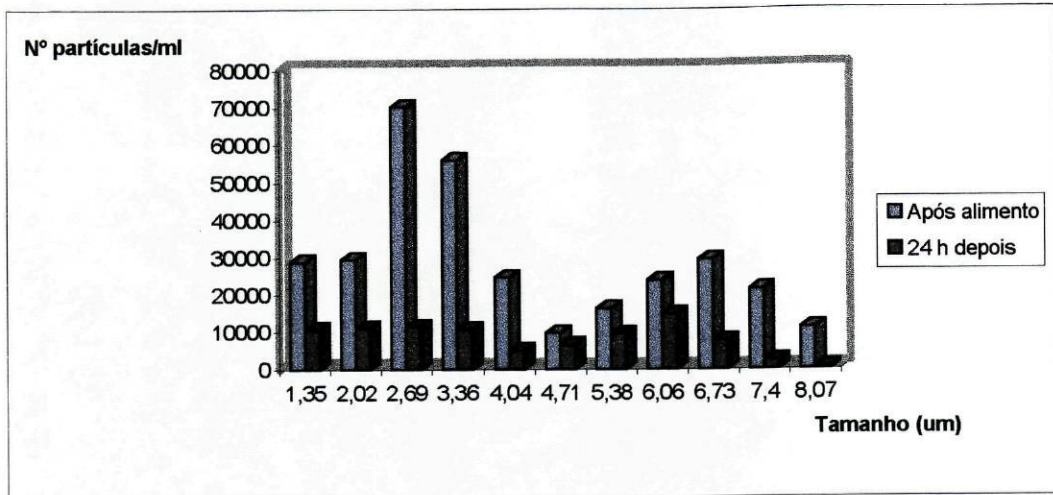


B

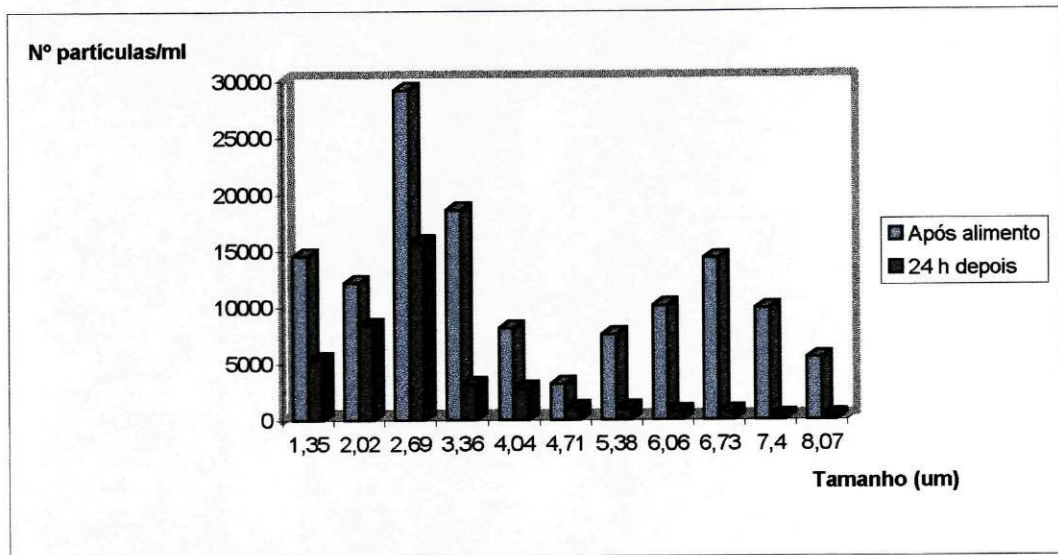


C

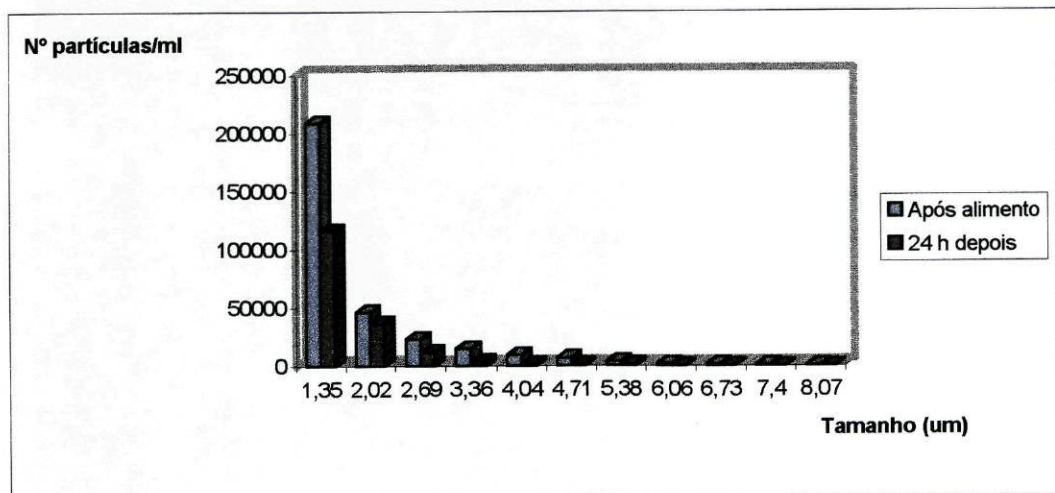
Fig. 33a - Número médio de partículas registadas na água dos tanques 1 (33A), 2(33B) e 3 (33C), e sua distribuição por tamanhos, após ser fornecido o alimento, e 24 horas depois (2ª experiência).



D

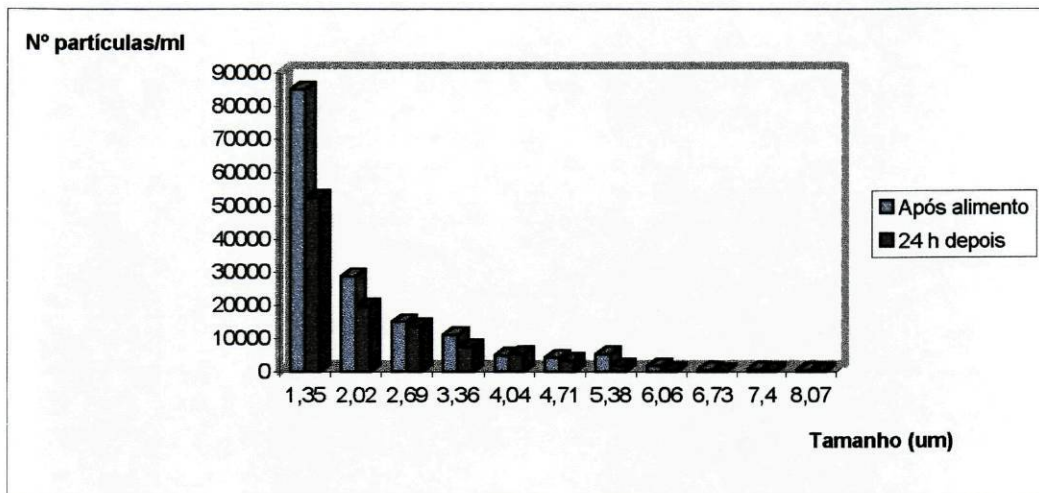


E

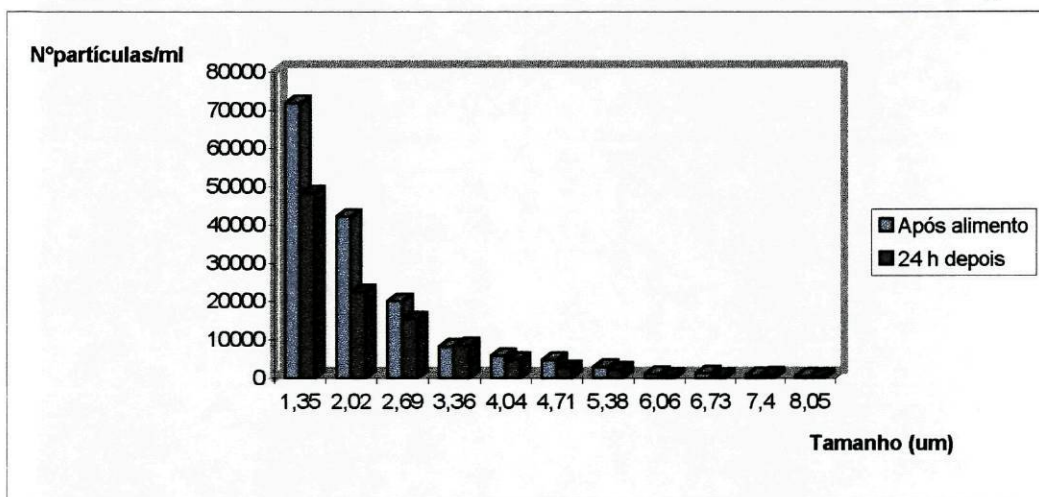


F

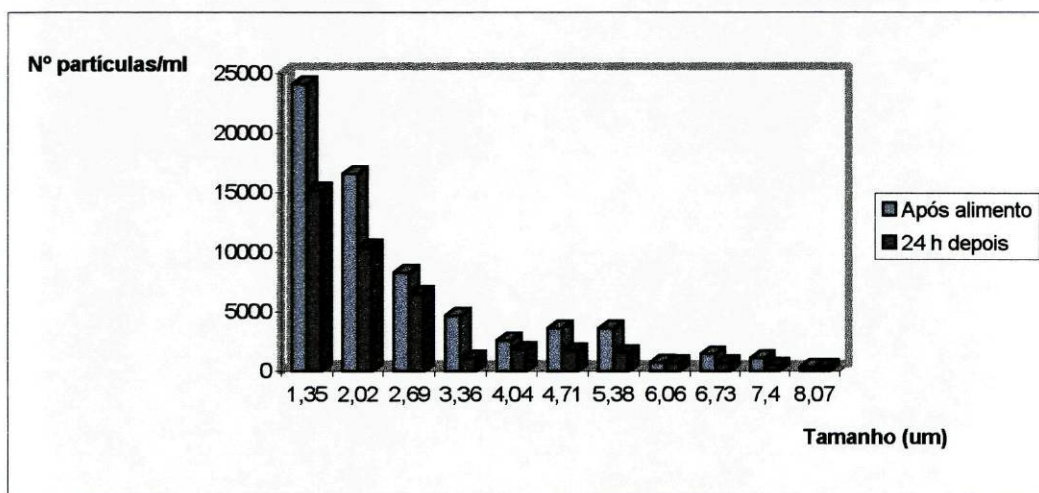
Fig. 33b - Número médio de partículas registadas na água dos tanques 4 (33D), 5 (33E) e 6 (33F), e sua distribuição por tamanhos, após ser fornecido o alimento, e 24 horas depois (2ª experiência).



G



H



I

Fig. 33c - Número médio de partículas registadas na água dos tanques 7 (33G), 8 (33H) e 9 (33I), e sua distribuição por tamanhos, após ser fornecido o alimento, e 24 horas depois (2ª experiência).

3.3 - Terceira experiência

Na terceira experiência, pretendeu-se, em primeiro lugar, determinar a concentração mínima da dieta microalgal composta por Tetraselmis suecica e Phaeodactylum tricornutum (calculada e utilizada de modo idêntico ao da experiência 2) que permitisse, ainda, obter crescimento por parte dos animais em cultura. Recorreu-se para isso, e como ponto de partida, à concentração microalgal mais baixa utilizada na experiência anterior, e que conduziu a um maior crescimento dos animais, reduzindo-se sucessivamente o seu teor.

Visto as reduções efectuadas no teor de microalgas conduzirem a elevadas mortalidades no final da 1ª quinzena experimental, alteraram-se os seus teores, na 2ª metade da experiência, para o valor microalgal de partida evitando-se, assim, a perda de um grande número de animais.

Utilizou-se igualmente, como referência, a melhor dieta não algal que tinha conduzido na experiência 2 aos melhores resultados de crescimento e sobrevivência, entre todas as concentrações testadas, a qual foi combinada com a dieta microalgal utilizada, na tentativa de verificar se a 1ª poderia ser melhorada pela adição da 2ª.

Foi ainda testado um outro subproduto - borra de café, o qual foi adicionado em duas concentrações diferentes (40 mg e 20 mg) às dietas compostas por lacto-soro e microalgas concentração mais elevada.

O ensaio teve a duração de 30 dias, tendo sido consideradas as seguintes situações: jejum (D1), 201.00 mg algas (D2), 100.50 mg algas (1ª quinzena) e 201.00 mg algas (2ª quinzena) como D3, 50.25 mg algas (1ª quinzena) e 201.00 mg algas (2ª quinzena) como D4, 6.40 ml soro (D5), 201.00 mg algas combinadas com 6.40 ml de soro (D6), 100.50 mg algas com 6.40 ml soro (D7), 50.25 mg algas com 6.40 ml soro (D8), 201.00 mg algas com 6.40 ml soro e 40 mg de borra de café (D9), 201.00 mg algas com 6.40 ml soro e 20 mg de borra de café (D10).

O alimento foi fornecido diariamente, e a água dos tanques substituída três vezes por semana.

Os parâmetros físico-químicos temperatura, pH, oxigénio dissolvido e salinidade foram determinados três vezes por semana, após enchimento dos tanques com água do mar fresca, e no final de dois dias de alimentação, o que explica o aparecimento dos números 0 e 2 como dias, nos gráficos de variação dos factores considerados. Os restantes parâmetros foram determinados após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento, à excepção dos sólidos suspensos totais, que foram só determinados no 2º dia. Na representação gráfica, estes dias de amostragem surgem como dias 1 e 2, respectivamente.

3.3.1 - Parâmetros físico-químicos registados na água dos diversos tanques

Os parâmetros temperatura, pH, oxigénio dissolvido e salinidade, registados na água dos tanques durante a 3ª experiência, encontram-se sintetizados na tabela 31.

Tabela 31 - Características ambientais observadas na água dos tanques de cultura durante o período experimental (3ª experiência).

Parâmetros físico-químicos	Mínimo	Máximo	Média ± desvio padrão
Temperatura (°C)	20,00	25,00	21,62 ± 0,5113
Salinidade (‰)	34,00	38,00	35,13 ± 1,335
pH	7,80	7,90	7,83 ± 0,074
Oxigénio (% saturação)	84,00	97,00	92,24 ± 2,709

Para o parâmetro temperatura (figura 34A) verifica-se através da representação gráfica, que todos os tanques apresentaram ao longo da experiência uma variação de 2,5 °C, registando-se o valor mínimo de 20 °C, e máximo de 22,5 °C.

Os tanques 1 (jejum), 7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro), 8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro), 9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café) e 10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café) apresentaram igual variação de temperatura ao longo da experiência, o mesmo acontecendo para os restantes tanques, com apenas duas das determinações efectuadas a distanciarem-se ligeiramente.

Os valores de pH (figura 34B), registados na água dos diversos tanques, não apresentaram grandes oscilações, registando-se nos tanques 1 (jejum) e até ao 5 (6.40 ml soro), bem como no 7º (100.50 mg algas + 6.40 ml soro) tanque, uma variação de 0,1, e nos restantes de 0,2.

O valor mínimo obtido foi de 7,7 e o máximo de 7,9.

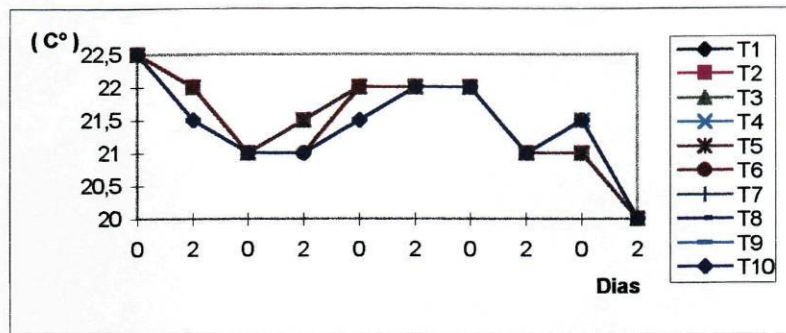
O oxigénio dissolvido na água (figura 34C), embora com algumas oscilações registadas em todos os tanques, apresentou um valor mínimo de 84% de saturação para o tanque 10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café), o qual corresponde ao menor valor registado em todas as experiências efectuadas.

O valor máximo foi de 97% de saturação para o tanque 4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas). Os restantes tanques apresentaram valores intermédios de oxigenação.

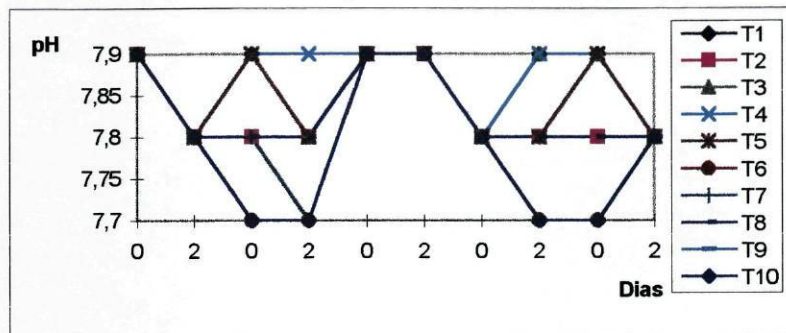
A salinidade (figura 34D) apresentou em todos os tanques oscilações entre 34‰ e 38‰, respectivamente o valor mínimo e máximo.

Os valores registados em todos os tanques ao longo da experiência foram bastante semelhantes entre si.

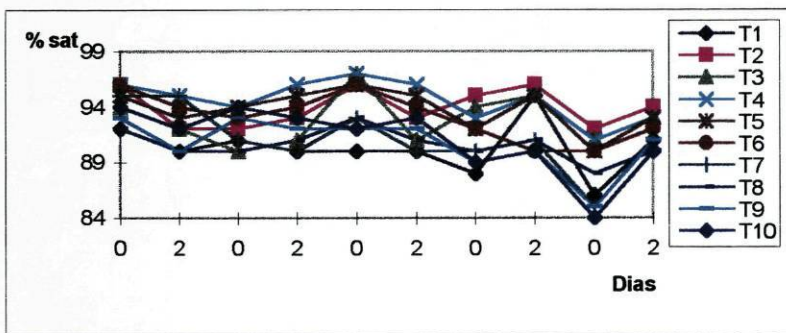
Os parâmetros amónia, sólidos suspensos totais e pigmentos foram determinados após um e dois dias de ter sido fornecido alimento aos bivalves, encontrando-se os valores médios dessas determinações referidos na tabela 32.



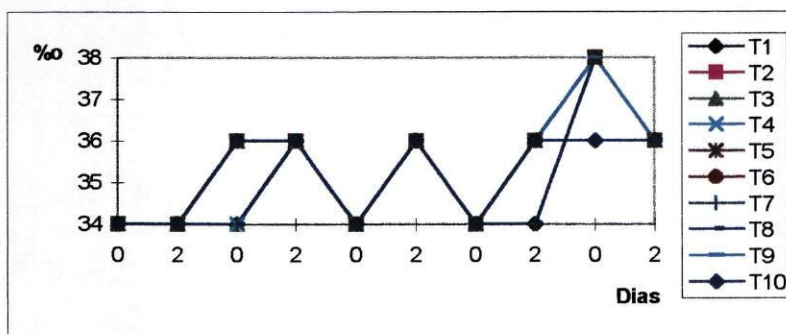
A



B



C



D

Fig. 34 - Valores de temperatura (34A), pH (34B), oxigênio dissolvido (34C) e salinidade (34D) registrados na água dos tanques durante a 3ª experiência.

Tabela 32 - Valores médios de amónia, de clorofila a, b, e c, e de sólidos suspensos totais, registados na água dos tanques durante a 3ª experiência, após um e dois dias de alimentação.

Tanques	Amónia (ug at N-NH4/l)		Clorofila a (mg/m3)		Clorofila b (mg/m3)		Clorofila c (mg/m3)		SST (mg/l)
	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	1 dia de ali- mento	2 dias de ali- mento	2 dias de ali- mento
T1 (jejum)	6,6194 ± 1,7978	9,2950 ± 1,2076	-	-	-	-	-	-	2,9667 ± 0,2360
T2 (201,00 mg A)	7,6539 ± 2,4709	7,5902 ± 3,0192	12,6389 ± 6,3288	29,8520 ± 5,9671	5,5773 ± 3,1791	12,3450 ± 3,4178	4,6807 ± 2,7829	2,5416 ± 0,1668	7,0000 ± 3,2530
T3 (100,50/210,00 mg algas)	8,9116 ± 0,6437	7,7978 ± 0,7691	9,8892 ± 5,9846	11,6483 ± 1,1925	5,4145 ± 3,4967	7,2569 ± 0,6099	2,3075 ± 1,6676	0,7818 ± 0,4366	5,9833 ± 1,9089
T4 (50,25/210,00 mg algas)	9,8189 ± 1,5901	11,3528 ± 1,8800	6,8413 ± 5,5076	4,8046 ± 2,1530	3,8619 ± 3,1745	2,2908 ± 1,3066	2,8361 ± 2,2697	0,0000	4,3000 ± 1,3273
T5 (6,40 ml soro)	0,6500 ± 0,5601	0,4684 ± 0,0890	-	-	-	-	-	-	6,4667 ± 0,5907
T6 (201,00 mg A+ 6,40 ml soro)	0,5139 ± 0,1192	0,3054 ± 0,1534	-	-	-	-	-	-	11,0767 ± 1,2505
T7 (100,50 mg A+ 6,40 ml soro)	0,5494 ± 0,2918	0,3980 ± 0,0241	-	-	-	-	-	-	8,9100 ± 0,7035
T8 (50,25 mg A+ 6,40 ml soro)	0,5139 ± 0,1192	0,3728 ± 0,0398	-	-	-	-	-	-	7,1567 ± 1,2363
T9 (201,00 mg A+ 6,40ml S+40 mgC)	0,5135 ± 0,1698	0,2255 ± 0,1897	-	-	-	-	-	-	10,1333 ± 1,9754
T10(201,00mg A+ 6,40mlS+20 mgC)	0,5148 ± 0,1132	0,2536 ± 0,1079	-	-	-	-	-	-	11,1100 ± 4,0908

A- algas

C - borra de café

Da análise do parâmetro amónia (figura 35) verificamos que os valores médios mais baixos, quer após um ou dois dias de ter sido fornecido o alimento, se registaram na água dos tanques que continham como dieta lacto-soro, combinado com a dieta microalgal em diferentes concentrações. Desta forma, as dietas D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro), D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro), D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café) e D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café) conduziram aos mesmos valores registados após um dia de alimentação, com teores praticamente iguais, logo seguidas de D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro) com um valor ligeiramente superior.

A dieta que era apenas constituída por lacto-soro (D5-6.40 ml) conduziu ao teor em amónia menos elevado, relativamente às restantes dietas, com microalgas e ao jejum..

No 2º dia de alimentação os valores registados com as dietas que continham lacto-soro e microalgas em diferentes concentrações foram inferiores aos do 1º dia. A dieta D6 foi novamente a que conduziu ao valor mais baixo para as restantes dietas (microalgas e jejum).

Entre as dietas microalgais, e no 1º dia após ter sido fornecido o alimento, o menor valor foi registado com a dieta D2 (201.00 mg algas) e o mais elevado com D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas), seguindo-se D3 (1ª quinzena -100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas). No 2º, dia apenas a dieta D4 apresentou um valor superior ao registado no 1ª.

O jejum apresentou o menor valor no 1º dia de alimentação, relativamente às dietas microalgais, e o 2º valor mais elevado após dois dias de alimentação.

Convém referir novamente, que as dietas D3 e D4 foram alteradas a meio da experiência, sendo levadas ao teor microalgal da dieta D1, pelas razões já apontadas, não se registando, no entanto valores de amónia quer após um ou dois dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves, semelhantes aos da dieta D1, visto a maioria das determinações realizadas durante a 3ª experiência, terem sido efectuadas na 1ª quinzena experimental.

O teor médio em amónia da água do mar filtrada utilizada nas culturas ($1.945 \pm 0.7635 \mu\text{g at N-NH}_4/\text{l}$) foi inferior ao registado com as dietas D1, D2, D3 e D4 para ambas as determinações e bastante superior aos verificados com as restantes dietas.

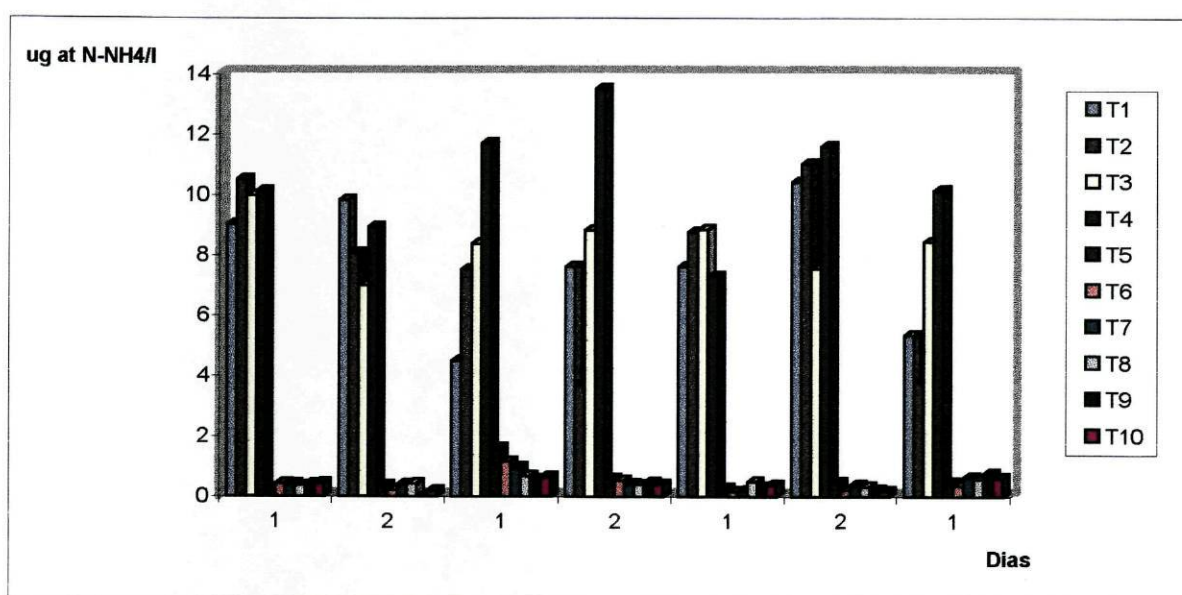


Fig. 35 - Valores de amónia registados na água dos tanques durante a 3ª experiência (1ª e 2ª quinzena).

Os sólidos suspensos totais (figura 36), foram determinados ao fim do 2º dia de alimentação, registando-se o valor mínimo com a dieta D1 (jejum) e um valor máximo e semelhante com as dietas D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro) e D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café), seguindo-se D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café) com um valor ligeiramente inferior.

Das restantes dietas, D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro) foi a que conduziu ao valor mais elevado observado, e D5 (6.40 ml soro) ao valor mais baixo, situando-se entre elas e por ordem decrescente, as dietas D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro), D2 (201.00 mg algas) e D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas). Com a dieta D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) registou-se o valor mais baixo, a seguir ao jejum.

Convém aqui referir, novamente, que as dietas D3 e D4 sofreram uma alteração a partir da 2ª quinzena da experiência, passando estas a ser constituída por 201.00 mg de algas, ou seja o mesmo valor da dieta D1. Anteriormente D3 continha 100.50 mg e D4 50.25 mg.

O facto de a 1ª determinação de sólidos suspensos totais ter sido efectuada na 1ª quinzena e as restantes na 2ª, explica o porquê de D3 e D4 não conduzirem a valores mais próximos dos obtidos com D2.

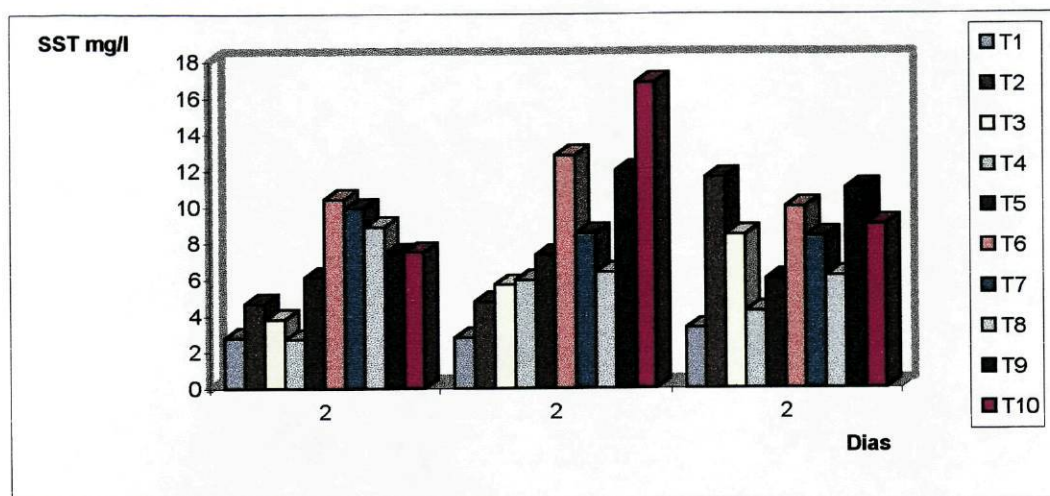


Fig. 36 - Sólidos suspensos totais registados na água dos tanques durante a 3ª experiência (1ª e 2ª quinzena).

Os pigmentos foram expressos em termos de clorofilas a, b e c (figura 37A, B e C), verificando-se que os valores de clorofila a foram superiores aos restantes, quer após um ou dois dias de alimentação. O valor mais elevado de clorofila a, para o 1º dia de alimentação, registou-se com a dieta D2 (201.00 mg algas), seguida das dietas D3 (1º quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas). No 2º dia apenas a dieta D4 conduziu a um valor de clorofila a inferior ao registado no 1º. Os resultados do 2º dia seguiram a tendência referida anteriormente, ou seja, a do 1º dia de alimentação.

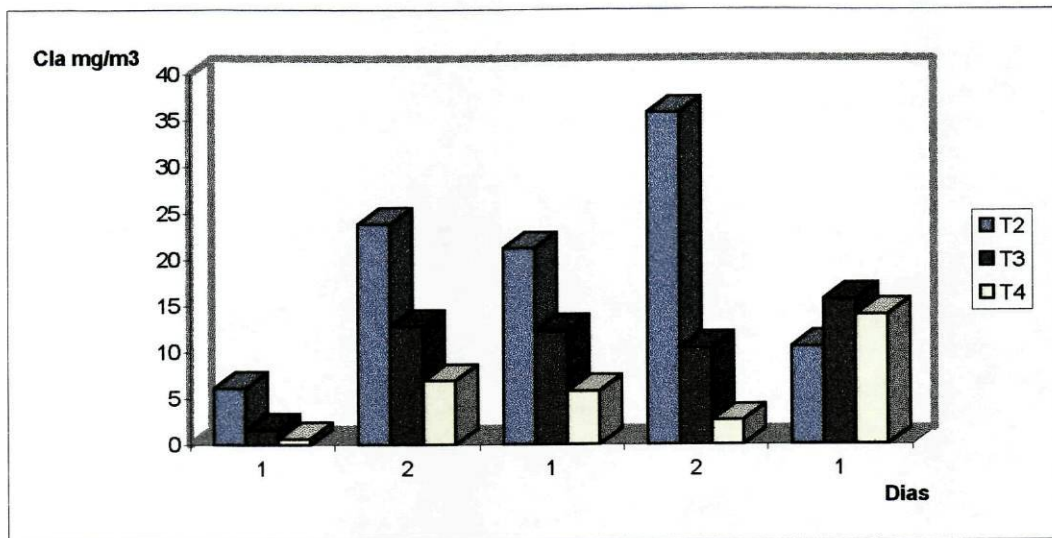
Os teores em clorofila b foram inferiores aos de clorofila a, mas no entanto superiores aos de clorofila c, tendo-se verificado em ambos, e à excepção do valor de clorofila c obtido com a dieta D3 após um dia de alimentação, uma evolução semelhante à referida para a clorofila a, quer após um ou dois dias de alimentação. Os valores de clorofila c após dois dias de alimentação foram, para todas as dietas, inferiores aos do 1º dia.

3.3.2 - Biometria

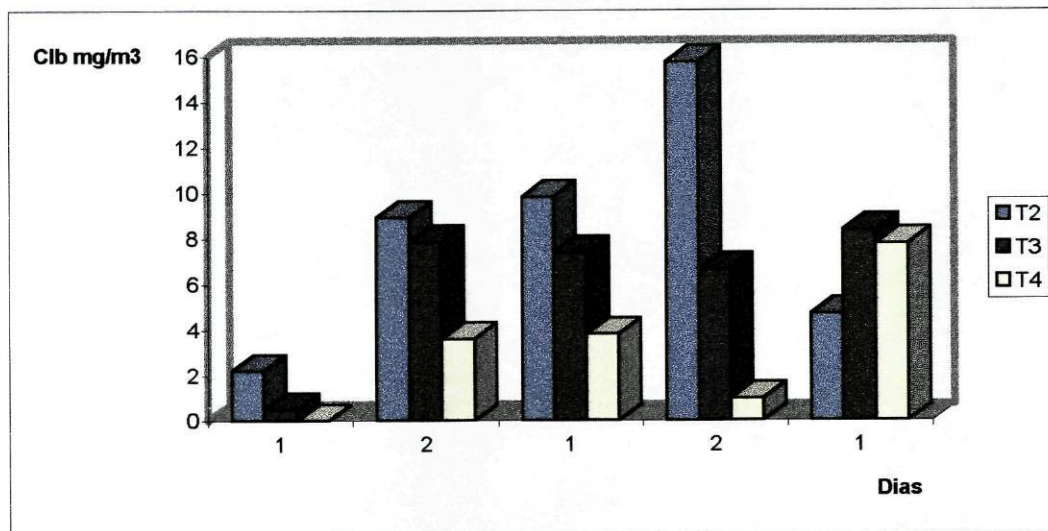
Na tabela 33, são apresentados os resultados da análise do comprimento inicial e final e dos pesos frescos totais iniciais (Pfti), intermédios (Pftm) e finais (Pftf), bem como dos pesos secos da carne obtidos com as dietas algais e não algais combinadas entre si, ou fornecidas isoladamente em diferentes concentrações. A representação gráfica pode ser vista nas figuras 38A e B e 39.

Da análise dos valores de comprimento obtidos após 30 dias de experimentação (figura 38A), verifica-se que todos à excepção de D1 (jejum) se apresentaram superiores ao valor inicial.

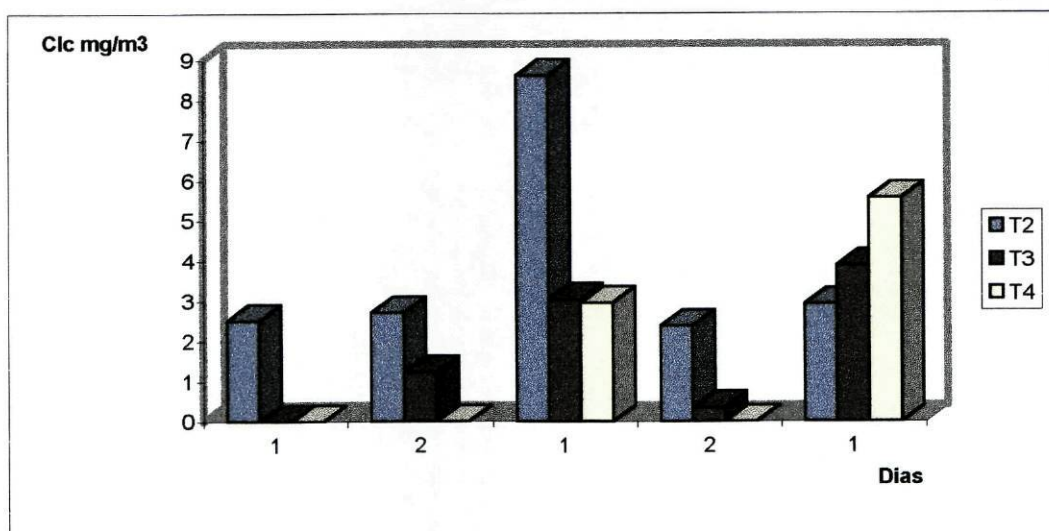
Os melhores resultados foram atingidos com as dietas D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café), D6 (201.0 mg algas + 6.40 ml soro) e D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café), todas com valores muito semelhantes entre si (6.095 a 6.046), o que levou a que estatisticamente não fossem diferenciadas umas das outras ($p > 0.05$).



A



B



C

Fig. 37 - Valores de clorofila a (37A), b (37B) e c (37C) registrados durante a 3ª experiência na água dos tanques aos quais foram fornecidas dietas microalgais.

Tabela 33 - Biometria de Tapes decussatus alimentada com diferentes rações microalgais combinadas com soro de queijo e borra de café (3ª experiência).

Dieta	Ração diária	Comp. inicial (mm)	Comp. final (mm)	Duncan*	P.f.t. inicial (mg)	P.f.t. interm. (mg)	P.f.t. final (mg)	Duncan*	P.s.carne inicial (mg)	P.s.carne final (mg)	Duncan*
D1	Jejum	3,684 ± 0,290	3,623 ± 0,313	a	13,020 ± 1,176	12,845 ± 1,510	13,563 ± 2,415	a	0,765 ± 1,641	0,3154 ± 0,114	a
D2	201,00 mg algas	3,684 ± 0,291	5,471 ± 0,375	b	13,080 ± 1,144	20,902 ± 2,891	34,923 ± 4,748	b	0,765 ± 1,643	2,693 ± 0,522	b
D3	100,50/201,00 mg algas	3,684 ± 0,294	5,001 ± 0,351	c	13,033 ± 1,220	16,044 ± 1,759	23,892 ± 2,994	c	0,765 ± 1,645	1,708 ± 0,354	c
D4	50,25/201,00 mg algas	3,684 ± 0,296	4,612 ± 0,394	d	13,022 ± 1,220	15,760 ± 1,875	22,585 ± 2,876	cd	0,765 ± 1,647	1,343 ± 0,258	d
D5	6,40 ml soro	3,684 ± 0,298	4,222 ± 0,220	e	13,045 ± 1,023	17,840 ± 2,708	18,208 ± 2,124	e	0,765 ± 1,649	0,805 ± 0,192	e
D6	201,00 mg algas + 6,40 ml soro	3,684 ± 0,300	6,085 ± 0,506	f	13,030 ± 1,077	27,158 ± 3,529	39,580 ± 5,278	f	0,765 ± 1,651	2,863 ± 0,595	b
D7	100,50 mg algas + 6,40 ml soro	3,684 ± 0,303	5,157 ± 0,378	c	13,068 ± 1,048	23,545 ± 3,342	26,685 ± 3,087	g	0,765 ± 1,654	1,955 ± 0,338	f
D8	50,25 mg algas + 6,40 ml soro	3,684 ± 0,306	4,797 ± 0,402	g	13,020 ± 1,103	20,497 ± 1,689	21,812 ± 2,358	d	0,765 ± 1,657	1,568 ± 0,339	d
D9	201,00 mg algas + 6,40 ml soro + 40 mg borra café	3,684 ± 0,309	6,0459 ± 0,576	f	13,038 ± 1,131	26,987 ± 4,304	38,293 ± 5,764	f	0,765 ± 1,660	3,48 ± 0,769	g
D10	201,00 mg algas + 6,40 ml soro + 20 mg borra de café	3,684 ± 0,312	6,095 ± 0,556	f	13,040 ± 0,926	26,117 ± 4,836	39,087 ± 6,157	f	0,765 ± 1,663	2,688 ± 0,670	b

* Dietas que apresentam letras iguais não diferem entre si estatisticamente (p > 0,05).

Seguiram-se as dietas D2 (201.00 mg algas), D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro) e D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas), registrando as duas últimas valores muito próximos entre si (5,157 e 5,006), sendo também estatisticamente indistinguíveis ($p > 0,05$).

Os menores valores de comprimento, para além do jejum, foram obtidos com as dietas D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro), D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D5 (6.40 ml soro) com valores compreendidos entre 4,797 e 4,222 mm.

Convém, por último, referir que as dietas D3 e D4, que inicialmente continham 100.50 e 50.25 mg algas respectivamente, conduziram na 1ª quinzena a valores de mortalidade elevados parecendo-nos necessário alterar as concentrações utilizadas para o valor utilizado na dieta D2, a qual conduziu a bons resultados. Desta forma, os valores finais de comprimento, peso fresco total final e peso seco da carne para estas dietas, são relativos a indivíduos que foram sujeitos a duas concentrações algais diferentes durante os 30 dias de experiência.

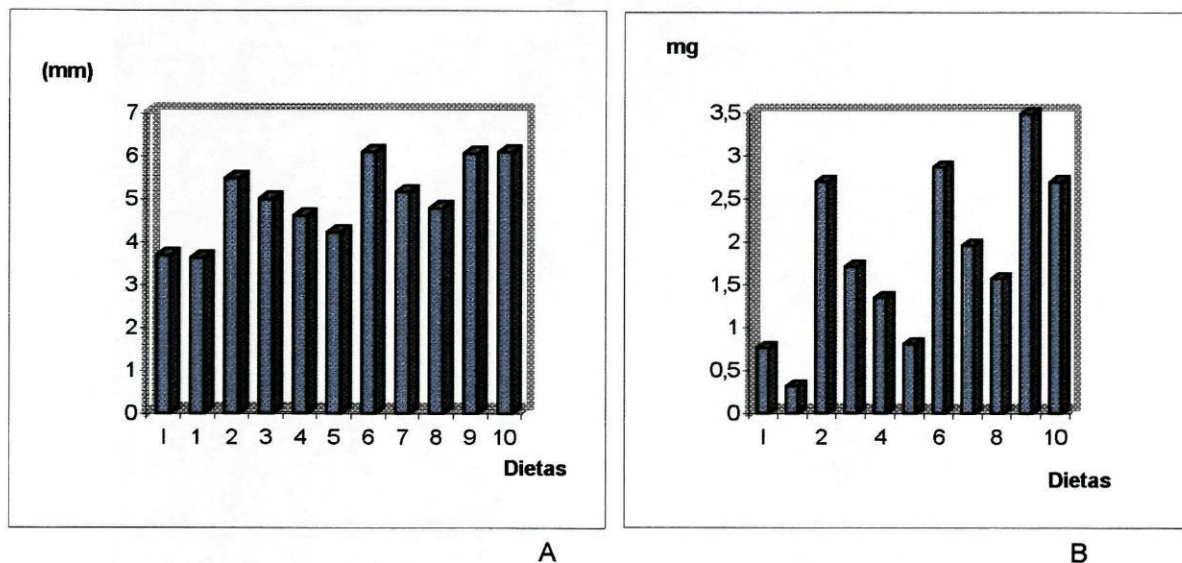


Fig. 38 - Comprimento (38A) e peso seco da carne (38B) inicial e final para Tapes decussatus de acordo com a dieta (3ª experiência).
I - situação inicial.

Relativamente aos pesos frescos totais (figura 39), todas as dietas (à excepção do valor registado ao fim da 1ª quinzena com a dieta D1), conduziram a um incremento do peso dos indivíduos após 30 dias de experiência comparativamente ao valor inicial. Esse incremento foi, no entanto, mais significativo com as dietas D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro), D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café) e D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café). Estas foram as dietas que conduziram, em ambas as determinações, aos valores de peso fresco total mais elevados, registando a D6 o maior valor entre elas. No entanto, e devido à proximidade dos seus valores finais, estas dietas não foram consideradas estatisticamente diferentes entre si ($p > 0,05$).

No final da experiência, as dietas D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) registaram um grande incremento pelas razões já mencionadas, conduzindo a melhores resultados do que a dieta D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro). Estatisticamente, e devido à proximidade de valores que apresentaram,

estas não foram consideradas, no entanto, diferentes ($p > 0,05$). No final da experiência, e contrariamente ao verificado após 15 dias, a dieta D2 (201.00 mg algas) conduziu a melhores resultados que os obtidos com a dieta D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro)

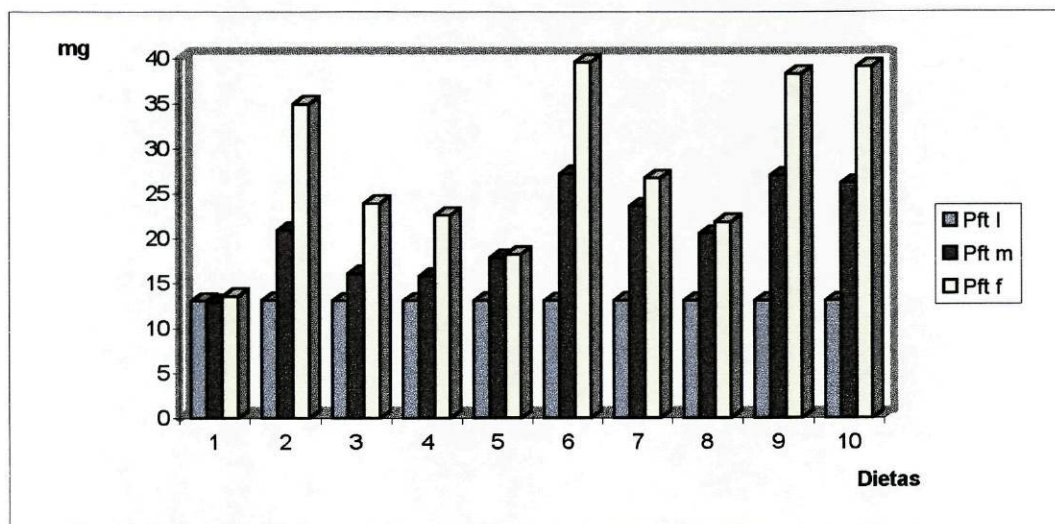


Fig. 39 - Peso fresco inicial, intermédio e final em *Tapes decussatus* de acordo com a dieta (3ª experiência).

Relativamente aos pesos secos da carne (figura 38B), estes alteram um pouco a tendência descrita anteriormente para os outros dois parâmetros biométricos. Deste modo, o valor mais elevado de crescimento foi obtido com a dieta D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café) seguindo-se com valores inferiores as dietas D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro), D2 (201.00 mg algas) e D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café), as quais, devido à proximidade dos seus valores (2,863 a 2,6875 mg), não foram distinguidas umas das outras estatisticamente ($p > 0,05$).

Das restantes dietas, D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro) foi a que conduziu ao melhor valor, situando-se logo a seguir as dietas D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas), D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro) e D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas), não sendo estatisticamente diferentes entre si as duas últimas ($p > 0,05$).

O jejum registou um valor inferior ao inicial, e a dieta D5 (6.40 ml soro) apenas um valor ligeiramente superior a este.

3.3.3 - Coeficientes de Crescimento: Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento

A Taxa de Crescimento Relativo e o Acréscimo Relativo de Crescimento foram calculados tendo por base os comprimentos e os pesos frescos totais e secos da carne, obtidos por dieta.

No 1º e no último caso, os valores para ambos os coeficientes foram obtidos no final da experiência (tabela 34, figura 40), tendo-se calculado para o 2º os valores intermédios e finais (tabela 34, figura 41).

Tabela 34 - Taxa de Crescimento Relativo (K) e Acréscimo Relativo de Crescimento (ARC), este em percentagem, em função do comprimento e peso seco da carne, em Tapes decussatus, de acordo com a dieta, após 30 dias de experiência (3ª experiência).

Dietas	Comprimento		Peso seco carne	
	K30	ARC30	K30	ARC30
D1 (jejum)	-0,00056	-1,66938	-0,02954	-58,77390
D2 (201,00 mg algas)	0,01321	48,61564	0,04195	251,96080
D3 (100,50/201,00 mg A) *	0,01021	35,85776	0,02675	123,20260
D4 (50,25/201,00 mg A) *	0,00750	25,27144	0,01875	75,49020
D5 (6,40 ml soro)	0,00453	14,54940	0,00161	5,22876
D6 (201,00 mg algas + 6,40 ml soro)	0,01673	65,18730	0,04393	274,18300
D7 (100,50 mg algas + 6,40 ml soro)	0,01110	39,92942	0,03125	155,55560
D8 (50,25 mg algas + 6,40 ml soro)	0,00878	30,15744	0,02388	104,90200
D9 (201,00 mg algas + 6,40 ml soro + 40 mg b. café)	0,01659	64,46797	0,05047	354,90200
D10 (201,00 mg algas +6,40 ml soro + 20 mg b. café)	0,01678	65,43160	0,04188	251,30720

* Valores referentes ao final da experiência

Os coeficientes de crescimento obtidos com base nos comprimentos (figura 40) apresentaram igual evolução à referida aquando da análise biométrica destes. Assim, e em ambos os coeficientes, as dietas D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café), D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro) e D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro +40 mg borra de café) foram as que conduziram aos valores mais elevados, registando-se entre elas uma grande proximidade para ambos os coeficientes.

Seguiram-se as dietas D2 (201.00 mg algas), D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro) e D3 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas), as duas últimas com valores também semelhantes, para os dois coeficientes determinados.

Das restantes, D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro) foi a melhor, à qual se seguiram, por ordem decrescente, as dietas D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas, 2ª quinzena - 201.00 mg algas), D5 (6.40 ml soro) e D1 (jejum).

Comparando-se estes coeficientes com os obtidos com base nos pesos frescos totais e pesos secos da carne, verificámos que os determinados a partir do comprimento foram inferiores aos restantes, excepto para as dietas D1 e D5, as quais registaram coeficientes crescimento com base no comprimento, superiores aos obtidos a partir do peso seco da carne.

Convém novamente mencionar que os valores apresentados para os dois coeficientes determinados com as dietas D3 e D4 são respeitantes a indivíduos que estiveram na presença de duas dietas diferentes durante a 1ª e 2ª quinzena experimental.

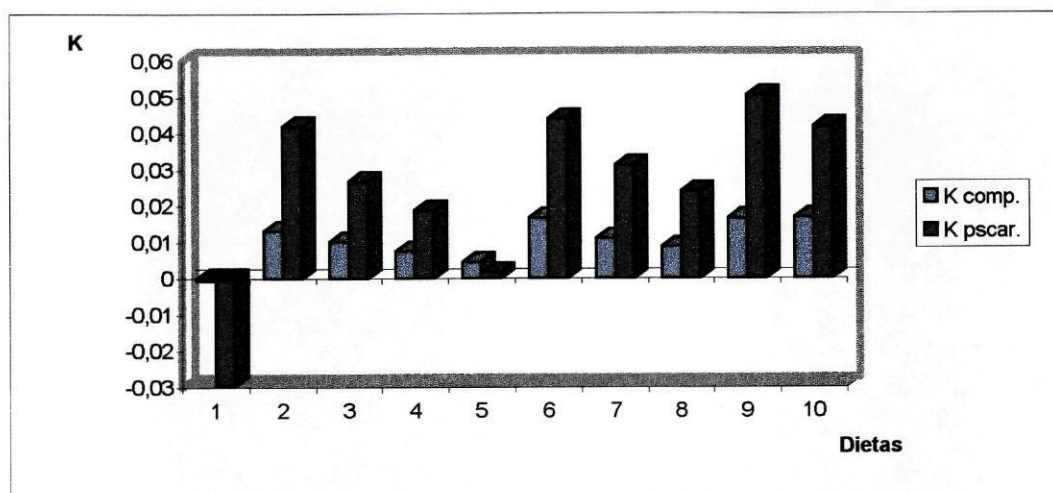


Fig. 40 - Taxa de Crescimento Relativo, com base no comprimento e peso seco da carne, verificada por dieta, na 3ª experiência. Valores calculados após 30 dias de experiência.

Os coeficientes obtidos para os pesos secos da carne (figura 40) assemelham-se em termos de evolução, à que foi observada aquando da análise biométrica deste parâmetro. Os valores para o coeficiente acréscimo relativo de crescimento foram bastante superiores aos registados com as outras medidas biométricas, apresentando com a dieta D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café) um valor superior a 300 %.

Tabela 35 -Taxa de Crescimento Relativo e Acréscimo Relativo de Crescimento em função do peso fresco total, em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (3ª experiência).

Dietas	Taxa de Crescimento Relativo com base no peso fresco total		Acréscimo Relativo de Crescimento com base no peso fresco total (%)	
	K15	K30	ARC15	ARC30
D1(jejum)	-0,00090	0,00134	-1,34486	4,09547
D2 (201,00 mg algas)	0,03124	0,03283	59,79819	167,72440
D3 (105,00/ 201,00mgA)	0,01382	0,02658*	23,08018	49,09058**
D4 (50,25/ 201,00mgA)	0,01271	0,02390*	21,02940	43,33923**
D5 (6,40 ml soro)	0,02086	0,01112	36,76003	39,58017
D6(201,00 mgA+6,40mls)	0,04896	0,03704	108,42810	203,76030
D7(100,50mgA 6,40 ml soro)	0,03925	0,02370	80,16895	104,19630
D8 (50,25 mgA 6,40 ml soro)	0,03025	0,01710	57,42555	67,52545
D9(201,00mgA 6,40mls+40mgc)	0,04840	0,03591	106,97930	193,69780
D10(201,00mgA 6,40mlS+20mgc)	0,04630	0,03659	100,28090	199,74440

* Valor respeitante à segunda quinzena experimental

** Valor respeitante à segunda quinzena experimental

A - algas; S - soro; C - borra de café

Os coeficientes calculados com base nos pesos frescos totais (figura 41) foram determinados para todas as dietas após 15 e 30 dias de experimentação, à excepção das dietas D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas), cujos valores foram determinados no final de cada quinzena, não se podendo, por isso, comparar os obtidos na 2ª quinzena com os finais para as restantes dietas.

Assim, e na 1ª quinzena, os valores mais elevados para ambos os coeficientes foram obtidos com as dietas D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro), D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café) e D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café), que apresentaram

valores próximos entre si, seguindo-se as dietas D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro), D2 (201.00 mg algas) e D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro). A dieta D5 (6.40 ml soro) foi a que registou, para ambos os coeficientes, os valores mais elevados das restantes dietas. O jejum conduziu a um valor negativo, e com as dietas D3 e D4 registaram-se os coeficientes de crescimento mais baixos a seguir ao jejum.

Na 2ª quinzena, a principal diferença relativamente à 1ª, está relacionada com as dietas D3 e D4 que registaram para ambos os coeficientes valores superiores ao dobro dos verificados para os primeiros 15 dias.

Outra das diferenças da 2ª relativamente à 1ª quinzena experimental, é o facto da dieta D2 ter conduzido a coeficientes superiores aos obtidos com a dieta D7, o que contraria o verificado na 1ª quinzena.

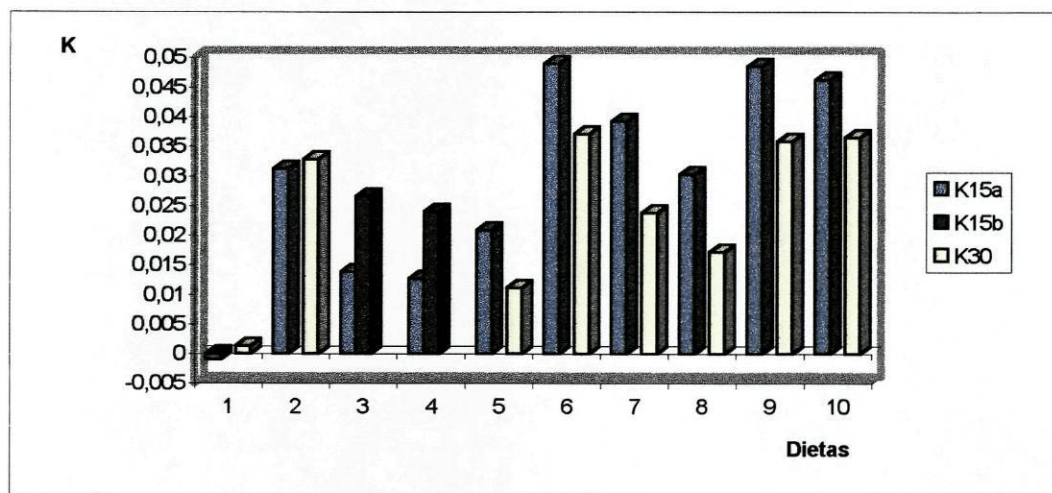


Fig. 41 - Taxa de Crescimento Relativo, com base nos pesos frescos totais, verificada por dieta na 3ª experiência.

Valores ao fim da 1ª quinzena (K15a), da 2ª (K15b, para as dietas D3 e D4) e no final da experiência (K30).

3.3.4 - Índices de Condição

Na tabela 36 e figura 42, estão representados os índices de condição obtidos em Tapes decussatus, após 30 dias de experimentação, com as dietas já referidas.

Tabela 36 - Índices de Condição obtidos em Tapes decussatus de acordo com a dieta (3ª experiência).

Dietas	Índices de condição
Inicial	61,709
D1 (jejum)	41,964
D2 (201,00 mg algas)	101,555
D3 (100,50/201,00 mg algas)	96,963
D4 (50,25/201,00 mg algas)	97,184
D5 (6,40 ml soro)	69,695
D6 (201,00 mg algas+6,40 ml soro)	112,437
D7 (100,50 mg algas +6,40 ml soro)	101,344
D8 (50,25 mg algas + 6,40 ml soro)	86,427
D9 (201,00 mg algas + 6,40 ml soro + 40 mg b. café)	119,658
D10 (201,00 mg algas + 6,40 ml soro + 20 mg b. café)	109,665

Verifica-se que a partir de um valor inicialmente baixo (61,71), todas as dietas, à excepção da D1 (jejum), conduziram a uma subida da condição de T. decussatus, atingindo-se um valor máximo de 119,66 com a dieta D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café), seguida de perto pela D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro) com 112,44, e pela D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café), com 109,67.

De imediato situaram-se as dietas D2 (201.00 mg algas) e D7 (100.50 mg algas + 6.40 ml soro) com valores muito próximos, de 101,56 e 101,34 respectivamente.

Das restantes dietas, as que continham apenas microalgas, D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) conduziram a valores de condição ligeiramente inferiores aos obtidos com as duas dietas anteriores, mostrando, no entanto, que foi benéfica a alteração da concentração algal efectuada.

Seguiu-se a D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro), com um valor superior à D5 (6.40 ml soro), a qual conduziu ao valor de condição mais próximo do inicial. O jejum, como seria de esperar, registou um valor de condição inferior ao inicial, o que demonstra uma perda de condição dos animais.

Resumindo, podemos referir que as dietas algais combinadas com as não algais conduziram, à excepção da D8, aos valores mais elevados de condição, correspondendo esses valores segundo MARTEIL (1976), a animais de elevada qualidade.

As dietas D3 , D4 e D8, conduziram à obtenção de animais com uma qualidade, segundo o autor anteriormente referido, ainda satisfatória, registando, no entanto, a dieta D8 um valor de condição superior aos obtidos com as dietas D3 e D4.

As duas dietas restantes D1 e D5, conduziram a valores que indicam, segundo o autor mencionado, a presença de animais de qualidade medíocre.

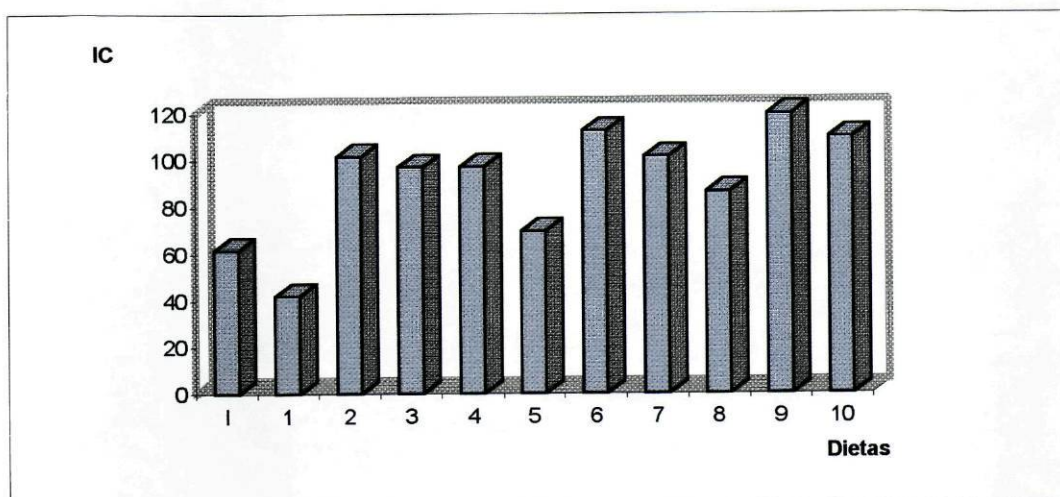


Fig. 42 - Índices de Condição obtidos em Tapes decussatus durante a 3ª experiência de acordo com a dieta.
I - situação inicial.

3.3.5 - Percentagens de Sobrevivência e Taxas Instantâneas de Mortalidade mensal.

A tabela 37 refere os valores observados quanto à Sobrevivência e Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm 30) durante a 3ª experiência, com representação gráfica da percentagem de sobrevivência na figura 43.

Tabela 37 - Percentagem de Sobrevivência e Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm30) em Tapes decussatus, de acordo com a dieta (3ª experiência).

Dieta	Percentagem de Sobrevivência		Taxa Instantânea de Mortalidade mensal (Zm 30)
	Ao fim de 15 dias	Ao fim de 30 dias	
D1 (jejum)	71,50	50,67	0,67990
D2 (201,00 mg algas)	98,4	92,33	0,09268
D3(100,50/201,00 mgA)	61,50	97,30 *	0,03225 / 0,97616**
D4(50,25/201,00 mgA)	70,33	91,17 *	0,05274 / 0,70394**
D5 (6,40 ml soro)	96,50	95,50	0,04612
D6 (201,00 mg A+6,40 ml soro)	100,00	98,33	0,01683
D7 (100,50 mg A +6,40 ml soro)	99,33	98,67	0,01343
D8 (50,25 mg A +6,40 ml soro)	98,83	98,67	0,01347
D9 (201,00 mg A +6,40 ml soro + 40 mg b.café)	99,50	99,17	0,00837
D10 (201,00 mg A+6,40 ml soro + 20 mg b.café)	99,00	98,67	0,01342

* Valores respeitantes apenas à segunda quinzena experimental

** O 1º valor é respeitante à 1ª quinzena e o 2º à 2ª quinzena experimental

A - algas

Registaram-se para a 1ª quinzena e no final da experiência, valores elevados de sobrevivência para todas as dietas, à excepção do valor final apresentado com a dieta D1 (jejum), o qual foi de 50,67%, e dos valores intermédios de D3 (100.50 mg algas) e D4 (50.25 mg algas), com 61,50 e 70,33 % respectivamente.

Comparando os valores de sobrevivência obtidos ao fim de 15 e 30 dias de experimentação, verificamos que os primeiros, à excepção de D1 (jejum), D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) foram ligeiramente superiores ao fim de 30 dias. Assim, e para a 1ª quinzena, o valor máximo de sobrevivência foi de 100%, e atingido com a dieta D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro), seguindo-se com resultados muito próximos (99,50 e 98,33%) as restantes dietas que continham na sua constituição microalgas e subprodutos.

As dietas D5 (6.40 ml soro) e D2 (201.00 mg algas) apresentaram igualmente valores elevados de sobrevivência, 96,50% e 92,33% respectivamente, sendo o valor mais baixo de sobrevivência alcançado com a dieta D3 (100.50 mg algas), seguida de D1 (jejum) e D4 (50.25 mg algas) com valores semelhantes entre si.

Os valores finais seguem uma tendência semelhante à referida para a 1ª quinzena, registando-se a maior diferença relativamente às dietas D3 e D4, que apresentam na 2ª quinzena valores de sobrevivência bastante superiores aos da 1ª.

Este facto, como já foi referido, deve-se à mudança da concentração algal fornecida, mostrando-se desta forma benéfica a alteração efectuada.

Assim, e após 30 dias de experimentação, todas as dietas à excepção da D1 e em menor escala D2, conduziram a valores elevados de sobrevivência, que estiveram muito próximos entre si.

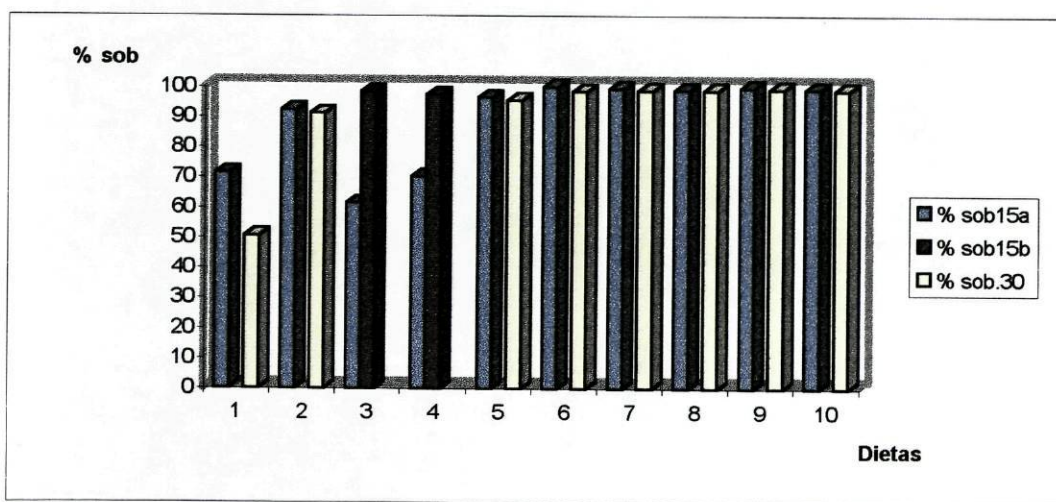


Fig. 42 - Percentagem de Sobrevivência observada durante a terceira experiência. Valores ao fim da 1ª quinzena (% sob 15a), ao fim da 2ª (% sob 15b) e no final da experiência (% sob 30).

A taxa de mortalidade instantânea mensal apresentou o valor mais elevado com a dieta D1 (jejum), seguida da D2 (201.00 mg algas) e D5 (6.40 ml soro), com valores no entanto bastante inferiores aos verificados com o jejum. Os valores mais baixos foram registados com as dietas

microalgais combinadas com os subprodutos utilizados, apresentando a dieta D8 (50.25 mg algas + 6.40 ml soro) o valor mais baixo de todos os observados.

Para as dietas D3 (1ª quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D4 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas), e embora tal não seja totalmente correcto, calculou-se esta taxa no final da 1ª e 2ª quinzena experimental, devido a estas duas dietas terem sofrido uma alteração na 2ª quinzena da experiência, do seu teor em microalgas.

Assim e na 1ª. quinzena os valores obtidos foram bastante elevados, registando D3 um valor superior à D4. Nos restantes 15 dias observou-se uma descida acentuada dos valores atingidos, com a D3 a apresentar uma taxa de mortalidade inferior à D4.

3.3.6 - Taxas de filtração

As taxas de filtração médias obtidas para cada uma das espécies microalgais fornecidas aos bivalves, bem como para as duas espécies quando analisadas conjuntamente (taxa de filtração total), encontram-se referidas na tabela 38, com respectiva representação gráfica na figura 43.

Tabela 38 - Valores médios de taxas de filtração, calculadas para cada uma das microalgas utilizadas e considerando as duas conjuntamente (3ª experiência). Temperatura média de 21,62°C.

Dietas	Taxa de filtração (ml/min)		
	<u>Tetraselmis suecica</u>	<u>Phaeodactylum tricornutum</u>	Total
D2 (201,00 mg A)	0,02940 ± 0,00789	0,04325 ± 0,00652	0,03815 ± 0,01021
D3 (100,50/201,00 mgA)	0,01850 ± 0,00589	0,02960 ± 0,00987	0,02660 ± 0,01540
D4 (50,25/201,00 mgA)	0,02845 ± 0,00756	0,02910 ± 0,01050	0,02900 ± 0,00987
D6 (201,00mgA+6,40mlS)	0,02790 ± 0,01234	0,03975 ± 0,01987	0,03610 ± 0,01236
D7 (100,50 mg A+6,40mlS)	0,02275 ± 0,00897	0,03670 ± 0,01365	0,03195 ± 0,01236
D8 (50,25 mgA+6,40mlS)	0,02680 ± 0,00897	0,03195 ± 0,01365	0,02695 ± 0,00789
D9 (201,00mgA+6,40mlS+ 40mg borra de café)	0,03100 ± 0,01245	0,03710 ± 0,00987	0,03500 ± 0,01478
D10 (201,00 mgA+6,40mlS+ 20 mg borra de café)	0,02805 ± 0,00736	0,04480 ± 0,01987	0,03535 ± 0,02014

A - algas; S - soro

Da análise de ambas, verificamos que, de entre as dietas constituídas apenas por microalgas, a D2 (201.00 mg algas) foi a que registou a maior taxa de filtração total seguida das dietas D4 (1ª

quinzena - 100.50 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) e D3 (1ª quinzena - 50.25 mg algas; 2ª quinzena - 201.00 mg algas) respectivamente.

Relativamente às taxas de filtração obtidas para cada uma das espécies microalgais usadas, estas verificaram tendência semelhante à referida para a taxa de filtração total, com a exceção da dieta D3 apresentar um valor ligeiramente superior para a taxa de filtração obtida para a microalga Phaeodactylum tricornutum, relativamente à dieta D4.

De entre as dietas constituídas por lacto-soro e microalgas em diferentes concentrações, a maior taxa de filtração total foi obtida com a dieta D6 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro), seguida de perto pelas dietas D10 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 20 mg borra de café) e D9 (201.00 mg algas + 6.40 ml soro + 40 mg borra de café), as quais continham igual teor em microalgas que a dieta D6. No entanto, a taxa de filtração calculada para a microalga T. suecica, registou o valor mais elevado com a dieta D10, seguida da D9 e D6. Relativamente à microalga P. tricornutum, a dieta D10 conduziu ao maior valor de taxa de filtração, seguido da D6 e da D9.

Das restantes duas dietas, D7 e D8, a 1ª apresentou para a taxa de filtração total, bem como para a calculada com base nas duas microalgas separadamente, valores superiores à 2ª.

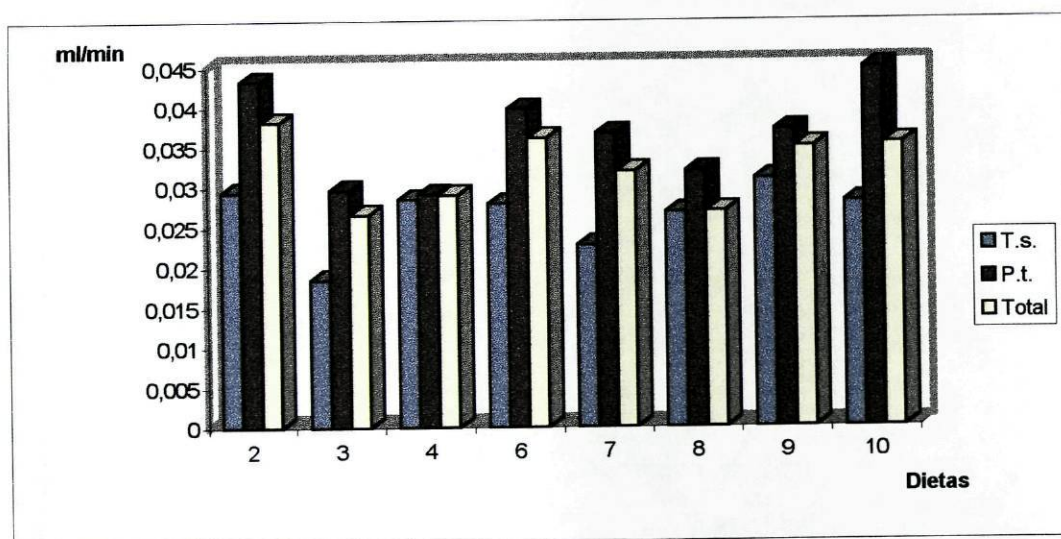


Fig. 43 - Taxas de filtração médias calculadas separadamente para as duas microalgas empregues, e considerando as duas espécies conjuntamente para cada dieta testada (3ª experiência).

Nesta experiência não foi possível a análise das partículas em suspensão na água dos vários tanques experimentais, no entanto, e excepto no que diz respeito às dietas que continham borra de café, a distribuição das partículas por tamanhos deverá ser semelhante à registada na 2ª experiência, para as dietas com microalgas e para as que continham lacto-soro. Contudo, o número de partículas por tamanhos deverá ser diferente dos registados na 2ª experiência.

4 - DISCUSSÃO

Para tornar mais clara a discussão dos resultados experimentais, optou-se pela sua apresentação de acordo com os objetivos experimentais inicialmente propostos.

4.1 - Parâmetros físico-químicos

O parâmetro temperatura sofreu variações ao longo das três experiências realizadas, registrando-se um valor médio de 12.78°C e de 13.29°C na 1ª experiência (para a 1ª e 2ª fase respectivamente), e de 21.62°C na 3ª experiência. Na 2ª experiência, a temperatura foi mantida constante, tendo o valor escolhido sido o considerado ótimo para a espécie em questão (18°C).

Os valores registados na 1ª experiência (1ª e 2ª fase) apresentaram-se inferiores aos verificados em (BORGES M. TEIXEIRA, 1993) para a mesma espécie, os quais foram de 15.74 e 17.41°C em cada um dos dois ensaios experimentais efectuados. O valor da 3ª experiência, além de não se distanciar muito do valor ótimo, encontra-se dentro do intervalo de temperatura (19-27°C) para o qual SHPIGEL & FRIDMAN (1990) registaram taxas de crescimento elevadas na espécie Tapes semidecussatus. LAING et al. (1987) verificaram um crescimento mais eficiente em juvenis de Tapes decussata, quando eram empregues temperaturas entre 15 e 20°C. Na referida gama de temperaturas, encontra-se incluído o valor da 2ª experiência (18°C), não se afastando muito desse intervalo o valor de temperatura registado na 3ª experiência (21.62°C).

Os valores médios de pH, que foram de 6.98 e 7.28 na 1ª experiência (1ª e 2ª fase respectivamente) e de 7.72 e 7.83 na 2ª e na 3ª experiência, são todos inferiores aos registados em BORGES M. TEIXEIRA (1993) os quais foram de 8.4 e 8.1 nos ensaios efectuados com a mesma espécie. SHPIGEL & FRIDMAN (1990) registaram valores de pH também superiores aos obtidos neste trabalho, tendo estes variado entre um mínimo de 8.0 e um máximo de 8.7. Segundo EPIFANIO et al. (1975) o pH utilizado na cultura de ostras e ameijoas deverá situar-se acima de 7.8, para evitar a dissolução da concha, e portanto, perdas de peso total. No entanto, e apenas na experiência 3, o valor médio registado foi semelhante ao aconselhado.

Os valores médios de salinidade verificados ao longo das três experiências efectuadas situaram-se entre 32.17 e 36.33 ‰, variação esta semelhante à registada em BORGES M. TEIXEIRA (1993), a qual foi de 32.00 e 36.000‰ igualmente para Tapes decussatus. LAING et al. (1987) e ALBENTOSA et al. (1989) para a espécie Tapes semidecussata registaram valores de salinidade compreendidos entre 30 e 34 ‰.

O oxigénio dissolvido na água foi determinado como percentagem de saturação, unidade esta que não nos permite a comparação com valores de outros autores, os quais estão normalmente expressos em ppm ou mg/l. No entanto, os valores médios de oxigénio dissolvido obtidos ao longo das três experiências situaram-se entre 84 e 100 % de saturação, não se tendo apresentado assim limitativos para o crescimento do bivalve em estudo.

Relativamente ao parâmetro amónia, este irá ser analisado considerando cada experiência separadamente tentando-se, sempre que possível, encontrar uma justificação para os valores médios registados. Assim, e na 1ª fase da 1ª experiência (tabela 7), verificamos que os teores médios de amónia obtidos com as dietas D4, D5 e D6, quer após um ou dois dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves, se apresentam todos, à excepção do valor a que conduziu a dieta D6 após um dia de alimentação, inferiores aos que se deveriam ter registado com base nos apresentados com as dietas D2 e D3. Convém referir que nenhum dos valores de amónia obtidos se apresentou elevado para a espécie em estudo.

Da análise dos teores em clorofila a, b, e c (tabela 7), após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves, verificamos valores elevados destes pigmentos em todas as dietas que continham microalgas, o que nos informa que grande parte destas não teriam sido ingeridas pelos animais permanecendo, assim, no meio de cultura. Visto a amónia ser um nutriente inorgânico utilizado pelas microalgas para o seu crescimento, e estas se apresentarem em concentrações elevadas nos tanques de cultura, esta poderá ser a razão para o facto de se registarem valores inferiores de amónia nestes tanques relativamente aos previstos.

O teor verificado com a dieta D6 após um dia de alimentação, poderá ser devido à menor concentração de microalgas presente no meio de cultura, mas também, ao facto dos valores de amónia referentes a um dia de alimentação, serem valores de apenas uma determinação, podendo o teor de amónia obtido com a dieta D6, não ser o correcto.

Na 2ª fase da 1ª experiência (tabela 14) verificamos, novamente, que todas as dietas conduziram a valores de amónia, após um e dois dias de ter sido fornecido o alimento, inferiores aos que se deveriam ter registado com base nos apresentados com as dietas D2 e D3. Vistos os teores em clorofila a, b e c, embora inferiores aos obtidos na 1ª fase, terem sido ainda elevados, a utilização da amónia por parte das microalgas poderá ser novamente a explicação para os baixos valores de amónia encontrados.

O que foi dito é apoiado pelo facto de se verificarem valores superiores de amónia após um e dois dias de alimentação com todas as dietas, à excepção da dieta D6, relativamente aos obtidos na 1ª fase, o que terá a ver com a redução do teor microalgal efectuado na 2ª fase, e daí um menor número de microalgas para a sua utilização.

Na 2ª experiência (tabela 22), e relativamente aos valores obtidos com as dietas que continham microalgas, observamos novamente através dos valores de clorofila a, b e c que, à medida que diminuiu a concentração de microalgas presentes no meio de cultura, aumentaram os níveis de amónia registados, pela possível razão já referida.

À excepção da dieta D5, em todas as restantes se verificaram valores de amónia inferiores aos previstos com base no teor presente na água do mar filtrada, o que indica, novamente, que esta terá sido utilizada pelas microalgas.

Visto ter sido nesta experiência efectuada uma análise bacteriológica à água dos tanques que receberam as dietas D2, D4 e D5, e esta ter revelado a existência de teores elevados de bactérias, estas, e embora não tenha sido efectuada a sua identificação, poderão ser capazes de utilizar igualmente a amónia, o que deverá, conjuntamente com a uso da amónia por parte das microalgas presentes no meio de cultura, fornecer a explicação para os baixos teores desta registados nas dietas D2 e D4.

Os valores obtidos com a dieta D5, podem ser devidos ao facto desta possuir os menores teores microalgais e bacterianos no meio de cultura, os quais não terão sido suficientes para que a

amónia resultante do metabolismo destes animais, e da água do mar filtrada, fosse utilizada quase na sua totalidade.

Relativamente às dietas que continham apenas lacto-soro na sua composição (D6-D9), verifica-se que após um ou dois dias de alimentação, valores de amónia bastante inferiores ao registado na água do mar filtrada. Visto a análise bacteriológica efectuada na água dos tanques que receberam estas dietas ter revelado teores ainda mais elevados de bactérias, do que os registados nos tanques com microalgas, estas, e como já referido anteriormente, poderão ser então as responsáveis pelos baixos teores em amónia registados.

Na 3ª experiência (tabela 32), as dietas com lacto-soro e microalgas registaram todos valores inferiores aos verificados com o lacto-soro e as microalgas quando fornecidos isoladamente, bem como inferiores ao teor em amónia na água do mar filtrada, o que poderá dever-se à utilização da amónia, não só pelas bactérias, mas também pelas microalgas.

Entre as dietas microalgais não pode ser feita comparação, visto as dietas D3 e D4 terem sido alteradas a meio da experiência, o que se reflecte nos valores obtidos. No entanto, o teor registado com a dieta D2, poderá dever-se, e como já foi referido, ao menor teor microalgal registado, o qual não foi suficiente para utilizar a amónia resultante do metabolismo dos bivalves e da água do mar filtrada.

Segundo EPIFANIO *et al.* (1975) os níveis de amónia na cultura de ostras e ameijoas poderão ser mantidos até 10 ppm, nível esse que não é considerado tóxico.

Os valores de clorofila a, b e c, registados nas três experiências (tabela 7, 14, 22 e 32) após um dia de alimento, decresceram de acordo com a diminuição do teor microalgal da dieta visto, e como irá ser analisado aquando da discussão das dietas microalgais, as menores concentrações de microalgas conduzirem a maiores taxas de filtração e, possivelmente, a um menor teor de alimento não ingerido.

A explicação para os teores demasiadamente elevados de pigmentos após dois dias de ter sido fornecido o alimento, poderá dever-se ao facto de ter ocorrido a divisão das microalgas que permaneceram no meio de cultura, visto os tanques experimentais terem sido mantidos em condições de luminosidade, e estes possuírem amónia, a qual serviria como fonte nutritiva. Outra hipótese poderá ser o facto das pseudofeces dos animais conterem microalgas, principalmente as dos animais sujeitos às maiores concentrações de microalgas na dieta, permanecendo estas igualmente no meio de cultura, com capacidade para se dividirem caso encontrem as condições necessárias.

Relativamente aos valores de sólidos suspensos totais estes, e à excepção do verificado na 1ª experiência (1ª fase) com as dietas D3, D4 e D5, e na 2ª fase com as dietas D2, D3 e D4, registaram valores inferiores aos verificados por SHPIGEL & FRIDMAN (1990) no cultivo de Tapes semidecussatus em efluentes piscícolas, o qual foi de 45 mg/l.

4.2 - Dietas microalgais

Um dos objectivos experimentais a alcançar com a realização deste trabalho seria o de tentar elaborar uma dieta microalgal de referência para o bivalve Tapes decussatus, visto não existir nenhuma, que seja do nosso conhecimento, até ao momento. Com efeito, as instalações que realizam a produção e engorda da ameijoas utilizam protocolos de cultura e dietas alimentares desenvolvidas para ostras, existindo pouca informação segura sobre a viabilidade da generalização destas condições aos Venerídeos (BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

A elaboração dessa dieta incidiu, sobretudo, no aspecto quantitativo, visto as microalgas empregues serem consideradas qualitativamente adequadas para a cultura de ameijoas (EPIFANIO, 1979; LAING *et al.*, 1987; ALBENTOSA *et al.*, 1989; COUTTEAU *et al.*, 1990).

As microalgas utilizadas foram, como já mencionado na introdução a este trabalho, a clorófito Tetraselmis suecica e a diatomácea Phaeodactylum tricornutum.

No que respeita ao seu valor nutricional existe uma certa controvérsia relativamente ao uso desta última, visto alguns autores a considerarem uma microalga “pobre” para os bivalves (WALNE, 1970; EPIFANIO & MOOTZ, 1976). As principais razões apontadas para a sua não utilização, têm a ver com o facto de P. tricornutum ser uma microalga que na sua composição bioquímica carece de certos nutrientes essenciais para a nutrição de animais marinhos, como é o caso do triptofano. Com efeito, este aminoácido mostrou ser essencial no crescimento de Mytilus californianus (HARRISON, 1975). Por outro lado, esta microalga possui o ácido gordo poliinsaturado 22:6w3 em quantidades reduzidas, ou seja, apenas 1.9 % da sua quantidade total de ácidos gordos (EPIFANIO *et al.*, 1981). Ora, este ácido gordo é tido como limitativo do crescimento de peixes marinhos, crustáceos e bivalves (COWEY *et al.*, 1976; JONES *et al.*, 1979; LANGDON & WALDOCK, 1981 *in*: EPIFANIO *et al.*, 1981). Igualmente essencial é o ácido gordo 18:3w3, que também se encontra presente, mas em pequena percentagem nesta microalga.

Contudo, esta diatomácea não foi empregue isoladamente como alimento para os bivalves em cultura, tendo sido combinada com a microalga T. suecica numa proporção de 2:1, respectivamente, como peso seco. Sabe-se que, na sua composição bioquímica, esta clorófito contém, segundo WEBB & CHU (1981) o aminoácido essencial em falta na microalga P. tricornutum, ou seja, o triptofano. Para além disso, ela possui os ácidos gordos poliinsaturados 18:3w3 e 20:5w3, tidos como essenciais, em quantidades relativamente elevadas (LANGDON & WALDOCK, 1981).

Desta forma, suprimiram-se as deficiências apontadas para P. tricornutum, apresentando-se esta como a principal vantagem do uso de dietas microalgais mistas. No entanto, não foi só esta microalga que viu as suas deficiências suprimidas, mas também T. suecica, visto esta última não possuir na sua composição bioquímica o ácido gordo essencial 22:6w3, que embora em pequenas quantidades se encontra presente em P. tricornutum.

A utilização de uma dieta microalgal mista deste tipo tinha já sido empregue por HERRERO *et al.* (1993) no cultivo de sementes do mexilhão Mytilus galloprovincialis, sendo a que, entre todas as utilizadas, tinha conduzido às melhores eficiências de conversão das proteínas, carboidratos e lipídios ministrados na dieta, em proteínas, carboidratos e lipídios incorporados nos animais.

Uma vez justificada a utilização das microalgas referidas como alimento para os bivalves em estudo, tentar-se-á de seguida, e de acordo com os resultados obtidos, apresentar a dieta, que do ponto de vista quantitativo, conduziu a resultados de crescimento mais satisfatórios por parte dos bivalves.

Convém, referir que será extremamente difícil a comparação entre os resultados obtidos no presente trabalho e os de outros autores, visto na pouca bibliografia encontrada e referente à espécie em questão, se utilizarem indivíduos de tamanhos quer bastante superiores, quer muito inferiores (larvas) aos empregues no presente trabalho. Além deste aspecto, não nos foi igualmente possível encontrar qualquer publicação que permitisse a comparação entre a melhor dieta, do ponto de vista quantitativo, por nós encontrada, com a de outros autores, visto não existir até ao momento, e que sejam do nosso conhecimento, trabalhos inseridos no âmbito deste nosso objectivo.

De seguida irá ser feita a discussão dos resultados obtidos com as diferentes concentrações da dieta microalgal empregue ao longo das três experiências efectuadas.

Assim, e na 1ª fase da primeira experiência, convém lembrar que se testaram três concentrações diferentes da dieta microalgal constituída por *T. suecica* e *P. tricornutum*, tendo-se calculado a ração máxima microalgal diária com base em 2.5 % do peso fresco total de bivalves por tanque. O valor de 2.5 % para o cálculo da ração microalgal máxima foi extrapolado a partir do valor considerado por COUTTEAU et al. (1990) óptimo para a espécie *Tapes semidecussatus* com 1 a 5 mg de peso fresco inicial, o qual foi de 1 % de peso seco de alimento por peso fresco de indivíduos por dia, para a dieta constituída pela microalga *Chaetoceros gracilis*.

As três concentrações empregues foram de 352.500 mg de microalgas (100 %) para as dietas D3 e D4, de 50 % do referido valor para a dieta D5 e por fim de 25 % para a dieta D6. No entanto, as três últimas dietas, além de compostas por microalgas, possuíam também efluente piscícola. Visto este ter apenas contribuído com um ganho bruto de 2 mg de peso fresco total ao fim de 30 dias (dieta D2), poderemos, desta forma, atribuir o incremento registado, quase na sua totalidade, à ração microalgal usada, o que nos permitiu definir, qual a tendência de crescimento verificada de acordo com as diferentes concentrações microalgais utilizadas.

Da comparação dos valores obtidos para o parâmetro biométrico referido acima (tabela 8), bem como da observação dos coeficientes de crescimento determinados com base no mesmo, pode concluir-se que, à medida que diminuiu o teor em microalgas nas dietas, se obtiveram aumentos de peso, e taxas de crescimento sucessivamente maiores (ARC de 23.6 % a 46.7%). No entanto, os resultados obtidos com as dietas que continham o maior teor microalgal (D3 e D4) não foram significativamente diferentes, em termos estatísticos, da dieta que continha metade do seu teor (D5) ($p > 0.05$).

A dieta com menor quantidade em microalgas (D6) diferenciou-se das duas anteriores ao registar coeficientes de crescimento bastante superiores aos registados com a dieta D4 e D5, ou seja, valores da ordem de 46.7 % para o acréscimo relativo de crescimento (ARC) e de 0.013 para a taxa de crescimento relativo, para 30 dias de experiência.

Na dieta D3 foi empregue a concentração máxima microalgal utilizada, ou seja, o teor de D4, com a diferença de a 1ª não ser suplementada com efluente piscícola, contendo apenas água do mar filtrada. Embora as duas dietas não tenham sido consideradas estatisticamente diferentes entre si ($p > 0.05$) assim como a dieta D5 em relação a estas duas, a dieta D3 conduziu a melhores resultados de peso fresco total, bem como a coeficientes de crescimento também superiores, aos registados com a dieta D4.

A tendência observada para um decréscimo do crescimento para rações sucessivamente mais concentradas pode ser explicada por saber-se, a partir de experiências de nutrição com algas unicelulares, que os animais filtradores, como é o caso da espécie em questão, retiram partículas do meio circundante apenas em quantidades que possam ser suportadas pelo seu sistema filtrador e digestivo, sendo a sua actividade filtradora grandemente afectada por concentrações do alimento

diferentes de um valor óptimo (WINTER, 1975). Desta forma, os moluscos bivalves alimentam-se mais eficientemente quando o número de partículas alimentares existentes no meio circundante atinge níveis relativamente baixos (LOOSANOFF & ENGLE, 1947; WINTER, 1970, 1973, 1974; TENORE & DUNSTAN, 1973; THOMPSON & BAYNE, 1972, 1974; SCHULTE, 1975), sendo que a actividade filtradora é mesmo induzida, a cessar na presença de concentrações demasiadamente elevadas de partículas (EPIFANIO *et al.*, 1975).

No presente trabalho, e de todas as concentrações de microalgas testadas, as quais foram de 352.500 mg de microalgas para as dietas D3 e D4, 176.250 e 88.125 mg para as dietas D5 e D6, respectivamente, a concentração que conduziu aos resultados de crescimento mais satisfatórios foi, como anteriormente referido, a dieta constituída pela menor concentração de microalgas, ou seja, a dieta D6 com 88.125 mg de microalgas, conduzindo as dietas que continham o maior teor em microalgas (D3 e D4), aos menores valores de crescimento obtidos.

A produção de pseudofeces, ou a regulação da eficiência de assimilação, são medidas postas em prática pelos bivalves na presença de concentrações de alimento sucessivamente crescentes, na tentativa de controlar a taxa de ingestão (GERDES, 1983). Deste modo, a referida taxa não é afectada pela concentração de alimento existente no meio circundante. Do ponto de vista ecológico, um comportamento deste tipo é pouco económico, devido a ser necessária maior quantidade de energia para que o animal se mantenha vivo (GERDES, 1983).

Embora não distinguidas estatisticamente, a dieta D3 conduziu a um maior incremento de peso fresco total por parte dos animais relativamente à dieta D4. Visto ambas as dietas apenas diferirem pelo facto de D4 possuir uma outra fonte nutricional, efluente piscícola, as diferenças encontradas poderão estar relacionadas com o facto de D4 registar uma concentração ligeiramente superior de partículas em suspensão do que D3, o que pode ser verificado através dos valores médios obtidos para o parâmetro físico-químico sólidos suspensos totais. Com efeito, este, ao fim de dois dias de ter sido fornecido o alimento aos bivalves foi de 111.75 mg/l com D4 e de 109.00 mg/l com D3, conduzindo, então, a uma taxa de filtração ligeiramente inferior (0.00377) que a verificada na dieta D3 (0.00422).

A concentração de sólidos em suspensão observada com a dieta D5 (80.00 mg/l), e embora inferior às duas concentrações registadas nas dietas anteriores, terá conduzido a resultados de crescimento mais satisfatórios e a uma taxa de filtração superior (0.00817) à verificada com as dietas D3 e D4, demonstrou ser ainda elevada, obtendo-se valores de peso fresco total que do ponto de vista estatístico não se diferenciaram significativamente dos registados com D3 e D4 ($p > 0.05$).

Das concentrações testadas, a utilizada na dieta D6 parece ser a concentração microalgal óptima para o bivalve em questão, visto ter sido a que conduziu a um maior incremento do peso fresco total, aos coeficientes de crescimento e índices de condição mais elevados e à maior percentagem de sobrevivência e taxa de filtração registada.

Convém referir que a temperatura média durante esta fase experimental foi de 12.78°C, verificando-se uma temperatura mínima de 10°C e uma máxima de 15°C, temperaturas estas, sobretudo a mínima, inferiores às consideradas adequadas para a espécie utilizada (BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

Visto a temperatura influenciar grandemente a taxa de filtração, observando-se um decréscimo desta na presença de temperaturas baixas, como foi o caso, este poderá ter sido outro factor a influenciar os resultados de crescimento obtidos.

Relativamente às percentagens de sobrevivência, determinadas com as respectivas dietas verificamos não terem existido diferenças consideráveis entre elas, conduzindo todas, sem excepção, a valores bastante elevados, os quais se situaram entre 95.17 e 97.50 %.

Na segunda fase desta experiência (tabela 15), e visto os resultados da fase anterior demonstrarem uma excessiva concentração de microalgas nas dietas D3, D4 e D5, reduziram-se todas as rações microalgais diárias para metade das empregues na fase anterior.

Esta alteração mostrou ser benéfica, visto o ganho bruto em peso fresco total atingido nesta fase, para todas as dietas que continham microalgas, ter ultrapassado, no dobro, o registado na fase anterior (16.4 mg com a dieta D3, 15.4 com a dieta D4 e 24.0 e 24.7 mg com as dietas D5 e D6, respectivamente), o que, uma vez mais, apoia a explicação utilizada para justificar os resultados anteriores.

As dietas D3 e D4, ainda que com coeficientes de crescimento, com base nos pesos frescos totais, superiores aos da fase anterior, foram novamente as que conduziram aos valores mais baixos para estes coeficientes, entre as dietas microalgais empregues, não sendo novamente distinguidas entre si estatisticamente ($p > 0.05$).

Novamente a dieta D4 apresentou um teor em sólidos suspensos totais ligeiramente superior ao da dieta D3, bem como a uma taxa de filtração ligeiramente inferior, pelas razões já explicadas, podendo ter conduzido, por isso, a 2ª a melhores resultados de crescimento que a 1ª.

A alteração na dieta D5 foi a que mostrou ser mais benéfica, visto ter conduzido aos valores mais elevados dos coeficientes de crescimento determinados com base no peso fresco total, registados nesta fase. Com efeito, o ARC foi de 83.5 % e a taxa de crescimento relativo de 0.020. Além disso, a dieta D5, foi a que conduziu às melhores taxas de filtração obtidas, registando um valor de 0.02250 ml/min.

Visto que, com a redução do teor microalgal efectuado na 2ª fase desta experiência, a dieta D5 passar a ser constituída, por teor idêntico ao registado na dieta D6, 1ª fase, (a melhor concentração microalgal usada) podemos então dizer que 25% da ração máxima microalgal diária, calculada com base em 2.5 % do peso fresco total de bivalves por tanque, se pode apresentar, até agora, como o valor considerado óptimo para a espécie em questão, à temperatura de aproximadamente 13°C.

Convém referir que a temperatura média nesta fase experimental foi de 13.29°C, ou seja, ligeiramente superior à registada na fase anterior, o mesmo acontecendo para a temperatura mínima observada, a qual foi de 12°C. Visto, e como já foi dito anteriormente, a temperatura influenciar a taxa de filtração, sofrendo esta um aumento até um valor de temperatura considerado óptimo, este factor, conjuntamente com a diminuição do teor microalgal empregue, poderão ter sido os responsáveis pelas maiores taxas de filtração obtidas nesta fase experimental, o que conduziu para a mesma ração, aos melhores resultados de crescimento obtidos.

A dieta D6, embora tenha conduzido às segundas melhores taxas de crescimento e de filtração, mostrou que a redução efectuada no seu teor microalgal não terá sido de todo favorável.

Visto os valores de comprimento, peso seco da carne, e índices de condição apenas terem sido obtidos no final da 2ª fase experimental, referindo-se estes valores a animais submetidos a duas concentrações diferentes da dieta microalgal empregue, não poderão estes ser utilizados para nos indicarem qual a concentração microalgal mais adequada, das duas testadas nesta experiência.

As percentagens de sobrevivência foram, assim como na 1ª fase, elevadas para todas as dietas, registando-se valores entre 94.74 e 97.27 %.

O facto do efluente piscícola ter contribuído, apenas, com um ganho bruto de 2.0 e de 2.8 mg de peso fresco total na 1ª e 2ª fase, respectivamente, para os ganhos obtidos com as dietas D4, D5 e D6, foi devido, provavelmente, ao seu teor em matéria orgânica, o qual terá sido baixo. Também a utilização de um sistema de cultivo fechado e, ainda, possivelmente, os pequenos tamanhos apresentados pela maioria das partículas em suspensão neste efluente, deverão ter igualmente contribuído para os resultados obtidos. Estas justificações irão ser desenvolvidas com mais pormenor, aquando da discussão respeitante ao efluente piscícola.

Na 2ª experiência (tabela 23), testou-se a dieta microalgal utilizada na 1ª fase da 1ª experiência (352.500 mg de microalgas para a dieta a 100 %), com a diferença de os animais terem sido mantidos a uma temperatura constante de 18°C, temperatura esta que é tida como ótima para a espécie em questão (BORGES M. TEIXEIRA, 1993). Também o meio de cultura utilizado foi água do mar filtrada e não efluente piscícola como na fase anterior. Foram consideradas as situações de dieta microalgal a 100 %, 75 %, 50 % e 25 % da mistura *T. suecica* e *P. tricornutum* numa razão de 1:2 como peso seco respectivamente.

Os resultados de crescimento obtidos no final da experiência para comprimento, peso fresco total e peso seco da carne, bem como os coeficientes determinados com base nestes mesmos parâmetros, revelaram a tendência já registada na experiência anterior, ou seja, à medida que se diminuiu a concentração de microalgas empregues na dieta, verificou-se um aumento dos valores de crescimento registados. Com efeito, o ARC calculado com base no peso fresco total foi de 52.0 %, para a dieta microalgal a 100 %, de 76.3 % para a de 75 % e de 91.7 e 142.9 % para as de 50 e 25 % em microalgas respectivamente. A explicação para este facto é idêntica à utilizada para a justificação dos resultados obtidos na experiência anterior. Deste modo, as dietas D2 e D3, devido a serem as que registaram maiores teores em microalgas, foram as que apresentaram as taxas de filtração mais baixas, 0.00514 e 0.00658 ml/min respectivamente, o que se reflectiu nos parâmetros biométricos e respectivos coeficientes de crescimento. Das duas restantes dietas, a D6, ou seja, a que continha o menor teor microalgal, foi a que conduziu, novamente aos melhores resultados de crescimento e à taxa de filtração mais elevada (0.03075 ml/min) pelas razões já referidas. Pode, então, dizer-se que para sementes com 24 mg de peso fresco inicial, uma dieta microalgal de referência para a temperatura de 18°C poderá conter 90 mg de microalgas/dia, ou seja, 3.75×10^5 células/ml/dia da microalga *P. tricornutum* e 7.19×10^4 células/ml/dia da microalga *T. suecica*, por tanque com 600 animais. No entanto e para a dieta referida, observaram-se diferenças nos coeficientes de crescimento obtidos, de acordo com os valores de temperatura testados. Deste modo, e no que diz respeito ao ARC com base no peso fresco total, este foi de 46.7 % na 1ª experiência (1ª fase) para uma temperatura média de 12.78°C, registando-se para a mesma concentração microalgal e a uma temperatura média de 13.29°C, um valor de ARC com base no mesmo parâmetro de 83.5 % na 1ª experiência (2ª fase). Na 2ª experiência e com uma temperatura de 18°C o valor do ARC observado foi já de 142.9 %, registando-se, como será referido adiante, na 3ª experiência e para uma temperatura média de 21.62°C um valor de ARC de 167.7 % para o mesmo teor microalgal.

Comparando os pesos frescos totais finais, os coeficientes de crescimento determinados com base no mesmo parâmetro, e as taxas de filtração registadas nesta experiência, com os verificados na 1ª fase da 1ª experiência, verificámos que os primeiros se apresentaram bastante superiores aos segundos. Esta diferença deverá estar, uma vez mais, relacionada com o aumento da temperatura verificado, visto esta influenciar a taxa de filtração, sobretudo ao nível da alteração do volume de água bombeado, o qual está directamente relacionado com a alimentação (BORGES, 1985). Esta taxa aumenta com o incremento da temperatura, mas apenas até a um valor considerado ótimo; atingido este, qualquer aumento posterior da temperatura traduzir-se-á numa diminuição significativa da taxa de filtração. Segundo MANN & RYTHER (1977) um regime de temperatura ótimo para o crescimento deverá, por um lado, estimular a alimentação e a produção de carne, e por outro, minimizar o excessivo crescimento da concha, a produção de material reprodutor e o potencial stress fisiológico associado às temperaturas elevadas.

Relativamente às percentagens de sobrevivência determinadas com as respectivas dietas, verificamos não existirem diferenças consideráveis entre elas, conduzindo todas a valores de sobrevivência elevados, os quais se situaram entre 97.7 e 98.7 %, para 30 dias de experiência.

Os índices de condição obtidos foram, em todas as dietas, superiores a 100, o que segundo MARTEIL (1976) indica que estamos na presença de animais de elevada qualidade, o que comprova que a dieta microalgal mista empregue foi suficiente do ponto de vista qualitativo.

Nesta altura, e após analisados os resultados da 1ª e da 2ª experiência, verificamos que a dieta que em situações de temperatura diferentes, conduziu, em ambas aos melhores resultados de crescimento, foi a dieta microalgal que representava 25 % da ração máxima calculada com base em 2.5 % do peso fresco total de bivalves por tanque, podendo ser esta até agora considerada a dieta óptima para a espécie Tapes decussatus, a qual contém aproximadamente 90 mg de peso seco de microalgas/dia.

Visto um dos objectivos deste trabalho ser a redução dos teores microalgais empregues, devido e como já foi dito na introdução, às microalgas serem as principais responsáveis pelo encarecimento da produção de moluscos bivalves em "hatcheries / nurseries", reduziu-se na 3ª experiência, o teor microalgal até agora considerado óptimo, para metade e para um quarto deste, na tentativa de encontrar a concentração mínima que permitisse obter ainda um bom crescimento por parte dos bivalves em cultura. Desta forma, consideraram-se as situações de fornecimento de 210.00 mg de microalgas na dieta D2, e 100.50 e 50.25 mg de microalgas nas dietas D3 e D4 respectivamente. O 1º valor representava 25 % da ração máxima microalgal diária calculada com base em 2.5 % do peso fresco total de bivalves por tanque, diferindo, apenas, dos valores anteriores, devido aos animais empregues nesta fase experimental apresentarem tamanhos ligeiramente inferiores.

Contudo, as dietas D3 e D4, não conduziram a resultados satisfatórios, nomeadamente no que diz respeito às percentagens de sobrevivência, visto estas, ao fim de 15 dias de experiência, se apresentarem relativamente baixas: 61.5 % com a dieta D3 e 70.3 % com a dieta D4. Registaram-se, igualmente, valores para os parâmetros biométricos, coeficientes de crescimento e taxas de filtração, inferiores aos verificados com a dieta D2 conduzindo, no entanto, a dieta D3 a valores superiores aos obtidos com a D4.

O que foi verificado poderá ser explicado pelo facto de as concentrações microalgais empregues terem sido demasiadamente baixas, o que induz no animal um aumento da taxa de bombagem da água, na tentativa de ser ingerido mais alimento. De experiências com ostras Crassostrea virginica, COLLIER (1959) in: WINTER (1975) demonstrou que a taxa de bombagem da água consome uma grande porção de energia (por exemplo bombear 10 l/h consome 5 mg de oxigénio /l). Consequentemente, e sob condições de baixas concentrações de alimento, mais energia deverá ser gasta devido a uma taxa de bombagem mais elevada, quando comparada com a energia obtida através do alimento ingerido (TENORE & DUNSTAN, 1973). O que foi dito poderá explicar os resultados registados com as dietas D3 e D4, não sendo, por isso, estas adequadas, em termos quantitativos, ao crescimento do bivalve em estudo.

Devido à elevada mortalidade registada com as referidas dietas na 1ª quinzena experimental, e na tentativa de verificar se a concentração do alimento seria a responsável pelos resultados de crescimento insatisfatórios, alterou-se na 2ª quinzena as suas concentrações microalgais para as mesmas da dieta D2, tendo-se novamente atingido os melhores resultados de crescimento.

Foi possível, desta forma, verificar que os coeficientes de crescimento determinados com base nos pesos frescos frescos totais, apresentaram valores superiores ao dobro dos registados na 1ª quinzena, com a sobrevivência a atingir valores próximos dos obtidos com a dieta D2. Convém igualmente referir que, a análise estatística efectuada aos valores de peso fresco total, indicou que as dietas D3 e D4 não diferiram, nesta fase, estatisticamente entre elas ($p > 0.05$). Desta forma poderemos concluir que a explicação encontrada para os resultados da 1ª quinzena experimental, obtidos com as dietas D3 e D4, poderá estar correcta, visto a única alteração efectuada na 2ª quinzena ter sido a mudança da concentração microalgal utilizada, para uma superior.

A dieta D2 registou taxas de filtração superiores às verificadas com o mesmo teor microalgal nas experiências 1 (1ª fase) e 2, o que deverá estar novamente relacionado com os valores de temperatura, visto nesta experiência se ter registado o valor médio mais elevado das três experiências realizadas: 21.6°C. Este valor, e pelo facto de não se ter distanciado grandemente da temperatura óptima, nem atingido valores excessivos, conduziu, ainda, a um incremento da taxa de filtração, e logo, a um aumento na ingestão de alimento, favorecendo, por isso, o crescimento.

Deste modo, e de entre todas as concentrações de microalgas empregues ao longo de todas as experiências realizadas, poderemos e segundo os resultados obtidos, recomendar como dieta para otimizar o crescimento de Tapes decussatus, a constituída por 25 % do teor máximo microalgal diário calculado com base em 2.5 % do peso fresco total de bivalves por tanque, ou seja, a que representa 0.625 % do peso fresco total de bivalves por tanque, havendo vantagens, como já referido anteriormente, em empregar a temperatura considerada óptima para a espécie em estudo ou até uma temperatura ligeiramente superior.

O valor do índice de condição obtido com a dieta D2 foi superior a 100, o que indica a presença, uma vez mais, de animais de elevada qualidade. Visto os índices terem sido determinados apenas no final da experiência, os valores registados com as dietas D3 e D4, os quais foram de 96.9 e 97.2 respectivamente, são referentes a animais que foram sujeitos a duas concentrações diferentes de microalgas. Os valores indicam, contudo, a presença de animais de qualidade ainda satisfatória.

Da análise das taxas de filtração obtidas para cada uma das espécies microalgais empregues, verificou-se que de uma maneira geral a taxa de filtração da microalga P. tricornutum, foi para qualquer das concentrações microalgais empregues, bem como para as várias temperaturas testadas, superior à registada com a microalga T. suecica. No entanto, verificou-se com algumas das dietas testadas (por exemplo as dietas D4 e D5 da 1ª experiência, 1ª fase), uma maior taxa de filtração da microalga T. suecica relativamente à microalga P. tricornutum o que poderá ser devido a uma maior deposição desta última no fundo dos tanques experimentais, deixando assim, de se apresentar disponível para ser ingerida pelos bivalves. Este facto poderá estar relacionado com a insuficiente agitação do meio de cultura, ao qual se associa o facto de P. tricornutum ser ao contrário de T. suecica uma microalga imóvel, dependendo assim da agitação do meio para que não se deposite no fundo dos tanques experimentais.

Tal como já havia sido mencionado anteriormente, verificou-se, de uma maneira geral, um aumento da taxa de filtração para cada uma das espécies microalgais utilizadas com a diminuição do teor microalgal e com o aumento da temperatura.

4.3 - Dietas não algais

4.3.1 - Efluente piscícola

A avaliação das capacidades nutritivas do efluente piscícola utilizado foram efectuadas na 1ª experiência (1ª e 2ª fase), tendo este sido empregue isoladamente como fonte alimentar para os bivalves em cultura, ou combinado com três concentrações diferentes da dieta microalgal empregue.

Da análise dos resultados de crescimento obtidos quando o efluente piscícola foi utilizado como única fonte nutricional, verificámos que este conduziu a valores de crescimento insatisfatórios,

que melhoraram, apenas, quando aquele foi combinado com as microalgas, às quais se devem, quase na sua totalidade, os incrementos registados nos parâmetros biométricos determinados.

Deste modo, apenas será feita uma comparação entre os resultados de crescimento obtidos com o uso de efluente e com a situação de jejum.

Da análise estatística efectuada com base nos valores de comprimento, peso fresco total e peso seco a carne, obtidos no final da 2ª fase desta experiência, ou seja, após 60 dias dos animais terem permanecido em cultura, verificámos que, para os dois primeiros parâmetros biométricos, a dieta constituída por efluente piscícola foi estatisticamente diferente ($p < 0.05$) do jejum, conduzindo o efluente piscícola a valores de comprimento e peso fresco total superiores aos registados com o jejum. No entanto, a análise efectuada com base no peso seco da carne, revelou a não existencia de diferenças significativas entre estas duas dietas ($p > 0.05$).

A razão para estes resultados contraditórios poderá ter a ver com o facto de, nos bivalves, o crescimento da concha (avaliado no parâmetro comprimento e quase na sua totalidade no peso fresco total), e das partes moles do corpo seguirem mecanismos de crescimento diferentes, apresentando a concha um crescimento de tipo cumulativo, visto ser uma secreção do metabolismo do animal, enquanto que o crescimento do tecido corporal depende, essencialmente, da actividade metabólica do organismo (BORGES M. TEIXEIRA, 1993). Logo, o parâmetro peso seco da carne forneceu uma informação acerca da matéria orgânica assimilada pelo animal, que terá sido manifestamente insuficiente para as duas situações experimentais referidas.

Uma das razões que poderá ter sido responsável pelos resultados de crescimento insatisfatórios obtidos com o efluente piscícola, poderá ter sido o seu teor em matéria orgânica particulada, o qual foi de 37,1250 mg /l na 1ª fase desta experiência e de 30,5000 mg /l na 2ª fase. Comparando estes valores com os registados por MUÑOZ *et al.* (1995), em efluentes de dourada utilizados na alimentação da ameijoia japonesa Ruditapes phillipinarum, e com os de SHPIGEL & FRIDMAN (1990), em efluentes provenientes de um tanque de terra usados na nutrição de Tapes semidecussatus, podemos ver que estes foram de 48,6 e 45,0 mg /l respectivamente, tendo conduzido a bons resultados de crescimento. Verificámos, então que estes valores se apresentaram bastante superiores aos registados, principalmente para o 2º, efluente piscícola utilizado neste trabalho.

Outras das explicações para o sucedido, poderá ter sido o facto de se ter utilizado um sistema de cultivo fechado, com mudança de água de duas vezes por semana, o que, aliado ao baixo teor em matéria orgânica do efluente, levou a que os animais ficassem privados de alimento durante um maior espaço de tempo.

O que foi dito é apoiado pelos resultados obtidos por JARA-JARA *et al.* (1995), e MUÑOZ *et al.* (1995) que estudaram o crescimento de Venerupis pullastra (M.) em efluente de robalo, e de Ruditapes phillipinarum (REEVE), no de dourada, em sistema aberto e semifechado, respectivamente. Com efeito, em ambos foram obtidos os melhores resultados de crescimento apenas quando eram empregues os maiores fluxos de água residual, e resultados não satisfatórios para os menores fluxos. Dadas as limitações temporais associadas a um trabalho do tipo deste efectuada, não nos foi possível realizar ensaios empregando diferentes fluxos de efluente.

Outra razão apontada para os baixos resultados de crescimento obtidos, poderá ter sido o tamanho das partículas em suspensão no efluente, visto que um maior número destas foi registado dentro dos tamanhos mais pequenos analisados, ou seja, 2.02 e 1.35 μm , o que pode ocasionar a sua não retenção pelo tamiz branquial. Para o número de partículas detectado em cada um dos tamanhos referidos, puderam ter contribuído bactérias existentes no efluente, visto estas se desenvolverem rapidamente em meios deste tipo. Estas poderiam ter contribuído como uma fonte adicional de alimento, para os bivalves. Contudo, não foram efectuadas análises bacteriológicas que comprovassem a possibilidade do seu aproveitamento por Tapes decussatus.

Deste modo, e na tentativa de melhorar os resultados obtidos no presente trabalho com o efluente utilizado, deverão ser empregues, em futuros ensaios experimentais, efluentes com cargas orgânicas superiores, bem como sistemas abertos ou pelo menos semifechados, de circulação deste. Os fluxos a utilizar poderão ser calculados com base, por exemplo, nos utilizados por JARA-JARA *et al.* (1995) no cultivo de sementes de *Venerupis pullastra* com efluente proveniente de tanques de cultura de robalo, os quais, e para a obtenção de bons resultados de crescimento, foram de 1120 l/h e de 2240 l/h. Visto não ter sido verificado, neste trabalho, se o efluente piscícola poderia, ou não, ser usado para reduzir o teor microalgal necessário para a obtenção de um crescimento satisfatório por parte do bivalve em estudo, será conveniente em futuros trabalhos, e com um efluente que por si só assegure o crescimento, realizar ensaios em que se adicionem a este, diferentes concentrações da melhor dieta microalgal utilizada.

4.3.2 - Soro de queijo

Na 2ª experiência, utilizou-se, em quatro dos tanques experimentais, e como única fonte alimentar para os bivalves em cultura, soro proveniente do fabrico do queijo St. Paulin, em concentrações que equivaliam, em termos de teor proteico, às utilizadas com a dieta microalgal, nos restantes tanques experimentais. Tentou-se, deste modo, ter uma ideia do valor nutricional do lacto-soro, relativamente ao valor nutricional da dieta microalgal empregue. As concentrações foram calculadas com base no teor proteico da dieta microalgal, visto este nutriente ser um dos principais responsáveis pelo crescimento dos animais em geral.

Da comparação dos parâmetros biométricos (comprimento, peso fresco total e peso seco da carne) e dos coeficientes de crescimento determinados com base nesses mesmos parâmetros, obtidos nos bivalves alimentados com lacto-soro e com a dieta microalgal empregue, deparamos que os primeiros apresentaram valores, para todos os parâmetros referidos, inferiores aos registados nos indivíduos submetidos à dieta microalgal de referência. Com efeito, o ganho bruto em peso fresco total obtido com a melhor concentração da dieta microalgal foi de 34.7 mg e com a melhor concentração de lacto-soro, apenas, de 8.1 mg.

Uma explicação para este facto, poderá estar mais relacionada com o aspecto qualitativo do lacto-soro usado, do que com o quantitativo, visto que a análise estatística efectuada aos pesos secos da carne, não registou diferenças significativas em relação às quatro concentrações de soro empregues, registando a mesma análise, e com base no peso fresco total, apenas diferenças para a menor concentração de lacto-soro utilizada. No entanto, não poderá ser posta de lado a hipótese de as concentrações de lacto-soro utilizadas mesmo as mais elevadas terem sido insuficientes. As quantidades de soro usadas poderão ter sido, ainda, influenciadas, como irá ser discutido adiante, pela deposição das partículas componentes do lacto-soro no fundo dos tanques, ou através da formação de agregados entre elas, deixando desta forma de se apresentarem disponíveis para a sua ingestão por parte dos bivalves.

De acordo com a bibliografia que possuímos no que respeita à composição em nutrientes do lacto-soro (tabelas 1, 2 e 3), podemos verificar que as deficiências de crescimento provocadas por este subproduto nos bivalves não deverão ter estado relacionadas com o teor em carboidratos deste, visto a lactose ser um dos seus principais constituintes, nem com o seu teor proteico, o qual, a seguir

à lactose, se apresenta como o nutriente presente em maior percentagem de matéria seca, sendo as proteínas compostas pelos aminoácidos essenciais, nomeadamente o triptofano, em quantidades relativamente elevadas (tabela 3).

As suas deficiências nutricionais e embora não existam referências bibliográficas em que nos possamos apoiar, poderão estar, hipoteticamente, relacionadas com a composição em ácidos gordos do seu material lipídico, nomeadamente no que diz respeito aos ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa, W3 e W6, os quais, como já foi dito anteriormente, são essenciais para crescimento de peixes marinhos, crustáceos e moluscos.

Um outro nutriente em falta, e para o qual não possuímos, uma vez mais, informação, poderão ter sido as vitaminas as quais são essenciais para a obtenção de um bom crescimento por parte dos bivalves (WALNE, 1974; EPIFANIO, 1979).

Desta forma o lacto-soro poderá servir como um meio de fornecimento de proteínas e de outros macronutrientes, sendo necessário para a obtenção de um melhor crescimento por parte dos bivalves, o fornecimento dos possíveis micronutrientes em falta (ácidos gordos essenciais e vitaminas) através de uma suplementação com microalgas. Tal efectuado na 3ª experiência, conduzindo a bons resultados. O uso de microcápsulas lipídicas contendo vitaminas seria outra hipótese a considerar (URBAN, 1982).

Além do aspecto qualitativo, outra hipótese explicativa dos resultados obtidos, poderá ser a formação de coagulados por parte do lacto-soro no meio de cultura, os quais foram efectivamente observados.

WINTER (1974) *in*: MURKEN (1975), discutiu a possibilidade dessa formação de coagulados, que pode mesmo ocorrer no estômago dos bivalves lamelibrânquios, resultando na formação de agregados grandes demais para serem ingeridos intracelularmente pelas células tubulares do divertículo digestivo ou pelos fagócitos livres. Deste modo, a formação de coagulados iria diminuir a extensão de utilização do alimento, devendo ser possível que a energia gasta através da actividade filtradora e pelos processos a ter lugar no interior do sistema digestivo, fosse bastante superior à energia ganha em tais condições (MURKEN, 1975).

Segundo WINTER (1974) *in*: MURKEN (1975), a formação de coagulados poderá ser ultrapassada pelo fornecimento do alimento sob a forma de microcápsulas, de tamanho adequado à digestão intracelular.

Outras das explicações possíveis, já mencionada, embora não tenha sido testada, poderá ser, a deposição das partículas do lacto-soro no fundo dos tanques de cultura, não sendo desta forma possível a sua ingestão por parte dos bivalves.

Da análise bacteriológica efectuada no sistema controlo de tanques que não continham os bivalves em estudo, e aos quais foram fornecidas as mesmas concentrações de lacto-soro utilizados nos tanques com os animais presentes, verificámos o já referido por URBAN (1982), ou seja, que o soro de queijo se apresenta como um óptimo substrato para o desenvolvimento de certas bactérias. Estas, além de poderem ser uma fonte nutritiva adicional para os bivalves, podem constituir, ainda, através da produção da enzima B-galactosidase, para a utilização do soro. Com efeito, esta enzima quebra a ponte existente entre as várias moléculas de glucose e galactose que constituem o componente que, em termos quantitativos, está presente em maior percentagem de matéria seca - a lactose.

Visto terem sido analisadas as situações da presença e ausência de bivalves, aquando da análise bacteriológica efectuada, registando a dieta com a maior concentração de soro e na ausência de bivalves após dois dias de alimentação 3500000 CFU/ml e na presença destes, após igual período 11925 CFU/ml poderemos então dizer, com base nos resultados obtidos, que as bactérias deverão ter sido utilizadas por parte dos bivalves como fonte de alimentar devido à redução acentuada que se

verificou no seu número. Tal facto foi verificado quer após um ou dois dias de ter sido fornecido o lacto-soro aos bivalves, comparativamente à mesma situação nas ausências destes.

A utilização das bactérias, por parte dos bivalves, é possível segundo vários autores, devido ao facto destes possuírem lisozimas que provocam a lise do material que constitui a parede das células bacterianas (ZOBELL & FELTHAN, 1937; BERNARD, 1974; BIRKBECK & MCENSY, 1982 in: URBAN & LANGDON, 1984).

Desta forma, e nos valores de crescimento obtidos com este subproduto, deverão estar englobados não só os contributos do lacto-soro como fonte alimentar, mas também o das bactérias, que viram neste meio um óptimo substrato para o seu desenvolvimento.

São escassos os trabalhos, por parte de outros autores, que se inserem no âmbito deste estudo, tendo sido apenas encontrado um, que no entanto não foi realizado com a espécie por nós empregue. Assim, URBAN (1982), utilizou lacto-soro em pó, proveniente da indústria de laticínios, como suplemento de dietas para *Crassostrea virginica* e *Mercenaria mercenaria*. Obteve, contudo, bons resultados de incremento de peso fresco total apenas quando este foi empregue conjuntamente com uma dieta microalgal, levedura e caulino.

Devido às diferenças fisiológicas existentes entre *Tapes decussatus* e as duas espécies utilizadas pelo referido autor, não será possível efectuarmos comparações directas entre os valores de crescimento por nós obtidos, e os registados no referido trabalho.

No entanto a comparação dos resultados de crescimento obtidos com as dietas constituídas por lacto-soro em diferentes concentrações, com os do controlo em jejum, verificamos que o soro promoveu, em geral, uma manutenção do peso seco inicial da carne, tendo-se mesmo verificado ligeiras subidas de para todas as concentrações testadas. O mesmo aconteceu com os pesos frescos totais, relativamente ao jejum. Desta forma, o lacto-soro poderá ser apontado como uma ração basicamente de manutenção, ou seja, uma ração que contrabalança os gastos totais de energia tidos com o metabolismo do animal, não conduzindo, portanto, a perdas de peso. Tendo-se verificado, até, algum crescimento por parte dos bivalves com qualquer uma das concentrações testadas, tal leva a crer que, em termos energéticos, esta ração se situa acima do mínimo necessário para a manutenção do peso inicial.

A escolha do melhor teor em lacto-soro para ser combinado com a dieta microalgal que foi empregue, não foi de todo fácil, visto que e como já foi dito, as dietas com soro se apresentaram estatisticamente iguais entre si, relativamente à análise feita com base no peso seco da carne; diferenciou-se, apenas, a dieta com o menor teor em soro, das restantes, quando a análise foi efectuada com base no peso fresco total.

Desta forma, a dieta escolhida foi a D7, ou seja, a que continha 75% do teor máximo de lacto-soro utilizado, tendo essa escolha sido feita, também, com base no facto de ter sido esta a dieta que conduziu à percentagem de sobrevivência mais elevada, e a que registou, igualmente, coeficientes de crescimento com base no peso fresco total, superiores.

Se a escolha tivesse recaído nos valores de comprimento e peso seco da carne (e correspondentes coeficientes de crescimento), a dieta com o maior teor em lacto-soro teria sido escolhida, ou seja D6. No entanto, tal não aconteceu porque com esta tinha sido registado o valor mais baixo de sobrevivência, semelhante ao obtido com a dieta que continha o menor teor em lacto-soro, e que tinha conduzido aos piores resultados de crescimento.

Na 3ª experiência, e na tentativa de confirmar se os baixos resultados de crescimento obtidos com o lacto-soro utilizado isoladamente, se deviam a razões de ordem qualitativa e quantitativa, (visto e embora não tivessem sido efectuadas análises do número de partículas, a adição de microalgas à

dieta constituída por lacto-soro teria aumentado o seu número), adicionou-se à concentração de soro escolhida, a dieta microalgal empregue na 1ª experiência (1ª fase) e na 2ª, em três concentrações diferentes. Além disso, foi também possível comparar os crescimentos obtidos nos bivalves sujeitos a uma dieta constituída por lacto-soro e microalgas, com os registados quando estas duas fontes nutricionais eram empregues isoladamente.

Convém lembrar que os teores de microalgas empregues foram de 201.00 mg na dieta D2, (teor esse que correspondia ao valor óptimo de crescimento até então verificado), 50 % deste teor na dieta D3 e 25 % na dieta D4. Visto que, e como já foi referido aquando da discussão àcerca das dietas microalgais, se ter alterado, após 15 dias de experiência, as concentrações das dietas D3 e D4 para teor igual ao da dieta D2, (devido à baixa percentagem de sobrevivência observada, e aos resultados de crescimento não satisfatórios), apenas se poderão efectuar comparações entre os teores de 100.50 e 50.25 mg de microalgas fornecidas isoladamente aos bivalves e quando combinadas com lacto-soro, relativamente aos resultados da 1ª quinzena experimental. Deste modo, e da análise do único parâmetro biométrico obtido após 15 dias de experiência, o peso fresco total (tabela 33), e respectivos coeficientes de crescimento, observamos que estes registaram valores superiores quando os animais foram alimentados com uma combinação de soro e microalgas nas três concentrações testadas, relativamente aos obtidos para cada um dos componentes, quando utilizados separadamente.

Segundo EPIFANIO *et al.* (1981), quando uma dieta mista conduz a taxas de crescimento dos animais superiores às obtidas quando cada componente da dieta é utilizado isoladamente, poderemos dizer que estamos na presença de uma interacção sinérgica entre os diferentes componentes testados, o que terá acontecido neste caso.

Entre as três concentrações de microalgas utilizadas em combinação com o lacto-soro, a que conduziu a melhores resultados de crescimento foi a concentração mais elevada, 210.00 mg de microalgas, seguindo-se as duas restantes, por ordem decrescente de teor microalgal.

Os resultados obtidos parecem, desta forma, confirmar uma das razões apontadas para os baixos valores de crescimento apresentados com o lacto-soro quando usado isoladamente, a qual se relacionava com a possível ausência de ácidos gordos essenciais e/ou vitaminas na sua composição. E isto porque a adição de microalgas ao lacto-soro, as quais contêm esses nutrientes essenciais ao crescimento dos bivalves, conduziu a um incremento para todos os parâmetros biométricos determinados, relativamente aos valores obtidos quando o lacto-soro era a única fonte alimentar. No entanto, a hipótese de insuficiência quantitativa também não será de excluir, já que, como referido acima, o número de partículas alimentares terá sido aumentado na situação da dieta mista.

Da análise dos resultados finais, ou seja após 30 dias de experiência, e apenas podendo comparar a dieta mista contendo lacto-soro e microalgas no teor mais elevado, com os respectivos componentes fornecidos isoladamente, verificamos, novamente, que esta conduziu a melhores resultados de crescimento, para os três parâmetros biométricos determinados, relativamente aos obtidos com as fontes nutritivas que a constituíam separadamente. As duas restantes concentrações de microalgas combinadas com o lacto-soro, conduziram, no entanto, a coeficientes de crescimento inferiores aos obtidos com a dieta constituída pelo teor de microalgas mais elevado quando, administrado isoladamente.

Desta forma, poderemos dizer que os resultados de crescimento obtidos nas dietas combinadas, estão dependentes do teor microalgal empregue, sendo aconselhável que se suplemente o lacto-soro com o teor em microalgas óptimo para a espécie em causa, que neste caso foi de 25 % da ração microalgal máxima, calculada com base em 2.5 % do peso fresco total de bivalves por tanque.

Embora não se tenha conseguido reduzir com o lacto-soro (para as condições experimentais usadas), o teor óptimo de microalgas a ser utilizado, foi possível, no entanto, verificar que com a adição deste subproduto, o qual é economicamente viável, se obtêm resultados de crescimento

adição deste subproduto, o qual é economicamente viável, se obtêm resultados de crescimento superiores, aos registados quando a dieta microalgal é fornecida isoladamente.

4.3.3 - Borra de café

Várias foram as experiências que demonstraram que a inclusão de "silt" (lodo esterilizado) ou de caulino nas dietas microalgais fornecidas aos bivalves, favorecia o seu crescimento (MURKEN, 1976; KIORBOE *et al.*, 1980; KIORBOE *et al.*, 1981; MOHLENBERG & KIORBOE, 1981 *in* : URBAN & LANGDON, 1984).

KIORBOE *et al.* (1980) *in*: URBAN & LANGDON (1984) observou que o material inorgânico ("silt") conduzia, dentro de certas proporções, a um aumento de taxa de filtração do mexilhão *Mytilus edulis* e, logo, a um incremento na ingestão de alimento, favorecendo por isso o seu crescimento. No entanto, concentrações elevadas deste material podiam ser limitativas para o crescimento dos bivalves, visto provocarem reduções na taxa de bombagem da água e, em consequência disso, diminuições na quantidade de oxigénio fornecido às brânquias (WIDDOWS *et al.*, 1979).

URBAN & LANGDON (1984) verificaram que a adição de 80 mg de caulino a qualquer uma das dietas que utilizaram na alimentação de *Crassostrea virginica*, conduzia a um aumento de crescimento das ostras, superior ao verificado na ausência deste. Segundo os mesmos autores, o caulino deveria ter conduzido a um maior crescimento através do aumento da eficiência de digestão por parte dos bivalves.

Embora seja certo que o potencial alimentar das partículas constituintes do "silt" e do caulino pode ser considerado nulo, estas podem, indirectamente, ser nutricionalmente importantes por aumentarem a superfície de desenvolvimento das bactérias, adsorverem substâncias orgânicas dissolvidas e/ou contribuírem para a digestão através da trituração de alimento, pela acção combinada dessas partículas com a acção do estilete cristalino (HAVEN & MORALES-ALANO, 1970; MARTEIL, 1976; WINTER, 1976; URBAN, 1982).

No presente trabalho, foi utilizado um substrato pouco solúvel - borra de café, com o objectivo de determinar se este possuía, ainda, algumas potencialidades nutritivas, além de se tentar verificar se este material poderia ser, ou não, apontado como um substituto do "silt" e do caulino, dada a elevada percentagem de material dificilmente utilizável, e a sua granulimetria.

Para o efeito, adicionaram-se duas concentrações diferentes de borra de café, 5 mg /l e 2,5 mg /l, à dieta constituída por lacto-soro e microalgas que tinha conduzido aos melhores resultados. Os teores em borra foram calculados com base no teor de caulino utilizado por URBAN (1982), para as espécies de bivalves referidas acima, apesar delas serem, diferentes da empregue neste trabalho, visto não ter sido encontrada bibliografia sobre a utilização deste material para a espécie *Tapes decussatus* ou afins.

As análises estatísticas efectuadas com base nos valores de comprimento e pesos frescos totais finais, revelaram que as dietas às quais foram fornecidas quantidades diferentes de borra de café não diferiram estatisticamente uma da outra, nem do controlo (tabela 33). No entanto, a mesma análise efectuada com base no peso seco da carne, mostrou que a dieta que continha 5 mg /l de borra de café era estatisticamente diferente das outras duas ($p < 0.05$), apresentando os melhores resultados obtidos para este parâmetro, ou seja, valores de 354.9 % de ARC e de 0.050 para a taxa de crescimento relativo, enquanto que o controlo registou um valor de 274.2 % para o ARC e de 0.044 para a taxa de crescimento relativo.

A explicação para estes resultados aparentemente contraditórios, está uma vez mais relacionada com o facto da concha e das partes moles destes organismos seguirem mecanismos de crescimento diferentes (BORGES M. TEIXEIRA, 1993).

Visto a adição de "silt" ou de caulino conduzir a melhores resultados de crescimento, devido a, entre vários efeitos, promover um aumento da taxa de filtração, como já foi referido, então, e de acordo com os resultados obtidos, neste trabalho, com base no peso seco da carne, a dieta que continha 5 mg/l de borra de café deveria ser a que apresentaria a maior taxa de filtração.

Contudo, as taxas de filtração (calculadas com base nos teores microalgais presentes após o seu fornecimento e 24 horas depois), obtidas para o controlo para as dietas com 5 e 2,5 mg /l de borra de café, foram semelhantes entre si (tabela 38).

Desta forma, não poderemos concluir ter a borra de café melhorado a eficiência de filtração, e logo de ingestão da dietas usadas, verificando-se, no entanto, que esta não inibiu o crescimento dos bivalves. Também não se sabe se a eficiência de digestão foi maior, tendo por isso conduzido a um melhor resultado de crescimento em peso seco da carne. Torna-se necessário, para o efeito, recorrer a ensaios de digestibilidade, nos quais sejam determinados os teores em matéria orgânica das fezes dos animais sujeitos às várias dietas testadas, comparando-os com os teores do alimento ingerido. A presença de um menor teor orgânico nas fezes, obtido com a dieta em causa (D9) seria indicadora de que grande parte da matéria orgânica da dieta teria sido assimilada pelo animal e conduzido, por isso, a valores superiores de peso seco da carne.

Fica, desta forma, lançada uma perspectiva para ser explorada em futuros trabalhos, recomendando-se, ainda, que sejam testadas concentrações do referido subproduto superiores ao teor máximo aqui utilizado.

Por fim, pode dizer-se que, a situação de jejum conduziu, de uma maneira geral, a uma perda de peso fresco total e de peso seco da carne por parte dos animais. Registaram-se, no entanto, aumentos pouco significativos do 1º parâmetro na 1ª experiência (1ª fase), e na 3ª, os quais foram de 0.7 e 0.5 mg respectivamente. Relativamente ao peso seco da carne, este registou um aumento de 0.11 e 0.12 mg na 1ª experiência (1ª e 2ª fase), e na 2ª, respectivamente. Deste modo, visto os incrementos registados não terem sido significativos, poderemos dizer que a água do mar filtrada não suportava, por si só, o crescimento dos bivalves.

Quando se efectuam experiências laboratoriais, é útil fazer uma comparação, sempre que possível, com os resultados obtidos com animais cultivados no seu meio natural. Assim, segundo ROYO (1986) a espécie *T. decussatus* demora no meio natural (Huelva, Espanha), cerca de 6 meses, ou seja, 180 dias para passar de um tamanho de 1-2 mm para 5-6 mm.

Com o presente trabalho e em meio laboratorial, foi conseguida a redução desse período de tempo, com algumas das dietas empregues. Por exemplo, com a melhor dieta microalgal testada, bem como com a dieta composta por essa concentração e lacto-soro, foi possível passar-se, no 1º caso, de animais com comprimento inicial de 4.3 mm para 7.4 mm, e no 2º caso, de 3.7 mm para 6.1 mm, em

apenas 30 dias de cultura. VILELA (1950) refere igualmente para a espécie T. decussatus que esta demora em meio natural (Algarve, Portugal) e em condições favoráveis, nomeadamente a uma temperatura elevada, cerca de 30 dias para passar do tamanho de 2 para 7 mm.

Relativamente aos tamanhos das partículas em suspensão na água dos tanques cuja dieta adiministrada continha microalgas, verifica-se uma predominância dos tamanhos de 2.69 e 3.36 μm seguidos dos tamanhos compreendidos entre 5.38 e 6.73 μm . Embora estes tamanhos não correspondam com exactidão aos das microalgas empregues, os quais, segundo os autores referidos são de de 7 μ de diâmetro para a microalga Tetraselmis suecica (BORGES M. TEIXEIRA, 1993) e de 3 a 5 μ de largura para Phaeodactylum tricornutum (CHRETIENNOT-DINET et al., 1986), a maior frequência de partículas registada nos tamanhos de 2.69 e 3.36 μm deverão englobar a microalga de menores dimensões, e os compreendidos entre 5.38 e 6.73 μm a microalga T. suecica. A não correspondência entre os tamanhos referidos para as microalgas empregues, com os registados na análise das partículas em suspensão, poderá ser devido à fixação efectuada com lugol antes da análise, bem como, a condições de cultura diferentes das empregues pelos referidos autores.

A análise efectuada na água dos tanques que continham lacto-soro, bem como do efluente piscícola, revelaram uma maior frequência de partículas nos tamanhos de 1.35 e 2.02 μm , os quais deverão englobar não só as partículas constituintes dos dois nutirentes utilizados, bem como, bactérias que se desenvolveram nesses meios.

Do ponto de vista prático, convém por fim realçar a necessidade de se efectuarem experiências no âmbito da nutrição de bivalves, com uma duração superior a 15 dias, visto que, como foi observado na 2ª experiência (e com as dietas constituídas por lacto-soro) e na 3ª experiência, se registarem tendências de crescimento com as dietas testadas diferentes aos 15 dias, das obtidas no final do período experimental, ou seja, após 30 dias. Tal forneceu indicação de que 15 dias de experiência não serão suficientes para que possam evidenciados resultados conclusivos.

Relativamente ao melhor parâmetro de crescimento a usar em experiências deste tipo, este, e se o objectivo principal for a determinação da quantidade de matéria orgânica assimilada pelo animal quando submetido a uma determinada dieta, terá de ser, forçosamente, o peso seco da carne. Este será, evidentemente, o que mais interesse terá a nível do consumidor de moluscos bivalves. No entanto, e de acordo com a perspectiva comercial, os parâmetros comprimento e peso fresco total, os quais incluem igualmente o crescimento da concha, terão de ser, embora, erradamente os mais adequados.

Será aconselhável em futuros ensaios experimentais, em que se usem as dietas que no presente trabalho conduziram aos melhores resultados de crescimento, efectuar análises à composição bioquímica inicial e final dos indivíduos sujeitos a essas dietas, bem como às próprias dietas, visto saber-se que ocorre variações na composição bioquímica dos animais de acordo com o tipo de dieta utilizado. Essa análise deverá incidir, fundamentalmente, na composição em proteínas, carboidratos e lípidos, aconselhando-se igualmente a determinação de eficiências de conversão destes nutrientes do alimento em proteínas, carboidratos e lípidos incorporados nos animais cultivados.

Finalmente, convém referir que as dietas que conduziram aos melhores resultados de crescimento neste trabalho, deverão ser testadas novamente a uma escala comercial, antes de se poder perspectivar a sua aplicação ao nível das "hatcheries" e nurseries".

5 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no decurso do presente trabalho permitem extrair as seguintes conclusões:

- A dieta microalgal empregue constituída pelas espécies Tetraselmis suecica e Phaeodactylum tricorutum numa razão de 1:2 como peso seco, conduziu para todas as cocentrações testadas, a valores de condição superiores a 100, o que indica a presença de animais de elevada qualidade, confirmando, assim, ser esta dieta microalgal qualitativamente adequada ao crescimento destes animais.

- Considerando todas as concentrações da dieta microalgal referida que foram testadas, verificamos que a que conduziu, para os vários valores de temperatura ensaiados, aos melhores resultados de crescimento em Tapes decussatus foi a constituída por 25 % do teor máximo microalgal diário calculado com base em 2.5 % do peso fresco total de bivalves, por tanque.

- À excepção do jejum, todas as dietas testadas ao longo das três experiências efectuadas conduziram a percentagens de sobrevivência elevadas.

- O efluente piscícola utilizado, e quando empregue como única fonte nutricional para os bivalves em cultura, conduziu a resultados de crescimento praticamente nulos, embora se tenham verificado percentagens de sobrevivência de aproximadamente 89 %. O valor do índice de condição destes animais (65.6), revelou que estes apresentaram uma qualidade considerada medíocre, sendo, contudo esse valor superior ao registado com o jejum (40.2) e ligeiramente maior que o inicial (62.3).

- Os melhores valores de crescimento, bem como de sobrevivência e condição, obtidos aquando da combinação do efluente piscícola com a dieta microalgal de referência, usada em diferentes concentrações, foram devidos, na sua quase totalidade, às microalgas empregues.

- O lacto-soro proveniente do fabrico do queijo St. Paulin, quando fornecido como única fonte alimentar aos bivalves em cultura, em concentrações que equivaliam, em termos proteicos, às das rações microalgais, conduziu a baixos coeficientes de crescimento, quando comparados com os obtidos com as dietas microalgais de correspondente teor proteico. Registaram-se, contudo, percentagens de sobrevivência elevadas, as quais se situaram entre 90.5 e 96.3 %.

- Os valores dos índices de condição destes animais, para os quais se registaram valores entre 62.3 e 75.0, denotaram a existência de uma qualidade medíocre, sendo, contudo, valores bastante superiores aos obtidos no jejum (39.4) e estando ligeiramente acima do valor inicial (62.3), à excepção da menor concentração de lacto-soro usada. As quatro concentrações de lacto-soro testadas conduziram a valores finais de comprimento e peso seco da carne muito semelhantes entre si, registando-se com a dieta constituída por 75 % da ração de lacto-soro máxima a taxa de mortalidade mais baixa e o peso fresco total final mais elevado.

- O lacto-soro poderá ser utilizado como ração de manutenção, visto não conduzir a perdas de peso, verificando-se, pelo contrário, um ligeiro aumento de todos os parâmetros biométricos determinados, para qualquer das concentrações utilizadas (ARC com base no peso fresco total de 17.1 % a 33.0 %).

- A combinação de 75 % da ração de lacto-soro máxima, com a dieta microalgal de referência usada em diferentes concentrações, conduziu, em todas elas, a resultados de crescimento superiores aos obtidos quando os dois componentes eram fornecidos isoladamente. Deste modo, a interacção entre o lacto-soro e as microalgas foi do tipo sinérgico, tendo-se atingido um máximo de ARC, com base no peso fresco, de 204 %; comparativamente aos 40 % atingidos com o lacto-soro e aos 168 % obtidos com a ração microalgal.

- Os resultados obtidos com a adição de borra de café à melhor combinação de lacto-soro e microalgas usada, não foram conclusivos acerca do seu contributo para a obtenção de um melhor crescimento, sendo para o efeito necessária a realização de, por exemplo, ensaios de digestibilidade. No entanto, e com base na análise estatística efectuada aos pesos secos dos animais, a dieta constituída pelo maior teor em borra de café (5 mg/l), diferenciou-se estatisticamente do controlo e da que continha o menor teor em borra de café (2.5 mg/l), registando um valor de peso seco da carne superior ao verificado com essas duas dietas.

- Verificou-se que o efeito da temperatura estava de acordo com o usualmente descrito na literatura, ou seja, que o seu aumento até um determinado valor conduz a taxas de filtração cada vez mais elevadas e, provavelmente, a um incremento na ingestão do alimento, favorecendo por isso o crescimento. O valor de 21.62°C conduziu a uma taxa de filtração superior à obtida com a temperatura considerada óptima (18°C).

- Relativamente aos restantes parâmetros físico-químicos da água, pH, oxigénio dissolvido e salinidade, estes mantiveram-se em níveis considerados adequados para a espécie em estudo.

- A quantificação do número de bactérias heterotróficas nos tanques contendo lacto-soro em diferentes concentrações, na ausência e presença dos bivalves, permitiu supor a utilização destas como fonte alimentar por parte destes animais. Por exemplo, e para a maior concentração de lacto-soro testada, o valor de CFU/ml registado após dois dias de ter sido fornecido o alimento foi de 3.5×10^5 na ausência de bivalves, e de 1.2×10^4 na sua presença. Igualmente se verificou que o soro de queijo se apresenta como um óptimo substrato para o desenvolvimento bacteriano.

- A análise efectuada ao tamanho das partículas presentes nas rações microalgais, no efluente piscícola e no lacto-soro, quando fornecidos isoladamente, revelou que os tamanhos mais frequentes foram no 1º caso os de 2.69 e 3.36 μm , nos quais deveria estar incluída a microalga P. tricornutum seguidos dos tamanhos 5.38 e 6.73 μm , tamanhos estes próximos do apresentado pela microalga T. suecica verificando-se, para as duas últimas rações, uma maior frequência de partículas para os tamanhos mais pequenos, de 1.35 e 2.02 μm , o mesmo acontecendo com o jejum.

- A obtenção de resultados de crescimento diferentes, consoante a análise tivesse sido feita ao peso fresco total, peso seco da carne ou ao comprimento, reflectiu o facto destes animais apresentarem mecanismos diferentes para o crescimento da concha e das partes moles do corpo. É por isso aconselhável que os ensaios de crescimento não sejam apenas expressos em termos de valores de comprimentos e pesos frescos totais, os quais reflectem, sobretudo, o crescimento da concha, devendo ser igualmente considerados os pesos secos da carne. Estes são mais importantes do que os dois parâmetros biométricos anteriores, visto nos indicarem se terá havido ou não um aumento no peso seco da matéria orgânica do animal, sendo este o aumento que mais interessa considerar, em termos do consumidor de moluscos bivalves.

- A obtenção de tendências de crescimento diferentes ao fim de 15 e 30 dias de experimentação, como por exemplo, o observado na 2ª experiência com as dietas constituídas por lacto-soro, realça a necessidade de se efectuarem experiências no âmbito da nutrição de bivalves com uma duração superior a 15 dias.

6 - BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, M. R. & DOUGAN, J., 1989 - Waste Products. In: Coffee. Vol. 2. CLARKE, R. Y. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science Publishers Ltd.
- ALBENTOSA, M., NAESSENS, E., LEGER, P., COUTTEAU, P., LAVENS, P. & SORGELOOS, P., 1989 - Promising results in the culturing of the manila clam Tapes semidecussata with a manipulated yeast product as a partial substitute for algae. International Aquaculture Conference Bordeaux, France, 24 Oct. 1989. EAS Special Publication, 10 :7 - 8.
- BORGES, M. T. M., 1984 - Primeiros ensaios de engorda de berbigão (Cerastoderma edule) em salinas da região de Aveiro. Instituto de Zoologia "Dr. Augusto Nobre". Faculdade de Ciência da Universidade do Porto. Porto.
- BORGES, M. T., 1989 - Sobre a nutrição de moluscos bivalves em cultura controlada, com especial referência aos aspectos qualitativos. Série "Monografias" nº3. Instituto de Zoologia "Dr. Augusto Nobre". Universidade do Porto. Porto.
- BORGES M. TEIXEIRA, M. T., 1993 - Nutrição da ameijoia boa *Tapes decussatus* (Linnaeus, 1775) com diferentes dietas microalgais: crescimento, sobrevivência, composição bioquímica e alguns aspectos do metabolismo energético. Dissertação de Doutoramento em Biologia apresentado à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Porto.
- BORGES, M. T., ANTUNES, A. & ALMEIDA, R., 1995 - Preliminary assessment of an artificial diet for juveniles of the European Clam Tapes decussatus (L.). Actas Vº Congresso Nacional de Acuicultura. Sant Carles de la Ràpita 10 - 13 / Mayo / 1995. p: 210 - 214.
- CAMACHO, A. P., 1980 - Biología de Venerupis pullastra (MONTAGU, 1803) y Venerupis decussata (LINNE, 1767) (MOLLUSCA BIVALVIA), con especial referencia a los factores determinantes de la producción. Bol. Inst. Espa. Oceanog., 281 (5): 43 - 76.
- CHRETIENNOT - DINET, M. J., ROBERT, R. & HIS, E., 1986 - Utilisation des "Algues- fourrage" en aquaculture. Ann. Biol. - T. XXV. Fasc. 2.
- CLARKE, R. J., 1989 - Water and Mineral Contents. In: Coffee. Vol. 1. CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science Publishers Ltd.
- COUTTEAU, P., LAVENS, P., LÉGER, PH. & SORGELOOS, P., 1990 - Manipulated yeast diets as a partial algal substitute for rearing bivalve molluscs: laboratory trials with Tapes semidecussata. 21st Annual Meeting World Aquaculture Society, June 10 - 15, 1990, Halifax, Canada.
- COUTTEAU, P. & SORGELOOS, P., 1992 - The use of algal substitutes and the requirements for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve: an internacional survey. J. Shellfish Research, 2: 467-476.

EPIFANIO, C. E., SRNA, R. & PRUDER, G., 1975 - Mariculture of shellfish in controlled environments: a prognosis. Aquaculture, 5: 227-241.

EPIFANIO, C. E. & MOOTZ, C. A., 1976 - Growth of oysters in a recirculating maricultural system. Proceed. Nat. Shellfish Association, 65: 32 - 37.

EPIFANIO, C. E., 1979 - Comparasion of yeast and algal diets for bivalve molluscs. Aquaculture, 16 (3): 187 - 192.

EPIFANIO, C. E., VALENTI, C. C. & TURK, C. L., 1981 - A comparision of Phaeodactylum tricornutum and Thalassiosira pseudonana as food for the oyster, Crassostrea virginica. Aquaculture, 23: 347-353.

FABREGAS, J., HERRERO, C., ABALDE, J. & CABEZAS, D., 1985 - Growth chlorophyll and protein of the marine microalga Isochrysis galbana in batch cultures with different salinities and nutrient concentration. Aquaculture, 50: 1-11.

FERNÁNDEZ - REIRIZ, M. J., 1989 - Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. Aquaculture, 83: 17 - 37.

FOLSTAR, P., 1989 - Lipids. In: Coffee. Vol. 1. CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science Publishers ltd.

GERDES, D., 1983 - The pacific oyster Crassostrea gigas. Part. I. Feeding behaviour of larvae and adults. Aquaculture, 31: 195-219.

GUERRERO, S. & OTERO, X., 1991 - Clam nursery (Tapes decussatus) in the effluent of a fish farm in Ria de Arosa, Spain. EAS Special Publication, nº14.

HAINES, K. C., 1973 - A rapid technique for recording sizes of juvenile Pelecypod Molluscs. Aquaculture, 1: 433.

HARRISON, C., 1975 - The essential amino acids of Mytilus californiacus. Veliger, 18: 189-193.

HAVEN, D. S. & MORALES-ALANO, R., 1970 - Filtration of particles from suspension by the american oyster Crassostrea virginica. Biol. Bull., 139: 248-264.

HERRERO, C., REIRIZ, S., TORRES, E., CID, A. & FIDALGO, P., 1993 - Eficiencia de crecimiento y conversión del alimento de semilla de Mejillon com diferentes dietas microalgales. Actas IV Congreso Nac. Acuicultura. P. 383 - 388.

JARA- JARA, R., ABAD, M., RUIZ, C. M. & SANCHEZ, J. L., 1995 - Utilizacion de agua residual proveniente du cultivo de rodaballo (Psetta maxima L.) para el crecimiento de la almeja Babosa (Venerupis pullastra M.). Actas del Vº Congreso Nacional de Acuicultura. Sant Carles de la Ràpita,

10-13 Mayo, 1995. CASTELLÓ i ORVAY, F. & CALDERER i REIG, A. (Eds.). Publicacions Universitat de Barcelona, pp: 276 - 281.

KAUFMANN, H. P. & HAMSAGAR, R. S., 1962 - Lipids. In: Coffee. Vol. 1. CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science Publishers Ltd.

KIORBOE, T., MOHLENBERG, F. & NOHR, O., 1981 - Effect of suspended bottom material on growth and energetics of Mytilus edulis. Marine Biology, 61: 283 - 288.

KOROLEFF, F., 1983 - Determination of ammonia. In: Methodes of seawater analysis. 2nd ed. GRASSOFF, K., EHRHARDT, M. & KREMHING, K. (Eds.).

KUKENTHAL, W., MATTHES, E. & RENNER, M., 1986 - Guia de trabalhos práticos de Zoologia. Almedina Coimbra.

LAING, I., UTTING, S. D. & KILADA, R. W. S., 1987 - Interactive effect of diet and temperature on the growth of juvenile clams. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 113: 23 - 38.

LANGTON, R. W. & WINTER, J. E., 1975 - Feeding experiments with Mytilus edulis L. at small laboratory scale. I. The influence of the total amount of food ingested and food concentration on growth. 10 th European Symposium on Marine Biology. Ostend, Belgium .Vol.1: 565 - 581.

LANGDON, C. J. & WALDOCK, M. J., 1981 - The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of Crassostrea gigas spat. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 61: 431-448.

LANGDON, C. J. & SIEGFRIED, C. A., 1984 - Progress in the development of artificial diets for bivalve filter feeders. Aquaculture, 39: 135 - 153.

LIAO, P. B. & MAYO, R. D., 1984 - Intensified fish culture combining water reconditioning with pollution abatement. Aquaculture, 3 : 61 -85.

LOOSANOFF, V. L. & ENGLE, J. B., 1947 - Effect of different concentration of microorganisms on the feeding of oysters (Ostrea edulis). Fishery Bulletin 42. Fishery Bulletin of the Fish and Wild Life Service, Volume 51, 30-57.

LUQUET, F. M., 1985 - Leites, queijos e produtos derivados. Vol. 2. Coleção Euro-Agro. Publicações Europa-América.

MACRAE, R., 1989 - Carbohydrates. In: Coffee. Vol.1. CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science publishers Ltd.

MANN, R. & RYTHER, J. H., 1977 - Growth of six species of bivalve molluscs in a waste recycling-aquaculture system. Aquaculture, 11: 231- 245.

MANN, R. & GLOMB, S. J., 1978 - The effect of temperature on growth and ammonia excretion of the manila clam Tapes japonica. Estuarine and Coastal Marine Science, 6: 335-339.

MARTEIL, L., 1976 - La conchyliculture française (2.ème Partie). Biologie de l'huître et de la moule. Rev. Trav. Inst. Pêches Marit. 40 (2): 125 - 320.

MARTIN, J. P., 1976 / 1978 - Importance des bactéries chez les mollusques bivalves. Haliotis, 7: 97 - 103.

MARTIN, J. P., & MENGUS, B. M., 1977 - Utilisation des souches bactériennes sélectionnées dans l'alimentation des larves de Mytilus galloprovincialis LMK (mollusque bivalve) en élevages expérimentaux. Aquaculture, 10: 253 - 263.

MORGEM, A., 1918 - Waste Products. In: Coffee. Vol. 2. CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science Publishers Ltd.

MUÑOZ, J. L., SANCHEZ - LAMADRID, A., SAAVEDRA, A. & CÁRDENAS, S., 1995 - Cultivo asociado de almeja japonesa (Ruditapes phillipinarum Reeve) y dorada (Sparus aurata L.) en estanques con circuito semicerrado. Actas del Vº congreso Nacional de Acuicultura. Sant Carles de la Ràpita, 10-13 Mayo, 1995. CASTELLÓ i ORVAY, F. & CALDERER I REIG, A. (Eds.). Publicaciones Universitat de Barcelona, pp: 282 - 287.

MURKEN, J., 1975 - Feeding experiments with Mytilus edulis L. at small laboratory scale. III. Feeding of waste organic products from the fish industry of Bremerhaven as a means of recycling biodegradable wastes. 10th European Symposium on Marine Biology. Ostend, Belgium Sept 17-23. Vol. 1 : 273-284.

NELL, J. A. & O CONNOR, W. A., 1991 - The evaluation of fresh algae and stored algae concentrates as a food source for sydney rock oyster, Saccostrea commercialis (Iredade of Ronghley). Aquaculture, 99 (3-4): 325- 334.

PARSONS, T. R., STEPHENS, K. & STRICKLAND, J. D. M., 1961 - On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. J. Fish. Res. Bd. Canada, 18 (6): 1001 - 1016.

PÉQUIGNAT, E., 1973 - A kinetic and autoradiographic study of the direct assimilation of amino acids and glucose by organs of the mussel Mytilus edulis. Marine Biology, 19 (3): 227 - 244.

PICTET, G., 1989 - Home and cafering brewing of coffee. In: Coffee. Vol. 2. CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science Publishers Ltd.

PILLAY, T. V. R., 1992 - Aquaculture and the enviromment. Fishing News Books, Oxford, UK, 189 p.

ROYO, A. R., 1986 - Estudio sobre el cultivo de Ruditapes decussatus (LINNE 1758) MOLLUSCA, BIVALVIA, en la zona intermareal de la provincia de Huelva. Tesis Doctoral, Fac. Biol. Univ. Sevilla.

- RYCHLY, J., 1980 - Nitrogen balance in trout. I. Digestibility of diets containing varying levels of protein and carbohydrate. Aquaculture, 16 (1): 39 - 46.
- SANTOS, T., 1994 - Técnicas de análise bacteriológicas em águas. Relatório de estágio profissionalizante. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Porto.
- SCHULTE, E. H., 1975 - Influence of algal concentration and temperature on the filtration rate of Mytilus edulis. Mar. Biol., 30: 331-341.
- SHPIGEL, M. & FRIDMAN, R., 1990 - Propagation of the Manila Clam (Tapes semidecussatus) in the effluent of fish aquaculture ponds in Eilat, Israel. Aquaculture, 90: 113 - 122.
- STEFFENS, W., 1987 - Principios fundamentales de la alimentación de los peces. Acribia, Zaragoza.
- STEPHENS, G. C. & MANAMAN, D. T., 1984 - Technical advances in the study of nutrition of marine molluscs. Aquaculture, 39 (1 - 4): 155 - 164.
- STRICKLAND, J. D. H. & PARSONS, T. R., 1972 - A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada, 167 (2nd Ed.), Ottawa, Ont., 310 pp.
- TENORE, K. R. & DUNSTAN, W. M., 1973 - Comparison of feeding and biodeposition of three bivalves at different food levels. Mar. Biol., 21: 605-621.
- THOMPSON, R. J. & BAYNE, B. L., 1972 - Active metabolism associated with feeding in the mussel Mytilus edulis L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 9: 111-124.
- THOMPSON, R. J. & BAYNE, W. M., 1974 - Some relationships between growth, metabolism and food in the mussel Mytilus edulis. Marine Biology, 27: 317-326.
- TRUGO, L. C., 1989 - Carbohydrates. In: Coffee. Vol. 1. CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Eds.). Elsevier Science Publishers Ltd.
- UKELES, R., 1971 - Nutritional requirements in shellfish culture. In: Proc. Conf. Artificial Propagation of Commercial Valuable Shellfish. PRICE, K. S. & MAURER, D. L. (Eds.). College of Marine Studies. Univ. Delaware, Newark, Delaware. 212 p.
- URBAN, E. R., Jr., 1982 - Non-algal supplements in the diets of *Crassostrea virginica* GMELIN and *Mercenaria mercenaria* L. M. Se Thesis, Univ. Delaware, 79 pp.
- URBAN, E. R., Jr. & LANGDON, C. J., 1984 - Reduction in costs of diets for the American Oyster Crassostrea virginica (GMELIN), by the use of non- algal supplements. Aquaculture, 38: 277 - 291.
- VILELA, H., 1950 - Vida bentónica de Tapes decussatus L. Travaux de la Station de Biologie Maritime de Lisbonne, N° 53.
- WALNE, P. R., 1970 - Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera Ostrea, Crassostrea, Mercenaria and Mytilus. Fishery Invest., London, Ser. II, 25: (4). 53p.

WALNE, P. R., 1974 - Culture of bivalve molluscs. 50 years' experience at Conwy. Fishing News Books Ltd., West Byfleet, Great Britain. 173 p.

WALNE, P. R. & MANN, R., 1975 - Growth and biochemical composition in Ostrea edulis and Crassostrea gigas. Proc. 9th Europ. Mar. Biol. Symp., 587 - 607.

WEBB, K. L. & CHU, F.- L. E., 1981 - Phytoplankton as a food source for bivalve larvae. Proc. Delaware Conf. on Nutricion, Oct. 1981.

WIDDOWS, J., FIETH, P. & WORRALL, C. M., 1979 - Relationships between seston, available food and feeding activity in the common mussel Mytilus edulis. Marine Biology, 50: 195-207.

WILLOUGHBY, M., LARSEN, M. N. & BOWEN, J. T., 1972 - The pollution effects of fish hatcheries. Amer. Fishes & U.S. Trout News, 17 (3): 6 - 7, 20 - 1.

WINTER, J. E., 1970 - Filter feeding and food utilization in Arctica islandica L. and Modiolus modiolus L. at different food concentrations. In: Marine food chains, pp 196-206. Ed. by J. H. Ittekk. Berkeley: University of California Press.

WINTER, J. E., 1973 - The filtration rate of Mytilus edulis and its dependence on algal concentrations, measure by a continuous automatic recording apparatus. Mar. Biol., 22 (4): 317-328.

WINTER, J. E., 1974 - Growth in Mytilus edulis using different types of food. Ber. dt. Wiss. Komm. Meeresforsch, 23: 360-375.

WINTER, J. E., 1975 - Feeding experiments with Mytilus edulis L. at small laboratory scale. II. The influence of suspended silt in addition to algal suspensions on growth. 10 th European Symposium on Marine Biology. Ostend, Belgium Sept. 17-23. Vol. 1: 583-600.

WINTER, J. E., 1978 - A review on the knowledge of suspension feeding in lamellibranchiata bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. Aquaculture, 13: 1 - 33.

Legislação:

Decreto-Lei 468/71 de 5 de Novembro

- Regime jurídico do domínio público hídrico. Distinção entre propriedade pública e privada.
- Direito do uso privado de qualquer domínio público mediante a atribuição de licenças ou concessões
- Art. 19º - Aproveitamento de salinas para outras actividades

Decreto-Lei 747/86 de 16 de Dezembro - Normas de licenciamento de aquacultura em águas interiores

Decreto-Lei 11/87 de 7 de Abril - Lei de Bases do ambiente

Decreto-Lei 254/87 de 24 de Junho - Diploma que regulamenta as condições gerais de instalação e exploração de mariculturas

Decreto-Lei 278/87 de 7 de Julho

Art. 11º Regime de autorização dos estabelecimentos de cultura marinhos

Art. 12º Concessão e licenciamento de terrenos do domínio público para culturas marinhas