



Estágio na Aquacultura Safiestela

Avaliação do Grau de Parentesco entre Reprodutores e Descendência na Fase Final de Produção de Linguado (*Solea senegalensis*)

Daniel Filipe Garrido Gavina

Mestrado em Recursos Biológicos
Aquáticos

Departamento de Biologia

2017

Orientador

Maria Helena Peres, Investigadora, CIIMAR



U. PORTO

FC FACULDADE DE CIÊNCIAS
UNIVERSIDADE DO PORTO

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

O Presidente do Júri,

Porto, ____ / ____ / ____

M

S

R

Índice

Índice de Figuras.....	1
Índice de Tabelas.....	3
Sumário.....	4
Abstract.....	6
1. Introdução.....	8
1.1. Aquacultura no Mundo.....	8
1.2. Aquacultura em Portugal.....	13
1.3. A espécie <i>Solea senegalensis</i> (Kaup, 1858).....	16
1.3.1. Descrição da Espécie.....	16
1.3.2. Aquacultura e Capturas.....	18
1.3.3. Custos de Produção.....	21
1.3.4. Mercados e Rentabilidade.....	22
2. Safiestela (Sea8).....	25
2.1. Sistema de Recirculação de Água (RAS).....	26
2.2. Reprodutores e Seu Maneio.....	39
2.3. Ovos e Larvas.....	41
2.4. Cultivo de Rotíferos.....	45
2.5. Cultivo de Artémia.....	47
2.6. Desmame.....	49
2.7. Pré-Engorda.....	52
2.8. Controlo de Qualidade de Água.....	53
3. Ensaio – Avaliação do Grau de Parentesco entre Reprodutores e Descendência na fase final de produção de linguado (<i>Solea senegalensis</i>).....	54
3.1. Introdução.....	59
3.2. Metodologia.....	56
3.3. Resultados.....	61
3.4. Discussão de Resultados.....	68
4. Conclusão.....	71
5. Referências Bibliográficas.....	72

Índice de Figuras

Figura 1: Produção Mundial de Peixe por Pesca e por Aquacultura (FAO, 2016).

Figura 2: Utilização e Provisão de Peixe a Nível Mundial (FAO, 2016).

Figura 3: Comparação entre Capturas e Aquacultura Mundial na produção total de pescado (FAO, 2016)

Figura 4: Contribuição da Aquacultura para a Total Produção de Pescado (FAO, 2016).

Figura 5: Espécies Produzidas em Aquacultura (FAO, 2017).

Figura 6: Produção de Aquacultura Nacional (INE, 2017)

Figura 7: Estrutura do Volume de Produção em Aquacultura por espécie (2014/2015) (INE, 2017).

Figura 8: Número e área dos estabelecimentos de aquacultura (INE, 2017).

Figura 9: Estabelecimentos de Aquacultura em Portugal (2015) (INE, 2017).

Figura 10: Produção por Aquacultura por tipo de água e regime (INE, 2017).

Figura 11: *Solea senegalensis* (FAO).

Figura 12: Produção de Linguado pela Aquacultura (t- tonelada (tonne)) (Bjorndal *et al*, 2016)

Figura 13: Biomassa do Stock de Reprodutores e Capturas de Linguado, 1990-2013 (Bjorndal *et al*, 2015).

Figura 14: Produção por Captura de Linguado no Nordeste, Centro-Este Atlântico e Mediterrâneo (1990-2012) (Bjorndal *et al*, 2016).

Figura 15: Os 10 Países Cujos Valores de Captura de Linguado são Maiores (Bjorndal *et al* 2015).

Figura 16: Preço Médio por Ano de Linguado Fresco Médio, Grande e Pequeno, Peixe Fresco de Cultura e Peixe Congelado. MercaMadrid 2002-2013 (Bjorndal *et al*, 2016).

Figura 17: Unidade de Aquacultura Safiestela (Sea8).

Figura 18: Alguns Parâmetros que Afetam o Bem-Estar do Peixe Assim Como o Seu Crescimento (Bregnballe, 2015).

Figura 19: Sistema Básico de Recirculação de Água (Bregnballe, 2015).

Figura 20: Tanque Circular, Tipo *Raceway* e tipo *D-Ended Raceway* (Bregnballe, 2015).

Figura 21: Filtro de Tambor Rotativo na Safiestela (Sea8).

Figura 22: Filtros Mecânicos: Filtro de Areia (na frente) e Protein Skimmer (no fundo; coluna azul) (Sea8).

Figura 23: Relação Entre pH e a Quantidade de TAN Disponível para Degradação no Biofiltro Baseando-se Numa Concentração de Amónia Tóxica de 0,02 mg/L (Bregnballe, 2015).

- Figura 24:** Biofiltro Móvel (esquerda), Biofiltro Fixo (direita) (Bregnballe, 2015).
- Figura 25:** Biofiltro móvel utilizado na Safiestela (Sea8).
- Figura 26:** Cone de Dissolução de Oxigénio Puro e Sensor de Níveis de Oxigénio (Bregnballe, 2015).
- Figura 27:** Sala de Reprodutores Autumn. Fotografia tirada por Daniel Gavina.
- Figura 28:** Sala de Cultivo Larvar. Fotografia tirada por Daniel Gavina.
- Figura 29:** Larvas em tanque utilizado para cultivo larvar. Fotografia tirada por Daniel Gavina.
- Figura 30:** Parâmetros Ambientais da Desova e Variação de Tamanho para Larvas Recém-Eclodidas (Dinis e Sarasquete, 1999).
- Figura 31:** Curvas de Crescimento de Larvas *Solea Senegalensis* - Peso (A) e Comprimento (B) (Dinis e Sarasquete, 1999).
- Figura 32:** Ciclo de Vida de *Brachionus plicatilis* (FAO, 1996).
- Figura 33:** Tanque de cultura de Rotíferos (Sea8).
- Figura 34:** Tanques na sala de cultivo larvar: artémia em incubação (esquerda) e artémia em enriquecimento (direita). Foto tirada por Daniel Gavina.
- Figura 35:** Tanque de fundo raso na sala de desmame (Sea8).
- Figura 36:** Desmame de *Solea senegalensis* – Crescimento em Peso (A) e Comprimento (B) (Dinis e Sarasquete, 1999).
- Figura 37:** Sala de desmame (Sea8).
- Figura 38:** Triagem dos indivíduos em desmame (Sea8).
- Figura 39:** Sala de pré-engorda (Sea8).
- Figura 40:** Heredograma de uma geneologia com primos em primeiro grau (III-1 e III-2) (Beiguelman, s.d.).
- Figura 41:** Uso de marcadores moleculares para obtenção de linhagens melhoradas (Dias e Mariano, 2013).
- Figura 42:** Multiplex 1 e 2 e microssatélites utilizados na genotipagem.
- Figura 43:** Distribuição do coeficiente de parentesco.

Índice de Tabelas

Tabela 1: Quantidade de Produção de Recurso por Continente e Grupo de Espécie Através da Aquicultura “Inland” e Maricultura (FAO, 2017).

Tabela 2: Produção de aquicultura em águas interiores e oceânicas por tipo de água e regime, segundo as espécies (INE, 2017).

Tabela 3: Comparação do grau de recirculação a diferentes intensidades e respetivo consumo de água “nova” (Bregnballe, 2015).

Tabela 4: Tabela de alimentação e composição da ração utilizada na Safiestela no desmame e pré-engorda (Skretting).

Tabela 5: Efeito da Temperatura na Ação Reprodutiva de *Brachionus plicatilis* (FAO, 1996).

Tabela 6: Intervalos Preferíveis para Diferentes Parâmetros de Qualidade de Água, Químicos e Físicos num Sistema de Recirculação de Água (Bregnballe, 2015).

Tabela 7: Exemplo de matriz de parentesco com o código de cores em utilização indicando os cruzamentos recomendados (verde).

Tabela 8: Valores médios do coeficiente de parentesco dentro e entre cada uma das salas de reprodutores, identificadas pelo nome de cada estação do ano.

Tabela 9: Percentagem de relações de parentesco dentro de cada sala de reprodutores, identificadas pelo nome de cada estação do ano. (UR – Unrelated, Não relacionados; HS – Half Sibling, Meio-irmão; FS – Full Sibling, Irmão).

Tabela 10: Número e percentagem de descendentes por cada cruzamento entre reprodutores da sala de Outono.

Tabela 11: Número e percentagem de descendentes por fêmeas e machos da sala de Outono.

Tabela 12: Análise da relação entre cruzamentos de reprodutores da sala de Outono e tamanho da descendência (G- cabeças; M – médios; P – caudas) para o lote SE1510.

Tabela 13: Número e percentagem de descendentes por cada cruzamento entre reprodutores da sala de Verão.

Tabela 14: Número e percentagem de descendentes por fêmeas e machos da sala de Verão.

Tabela 15: Análise da relação entre cruzamentos de reprodutores da sala de Verão e tamanho da descendência (G- cabeças; M – médios; P – caudas) para o lote SE1509.

Tabela 16: Número e percentagem de descendentes por cada cruzamento entre reprodutores das salas de Outono e Inverno.

Tabela 17: Número e percentagem de descendentes por fêmeas e machos da sala de Outono e Inverno.

Tabela 18: Análise da relação entre cruzamentos de reprodutores da sala de Outono e Inverno e tamanho da descendência (G- cabeças; M – médios; P – caudas) para o lote SE1503.

Sumário

A aquacultura é uma indústria que tem registado um crescimento contínuo, adquirindo maior importância nas últimas décadas, face ao declínio das capturas de pescado e ao aumento da procura mundial por este recurso. Considerando o esperado aumento desta procura com o contínuo aumento da população, a indústria aquícola ganha um papel preponderante na produção de pescado disponível para consumo humano. A prática desta atividade com vista à produção de Linguado senegalês - *Solea senegalensis* é atualmente muito rentável, uma vez que fornece uma margem de lucro confortável e promove uma diversificação dos produtos de aquacultura, contribuindo para a não saturação dos mercados. Além disso, o facto de a sua produção não estar tão disseminada como a de outras espécies, reduz a competição.

Em Portugal, a empresa líder na produção de linguado senegalês é o grupo Sea8 que se dedica, desde 2012 à produção desta espécie em regime intensivo. Esta empresa tem a capacidade de controlar e dominar todo o ciclo de vida deste organismo, possuindo duas unidades de produção que compreendem fases do ciclo de vida diferentes: a Safiestela, unidade de maternidade situada na Póvoa de Varzim e a Aquacria, unidade de engorda, crescimento e comercialização, localizada na Torreira. A unidade Safiestela utiliza sistemas de alta tecnologia e de recirculação de água que potencia significativamente a eficiência de produção com menor impacto ambiental.

Durante o estágio foi desenvolvido um ensaio experimental inserido no projeto REPLING do grupo Sea8. O projeto REPLING tem como fim otimizar o desempenho dos reprodutores, a qualidade e performance das larvas e juvenis de linguado, através do aperfeiçoamento dos métodos de reprodução do linguado em condições reais de produção. O ensaio experimental consistiu na avaliação do grau de parentesco entre reprodutores pertencentes ao stock da Safiestela e da relação parental entre estes e a sua descendência presente nas fases finais de produção. O objetivo primordial foi averiguar não só o contributo de cada reprodutor para a descendência nas épocas reprodutivas, mas também determinar a relação entre os reprodutores e o crescimento e tamanho final da descendência ao atingir a fase final de produção. Para tal procedeu-se à genotipagem de 287 reprodutores e de 990 linguados em fase final de produção.

No fim do ensaio, e de acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que os reprodutores da mesma sala de reprodução apresentam percentagens na ordem dos 20% relativos a cruzamentos endogâmicos ou consanguíneos. Foi também verificado que há um número restrito de progenitores que contribuem com maior percentagem para o ciclo reprodutivo, não havendo relação entre um grupo específico de reprodutores e os linguados que terminam o ciclo de produção com maior tamanho. Este estudo contribuirá para a caracterização genética dos reprodutores, ferramenta essencial para a otimização do stock de reprodutores da empresa, de modo a que haja uma alta qualidade e eficiência da fecundação e postura.

Palavras-Chave: Aquacultura, Descendência, Genotipagem, Reprodutores, Safiestela, *Solea senegalensis*.

Abstract

Aquaculture is an industry that has been growing steadily, becoming more important in recent years due to declining catches of fish and increasing world demand for it. Considering that this demand will continue to increase with the continuous increase in population, aquaculture is becoming a major industry and contributes more and more to the total fish available for human consumption. The aquaculture production of Senegalese sole - *Solea senegalensis* is currently very profitable, since it provides a comfortable profit margin, contributing to aquaculture diversification and to alleviate the markets saturation. Moreover, the fact that its production is not as widespread as of other species reduces competition.

In Portugal, the leading company of Senegalese sole production is the Sea8 group that has been dedicated since 2012 to the production of this species in an intensive regime. This company has the capacity to control and dominate the whole life cycle of this organism, having two production units that comprise different phases of the life cycle: Safiestela, a maternity unit located in Póvoa de Varzim and Aquacria, the on-growing unit, where the fish are further grown and commercialized, located in Torreira. The Safiestela unit uses high technology and water recirculation system that significantly enhances its productivity and efficiency with reduced environmental impact.

During the internship an experimental trial was performed, integrated in the REPLING project of the Sea8 group. The purpose of the REPLING project was to optimize breeding performance and the quality and performance of juvenile and sole larvae by improving methods for the reproduction of sole under real production conditions. This study aimed to evaluate the relationship between breeders belonging to the Safiestela stock and between them and the offspring present in the final stages of production in order to ascertain not only the contribution of each breeder to offspring production during reproductive periods, but also the relation between the breeders and the offspring's growth and size at the final stages of production. For this purpose, the genotyping of 287 breeders and 990 soles in the final stage of production was carried out.

At the end of the trial and according to the results obtained, it was concluded that the reproducers of the same photoperiod present in Safiestela have percentages of crosses between them that refer to inbred encounters, that the genetics of the

reproducers that are part of the sample have no relation with the sizes attainable by their offspring and that there are a restricted number of progenitors that contribute a higher percentage to the reproductive cycle, making it important to reorganize and select the reproductive organisms so that there is a high quality and efficiency of fertilization and posture.

Key Words: Aquaculture, Broodstock, Genotyping, Offspring, Safiestela, *Solea senegalensis*.

1. Introdução

1.1. Aquacultura no Mundo

A aquacultura, atividade que tem como objetivo a criação e produção de organismos aquáticos com recurso a técnicas que visam a otimização e criação dos mesmos, tem vindo a crescer consideravelmente nas últimas décadas e continua a fazê-lo, revelando extensos benefícios sociais e económicos e produzindo maioritariamente pescado com o fim de consumo humano (DGRM, 2013; FAO, 2016).

O peixe é um recurso de grande importância, qualquer que seja a sua origem. É acessível a todas as classes económicas da sociedade e apresenta elevadíssimo valor nutricional para a saúde humana, fornecendo vitamina A, ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa e proteína de elevado valor biológico que ajudam a reduzir doenças cardiovasculares, traduzindo-se numa melhoria no estado de saúde em fases críticas como a infância e gravidez, o que revela o potencial deste recurso para melhorar a saúde e nutrição humana (FAO; 2015, 2016). A procura por este recurso tem também vindo a aumentar, resultado de vários fatores, incluindo o acelerado crescimento populacional e monetário e a melhor utilização e aperfeiçoamento de linhas de distribuição de pescado pelo mercado internacional (Figura 1). De facto, o crescimento da produção total de pescado para consumo (aquacultura e capturas) tem vindo a aumentar a um rácio superior ao crescimento populacional (3.2% vs. 1.6% ao ano, no período de 1961-2013; FAO; 2016). Com o crescimento anual na prática de aquacultura a atingir os 6.6%, espera-se que esta atividade venha a ter um papel cada vez mais fulcral no fornecimento de pescado que vá de encontro à demanda mundial (Figura 2). Entre 2001 e 2015, os continentes que registaram maior aumento na sua produção em aquacultura foram a África (10,4%) e a Ásia (6%), seguidos pela Oceânia (2.9%) e Europa (2,5%) (FAO, 2017). Estima-se que a produção de peixe em aquacultura deverá duplicar em 2030 para se satisfazer a procura mundial (FAO; 2014, 2015).

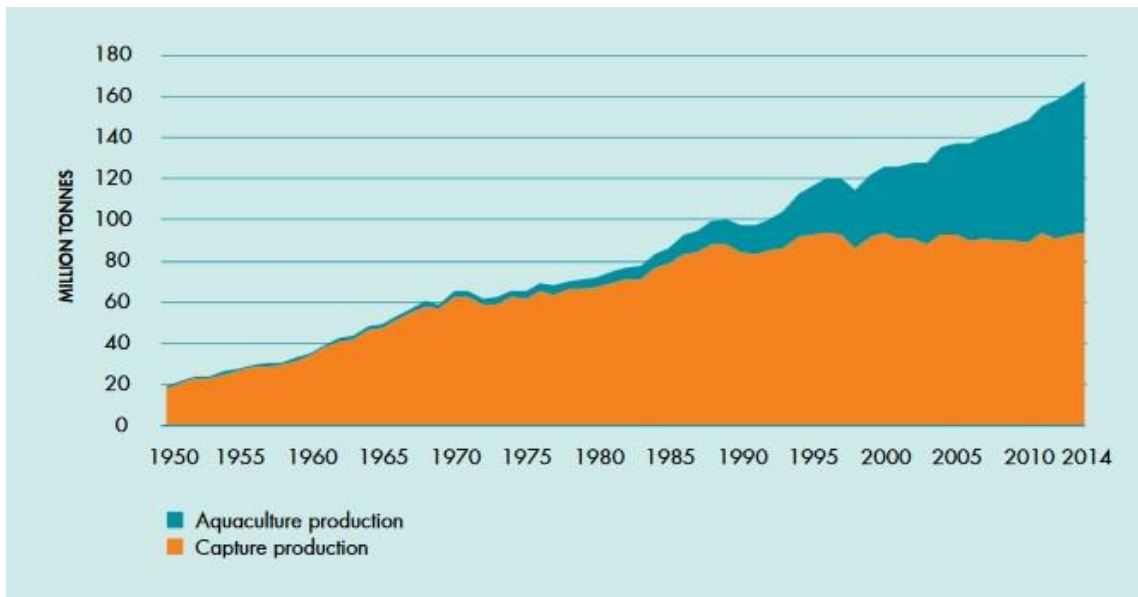


Fig.1 – Produção Mundial de Pescado por Pesca e Aquicultura (FAO, 2016).

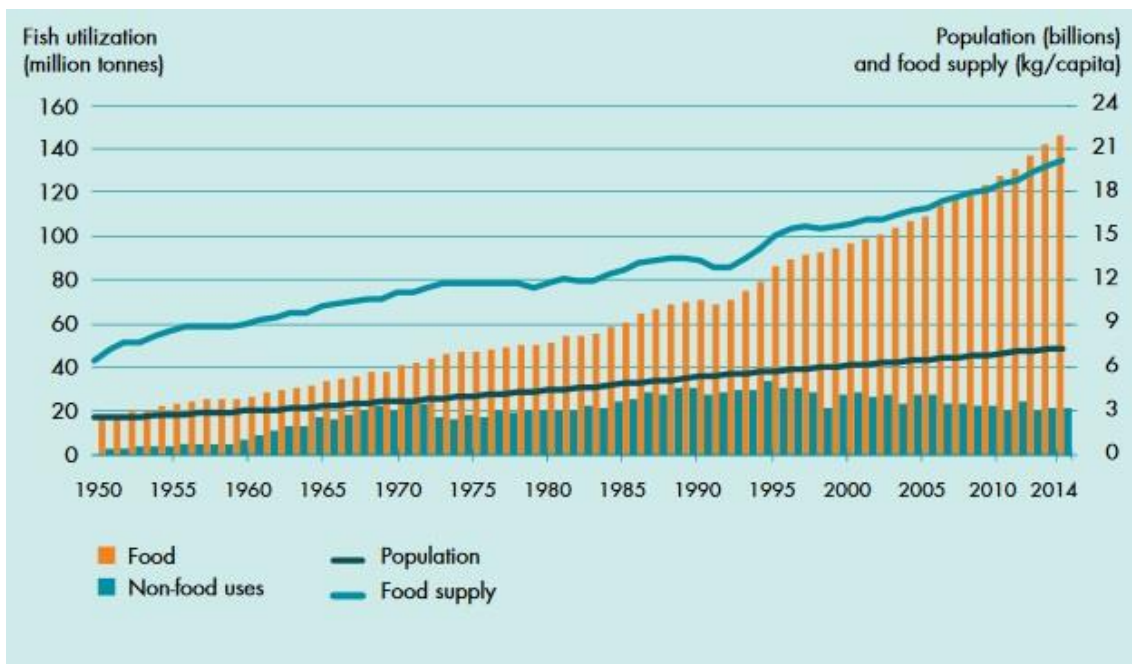


Fig.2 – Utilização e Provisão de Peixe a Nível Mundial (FAO, 2016).

Segundo a FAO, a aquicultura atingiu um nível de produção de cerca de 106 milhões de toneladas em 2015, um aumento de 15,6 milhões desde 2012, sendo que 76,6 milhões de toneladas corresponderam à produção de pescado (+10 Mt desde

2012) e 29,4 milhões de toneladas corresponderam à cultura de algas aquáticas (+5,4 Mt desde 2012). Esta atividade tem vindo a aumentar a sua importância na contribuição para o suprimento global de pescado, afirmação corroborada pelo facto de a aquacultura ter contribuído em 2015 com 45,3% do total de pescado obtido (capturas e aquacultura), um aumento significativo comparativamente ao valor registado 15 anos antes (25,7%) (Figura 3) (FAO, 2017). A Ásia tem sido o continente que mais contribui para os valores registados de aquacultura no mundo, registando 52% de produção proveniente de aquacultura, seguida da Europa nos meros 18% e dos outros continentes (abaixo dos 18%) (Figura 4 e Tabela 1) (FAO; 2016).

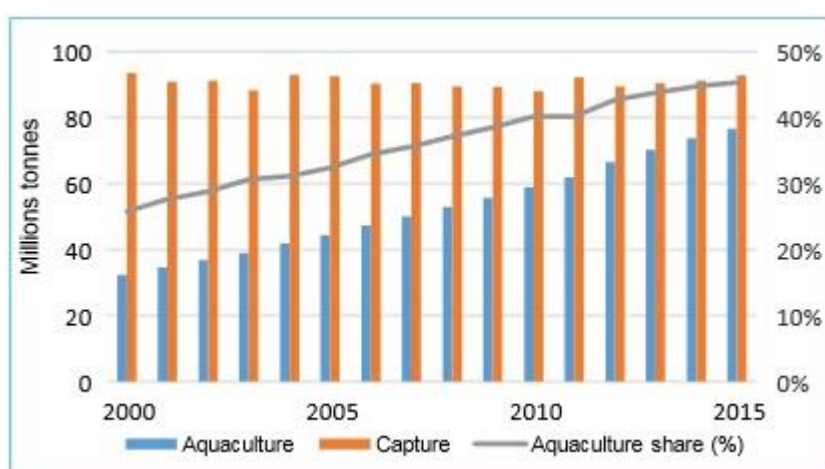


Fig.3 – Comparação entre Capturas e Aquacultura Mundial na produção total de pescado (FAO, 2016).

A aquacultura pode ser categorizada em aquacultura em águas interiores (“inland” - no interior de um continente) ou em águas oceânicas (“offshore” - produção em mar aberto). A produção através dos dois métodos encontrava-se equilibrada em 1980, produzindo sensivelmente 2,35 milhões de toneladas de recurso cada. Contudo, a produção em aquacultura “inland” tem vindo a superar a produção “offshore”, crescendo a um ritmo mais acelerado (9,2% vs. 7,6% - valores relativos ao período de 1980 a 2012), possivelmente pelo facto de a produção de aquacultura “inland” ser mais acessível e concretizável em países em desenvolvimento. Actualmente a aquacultura “inland” produz cerca de 64% de toda a produção em aquacultura (Tabela 1) (FAO, 2017).

A prática pode ainda estar baseada em três regimes dependendo dos níveis de controlo e tipo de alimentação. O regime extensivo e semi-intensivo, cuja produção em ambiente natural é realizada a partir de peixe capturado em habitat natural ou

adquirido a outros estabelecimentos aquícolas, recorre exclusivamente à alimentação natural (regime extensivo) ou com suplementação do alimento composto (regime semi-intensivo). O regime intensivo caracteriza-se por uma monitorização constante dos parâmetros de produção, crescimento e reprodução recorrendo à alimentação artificial (Mestre, 2008).

Quanto às diferentes espécies produzidas, a FAO registou em Março de 2017, 592 espécies, que se dividem em peixes ósseos, moluscos, crustáceos, anfíbios e répteis, algas de água doce e marinhas e organismos aquáticos invertebrados (Figura 5) (FAO, 2017).

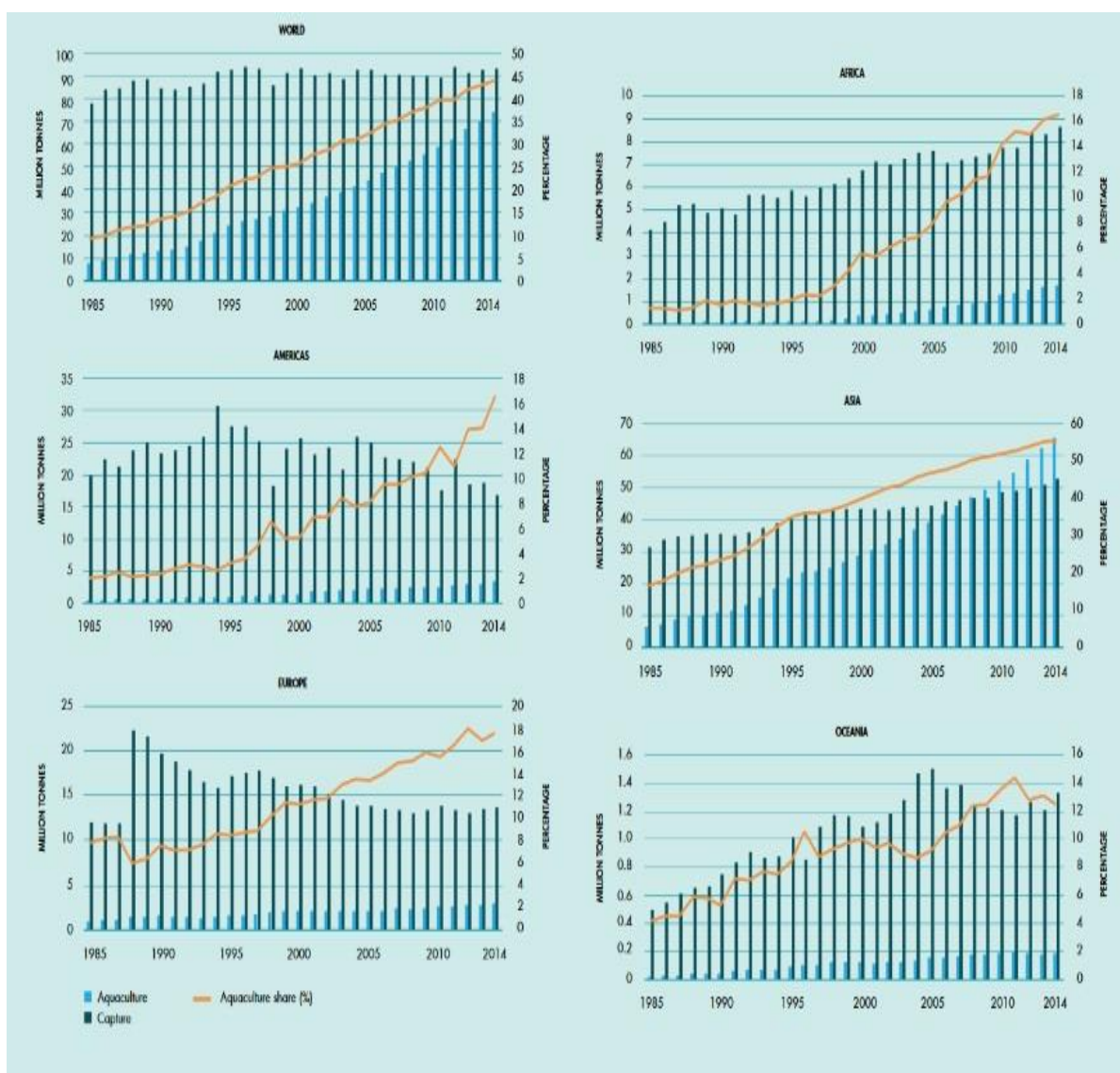


Fig. 4 – Contribuição da Aquacultura para a Produção Total de Pescado (FAO, 2016).

Tab. 1 –Produção Mundial de Aquacultura por Continente e Grupo de Espécie (milhares de toneladas) (FAO, 2017).

INLAND AQUACULTURE	Africa	Americas	Asia	Europe	Oceania	WORLD
1. Finfish	1 749 712	1 017 534	41 849 837	475 253	5 013	45 097 349
2. Crustacea	17	63 954	2 792 441	51	162	2 856 625
3. Molluscs		0	283 744			283 744
4. Other aquatic animals		531	521 106	0		521 637
Sub-total	1 749 729	1 082 019	45 447 128	475 304	5 175	48 759 355
MARINE AND COASTAL AQUACULTURE	Africa	Americas	Asia	Europe	Oceania	WORLD
1. Finfish	15 152	1 003 191	3 855 936	1 863 068	72 775	6 810 121
2. Crustacea	3 716	722 869	3 761 188	259	6 693	4 494 725
3. Molluscs	3 769	465 296	14 946 627	636 520	96 032	16 148 245
4. Other aquatic animals	25		381 831	8	5 593	387 456
Sub-total	22 662	2 191 356	22 945 582	2 499 855	181 093	27 840 547
TOTAL AQUACULTURE	Africa	Americas	Asia	Europe	Oceania	WORLD
1. Finfish	1 764 864	2 020 726	45 705 773	2 338 320	77 788	51 907 471
2. Crustacea	3 733	786 823	6 553 629	310	6 854	7 351 350
3. Molluscs	3 769	465 296	15 230 371	636 520	96 032	16 431 989
4. Other aquatic animals	25	531	902 936	8	5 593	909 093
TOTAL	1 772 391	3 273 375	68 392 710	2 975 159	186 268	76 599 902

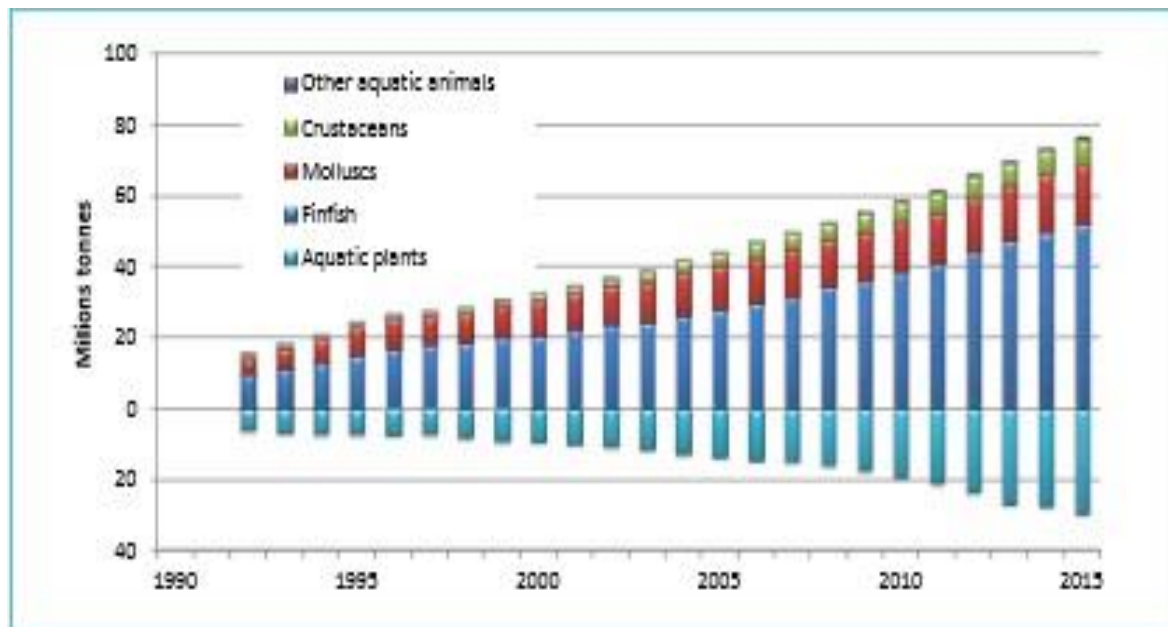


Fig. 5 – Espécies Produzidas em Aquacultura (FAO, 2017).

1.2. Aquacultura em Portugal

A aquacultura nacional é considerada um sector estratégico pelo governo português e constitui uma alternativa às tradicionais formas de abastecimento de pescado. Portugal apresenta um elevado potencial para a produção aquícola, dado o elevado consumo de peixe per capita e condições geográficas e climatéricas

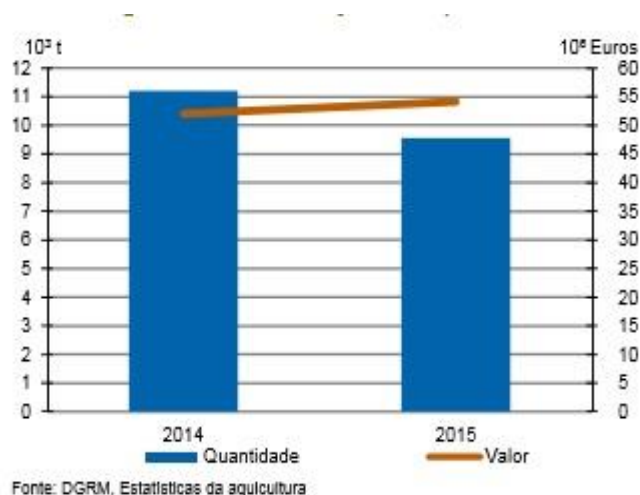


Fig. 6 – Produção de Aquacultura Nacional (INE, 2017)

adequadas à aquacultura, sendo, no entanto, deficitário em produtos de pesca (DGRM, 2015). Esta atividade gerou 9 561 toneladas de pescado em 2015, o que se traduziu numa entrada de capital de cerca de 54 milhões de euros, revelando um aumento no valor obtido de 4% mas um decréscimo na quantidade de cerca de 14,8%, relativamente ao ano anterior (Figura 6). Este facto mais recente é justificado pela menor produção de pregado em 36% em relação ao ano anterior, o que gerou menor oferta e por conseguinte, aumento do valor por quilo (INE, 2017).

Em 2015, a produção de moluscos bivalves atinge os 55% da produção total, entre os quais se destacaram as ameijoas (2 300 t) e os mexilhões (1 315 t) (Figura 7 e Tabela 2). Em 2014 observou-se um aumento na produção de ostras de cerca de 36,6% devido à reconversão de infraestruturas anteriormente usadas na produção de peixe, seguida de uma diminuição de cerca de 5% no ano seguinte (INE, 2017).

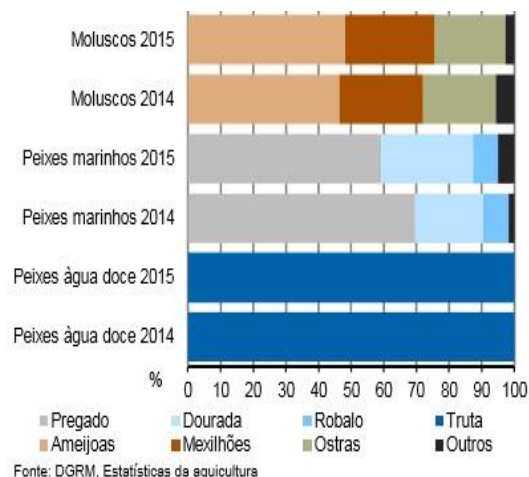
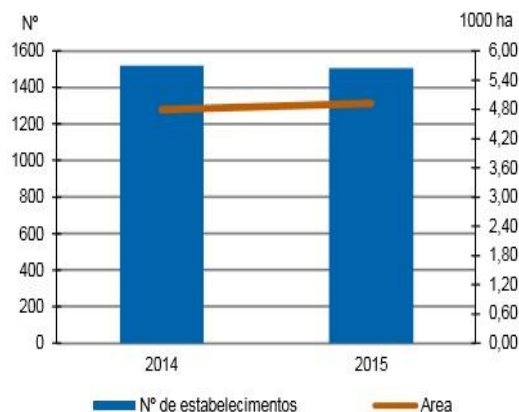


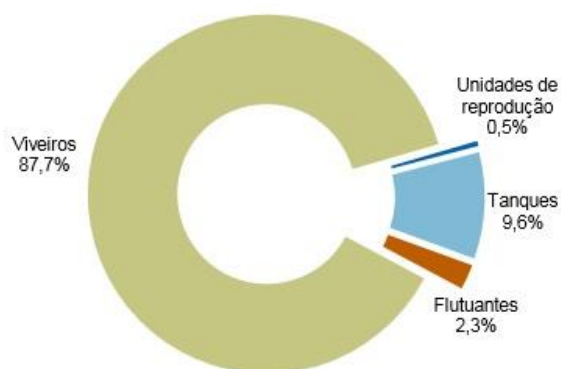
Fig. 7 – Volume de produção em aquacultura por espécie (2014/2015) (INE, 2017).



Fonte: DGRM, Estatísticas da aquicultura

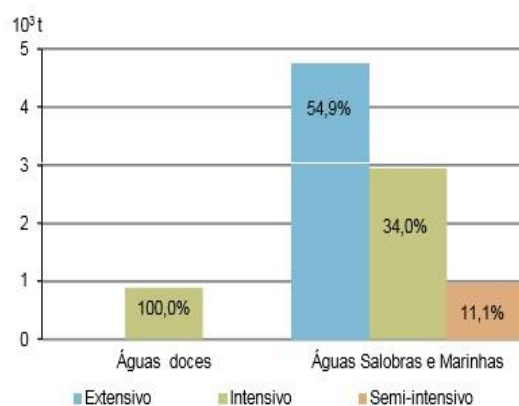
Fig. 8 – Número e área dos estabelecimentos de aquacultura (INE, 2017).

Em termos de unidades de produção, em 2015, registaram-se menos 17 unidades de aquacultura que no ano anterior (1521 estabelecimentos), sendo que a área média destes correspondia a 3,28 hectares, uma subida de 4% em relação ao ano anterior (Figura 8), facto justificado pela autorização de novas aquaculturas em mar aberto. A grande percentagem destas unidades (87,7%) corresponde a unidades de produção de moluscos bivalves, 9,6% em tanques e 2,3% em jangadas flutuantes (Figura 9). A produção nacional em águas doces faz-se exclusivamente em regime intensivo, sendo que em águas salobras e marinhas domina o regime extensivo, ainda que a utilização do regime intensivo esteja a aumentar (Figura 10) (INE, 2017).



Fonte: DGRM, Estatísticas da aquicultura

Fig. 9 – Estabelecimentos de Aquacultura em Portugal (2015) (INE, 2017).



Fonte: DGRM, Estatísticas da aquicultura

Fig. 10 – Produção por Aquacultura por tipo de água e regime (INE, 2017).

Tab.2 – Produção de aquacultura em águas interiores e oceânicas por tipo de água e regime, segundo as espécies (INE, 2017)

Portugal

Principais espécies		Águas doces, salobras e marinhas							
		Total		Extensivo		Intensivo		Semi-intensivo	
		t	1000 Euros	t	1000 Euros	t	1000 Euros	t	1000 Euros
Portugal	2014 Rv	11 218	52 039	4 779	22 632	5 132	21 607	1 307	7 800
	2015	9 561	54 135	4 763	29 903	3 838	17 978	960	6 254
Águas doces		890	2 138	0	0	890	2 138	0	0
Truta arco-íris		889	2 130	0	0	889	2 130	0	0
Truta comum		1	8	0	0	1	8	0	0
Águas salobras e marinhas		8 671	51 997	4 763	29 903	2 948	15 840	960	6 254
Peixes		3 892	22 100	36	214	2 948	15 840	909	6 045
Corvinas		61	512	0	0	61	508	1	4
Dourada		1 099	6 124	23	130	452	1 844	623	4 150
Enguia europeia		1	9	e	4	0	0	1	5
Linguado legítimo		130	1 507	e	3	126	1 454	4	50
Pregado		2 302	11 998	0	0	2 302	11 998	0	0
Robalos		297	1 948	12	78	7	36	279	1 834
Outros		2	2	0	0	0	0	2	2
Moluscos e Crustáceos		4 779	29 897	4 728	29 688	0	0	51	209
Amêijoas		2 300	26 052	2 300	26 052	0	0	0	0
Berbigão vulgar		106	107	106	107	0	0	0	0
Camarinha (q)		13	38	7	26	0	0	5	12
Longueirão		10	42	10	42	0	0	0	0
Mexilhões nep		1 315	1 023	1 315	1 023	0	0	0	0
Ostra europeia		e	1	e	1	0	0	0	0
Ostra japonesa (q)		758	1 616	715	1 426	0	0	43	190
Ostra portuguesa (q)		276	1 019	274	1 012	0	0	3	7

Fonte: DGRM, Estatísticas da aquicultura

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

1.3. A espécie *Solea senegalensis* (Kaup, 1858)

1.3.1. Descrição da Espécie

O Linguado Senegalês (*Solea senegalensis*) apresenta um corpo oval, assimétrico com as barbatanas caudal e anal unidas, apresentando uma face anterior, castanha-acinzentada onde se situam os olhos à direita do eixo central e uma face posterior esbranquiçada (Cabral, 2014). O linguado distribui-se desde o Senegal até ao Golfo da Biscaia, abrangendo também a costa atlântica de África (Dinis e Sarasquete; 1991; Castelo Branco, 2003). Espécie demersal que ocupa águas marinhas com pouca profundidade (até 100m) e lagoas costeiras, vive em substrato arenoso ou lamacento (The Fish Site, 2015; Castelo-Branco, 2003).

A espécie em questão é dióica, gonocórica e ovípara com fertilização externa. As fêmeas atingem os 32 cm na idade de primeira maturação que corresponde aos 2+3 anos. O período de abril a junho corresponde à época de postura desta espécie, atingindo um pico em maio (Castelo-Branco, 2003) ou em junho, com uma desova média de 509 oócitos/grama (Cabral, 2014; The Fish Site, 2015). Esta ocorre em águas costeiras dependendo da temperatura das águas que ronda o intervalo de 15 a 20°C (Dinis e Sarasquete, 1999; Castelo-Branco, 2003; Cabral, 2014; The Fish Site, 2015).

As larvas planctónicas, vivem durante 15-20 dias pelagicamente até à sua metamorfose, que, em meio natural, ocorre na Primavera e no início do Verão, processo após o qual migram para o substrato, tornando-se bentónicas e procurando as águas salobras das lagoas costeiras e do interior dos estuários. Os juvenis permanecem nestas áreas até ao final do Verão e início de Outono, período após o qual, devido à descida da temperatura das águas, migram para zonas do estuário mais profundas, emergindo apenas no início da Primavera. Os mesmos permanecem nestas áreas até aos 2-3 anos e após este período, migram para o mar (Castelo-Branco, 2003; Vinagre, 2007).

Os adultos alimentam-se de invertebrados bênticos, maioritariamente moluscos bivalves e poliquetas e alguns crustáceos, sendo que já se detetaram nos conteúdos estomacais desta espécie isópodes e anfípodes. Quanto às pós-larvas e juvenis, estes

limitam-se a poliquetas e pequenos crustáceos (Dinis *et al*,1999; Castelo-Branco, 2003; The Fish Site, 2015).

O linguado senegalês é uma espécie comumente produzida ao longo da costa sul de Portugal e Espanha (Dinis *et al* 1999; Imsland *et al* 2003; Morais *et al* 2014). A sua utilização em aquacultura, terá recorrido inicialmente ao regime extensivo com utilização de tanques de terra batida (Dinis e Sarasquete, 1999). Contudo, atualmente a produção por regime intensivo em Portugal terá já ultrapassado os valores de produção relativos ao regime extensivo (Tabela 2) (INE, 2017).

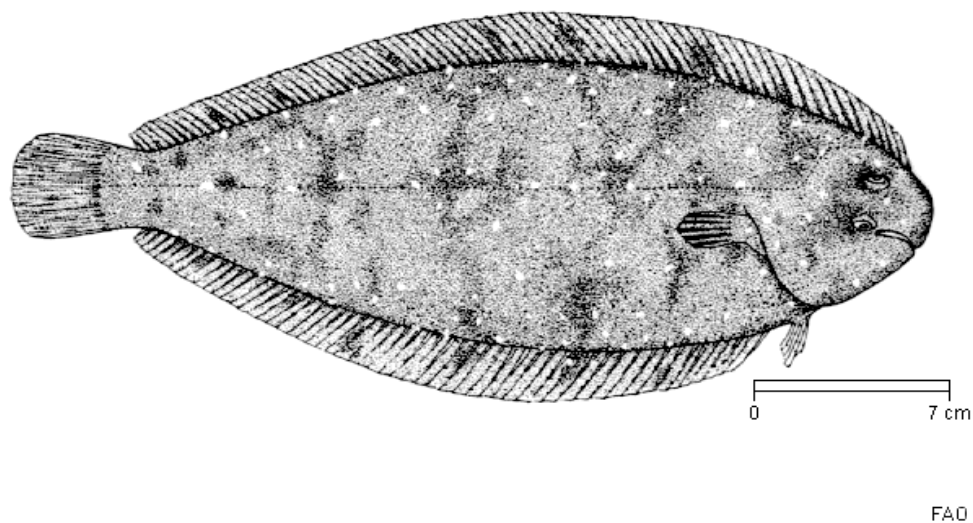


Fig. 11 – *Solea senegalensis* (FAO).

1.3.2. Aquacultura e Capturas

O linguado é pescado maioritariamente no Mar do Norte, (75% do total capturado), no Mediterrâneo (17% do total capturado) e no Centro-Este Atlântico (7% do total capturado) (Bjorndal *et al*, 2015). De referir que estas capturas são referentes sobretudo a *Solea solea*. A captura da espécie *Solea senegalensis* apresenta valores consideravelmente menores, totalizando 60 t em 2012, enquanto que *Solea solea* totalizou 17 000 t (Bjorndal *et al*, 2016). Os maiores níveis de capturas de linguado foram registados em 1994 com 66 553 t (Figura 14). Os países que mais contribuem para os números de captura de linguado são a Holanda e a França (Figura 15) (Bjorndal *et al*, 2015).

Quando se traça a relação entre a biomassa do stock dos reprodutores e as capturas, descobre-se que a biomassa estava em rápido declínio até 1998 onde atingiu as 32 574 toneladas (Figura 14). Apesar de haver grande oscilação nos valores de biomassa do stock de reprodutores nos anos subsequentes, os mesmos apresentaram uma subida de 2007 (32 542 t) a 2012 (~ 50 000 t) (Figura 13) (Bjorndal *et al*, 2015). Desde 1994, as capturas têm vindo a diminuir continuamente (Figura 13 e 14) (Morais *et al*, 2014; Bjorndal *et al*, 2015, 2016) tendo também contribuído para o crescente interesse na produção aquícola desta espécie.

Para além disso, a necessidade de diversificação da indústria da aquacultura estimulou o interesse na produção de linguado. A saturação do mercado devido à elevada produção aquícola de certas espécies, como a dourada e o robalo, levou a um aumento do interesse pela diversificação da produção aquícola de modo a aumentar as oportunidades comerciais. Neste contexto, e face ao elevado valor comercial do linguado, esta tem sido destacada como uma espécie com elevado potencial de produção intensiva. Nos recentes anos, a aquacultura do linguado tem atraído grande interesse, quer a nível comercial quer a nível da investigação, destacando-se Espanha e Portugal, onde particularmente a espécie *Solea senegalensis* tem sido produzida em diferentes regimes, deste o extensivo ao intensivo, proporcionando elevada oportunidade comercial.

Atualmente a produção de linguado é dominada pela espécie *Solea senegalensis*, a qual apresenta maiores taxa de crescimento face à *Solea solea*, pelo que a sua produção centra-se maioritariamente no sul da Europa, onde o linguado senegalês se encontra naturalmente. O domínio de todo o ciclo de produção veio possibilitar a sua produção intensiva de forma efetiva (Dinis, 1992). A ocorrência de

surtos de doenças, sobretudo a nível bacterial, causados por *Photobacterium damselae spp piscicida* na década passada travaram o desenvolvimento económico das primeiras pisciculturas desta espécie. Além disso, problemas como altas mortalidades no desmame, reprodução e baixa qualidade de larvas e juvenis levaram a que o desenvolvimento da prática de aquacultura de *Solea senegalensis* fosse crescendo a um ritmo mais baixo que o esperado, tendo em conta que o interesse na produção desta espécie, no sul da Europa, já existia desde 1980 (Bjorndal *et al* 2015).

A produção em Portugal de linguado começou em 1970, em regime extensivo, e tem evoluído desde então mesmo que seja a uma taxa relativamente baixa, contudo, os países dominantes no mercado de linguado são a França e a Espanha (Bjorndal *et al*, 2016; The Fish Site, 2015).

A produção de linguado a nível mundial apresentou um crescimento exponencial entre 2007 (55 t) e 2010 (349 t), tendo, no entanto, diminuído em 2011 (306 t) e voltado a subir em 2012 (343 t) (Figura 12; Bjorndal *et al*, 2016). A expansão observada, carregada em maior parte por três empresas com infra-estruturas em Espanha, Portugal, França e Islândia deve-se à própria expansão da aquacultura do linguado senegalês, espécie que representa quase na totalidade a produção de linguado (Bjorndal *et al*, 2015, 2016). Espera-se que este aumento na produção chegue, nos próximos três a quatro anos a um valor superior a 5000 toneladas (Bjorndal *et al* 2016). A produção desta espécie corre maioritariamente em sistemas de recirculação de água (RAS do inglês -*recirculatory aquaculture system*), usando tanques retangulares de pouca profundidade (*shallow raceway technology*) (Bjorndal *et al*, 2016).

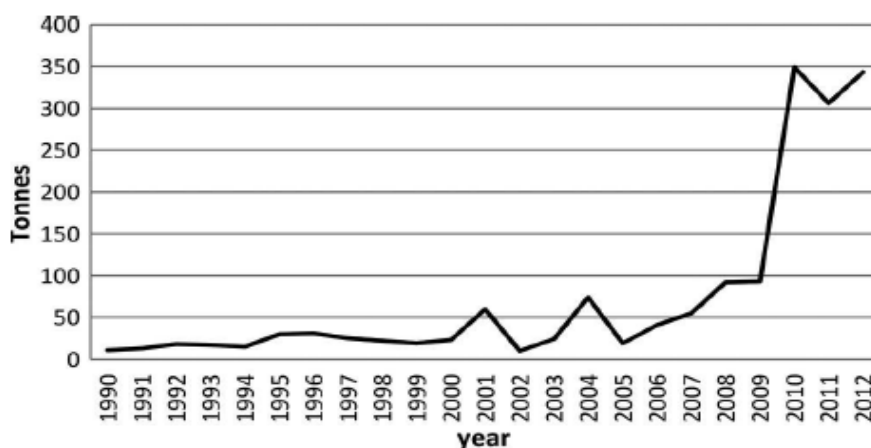


Fig. 12 – Produção de Linguado pela Aquacultura (t – tonelada (tonne)) (Bjorndal *et al*, 2016)

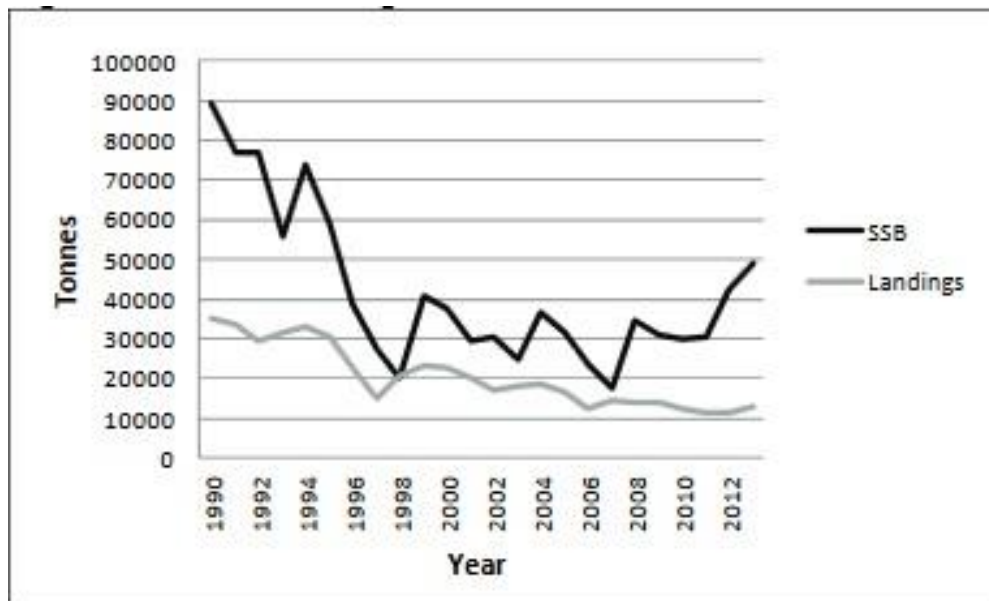


Fig. 13 – Biomassa do Stock de Reprodutores (SSB) e Capturas de Linguado, 1990-2012 (Bjorndal *et al*, 2015)

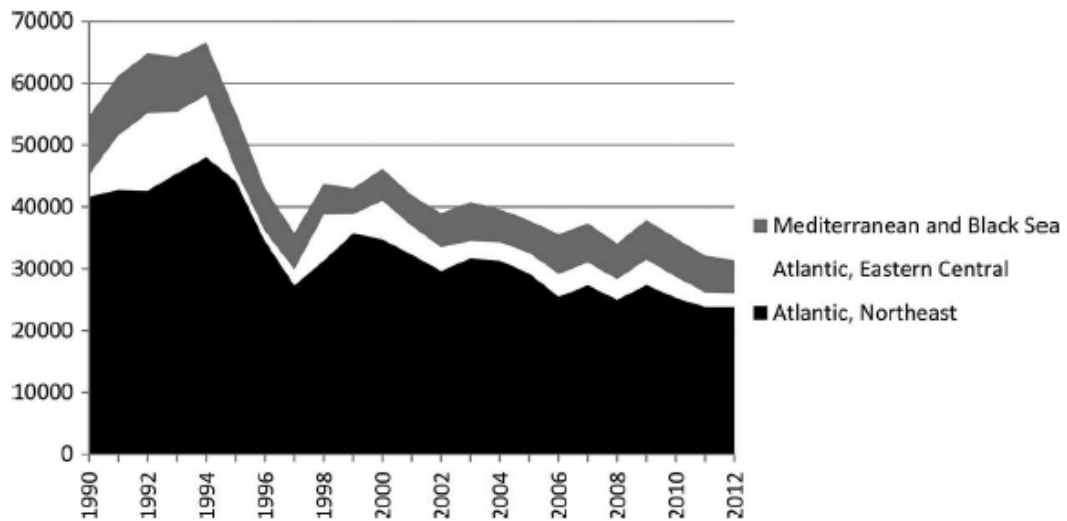


Fig. 14 – Produção por Captura de Linguado no Nordeste, Centro-Este Atlântico e Mediterrâneo (1990-2012) (Bjorndal *et al*, 2016).

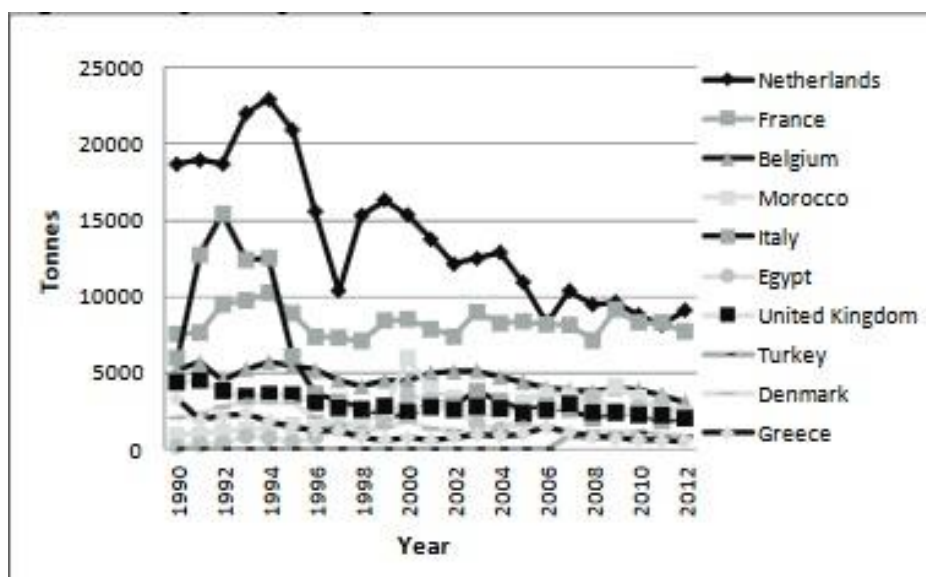


Fig. 15 – Os 10 Países Cujos Valores de Captura de Linguado são Maiores (Bjørndal et al 2015)

1.3.3. Custos de Produção

Considerando como exemplo uma unidade de engorda de linguado, com produção dos 5 aos 350g/tamanho comercial), os custos de produção são estimados em 10€/kg ao ano (Bjørndal et al, 2016). Estes gastos são primariamente influenciados pelos custos relacionados com a compra dos juvenis de 5g, que correspondem a 39% dos custos de produção, seguido pelo custo da alimentação que corresponde a 15,8 – 24% dos custos de produção, tornando-se importante uma redução ponderada do custo dos juvenis bem como um otimização e gestão criteriosa da alimentação de modo a reduzir a quantidade de ração usada (García e García, 2006; Morais *et al* 2014; Bjørndal *et al* 2015, 2016). Apesar dos custos relacionados com a ração terem aumentado, o aumento da qualidade das mesmas tem contribuído para uma diminuição dos fatores de conversão alimentar e espera-se que ainda sofram maior evolução à medida que a aquacultura de linguado se torne mais comum (Bjørndal *et al* 2015,2016). Apesar do aumento de preço da ração, a expansão da indústria relacionada com a aquacultura de linguado e dos mercados e a evolução na eficiência dos processos de domesticação tendem a baixar os custos de produção (Morais *et al*, 2014). Estima-se que os custos relacionados com a operação,

manutenção e mão-de-obra sejam 19,1% do custo total de produção (Bjorndal *et al* 2015, 2016).

A EU pode garantir uma ajuda económica, para investimentos em unidades de produção em aquacultura, que corresponde a um máximo de 60% do capital utilizado na construção da infra-estrutura e na compra de equipamento, o que incentiva o investimento e baixa consideravelmente a injeção de capital necessário numa primeira fase (Bjorndal *et al*, 2016).

1.3.4. Mercados e Rentabilidade

Atualmente, a captura de linguado (*Solea solea* e *Solea senegalensis*) na Europa não é suficiente para suprir a procura. A importação de linguado é uma constante na EU, apesar de apresentar grandes flutuações anuais: em 2010 a importação atingiu 14 000 tons e no ano seguinte desceu drasticamente para 500 tons. Em 2011 a Itália, a França, a Espanha e a Holanda foram os países que mais importaram linguado. Em conjunto, estes países perfizeram 90% das importações de produtos frescos. A Espanha e a Itália perfizeram 95% das importações de produtos congelados). Em exportação, a Holanda, a França, o Reino Unido, a Bélgica e a Dinamarca foram os países com maior importância (90% da exportação de produtos frescos) (Bjorndal *et al*, 2016).

Os preços relacionados à comercialização do linguado correspondem a três tamanhos e a peixes frescos, congelados e provenientes de aquacultura. Para os tamanhos, o preço, em 2013, foi maior para os exemplares de tamanho maior de peixe fresco (>1Kg; 24,41€/Kg), este quase dobrando o valor dos exemplares frescos de tamanho menor (<500g; 11,04€/Kg) (Bjorndal *et al*, 2016). Os preços de linguado congelado são ainda menores que os frescos de tamanho menor (Figura 16). É importante contudo referir que os preços de todas as categorias de linguado têm vindo a subir desde 2010. Segundo os dados existente para os preços de linguado proveniente de aquacultura (apenas 2 anos), os exemplares de aquacultura, comercializados a tamanho similar aos exemplares frescos de tamanho menor, adquirem um valor superior aos de tamanho pequeno mas inferiores ao de tamanho médio, valor esse fixado nos 12,25€/Kg (Morais *et al*, 2014; Bjorndal *et al*, 2016).

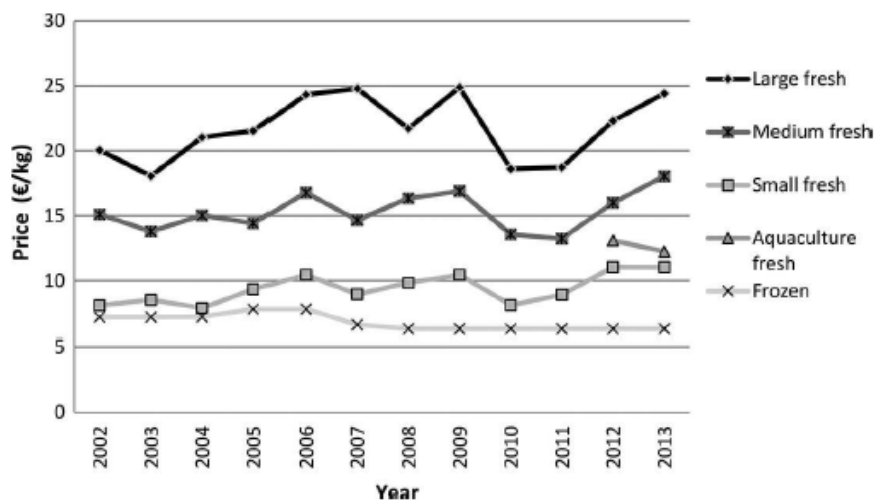


Fig. 16 – Preço Médio por Ano de Linguado Fresco Médio, Grande e Pequeno, Peixe Fresco de Cultura e Peixe Congelado. MercaMadrid 2002-2013 (Bjorndal *et al*, 2016)

Tendo em conta os custos de produção, os mercados e os preços associados aos mesmos, há indicação da existência de uma margem de lucro significativa quando os mercados são comparados aos custos de produção anteriormente referidos com estes a apresentarem um valor de 10€/Kg versus os 13€/kg obtidos aquando da venda do produto (Morais *et al*, 2014; Bjorndal *et al*, 2016).

A indústria aquícola de produção de linguado precisa de evolução de encontro a uma maior eficiência de produção e de criação e divulgação de novos mercados. Quanto à eficiência de produção, é de esperar que, face aos avanços científicos e tecnológicos, a produção e a qualidade dos juvenis aumente de modo a garantir a expansão do sector e consequentemente a uma diminuição nos custos de produção. No caso dos mercados, para os abastecer e satisfazer a procura é necessário um aumento na produção, mas também a procura de novos mercados de forma a contornar uma possível saturação dos mesmos, problema este que baixaria o valor do peixe produzido. Outro aspeto importante relacionado com os mercados é a preferência por peixe selvagem relativamente ao produzido em aquacultura, ainda que o linguado de aquacultura tenha maior frescura e melhor aparência, sendo assim importante desenvolver campanhas informativas sobre este produto. Por último há que ter em conta que o tamanho maior do peixe é também favorecido, aspeto o qual será certamente dominado no futuro aquando da existência de maior controlo sobre o ciclo de produção (Bjorndal *et al*, 2015, 2016). Ademais, tem havido um declínio gradual do

tamanho médio do linguado captado por pesca devido ao declínio nos stocks selvagens. Como os sectores da restauração, supermercados, hotelaria e catering - HORECA (Hotelaria, Restauração, Cafeteria) - inferem uma grande procura nos mercados, preferencialmente por pescado de maiores dimensões, a aquacultura adquire um enorme potencial, devido ao facto de poder satisfazer essa procura ao longo de todo o ano, fornecendo uma constante fonte de linguado, cuja produção pode ser orientada de modo a perfazer as demandas destes sectores quer a nível de quantidade, quer a nível de tamanho médio por peixe (Bjorndal *et al* 2015; The Fish Site, 2015).

2. A Aquacultura Safiestela (Sea 8)



Fig. 17 – Unidade de Aquacultura Safiestela (Sea8).

A Safiestela é uma empresa pertencente ao grupo espanhol Sea8 que desde 2012 se dedica à produção de linguado senegalês em aquacultura intensiva. Este grupo dedicava-se antigamente à produção de pregado (*Psetta maxima*) e adquiria juvenis a uma maternidade em Espanha, procedendo depois à engorda nas instalações para o efeito, na Torreira. Entretanto este grupo tomou a decisão de diversificar a espécie produzida, apostando em *Solea senegalensis* devido à feroz concorrência providenciada pela Acuinova (Pescanova) no mercado de aquacultura de pregado. Deste modo, o grupo sea8 adquiriu a atual Safiestela, localizada no concelho da Póvoa de Varzim, tornando-a na unidade de maternidade e produção de juvenis e continuou a utilizar a unidade da Torreira, desta vez para engorda e comercialização do linguado senegalês.

A unidade da Póvoa de Varzim inicia o ciclo de produção com a aclimatização de reprodutores provenientes do meio selvagem, recorrendo à manipulação do fotoperíodo e da temperatura da água para obter descendência durante todo o ano, criação de larvas e pré-engorda recorrente às tecnologias *shallow raceways* e *Recirculatory Aquaculture System (RAS)*. De seguida, os juvenis são transferidos para a Aquacria para engorda e comercialização.

A Safiestela apresenta capacidade para produzir cerca de 3 000 000 de juvenis por ano, o que se reflete em cerca de 800 t de linguado por ano.

A Sea8, devido ao grande investimento efetuado e ao domínio que tem sobre todo o ciclo de produção, é a empresa líder na produção de linguado no mercado Português e espera-se que no futuro se torne dos mais importantes na aquacultura da Península Ibérica.

2.1. Sistema de Recirculação de Água (*Recirculation Aquaculture System-RAS*)

Sistemas de Recirculação de Água (RAS, do inglês *Recirculation Aquaculture System*) são sistemas intensivos de produção aquícola que utilizam vários procedimentos físicos, químicos e biológicos para atingir uma alta reutilização da água no sistema. Neste sistema é possível, devido ao alto controlo nas condições de produção, produzir espécies não nativas, dependendo da legislação de cada país ou espécies que não se compatibilizem com as condições naturais do local de produção, já que este sistema permite adequar a qualidade e temperatura da água à espécie a produzir. (Zhang *et al*, 2011; Badiola *et al*, 2012; Helfrich e Libey, 2013; Murray *et al*, 2014).

O sistema de recirculação de água, quer seja utilizado em grandes infraestruturas com o objetivo de grandes produções de peixe, quer seja em unidades mais pequenas com objetivos de repor stocks e ajudar na conservação de espécies em perigo, está a crescer rapidamente em vários sectores da aquacultura. Esta tecnologia consiste essencialmente na reutilização da água presente na unidade de produção, baseando-se no uso de filtros mecânicos e biológicos para remoção dos produtos de excreção dos animais.

Dependendo da quantidade de água utilizada ou recirculada na unidade de produção, o RAS pode ser utilizado a diferentes intensidades, sendo que em regime superintensivo, recicla 99,6% do total da água (Tabela 3). Independentemente da taxa de recirculação de água, o sistema RAS contribui para a diminuição do consumo de água e diminui a quantidade de descargas de efluentes para o meio ambiente,

traduzindo-se num grande benefício ambiental. (Badiola *et al*, 2012; Murray *et al*, 2014; Bregnballe, 2015).

Tab. 3 – Comparação do grau de recirculação a diferentes intensidades e respetivo consumo de água “nova” (Bregnballe, 2015).

Type of system	Consumption of new water per kg fish produced per year	Consumption of new water per cubic meter per hour	Consumption of new water per day of total system water volume	Degree of recirculation at system vol. recycled one time per hour
Flow-through	30 m ³	1 712 m ³ /h	1 028 %	0 %
RAS low level	3 m ³	171 m ³ /h	103 %	95.9 %
RAS intensive	1 m ³	57 m ³ /h	34 %	98.6 %
RAS super intensive	0.3 m ³	17 m ³ /h	6 %	99.6 %

Os sistemas de recirculação de água requerem do aquicultor, além da capacidade de criar, cuidar e controlar o ciclo de produção dos peixes a capacidade de gerir e operar todo o sistema RAS. Providenciando condições estáveis e ótimas para a produção do peixe em cultivo, o mesmo deverá dominar e controlar parâmetros tais como temperatura, pH, salinidade, níveis de oxigénio, de dióxido de carbono, de matéria orgânica, de amónia, de nitritos e de nitratos, de modo a garantir as melhores condições à espécie a produzir, reduzindo o stress e maximizando o crescimento (Figura 18). O domínio e manutenção destes parâmetros torna por sua vez possível aferir e prever, com grande exatidão, a idade e tamanho do peixe em cada fase de produção devido à maior previsibilidade e estabilidade dos padrões de crescimento, o que permite a elaboração de planos de produção precisos, garantindo a eficiente na gestão unidade de aquacultura e a sua competitividade no mercado. (Bregnballe, 2015; Helrich, L. e Libey, G. 2013).

Outro aspeto de primordial importância, diz respeito à otimização da eficiência de conversão alimentar (FCR). A utilização deste sistema possibilita uma gestão mais rigorosa da alimentação e maiores taxas de crescimento, reduzindo a quantidade de alimento por kg de peixe produzido, compensando o maior gasto de energia aliado à utilização deste sistema (Murray *et al*, 2014).

De salientar que nas unidades de aquacultura que operam em sistema RAS, a incidência e impacto de patógenos é consideravelmente menor uma vez que esta

tecnologia minimiza a exposição da unidade de produção a fatores externos (Murray *et al*, 2014). Há registo de que em muitas delas nem são detetadas doenças. Para chegar a este ponto e reduzir quase totalmente o risco de doença é imprescindível iniciar o ciclo de produção com ovos, já que estes podem ser completamente desinfetados, ao contrário dos juvenis obtidos do exterior da unidade (Bregnballe, 2015).

O recurso ao RAS implica um constante tratamento de água para a oxigenar e remover os produtos excretados pelos animais. A organização do sistema é normalmente semelhante à apresentada na figura 19, podendo-se adicionar mais equipamento ao sistema (ex.: desinfecção por ozono, autorregulação de pH) dependendo das necessidades da unidade de produção e da espécie em criação.

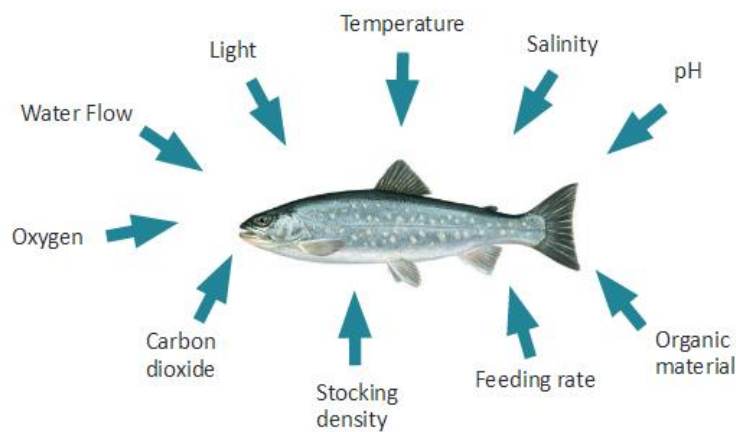


Fig. 18 – Alguns Parâmetros que Afectam o Bem-Estar do Peixe Assim Como o Seu Crescimento (Bregnballe, 2015).

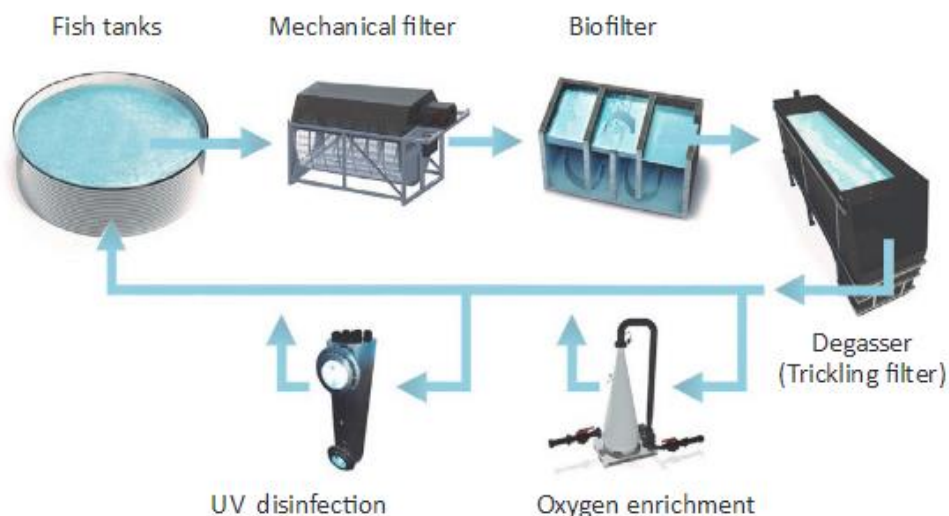


Fig. 19 – Sistema Básico de Recirculação de Água (Bregnballe, 2015).

Quanto à ração, é recomendada a utilização de alimento seco e com maior eficiência possível. A adequada formulação do alimento de acordo com as necessidades de cada espécie de peixe e para cada estágio de vida, garante uma elevada eficiência de utilização do alimento, diminuindo a quantidade de alimento não digerido e não absorvido assim como minimiza a excreção de amônia (Bregnballe, 2015). O recurso a tabelas de alimentação garante a adequada gestão da alimentação e o adequado fornecimento desse alimento de acordo com a classe de tamanho e temperatura da água. A tabela 4 apresenta a formulação da ração utilizada na Safiestela no desmame e pré-engorda assim como a sua utilização de acordo com a idade e peso dos indivíduos a alimentar.

Contudo o sistema RAS apresenta também desvantagens. O investimento inicial necessário para instalar este sistema e os custos operacionais decorrentes do seu funcionamento são altos (Badiola *et al*, 2012; Murray *et al*, 2014; Helrich, e Libey, 2013; Pham *et al*, 2016) e os estudos de viabilidade económica frequentemente pressupõem a utilização de densidades de stock ótimas ou máximas e alta qualidade do produto, de modo a estimar o retorno final esperado a nível de mercado. A flutuabilidade dos preços de mercado, quer dos consumíveis quer da venda dos peixes, têm de ser considerados de modo a garantir que o sistema possa ser aplicado com sucesso (Murray *et al*, 2014). Além disso, é necessário haver funcionários qualificados para operar e supervisionar constantemente o sistema, sendo necessário também a existência de sistemas de backup caso haja falhas mecânicas ou energéticas no circuito (Helrich, L. e Libey, G. 2013). Considerando todos os prós e contras, atualmente o recurso ao sistema RAS é considerado uma das formas ambientalmente mais sustentáveis de produzir peixes para fins económicos (Zhang *et al.*, 2011; Pham *et al.*, 2016).

Tab. 4 – Tabela de alimentação e composição da ração utilizada na Safiestela no desmame e pré-engorda (Skretting).

	Rango (µm)	Prot. %	Lípidos %	Cenizas %	Fibra %	Fósf. %	Energia Bruta MJ/kg	Energia Digestible MJ/kg
Gemma Wean Diamond 0.5	500 - 800	58	17	10	0,6	1,3	21,5	19,8
Gemma Diamond 0.8	700 - 900	57	15	11	0,5	1,7	20,9	19,2
Gemma Diamond 1.2	1000 - 1200	56	15	11	0,5	1,7	20,8	19,1
Gemma Diamond 1.5	1300 -1500	55	15	11	0,5	1,7	20,9	19,1
Gemma Diamond 1.8	1600 - 1800	55	15	11	0,5	1,7	20,9	19,1
Contenido vitamínico/Kg.	0,5	0,8	1,2	1,5	1,8			
Vitamina A U.I.	15.000	15.000	15.000	12.000	12.000			
Vitamina D ₃ U.I.	1.125	1.125	1.125	900	900			
Vit. E (α tocof.) mg.	225	225	225	180	180			

LENGUADO

Edad (días) / Peso (g.)	PRODUCTO	Rango (µm)	Observaciones	Envases (kg.)
7 - 16	Gemma Micro Diamond 150	100 - 200	Cofeeding	1
16 - 35	Gemma Micro Diamond 300	200 - 400	Cofeeding	2,5
30 - 50	Gemma Micro Diamond 500	400 - 600	Cofeeding/destete	2,5
48 - 60	Gemma Wean Diamond 0,5	500 - 800	Pienso seco	10
hasta 1,5	Gemma Diamond 0,8	700 - 900	Pienso seco	20
de 1,5 a 3	Gemma Diamond 1,2	1.000 - 1.200	Pienso seco	20
de 3 a 8	Gemma Diamond 1,5	1.300 - 1.500	Pienso seco	20
a partir de 7	Gemma Diamond 1,8	1.600 - 1.800	Pienso seco	20

Componentes utilizados no RAS:

➤ Tanques

Vários tipos de tanques podem ser utilizados numa produção aquícola utilizando o sistema RAS, contudo, é importante que a escolha dos tanques tenha em consideração a correspondência com a capacidade de outros componentes do sistema (ex.: biofiltro), a densidade populacional pretendida e

os gastos económicos assim como as necessidades do peixe e as suas características. Pode-se utilizar como exemplo a posição natural na coluna de água do peixe em produção, sendo que se este for bentónico ou viver associado ao substrato, a profundidade do tanque torna-se supérflua e a velocidade de corrente deve ser menor e se pelo contrário for pelágico deve-se ter em conta a profundidade dos tanques e aumentar a velocidade da corrente de água (Bregnballe, 2015; Helrich e Libey, 2013).

Nos tanques circulares, o padrão do movimento da água faz com que as partículas orgânicas desapareçam dando uma habilidade de autolimpeza a estes, o que não acontece nos *raceways*. No entanto, mesmo nos *raceways*, se a densidade de peixe no tanque for a correta, a atividade dos organismos vai contribuir mais para o efeito autolimpeza do mesmo. Existe também um tanque híbrido chamado o “*D-ended raceway*” que combina a eficiência de utilização do espaço com o padrão hidráulico dos tanques circulares (Figura 20) (Bregnballe, 2015).

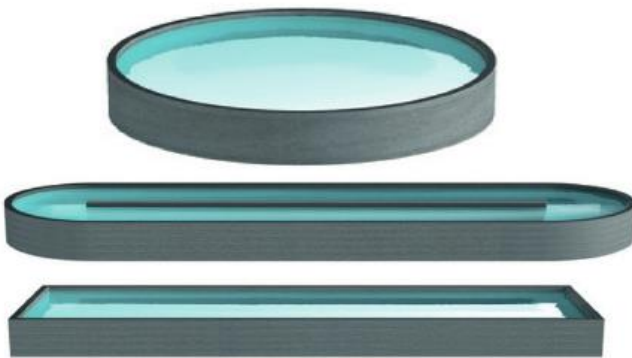


Fig. 20 – Tanque Circular, Tipo *Raceway* e tipo *D-Ended Raceway* (Bregnballe, 2015).

Comparativamente com os tanques circulares, os *raceways* podem levantar questões de falta de oxigenação, particularmente longe da entrada de água. Pelo que é aconselhável o uso de sondas de ar ao longo do mesmo, dependendo da sua dimensão. A saída de água dos tanques deve ser construída de forma a facilitar a saída dos detritos, possuindo uma rede de malha ajustada ao tamanho da espécie em produção e sensores que detetem o nível da água, temperatura e

concentração de oxigénio. É aconselhado também o uso de difusores para injeção direta de oxigénio no caso de uma situação de emergência (Bregnballe, 2015).

➤ Filtro Mecânico

Os efluentes dos tanques de piscicultura contêm resíduos sólidos que têm de ser removidos antes de a água estar pronta a ser reutilizada. Estes resíduos, denominados matéria orgânica particulada (POM), são constituídos por matéria em suspensão e matéria sedimentada. Para o caso da sedimentada, esta pode ser removida mediante limpeza direta dos tanques. Para remoção de compostos orgânicos particulados em suspensão, a filtração mecânica é considerada a única solução prática. O filtro de tambor (Figura 21) é amplamente usado em aquaculturas a operar em sistema de recirculação e utiliza microfiltros de 40 a 100 microns. Outro filtro utilizado é o filtro de areia que, aquando da limpeza do filtro, recorre à circulação das águas do efluente em sentido inverso para remover o resíduo retido na “malha” de areia (backwash). A estes filtros podem ainda ser aliados um escumador (*protein skimmer*) que recolhe as partículas em suspensão mais finas e algumas dissolvidas por escumação, processo no qual os resíduos aderem às bolhas de ar geradas por aerificação gerando espuma (figura 22). Este tipo de equipamento vai melhorar a eficiência do biofiltro (redução da carga de matéria orgânica neste, melhoria das condições para nitrificação, efeito estabilizador na biofiltração) e tornar a água mais límpida (Cabral, 2014; Bregnballe, 2015).



Fig. 21 – Filtro de Tambor Rotativo na Safiestela (Sea8).



Fig. 22 – Filtros Mecânicos: Filtro de Areia (na frente) e Protein Skimmer (no fundo; coluna azul) (Sea8)

➤ **Tratamento Biológico**

Os produtos de excreção dissolvidos e as particulares mais finas passam pela barreira da filtração mecânica, sendo necessário recorrer à filtração biológica, os biofiltros, para remoção das substâncias dissolvidas. Estes filtros contêm bactérias heterotróficas e nitrificantes (*nitrosomonas* e *nitrobacter*) que oxidam a amónia, um produto tóxico para os peixes, em nitrito e finalmente em nitrato (Bregnballe, 2015; Cabral, 2014; Helrich e Libey, 2013). A temperatura da água, concentração de oxigénio e o pH dos biofiltros constituem fatores fulcrais na eficiência deste processo e devem ser mantidos para uma nitrificação aceitável entre 10°C e 35°C e 7-8 respetivamente. É importante ter em conta que a temperatura da água não terá de se adequar apenas à eficiência do biofiltro mas também às necessidades da espécie em produção. O pH da água pode ser afetado pela produção de CO₂ por parte não só dos peixes mas também da atividade biológica do biofiltro, o qual pode em parte ser removido mediante uma eficiente aerificação da água garantindo a oxigenação desta mas também a remoção do dióxido de carbono presente na água (Cabral, 2014; Bregnballe, 2015).

Os peixes excretam amónia e uma pequena percentagem de ureia. Na água, a amónia encontra-se na forma não ionizada (NH_3) e sob a forma de amónio ionizado (NH_4^+) e a concentração destes dois compostos é sempre proporcional (Hall, 1999; Helrich e Libey, 2013; Bregnballe, 2015). Os mesmos são frequentemente quantificados num total designado TAN (Total Ammonia Nitrogen). Para os níveis de NH_3 não ultrapassarem a concentração de 0,02 mg/l, valor a partir do qual se tornam tóxicos, é necessário um controlo do TAN e eliminação de amónia em resposta aos diferentes níveis de pH (Figura 23), sobretudo no intervalo ótimo para o funcionamento do biofiltro (7-8) (Hall, 1999; Bregnballe, 2015). É necessário também o controlo das concentrações do nitrito resultante da primeira fase da nitrificação, sendo que estas não devem exceder os 0,05 mg/l, valor a partir do qual pode aparecer a doença do sangue castanho ou metahemoglobinemia (Helrich e Libey, 2013). Além disso, os valores de nitrato (NO_3^-), produto resultante do processo de nitrificação, não devem exceder 100 mg/l. Concentrações excessivas deste composto podem levar a impactos negativos no FCR e no crescimento dos peixes. A manutenção de níveis aceitáveis de nitrato pode ser feita por diluição (aumento de entrada de nova água no sistema) ou desnitrificação (Jackson, 2011; Bregnballe, 2015).

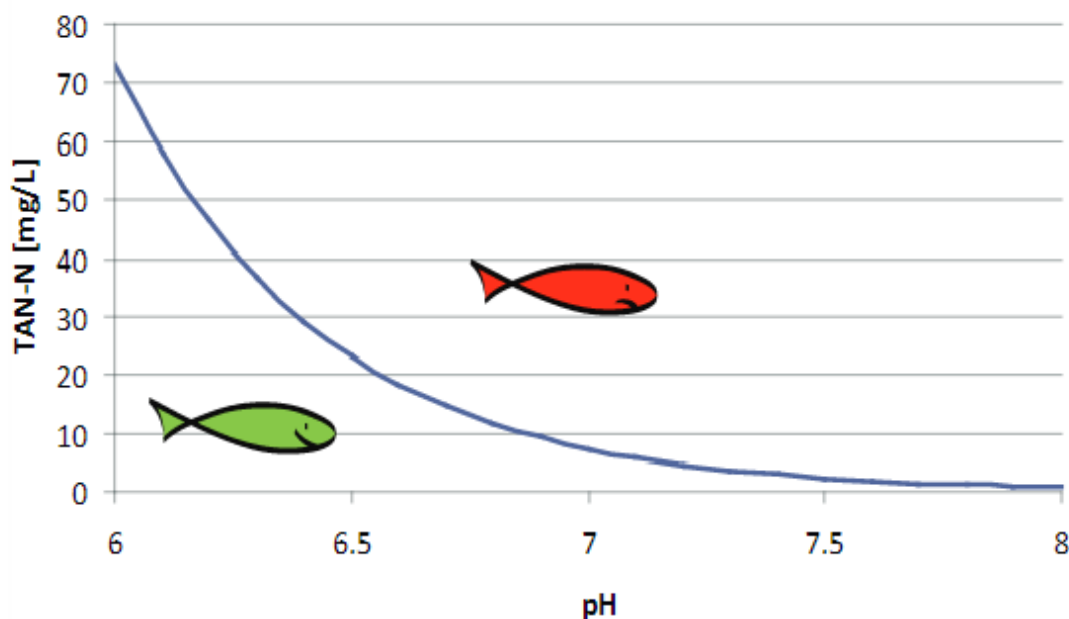


Fig. 23 – Relação Entre pH e a Quantidade de TAN Disponível para Degradação no Biofiltro Baseando-se Numa Concentração de Amónia Tóxica de 0,02 mg/L (Bregnballe, 2015).

Um bom dimensionamento dos biofiltros é imprescindível. Estes devem proporcionar a maior área de superfície para a adesão bacteriana, sem, contudo, causar entupimentos de matéria orgânica, de modo a garantir uma eficiente fluidez da água através destes para que o biofilme de bactérias nitrificantes possa funcionar

eficientemente. Devem ser implementados semanalmente processos de limpeza do biofiltro para que este funcione na melhor eficiência possível (Cabral, 2014; Bregnballe, 2015).

Existem biofiltros, fixos, móveis (biobolas) e combinados (Figura 24 e 25) sendo que todos são submersos. Os biofiltros móveis e fixos têm sensivelmente a mesma eficiência, mas os fixos podem também remover partículas finas, atuando um pouco como um filtro mecânico (Bregnballe, 2015).

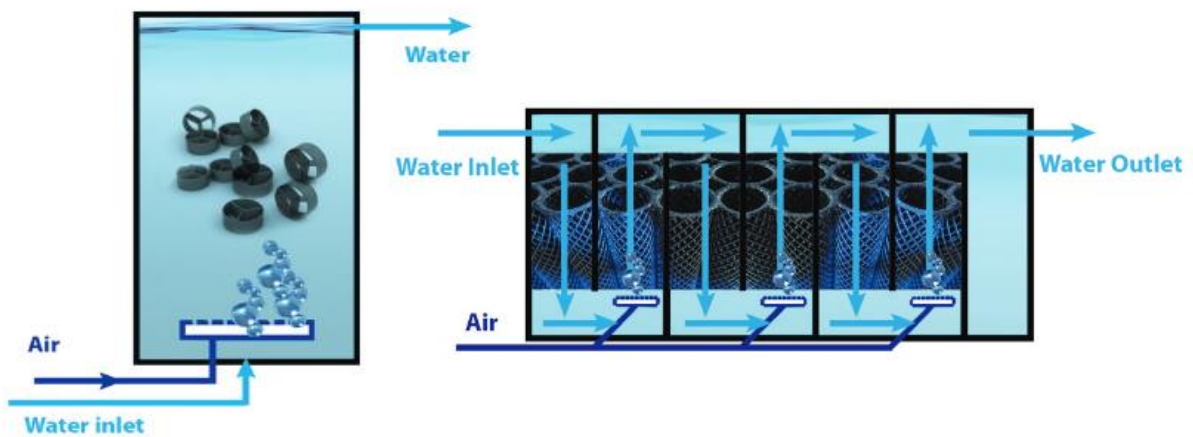


Fig. 24 – Biofiltro Móvel (esquerda), Biofiltro Fixo (direita) (Bregnballe, 2015).



Fig. 25 – Biofiltro móvel utilizado na Safiestela (Sea8)

➤ Desgaseificação, Aeração e Stripping

Os gases acumulados pela água durante todos estes processos devem ser removidos por aeração muitas vezes referido como *stripping*. Este processo diminui a concentração de dióxido de carbono (CO₂), azoto (N₂) e sulfeto de hidrogénio (H₂S) por contacto turbulento entre ar e água, através da injeção subaquática de ar. Contudo o processo mais eficiente é o sistema de filtro percolador (*trickling filter system*) no qual o contacto físico turbulento entre a água e o meio plástico remove os gases (Hall, 1999; Bregnballe, 2015).

➤ Oxigenação

A sobrevivência do peixe em produção e das bactérias nitrificantes aeróbicas está dependente de uma eficiente gestão da concentração de oxigénio na água. É importante manter esta concentração perto do nível de saturação ou um pouco superior a este, uma vez que se tal não for feito, os baixos níveis de oxigénio levam à redução da ingestão voluntária de alimento, FCR, taxas de crescimento e produção. O oxigénio adicionado pode ser atmosférico ou puro. No primeiro caso o gás é introduzido através de aerificação da água, quer nos tanques, quer nos filtros biológicos. O oxigénio puro por sua vez, pode ser produzido através de geradores de oxigénio ou pode ser comprado e armazenado como líquido num tanque que transforma o líquido num gás e o fornece diretamente aos tanques. Para difundir o oxigénio na água eficientemente utilizam-se sistemas de tubos em U, injetores contracorrente ou sistemas de microbolhas com o objetivo de facilitar a dissolução do oxigénio na água e reduzir as perdas para a atmosfera como acontece na aerificação (Helrich e Libey, 2013; Cabral, 2014).

Em condições ótimas, a concentração de oxigénio à saída dos tanques de peixe situa-se normalmente nos 70%, concentração esta que sofre nova diminuição nos tratamentos biológicos. O sistema de oxigenação descrito anteriormente repõe os valores de O₂ para os 90%. Contudo, o ideal é possuir uma saturação de 100% ou mais na água, sendo que para se atingir a sobressaturação é necessário utilizar um sistema de oxigenação por oxigénio puro. É, então, vital a existência de um sistema de medição de níveis de oxigénio na água, em diferentes pontos do sistema de

aquacultura (por exemplo entrada e saída da água nos tanques e biofiltro) para controlar este parâmetro (Figura 26) (Bregnballe, 2015).



Fig. 26 – Cone de Dissolução de Oxigênio Puro e Sensor de Níveis de Oxigênio (Bregnballe, 2015).

➤ **Lâmpadas UV**

As lâmpadas UV providenciam uma eficiente defesa contra bactérias, vírus e organismos unicelulares conseguindo eliminar até cerca de 90% desses organismos recorrendo a comprimentos de onda que destroem o DNA nesses mesmos organismos, podendo ainda catalisar a conversão de O_3 (Ozono) para O_2 . Estas devem ser totalmente imersas na água a tratar, uma vez que se se encontrarem sob a água a reflexão superficial da luz vai diminuir a sua eficiência. Para além disso, a quantidade de água que passa pelas lâmpadas deve ser dimensionada de acordo com o tamanho das lâmpadas, de modo a garantir a sua eficiência. (Würtele *et al*, 2011; Cabral, 2014; Bregnballe, 2015).

➤ **Ozono**

O tratamento por ozono é utilizado na Safiestela e é uma alternativa ao tratamento por lâmpadas de UV, também muito eficiente na destruição de organismos patogénicos recorrendo à extrema oxidação destes e de matéria orgânica. Este processo elimina compostos microscópicos suspensos e torna a água especialmente límpida. Contudo é considerado um tratamento perigoso, quer para o peixe produzido, quer para os trabalhadores se não for calibrado e gerido atentamente, uma vez que pode formar produtos perigosos como o hipoclorito e o hipobromito. (Helrich e Libey, 2013; Bregnballe, 2015).

➤ **Regulação de pH**

Como referido anteriormente, espera-se um decréscimo de pH em processos como os de nitrificação. Por conseguinte é necessário a adição de uma base à água para controlar deste parâmetro. Sistemas de regulação podem ir desde uma estação de mistura e gotejamento de Hidróxido de Cálcio diluído até sistemas de dosagem automática de Hidróxido de Sódio (Bregnballe, 2015). Na Safiestela, estes sistemas não são utilizados, uma vez que o processo de *stripping* reequilibra os valores de pH.

➤ **Regulação da Temperatura da Água**

Num sistema de recirculação de água, a temperatura da água poderá lentamente aumentar devido à energia transferida para esta dos processos envolvidos no ciclo de produção. O equilíbrio pode ser reestabelecido pela adição de água nova no sistema de menor temperatura ou por instalação de permutadores de calor, cuja energia necessária ao funcionamento pode ser obtida através da rede de eletricidade da própria infraestrutura ou através da colheita de energia do ar ou da própria água. Estes permutadores podem depois ser utilizados para aquecer ou arrefecer a água segundo o pretendido (Bregnballe, 2015). A água pode ainda ser aquecida diretamente ou através do aquecimento do ar no próprio edifício, ainda que estas opções não sejam tão

viáveis, devido ao facto de, no primeiro caso o estabelecimento poder tomar características que degradam o ambiente de trabalho (altas temperaturas e humidade) e, no segundo, ser necessário tanques com isolamento térmico que além de serem dispendiosos têm tampa para enclausurar o calor, o que não permite trocas gasosas da água com o ar nem a visualização e alimentação dos peixes (Bregnballe, 2015; Helrich, L. e Libey, G. 2013).

2.2. Reprodutores e Seu Maneio

O domínio total da desova e maturação dos indivíduos em aquacultura torna-se muito importante, permitindo a produção de novas gerações durante todo o ano. Muitos fatores ambientais afetam a reprodução de espécies marinhas em cativeiro e como resultado, a indução da postura é muitas vezes feita por vias hormonais. Os reprodutores têm de ser capturados do meio selvagem, já que em cativeiro as gerações seguintes vão perdendo capacidade reprodutiva (Cabral, 2014; Morais *et al*, 2014; Bjorndal *et al*, 2015). Uma vez que as fêmeas produzidas em cativeiro ocasionalmente conseguem-se reproduzir com sucesso com machos F1 selvagens, o problema parecer estar com os machos produzidos em cativeiro. Serão necessários mais estudos para identificar e tentar encontrar solução para este problema (Bjorndal *et al*, 2015).

No período de julho a dezembro, os reprodutores são capturados no meio natural e sofrem um processo de adaptação (Dinis e Sarasquete, 1999; The Fish Site, 2015) que, na Safiestela, pode ultrapassar os 12 meses. É aconselhável manter estes indivíduos na escuridão e em tanques com uma pequena camada de substrato arenoso para facilitar o processo de adaptação (Dinis e Sarasquete, 1999). Nesta altura, os animais capturados devem ser mantidos em tanques com uma profundidade de 50 a 80 cm e uma área mínima de 3m², perfazendo uma densidade de 1 a 1,5 kg de peixe por m² (Dinis e Sarasquete, 1999 ; Imsland *et al*, 2003; Bjorndal *et al*, 2015; The Fish Site, 2015). A dieta dos reprodutores deve consistir em alimento composto e

alimento natural, o fotoperíodo deve corresponder ao natural e a salinidade deve estar no intervalo de 33-35‰ (Imsland *et al*, 2003; The Fish Site, 2015).

Para garantir as ótimas condições à reprodução, devem existir nos tanques dois machos para cada fêmea e a temperatura deve ser mantida entre 16 e 22°C (Imsland *et al*, 2003; Morais *et al*, 2014; Bjorndal *et al*, 2015; The Fish Site, 2015).

A temperatura e os termo-ciclos diários da água podem ser utilizados para induzir a maturação e a desova, tal como acontece na Safiestela (Bjorndal *et al*, 2015). Além da manipulação por temperatura e fotoperíodo, outras técnicas já foram induzidas com sucesso em *Solea senegalensis* tais como a manipulação hormonal (Bjorndal *et al* 2015). De março a julho e em outubro, a desova ocorre naturalmente nos tanques, com uma taxa de fertilização que se fixa geralmente no intervalo dos 45 a 80% (Morais *et al*, 2014; Bjorndal *et al*, 2015; The Fish Site, 2015).

A Safiestela segue todas as guias bibliográficas apresentadas anteriormente e consegue, manipulando a temperatura e o fotoperíodo, apresentar desovas durante todo o ano, tendo assim uma produção contínua de juvenis. Os indivíduos captados do meio selvagem passam por um período de quarentena e aclimatização no qual são sujeitos a testes sanguíneos para averiguar a existência de doenças bacterianas ou víricas e injeção de chips que os identificam com um número de série no qual está aliado o sexo. Após esse período são transferidos para as salas dos reprodutores, que estão organizadas em Winter, Autumn, Spring e Summer, de acordo com o período em que em cada uma se desenrola a desova (Figura 27). A sala Winter e Spring têm três tanques e as Autumn e Summer têm quatro e cinco, respetivamente, sendo que cada tanque tem um coletor de ovos cilindro-cónico acoplado equipado com uma malha de 400 µm.

As rotinas diárias nestas salas passam pela alimentação dos reprodutores com alimento seco ou com mexilhão e poliquetas, caso se trate da época de reprodução e desova, limpeza dos tanques, verificação dos permutadores de calor e filtros UV e limpeza dos filtros de areia.



Fig. 27 – Sala de Reprodutores Autumn. Fotografia tirada por Daniel Gavina

2.3. Ovos e Larvas

Os ovos pelágicos, coletados usando métodos de captação superficiais, são mantidos no mesmo circuito que os reprodutores de modo a manterem a mesma temperatura e salinidade. De seguida, os ovos viáveis, aqueles que flutuam em salinidades com valores acima dos 30‰, são selecionados e transferidos para os tanques da sala de incubação, que funciona em sistema aberto. Em incubação é importante haver controlo do fotoperíodo para se conseguir um correto e mais eficiente desenvolvimento dos ovos e das larvas. A iluminação com luz azul é a mais eficiente, maximizando a eclosão com valores superiores a 90%. A incubação dos ovos é feita com temperaturas entre 18 a 21°C e estende-se por um período de tempo aproximado

de 42 horas (Imsland *et al*, 2003; Bjorndal *et al*, 2015). Após a eclosão, as larvas têm um comprimento entre 3 e 5 mm (4-5mm em The Fish Site; 3-4mm em Dinis e Sarasquete, 1999; 3mm em Bjorndal *et al*, 2015) (Figura 30). Estas são transferidas para tanques cilindro-cônicos, mantidas a 16-23°C, salinidade de 33-35‰ e a uma densidade óptima estimada nas 40 a 100 larvas/litro (Dinis e Sarasquete, 1999; Imsland *et al*, 2003; Bjorndal *et al* 2015; The Fish Site, 2015).

Na Safiestela as larvas são depois transferidas, 2 a 3 dias depois da eclosão, para as salas de cultivo larvar (Figura 28) após ser feita uma quantificação do número de larvas em cada tanque. Estas salas funcionam em sistema aberto e acondicionam as larvas em vários tanques (6 por sala) com capacidade de 100 000 larvas cada. As larvas ocupam toda a coluna de água, já que são pelágicas (Figura 29). Na sala de incubação procede-se, nesta altura à limpeza e desinfecção dos tanques.



Fig. 28 – Sala de Cultivo Larvar. Fotografia tirada por Daniel Gavina

Dois a três dias após a eclosão, na altura da primeira alimentação, as larvas devem ser nutridas e alimentadas por rotíferos (*Brachionus plicatilis*) enriquecidos durante 3 dias, procedendo-se, de seguida, a uma alimentação com base em *Artemia nauplii*. A *Artemia metanauplii* enriquecida com ómega 3 é introduzida apenas aos 9 a 12 dias após eclosão. Esta sala segue o crescimento das larvas até ao momento da metamorfose, processo após o qual as larvas tornam-se bentónicas e deslocam-se

para o fundo do tanque. A figura 32 apresenta as curvas de crescimento desta espécie para peso e comprimento nos primeiros 15 DAH (*days after hatching*).

Antes da recepção das larvas procede-se à preparação dos tanques e limpeza destes e depois da retirada das larvas desta sala procede-se de novo à limpeza e desinfecção dos tanques. Diariamente, as atividades relacionadas à sala de cultivo larvar consistem em controlar os parâmetros (Temperatura: 18-20°C; [O₂]: 90 – 110%), calcular o alimento necessário a fornecer de acordo com o estado de crescimento das larvas, medição destas (através de amostras de cada tanque) e distribuição do alimento vivo pelos tanques de cultivo larvar. Procede-se também à retirada das larvas e transferência destas para a sala de desmame aquando da metamorfose.

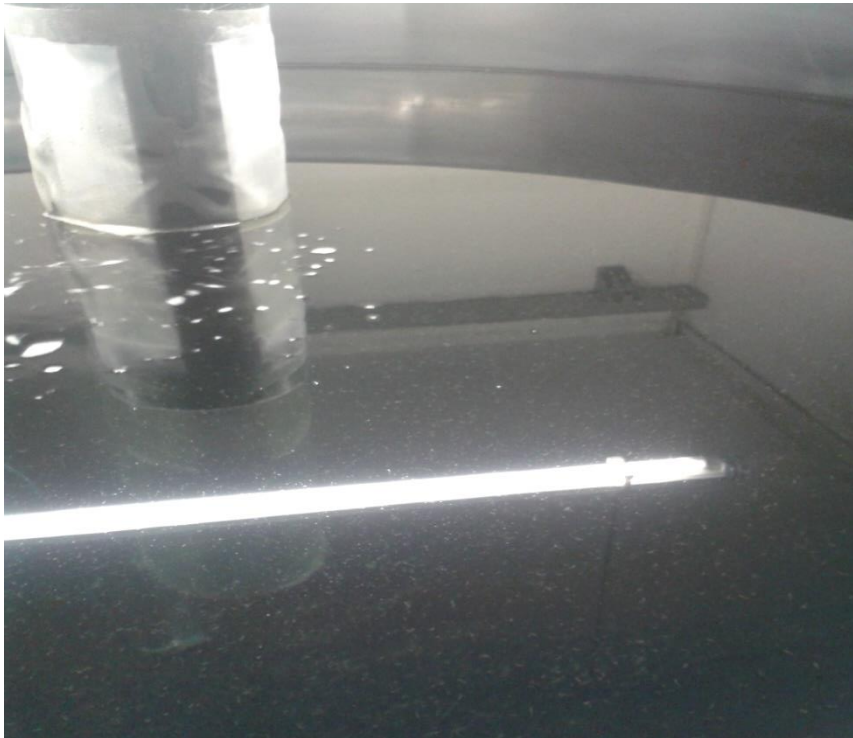


Fig. 29 – Larvas em tanque utilizado para cultivo larvar. Fotografia tirada por Daniel Gavina

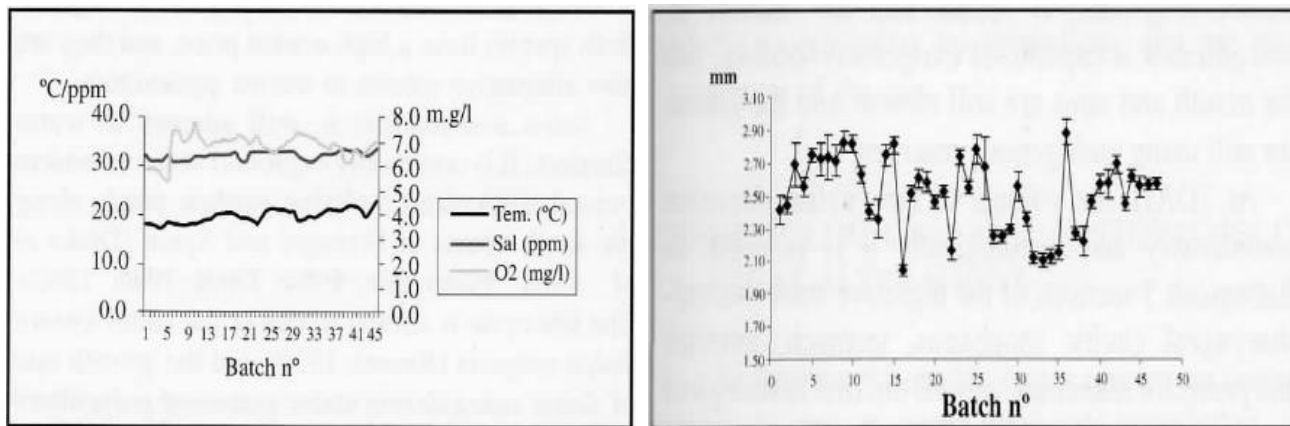


Fig. 30 – Parâmetros Ambientais da Desova e Variação de Tamanho para Larvas Recém-Eclodidas (Dinis e Sarasquete, 1999)

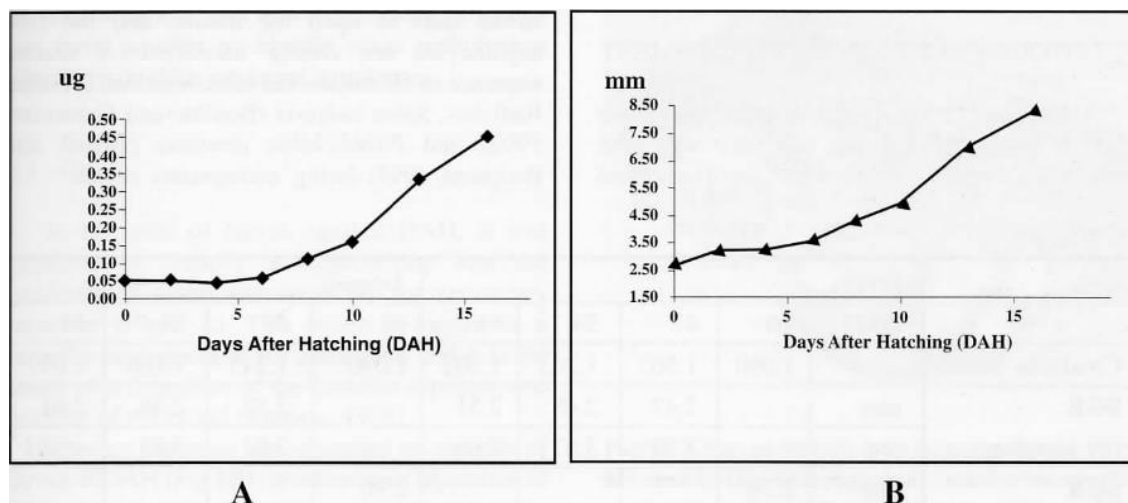


Fig. 31 – Curvas de Crescimento de Larvas *Solea Senegalensis* - Peso (A) e Comprimento (B) (Dinis e Sarasquete, 1999).

2.4. Cultivo de Rotíferos

Os rotíferos (*Brachionus plicatilis*) são produzidos na sala de alimento vivo em tanques com capacidade de 600L. Têm um ciclo de vida que pode ser fechado por duas distintas formas de reprodução, vivem em média durante 3,4 a 4,4 dias (25°C) e as suas larvas chegam ao estado maduro num período que varia entre os 0,5 e os 1,5 dias. Durante a partenogênese, as fêmeas amícticas podem produzir ovos amícticos (diplóides 2n), que por sua vez dão origem a novas fêmeas amícticas ou em ocasiões ambientais específicas dar origem a fêmeas amícticas e mícticas, sendo que estas últimas formam ovos haplóides. Os de menor dimensão transformam-se depois em machos também eles haplóides e os de maior dimensão e fertilizados por um macho dão origem a fêmeas amícticas, num processo de reprodução sexuada (Figura 32) (FAO, 1996).

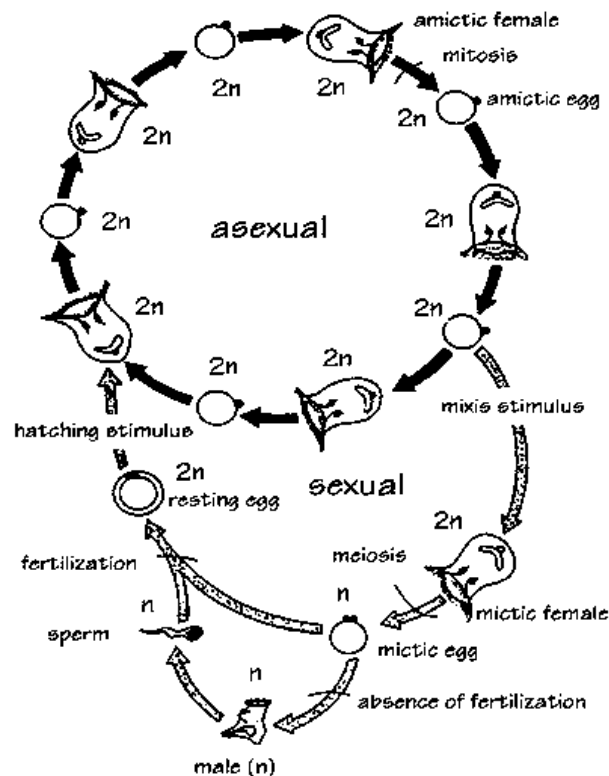


Fig. 32 – Ciclo de Vida de *Brachionus plicatilis* (FAO, 1996).

Para produção otimizada dos rotíferos, utiliza-se salinidades não superiores a 35‰ e pH superiores a 6,6. A temperatura ideal depende do seu morfotipo, já que os de tipo L (de maiores dimensões; utilizados na Safiestela) necessitam de temperaturas inferiores aos de tipo S. Contudo, de maneira generalizada as temperaturas ideais situam-se entre 15 e 25°C, denotando-se uma maior eficiência a temperaturas mais elevadas (Tabela 5) (FAO, 1996).

Tab. 5 – Efeito da Temperatura na Ação Reprodutiva de *Brachionus plicatilis* (FAO, 1996).

Temperature (°C).	15°C	20°C	25°C
Time for embryonic development (days).	1.3	1.0	0.6
Time for young female to spawn for the first time (days).	3.0	1.9	1.3
Interval between two spawnings (hours).	7.0	5.3	4.0
Length of life (days).	15	10	7
Number of eggs spawned by a female during her life.	23	23	20

Na unidade aquícola Safiestela os rotíferos são mantidos a 25°C e são produzidos continuamente. Quando há necessidade de rotíferos para alimentação larvar, a quantidade necessária para esse dia é transferida de um dos tanques de 600L para outro de menor capacidade onde são enriquecidos durante 24h antes de serem captados para servirem de alimento às larvas. No caso dos rotíferos, a rotina consiste em criação de novas gerações, captação e transferência de rotíferos para enriquecimento, captação de rotíferos enriquecidos para alimento, cálculo da alimentação e enriquecedor necessário aos rotíferos assim como quantificação destes (por meio de amostragens), alimentação e enriquecimento dos rotíferos e limpeza e desinfecção de tanques e tubos de ar e oxigênio.



Fig. 33 – Tanque de cultura de Rotíferos (Sea8)

2.5. Cultivo de Artémia

A artémia é também produzida na sala de alimento vivo em tanques de 300 e 600L, segundo a sua necessidade para alimentação larval e dos juvenis em desmame. Os náuplios de artémia são o alimento mais utilizado em unidades de produção larvar, devido às características dos seus embriões que podem adquirir um estágio dormente, denominado cisto.

Após incubação dos cistos (embriões dormentes) de artémia durante 24 horas, dá-se a eclosão dos náuplios, após a qual deve ser feita uma separação dos náuplios dos materiais envolvidos com a eclosão (cistos não eclodidos, cápsulas e metabolitos envolvidos na eclosão). Para tal, o fornecimento de ar é interrompido, o que resulta na flutuação dos materiais a eliminar e na migração para o fundo do tanque dos náuplios e de cistos não eclodidos. Os náuplios podem ser deixados assentes no fundo do tanque no máximo durante 5 a 10 min pois correm o risco de morrer por falta de oxigenação. Após esse período devem ser coletados num filtro que elimina contaminantes e restos de metabolitos ligado ao processo de eclosão. A incubação dos cistos, na Safiestela, decorre durante 24 horas a temperaturas de 30°C com injeção de ar e oxigénio na água e iluminação constante (figura 34). Além disso, como o pH da água baixa durante o processo de eclosão, devido aos metabolitos, há o controlo deste parâmetro, utilizando-se uma base, nomeadamente o NaOH (hidróxido de sódio). A separação dos náuplios dos outros compostos resultantes da eclosão é feita recorrendo-se a um filtro com anéis magnéticos, o separte, que retém os cistos que são previamente revestidos de uma película de natureza magnética. Após esse processo os náuplios são transferidos para outro tanque onde são enriquecidos a 27°C, com injeção de ar e oxigénio na água e iluminação constante também durante 24h (figura 34). Nos tanques em enriquecimento também se faz o controlo de pH adicionando-se NaOH.



Fig. 34 – Tanques na sala de cultivo larvar: artémia em incubação (esquerda) e artémia em enriquecimento (direita). Foto tirada por Daniel Gavina

Por fim, os náuplios são armazenados a baixa temperatura e fornecidos ao longo do dia aos linguados. Os náuplios de artémia podem ainda ser conservados a -10°C com o objetivo de não os deixar evoluir para o seu estado de meta náuplio a densidades de 8 milhões de organismos/litro durante 24 horas.

Nesta sala procede-se diariamente à quantificação de artémia necessária num prazo de 48 h, incubação de cistos necessários para originar esse valor, recolha de artémia recém-eclodida e enriquecida, enriquecimento de artémia, controlo de pH, cálculo de quantidade de artémia para cada tanque no desmame e limpeza e desinfeção de tanques recém utilizados.

Há que ter em atenção a adequação do tamanho dos náuplios fornecidos ao tamanho do animal de forma a garantir a sua ingestão e evitar mortalidade das larvas por falta de alimento. Desde que a ingestão não seja afetada, a utilização de náuplios de maior tamanho é até aconselhada de forma a economizar a energia despendida na captação de uma maior quantidade de náuplios (FAO, 1996).

2.6. Período de Desmame

A metamorfose inicia-se aos 9-11 dias após eclosão e está completa aos 20-30 dias após eclosão, processo depois do qual os juvenis são transferidos para *raceways* ou tanques de fundo raso (Figura 35) com uma densidade entre 500 e 3000 larvas por m² segundo (Bjorndal *et al*, 2015; The Fish Site, 2015). Há a possibilidade, aquando da transferência para estes tanques, de manter a alimentação com metanauplii congelados combinados com alimento inerte de tamanho adequado ao tamanho da boca dos juvenis (Dinis e Sarasquete, 1999; Bjorndal *et al*, 2015; The Fish Site, 2015).



Fig. 35 – Tanque de fundo raso na sala de desmame (Sea8).

O início do período do desmame de linguados varia entre autores. Segundo Dinis e Sarasquete (1999) e Imsland *et al* (2003), iniciar o desmame quer aos 30 dias ou mais tarde, 6 meses, leva a resultados pobres, levando vários autores a concordar que o melhor procedimento a tomar é equilibrar a sobrevivência e os custos, ainda que essa sobrevivência não seja a melhor. As curvas de crescimento em peso e comprimento para o desmame realizado por Dinis e Sarasquete, 1999, onde se recorreu ao início deste processo a partir dos 40 DAH, alimentando-se os juvenis com artémia e pellets comerciais, estão representadas na figura 36 (Dinis e Sarasquete, 1999).

O conhecimento das necessidades nutricionais das larvas de linguado ainda é insuficiente. Sabe-se que *Solea senegalensis*, comparativamente a larvas de outras espécies, apresenta uma menor necessidade de DHA (ácido docosahexaenóico) e isto pode acontecer devido às suas presas de meio natural terem predominância de EPA (ácido eicosapentaenóico). Uma técnica que têm resultado para aumentar a qualidade das pós larvas é o Co-feeding (utilização conjunta de alimento vivo e ração inerte, esta

em crescente concentração, durante parte do período de desmame) (Bjorndal *et al*, 2015).

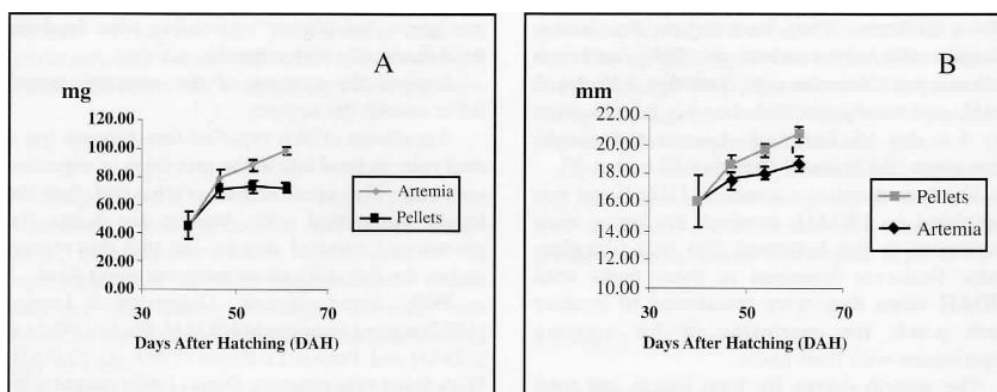


Fig. 36 – Desmame de *Solea senegalensis* – Crescimento em Peso (A) e Comprimento (B) (Dinis e Sarasquete, 1999).

Na Safiestela, a sala de desmame (Figura 37) funciona em sistema aberto e é dividida em desmame 1 e desmame 2. O desmame 1 recebe larvas no fim da metamorfose, e o desmame 2 recebe as pós-larvas já em fim de período de desmame e nas primeiras fases de alimentação unicamente por ração. Esta sala encontra-se geralmente na penumbra. Por esta sala representar a etapa mais sensível da produção e a mais suscetível a mortalidades elevadas, há um grande controlo dos parâmetros e condições de produção. Os sistemas 1 e 2 devem apresentar valores de 19 a 21°C de temperatura, 30 a 35‰ de salinidade e valores aproximados de 8 para pH. É feito o controlo, de 4 em 4 horas, da concentração de oxigénio nos tanques. Quanto à alimentação, o desmame 1 requer alimentação à mão de artémia, havendo também alimentadores automáticos para dosear ração aquando do começo do período de co-feeding. O desmame 2 é provido de alimentadores automáticos que fornecem a ração aos juvenis. É ainda realizado, nesta sala, a limpeza e desinfeção de tanques, o acerto das taxas de renovação de água, as triagens de peixe, a recolha de amostras de água para análise e a deslocação de peixes para diferentes tanques do sistema 1 para o sistema 2 ou passagem de sistema 2 para a sala de pré-engorda.



Fig. 37 – Sala de desmame (Sea8).

As triagens são realizadas periodicamente com o intuito de homogeneizar as populações dos tanques de desmame, evitando a existência de juvenis e pós-larvas com dominância em tamanho e acesso ao alimento, assim como providenciando uma forma de analisar os indivíduos nesta fase de produção em busca de deformidades, despigmentações e patologias. Além disso, este processo permite eliminar indivíduos que apresentem baixo crescimento ou não atinjam os parâmetros de qualidade mínimos estabelecidos pela empresa para esta fase. Para este fim utilizam-se cestas de malha do tamanho pretendido para o tanque de destino final (Figura 38). O peixe mais pequeno é retido e após triagem são mantidos em outro tanque ou eliminados.

Após os juvenis atingirem um peso aproximado de um grama, são transportados para a sala de pré-engorda.



Fig. 38 – Triagem dos indivíduos em desmame (Sea8).

2.7. Pré Engorda

Os juvenis, quando atingem 1 grama, são então transferidos para a sala de pré-engorda, onde são depositados em shallow raceways (figura 39), iluminados por lâmpadas de tom azul que reproduzem a luminosidade existente no meio natural bentónico. Nesta sala, temperatura, pH, salinidade e concentração de oxigénio da água são controlados. Os juvenis são alimentados por alimentadores automáticos. Periodicamente realizam-se triagens, tal como no desmame, pelo mesmo motivo, ainda que recorrendo a um método diferente, uma vez que a triagem nesta sala é realizada através de uma máquina que a realiza baseando-se em análises de dispersão. A sala da pré-engorda funciona em sistema aberto.

Os juvenis, na Safiestela, depois de atingirem os 6 meses de idade são transferidos para a unidade da Torreira, em Aveiro (engorda, crescimento e comercialização).



Fig. 39 – Sala de pré-engorda (Sea8).

2.8. Controlo Qualidade de Água

É necessária uma contínua gestão, registo e ajustamento dos parâmetros da água para garantir condições perfeitas de produção, sendo que existem intervalos de segurança para cada um deles que definem o biologicamente aceitável. Numa aquacultura, existem flutuações destes em todo o ciclo de produção, pelo que se torna importante evitar situações nas quais estes atinjam valores desfavoráveis ou até tóxicos. Não se podem inferir valores exatos, uma vez que estes diferem de espécie para espécie cultivada. Já que para as espécies de linguado não existem valores específicos pode-se apenas aferir intervalos preferíveis destes parâmetros em RAS (Tabela 6) (Bregnballe, 2015).

Na Safiestela, esta gestão, registo e ajustamento é realizado diariamente, recorrendo a amostragens de água dos sistemas de desmame e pré-engorda. São registados os valores de amónia e nitritos, indicativos da eficiência do biofiltro, através da reação de salicilato de amónia e cianurato de amónia com a água amostrada (método salicilato) e da utilização do reagente *Nitriver 3* (método diazótico) respetivamente. É ainda registada a concentração de cloro e oxigénio na água, os valores de transmitância e pH da água e o potencial redox.

Tab. 6 – Intervalos Preferíveis para Diferentes Parâmetros de Qualidade de Água, Químicos e Físicos num Sistema de Recirculação de Água (Bregnballe, 2015).

Parameter	Formula	Unit	Normal	Unfavourable level
Temperature		°C	Depending on species	
Oxygen	O ₂	%	70-100	< 40 and > 250
Nitrogen	N ₂	% saturation	80-100	> 101
Carbon dioxide	CO ₂	mg/L	10-15	> 15
Ammonium	NH ₄ ⁺	mg/L	0-2.5 (pH influence)	> 2.5
Ammonia	NH ₃	mg/L	< 0.01 (pH influence)	> 0.025
Nitrite	NO ₂ ⁻	mg/L	0-0.5	> 0.5
Nitrate	NO ₃ ⁻	mg/L	100-200	>300
pH			6.5-7.5	< 6.2 and > 8.0
Alkalinity		mmol/L	1-5	< 1
Phosphorus	PO ₄ ³⁻	mg/L	1-20	
Suspended solids	SS	mg/L	25	> 100
COD	COD	mg/L	25-100	
BOD	BOD	mg/L	5-20	> 20
Humus			98-100	
Calcium	Ca ⁺⁺	mg/L	5-50	

3. Ensaio – Avaliação do Grau de Parentesco entre Reprodutores e Descendência na Fase Final de Produção de Linguado (*Solea Senegalensis*) (I)

3.1. Introdução

No âmbito do estágio na aquacultura Safiestela, foi oferecida a possibilidade de integrar em uma das últimas tarefas do projeto REPLING, a decorrer na empresa Sea8. O projeto REPLING tem como objetivo otimizar o desempenho dos reprodutores e a qualidade e performance das larvas e dos juvenis de linguado através do aperfeiçoamento dos métodos de reprodução do linguado em condições reais de produção (Sea8, 2016).

Este projeto engloba várias tarefas, nomeadamente:

- ❖ Desenvolvimento de protocolos otimizados para o controlo de reprodução de linguado;
- ❖ Formulação de alimentos inovadores de alto desempenho para reprodutores de linguado;
- ❖ Melhoramento da capacidade reprodutiva do linguado, da qualidade dos gâmetas e da performance larvar;
- ❖ Desenho e desenvolvimento de um plano de seleção genética para melhoria de produção em linguado;
- ❖ Promoção e difusão dos resultados.

Este ensaio, inserido na tarefa de “desenho e desenvolvimento de um plano de seleção genética para melhoria de produção”, tem como objetivo a avaliação do parentesco existente entre os reprodutores pertencentes ao stock da Safiestela (capturados no meio selvagem) e a descendência, presente nas fases finais de produção (fase da engorda nas instalações da Aquacria, na Torreira) com o intuito de averiguar: 1) o contributo de cada reprodutor para o “offspring” nas épocas reprodutivas e 2) identificar os reprodutores que obtêm descendência com maior crescimento no final do ciclo de produção. Esta tarefa permitirá fazer uma caracterização genética dos reprodutores, que no futuro poderá ser utilizada para seleccionar os reprodutores, e reestruturar os indivíduos na sala de reprodutores da Safiestela, de maneira a providenciar métodos de reprodução mais eficientes e que levem a um aumento na quantidade e qualidade da produção.

A seleção dos reprodutores, em função do seu desempenho reprodutivo, é de facto muito importante para garantir uma descendência que seja viável e caracterizada por alta taxa de sobrevivência e de crescimento. Um aumento gradual da consanguinidade e a conseqüente diminuição da variabilidade genética, dentro da unidade de produção, pode levar a vários problemas, tais como menor capacidade de resistência ao stress, a alterações ambientais e a agentes infecciosos (Madeira, 2008; Smallbone *et al*, 2016). Deste modo, um rigoroso controlo reprodutivo leva a uma diminuição da incidência de consanguinidade com repercussões muito positivas quer a nível económico, quer a nível biológico.

Grande percentagem dos indivíduos que apresentam esta diminuição de performance são descendentes de casais consanguíneos (casais com algum grau de parentesco) já que os mesmos estão relacionados com homozigotia recessiva e têm maior probabilidade de gerar indivíduos homozigóticos (Filho, 2002; Beiguelman, 2008). Assim, os endocruzamentos podem causar uma dominância de genótipos homozigóticos, o que, caso essa homozigotia não provoque mortalidades ou afete a viabilidade dos organismos, não irá influenciar a frequência alélica que se manterá a mesma ao longo de várias gerações endogâmicas (Beiguelman, 2008; Filho, 2002). Contudo, se um dos alelos provocar redução da viabilidade ou mesmo mortalidade levará a mudanças nas frequências alélicas, assim como nas frequências genotípicas, levando à depressão endogâmica. A depressão endogâmica caracteriza-se por um aumento de indivíduos com baixa viabilidade devido à grande proporção de homozigotos com o alelo causador de problemas na população, o que é mais frequente (Filho, 2002).

Para medir a consanguinidade ou parentesco entre dois indivíduos, pode-se calcular a frequência de partilha de genes idênticos, mesmo que estes promovam fenótipos diferentes ou causem anomalias, herdados de um antecessor comum num método denominado de Coeficiente de Parentesco ou Coeficiente de Consanguinidade indicado, geralmente, pela letra r . Recorrendo à figura 40, podemos perceber como chegar a este coeficiente.

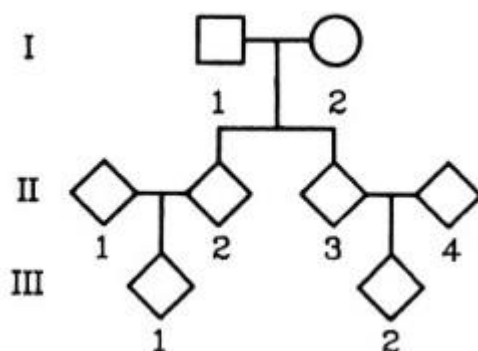


Fig. 40 – Heredograma de uma genealogia com primos em primeiro grau (III-1 e III-2) (Beiguelman, 2008)

Os indivíduos III-1 e III-2 são primos diretos. Vamos supor que o indivíduo III-1 é heterozigótico ($A\alpha$). O cálculo do coeficiente de consanguinidade deste com o indivíduo III-2 em relação ao alelo α requer a análise dos possíveis ancestrais comuns, os avós I-1 e I-2. Quanto ao indivíduo I-1, para transmitir o alelo em questão (α), teria de o passar ao II-3 e este ao III-2 ou transmiti-lo ao II-2 e o mesmo ao III-1. Em relação ao indivíduo I-2, o mesmo teria de se passar. Assim, cada possibilidade de transmissão do alelo α (transmissão a partir de I-1 ou a partir de I-2), tem dois passos genéticos, cada um com a probabilidade deste alelo passar à geração seguinte igual a $\frac{1}{2}$. Conclui-se então que a probabilidade de serem os avós (I-1 ou I-2) a transmitir o alelo é $(\frac{1}{2})^4 = \frac{1}{16}$. Por fim, se a probabilidade de serem os avós a transmitir o alelo é $\frac{1}{16}$ e tendo em conta que estes são os ancestrais comuns ao III-1 e III-2, verifica-se que o coeficiente de parentesco é de $\frac{1}{16} + \frac{1}{16} = \frac{1}{8}$ (Beiguelman, 2008).

Os programas de seleção de reprodutores utilizam marcadores moleculares como os microssatélites (Guichoux *et al*, 2011). Os microssatélites, comumente referidos como SSRs, caracterizam-se por serem repetições de sequências simples de 4 a 6 pares de base, co-dominantes, multialélicos e por se distribuírem tanto ao longo

do genoma procariótico como do eucariótico (Madeira, 2008; Dias e Mariano, 2013). Os microssatélites estão presentes nas regiões não codantes e codantes dos genes e que têm alto polimorfismo, contribuindo para a elevada variabilidade das populações (Vandeputte e Haffray, 2014).

Estes marcadores permitem traçar as origens dos indivíduos numa amostra com uma confiança de 95% apenas com 4 a 10 loci microssatélite. Estes marcadores são amplificados através de uma cadeia de polimerase (PCR, do inglês polymerase chain reaction) e primers (sequências de flanqueamento) permitindo a genotipagem dos loci microssatélites e identificação destes por eletroforese. Esta técnica tem vindo a ser utilizada frequentemente em vários estudos, assim como o método PCR Multiplex que utiliza vários primers para amplificar diferentes microssatélites numa única reação (Madeira, 2008; Dias e Mariano, 2013). Ainda assim, os microssatélites têm as suas desvantagens visto que por vezes apresentam erros de genotipagem como alelos nulos (alelos não amplificados em PCR por mutação em locais de anelamento) e drop-out (alelos bastante afastados da série principal), sendo necessário testar um maior número de marcadores (Conceição *et al*, 2009; Dias e Mariano, 2013).

Os marcadores moleculares tornaram-se muito importantes para a aquacultura moderna, providenciando uma forma de aferir o sexo em espécies sem dimorfismo sexual aparente, identificar e caracterizar stocks em cultivo, aprimorar geneticamente uma espécie aquícola em produção, construir mapas de ligação genética, entre outros (Dias e Mariano, 2013).

Neste ensaio foi realizado o estudo do parentesco entre os reprodutores da Safiestela e da parentalidade da descendência captada na fase final de produção, recorrendo ao estimador de Wang (2002) e ao programa FAP (Family Assignment Program), que utiliza o método de exclusão para computar a análise parental. Este método baseia-se no facto de cada reprodutor partilhar pelo menos um alelo por locus com cada descendente e compara os genótipos dos possíveis progenitores com os dos sucessores, eliminando do grupo dos possíveis progenitores os candidatos que não partilhem pelo menos um alelo com os descendentes (Jones *et al*, 2010).

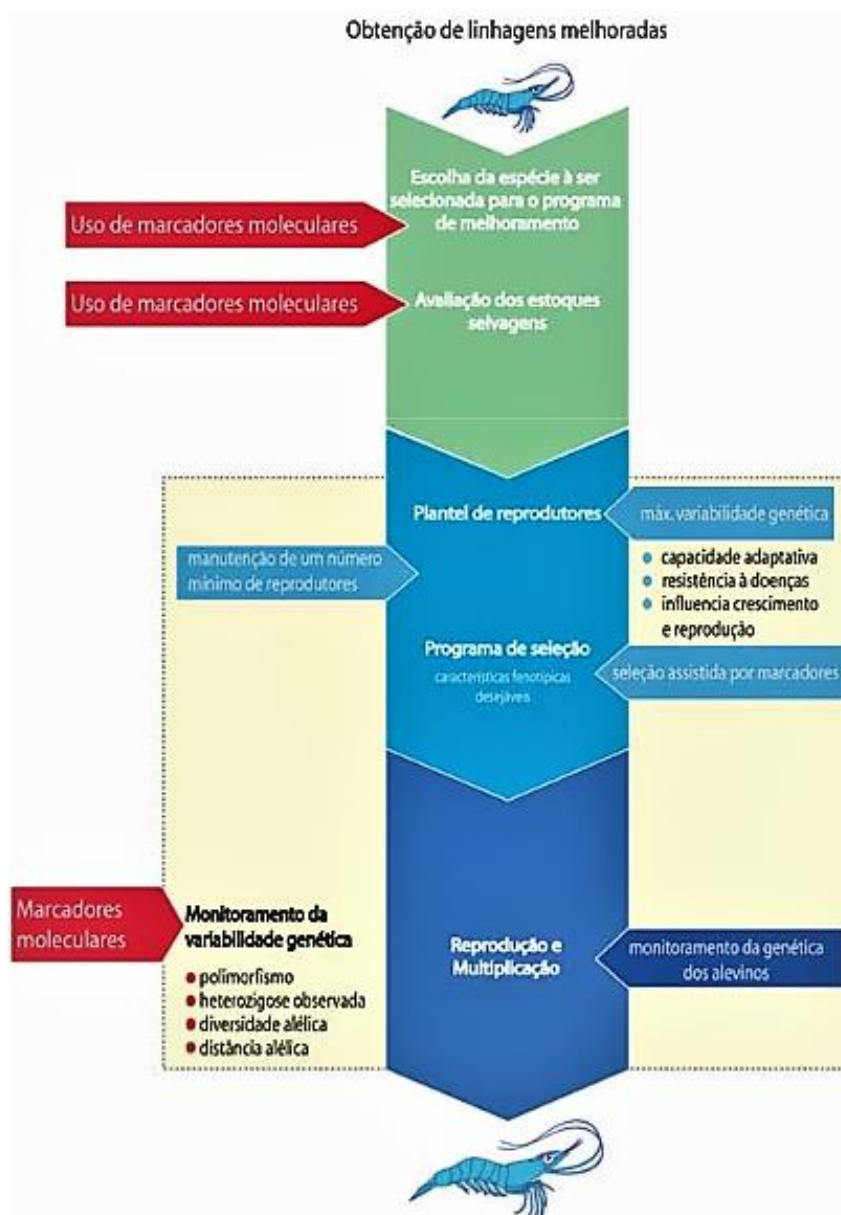
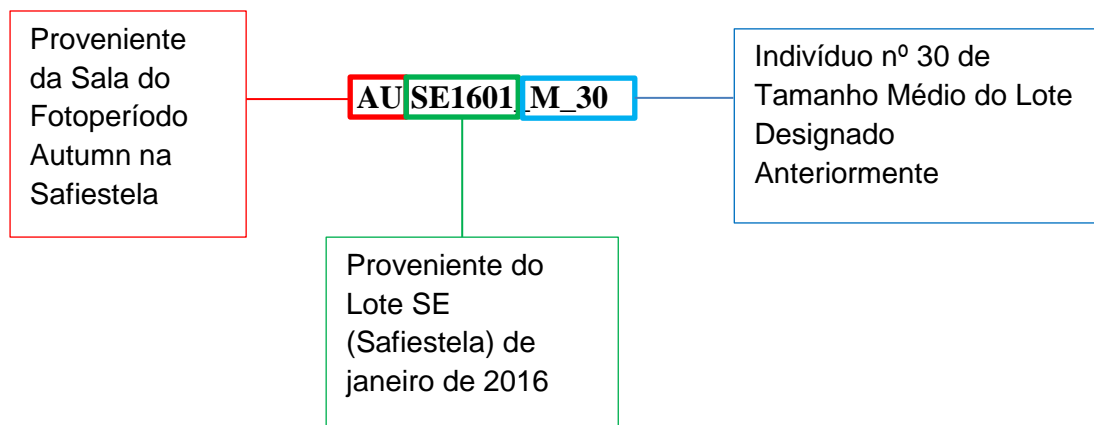


Fig. 41 – Uso de marcadores moleculares para obtenção de linhagens melhoradas (Dias e Mariano, 2013).

3.2. Metodologia

Para averiguação do grau de parentesco entre os reprodutores pertencentes ao stock Safiestela, fez-se a recolha de 287 amostras de epiderme provenientes da barbatana caudal de indivíduos diferentes. Para a avaliação do parentesco entre os reprodutores e a descendência, na fase final de produção, foram também recolhidas 990 amostras dos linguados em fase final da engorda, na unidade da Torreira, a Aquacria. As amostras provenientes da unidade Aquacria foram recolhidas atendendo ao lote e tamanho médio dos indivíduos. A codificação do lote, permite o seu rastreamento, na unidade da Safiestela, indicando proveniência, data associada (de transferência para a Aquacria) e tamanho, sendo que este se refere aos indivíduos cabeças (assinalados com G), médios (assinalados com M) e caudas (assinalados com P), por ex.:



Estas amostras dizem respeito a descendentes provenientes exclusivamente das salas Summer e Autumn (Lotes SE1503 a SE1601 e SE1609) e a descendentes que provém da atividade reprodutiva de duas salas, a de Outono e a de Inverno (Lote SE 1602).

As amostras recolhidas foram processadas pela empresa Acuigen, usando para cada amostra 8 marcadores microssatélite. Resumidamente, a extração de DNA foi realizada através de uma resina de extração (Chelex) que permite a obtenção rápida e com qualidade suficiente para a sua amplificação por PCR. Após extração de

DNA os microssatélites selecionados foram combinados com uma ferramenta molecular, desenvolvida por Acuigen e Geneaqua, e foram amplificados usando um PCR Multiplex. Foram amplificados quatro marcadores em cada um dos multiplex, identificados por fluoróforos de cor diferente e gamas alélicas sem sobreposição. O genótipo dos indivíduos foi depois obtido através de eletroforese capilar realizada num sequenciador automático ABI 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems) e é utilizado o programa GeneMapper v.4.0 (Applied Biosystems) para se realizar a categorização das séries alélicas.

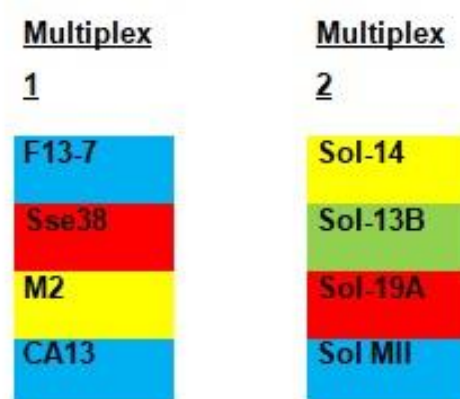


Fig. 42 – Multiplex 1 e 2 e microssatélites utilizados na genotipagem.

Através da genotipagem, o parentesco entre os reprodutores é então calculado com recurso ao estimador de Wang (2002), fornecendo os valores de coeficiente de parentesco. Os progenitores de cada descendente são determinados por análise parental de exclusão recorrendo ao programa FAP.

O coeficiente de parentesco apresenta valores entre 0 (indivíduos sem relação) e 1 (indivíduos idênticos), sendo que para meios-irmãos apresenta um valor esperado de 0,25 e para irmãos um valor de 0,5. Devido ao facto de haver um certo erro nas estimações de coeficiente de parentesco, os indivíduos são classificados em não relacionados (UR, verde - coeficiente inferior a 0,125) meios-irmãos (HS, amarelo - coeficiente entre 0,125 e 0,375) e irmãos (FS, vermelho - coeficiente superior a 0,375) (Figura 43).

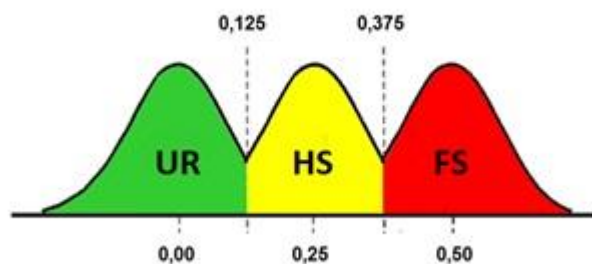
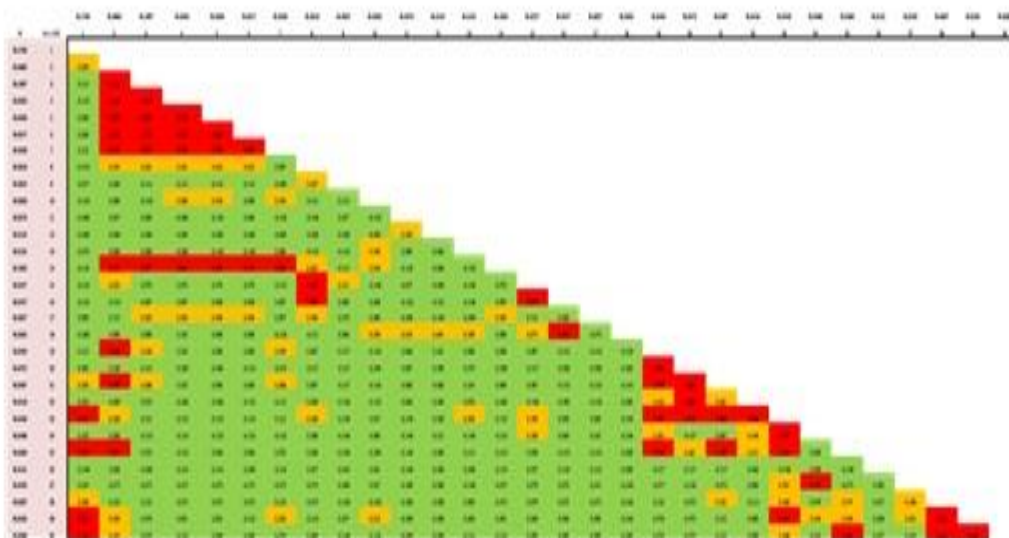


Fig. 43 – Distribuição do coeficiente de parentesco.

3.3. Resultados

O resultado final da análise de parentesco entre os reprodutores da Safiestela foi organizado numa tabela que engloba os coeficientes de consanguinidade entre todos os 287 reprodutores e os classifica com recurso ao código de cores anteriormente referido (UR – verde; HS – amarelo; FS – vermelho). A tabela em questão não está apresentada nesta página devido à sua dimensão mas assemelha-se à da tabela 7.

Tab. 7 – Exemplo de matriz de parentesco com o código de cores em utilização indicando os cruzamentos recomendados (verde).



Na tabela 8 é apresentado o coeficiente de parentesco, dentro e entre as quatro salas de reprodutores da Safiestela. O coeficiente global médio de parentesco, para o conjunto dos reprodutores destes indivíduos foi de 0,007, um valor muito próximo de zero, que indica indivíduos sem relação parental. O coeficiente de parentesco dentro e entre cada uma das salas de reprodutores é, também muito baixo.

Tab. 8 – Valores médios do coeficiente de parentesco dentro e entre cada uma das salas de reprodutores, identificadas pelo nome de cada estação do ano.

	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
Invierno	-0,004			
Primavera	-0,022	-0,035		
Verano	0,001	-0,023	0,001	
Otoño	0,005	-0,016	0,005	0,003

Contudo, a uma análise da distribuição dos diferentes tipos de cruzamentos dentro de cada sala de reprodutores, apresentada na Tabela 9, revela que, dentro de cada sala de reprodutores podem observar-se até 1,5% de cruzamentos entre irmãos e até 21% de cruzamentos entre meios-irmãos, ainda que a maior percentagem de cruzamentos pertença ao indivíduos não aparentados (>80%).

Tab. 9 – Percentagem de relações de parentesco dentro de cada sala de reprodutores, identificadas pelo nome de cada estação do ano. (UR – Unrelated, Não relacionados; HS – Half Sibling, Meio-irmão; FS – Full Sibling, Irmão)

		UR <=0.125	HS 0.125-0.375	FS >=0.375	TOTAL
Invierno	Nº DE RELACIONES DE PARENTESCO	806	171	13	990
	% DE RELACIONES DE PARENTESCO	81,41	17,27	1,31	100
Primavera	Nº DE RELACIONES DE PARENTESCO	685	131	4	820
	% DE RELACIONES DE PARENTESCO	83,54	15,98	0,49	100
Verano	Nº DE RELACIONES DE PARENTESCO	4236	977	40	5253
	% DE RELACIONES DE PARENTESCO	80,64	18,6	0,76	100
Otoño	Nº DE RELACIONES DE PARENTESCO	986	280	9	1275
	% DE RELACIONES DE PARENTESCO	77,33	21,96	0,71	100

Quanto ao estabelecimento de relações de parentalidade entre os reprodutores analisados e os descendentes verificou-se que, dos 990 descendentes amostrados,

407 (41%) não foram atribuídos a nenhum dos 287 reprodutores amostrados. Dos 583 descendentes correlacionados com os reprodutores, 285 pertencem a lotes provenientes da sala Outono (AU), 43 a lotes provenientes da sala Verão (SU) e 50 a lotes provenientes da sala Outono e Inverno (AU-WI).

A composição das famílias, organizada por sala de reprodutores, é apresentada nas tabelas 10 a 18. Nestas tabelas é apresentado o número de descendentes por sala de reprodutores, os cruzamentos originários de maior descendência, a existência ou não de uma relação entre os descendentes, com maior (cabeças) e menor (caudas) crescimento, e reprodutores específicos e evidenciam quais os reprodutores, quer machos, quer fêmeas que mais contribuem para os processos reprodutivos.

Para a descendência proveniente de reprodutores da sala de Outono, verificou-se que os cruzamentos que geraram mais descendentes foram os da fêmea 01409 do tanque R2, quer com o macho 01108 (dando origem a 42 descendentes), quer com o macho 03671 (dando origem a 44 descendentes) pertencentes ao mesmo tanque e o da fêmea 06194 com o macho 09612 (38 descendentes), ambos do tanque R2 (Tabela 10). Por reprodutor, verificou-se que de entre as fêmeas a mais contributiva para os processos reprodutivos foi a 01409, com cerca de 30% do total de descendentes, atribuídos e que em relação aos machos, a maior percentagem pertenceu ao macho 01108 por uma larga margem em relação aos outros (41,4%) (Tabela 11). A análise da relação entre reprodutores e o tamanho da descendência revela que não há um par de reprodutores que produza descendentes caracterizados unicamente por alto crescimento, visto que o cruzamento dos mesmos progenitores originou tanto indivíduos cabeças (G) como médios (M) e caudas (P) (Tabela 12).

Tab. 10 – Número e percentagem de descendentes por cada cruzamento entre reprodutores da sala de Outono.*

Famílias AUTUMN			
Hembra	Macho	Descendentes	% del total
00681_F_R4	06767_M_R4	17	5,96
01409_F_R2	01108_M_R2	42	14,74
01409_F_R2	03671_M_R2	44	15,44
02142_F_R2	01108_M_R2	22	7,72
02142_F_R2	08414_M_R2	7	2,46
02142_F_R2	09612_M_R2	18	6,32
04315_F_R4	00413_07413_M_R4	22	7,72
04315_F_R4	06767_M_R4	2	0,70
04603_F_R2	01108_M_R2	26	9,12
05269_F_R4	00413_07413_M_R4	17	5,96
06194_F_R2	01196_M_R2	1	0,35
06194_F_R2	03671_M_R2	1	0,35
06194_F_R2	09612_M_R2	38	13,33
75251_NS_R2	01108_M_R2	28	9,82
		285	100,00

* F – Fêmea; M – Macho; NS – não especificado; R – Tanque; Número associado – ID do Chip

Tab. 11 – Número e percentagem de descendentes por fêmeas e machos da sala de Outono.*

	Hembras AUTUMN	Nº Descendentes Assignados	% del total
	00681_F_R4	17	5,96
	01409_F_R2	86	30,18
	02142_F_R2	47	16,49
	04315_F_R4	24	8,42
	04603_F_R2	26	9,12
	05269_F_R4	17	5,96
	06194_F_R2	40	14,04
	75251_NS_R2	28	9,82
TOTAL	8	285	100,00
	Machos AUTUMN	Nº Descendentes Assignados	% del total
	00413_07413_M_R4	39	13,68
	01108_M_R2	118	41,40
	01196_M_R2	1	0,35
	03671_M_R2	45	15,79
	06767_M_R4	19	6,67
	08414_M_R2	7	2,46
	09612_M_R2	56	19,65
TOTAL	7	285	100,00

Tab. 12 – Análise da relação entre cruzamentos de reprodutores da sala de Outono e tamanho da descendência (G- cabeças; M – médios; P – caudas) para o lote SE1510.*

Famílias AUTUMN_SE1510				
Tamanho	Hembra	Macho	Descendentes	% del total
G	01409_F_R2	01108_M_R2	21	58,33
	02142_F_R2	01108_M_R2	4	11,11
	06194_F_R2	09612_M_R2	3	8,33
	75251_NS_R2	01108_M_R2	8	22,22
M	01409_F_R2	01108_M_R2	15	41,67
	02142_F_R2	01108_M_R2	11	30,56
	04603_F_R2	01108_M_R2	1	2,78
	75251_NS_R2	01108_M_R2	9	25,00
P	01409_F_R2	01108_M_R2	5	18,52
	02142_F_R2	01108_M_R2	7	25,93
	06194_F_R2	09612_M_R2	5	18,52
	75251_NS_R2	01108_M_R2	10	37,04

Em relação aos descendentes provenientes da sala de reprodutores de Verão, o cruzamento 00591_NS_R4 x 98759_M_R4 dominou a reprodução nesta sala, produzindo 17 indivíduos, correspondendo a 40% dos descendentes produzidos nesta

sala (Tabela 13). Por conseguinte, estes foram os reprodutores que mais contribuíram no processo reprodutivo desta sala (Tabela 14), produzindo descendentes que, em fase final de produção, pertenciam a todas as categorias de tamanho (Tabela 15).

Tab. 13 – Número e percentagem de descendentes por cada cruzamento entre reprodutores da sala de Verão.*

Famílias SUMMER			
Hembra	Macho	Descendentes	% del total
00074_F_R4	97432_M_R4	1	2,33
00074_F_R4	99943_M_R4	6	13,95
00591_NS_R4	98656_M_R4	1	2,33
00591_NS_R4	98759_M_R4	17	39,53
00591_NS_R4	99943_M_R4	1	2,33
01668_NS_R1	46410_M_R1	3	6,98
96569_NS_R2	76362_M_R2	1	2,33
97124_F_R4	97432_M_R4	4	9,30
97299_F_R4	97432_M_R4	3	6,98
97299_F_R4	98759_M_R4	2	4,65
97299_F_R4	98761_M_R4	3	6,98
98092_F_R2	80123_M_R2	1	2,33
		43	100,00

Tab. 14 – Número e percentagem de descendentes por fêmeas e machos da sala de Verão.*

	Hembras SUMMER	Nº Descendentes Asignados	% del total
	00074_F_R4	7	16,28
	00591_NS_R4	19	44,19
	01668_NS_R1	3	6,98
	96569_NS_R2	1	2,33
	97124_F_R4	4	9,30
	97299_F_R4	8	18,60
	98092_F_R2	1	2,33
TOTAL	7	43	100,00
	Machos SUMMER	Nº Descendentes Asignados	% del total
	46410_M_R1	3	6,98
	76362_M_R2	1	2,33
	80123_M_R2	1	2,33
	97432_M_R4	8	18,60
	98656_M_R4	1	2,33
	98759_M_R4	19	44,19
	98761_M_R4	3	6,98
	99943_M_R4	7	16,28
TOTAL	8	43	100,00

Tab. 15 – Análise da relação entre cruzamentos de reprodutores da sala de Verão e tamanho da descendência (G- cabeças; M – médios; P – caudas) para o lote SE1509.*

Famílias SUMMER_SE1509				
Tamanho	Hembra	Macho	Descendentes	% del total
G	00591_NS_R4	98759_M_R4	1	25,00
	97299_F_R4	97432_M_R4	3	75,00
M	00074_F_R4	97432_M_R4	1	10,00
	00591_NS_R4	98759_M_R4	5	50,00
	01668_NS_R1	46410_M_R1	1	10,00
	97299_F_R4	98761_M_R4	2	20,00
	98092_F_R2	80123_M_R2	1	10,00
P	00591_NS_R4	98759_M_R4	8	80,00
	97124_F_R4	97432_M_R4	2	20,00

Finalmente, para a descendência proveniente do conjunto de reprodutores das salas de outono e inverno (cruzamentos entre reprodutores da sala de Inverno e entre reprodutores da sala de Inverno e da sala de Outono) houve, também, um casal de reprodutores, o par 04718_NS_R2 x 05480_M_R2 que gerou praticamente toda a descendência atribuída a esta família (76%) (Tabela 16). Em relação a outras fêmeas a 04718 produziu 86% da descendência e o macho 05480 produziu 76% da descendência em comparação com os restantes reprodutores desta sala (Tabela 17). Como nos casos anteriores, independentemente do casal é gerada descendência de todos os tamanhos (Tabela 18).

Tab. 16 – Número e percentagem de descendentes por cada cruzamento entre reprodutores das salas de Outono e Inverno.*

Famílias AUTUMN-WINTER			
Hembra	Macho	Descendentes	% del total
00681_F_R4	08283_M_R4	2	4,00
01109_F_R3	07093_M_R3	1	2,00
02142_F_R2	01108_M_R2	2	4,00
04718_NS_R2	01063_M_R2	5	10,00
04718_NS_R2	05480_M_R2	38	76,00
06428_F_R3	09790_M_R3	2	4,00
		50	100

* F – Fêmea; M – Macho; NS – não especificado; R – Tanque; Número associado – ID do Chip

Tab. 17 – Número e percentagem de descendentes por fêmeas e machos da sala de Outono e Inverno. *

Hembras AUTUMN-WINTER		Nº Descendentes Asignados	% del total
	00681_F_R4	2	4,00
	01109_F_R3	1	2,00
	02142_F_R2	2	4,00
	04718_NS_R2	43	86,00
	06428_F_R3	2	4,00
TOTAL	5	50	100,00
Machos AUTUMN-WINTER		Nº Descendentes Asignados	% del total
	08283_M_R4	2	4,00
	01063_M_R2	5	10,00
	01108_M_R2	2	4,00
	05480_M_R2	38	76,00
	07093_M_R3	1	2,00
	09790_M_R3	2	4,00
TOTAL	6	50	100,00

Tab. 18 – Análise da relação entre cruzamentos de reprodutores da sala de Outono e Inverno e tamanho da descendência (G- cabeças; M – médios; P – caudas) para o lote SE1503.*

Famílias AUTUMN-WINTER_SE1503				
Tamanho	Hembra	Macho	Descendentes	% del total
G	00681_F_R4	08283_M_R4	2	12,50
	01109_F_R3	07093_M_R3	1	6,25
	04718_NS_R2	05480_M_R2	13	81,25
M	02142_F_R2	01108_M_R2	1	5,26
	04718_NS_R2	01063_M_R2	3	15,79
	04718_NS_R2	05480_M_R2	15	78,95
P	02142_F_R2	03671_M_R2	1	6,67
	04718_NS_R2	01063_M_R2	2	13,33
	04718_NS_R2	05480_M_R2	10	66,67
	06428_F_R3	09790_M_R3	2	13,33

3.4. Discussão de Resultados

Os resultados obtidos referentes ao grau de parentesco entre os 287 reprodutores do stock da Safiestela revelaram que a nível global o coeficiente médio de parentesco entre os indivíduos é próximo de 0, ou seja sem relação parental. Analisando os coeficientes de parentesco entre indivíduos da mesma sala de reprodutores, verificou-se que os cruzamentos entre meios-irmãos variaram entre 16 e 20%, e entre irmãos de 0,5 a 1,5% de cruzamentos, dependendo da sala de reprodutores. Atendendo a que todo o stock de reprodutores da Safiestela são capturados no meio natural, este grau de parentesco entre eles estará relacionado com facto de os linguados não apresentarem preferência de reprodução com indivíduos não aparentados e com as condições de captura. A proximidade dos locais de captura, assim como a seleção de indivíduos de tamanho similar poderá ter aumentado a probabilidade de captura de descendentes com algum grau de parentesco. Esta endogamia, entre o stock de reprodutores, poderá resultar em relações de consanguinidade entre a descendência diminuindo a diversidade genética, o que pode levar a uma diminuição na qualidade e quantidade da produção (Filho, 2002; Madeira 2008; Saura *et al*, 2017).

Resultados similares foram observados por Trippel *et al.* (2009), que estudou o grau de parentesco dos reprodutores F1 de uma aquacultura de hadoques (*Melanogrammus aeglefinus*) tendo-o comparado com o da população selvagem. Neste estudo, observou-se uma incidência 35,7% de cruzamentos consanguíneos e 64,3% de cruzamentos entre peixes não aparentados. Foi ainda observado que a seleção de F1, de acordo com o seu tamanho, exibiu níveis mais baixos de heterozigotia e menor diversidade genética do que uma F1 selecionada aleatoriamente. Este estudo também confirma que o hadoque parece não evitar o acasalamento com os parentes. Contrariamente, Landry *et al.* (2001) observou que o salmão do Atlântico escolhe seus companheiros de forma a aumentar a heterozigotia, presumivelmente para proporcionar à descendência melhor capacidade de defesa contra agentes patogénicos. Estes estudos confirmam que para otimizar a produção de uma aquacultura é importantíssimo evitar e minimizar ao máximo o cruzamento entre parentes. Com base na genotipagem dos reprodutores da Safiestela, efetuada

neste estudo, poder-se-á proceder à reorganização dos reprodutores das diferentes salas de modo a evitar a endogamia, bem como, se necessário, recorrer à parcial substituição do stock reprodutivo, por animais do meio selvagem.

No presente estudo verificou-se que há uma grande percentagem de indivíduos, cujos reprodutores não foram identificados, resultados que podem estar relacionados com a disparidade de amostras entre reprodutores e descendência. De facto, o stock de reprodutores da Safiestela, assim como o de várias explorações aquícolas, não se mantém o mesmo devido a diferentes fatores como a mortalidade, baixa taxa de fecundidade, entre outros, é possível que para vários descendentes, considerados nesta análise, os seus progenitores não se encontrem entre aqueles utilizados pela Safiestela aquando das amostragens. Além disso há um número de descendentes que não é atribuído com precisão, podendo os mesmos ser atribuídos a dois ou mais pares de progenitores e por essa razão não são considerados na atribuição de parentalidade, uma vez que esta tem o objetivo de selecionar reprodutores para futuros ciclos reprodutivos.

Verificou-se ainda que em todas as salas de reprodutores da Safiestela existe um ou dois cruzamentos de reprodutores que contribuem em maior escala para a obtenção de descendência. Anteriormente, Porta *et al.* (2006), de Madeira (2008) e Trippel *et al.* (2009) também observaram haver domínio de dois pares de reprodutores, relativamente a todo o stock de reprodutores e no estudo de Wang *et al.* (2006) e Herlin *et al.* (2008) verificaram, mesmo, haver domínio de um par de reprodutores. Este fenómeno, nos estudos de Trippel *et al.* (2009) e de Herlin *et al.* (2008), é justificado pelo conhecido comportamento competitivo dos machos das espécies utilizadas (hadoque – Trippel *et al.*, 2009; bacalhau – Herlin *et al.*, 2008). No caso particular do linguado senegalês, a ausência de dados sobre o seu comportamento reprodutivo, no que respeita a competição reprodutiva, dificulta a interpretação dos resultados obtidos, não se podendo falar em dominância de certos machos em reprodução. Inclusivamente, os resultados deste ensaio levam a que se considere que a dominância não desenrola um papel muito importante na produção de descendência, visto que se verifica que os machos que acasalaram com maior número de fêmeas nem sempre correspondem aos machos que produziram maior número de descendentes. Tratando-se de população F1, outra questão se levanta, relativamente ao stock de reprodutores da Safiestela. O estado de adaptação dos reprodutores às condições de cativeiro pode afetar a performance reprodutiva, podendo haver reprodutores que se encontrem reprimidos, não contribuindo para a produção de descendentes como os que já se encontram bem adaptados.

Os resultados obtidos sugerem, então, que grande parte da descendência é proveniente de um número restrito de cruzamentos, o que leva à diminuição da diversidade genética, a qual poderá condicionar a qualidade da descendência, diminuindo a sua capacidade para resistir a alterações das condições ambientais, stress e agentes infecciosos (Herlin *et al*, 2008; Madeira, 2008; Trippel *et al*, 2009). Neste contexto, uma boa gestão do stock de reprodutores, com base na sua genotipagem, e mesmo a seleção genética de reprodutores, é crucial de modo a garantir a variabilidade genética, e conseqüentemente uma alta qualidade e eficiência da fecundação e postura.

Neste estudo, foi ainda estudada a relação genética entre os progenitores e o peso/tamanho dos descendentes na última fase de produção, sendo que não foi detetada nenhuma conexão entre cruzamentos de progenitores e descendência de qualquer tamanho. Todos os progenitores produziram descendentes de 2 ou mais tamanhos. É provável que a taxa de crescimento e o peso do linguado, no final da produção, esteja relacionado a fatores ambientais de produção e comportamento dos indivíduos. Wang *et al* (2006) estudou a reprodução de um híbrido de robalo riscado (*Morone chrysops* ♀ × *Morone saxatilis* ♂) tendo concluído que estes contribuíram de maneira equilibrada para todos os tamanhos de descendência que se registaram (195-387 mm). Além disso, segundo este estudo, o efeito genético dos reprodutores no crescimento e na taxa de crescimento da descendência não foi significativo (Wang *et al*, 2016).

4. Conclusão

Com base nos resultados obtidos podemos concluir que, para a mesma sala de reprodutores da Safiestela, os reprodutores apresentam algum grau de parentalidade entre si, o que leva a encontros endogâmicos ou consanguíneos na ordem dos 20%. A possibilidade destes encontros, mesmo envolvendo percentagens baixas de endogamia (até 1,5% FS – Full Sibling (Irmão) e 21% HS – Half Sibling (Meio-Irmão), deve ser evitada de modo a diminuir o risco de perda de variabilidade genética e por conseguinte, perda qualidade da descendência. Contudo, a nível global, os 287 reprodutores avaliados apresentam grande diversidade genética, o que é corroborado pelo coeficiente de consanguinidade, que aponta para valores médios de entre todos os organismos pertencentes à amostra próximos de zero.

Conclui-se, também, que um número restrito de progenitores contribui em maior percentagem para o número de descendentes e, portanto, para o ciclo reprodutivo. Segundo os resultados é menos provável que este facto seja justificado pela dominância de certos machos, sendo mais plausível que esteja ligado às condições de produção e adaptação dos reprodutores às condições de cativeiro.

Conclui-se ainda não haver relação entre os reprodutores e o peso/tamanho da descendência, na fase final de engorda, a qual deve estar mais relacionada com as condições de produção e adaptação às mesmas.

Neste contexto, conclui-se que os tanques de reprodutores da Safiestela devem ser reorganizados para evitar consanguinidade e seleccionar reprodutores eficientes nos ciclos de produção. Os reprodutores não seleccionados não têm de ser eliminados pois, como referido anteriormente, podem apenas não estar devidamente adaptados às características ambientais. Recorrendo aos resultados obtidos pode-se proceder, no futuro, à aferição de uma proposta de seleção genética de reprodutores. Esta proposta levará à exclusão de alguns dos reprodutores, sendo necessária a captura de novos indivíduos.

5. Referências Bibliográficas

Badiola, M., Mendiola, D., Bostock, J., 2012. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*. **51**: 26-35.

Beiguelman, B., 2008. *Genética de Populações Humanas*. SBG Editora. Ribeirão Preto, São Paulo. 235pp.

Bjørndal, T., Guillen, J., Imsland, A., Øiestad, V., 2015. Sole: Production and Markets. *Globefish Research Programme*. Vol. 118. Rome. FAO 2015. 72pp.

Bjørndal, T., Guillen, J., Imsland, A., 2016. The potential of aquaculture sole production in Europe: production costs and markets. *Aquaculture Economics & Management*. **20**, 109-129.

Bregnballe, J., 2015. *A Guide to Recirculation Aquaculture: An Introduction to the New and Environmentally Friendly and Highly productive Closed Fish Farming Systems*. Edição 2015. FAO e Eurofish.95pp.

Cabral, I., 2014. *Estágio na Aquacultura Safiestela: Efeito da manipulação do fotoperíodo no crescimento e utilização do alimento em juvenis de linguado (*Solea senegalensis*)*. Dissertação de Mestrado em Recursos Biológicos Aquáticos. Faculdade de Ciências – Universidade do Porto. 52pp.

Castelo-Branco, M., 2003. Estudo da Produção de Linguado (*Solea senegalensis*, KAUP, 1858) em Tanques de Terra. Trabalho apresentado ao IPIMAR no âmbito das Provas Públicas de acesso à Categoria de Investigador auxiliar da Carreira de Investigação Científica. 180 pp.

Conceição, L., Aragão, A., Richard, N., Engrola, S., Gavaia, P., Mira, S., Dias, J., 2009. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixe. Revista Brasileira de Zootecnia. **38**, 26-35.

Dias, M. e Mariano, W., 2013. Aquicultura no Brasil: Novas Perspectivas. Vol.1. Pedro e João Editores. São Carlos. 429pp.

DGRM., 2015. Plano Estratégico para Aquicultura 2014-2020. Ministério da Agricultura e do Mar. 90pp.

Dinis, M.T., 1992. Aspects of the potential of *Solea senegalensis* Kaup for aquaculture: larval rearing and weaning to an artificial diet. Aquaculture & Fisheries Management. **23**, 515-520

Dinis, M., Sarasquete, C., 1999a. Culture of Sole, *Solea senegalensis* Kaup. Histomorphological and Histopathological Aspects. Patología, 95-105.

Dinis, M., Riberoa, L., Soaresa, F., Sarasquete, C., 1999b. A review on the cultivation potencial of *Solea senegalensis* in Spain and Portugal. Aquaculture. **176**, 27-38.

FAO., 1996. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 361.Rome. 295pp.

- FAO., 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. Rome. 233pp.
- FAO., 2015a. FAO Global Aquaculture Production Updated to 2013 – Summary Information. 4pp.
- FAO., 2015b. FAO Aquaculture Newsletter No.53 (March). Rome. 67 pp.
- FAO., 2016. The State of the World Fisheries and Aquaculture 2016. Rome. 200 pp.
- FAO., 2017. FAO Aquaculture Newsletter No.56 (April). Rome. 66pp.
- Filho, W., 2002. Mitos e realidade sobre consanguinidade ou endogamia. Revista ABCZ, **10**, 1-5.
- García, J. e García, B., 2006. An econometric viability model for ongrowing sole (*Solea senegalensis*) in tanks using pumped well sea water. Spanish Journal of Agricultural Research, **4**(4), 304–315.
- Guichoux E., Lagache L., Wagner S., Chaumeil P., Léger P., Lepais O., et al. (2011). Current trends in microsatellite genotyping. Mol. Ecol. Res. 11, 591–611. 10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x [PubMed] [Cross Ref]
- Hal, A., 1999. A comparative analysis of three biofilter types treating waste water produced in recirculating aquaculture systems. Master's Thesis in Fisheries and Wildlife Sciences. Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University. 67 pp.

Helfrich, L., Libey, G., 2013. Fish Farming in Recirculating Aquaculture Systems (RAS). Department of Fisheries and Wildlife Sciences. Virginia Tech. 19 pp.

Herlin, M., Delghani, M., Wesmajervi, M., Taggart, J., McAndrew, B., Penman, J. 2008. Analysis of the parental contribution to a group of fry from a single day of spawning from a commercial Atlantic cod (*Gadus morhua*) breeding tank. *Aquaculture*. **274**, 218-224.

Imsland, A., Foss, A., Conceição, L., Dinis, M., Delbare, D., Schram, E., Kamstra, A., Rema, P., White, P., 2003. A review of the culture potential of *Solea solea* and *S. senegalensis*. *Fish Biology and Fisheries*. **13**, 379-407.

INE., 2017. Estatísticas da Pesca 2016. Edição 2017. Instituto Nacional de Estatística. Lisboa.

Jackson, S., 2011. Keeping up with nitrate. *Tropical Fish Magazine*. February 2011 Edition, 84-88.

Jones, A.G., Small, C.M., Paczolt, K.A., Ratterman, N.L., 2010. A practical guide to methods of parentage analysis. *Molecular Ecology Resources*. **10**, 6-30.

Kamstra, A., Van Den Briel, V., Van Der Vorst, J., De Wilde, J., 2001. Farming of sole (*Solea solea*) in recirculation systems; prospects and constraints. Em: Abstracts of Contributions apresentado na Conferência Internacional de Aquacultura Europa 2001. Publicação Especial nº 29. European Aquaculture Society, pp. 127–128.

Landry, C., Garant, D., Duchesne, P., Bernatchez, L., 2001. 'Good genes as heterozygosity': the major histocompatibility complex and mate choice in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 1279–1285

Madeira, C., 2008. Contribuição Parental do Linguado do Senegal, *Solea senegalensis* (KAUP 1858), em Aquacultura. Tese de Mestrado em Biologia Marinha. Faculdade de Ciências do Mar e Ambiente – Universidade do Algarve. 39pp.

Mestre, P., 2008. Elaboração de um projecto de uma unidade de piscicultura. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa. 115 pp.

Morais, S., Aragão, C., Cabrita, E., Conceição, L., Constela, M., Costas, B., Dias, J., Duncan, L., Engrola, S., Estevez, A., Gisbert, E., Mañanós, E., Valente, L., Yúfera, M., Dinis, M., 2014. New developments and biological insights into the farming of *Solea senegalensis* reinforcing its aquaculture potential. *Aquaculture*. **6**, 1-37.

Murray *et al.*, 2014. Review of recirculation aquaculture system technologies and their commercial application. Highlands and Islands Enterprise. University of Sterling Aquaculture.

Pham, N., Meuwissen, M., Le, T., Bosma, R., Verreth, J., Lansink, A., 2016 Adoption of recirculating aquaculture systems in large pangasius farms: A choice experiment. *Aquaculture* 460, pages 90-97.

Pinto, M., 2015. Estágio na Aquacultura Safiestela: Estudo da alimentação e comportamento alimentar em reprodutores de linguado (*Solea senegalensis*). Dissertação de Mestrado em Recursos Biológicos Aquáticos. Faculdade de Ciências – Universidade do Porto. 87pp.

Porta, J., Porta, J., Martínez-Rodríguez, G. e Alvarez, M., 2006. Development of a microsatellite multiplex PCR for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) and its application to broodstock management. *Aquaculture* 256, 159-166.

Regulamento (UE) nº 504/2014 de 15 de Março de 2014. Parlamento e Conselho Europeu.

Saura, M., Villanueva, B., Fernández, J., Toro, M., 2017. Effect of assortative mating on genetic gain and inbreeding in aquaculture selective breeding programs. *Aquaculture*. **471**, 30-37.

Sea8., 2016. Projectos Concluídos. <http://www.sea8.eu/wp-content/uploads/2016/10/Projectos-Concluidos.pdf>

Sea8. *Better Fish*. <http://www.sea8.eu/pt/>

Smallbone, W., van Oosterhout, C., Cable, J., 2016. The effects of inbreeding on disease susceptibility: *Gyrodactylus turnbulli* infection of guppies, *Poecilia reticulata*. *Experimental Parasitology*. 167, 32-37.

The Fish Site., 2015. How to Farm Sole. <http://www.thefishsite.com/articles/2096/how-to-farm-sole/>

Trippel, E., Rideout, R., O'Reilly, P., Herbinger, C., Neil, S., Hamilton, L., 2009. Communal spawning leads to high potential for inbreeding in gadoid aquaculture. *Aquaculture*. **296**, 27-35.

Vandeputte, M., & Haffray, P. (2014). Parentage assignment with genomic markers: a major advance for understanding and exploiting genetic variation of quantitative traits in farmed aquatic animals. *Frontiers in Genetics*, 5, 432. <http://doi.org/10.3389/fgene.2014.00432>

Vinagre, C., 2007. Ecology of the juveniles of the soles, *Solea solea* (Linnaeus, 1758) and *Solea senegalensis* Kaup, 1858, in the Tagus estuary. Tese de Doutoramento em Biologia – Biologia Marinha e Aquacultura. Faculdade de Ciências – Universidade de Lisboa. 214 pp.

Wang, X., Ross, K., Saillant, E., Gatlin III, D., Gold, J., 2006. Quantitative genetics and heritability of growth-related traits in hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀ × *Morone saxatilis* ♂). *Aquaculture*. **261**, 535-545.

Würtele, M., Kolbe, T., Lipsz, M., Külberg, A., Weyers, M., Kneissel, M., Jekel, M., 2011. Application of GaN-based ultraviolet-C light emitting diodes - UV LEDs - for water disinfection. *Water Research*. **45**, 1481-1489.

Zhang, S.-Y., Li, G., Wu, H.-B., Liu, X.-G., Yao, Y.-H., Tao, L., Liu, H., 2011. An integrated recirculating aquaculture system (RAS) for land-based fish farming: The effects on water quality and fish production. *Aquacultural Engineering*. **45**, 93-102.