

Efeito do enriquecimento ambiental
no sucesso reprodutivo e bem-estar
animal nos reprodutores de pregado
(*Scophthalmus maximus* L.)

Daniela Soraia Rodrigues Teixeira

M
2024



Daniela Soraia Rodrigues Teixeira

**Efeito do enriquecimento ambiental no sucesso reprodutivo e bem-estar animal
nos reprodutores de pregado (*Scophthalmus maximus* L.)**

Relatório de estágio de Candidatura ao grau
de Mestre em Ciências do Mar – Recursos
Marinhos, submetida ao Instituto de Ciências
Biomédicas de Abel Salazar da Universidade
do Porto

Orientador – Doutora Carolina Castro
Categoria – Responsável pelo Dep. I&D
Afiliação – Flatlantic – Actividades Piscícolas,
S.A

Co-orientador – Doutor Benjamín Costas
Categoria – Investigador Principal
Afiliação – Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental

Co-orientador – Doutor João Saraiva
Categoria – Investigador
Afiliação – Centro de Ciências do Mar do
Algarve

Declaração de honra

Declaro que o presente relatório de estágio é da minha autoria e não foi utilizado previamente noutro curso ou unidade curricular, desta ou de outra instituição. As referências a outros autores (afirmações, ideias, pensamentos) respeitam escrupulosamente as regras da atribuição, e encontram-se devidamente indicadas no texto e nas referências bibliográficas, de acordo com as normas de referência. Tenho consciência de que a prática de plágio e auto-plágio constitui um ilícito académico.

Daniela Soraia Rodrigues Teixeira

Daniela Soraia Rodrigues Teixeira

31 de julho de 2024

Porto, Portugal

Agradecimentos

Trocar o certo pelo incerto mete medo. Trocar o certo pelo incerto torna-se uma jornada desafiadora, uma dança ousada com o desconhecido. Na minha procura por uma vida mais significativa, descobri que a verdadeira transformação começa quando temos coragem de sair da nossa zona de conforto e percorrer um novo e inexplorado caminho.

Vale a pena abraçar a incerteza.

A incerteza, muitas vezes temida, revelou-se uma aliada valiosa. Cada desafio, cada curva inesperada, tornou-se uma oportunidade para me reinventar. Abraçar a incerteza é dar um passo em direção ao desconhecido com confiança de que, no aparente caos, há alguma ordem que só se revela quando a ousamos explorar. Trocar o certo pelo incerto não é fácil, mas é nesse momento que encontramos a verdadeira essência da vida e a riqueza inexplorada de quem nos podemos tornar.

Aos meus orientadores Dra. Carolina Castro, Dr. Benjamín Costas e Dr. João Saraiva quero prezar o meu agradecimento por todo o apoio.

À administração da Flatlantic S.A, principalmente à Renata Serradeiro, agradeço a oportunidade de poder ingressar na empresa. A toda a equipa agradeço todo o apoio e o carinho, todos juntos vamos percorrer caminhos ainda mais gloriosos.

Um agradecimento especial a todos os meus professores, especialmente à professora Ana Magalhães e ao professor Eduardo Rocha pela constante ajuda, conselhos e amizade demonstrada.

Por fim, mas não menos importante, agradeço à minha família e amigos por serem sempre a minha âncora em momentos de tempestade.

per aspera ad astra

Resumo

A aquacultura é o cultivo de organismos aquáticos, sendo um setor de grande valor para a alimentação humana e tem sido uma aposta global para enfrentar o crescimento populacional. Portugal destaca-se na aquacultura europeia devido ao ambiente propício para esta atividade. A Flatlantic S.A é a maior piscicultura a nível nacional, e a maior unidade produtora na Europa de linguado e pregado com água do oceano. O pregado é o peixe mais produzido em Portugal por meio da aquacultura e é oriundo das zonas costeiras do Atlântico, Báltico e Mediterrâneo. O enriquecimento ambiental emergiu como uma ferramenta valiosa para promover o bem-estar dos animais, proporcionando experiências positivas semelhantes às vividas em ambientes naturais. O bem-estar animal pode contribuir para o sucesso reprodutivo, crescimento, resistência a doenças e outros aspetos.

Neste contexto, surgiu o presente estágio, com o objetivo de aprender as diversas rotinas diárias inerentes ao sistema de produção da maior aquacultura de Portugal e, simultaneamente, realizar um ensaio para compreender como o enriquecimento ambiental em tanques de reprodutores de *Scophthalmus maximus* influencia o bem-estar e o sucesso reprodutivo.

Embora não tenham sido observadas diferenças significativas no sucesso reprodutivo, o grupo submetido ao enriquecimento ambiental apresentou maior produção e viabilidade de ovos. Estas descobertas reforçam que a promoção do bem-estar animal é uma estratégia vantajosa para os produtores, resultando em produtos com melhor qualidade e sucesso reprodutivo aprimorado.

Palavras-chave: Aquacultura, *Scophthalmus maximus*, bem-estar, enriquecimento ambiental, sucesso reprodutivo

Abstract

Aquaculture is the cultivation of aquatic organisms, it is a sector of great value for human food and has been a global commitment to address population growth. Portugal stands out in European aquaculture due to the extensive possibilities for this activity. Flatlantic S.A is the largest Portuguese fish farm and the largest producer in Europe of sole and turbot with ocean water. Turbot is the most produced fish in Portugal through aquaculture and originates from the coastal areas of the Atlantic, Baltic, and Mediterranean. Environmental enrichment has emerged as a valuable tool for promoting animal welfare, providing positive experiences similar to those in natural environments. Animal welfare can contribute to reproductive success, growth, disease resistance, and other aspects.

In this context, the present internship emerged, with the aim of learning the various daily routines inherent to the production system of Portugal's largest aquaculture and, simultaneously, conducting a trial to understand how environmental enrichment in *Scophthalmus maximus* breeder tanks influences welfare and reproductive success.

Although no significant differences were observed in reproductive success, the group subjected to environmental enrichment showed higher egg production and viability. These findings highlight that promoting animal welfare is a advantageous strategy for producers, resulting in products with better quality and enhanced reproductive success.

Keywords: Aquaculture, *Scophthalmus maximus*, welfare, environmental enrichment, reproductive success

Índice

Declaração de honra.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Resumo	iv
Abstract	v
Índice.....	vi
Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Abreviaturas	ix
1. Introdução.....	1
1.1 Aquacultura.....	1
1.2 Aquacultura mundial.....	1
1.3 Aquacultura em Portugal	2
1.4 <i>Scophthalmus maximus</i> (Linnaeus, 1758).....	6
1.4.1 Desenvolvimento embrionário do <i>Scophthalmus maximus</i>	8
1.5 Bem-estar animal	11
1.6 Desempenho reprodutivo	14
1.6.1 Avaliação da qualidade dos ovos.....	15
1.7 Stress.....	15
1.8 Enriquecimento Ambiental.....	18
1.8.1 Enriquecimento físico.....	19
1.8.2 Enriquecimento alimentar	19
1.8.3 Enriquecimento sensorial.....	20
1.8.4 Enriquecimento social	20
1.8.5 Enriquecimento ocupacional	20
2. Estágio na Flatlantic – Actividades Piscícolas, S.A	21
2.1 Enquadramento e objetivos	21
2.2 Flatlantic – Actividades Piscícolas, S.A	21
2.3 Rotinas diárias.....	28
3. Ensaio Enriquecimento Ambiental	30
3.1 Objetivos	30
3.3 Material e Métodos.....	30
3.3.1 Desenho experimental	30
3.3.2 Análise estatística	35
3.4 Resultados	36
3.4.1 Alimentação e peso	36

3.4.2 Comportamento	37
3.4.3 Sucesso reprodutivo	39
3.5 Discussão.....	39
3.6 Conclusão e perspectivas futuras	43
4. Considerações finais.....	44
5. Referências bibliográficas	45
Anexos	52

Lista de Figuras

Figura 1 – Atividade pesqueira e produção em aquacultura mundial	2
Figura 2 – Quantidade produzida e valor de vendas oriundas da aquacultura em Portugal	3
Figura 3 – Produção da aquacultura por tipo de água e regime em Portugal	4
Figura 4 – Estrutura do volume de produção em aquacultura em Portugal	5
Figura 5 - <i>Scophthalmus maximus</i>	6
Figura 6 – Evolução da produção de pregado no mundo (toneladas) entre o período de 1985-2022	7
Figura 7 – Fases do desenvolvimento embrionário no pregado (<i>Scophthalmus maximus</i>)	10
Figura 8 - As 3 definições de bem-estar animal	12
Figura 9 – Representação esquemática do <i>stress</i> agudo e do <i>stress</i> crónico	16
Figura 10 – Respostas primárias (no interior do peixe), secundárias e terciárias do peixe durante o <i>stress</i>	17
Figura 11 – Localização da empresa Flatlantic	21
Figura 12 – Flatlantic	22
Figura 13 – Pregado em fase larvar	25
Figura 14 – Sala do berçário	26
Figura 15 – Pregado juvenil	27
Figura 16 – Pregado para venda	28
Figura 17 – Processo de colocação de um chip para identificação individual de cada animal.	31
Figura 18 – Tanques em sistema aberto utilizados no ensaio	32
Figura 19 – Distribuição dos tanques durante o ensaio.....	32
Figura 20 – Estruturas utilizadas durante o ensaio	33
Figura 21 – Temperatura da água e número de horas de luz e crepúsculo em Mira	34
Figura 22 – Percentagem de interações dos indivíduos com o EA.....	37
Figura 23 – Percentagem dos comportamentos utilizados quando existia interação com o EA.....	38
Figura 24 – Percentagem de interação com o EA antes, durante e após a alimentação. .38	

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Análise descritiva da variável alimentação nos dois grupos de estudo (EA e controlo).....	36
Tabela 2 – Análise descritiva da variável peso nos dois grupos de estudo (EA e controlo).	36
Tabela 3 – Análise descritiva das variáveis Ovos (viáveis e não viáveis) e tratamentos (EA e controlo).....	39

Lista de Abreviaturas

ACTH – Hormona Adrenocorticotrófica

CGP – Células germinativas primordiais embrionárias

CRH – Hormona Libertadora da Corticotropina

DAE - Dia após a eclosão

EA – Enriquecimento ambiental

RAS (Recirculating aquaculture system) - Sistema de recirculação de água

UE – União Europeia

1. Introdução

1.1 Aquacultura

O início da aquacultura remonta a milhares de anos atrás. Foi evoluindo com base no conhecimento empírico, da curiosidade, da necessidade e da tentativa e erro. A sua expansão foi inevitável e tem vindo a desenvolver-se nas últimas décadas, graças aos grandes progressos científicos nesta área. A aquacultura é, portanto, o cultivo de organismos aquáticos (peixe, moluscos, crustáceos e algas), onde existe a intervenção humana de forma a garantir o aumento da produção (FAO, 1988). Trata-se de um setor que contribui de forma essencial para a alimentação, nutrição e empregabilidade mundial. Os organismos podem ser cultivados em água doce, salgada ou salobra, no entanto, os parâmetros da água têm que ir de encontro das necessidades biológicas da espécie, de forma, a otimizar a produção e garantir a saúde e bem-estar animal. Também a produção pode ser realizada em tanques em terra, jaulas costeiras, jaulas em mar aberto, jaulas oceânicas, etc. Finalmente, a aquacultura pode ser de produção (de subsistência ou industrial), de conservação ou de repovoamento e de apoio (ensino, lazer e investigação).

1.2 Aquacultura mundial

A aquacultura tem sido uma aposta em todo o mundo, não só para combater o crescimento populacional, como também para contrariar o declínio das populações de organismos aquáticos no meio ambiente. Em 2020, a produção era 60% superior à média da década de 90, auxiliando, desta forma, o crescimento da população mundial (FAO, 2022). Atualmente, em 2022, a produção global (pescas e aquacultura) atingiu um novo recorde mundial de 185 milhões de toneladas, um aumento de 4% em relação a 2020. A aquacultura produziu aproximadamente 94 milhões de toneladas, ultrapassando pela primeira vez as pescas (FAO, 2024). Hoje, alcançam-se números nunca antes atingidos, ou seja, consome-se proteína proveniente da pesca e aquacultura como nunca tinha sido consumido anteriormente – cerca de 20,7 kg per capita (FAO, 2024). Segundo a FAO (2024), em 2022 foram produzidas cerca de 94 milhões de toneladas de pescado em aquacultura, o que geriu um valor de US \$ 296 bilhões. No mesmo ano, das 185 milhões de toneladas produzidas, o setor da aquacultura foi responsável por 51% (Figura 1). O continente asiático destaca-se como principal produtor (70% da produção), seguindo-se a Europa, América Latina e Caraíbas (9%), África (7%), América do Norte (3%) e finalmente a Oceânia (1%). O pescado constitui o principal produto produzido em aquacultura, predominando a produção de espécies de água doce (63 %) e só depois espécies marinhas (37%). Finalmente,

sucedem-se a produção de algas, moluscos, crustáceos e restantes invertebrados (FAO, 2024).

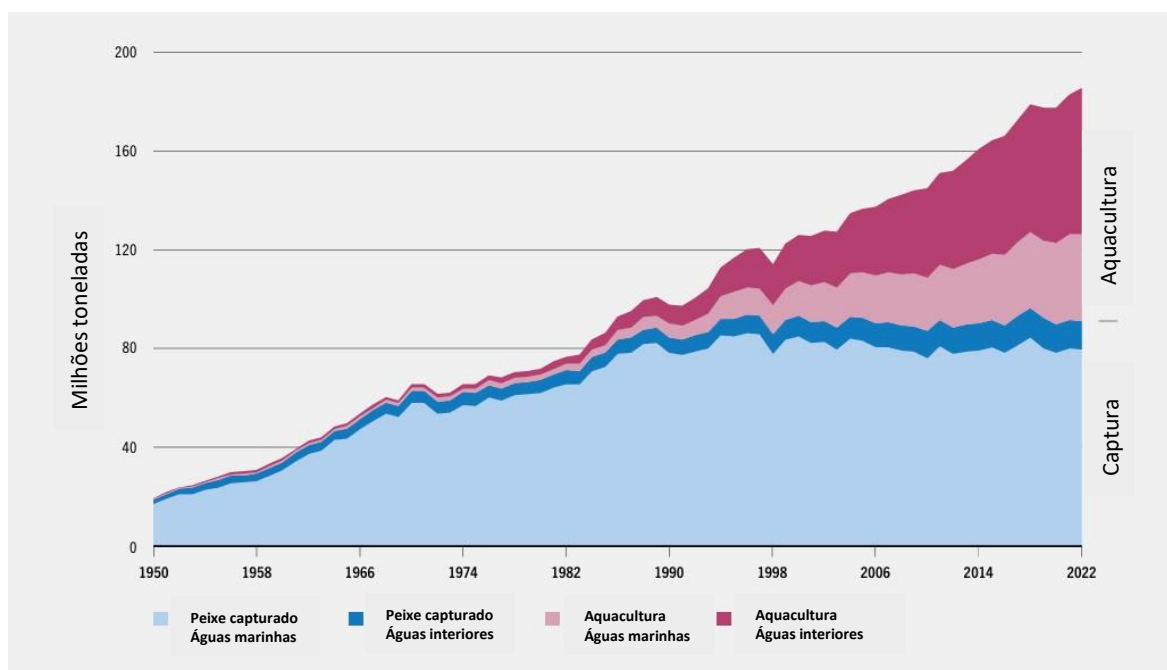


Figura 1 – Atividade pesqueira e produção em aquacultura mundial (FAO,2024).

1.3 Aquacultura em Portugal

A aquacultura nacional emerge como uma promissora alternativa às abordagens convencionais de abastecimento de pescado, consolidando-se como um setor de relevância estratégica nas políticas governamentais. A indústria da aquacultura em Portugal ostenta uma posição vantajosa para capitalizar o vasto mercado doméstico, notório pelo seu elevado consumo de peixe (57 kg/capita/ano, maior consumidor da UE) e um mercado comercial caracterizado pela carência significativa dos produtos da pesca (Directorate-General for Maritime Affairs and Fisheries, 2023). Possui uma longa e rica tradição na criação de moluscos, bem como na produção de peixes de água doce e marinha. Somando a este fator, as condições geográficas e climáticas favoráveis proporcionam um ambiente propício para o florescimento desta atividade.

Portugal, em 2021, obteve uma produção aquícola total de 17 900 toneladas, resultado que traduz um aumento de 5,3% face ao ano de 2020. As vendas geraram receitas de 162,8 milhões de euros, ou seja, um acréscimo de 62,9% em relação a 2020 (100 milhões de euros) (Figura 2) (Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca, 2022).

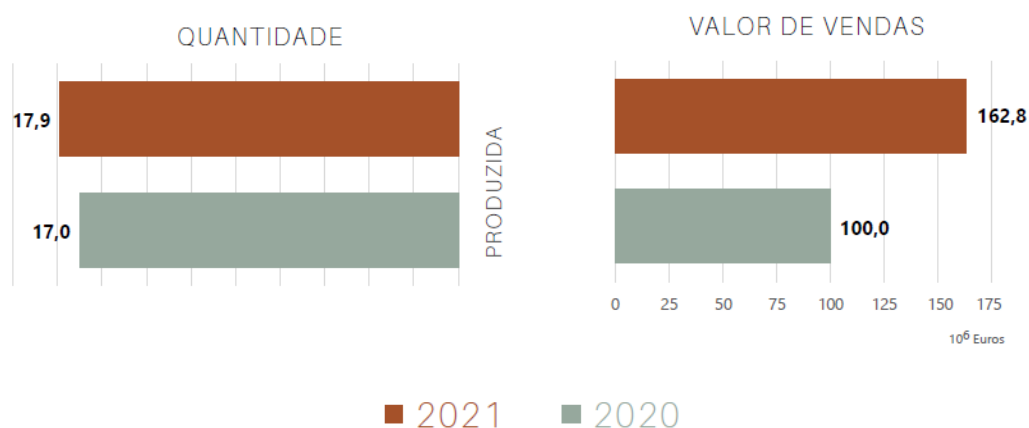


Figura 2 – Quantidade produzida e valor de vendas oriundas da aquacultura em Portugal (Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca, 2022).

Relativamente à estrutura da aquacultura, é notório que a produção em águas de transição e marinhas dominam, com 17 032 toneladas em 2021, tendo correspondido a 95,2% da produção total. Nos diferentes regimes de exploração, a produção em águas interiores (868 toneladas) permaneceu meramente intensiva. Na produção em águas marinhas e de transição, apesar do regime extensivo ter registado 52,6% do total da produção aquícola em 2021, obteve uma descida em relação ao ano anterior (60,8%), tendo os regimes intensivos (38,2%) e semi-intensivos (9,2%) apresentado um aumento face ao ano de 2020 (Figura 3) (Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca, 2022).

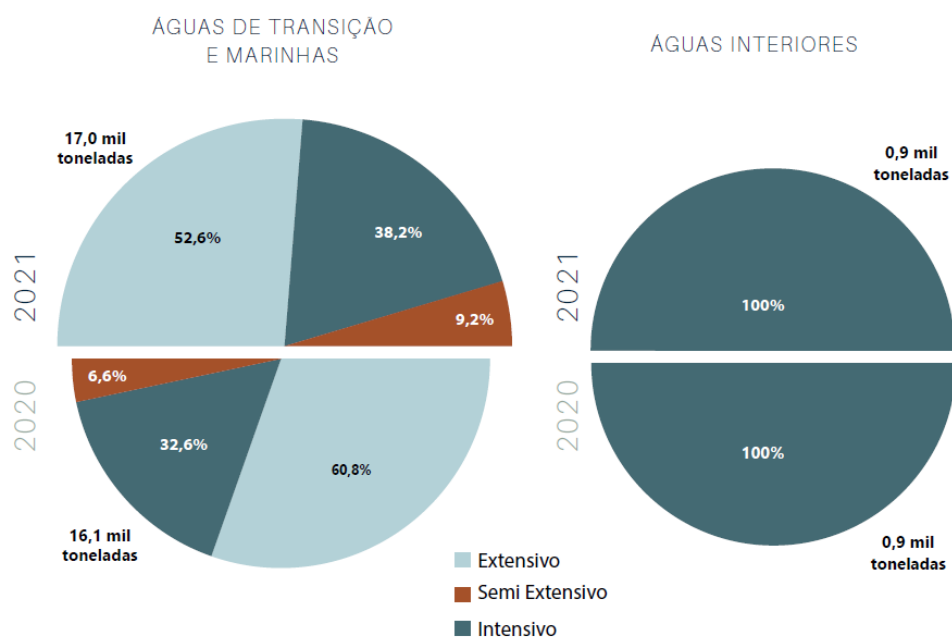


Figura 3 – Produção da aquacultura por tipo de água e regime em Portugal (Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca, 2022).

Analisando a estrutura do volume de produção em aquacultura, é perceptível que a produção de peixes em águas de transição e marinhas (7912 toneladas) aumentou 27,0%, tendo representado 44,2% da produção total (36,7% em 2020). Em espécies como a dourada (+74,8%), pregado (+3,9%) e robalo (+5,5%) registaram um aumento da sua produção face ao ano anterior. Pelo contrário, a produção de moluscos diminuiu 7,5%, tendo representado 50,9% da produção aquícola total (58% em 2020). Em 2021, as amêijoas, cuja produção diminuiu 2,0% (3585 toneladas), foram a espécie mais relevante. Seguiram-se os mexilhões com 3044 toneladas produzidas (+51,7%) e em terceiro lugar as ostras com 2293 toneladas (-40,2%). A produção em águas interiores representou 4,8% do total de produção aquícola (menos 4,1% face ao ano anterior), com 868 toneladas, quase exclusivamente por trutas (Figura 4) (Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca, 2022).

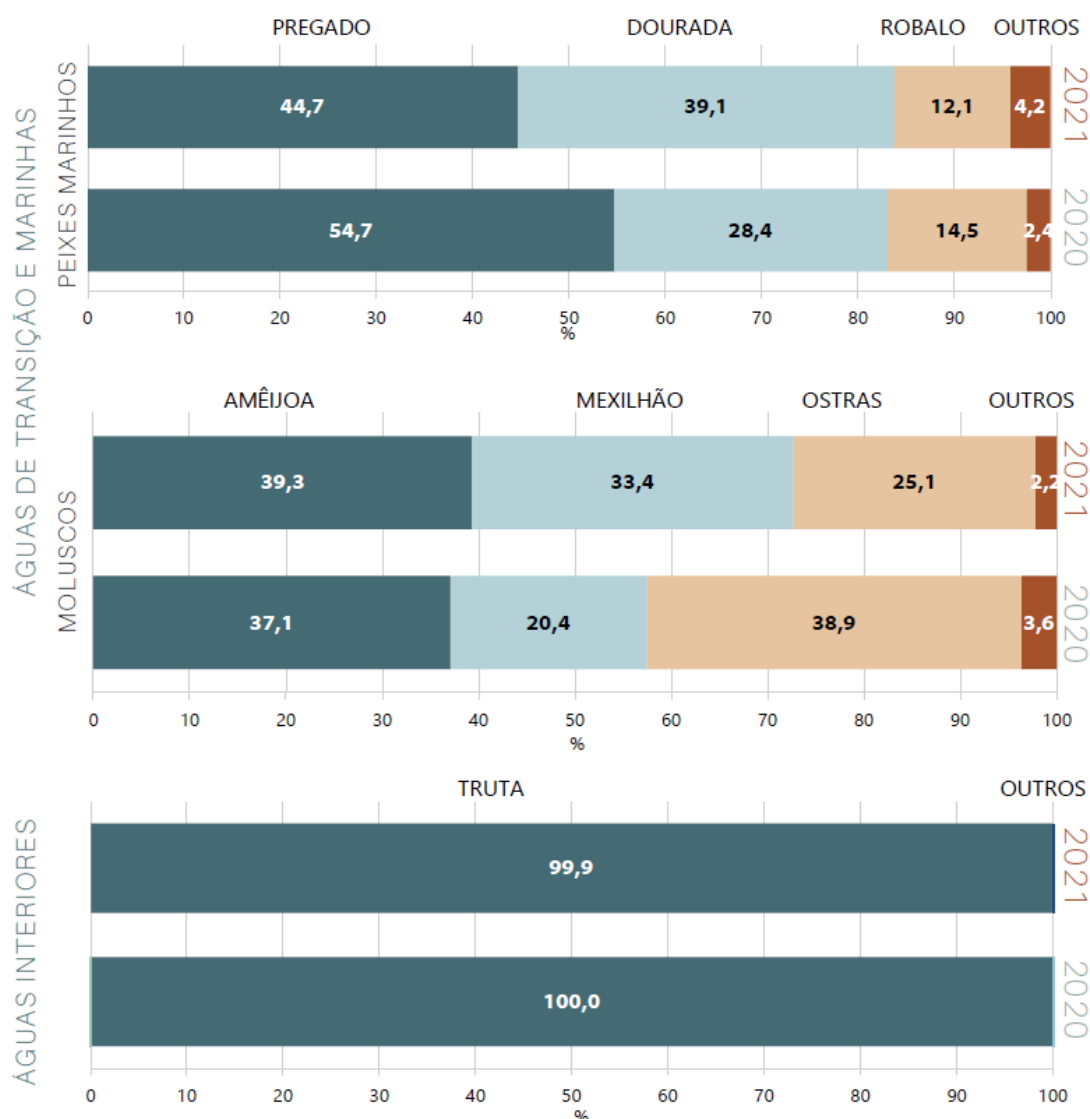


Figura 4 – Estrutura do volume de produção em aquacultura em Portugal (Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca, 2022).

No final de 2021, em Portugal, existiam 1252 estabelecimentos licenciados para água interiores, marinhas e de transição, menos 20 face ao ano anterior. Em termos de área total licenciada, registou-se um aumento de 19,5%. A estrutura por tipo de estabelecimento não apresentou grandes alterações face ao ano 2020. Cerca de 89,7% das unidades correspondiam a viveiros para a produção de moluscos bivalves, 7,3% corresponderam a tanques para a produção de peixes e 2,2% do total dos estabelecimentos licenciados corresponderam a estruturas flutuantes (maioritariamente destinadas à produção de moluscos bivalves) (Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca, 2022).

1.4 *Scophthalmus maximus* (Linnaeus, 1758)

O pregado (*Scophthalmus maximus*) é um peixe plano da família Scophthalmidae com uma área de distribuição que abrange as zonas costeiras europeias do oceano Atlântico, o mar Báltico e o mar Mediterrâneo. Vive em zonas até aos 100 metros de profundidade, com fundos arenosos e lamacentos. Possui diferentes características morfológicas e necessidades biológicas conforme as diferentes fases de vida e alimenta-se no meio natural de pequenos peixes e invertebrados (Figura 5) (Stankus, 2003).

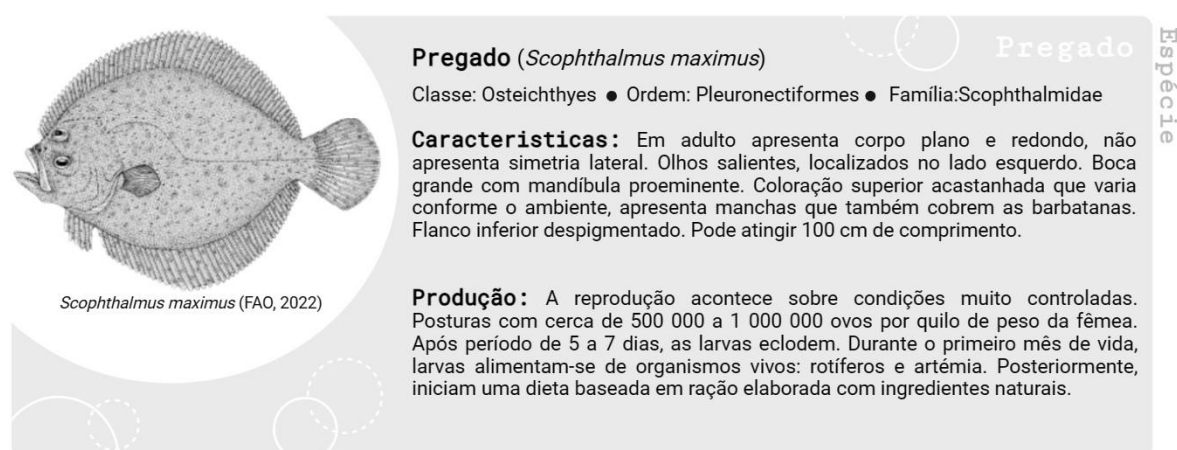


Figura 5 - *Scophthalmus maximus*. Adaptado de APROMAR, 2022.

A aquacultura do pregado (espécie pioneira na produção de espécies marinhas) teve início na Escócia em 1970, mas, em 1980 a sua produção já tinha sido expandida para Espanha. Em 1990, devido as melhorias tecnológicas, a produção foi crescendo lentamente em vários países europeus, sendo que a principal produção ainda acontecia em Espanha (Bjørndal & Øiestad, 2011). Em 2021 a produção total de pregado em todo o mundo era de 75 651 toneladas, menos 0,7% do valor atingido no ano anterior (Figura 6). O maior produtor mundial é a China com cerca de 65 toneladas produzidas. Na Europa, Espanha consegue o primeiro lugar como maior produtor de pregado, atingindo em 2021 cerca de 7629 toneladas produzidas. Portugal e França ocupam o restante pódio com uma produção anual de 3300 e 100 toneladas respetivamente (APROMAR, 2022).

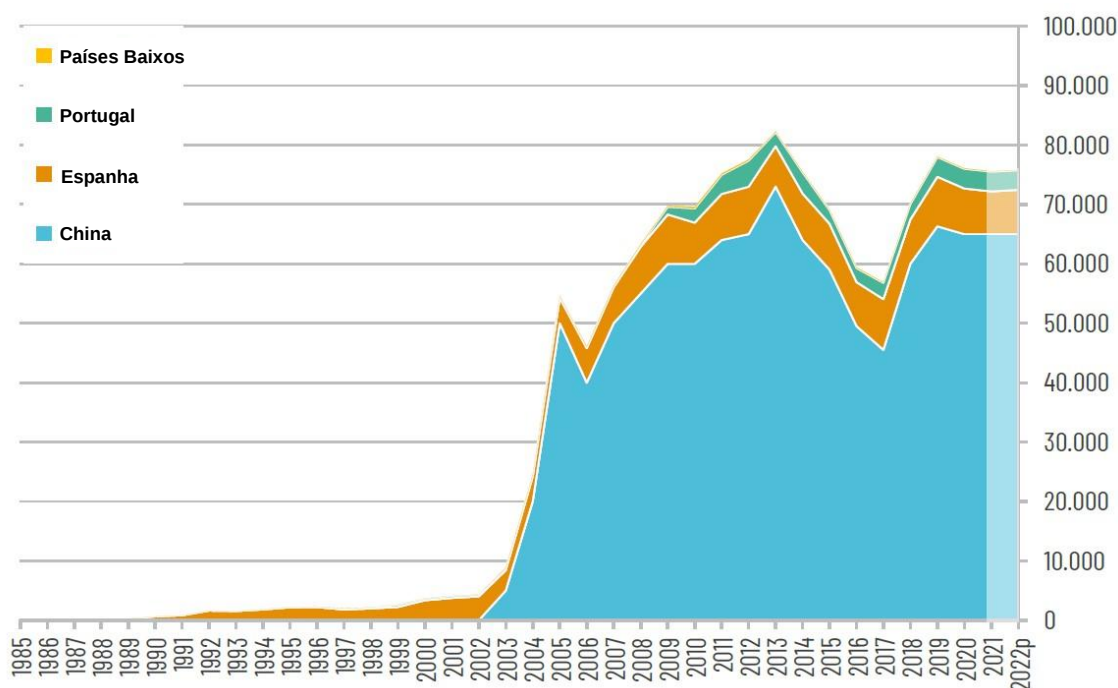


Figura 6 – Evolução da produção de pregado no mundo (toneladas) entre o período de 1985-2022 (Fonte: APROMAR, 2022).

O pregado demonstra uma das taxas de crescimento e dimorfismo sexual mais importantes observadas em peixes planos, com as fêmeas excedendo significativamente o tamanho dos machos (Martínez et al., 2016). A desova ocorre geralmente entre fevereiro e abril no Mediterrâneo, ou entre maio e julho no Atlântico, onde as temperaturas são mais baixas (FAO, 2023a). As fêmeas atingem a maturidade aos 3 anos de idade e os machos aos 2 anos (Rurangwa & Poelman, 2011). As fêmeas passam por ciclos ovulatórios com um período de 70-90 horas e a sua fecundidade é muito elevada, podendo chegar a 5 a 10 milhões de ovos em cada época reprodutiva (Seafish, 2020). A quantidade absoluta de ovos produzidos depende do tamanho e da idade da fêmea. Cada fêmea pode desovar várias vezes, até 12 vezes por temporada (7 a 8 semanas), com intervalos de 3 a 6 dias (Rurangwa & Poelman, 2011). Por outro lado, a época reprodutiva dos machos é mais longa do que a das fêmeas. A percentagem máxima de machos com esperma ocorre durante a temporada de desova das fêmeas, indicando uma sincronização na reprodução. Em cativeiro, o período de espermatogénese dura 6 meses, e alguns machos podem libertar esperma durante 9 meses. Na natureza, este período é apenas de aproximadamente 4 meses (Rurangwa & Poelman, 2011). Os ovos são pelágicos e esféricos, com um diâmetro entre 0,9 e 1,2 mm (FAO, 2023a). A fertilização é externa, sendo que o sucesso depende essencialmente das marés e correntes predominantes. Os ovos fertilizados permanecem suspensos na coluna de água e, após a absorção do saco vitelino (nos primeiros dois dias de

desenvolvimento a 15°C), as larvas iniciam a alimentação, principalmente com rotíferos e artémia (Stickney, 2005). A desova destes reprodutores pode ser induzida ao longo de todo o ano por manipulação da temperatura ou fotoperíodo, embora também possam ser utilizados tratamentos hormonais para o mesmo fim. Como o pregado não desova espontaneamente em cativeiro, recorre-se à técnica de *stripping*: processo de remoção manual de ovos ou esperma dos reprodutores, envolvendo uma leve pressão sobre a região ventral, nas fêmeas para libertar os ovos e nos machos para extrair o esperma (Rurangwa & Poelman, 2011). Os gametas extraídos são posteriormente misturados para fertilização artificial ou armazenados para uso posterior em técnicas de reprodução assistida. Para a fertilização, são usados ovos recém-ovulados, ou seja, logo após a extração. Cinco a dez minutos após a mistura, os ovos fertilizados são então colocados em incubadoras. Para evitar a supermaturação, a extração dos ovos é feita dentro de 10 horas após a ovulação (a 12-13°C). Durante a manipulação dos ovos, a temperatura e a salinidade são devidamente controladas para garantir ovos de boa qualidade. A taxa de viabilidade é, em média, de 33%, podendo variar de 0 (falha) a 80% (sucesso), dependendo da qualidade dos gametas, das condições e do sucesso da fertilização (Rurangwa & Poelman, 2011).

1.4.1 Desenvolvimento embrionário do *Scophthalmus maximus*

A embriogénese (desenvolvimento embrionário) do pregado é formada por 6 etapas:

- Período de zigoto;
- Período de clivagem;
- Período de blástula;
- Período de gástrula;
- Período de segmentação;
- Período de eclosão.

Período de zigoto: Após a fertilização do óvulo, este é considerado zigoto. Os ovos fecundados do pregado são esféricos, livres, pelágicos e transparentes. Possuem um diâmetro de $0,97 \pm 0,0055$ mm. Os ovos não fertilizados acabam por afundar (Tong et al., 2013).

Período de clivagem: A clivagem consiste em diversas divisões mitóticas que dividem o embrião em inúmeras células nucleadas, os blastómeros. Inicialmente, a primeira clivagem resulta em dois blastómeros iguais. Posteriormente, o zigoto irá ser dividido em 4 blastómeros, 8 blastómeros, 16 blastómeros, etc. Consequentemente, o processo de clivagem torna-se cada vez mais irregular (Tong et al., 2013).

Período de blástula: Processo onde acontece uma reorganização celular que promove um abaulamento da blastoderme (Tong et al., 2013).

Período de gástrula: Nesta etapa ocorre a formação das camadas germinativas que dão origem aos tecidos embrionários. As camadas são designadas por ectoderma, mesoderma e endoderma e o embrião por gástrula. Cada camada é responsável pelo desenvolvimento dos tecidos, por exemplo, a endoderma forma órgãos do sistema digestivo, como o fígado e o intestino, a ectoderma forma a epiderme e o sistema nervoso e a mesoderma forma o esqueleto ósseo e muscular (Tong et al., 2013).

Período de segmentação: Última fase do desenvolvimento embrionário, onde acontece a diferenciação dos tecidos e órgãos (Tong et al., 2013).

Período de eclosão: Inicia-se a eclosão dos embriões. Larvas possuem um saco vitelino e por isso não existe necessidade de nutrição externa imediata. As larvas recém-eclodidas permanecem imóveis na coluna de água com o trato digestivo indiferenciado e visão não funcional (Rurangwa & Poelman, 2011; Tong et al., 2013).

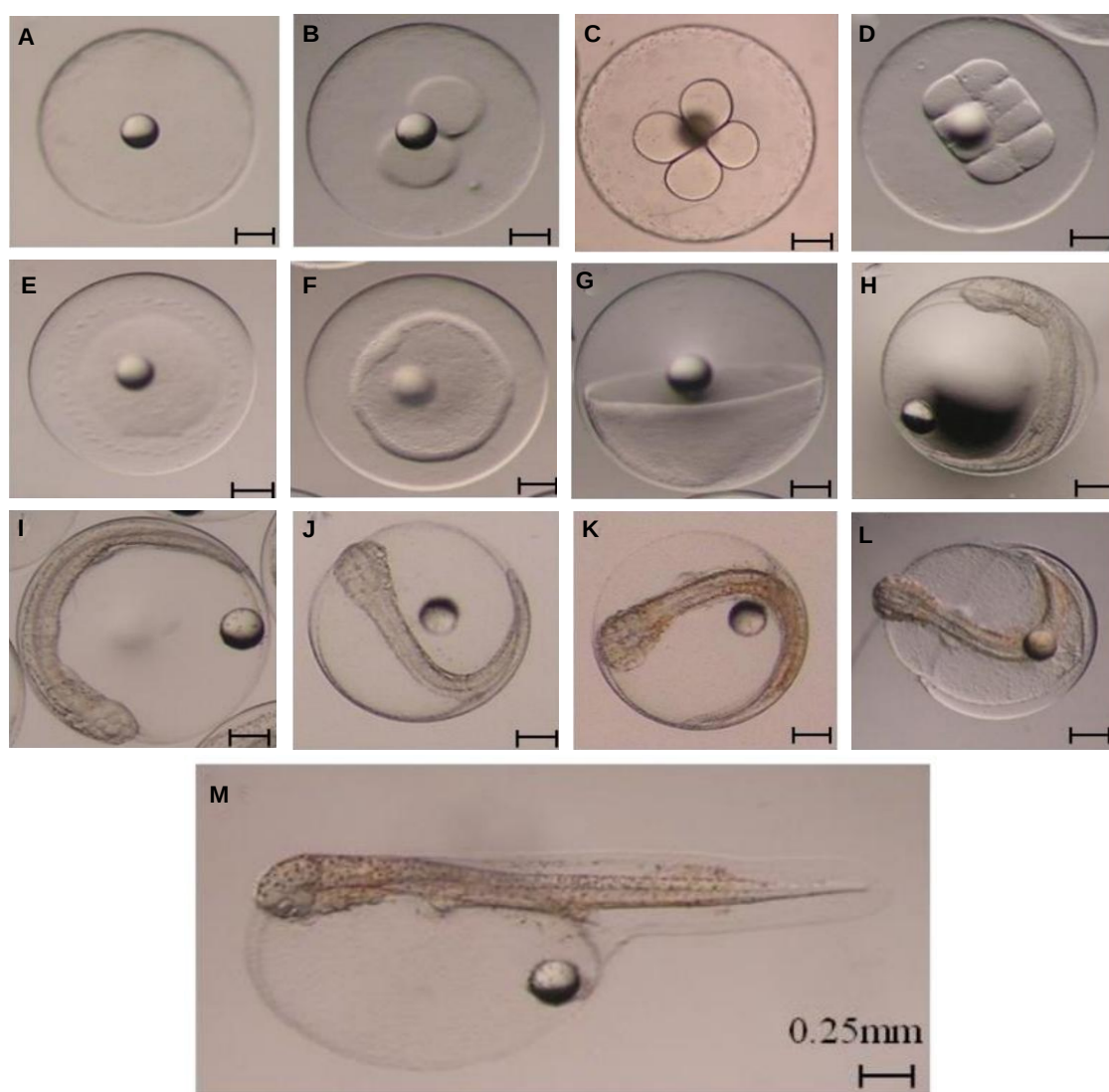


Figura 7 – Fases do desenvolvimento embrionário no pregado (*Scophthalmus maximus*). A- Zigoto, B- 2 blastómeros, C- 4 blastómeros, D- 8 blastómeros, E- Fase da blástula, F- Ecto-gástrula, G- Meso-gástrula, H- Fase embrionária I, I- Fase embrionária II, J- Fase embrionária III, K- Fase larvar, L- Eclosão (50%), M- Eclosão (100%) (Fonte: Polat et al., 2018).

Após o segundo e o terceiro dia, a boca abre e inicia-se a alimentação externa. Durante este período, são observadas alterações importantes, como a primeira diferenciação do trato digestivo e insuflação da bexiga natatória. Após o sétimo dia, o canal pneumático degenera, os mesonefros diferenciam-se e o trato digestivo desenvolve-se. Quinze dias após a eclosão, o estado larvar termina com a formação das glândulas gástricas e inicia-se a metamorfose, com o achatamento do corpo e a migração do olho direito. No dia 30, os juvenis de pregado apresentam a aparência de um adulto, no entanto, ainda apresentam um comportamento pelágico que se transformará em comportamento bentônico pelo quadragésimo dia. Nesta altura, as larvas encontram-se na fase de berçário, onde são

mantidas até atingirem um tamanho adequado para a transferência para tanques de pré-engorda e posteriormente engorda (Rurangwa & Poelman, 2011).

1.5 Bem-estar animal

Entender o bem-estar animal é um tema complexo e, muitas vezes, pouco consensual ao nível da comunidade científica. Como tal, ao longo dos anos a sua definição tem sofrido uma constante evolução.

As primeiras e mais populares definições surgiram por Barry Hughes em 1976 e por Donald Broom em 1986. Barry Hughes afirmava que o bem-estar “é um estado de completa saúde física e mental, onde o animal está em harmonia com o ambiente que o rodeia”. Por outro lado, Donald Broom criou uma definição operacional (ou seja, que se consegue medir) de bem-estar animal, referindo que o bem-estar é “o estado do animal enquanto está a lidar com o seu ambiente”. Esta definição é um passo essencial na ciência do bem-estar, já que permite quantificar o estado interno do animal enquanto está exposto aos desafios que o ambiente lhe apresenta (Saraiva et al 2022). Essa quantificação pode ser feita através de indicadores de vários tipos, seguindo diferentes abordagens. De facto, as abordagens mais comuns são:

- **Abordagem baseada na natureza:** O animal tem que ser capaz de expressar o seu comportamento natural (Webster et al., 1986);
- **Abordagem baseada na função:** O animal precisa de estar saudável e possuir os seus sistemas biológicos a funcionar apropriadamente, não existindo respostas para além das exibidas naturalmente (Broom, 1991; McGlone, 1993);
- **Abordagem baseada nos sentimentos:** O animal precisa de se sentir bem. Isto é, livre de experiências negativas (dor e medo) e ter acesso a experiências positivas (Dawkins, 1988; Duncan, 1993);

Estes diferentes pontos de vista, embora reforcem a complexidade do tema e a dificuldade de estabelecer uma definição única e definitiva, demonstram que a melhor forma de obter uma quantificação do bom ou mau estar do animal deverá vir da integração de indicadores comportamentais, fisiológicos e mentais. De facto, Lund et al. (2006), considerou um conceito mais alargado de bem-estar animal (Figura 7) ao propor uma sobreposição destas definições (Lund, 2006). Esta definição além de assegurar as necessidades básicas dos animais, contempla também a componente psicológica dos mesmos.

Em matéria de bem-estar animal, os animais estão hoje protegidos por legislação europeia. Estas normas aplicam-se aos animais nas explorações pecuárias (na exploração, durante o transporte e o abate), mas também à vida selvagem, aos animais de laboratório e aos

animais de estimação. Em relação aos animais de produção, aplica-se a Directiva 98/58/CE do Conselho de 20 de Julho de 1998 relativa à protecção dos animais nas explorações pecuárias. Esta diretiva estabelece normas gerais para a protecção de todos os animais criados para a produção de géneros alimentícios, lã, pele com ou sem pelos, ou para outros fins agropecuários - incluindo peixes, répteis e anfíbios - e baseia-se na Convenção Europeia relativa à protecção dos animais nos locais de criação, de 1978. No âmbito do bem-estar animal, estas regras refletem os conceitos expressos nas chamadas “cinco liberdades” elaboradas pelo “Farm Animal Welfare Council”(FAWC, 1993).

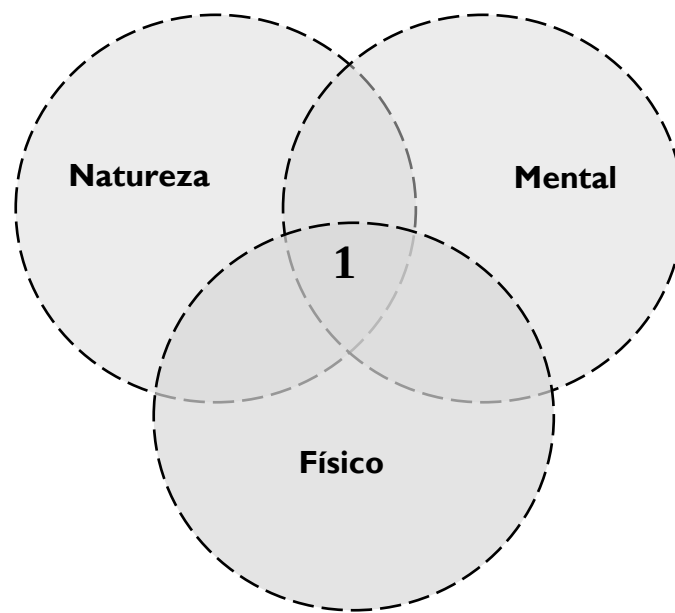


Figura 8 - As 3 vertentes de bem-estar animal. Os círculos representam: a natureza biológica, o estado mental e o estado físico. 1. Bem-estar animal. Adaptado de Lund (2006).

Atualmente a mais consensual definição e abrangida pela legislação europeia em matéria de bem-estar animal é a das cinco liberdades (embora este conceito tenha mais de 50 anos, vindo do Relatório Brambell sobre bem estar de animais de quinta publicado em 1965). Estas liberdades partem do princípio de que, para existir bem-estar, os animais devem estar:

- **Livres de fome e sede**, com fácil acesso à água e alimento adequado às suas necessidades de forma a garantir a saúde e o vigor dos animais;
- **Livres de desconforto**, proporcionando um ambiente adequado à espécie em questão, com condições de abrigo e descanso adequados;

- **Livres de dor, lesões e doenças**, através da prática de medidas preventivas, rápido diagnóstico e tratamento adequado;
- **Livres para expressar o seu comportamento inato**, fornecendo espaço suficiente, instalações adequadas e contato com indivíduos da mesma espécie;
- **Livres de medo e stress**, através de fornecimento de condições em termos de instalações, manejo e pessoal devidamente qualificado de forma a evitar medos e sofrimentos desnecessários.

As cinco liberdades identificam de forma objetiva cinco formas de promover e/ou melhorar o bem-estar animal. Trouxeram a preocupação de avaliar as experiências (sede, fome, medo, desconforto e dor) e os estados negativos (má nutrição, ferimentos, doenças e expressão do comportamento natural). No entanto, assumem o animal como interveniente passivo no seu ambiente, sendo que esta abordagem mereceu revisões e críticas na literatura (eg. McCullough 2013; Saraiva et al 2018).

O cumprimento das normas de bem-estar assumem cada vez mais um papel crucial ao nível das explorações de produção de animal. Isto porque existe maior consciência por parte dos produtores de que altos padrões de saúde e bem-estar animal durante o ciclo produtivo dos animais são sinónimo de uma produção mais eficiente, mais qualidade e segurança alimentar no produto final. Por outro lado, o consumidor manifesta aos dias de hoje uma preocupação crescente com o modo de produção dos produtos que consomem, exigindo que os animais sejam criados, transportados e abatidos no respeito pelas normas de bem-estar animal. Neste sentido, a aplicação de práticas de produção animal aceitáveis do ponto de vista ético (ex: manejo) é estratégico para simultaneamente garantir maior eficiência da produção, em termos de qualidade e quantidade, aceitação e segurança do produto pelo consumidor.

Para salvaguardar o bem-estar animal ao longo de todo o processo produtivo existe, por isso, a necessidade de se poder avaliar o impacto das práticas de produção em termos de bem-estar animal. Neste contexto, são utilizados indicadores importantes que permitem aos profissionais das explorações avaliar o nível de conforto e saúde dos animais em cativeiro. Nas aquaculturas, o bem-estar é monitorizado através de indicadores que deverão ser de uso fácil e rápido, também conhecidos como indicadores operacionais de bem-estar. Para uma avaliação precisa do bem-estar, é essencial que a piscicultura disponha de um conjunto de indicadores capazes de determinar se as necessidades dos animais estão a ser adequadamente atendidas. Esta avaliação deve basear-se em indicadores indiretos (temperatura, salinidade, oxigénio, pH, etc.) que descrevem as condições externas às

quais os organismos estão expostos, e indicadores diretos (comportamento, mortalidade, apetite, crescimento, etc.) que estão diretamente relacionados com os organismos (Stien et al., 2020). O uso e a escolha dos indicadores é crucial nas aquaculturas, pois têm a capacidade de alertar o piscicultor para condições de deterioração, permitindo assim que sejam mitigadas antes de se traduzirem em consequências ao nível do desempenho zootécnico e saúde. Por vezes, são também utilizados indicadores fisiológicos, embora estes exijam acesso a laboratório ou outras instalações analíticas para fornecerem informações. Entre os indicadores fisiológicos utilizados destaca-se a hormonas relacionadas com o *stress* (cortisol), e parâmetros sanguíneos (glucose, o lactato, hematócrito, entre outros).

1.6 Desempenho reprodutivo

O ciclo reprodutivo nos peixes é um conjunto de processos com início em células germinativas imaturas até a produção de gâmetas maduros, sempre com o objetivo de produzir um óvulo fertilizado após a inseminação por um espermatozóide. O processo de produção e diferenciação dos gâmetas é chamado de gametogénese, isto, leva à formação do oócito feminino (oogénese) e do espermatozoide masculino (espermatoogénese). Estes gametas, femininos e masculinos, têm origem comum nas células germinativas primordiais embrionárias (CGP) que acabam por migrar durante o desenvolvimento embrionário para o local de formação das gónadas, o epitélio germinativo (Mañanós et al., 2009). As CGP proliferam através de divisões mitóticas para formar as células germinativas, que, por sua vez, se diferenciam em ovogónias ou espermatogónias (dependendo do sexo do indivíduo). Posteriormente à última divisão mitótica, as células germinativas entram em meiose e transforma-se em ovócitos ou espermatócitos, iniciando assim, a gametogénese em indivíduos adultos (Jalabert, 2005). Tanto nos machos como nas fêmeas, o ciclo reprodutivo envolve duas fases, a fase de crescimento e desenvolvimento das gónadas e a fase de maturação, que culmina na fecundação e desova. Uma das fases mais sensíveis do ciclo de vida dos peixes é o período de reprodução, onde existem muitas espécies com diversas peculiaridades. A otimização do desempenho reprodutivo dos reprodutores é essencial para obter juvenis de qualidade e, consequentemente, pescado de excelência (imperativo para a indústria da aquacultura).

1.6.1 Avaliação da qualidade dos ovos

A qualidade do ovo é o potencial que o ovo possui para produzir juvenis viáveis e, portanto, um fator limitante para o sucesso de uma produção. Esta característica pode ser determinada por fatores intrínsecos e extrínsecos, como a idade e fator de condição materna, tempo do ciclo de desova, processo de maturação, fatores genéticos, propriedades intrínsecas do ovo, etc. (Brooks et al., 1997).

Assim sendo, a flutuabilidade aparece como principal indicador de qualidade, ou seja, os ovos que flutuam à superfície da água apresentam melhor qualidade e, portanto, maior taxa de eclosão e de desenvolvimento (Forés et al., 1990; McEvoy, 1984). Outro indicador a considerar é a transparência dos ovos que, por isso, se torna um excelente indicador precoce de viabilidade (Fernández-Palaicos et al., 1995).

Após a fertilização existem também particularidades que fornecem a informação da qualidade dos ovos, por exemplo Rurangwa & Poelman (2011) indicam indicadores como:

- Taxas de fertilização e proporção das clivagens celulares;
- Mais de 70% dos ovos fecundados;
- Taxas de eclosão;
- Malformações esqueléticas das larvas.

1.7 Stress

O *stress* é uma resposta fisiológica e comportamental que surge quando o animal é confrontado com uma ameaça (um fator de *stress*, ex: descida brusca de oxigênio; manipulação) que interfere com o equilíbrio das suas funções – homeostasia (Moberg, 2000). A resposta à ameaça pode apresentar diferentes magnitudes e duração, isto é, o *stress* é considerado agudo se ocorrer com alta intensidade durante um curto período de tempo e é considerado crônico se acontecer com intensidade baixa, mas de forma perpetuada e constante (Figura 8) (Schreck & Tort, 2016).

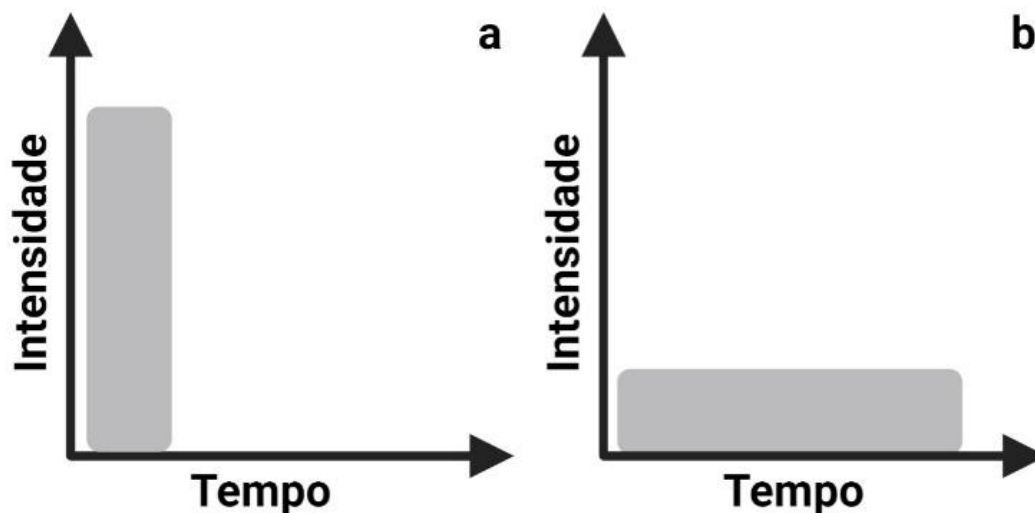


Figura 9 – Representação esquemática do *stress* agudo e do *stress* crônico. a - *stress* agudo; b – *stress* crônico. Elaborado em BioRender.com.

O início da resposta ao *stress* acontece com a percepção. Ou seja, quando o animal percebe que está sob uma ameaça, inicia imediatamente uma cascata mediada hormonalmente – **resposta primária** – cuja intensidade e duração irá afetar as respostas secundária e terciária. A resposta primária ocorre em resposta à percepção de *stress* agudo e é induzida a secreção e a síntese de catecolaminas – adrenalina e noradrenalina. Paralelamente, existe a liberação da hormona libertadora da corticotropina (CRH) do hipotálamo, que promove a liberação da hormona adrenocorticotrófica (ACTH) pela pituitária e, consequentemente, a síntese e secreção do cortisol pelas células interrenais (Figura 10) (Huntingford et al., 2006; Schreck & Tort, 2016). A **resposta secundária** manifesta-se no seguimento da resposta primária, a qual regula vários fatores que irão alterar as necessidades metabólicas. Nesta fase, existe uma elevada distribuição de oxigénio e, inevitavelmente, é libertada energia para a corrente sanguínea. Simultaneamente, ocorre uma disfunção hidromineral que provocará alterações no fluxo sanguíneo e na permeabilidade das brânquias. Por último, acontecem alterações a nível imunológico e disrupções osmorreguladoras (Schreck & Tort, 2016). A **resposta terciária** surge associada ao *stress* crónico e é ativada por fatores de stress constantes que influenciam o desempenho do animal. Nesta fase, o crescimento e o comportamento do animal podem ser afetados (Ashley, 2007; Barton, 2002). Em suma, o *stress* crónico pode suprimir as funções imunológicas, diminuir a resistência a doenças, afetar o crescimento do animal, inibir a reprodução e promover o aparecimento de comportamentos anormais.

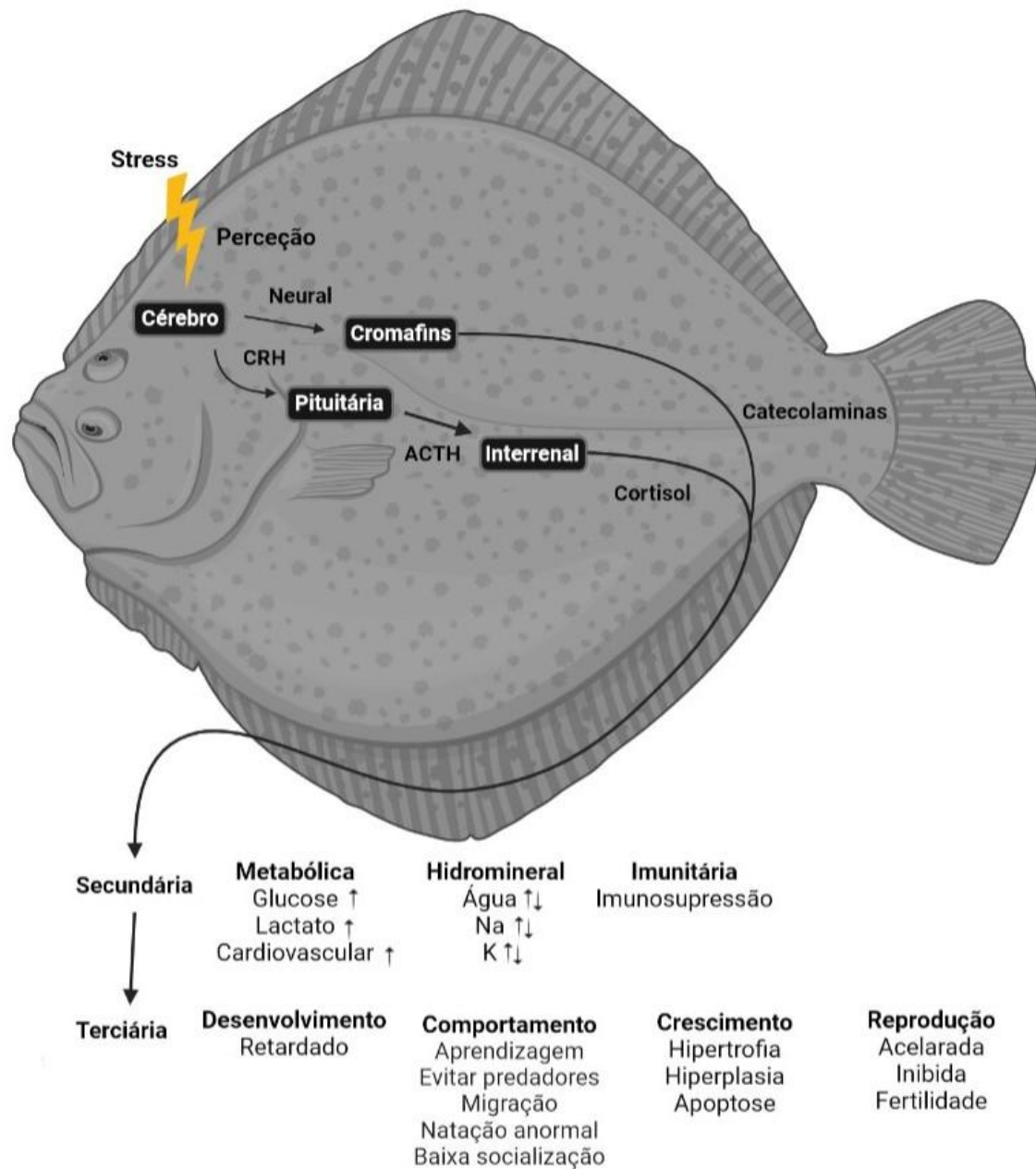


Figura 10 – Respostas primárias (no interior do peixe), secundárias e terciárias do peixe durante o stress. Adaptado de Schreck and Tort (2016). Elaborado em BioRender.com.

1.8 Enriquecimento Ambiental

O enriquecimento ambiental pode ser definido como o aumento da complexidade do meio de cultivo, de modo a proporcionar estímulos aos animais que melhorem o seu bem-estar (Arechavala-Lopez et al 2021). As primeiras abordagens ao enriquecimento ambiental (EA) surgiram no início do séc. XX quando os animais começaram a ser mantidos em jardins zoológicos. Inicialmente por Yerkes (1925) e posteriormente por Hediger (1950; 1969), era identificada a importância do ambiente (físico e social) onde o animal vivia e o impacto do manejo e da dieta no bem-estar animal (Mellen & Macphee, 2001). Historicamente, os tratadores de animais providenciariam diariamente diversos enriquecimentos aos animais que estavam ao seu cuidado, no entanto, só recentemente é que o termo “enriquecimento” começou a ser usado para descrever tais práticas. Newberry (1995) definiu o EA como uma “melhoria do funcionamento biológico do animal em cativeiro que resultou da modificação do seu ambiente”. Estas modificações tinham como objetivo suprir as necessidades mentais e comportamentais dos animais. Ao longo dos anos, o enriquecimento ambiental tornou-se uma ferramenta valiosa na promoção do bem-estar, uma vez que permite melhorar a qualidade de vida dos animais através da promoção de experiências positivas e idênticas às experiências vividas em ambiente natural.

O EA é dividido em diferentes técnicas de enriquecimento (Newberry, 1995; Näslund et al., 2014):

- *Enriquecimento físico*: modificação ou adição de estruturas;
- *Enriquecimento alimentar*: tipo de alimento ou estratégia de alimentação;
- *Enriquecimento sensorial*: estimulação dos órgãos sensoriais e cérebro;
- *Enriquecimento social*: interação com diferentes indivíduos;
- *Enriquecimento ocupacional*: estímulos e desafios ambientais.

Contudo, os efeitos observados do enriquecimento podem nem sempre ser positivos, e é necessário considerar diversos aspectos (Saraiva et al., 2018; Saraiva et al., 2021):

- Conhecimento científico da espécie alvo;
- Tipo de estratégia a adotar;
- Quantidade de EA;
- Altura e período de tempo em que deve ser executado;
- Como deve ser realizado;

- Etologia da espécie cultivada;
- Relevância do EA.

Para além disto, a introdução de enriquecimento físico pode ser desafiante, uma vez que pode afetar outros aspetos, como a acumulação de resíduos, os procedimentos de limpeza diários, a circulação de água ou até mesmo introduzir potenciais poluentes ao ambiente.

1.8.1 Enriquecimento físico

O enriquecimento físico é o enriquecimento mais usado em laboratórios e na produção animal. Segundo Jones et al. (2021), é, eventualmente, o melhor EA a ser considerado nas aquaculturas pela sua facilidade, conceito e logística. É possível adotar duas estratégias distintas, ou seja, elaborar estruturas que forneçam abrigo ou adicionar substratos de forma a tornar o ambiente mais heterogéneo e complexo, principalmente, para as espécies bentónicas (Arechavala-Lopez et al., 2021). Com as investigações realizadas ao longo do tempo, foi demonstrado que o EA, quando bem conceptualizado e implementado, trouxe inúmeros benefícios para um conjunto de espécies de peixes, tais como: na truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), o uso de estruturas em suspensão melhorou o crescimento e a taxa de conversão alimentar; na dourada (*Sparus aurata*) o EA físico diminuiu a agressividade entre indivíduos e, consequentemente, melhorou a erosão das barbatanas caudal e peitoral (Arechavala-Lopez et al., 2019; Crank et al., 2019). Em relação aos peixes planos, também foram realizados diversos estudos, nomeadamente com substratos. No linguado senegalês (*Solea senegalensis*), o uso de substrato aumentou o seu crescimento, reduziu a erosão das barbatanas, as lesões cutâneas e os padrões anormais de pigmentação (Al-mansa et al., 2017).

1.8.2 Enriquecimento alimentar

O enriquecimento alimentar corresponde ao alimento (textura, cor, vivo, ração, etc) e à estratégia de alimentação (quantidade, distribuição, periodicidade, etc), pois, este tem como objetivo afetar predominantemente a ingestão e o comportamento exploratório alimentar. Contudo, a alteração da composição nutricional não é considerada enriquecimento alimentar. Neste EA, uma das estratégias possíveis é a utilização de alimentadores automáticos, uma vez que permitem fornecer diferentes quantidades de alimento em diferentes períodos de tempo. Optar por alimento vivo ou por “rações” com diferentes características

(apetência, tamanho, textura, fluatuabilidade, etc) pode também ser uma estratégia a utilizar (Arechavala-Lopez et al., 2021; Kubitza & Lovshin, 2010).

1.8.3 Enriquecimento sensorial

Este enriquecimento visa promover o bem-estar do animal através dos diferentes estímulos sensoriais existentes (auditivo, visual, químico, elétrico e hidromecânico). Nas aquaculturas, é inevitável o intenso e constante ruído provocado pela maquinaria existente. Inevitavelmente, os peixes estão sujeitos a níveis extremos de ruído agudo e crónico e, por isso, o seu bem-estar comprometido. A redução destas fontes sonoras ou a adição de sons característicos do seu habitat natural pode ser uma estratégia de enriquecimento sensorial (Wells, 2009).

Uma das estratégias visuais adotadas frequentemente pelos piscicultores é a simulação da iluminação natural nas instalações internas de cultivo (Sanchez-Vazquez et al., 2019).

Segundo da Silva et al. (2021), a libertação de feromonas durante a disputa de dominância reduz a agressão dos animais. Neste contexto, devido aos constantes sinais químicos biológicos transmitidos para a água, a manipulação de estímulos químicos pode também ser uma ferramenta útil na promoção do bem-estar.

1.8.4 Enriquecimento social

O enriquecimento social permite a interação social entre indivíduos da mesma espécie ou de diferentes espécies. De acordo com este cenário, as policulturas são um bom exemplo que conduzem a respostas comportamentais e fisiológicas positivas. Por exemplo, Thomas et al. (2020) identificou maiores taxas de crescimento e melhorias nos comportamentos agonísticos de juvenis de lúcio-perca, (*Sander lucioperca*), quando postos com outras espécies como o esturção (*Acipenser ruthenus*), e a tenca, (*Tinca tinca*), num sistema de recirculação de água (RAS).

1.8.5 Enriquecimento ocupacional

Este enriquecimento tem como objetivo criar desafios nos ambientes de cativeiro, ou seja, criar dinâmicas nos fluxos de água, correntes, ondas, etc. Este EA é relevante uma vez que em ambiente de cultivo os animais tendem a reduzir as suas capacidades cognitivas, de aprendizagem e de memória espacial e, inevitavelmente, surge a possibilidade de aparecimento de comportamentos incorrigíveis (Riotte-Lambert & Matthiopoulos, 2020).

2. Estágio na Flatlantic – Actividades Piscícolas, S.A.

2.1 Enquadramento e objetivos

O presente trabalho foi elaborado com base num estágio realizado na Flatlantic – Actividades Piscícolas, S.A. (Mira, Portugal), no âmbito da obtenção do grau de Mestre em Ciências do Mar – Recursos Marinhos. O objetivo deste estágio foi adquirir conhecimentos teóricos e práticos sobre o funcionamento e quotidiano de uma empresa de aquacultura, com foco na maternidade de pregado e linguado. Simultaneamente, foi realizado um ensaio para avaliar o impacto do uso de enriquecimento ambiental (físico) no sucesso reprodutivo e bem-estar de reprodutores de pregado (*Scophthalmus maximus*). A duração do estágio foi de 9 meses.

2.2 Flatlantic – Actividades Piscícolas, S.A.

A Flatlantic é sediada na Rua do Aceiro s/n, 3070-732 Praia de Mira, Portugal (Figura 11 e 12). É a maior piscicultura a nível nacional e a maior unidade produtora na Europa de linguado e pregado com água do oceano. A produção das duas espécies ultrapassa a 3000 toneladas /ano.



Figura 11 – Localização da empresa Flatlantic (Adaptado de Google Earth Pro, 2023).



Figura 12 – Flatlantic (Flatlantic).

A empresa dá especial relevo à prática de uma aquacultura com menor impacto ambiental, adotando práticas de aquacultura de precisão que contribuem para o uso eficiente dos recursos marinhos, como é o caso da gestão da alimentação. Além disso, tem instalado unidades de produção de energia solar para suprir parte significativa das suas necessidades energéticas, o que resulta numa redução de aproximadamente 35% das emissões de carbono associadas ao seu consumo anual de energia.

A saúde e bem-estar animal é outra das áreas onde a Flatlantic tem aplicado uma parte substancial do esforço de inovação e desenvolvimento, através da otimização de práticas de produção aquícola, de forma a prevenir as doenças e as infestações parasitárias, reduzindo assim a necessidade de medicamentos veterinários. A utilização de estratégias de vacinação, com aplicação de autovacinas, tem permitido a diminuição substancial da utilização de agentes antimicrobianos. Adicionalmente, a existência na empresa de uma equipa altamente especializada na deteção precoce de doenças nos peixes, tem permitido um controlo eficaz das doenças na exploração.

As infraestruturas da Flatlantic incluem, atualmente, duas fases, I e II. A Fase I é constituída por 4 núcleos de engorda, com 156 tanques cada, e por 1 núcleo de pré-engorda constituído por 4 edifícios com 60 tanques cada. Já a Fase II é constituída por: i) uma maternidade de peixes planos com capacidade para fornecer os juvenis necessários às unidades de crescimento de pregado e linguado da empresa; ii) uma unidade de reprodutores; iii) 2 núcleos para a produção das etapas iniciais do pregado em RAS (pré-engorda N6 e N8);

e iv) um núcleo de engorda de linguado em RAS. Faz-se notar que a captação de água da Fase II está inoperacional, em resultado da rutura do seu emissário em 2014; no entanto, existe a perspetiva da sua reparação no curto/médio prazo. Provisoriamente, as instalações presentes na Fase II são abastecidas pela captação de água da Fase I.

Em abril de 2021, com a inauguração da sua maternidade de peixes planos, a Flatlantic passou a integrar de todas as fases do ciclo produtivo na sua instalação. Este marco foi estratégico para a empresa, uma vez que permite hoje total autonomia na obtenção de juvenis para as fases seguintes do processo e produção de juvenis adaptados às suas instalações. Por condicionar o sucesso das fases seguintes do ciclo produtivo, e por ser um processo complexo dada a fragilidade das etapas iniciais, a maternidade é, sem dúvida, um espaço que implica a aplicação de regras estritas de biossegurança e protocolos específicos para cada uma das espécies e etapas iniciais do ciclo de vida (ex: temperatura ótima, regime alimentar, densidades de cultivo). Para este efeito, requer uma equipa técnica altamente qualificada e um conjunto vasto de ferramentas e equipamentos que assegurem a o máximo controlo das condições de cultivo (ex: temperatura, oxigénio, etc) e sucesso na obtenção juvenis em quantidade e qualidade. A título de exemplo, as instalações da maternidade incluem um laboratório equipado microscópicos e lupas, para que seja possível analisar a qualidade tanto do alimento vivo que é produzido nas próprias instalações como para avaliar o progresso do desenvolvimento da fase dos ovos recém fecundados até à fase larvar dos peixes. É encontrado, também, computadores com sistema scada para registar e aceder a dados, tornando possível o controlo dos parâmetros ambientais que viabiliza a monitorização permanente da qualidade da água do cultivo. O laboratório representa, assim, uma infraestrutura de apoio a todas áreas transversais da maternidade que incluem 6 áreas principais: Área dos reprodutores, sala de incubação (ovos), salas da fase larvar, salas do alimento vivo (artémia e rotíferos), sala de produção de microalgas, sala do desmame, sala do berçário e sala da pré-engorda.

Na área dos reprodutores, destaca-se a presença de indivíduos sexualmente maduros com a capacidade de produzir ovos fecundados, dando origem à descendência. Esta região é subdividida em divisões que representam as quatro estações do ano (inverno, primavera, outono e verão), onde ocorre a manipulação do fotoperíodo. Essas manipulações resultam em diferentes ambientes, simulando as épocas do ano para garantir a produção ao longo de todo o ano. Essas divisões estão conectadas ao sistema de recirculação de água (RAS - Recirculating aquaculture system), com exceção de alguns tanques que operam em sistema aberto e possuem fotoperíodo natural. Os reprodutores são mantidos em tanques de diferentes formatos e áreas de cultivo.

A sala de incubação é também um dos espaços vitais da maternidade, onde os ovos têm a oportunidade de se desenvolverem de forma segura e monitorizada. Após a verificação da viabilidade dos ovos, realizada através da flutuação, estes são cuidadosamente transferidos para os tanques de incubação, respeitando a biomassa exigida. Os tanques, em formato cilindro-cônico, são especialmente projetados para facilitar a remoção de ovos e larvas pós-eclosão. Durante o período de incubação, os ovos são mantidos em temperaturas controladas entre os 14 e 16 °C, por um período de 4 a 5 dias, dependendo da espécie, sem exposição à luz. A circulação da água é garantida por um filtro cilíndrico que impede a perda de ovos e larvas. Essa renovação constante de água, aliada ao arejamento, evita a acumulação de ovos ou larvas no fundo dos tanques. As larvas permanecem na incubadora até atingirem um dia após a eclosão (DAE), momento em que são transferidas para as salas do larvário.

Nas salas destinadas ao desenvolvimento larvar, a temperatura nos tanques varia entre 18 e 20 °C, com um suave arejamento no centro do tanque, próximo ao filtro, operando continuamente. Tendo em conta que as variáveis do meio de cultivo podem condicionar o desenvolvimento larvar, existe a necessidade de as controlar e ajustar rigorosamente, nomeadamente o caudal e arejamento. Um arejamento excessivo pode ser prejudicial para a integridade física da larva, enquanto um arejamento insuficiente pode afetar a interação entre as larvas e o alimento vivo. Relativamente à circulação da água, um caudal elevado resulta numa rápida renovação e na eliminação do alimento, enquanto um caudal reduzido pode levar à acumulação de alimento, comprometendo o ciclo de produção. A alimentação é em função do tamanho da boca; as larvas são inicialmente alimentadas com rotífero e posteriormente com artémia. De forma a aumentar o valor nutricional destes organismos promove-se o enriquecimento com recurso a enriquecedores disponíveis no mercado para este fim. É crucial fornecer um alimento que atenda a todas as necessidades das larvas para garantir um crescimento e sobrevivência adequados. Caso esses requisitos não sejam atendidos, podem surgir desafios e complicações na produção, levando a uma interrupção do ciclo produtivo. Portanto, é fundamental monitorizar o desenvolvimento das larvas diariamente, recolhendo larvas nos diferentes tanques para avaliar o comprimento total, conteúdo estomacal e possíveis anomalias. Essas amostras são essenciais para uma gestão eficaz da produção, permitindo avaliar se a ingestão de alimento está a ocorrer adequadamente e se os tanques apresentam agentes patogénicos no sistema.

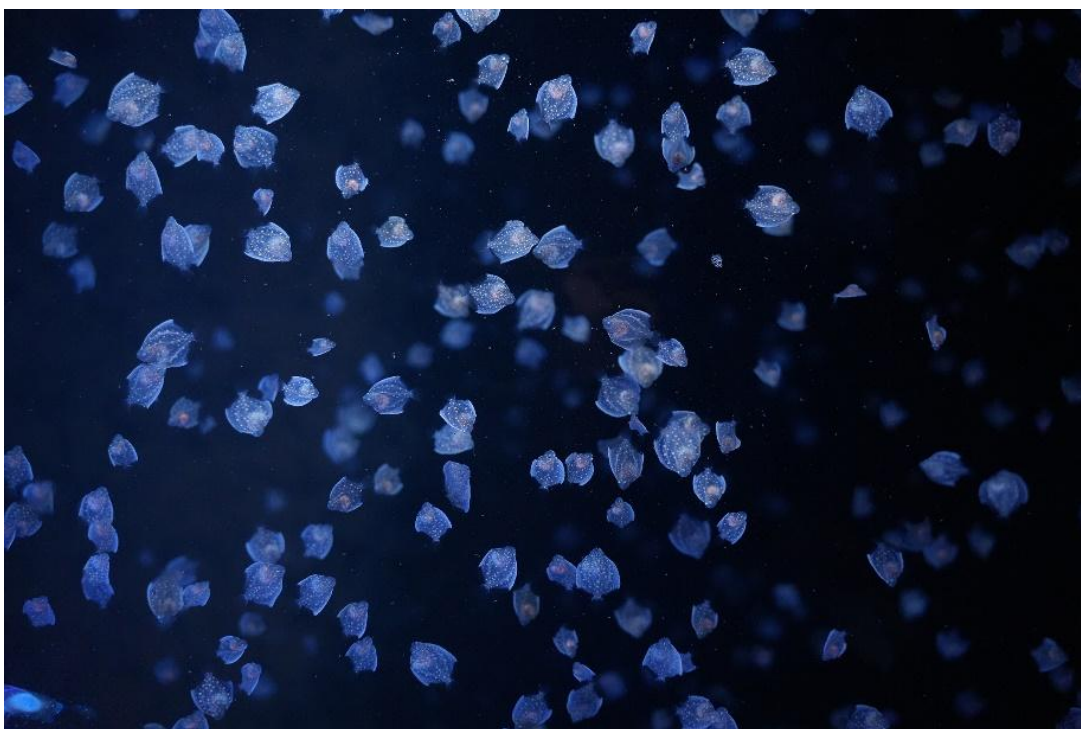


Figura 13 – Pregado em fase larvar (Flatlantic).

Existem, também, salas dedicadas ao cultivo de alimento vivo que irá servir de alimento às larvas. A sala dos rotíferos é equipada com tanques fechados e sistemas RAS para a produção de rotíferos, permitindo o crescimento da população, que posteriormente é enriquecida com produtos comerciais específicos para esse fim. Na sala da artémia, encontram-se tanques destinados à eclosão de cistos e ao enriquecimento da artémia. Além disso, há uma sala de fotobioreatores onde são cultivadas microalgas, utilizadas na aplicação da técnica da água verde no cultivo larvar.

Na sala do berçário, existe um conjunto de vários tanques integrados num sistema RAS, cada um equipado com um filtro central para renovar a água sem risco de perda das pós-larvas, sistema de arejamento e iluminação suspensa para controlar o fotoperíodo. A temperatura da água é mantida em torno de 19°C. De maneira semelhante, na sala do desmame há um sistema de cultivo com configuração e funcionamento idênticos. Tarefas diárias de medição de oxigénio e limpeza de tanques são cruciais para manter a boa qualidade das condições de cultivo. A alimentação é automática, seguindo critérios otimizados de qualidade e quantidade da ração fornecida.



Figura 14 – Sala do berçário (Flatlantic).

Posteriormente, os juvenis de pregado, com cerca de 60-70 dias após a eclosão (DAE) e ~1,5 g, são transferidos para as unidades de pré-engorda da empresa, onde permanecem por 3-4 meses. Inicialmente são mantidos em *raceways*, tanques retangulares com uma coluna de água de cerca de 20-30 cm, sendo posteriormente transferidos para tanques de cimento até atingirem aproximadamente 60-70 g. Por fim são transferidos para tanques exteriores até alcançarem o tamanho comercial de 800 g a 5 kg. Durante todo o processo,

são realizadas calibrações regulares para eliminar peixes com deformidades, ajustar as densidades de cultivo e promover a homogeneidade de tamanho dos animais nos tanques.



Figura 15 – Pregado juvenil (Flatlantic).

Os peixes que atingem o peso requerido pelos clientes são submetidos a um jejum de 48 horas antes de serem pescados e encaminhados para a fábrica de processamento de pescado. O controlo de qualidade é rigorosamente monitorizado, garantindo a rastreabilidade em todas as etapas. A partir da fábrica, o peixe é distribuído para diversos países da União Europeia e outros continentes. O peixe pode ser expedido inteiro, eviscerado, em posta, descabeçado ou sangrado, de acordo com as preferências dos clientes.



Figura 16 – Pregado para venda (Flatlantic).

2.3 Rotinas diárias

No estágio fui integrada na equipa dos reprodutores. O trabalho com os reprodutores exige uma rotina rigorosa e detalhada para garantir a saúde dos animais o sucesso reprodutivo dos mesmos. Cada dia começa com a preparação e a verificação cuidadosa de todos os procedimentos. O primeiro passo é a realização de uma *checklist* minuciosa para garantir que tudo está de acordo com o pretendido e que os animais se encontram em perfeitas condições. Uma das tarefas essenciais é a medição dos parâmetros físico-químicos da água, nomeadamente temperatura, salinidade e oxigénio, desta forma assegurando que o ambiente está propício para o desenvolvimento saudável dos reprodutores. A limpeza dos tanques (habitualmente purgas) que ocorre diariamente no seguimento das rotinas, é um processo crucial para diminuir o risco de aparecimento de agentes patogénicos. Contudo,

a limpeza dos tanques deve ser rápida, para não causar um aumento do *stress* nos animais e comprometer a produtividade. Relativamente à limpeza do equipamento, esta ocorre todos os dias, os filtros de areia (correspondentes a esta área) precisam de ser lavados e, para isso, reverte-se a direção da corrente de água, removendo partículas e descomprimindo o filtro. Simultaneamente com as tarefas de limpeza, são retiradas as mortalidades existentes. A alimentação é uma parte crítica do processo de reprodução. Todos os dias é seguida uma tabela precisa que estabelece o período de alimentação de todos os tanques. É importante respeitar o cronograma pois cada tanque é alimentado dia sim, dia não. A quantidade de ração é cuidadosamente pesada, desta forma, é garantido que cada tanque receba a quantidade certa, controlando assim a nutrição de cada grupo de peixes reprodutores. Diariamente, também é importante a avaliação das condições e comportamento dos animais, que é feita através da observação de modo a causar o mínimo de distúrbio sobre eles. A altura mais importante para realizar as observações é durante a alimentação, onde se faz uma avaliação dos indivíduos para garantir que os seus comportamentos são normais para as condições de produção a que estão submetidos. A avaliação do animal permite entender o estado fisiológico do animal e determinar a existência ou não de potenciais agentes patogénicos que possam estar a interferir com o seu desenvolvimento. Adicionalmente, a observação permite identificar se os peixes se encontram em fase de postura, pois é observável nas fêmeas através de um inchaço na zona abdominal, onde se encontra o órgão reprodutor. A rotina também inclui a realização diária de desovas de peixes reprodutores, seguindo sempre os planos e trabalhos estipulados pelo responsável da área. A equipa dos reprodutores também é responsável pela sala de incubação, onde a temperatura da água e o funcionamento dos equipamentos são monitorizados diariamente. A remoção diária dos ovos não fecundados ou que não se desenvolveram adequadamente é uma medida preventiva essencial para evitar patologias e garantir um ambiente saudável para o desenvolvimento dos ovos que têm potencial para o desenvolvimento larvar. Estas rotinas diárias exemplificam o compromisso, a atenção aos detalhes e o controlo rigoroso necessário para o sucesso na área da reprodução de peixes. Cada passo é fundamental para garantir que os objetivos sejam alcançados e que os animais se mantenham saudáveis e aptos para uma das fases do ciclo de vida, do ponto de vista fisiológico, mais desafiante, dado que é um período muito desgastante a nível energético (formação de gametas e postura), especialmente para as fêmeas.

3. Ensaio Enriquecimento Ambiental

3.1 Objetivos

Face à escassez de produtos provenientes do setor das pescas e à procura crescente dos mesmos pelo consumidor, a aquacultura assume progressivamente um papel fulcral na segurança alimentar e no fornecimento de produtos aquáticos nutritivos. No entanto, à medida que esta indústria precisa de intensificar a sua produção, tem, simultaneamente, de assegurar o bem-estar animal. Como já foi referido anteriormente, o *stress* nos peixes pode ter um impacto significativo na qualidade e no rendimento do produto final. Posto isto, é de extrema importância promover práticas que visam promover o bem-estar animal.

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho consistiu em avaliar como o impacto do enriquecimento ambiental (físico) nos tanques de reprodutores de pregado (*Scophthalmus maximus*) pode afetar o seu bem-estar através da análise de dados relacionados com o comportamento e o sucesso reprodutivo.

3.3 Material e Métodos

3.3.1 Desenho experimental

Este estudo foi realizado nas instalações da Flatlantic (Mira, Portugal). Para a realização do ensaio foram utilizados reprodutores de pregado com idades entre 2 a 5 anos com pesos entre 3 a 7 kg ($n=1080$, 360 machos e 720 fêmeas). Do *stock* de reprodutores já existente na maternidade da Flatlantic foram distribuídos aleatoriamente pelos 6 tanques destinados ao ensaio 60 machos e 28 fêmeas. Para alcançar o número de indivíduos pretendidos por cada tanque (60 machos e 120 fêmeas) e de forma a garantir em cada tanque uma proporção de machos e fêmeas de 1:2 existiu a necessidade de integrar 92 fêmeas provenientes dos tanques de engorda da empresa. Estas foram selecionadas porque apresentavam características de interesse para a reprodução (ex: taxa de crescimento elevada) e, tal como os restantes reprodutores, foram posteriormente identificadas com um *chip* (Figura 17) e introduzidas aleatoriamente nos diferentes tanques experimentais.



Figura 17 – Processo de colocação de um *chip* para identificação individual de cada animal.

Os 6 tanques utilizados no ensaio experimental eram quadrados (11 m de lado e 75 cm altura) e encontravam-se integrados num sistema em circuito aberto (Figura 18). Dada a heterogeneidade em termos de exposição solar dos tanques de cultivo, optou-se por distribuir os 2 tratamentos experimentais: grupo controlo (sem EA) e grupo EA (com EA) com 3 réplicas por cada tratamento experimental pelas duas condições ambientais e procurando não usar em tanques adjacentes o mesmo tratamento experimental (Figura 19). O EA testado neste ensaio foi conceptualizado de forma a fornecer abrigo aos animais. Os abrigos eram estruturas quadradas em PVC de 1m² de área e 17 cm de altura (construídos pela empresa Ergomarine) (Figura 20). Em cada tanque do grupo EA foram distribuídos 4 abrigos que cobriram aproximadamente 3% da área do fundo do tanque. Cada um dos abrigos foi colocado numa das 4 laterais de cada tanque. Antes do início do ensaio os peixes foram aclimatados aos tanques do sistema de cultivo por um período de 30 dias. Após este período, os abrigos foram introduzidos nos tanques. O período experimental compreendeu cerca de 80 dias e correspondeu ao período que antecedeu a época reprodutiva dos animais (4 maio de 2023 – 25 julho de 2023).



Figura 18 – Tanques em sistema aberto utilizados no ensaio.

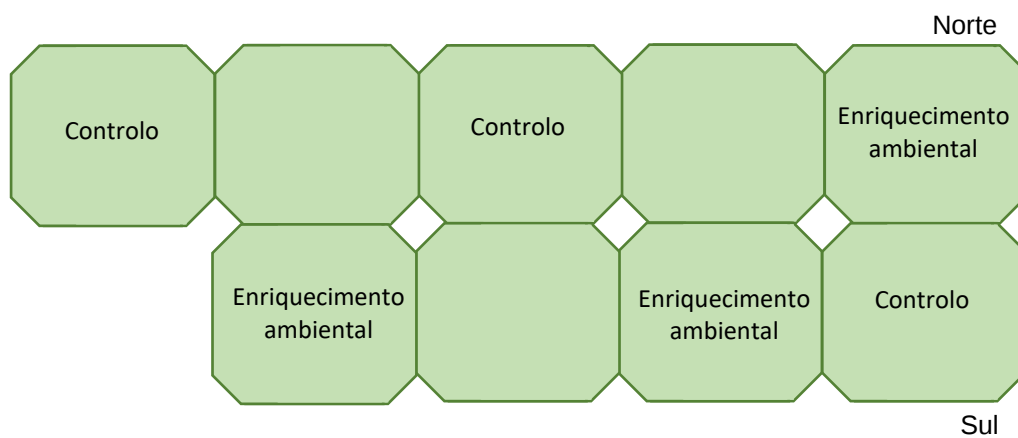


Figura 19 – Distribuição dos tanques durante o ensaio.



Figura 20 – Estruturas utilizadas durante o ensaio.

Para acompanhar e avaliar a condição física dos reprodutores, antes da colocação dos abrigos nos tanques, foram selecionados aleatoriamente 16 fêmeas e 8 machos para pesagem. Os mesmos animais foram selecionados no final do ensaio para nova pesagem. Durante o período experimental, os indivíduos ficaram sujeitos às condições ambientais naturais (salinidade 35 g/l, fotoperíodo natural 12-15h dia e temperatura média de 15,4°C, registos em anexos) registadas na Praia de Mira (40° 27' 22" N 8° 48' 07" O) na altura do ano (Figura 21). Os animais foram alimentados 1 vez por dia, 3 dias por semana até a saciedade visual com a dieta comercial usada na empresa para alimentar os reprodutores de pregado.

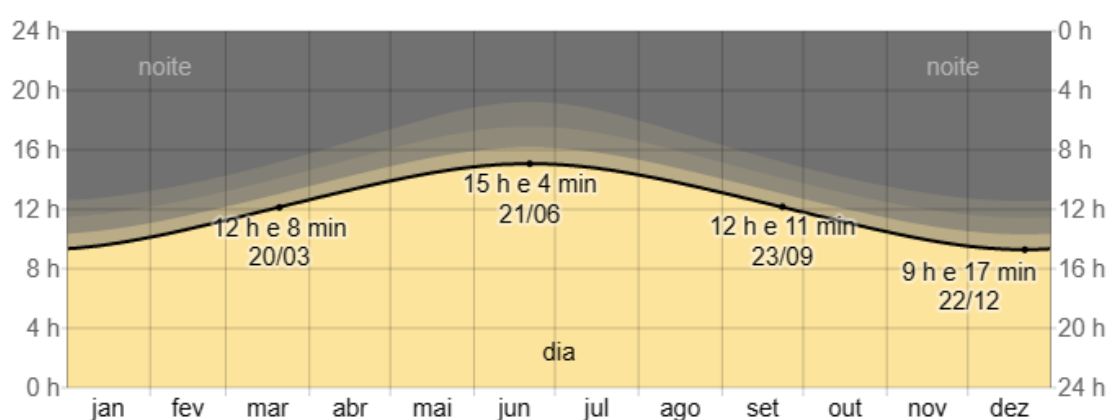
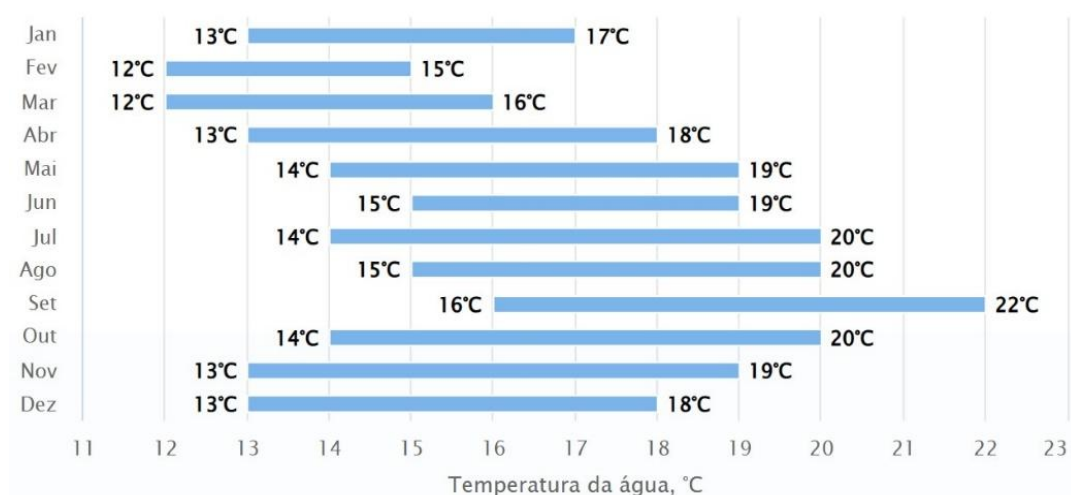


Figura 21 – Temperatura da água e número de horas de luz e crepúsculo em Mira. A linha preta mostra o número de horas em que o sol é visível (Fonte: WeatherSpark.com).

Durante o ensaio, de forma a avaliar a possível interação dos animais com os abrigos, em cada tanque foram realizadas amostragens de *scan* (Bateson & Martin, 2021) em 3 momentos (antes, durante e depois da alimentação) onde foram registadas as posições dos animais em relação às estruturas (em cima, em baixo ou fora) e a sua atividade em caso de estar a interagir com a estrutura. Estes dados foram recolhidos por um observador apenas, e registados numa tabela pré-estabelecida.

Para atingir este objetivo, foi criada uma tabela onde foram registadas as interações observadas (Anexo). De realçar que, devido ao tamanho relativamente grande dos tanques e à intenção de evitar a entrada nos tanques para minimizar um fator adicional de stress aos animais, os registos ficaram limitados às observações dos abrigos que estavam ao alcance visual a partir do exterior dos tanques. Intervenções dentro dos tanques foram realizadas somente quando estritamente necessárias (ex: remoção de mortalidade ou manutenção urgente de equipamentos) e realizadas de forma padronizada em todos os tanques.

Esta abordagem foi adotada para reduzir fatores adicionais nos resultados observados. Para determinar o período de início da época reprodutiva e posteriormente analisar o desempenho reprodutivo, durante o ensaio foi também necessário fazer a monitorização visual das fêmeas, de forma a avaliar o seu estado de maturação. A avaliação do estado de maturação das fêmeas por observação visual externa é possível tendo em conta os seguintes pressupostos: a) o tamanho dos ovários pode ser facilmente estimado por apalpação abdominal; b) fêmeas com estados de maturação avançados apresentam inchaço abdominal bem evidente. Com base nestes pressupostos e no grau de desenvolvimento/aparecimento de determinadas características visíveis a olho nu e/ou perceptíveis ao tato, é possível avaliar o estado de maturação das fêmeas com base numa escala numérica de 0 a 4 (conforme descrito abaixo).

Estados de maturação do pregado:

Inchaço ovárico:

0 = o ovário não pode ser detetado externamente

1 = o ovário só pode ser detetado pela palpitação da área abdominal.

2 = ligeiro inchaço do ovário, visível externamente na região abdominal.

3 = nível intermediário de inchaço do ovário

4 = máximo desenvolvimento ovárico

3.3.2 Análise estatística

Os dados recolhidos foram analisado com recuso ao software estatístico SPSS versão 26. Para os dados, após verificadas as condições de normalidade (teste Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Levene's test), foi aplicado o teste t para verificar a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dois tratamentos experimentais. Na exploração dos comportamentos dos indivíduos, foi abordada a análise descritiva, o cálculo de frequências através da elaboração de uma tabela cruzada e ainda um teste de independência qui-quadrado para investigar a associação de variáveis. No que diz respeito ao sucesso reprodutivo, foi utilizada inicialmente a análise descritiva procedida de testes t. Adicionalmente, foi utilizada uma tabela cruzada e aplicado um teste de independência qui-quadrado para compreender possíveis associações entre variáveis categóricas.

3.4 Resultados

3.4.1 Alimentação e peso

Foi calculada a média do alimento ingerido (em kg) durante o ensaio por tanque. As variáveis foram descritas na tabela 1. Através da análise de um teste t, verificou-se que não existiram diferenças significativas na alimentação dos tanques com EA e controlo ($p = 0,69$).

Tabela 1 – Análise descritiva da variável alimentação nos dois grupos de estudo (EA e controlo).

Alimentação (kg)	N	Média	Desvio padrão	Valor - p
EA	3	188,9	24,2	$p = 0,69$
Controlo	3	182,2	12,9	

Relativamente ao peso dos peixes em estudo, a amostra é formada por 288 pesagens, ou seja, 72 pesagens por tratamento. As amostras foram distribuídas por tipo de tratamento (EA ou controlo) e por período (antes ou depois do ensaio). A tabela 2 descreve as variáveis estudadas.

Tabela 2 – Análise descritiva da variável peso nos dois grupos de estudo (EA e controlo).

		N	Média	Desvio padrão
Peso antes (kg)	EA	3	5,11	0,14
	Controlo	3	4,65	0,16
Peso depois (kg)	EA	3	5,50	0,13
	Controlo	3	5,16	0,15

Após efetuada a diferença entre as médias de pesos nos diferentes tratamentos, foi estudada a sua normalidade. A variável apresentou uma distribuição normal, sem outliers, por isso, procedeu-se para a realização de um teste t. Não houve diferença significativa no peso dos reprodutores após a exposição ao EA ($p = 0,08$).

3.4.2 Comportamento

A amostra é composta por 136 registos comportamentais. As amostras foram distribuídas por tipo de comportamento registado - repouso e natação - e, pelo tipo de interação que tinham com o abrigo no grupo experimental EA - em baixo do abrigo, em cima do abrigo e sem interação com o abrigo. Os registos efetuados revelam que em cerca de metade (48%) das observações, os animais estavam a interagir com as estruturas de EA. Nos peixes que interagiram com os abrigos, quer em repouso quer em natação, 25% das vezes foram observados posicionados em baixo do abrigo e em 23% das vezes em cima do abrigo (figura 22).

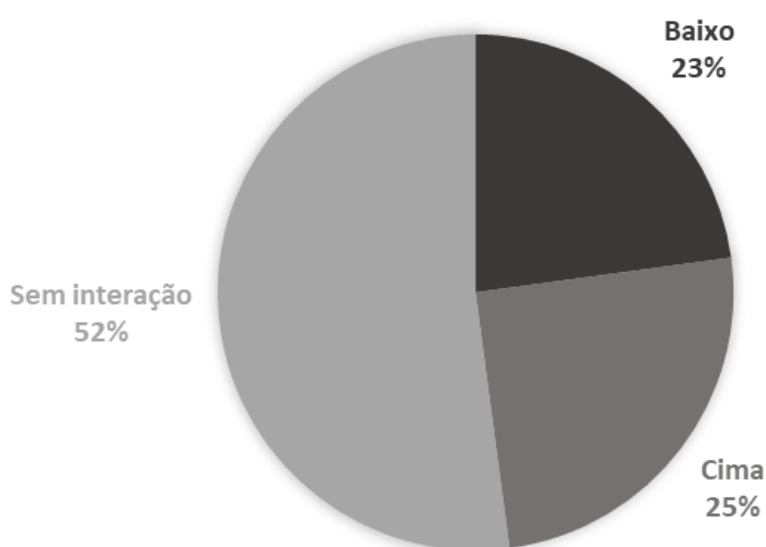


Figura 22 – Percentagem de interações dos indivíduos com o EA.

O comportamento mais observado quando havia interação com o EA era a natação (Figura 23). Quando os peixes estavam em natação, em 63,2% das ocasiões preferiam deslocar-se por cima do abrigo, no entanto, quando os peixes se encontravam em repouso, em 63% das vezes optavam por fazê-lo em baixo do EA. Neste sentido, através do teste de independência qui-quadrado foi possível verificar que existe uma relação significativa do comportamento com a zona de interação do EA ($p < 0,05$).

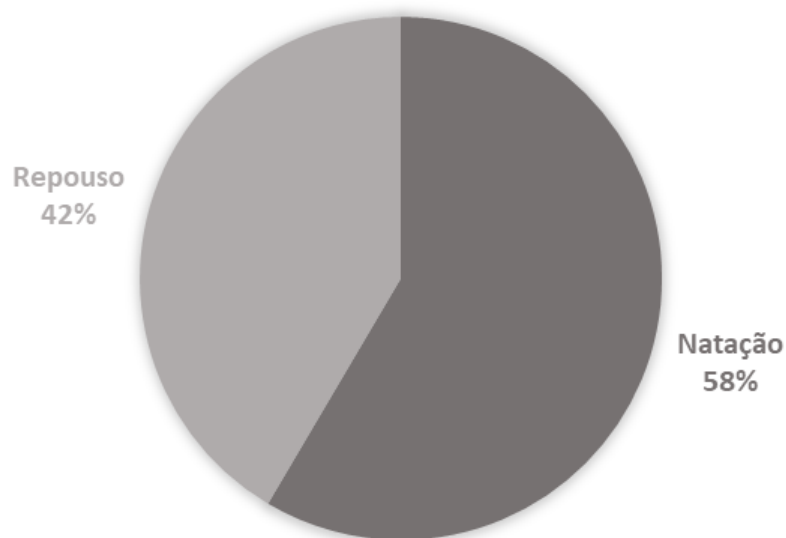


Figura 23 – Percentagem dos comportamentos utilizados quando existia interação com o EA.

Nas observações registadas antes da alimentação verificou-se uma maior tendência para não haver interação com o EA. No entanto, durante a alimentação verificou-se que em 80% das amostragens os peixes interagiam com o EA (Figura 24). Assim sendo, através de um teste de independência qui-quadrado verificou-se que o período de alimentação e a forma de interação com o EA não são acontecimentos independentes, ou seja, existe uma relação significativa entre o período de alimentação e a interação com o EA ($p < 0,05$).

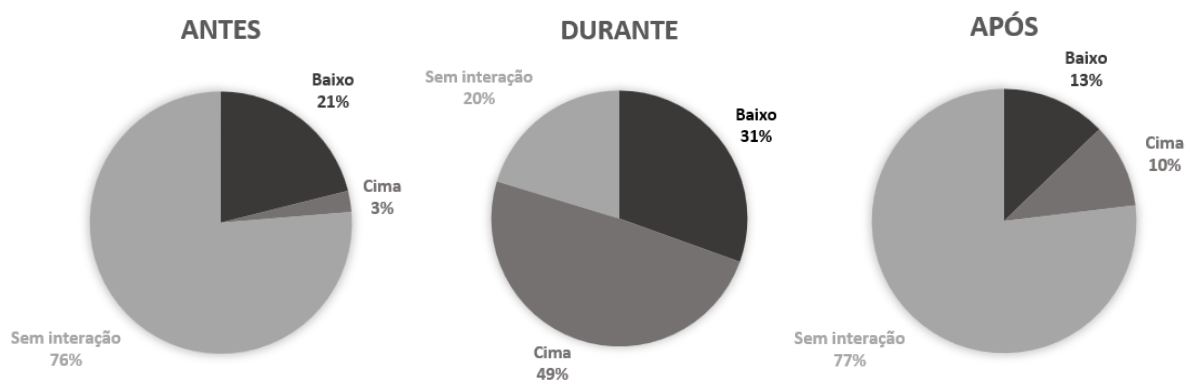


Figura 24 – Percentagem de interação com o EA antes, durante e após a alimentação.

3.4.3 Sucesso reprodutivo

A amostra é constituída por 113 desovas, das quais 67 desovas pertencem a tanques com EA e as restantes 46 desovas pertence a tanques controlo. Nos tanques com EA e controlo entraram 23 e 15 fêmeas em postura respetivamente. A tabela 3 descreve as variáveis estudadas.

Tabela 3 – Análise descritiva das variáveis Ovos (viáveis e não viáveis) e tratamentos (EA e controlo).

		N	Nº Ovos	Média	Desvio padrão	Taxa de eclosão
Viáveis (M)	EA	3	3,2	1067 000	394 000	17%
	Controlo	3	600 000	417 000	280 000	23%
Não viáveis (M)	EA	3	15,4	5127 000	2132 000	
	Controlo	3	8,9	2967 000	1553 000	

Através da realização de um teste t, foi determinado que não existe relação significativa no número de ovos com os diferentes tratamentos ($p = 0,19$).

Nos tanques com EA, 24% dos ovos foram considerados viáveis, em comparação, os tanques controlo obtiveram uma percentagem de ovos viáveis de 11%. Posto isto, foi perceptível que não existe associação significativa entre a qualidade dos ovos e o tipo de tratamento ($p = 0,08$).

Posteriormente, analisando o número de fêmeas que entraram em postura nos diferentes tratamentos, foi evidenciado que não existe diferença significativa no número de fêmeas ovadas ($p = 0,64$). No entanto, as fêmeas nos tanques com EA entraram em postura 5 dias mais cedo do que as fêmeas do grupo controlo. Em relação ao final da época reprodutiva, ambos os tratamentos terminaram no mesmo período.

3.5 Discussão

A aquacultura desempenha um papel crucial na oferta de alimentos, destacando-se como uma alternativa sustentável para suprir a crescente demanda por produtos provenientes do setor das pescas. No entanto, o bem-estar dos peixes de aquacultura é uma preocupação central, visto que em condições inadequadas podem afetar negativamente aspetos como a saúde, comportamento e, consequentemente, o sucesso reprodutivo.

Este estudo focou-se na avaliação da eficácia do EA na promoção do bem-estar de reprodutores cultivados em contexto real de produção. Em particular, foi investigada a vantagem do uso de abrigos como meio de enriquecimento para estimular padrões de comportamento normais e característicos dos existentes em meio natural, os quais poderiam desencadear benefícios no desempenho reprodutivo dos reprodutores mantidos em condições de cativeiro. Os resultados demonstram que os animais não só utilizam as estruturas de EA de forma deliberada, como também o fazem num contexto específico de alimentação. Isto revela que este tipo de EA tem um papel positivo no bem-estar dos reprodutores de pregado, ao dar-lhes a possibilidade de se abrigarem enquanto se alimentam. Por outro lado, a presença das estruturas não representou nenhum fator de *stress* adicional, havendo também uma tendência para os reprodutores sob EA entrarem em fase reprodutiva mais cedo.

Embora o peso dos reprodutores não seja o melhor indicador para avaliar o potencial efeito benéfico do EA, dado que a época reprodutiva é um processo exigente do ponto de vista fisiológico e, como tal potenciador de flutuações de peso nos animais, não se registaram diferenças face ao peso inicial e entre as duas condições experimentais. De igual forma, não se observaram diferenças estatísticas no alimento ingerido entre os dois grupos experimentais. Apesar de não se observar um efeito positivo claro do EA, estes resultados realçam que os abrigos não constituíram um fator de *stress* para os peixes, até pelo contrário. Os reprodutores mostraram aumento no comportamento antecipatório em relação ao alimento, colocando-se em cima das estrutura no momento da alimentação. Este efeito positivo e natural do EA sugere que este não apenas melhora a procura de alimento, mas também a expectativa e a preparação para a alimentação. Este comportamento vai ao encontro de um estudo recente, onde Oliveira et al., (2024) através da colocação de cordas suspensas em tanques de criação de dourada, observaram que os indivíduos se tornaram mais proativos na procura de alimento através de um comportamento antecipatório em relação à alimentação. Estes autores também observaram que a presença de estruturas suspensas alterou a distribuição horizontal dos peixes após a alimentação, influenciando a sua natação e as interações sociais. Estes dados reforçam que a introdução de estruturas e objetos no ambiente pode estimular os peixes a explorar e interagir mais com o seu habitat, potencialmente melhorando a aceitação da ração e a eficiência alimentar (Cabrera-Álvarez et al., 2024). Contudo, Gesto & Jokumsen (2022) evidenciaram que juvenis de truta-arco-íris (peso médio 15 g) mantidos em ambientes enriquecidos com abrigos exibiram uma taxa de crescimento equivalente ao grupo sem qualquer EA. Pelo contrário, outro estudo envolvendo outro tipo de EA, nomeadamente cordas suspensas com esferas em truta-arco-íris, demonstrou que os grupos expostos a este tipo de EA apresentaram pesos finais consideravelmente superiores face aos animais mantidos em condições sem EA (Crank et al.,

2019). Estes resultados sugerem que nem sempre a aplicação de EA resulta em efeitos positivos evidentes no desempenho zootécnico dos peixes destacando a importância de explorar uma variedade de estratégias de EA para perceber a que funciona melhor de acordo com a etologia de cada espécie.

Na maioria dos animais, a procura por abrigo é motivada por sentimentos de ameaça e/ou condições ambientais indesejadas. No presente trabalho, a análise ao comportamento dos pregados evidenciou uma maior prevalência dos animais fora das zonas do abrigo, o que poderá dizer que os pregados não apresentaram necessidade de se esconder ou reduzir a sua exposição às condições ambientais envolventes onde se encontravam. Para além de variar entre espécies de animais, a procura por abrigo pode variar em função de diversos fatores, tais como fase de desenvolvimento, situação de *stress*, densidade, etc. Por exemplo, Gesto & Jokumsen (2022) observaram que densidades baixas afetam a capacidade dos juvenis de truta-arco-íris perceberem o ambiente a seu redor ou de sentirem a necessidade de procurar abrigo.

Nos momentos de interação com o abrigo, nomeadamente um comportamento de repouso, os peixes exibiram uma preferência pela zona inferior do abrigo, o que sugere que as estruturas desempenharam a funcionalidade pretendida, proporcionando uma sensação de segurança e proteção. Este comportamento está em consonância com o descrito num estudo prévio com truta-arco-íris onde os grupos de peixes com acesso a abrigos demonstraram claramente uma tendência para procurá-los quando expostos a fatores de *stress* (Gesto & Jokumsen, 2022). No comportamento de natação, o mais frequente durante as interações com o EA, este ocorreu maioritariamente na zona superior do abrigo e durante o período de alimentação, o que sugere algum tipo de vantagem no processo de alimentação. Contrariamente a outras espécies de peixes planos, como o linguado, o pregado é predador visual que se alimenta na coluna de água. Estando os abrigos mais elevados que o fundo do tanque, isso permite aos peixes aceder mais rápido ao alimento. Este comportamento indicia um comportamento de adaptação/aprendizagem que associa o abrigo ao acesso a alimento. Este tipo de comportamento é transversal a outros animais marinhos, como os cefalópodes, lontras ou golfinhos, que fazem uso de ferramentas para facilitar o processo de alimentação (Mann & Patterson, 2013). Noutra espécie, os peixes-limpadores da família Labridae, as rochas são usadas para partir bivalves e facilitar a ingestão de alimento (Jones et al., 2011).

Em relação ao sucesso reprodutivo, não foram observadas diferenças significativas na quantidade de ovos e fêmeas maduras entre os dois tratamentos experimentais. No entanto, notou-se que as fêmeas submetidas ao enriquecimento ambiental entraram em época reprodutiva mais cedo. Além disso, os ovos provenientes dos tanques com EA

apresentaram maior viabilidade. Este resultado é consistente com um estudo anteriormente realizado com o peixe-zebra (*Danio rerio*), no qual o grupo submetido a EA obteve maior produção de ovos e com maior viabilidade, quando comparado com os peixes que não tinham nenhum EA (Wafer et al., 2016).

A presença dos abrigos nos tanques acabou por apresentar alguns constrangimentos que anteciparam o fim do ensaio antes da data prevista, nomeadamente dada a acumulação de restos de alimento e fezes que começou a despoletar nos peixes do grupo experimental com EA alguns sinais de debilidade física. Após o fim do período experimental, o acompanhamento dos tanques previamente submetidos a EA até ao final da época reprodutiva (aproximadamente um mês depois do final do ensaio) permitiu observar que a taxa de eclosão dos ovos provenientes dos animais expostos ao EA foi superior face ao grupo controlo (25% e 4% respetivamente). Face a estes resultados não é possível descartar um potencial efeito benéfico do EA no desempenho reprodutivo. Contudo, estudos adicionais serão necessários para realmente comprovar esta hipótese. Adicionalmente, será importante avaliar se, em condições de maior densidade ou diferente hidrodinâmica os problemas relativamente à acumulação de restos de comida e fezes conseguem ser ultrapassados. Seria igualmente pertinente realizar estudos futuros que submetam os peixes a condições de *stress*, a fim de investigar se estes utilizam efetivamente os abrigos como estratégia de mitigação do *stress*.

Importa realçar que antes de se avançar para a inclusão de abrigos foi testada/ equacionada uma outra abordagem, nomeadamente a colocação de macroalgas vivas (*Ulva rigida*) no tanque. As macroalgas, para além de constituírem um elemento que integra o habitat natural dos peixes iriam simultaneamente servir de esconderijo e fonte adicional de alimento para os reprodutores. Esta estratégia já foi observada com o uso de algas artificiais (AquaMats®), desenvolvidas para enriquecer estruturalmente os fundos das lagoas, promovendo o crescimento e a saúde das barbatanas da truta-arco-iris, além de fornecer o desenvolvimento de invertebrados, que atuam como uma fonte nutricional extra para as espécies em cultivo (Arndt et al., 2002). No entanto, desafios de ordem operacional inviabilizaram a aplicação desta abordagem em contexto comercial. Se por um lado, a estrutura do tanque inviabilizava a fixação das macroalgas ao fundo do tanque, a hidrodinâmica da água no tanque promoveu a deriva das algas, comprometendo a estabilidade desejada. Para além disso, durante as práticas diárias de manutenção dos tanques, as purgas realizadas, provocaram desfragmentação da alga, o que promoveu entupimento e obstrução das saídas de água. Dado que os tanques estão protegidos com lonas para proteger a pele sensível dos peixes da radiação solar, a limitação de luz nos tanques também se revelou prejudicial para o crescimento das macroalgas, o que implicaria uma adição regular de

macroalgas para cobrir completamente o fundo do tanque e que se tornaria inviável a longo prazo de um ponto de vista logístico e económico. Face a destes desafios, existiu a necessidade de reestruturar a abordagem a aplicar. A solução encontrada passou pela implementação de estruturas no ambiente construídas com material inerte e de fácil limpeza com o objetivo de funcionarem como abrigos e apresentarem a flexibilidade de se poder ajustar a elevação a diferentes níveis. A procura por abrigo é amplamente difundida entre os animais para reduzir a exposição quando se sentem ameaçados ou quando as condições ambientais não são favoráveis (Gesto & Jokumsen, 2022).

3.6 Conclusão e perspetivas futuras

Este trabalho evidenciou a complexidade e os desafios que se colocam quando se pretende testar e integrar este tipo de estratégias a uma escala comercial. Contudo, foi um estudo que permitiu uma melhor compreensão da etologia da espécie e constituir um bom ponto de partida para futuras melhorias em trabalhos desta natureza em contexto real de produção. Apesar de não se ter observado um benefício claro do EA no desempenho reprodutivo, as tendências observadas ao nível da viabilidade dos ovos e antecipação da época reprodutiva motivam a que este tipo de abordagens sejam exploradas.

Uma consideração relevante para futuras investigações seria a extensão do estudo de forma a abranger toda a época reprodutiva, em vez de se focar apenas em metade (como aconteceu neste estudo). Ao analisar todo o ciclo reprodutivo, será possível obter percepções mais abrangentes sobre os efeitos do EA. Inclusivamente seria interessante acompanhar mais detalhadamente as diversas fases de desenvolvimento dos descendentes dos reprodutores submetidos a este tipo de estímulo, desde o desenvolvimento larvar até a fase adulta. Isso permitiria avaliar se existem diferenças significativas no crescimento larvar e nas taxas de mortalidade entre as larvas provenientes dos tratamentos com EA. Integrar aos estudos outros parâmetros-chave envolvidos na resposta ao *stress* ou outros indicadores do estado de saúde (ex: medição da hormona associada ao *stress*, cortisol; parâmetros imunológicos) iria oferecer uma compreensão holística do impacto do EA na saúde e bem-estar dos animais.

4. Considerações finais

O meu estágio na Flatlantic foi, sem dúvida, um marco significativo na minha carreira. Embora não tenha sido a minha primeira experiência em contexto empresarial, foi a minha primeira experiência numa empresa de aquacultura. O que começou como uma oportunidade educacional, transformou-se numa jornada que me fez crescer profissionalmente e deu-me a oportunidade de poder ingressar na empresa como técnica na maternidade. Durante o estágio, tive a oportunidade de explorar diversas áreas na maternidade, o que me fez ganhar um entendimento mais profundo dos desafios e da complexidade envolvida numa empresa de aquacultura. Consegui consolidar as aprendizagens adquiridas ao longo do meu percurso académico e constatei com metodologias de produção que aplicam tecnologias de ponta de forma a favorecer a prática de uma aquacultura de precisão (ex: sistemas RAS, alimentadores automáticos). Com isto, sinto-me mais preparada para enfrentar os desafios em constante evolução do setor.

Resumidamente, esta experiência foi transformadora. Consegui adquirir conhecimento práticos valiosos, expandir a minha rede de contatos e assumir um papel ativo na promoção da aquacultura sustentável. Sinto-me empolgada para continuar esta jornada repleta de sucessos com a Flatlantic e ansiosa para enfrentar os desafios emocionantes que a aquacultura tem para oferecer.

5. Referências bibliográficas

- APROMAR (2022). Aquaculture in Spain. Spanish Aquaculture Producers Association (APROMAR-OPP30).
- Almansa, C., Oca, J., Claramunt, J., & Reig, L. (2017). Influence of tank bottom surface on growth and welfare of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquacultural Engineering*, 78, 205-215.
- Arasu, A., Kumaresan, V., Sathyamoorthi, A., Palanisamy, R., Prabha, N., Bhatt, P., Roy, A., Thirumalai, M.K., Gnanam, A.J., Pasupuleti, M., Marimuthu, K., Arockiaraj, J. (2013). Fish lily type lectin-1 contains β -prism 2 architecture: immunological characterization. *Molecular Immunology*, 56, 497-506.
- Arechavala-Lopez, P., Diaz-Gil C., Saraiva, J.L., Moranta, D., Castanheira, M. F., Nuñez-Velázquez, S., Ledesma-Corvi, S., Mora-Ruiz, M. R., Grau, A. (2019). Effects of structural environmental enrichment on welfare of juvenile seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Reports*, 15, 100224.
- Arechavala-Lopez, P., Cabrera-Álvarez, M. J., Maia, C. M., & Saraiva, J. L. (2021). Environmental enrichment in fish aquaculture: a review of fundamental and practical aspects. *Reviews in Aquaculture*, 14(2), 704-728.
- Arndt, R.E., Routledge, M.D., Wagner, E.J., Mellenthin, R.F. (2002) The use of AquaMats® to enhance growth and improve fin condition among raceway cultured rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 33, 359–367.
- Arockiaraj, J., Gnanam, A.J., Dhanaraj, M., Ranganath, G., Milton, J., Singh, A., Saravanan, M., Marimuthu, K., Subha, B. (2012). Crustin, a WAP domain containing antimicrobial peptide from freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: immune characterization. *Fish Shellfish Immunology*, 34, 109-118.
- Arockiaraj, J., Kumaresan, V., Bhatt, P., Palanisamy, R., Gnanam, A.J., Pasupuleti, M., Kasi, M., Chaurasia, M.K. (2014). A novel single-domain peptide; anti-LPS factor from prawn: synthesis of peptide; antimicrobial properties and complete molecular characterization. *Peptides*, 53, 79-88.
- Ashley, P. J. (2007). Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3-4), 199-235.

- Barton, B. A. (2002). Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 517-25.
- Bateson, M., & Martin, P. (2021). Measuring behaviour: an introductory guide. *Cambridge university press*.
- Brooks, S., Tyler, C. R., Sumpter, J. P. (1997). Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 387-416.
- Broom, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, 142(6) 524-526.
- Broom, D. M. (1991). Animal welfare: concepts and measurement. *Journal of Animal Science*, 69(10), 4167– 75.
- Cabrera-Álvarez, M. J., Arechavala-Lopez, P., Mignucci, A., Oliveira, A. R., Soares, F., Saraiva, J. L. (2024). Environmental enrichment reduces the effects of husbandry stressors in gilthead seabream broodstock. *Aquaculture Reports*, 37, 102256.
- Crank, K.M., Kientz, J.L., Barnes, M.E. (2019). An evaluation of vertically suspended environmental enrichment structures duringrainbow trout rearing. *North American Journal of Aquaculture*, 81, 94–100.
- da Silva, M. C., Canario, A. V. M., Hubbard, P. C., & Goncalves, D. M. F. (2021). Physiology, endocrinology and chemical communication in aggressive behaviour of fishes. *Journal of Fish Biology*, 98(5), 1217-1233.
- Dawkins, M. S. (1988). Behavioural deprivation: a central problem in animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 20 (3-4), 209-225.
- Directorate-General for Maritime Affairs and Fisheries (2023). THE EU FISH MARKET. Disponible https://eumofa.eu/documents/20124/35668/EFM2023_EN.pdf/95612366-79d2-a4d1-218b-8089c8e7508c?t=1699541180521. ISSN 2363-4154. ISBN 978-92-76-99026-0
- Duncan, I. J. H. (1993). Welfare is to do with what animals feel. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, (Suppl. 2), 8 – 14.
- Esteban, M. Á. (2012). An Overview of the Immunological Defenses in Fish Skin. *ISRN Immunology*, 2012, 3-4.
- FAO (1988). *State of food and agriculture*. FAO Agriculture Series, (No.22).
- FAO (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*. Rome, FAO

- FAO (2023a). *Scophthalmus maximus*. Cultured Aquatic Species Information Programme. https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/psetta_maxima/en
- FAO (2024). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Blue Transformation in action*. Rome
- Fast, M. D., Sims, D. E., Burka, J. F., Mustafa, A., & Ross, N. W. (2002). Skin morphology and humoral non-specific defense parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, 132(3), 645–657.
- FAWC, F. A. W. C. (1993). Report on Priorities for Research and Development in Farm Animal Welfare. *Farm Animal Welfare Council* (Great Britain).
- Fernandez-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M., Vergara, J.M. (1995). Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 132, 325-337.
- Forés, R., Iglesias, J., Olmedo, M., Sánchez, F.J., Peleteiro, J.B. (1990). Induction of spawning in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) by a sudden change in the photo-period. *Aquacultural Engineering* 9(5), 357-366.
- Gesto, M., & Jokumsen, A. (2022). Effects of simple shelters on growth performance and welfare of rainbow trout juveniles. *Aquaculture*, 551, Article 737930.
- Gibson, R. N., Stoner, A. W., & Ryer, C. H. (2014). The behaviour of flatfishes. In: Gibson, R. N., Nash, R.D.M., Geffen, A.J., Van der Veer, H.W. (eds), *Flatfishes Biology and Exploitation*, 2nd edition. Wiley-Blackwell.
- Hediger H. (1950). Wild animals in captivity. London: Butterworths, p.207.
- Hediger H. (1969). Man and animal in the zoo. London: Routledge and Kegan Paul, p303.
- Hughes, B.O. (1976). Behaviour as an index of welfare. *Proceedings of the Fifth European Poultry Conference*, Malta, 1005-1018.
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P., & Turnbull, J. F. (2006). Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 68 (2), 332-372.
- Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas da Pesca: 2022. Lisboa: INE, 2023. Disponível na www: <url:https://www.ine.pt/xurl/pub/66322600>. ISSN 0377-225-X. ISBN 978-989-25-0643-2

- Jalabert, B. (2005). Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reproduction Nutrition Development*, 45, 261.
- Jones, A.M., Brown, C., Gardner, S. (2011.) Tool use in the tuskfish *Choerodon schoenleinii*?. *Coral Reefs*, 30(3), 865-865
- Jones, N. A. R., Webster, M. M., & Salvanes, A. G. V. (2021). Physical enrichment research for captive fish: Time to focus on the DETAILS. *Journal Fish Biology*, 99(3), 704-725.
- Kubitza, F., & Lovshin, L. L. (2010). Formulated diets, feeding strategies, and cannibalism control during intensive culture of juvenile carnivorous fishes. *Reviews in Fisheries Science*, 7(1), 1-22.
- Kumari U., Nigam AK., Mitial S., Mitial AK. (2011). Antibacterial properties of the skin mucus of the freshwater fishes, *Rita rita* and *Channa punctatus*. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 15(7), 781-6.
- Lie O., Evensen O., Sorensen A. & Froysadal E. (1989) Study on lysozyme activity in some fish species. *Diseases of Aquatic Organisms* 6,1-5.
- Lund, V. (2006). Natural living - a precondition for animal welfare in organic farming. *Livestock Science*, 100(2-3), 71-83.
- Martínez P., Robledo D., Ramilo S., Hermida M., Toboada X., Pereiro P., Rubiolo J., Ribas L., Tato A., Dios J., Piferrer F., Novoa B., Figueiras A., Pardo B., Fernández J., Viñas A., Bouza C. (2016). Turbot (*Scophthalmus maximus*) genomic resources: application for boosting aquaculture production. In S. MacKenzie & S. Jentoft (Eds.), *Genomics in Aquaculture* (pp. 131–163). ACADEMICPRESS.
- Mann J., Patterson E., M. (2013). Tool use by aquatic animals. *Phil Trans R Soc B*, 368
- Mañanós, E., Duncan, N.J., & Mylonas, C.C. (2009). Reproduction and control of evolution, spermiation and spawning in cultured fish. In: *Methods in Reproductive Aquaculture*. CRC Press Taylor and Francis Group.
- McCulloch, S. P. (2013). A critique of FAWC's five freedoms as a framework for the analysis of animal welfare. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 26, 959-975.
- McEvoy, L. A. (1984). Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *Journal of Fish Biology* 24, 437–448.
- McGlone, J. J. (1993). What is animal welfare? *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 6, 26–36.

- Mellen, J., MacPhee, M.S., 2001. Philosophy of environmental enrichment: past, present, and future. *Zoo Biology*, 20, 211–226.
- Moberg, G. P. (2000). Biological response to stress: implications for animal welfare. In G. P. Moberg & J. A. Mench (eds.), *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*, 1-21. CABI Publishing, London.
- Newberry, R.C., 1995. Environmental enrichment: increasing the biological relevance of captive environments. *Applied Animal Behaviour Science*, 44, 229–243.
- Näslund, J., & Johnsson, J. I. (2014). Environmental enrichment for fish in captive environments: effects of physical structures and substrates. *Fish and Fisheries*, 17(1), 1–30.
- Oliveira, A. R., Cabrera-Álvarez, M. J., Soares, F., Díaz-Gil, C., Candeias-Mendes, A., Saraiva, J. L., & Arechavala-Lopez, P. (2024). Structural enrichment promotes natural behaviour and welfare of captive gilthead seabream broodstock. *Applied Animal Behaviour Science*, 275, 106289.
- Polat, H., Özen, M.R., Keskin, S.Y. (2018). The Embryonic Development of Black Sea Turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758) Eggs in Different Incubation Temperatures and Salinities. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18, 475-482.
- Poli, B.M. (2009). Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality. *Italian Journal of Animal Science*, 8(1), 139-160,
- Raj V. S., Fournier G., Rakus K., Ronsmans M., Ouyang P., Michel B., Delforges C., Costes B., Farnir F., Leroy B., Wattiez R., Melard C., Mast J., Lieffrig F., Vanderplasschen A. (2011). Skin mucus of *Cyprinus carpio* inhibits cyprinid herpesvirus 3 binding to epidermal cells. *Veterinary Research*, 42 (1), 92.
- Riotte-Lambert, L., & Matthiopoulos, J. (2020). Environmental predictability as a cause and consequence of animal movement. *Trends in Ecology & Evolution*, 35(2), 163-174.
- Rurangwa, E. & Poelman, M. (2011). Hatchery manual for broodstock management and larval production of turbot (*Psetta maxima*). IMARES, 52.
- Sanchez-Vazquez, F. J., Lopez-Olmeda, J. F., Vera, L. M., Migaud, H., Lopez-Patino, M. A., & Miguez, J. M. (2019). Environmental cycles, melatonin, and circadian control of stress response in fish. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 279.
- Saraiva, J. L., Castanheira, M. F., Arechavala-López, P., Volstorf, J., & Studer, B. H. (2018). Domestication and welfare in farmed fish. In Teletchea F. (ed.), *Animal Domestication*. London, UK: IntechOpen.

- Saraiva, J.L., Nogueirinha, M., Teodosio, R., Aragao, C., Engrola, S., Arechavala-Lopez, P. (2021). The effect of tank cover on welfare of farmed Nile tilapia. *Applied Animal Behaviour Science*, vol 241.
- Saraiva, J. L., Arechavala-Lopez, P., Sneddon, L. U. (2022). Farming fish. In *Routledge handbook of animal welfare* (pp. 115-127). Routledge.
- Saurabh S. & Sahoo P.K. (2007). Ich (white spot) disease in carps. *Aqua International* 14, 27-29.
- Saurabh, S., Sahoo, P.K., (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquaculture Research* 39, 223–239.
- Schreck, C. B., & Tort, L. (2016). The concept of stress in fish. *Biology of Stress in Fish - Fish Physiology*, 35, 1-34.
- Seafish. (2020). Turbot. <https://www.seafish.org/responsible-sourcing/aquaculture-farming-seafood/species-farmed-in-aquaculture/aquaculture-profiles/turbot/>
- Secombes, C. J., & Wang, T. (2012). The innate and adaptive immune system of fish. In: *Infectious Disease in Aquaculture: Prevention and Control* (pp. 3-68). Elsevier Inc.
- Stankus, E. (2003). The peculiarities of turbot (*Psetta Maxima* L.) biology and their role in the ecosystem of the baltic sea coastal zone of lithuania. *Acta Zoologica Lituanica*, 13 (2), 217-238.
- Stickney, R. R. (2005). Encyclopedia of Aquaculture. In G. Collins (Ed.), *Encyclopedia of Coastal Science* (Issue January 2005).
- Stien, L.H., Bracke, M., Noble, C., Kristiansen, T.S. (2020). Assessing fish welfare in aquaculture. In: Kristiansen, T., Fernö, A., Pavlidis, M., van de Vis, H. (eds), *The Welfare of Fish. Animal Welfare*, vol 20. Springer, Cham.
- Tong, X.H., Xu, S.H., Liu, Q.H., Li, J., Xiao, Z. Z., Ma, D. Y (2013). Stages of embryonic development and changes in enzyme activities in embryogenesis of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture International*, 21, 129–142.
- Trond Bjørndal and Victor Øiestad (2011). Turbot – Production technology and markets. *GLOBEFISH Research Programme*, 103 (31).
- Wafer, L. N., Jensen, V. B., Whitney, J. C., Gomez, T. H., Flores, R., & Goodwin, B. S. (2016). Effects of environmental enrichment on the fertility and fecundity of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 55(3), 291-294.

- Webster, J., Saville, C., Welchman, D. (1986). Improved husbandry systems for veal calves. *Farm Animal Care Trust*, London, UK.
- Wells, D. L. (2009). Sensory stimulation as environmental enrichment for captive animals: a review. *Applied Animal Behaviour Science*, 118(1-2), 1-11.
- Yildiz H.Y. (2006) Plasma lysozyme levels and secondary stress response in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) after exposure to Leteux-Meyer mixture. *Turkey Journal of Animal Science* 30, 265-269.

Anexos

Tabela 1 – Tabela onde foram documentadas as interações observadas.

Registo ensaio EA (antes, durante e após alimentação)				
Data:	Em cima da estrutura	Em baixo da estrutura	Não há interação	Outro comportamento/ Observações
E-138 (Antes)				
E-138 (Durante)				
E-138 (Após)				
E-136 (Antes)				
E-136 (Durante)				
E-136 (Após)				
E-129 (Antes)				
E-129 (Durante)				
E-129 (Após)				

Taxa de eclosão dos ovos:

$$Taxa\ de\ eclos\tilde{a}o\ dos\ ovos = \frac{Larvas\ eclodidas \times 100}{Ovos\ fertilizados}$$

Dados recolhidos na zona de captação de água da Flatlantic

Data	Temp. Média	Turbidez Média	Canal Médio	Poço Médio	Caudal M3/s Médio	Rendim. Médio
01/05/2023	14,7	3,4	3,70	5,97	6,68	53,7%
02/05/2023	14,7	3,5	3,70	6,01	6,73	54,8%
03/05/2023	15,0	2,5	3,64	5,79	6,70	54,2%
04/05/2023	16,6	2,4	3,64	5,53	6,99	55,2%
05/05/2023	17,2	2,6	3,66	5,54	6,96	54,5%
06/05/2023	17,4	3,5	3,68	5,66	6,93	56,1%
07/05/2023	16,3	3,7	3,68	5,67	6,93	57,8%
08/05/2023	14,8	3,2	3,70	6,16	6,61	56,7%
09/05/2023	15,0	2,9	3,69	6,33	6,50	51,2%
10/05/2023	15,1	3,9	3,70	6,29	6,52	50,5%
11/05/2023	15,2	3,7	3,70	5,98	6,83	49,3%
12/05/2023	15,2	4,5	3,70	5,75	6,76	47,0%
13/05/2023	14,8	5,0	3,70	5,74	6,83	48,3%
14/05/2023	14,4	3,5	3,70	5,69	6,76	48,3%
15/05/2023	14,3	3,1	3,67	5,56	6,82	49,2%
16/05/2023	14,0	3,8	3,58	5,41	6,72	49,9%
17/05/2023	14,3	2,6	3,67	5,52	6,93	53,5%
18/05/2023	14,5	1,7	3,53	5,34	6,69	53,1%
19/05/2023	14,3	2,5	3,68	5,59	6,88	50,2%
20/05/2023	14,3	2,5	3,70	5,87	6,77	48,5%
21/05/2023	14,3	2,7	3,70	5,89	6,84	48,9%
22/05/2023	14,3	5,5	3,70	5,88	6,75	48,3%
23/05/2023	14,2	3,9	3,70	5,90	6,78	50,2%
24/05/2023	14,2	4,9	3,70	5,84	6,88	51,0%
25/05/2023	14,4	6,0	3,69	5,69	6,95	50,2%
26/05/2023	14,9	6,6	3,70	5,62	6,98	48,6%
27/05/2023	16,2	2,2	3,70	5,41	7,00	48,4%
28/05/2023	16,2	1,7	3,70	5,40	7,03	49,8%
29/05/2023	16,4	1,3	3,69	5,46	7,04	50,3%
30/05/2023	17,0	1,3	3,70	5,39	7,03	48,8%
31/05/2023	16,9	1,3	3,70	5,57	6,98	49,4%
01/06/2023	16,7	1,1	3,59	5,73	6,59	48,2%
02/06/2023	16,3	1,2	3,69	5,97	6,71	49,8%
03/06/2023	15,7	1,1	3,64	5,98	6,58	49,4%
04/06/2023	15,5	1,0	3,70	6,09	6,68	51,3%
05/06/2023	15,0	1,0	3,69	5,98	6,72	52,0%
06/06/2023	14,9	1,0	3,71	5,89	6,82	53,5%
07/06/2023	15,4	1,1	3,71	5,93	6,92	55,6%
08/06/2023	16,9	2,1	3,69	5,64	7,35	57,1%
09/06/2023	18,2	2,4	3,67	5,27	7,21	53,9%
10/06/2023	18,2	3,2	3,69	5,51	7,06	51,5%
11/06/2023	18,6	2,5	3,70	5,94	6,77	44,7%
12/06/2023	18,8	1,5	3,69	6,45	6,51	47,1%
13/06/2023	18,9	1,6	3,69	6,31	6,63	53,4%
14/06/2023	17,4	1,4	3,70	6,10	6,66	63,2%

15/06/2023	17,0	1,5	3,69	5,89	6,80	65,0%
16/06/2023	16,6	2,2	3,71	5,75	6,92	66,5%
17/06/2023	16,1	4,3	3,68	5,83	6,80	68,5%
18/06/2023	16,4	6,1	3,69	6,08	6,88	59,0%
19/06/2023					6,81	0,0%
20/06/2023	16,8	3,0	3,69	5,38	7,07	57,2%
21/06/2023	16,5	2,7	3,69	5,48	7,11	73,3%
22/06/2023	16,3	2,8	3,68	5,42	7,10	75,1%
23/06/2023	16,0	2,9	3,70	5,36	7,09	75,4%
24/06/2023	15,8	1,8	3,70	5,40	7,12	77,7%
25/06/2023	15,6	2,0	3,69	5,42	7,07	77,7%
26/06/2023	15,3	3,3	3,70	5,35	7,14	78,7%
27/06/2023	15,3	4,6	3,70	5,36	7,12	76,0%
28/06/2023					7,13	0,0%
29/06/2023	15,2	4,9	3,69	5,31	7,18	53,8%
30/06/2023	15,0	5,3	3,68	5,21	7,16	82,6%
01/07/2023	14,4	3,0	3,67	5,34	7,13	84,7%
02/07/2023	14,4	3,5	3,66	5,40	7,11	83,8%
03/07/2023	14,3	4,1	3,65	5,50	7,06	84,4%
04/07/2023	14,2	4,7	3,67	5,53	7,08	85,5%
05/07/2023	14,3	3,1	3,64	5,72	6,93	84,4%
06/07/2023	14,3	2,0	3,67	5,66	7,01	84,7%
07/07/2023	14,3	2,2	3,68	5,66	7,03	85,3%
08/07/2023	14,8	5,5	3,68	5,63	7,05	85,4%
09/07/2023	15,3	8,4	3,68	5,53	7,05	82,6%
10/07/2023	14,7	5,8	3,55	5,31	6,87	81,0%
11/07/2023	14,5	4,7	3,51	5,27	6,74	81,7%
12/07/2023	14,6	4,2	3,44	6,36	6,07	84,7%
13/07/2023	14,5	4,2	3,69	5,65	6,94	87,1%
14/07/2023	14,8	5,5	3,70	5,62	6,93	86,7%
15/07/2023	15,1	7,5	3,70	5,56	7,03	87,0%
16/07/2023	14,7	6,3	3,69	5,56	7,32	91,4%
17/07/2023	14,5	4,2	3,69	5,66	6,95	88,8%
18/07/2023	14,5	3,5	3,70	5,71	6,98	90,4%
19/07/2023	14,7	2,3	3,69	5,66	6,99	90,1%
20/07/2023	14,7	1,7	3,63	5,48	6,90	90,0%
21/07/2023	14,7	1,5	3,65	5,38	7,02	90,5%
22/07/2023	14,6	1,7	3,69	5,53	7,02	90,7%
23/07/2023	14,4	3,5	3,70	5,57	7,06	91,8%
24/07/2023	14,4	3,3	3,69	5,60	7,06	91,9%
25/07/2023	14,5	4,5	3,69	5,62	6,97	90,7%
26/07/2023	14,4	9,7	3,70	5,95	6,62	86,9%
27/07/2023	14,4	6,7	3,69	5,62	6,99	92,8%
28/07/2023	14,4	2,0	3,69	5,61	7,01	92,9%
29/07/2023	14,4	2,3	3,70	5,59	6,98	92,6%
30/07/2023	14,4	2,4	3,69	5,60	7,01	92,8%
31/07/2023	14,3	2,4	3,66	5,50	6,96	91,5%