



Departamento de Geociências, Ambiente e
Ordenamento do Território

Substituição de fontes lipídicas em alimentos compostos para linguados juvenis

Dissertação de Mestrado em
Engenharia Agronómica

Ângela Sofia Ferreira Palmas

Orientadora: Professora Doutora Ana Rita Jordão Bentes Cabrita

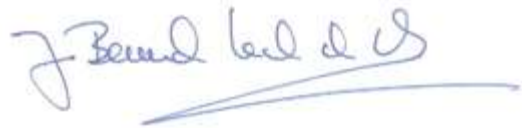
Co-orientadora: Professora Doutora Luísa Maria Pinheiro Valente

Porto

2012

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

O Presidente do Júri,



Porto, 14/12/2012

Agradecimentos

Várias pessoas/instituições foram fundamentais para a elaboração desta dissertação, pelo que considero de extrema importância expressar um profundo agradecimento:

Às Professoras Doutoradas Ana Rita Jordão Bentes Cabrita e Luísa Maria Pinheiro Valente, pela orientação, apoio, correções e sugestões ao longo de todo o percurso criativo e de investigação;

Ao LANUCE, por me ter acolhido no seu laboratório de investigação e me ter fornecido todas as ferramentas necessárias ao bom trabalho;

Ao Bruno Reis, ao Pedro Borges, à Eduarda Cabral, à Sónia Batista e a todos os restantes elementos da equipa, que me deram as “boas-vindas” ao trabalho, sempre com bom humor e paciência para uma autêntica “caloira” ao serviço;

À Joana Gomes, colega e amiga de mestrado e simultaneamente companheira nesta jornada, com momentos mais ou menos positivos e a entender-me em todas as situações;

À minha família mais próxima, em especial aos meus pais e aos meus avós, pelo apoio e dedicação durante todas as minhas etapas académicas;

Ao meu namorado, que me levantou nos momentos de “tempestade”, foi sempre ouvinte e atencioso comigo.

A todos os que me acompanharam neste trabalho, o meu
mais profundo agradecimento, com o desejo de ter
correspondido às vossas expectativas.

Resumo

Nos últimos anos, a aquacultura mundial tem vindo a crescer e a dar resposta à procura de pescado pelos consumidores. Em Portugal, a aquacultura é uma atividade importante, dado o grande consumo de peixe pelos portugueses. Várias espécies têm sido estudadas para aumentar a produtividade deste sector.

A nutrição dos peixes, principalmente a nível proteico e lipídico, é um aspeto muito importante na investigação, uma vez que são os principais macronutrientes nas dietas para o pescado. As fontes proteicas e lipídicas são maioritariamente fornecidas pelas farinhas e óleos de peixe. Contudo, têm sido procurados recursos alternativos vegetais, com o objetivo de minimizar a captura excessiva de pescado para produção de dietas.

Uma das espécies com interesse económico em Portugal é o linguado Senegalês (*Solea senegalensis*). Diversos estudos têm sido desenvolvidos sobre o cultivo deste peixe. Contudo, ainda não tinham sido testadas substituições de fontes de lípidos ou substituições simultâneas de fontes proteicas e lipídicas animais por fontes vegetais, em juvenis desta espécie.

No presente trabalho, com juvenis de linguado Senegalês, foram testadas as seguintes dietas isoproteicas e isolipídicas: quatro dietas com substituições de óleo de peixe por óleos vegetais (OV50A, OV50B, OV100A e OV100B) e uma dieta com substituição simultânea de óleo e farinha de peixe por fontes vegetais (OV50PP). Estas dietas foram comparadas com a dieta controlo (CTRL). As dietas foram distribuídas *ad libitum* por alimentadores automáticos, durante oitenta e nove dias. Após as análises químicas e tratamento estatístico dos dados, foi possível verificar que os peixes das diferentes dietas mantiveram os padrões de crescimento da dieta controlo, não sendo portanto significativamente diferentes. Contudo, foram encontradas ligeiras diferenças estatísticas ao nível da cinza total, proteína bruta e índice hepatossomático entre as diferentes dietas.

Tendo em conta os resultados obtidos no final do estudo, foi possível concluir que é possível substituir fontes lipídicas animais por vegetais, sem que tal prejudique o crescimento ou a composição corporal dos juvenis de *Solea senegalensis*.

Palavras-chave: Aquacultura, *Solea senegalensis*, Substituição de fontes animais por vegetais em dietas para peixes.

Abstract

In the last few years, worldwide aquaculture has been growing in such way that is now capable of providing the answer to the search of fish by the consumers. In Portugal, the aquaculture is an important activity mainly due to the high level of fish consumed by the Portuguese people. Several species have been studied so the perfection of productivity is obtained in this sector.

The nutrition of the fish, mostly in a proteic and lipidic level, is a very important aspect of investigation, once that they are the principal inputs on the fish diets. Due the problematic of proteic and lipidic sources being originated in the fishmeal and fish oil, respectively, alternative vegetable resources have been searched, so that the excessive fish capture for the production of diets with animal composition can be minimized.

One of the species that contribute to the economic interest of Portugal is the Senegalese sole (*Solea senegalensis*). Different kind of studies about the cultivation of this fish has been developed. However, lipidic substitutions of animal for vegetable sources, or simultaneous proteic and lipidic, animals for vegetables substitutions for juveniles of this species did not have been tested so far.

On the current work with the *Senegalese sole* juveniles, have been tested the following isoproteic and isolipidic diets: four diets with substitutions of fish oil for vegetable oils (OV50A, OV50B, OV100A and OV100B) and one diet with a simultaneous substitution of fish oil and fishmeal for vegetable sources (OV50PP). These diets were compared with the control diet (CTRL). The feed rations were distributed *ad libitum* by automatic feeders, in equality groups of twenty fish each, in triplicate, redistributed in eighteen tanks. After chemical analysis and statistical treatment of the data, we found that fish of different diets maintained the growth patterns of diet control and thus not significantly different. However, slight statistical differences were found in terms of ash, crude protein and hepatosomatic index among the different diets.

Taking into account the results obtained at the final of the study, the conclusion taken is that it's possible to perform an animal to vegetable source substitution without harming the growth or body composition of the *Solea senegalensis* juveniles.

Key-words: Aquaculture, *Solea senegalensis*, Substitution of animal for vegetable sources in fish diets.

Índice

	Pág.
Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Abstract	v
Lista de quadros	viii
Lista de figuras	ix
Lista de abreviaturas.....	x
1 - Revisão Bibliográfica	1
1.1 - Introdução	1
1.2 – Aquacultura em Portugal	4
1.3 – Importância dos peixes na saúde humana.....	6
1.4 – Biologia do linguado senegalês	8
1.5 – Utilização dos lípidos pelos peixes	9
1.6 – Substituição de fontes lipídicas animais por vegetais em dietas para peixes	12
2 - Trabalho experimental	16
2.1 – Introdução	16
2.2. – Objetivos	17
2.3 – Material e métodos	18
2.3.1 – Dietas experimentais	18
2.3.2 – Ensaio de crescimento	19
2.3.3. – Análises químicas	22
2.3.4 – Análise estatística	22
2.4 – Resultados	23

2.5 – Discussão	27
2.6 – Conclusão	31
Referências bibliográficas	32

Lista de quadros

	Pág.
Tabela 1. – Produção e utilização mundial de peixe (excluindo a China)	2
Tabela 2. – Principais espécies de águas marinhas/salobras produzidas em aquacultura (Portugal)	5
Tabela 3. – Produção Mundial de Óleos Vegetais (Toneladas).....	13
Tabela 4. – Ingredientes e composição aproximada das diferentes dietas.....	18
Tabela 5. – Efeito dos diferentes tratamentos no crescimento e ingestão de alimento, após 89 dias, em juvenis de linguado (média e desvio padrão para n=3)	25
Tabela 6. – Efeito dos diferentes tratamentos nos índices somáticos, composição corporal (% ou kJ/g de peso fresco), retenção (% do consumo) e ganho (g/kg/dia) nutricional, após 89 dias, em juvenis de linguado (média e desvio padrão para n=3) .	26

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. – Utilização e consumo de pescado e crescimento da população a nível mundial, excluindo a China	3
Figura 2. – Evolução da produção nacional de aquacultura	4
Figura 3. – Balança alimentar portuguesa	6
Figura 4. – Linguado Senegalês (<i>Solea senegalensis</i>).....	8
Figura 5. – Distribuição espacial do Linguado Senegalês	9
Figura 6. – Distribuição de gordura no linguado Senegalês	11
Figura 7. – Tanque de aclimação (CIIMAR, Porto).....	20
Figura 8. – Tanques e alimentadores do circuito fechado do ensaio (CIIMAR, Porto). 21	

Lista de abreviaturas

ANOVA – *Analysis of Variance*

BOGA – Biotério de Organismos Aquáticos

CE – Comissão Europeia

CIIMAR – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental

DGI – Taxa de crescimento diária

DGRM – Direcção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos

DHA – Ácido docosahexaenóico

EPA – Ácido eicosapentaenóico

FAO – *Food and Agriculture Organization*

FAOSTAT – *Statistics Division of the FAO*

FCR – Índice de conversão alimentar

IHS – Índice Hepatosomático

INE – Instituto Nacional de Estatística

IVS – Índice Viscerosomático

LANUCE – Laboratório de Nutrição, Crescimento e Qualidade

PER – Eficiência proteica

K – Índice de condição

USDA – *United States Department of Agriculture*

1. Revisão bibliográfica

1.1. Introdução

Segundo o Regulamento (CE) nº 2792/1999 do Conselho, de 17 de Dezembro de 1999, que define os critérios e condições das ações estruturais no sector das pescas, a “aquicultura” entende-se como sendo a “exploração ou cultura de organismos aquáticos que aplique técnicas concebidas para aumentar, além das capacidades naturais do meio, a produção dos organismos em causa; estes organismos continuam, durante toda a fase de exploração ou cultura até, inclusive, à sua colheita, a ser propriedade de uma pessoa singular ou coletiva.” Pelo Dicionário da Língua Portuguesa esta palavra provém do latim, conjugando as palavras: “água” e “cultura”.

A aquicultura desempenha um papel essencial na produção de pescado, quer a nível da alimentação humana, quer como estimulador económico e comercial. Com os recursos marinhos a serem limitados e os seus ecossistemas fragilizados, esta produção responde em parte às necessidades mundiais de peixe, minimizando a captura direta (White *et al.*, 2004).

Existem algumas teorias sobre como começou a aquicultura. Há indícios de que a prática da aquicultura remonta ao período entre 2000-1000 A.C., com os primeiros relatos da atividade com carpas comuns (*Cyprinus carpio*) na China, que ainda é atualmente a principal produtora de pescado. Estes relatos são contados de geração em geração e não foram registados pela imprensa, uma vez que esta não existia na época (Rabanal, 1988). Existem também fontes que mencionam a atividade aquícola no mesmo período (2000-1000 A.C), desenvolvida pelos antigos egípcios com tilápias. Já na Europa, a aquicultura surge na idade média, entre 500-1500 D.C., em áreas de água dos palácios e templos ou mosteiros religiosos. Nesta época, o consumo de carne era extremamente superior à de peixe, sendo que a captura deste tinha como base a subsistência familiar. O peixe começou a ser procurado não só pelos seus nutrientes, mas também como substituto da proteína da carne. A carne era uma fonte limitada por motivos religiosos, culturais e não sustentava o crescimento populacional (Hoffmann, 2004). A partir dessa época, toda a atividade produtiva de pescado foi desenvolvida e investigada científica e tecnologicamente.

Devido ao acelerado crescimento populacional e apreciável importância do peixe na dieta humana como fonte de ómega-3, as espécies aquáticas estão a ser

alvo de um enorme interesse comercial e produtivo. A atividade pesqueira tem vindo a sobrecarregar os recursos marinhos, levando ao risco iminente de um limite máximo sustentável desta fonte, correspondendo em 2009 a 75,1 milhões de toneladas de peixe capturado (Tabela 1) (FAO, 2010). No entanto, paralelamente ao que sucede na captura, a produção destes animais em aquacultura tem vindo a demonstrar-se rentável e um modo eficaz de satisfazer uma parte da procura de peixe pelo consumidor. Esta produção correspondeu, em 2009, a 21 milhões de toneladas de pescado, sendo que o consumo de pescado atingiu nesse mesmo ano, os 75,5 milhões de toneladas (Tabela 1) (FAO, 2010).

Tabela 1 – Produção e utilização mundial de peixe (excluindo a China)

	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Produção	<i>(Milhões de toneladas)</i>					
Águas interiores						
Captura	6,5	7,2	7,6	7,7	8,0	7,9
Aquicultura	8,9	9,5	10,2	11,0	12,2	12,9
Total	15,4	16,7	17,7	18,7	20,1	20,8
Marinho						
Captura	71,4	70,3	67,5	67,5	67,0	67,2
Aquicultura	6,5	6,7	7,3	7,5	7,6	8,1
Total	77,9	77,0	74,8	75,0	74,6	75,3
Total Captura	77,9	77,5	75,1	75,2	74,9	75,1
Total Aquicultura	15,3	16,2	17,5	18,5	19,8	21,0
Total Pesca	93,2	93,7	92,6	93,7	94,8	96,1
Utilização						
Consumo humano	68,8	70,4	72,4	73,5	74,3	75,5
Outros fins	24,5	23,2	20,2	20,2	20,5	20,5
População (<i>bilhões</i>)	5,2	5,2	5,3	5,4	5,4	5,5
Consumo <i>per capita</i>	13,4	13,5	13,7	13,7	13,7	13,7

Adaptado de “The State of World Fisheries and Aquaculture 2010” (FAO, 2010)

Conjugando a informação da Tabela 1 com a da Figura 1, é possível verificar que a evolução populacional tem sido muito superior á evolução das capturas de pescado. No entanto, o consumo *per capita* tem-se mantido nos últimos anos. Por outro lado, a produção de pescado em aquacultura tem-se demonstrado eficiente, tendo uma evolução positiva ao longo dos anos.

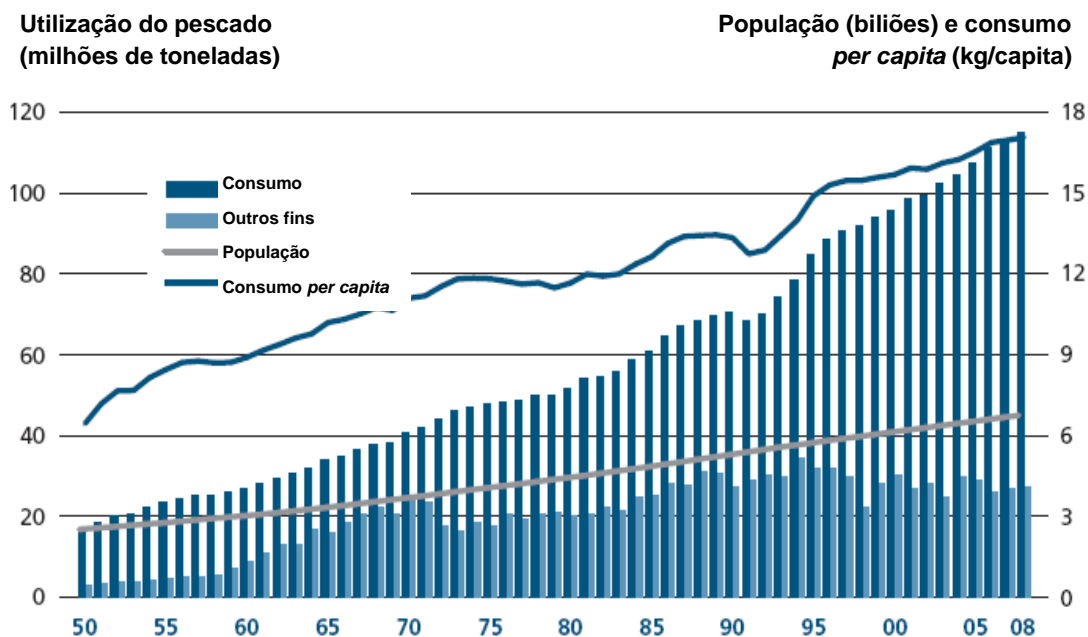


Fig. 1 – Utilização e consumo de pescado e crescimento da população a nível mundial, excluindo a China.

Adaptado de “The State of World Fisheries and Aquaculture 2010” (FAO, 2010)

A crescente evolução da aquacultura tem aumentado a procura de peixe selvagem para a alimentação do pescado a ser produzido, com recurso a farinhas e óleos de peixe (Turchini *et al.*, 2009). A dieta do pescado requer níveis de macronutrientes, como a proteína e os lípidos, que variaram conforme a espécie, sexo, fase de crescimento e fatores ambientais, nomeadamente a temperatura da água, e a qualidade e quantidade de alimento disponível. Para além disso, um aspeto importante a considerar na formulação de dietas, é o seu nível energético. Com o aumento da incorporação de gordura nas dietas é possível otimizar o crescimento dos peixes, sem que estes recorram às proteínas para gastos em energia (Einen & Roem, 1997; Hillestead *et al.*, 1997). As fontes proteicas e lipídicas de origem animal possíveis de incorporar em dietas para peixes têm um custo elevado e uma disponibilidade baixa (Turchini *et al.*, 2009). Uma vez que é previsível o aumento da intensificação produtiva da aquacultura, é necessário desenvolver dietas artificiais específicas, recorrendo a fontes alternativas de ingredientes mais disponíveis no mercado, salientando a importâncias dos óleos vegetais (FAO, 2012). A utilização das fontes vegetais requer estudos no sentido de desenvolver tecnologias que permitam incluí-las nas dietas para peixes, sem que tais misturas influenciem a composição corporal, ou o seu crescimento.

1.2. Aquacultura em Portugal

Há já muitos anos que os portugueses são grandes consumidores de pescado. Assim, em 1939, os reis de Portugal e Inglaterra assinaram um tratado, permitindo que os pescadores portugueses pagassem o mesmo que os ingleses por pescarem nas costas de território inglês. Desde então as atividades pesqueiras e desenvolvimento económico e tecnológico, as técnicas e métodos utilizados na arte piscatória foram crescendo, o que amplificou o poder de comércio e consumo de pescado em Portugal (Mendes, 2005).

Atualmente, Portugal é o terceiro país do Mundo que mais consome peixe, precedido pelo Japão e pela Islândia (FAO, 2010). No entanto, a atividade pesqueira e a produtividade em aquacultura apresentam-se com um peso reduzido nas atividades económicas portuguesas. Estes valores reduzidos demonstram estar aquém dos níveis atingidos por outros países europeus, segundo o Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional e o Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (DGRM, 2008).

Evolutivamente, a produção nacional de pescado em aquacultura tem oscilado na última década (Figura 2) no entanto, por observação dos últimos três anos, é possível verificar que existe uma tendência crescente, embora com variações muito reduzidas, deste tipo de produção (INE, 2012; DGRM, 2012).



Fig. 2 – Evolução da Produção Nacional de Aquacultura.

Adaptado de DGRM, 2012 e INE, 2012.

Portugal apresentou, em 2010, um total de 1561 estabelecimentos de aquacultura licenciados. O foco de produção centrou-se em Portugal continental, mais propriamente na região Centro do país (INE, 2012).

A produção de aquacultura em Portugal representou em 2010 cerca de 8013 toneladas, sendo que 951 toneladas tiveram origem nas espécies de água doce. Foram obtidas 7063 toneladas de espécies de água salobra e marinha, que incluem peixes, moluscos e crustáceos, representando aproximadamente 88% da produção total em aquacultura. Os peixes produzidos em águas marinhas/salobras (Tabela 2) corresponderam a 3725 toneladas, sendo que as espécies mais produzidas foram o pregado (*Psetta maxima*), a dourada (*Sparus aurata*) e o robalo (*Disentrachus labrax*) (INE, 2012).

Tabela 2 – Principais espécies de águas marinhas/salobras produzidas em aquacultura (Portugal)

Principais espécies	Toneladas	1000 Euros
Corvina (legítima)	38	156
Dourada	851	4505
Linguado (legítimo)	13	159
Linguados (nep ¹)	1	19
Pregado	2424	17139
Robalo (legítimo)	396	2322
Sargo (legítimo)	s/valor	3
Sargos (nep ¹)	s/valor	1
Outros	1	4
Total	3725	24307

1 – Espécies não identificadas (género).

Adaptado de “Estatísticas da Pesca” (INE, 2012)

Relativamente aos restantes países do Sul da Europa, a produção de pescado em aquacultura foca-se principalmente nas espécies de dourada e robalo. Contudo, existe uma procura muito forte na produção das mesmas espécies pelas aquaculturas, o que satura os mercados. Assim sendo, são necessários mais estudos em diferentes espécies de pescado, de modo a diversificar as produções e atender às espécies nativas, o que pode beneficiar a atividade de produção de pescado (Dinis *et al*, 1999; Ismland *et al.*, 2004).

Uma das espécies que se encontra ao longo do nosso país e por todo o Mediterrâneo é o linguado Senegalês (*Solea senegalensis*). Esta espécie

apresenta-se como uma forte candidata à produção em aquacultura, já que é comum nas águas portuguesas e por isso encontra-se bem adaptada ao clima. Para além do seu interesse biológico, é um peixe com um elevado preço de mercado, o que pode ser interessante para a economia de algumas aquaculturas (Dinis *et al.*, 1999; Ismland *et al.*, 2004).

1.3. Importância dos peixes na saúde humana

Em Portugal, no período entre 2003 e 2008, verificou-se uma tendência crescente no consumo de alimentos do grupo de “Carne, Pescado e Ovos”, representando, em 2008, cerca de 16,3% da Balança Alimentar Portuguesa (Figura 3).

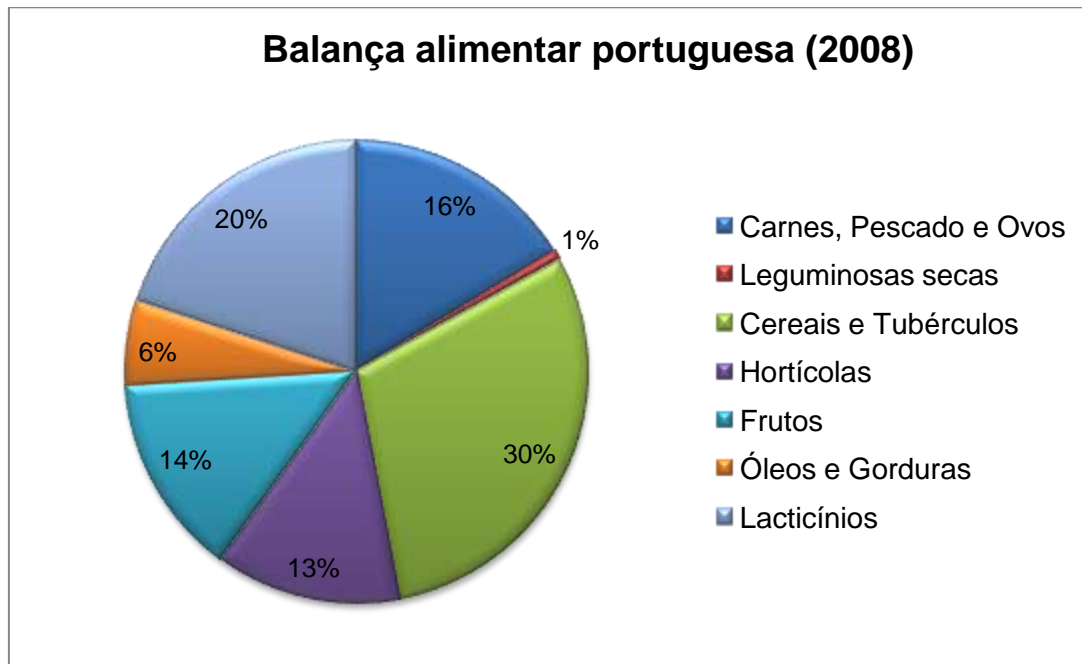


Fig. 3 – Balança alimentar portuguesa (adaptado de INE, 2010).

Com o acréscimo no consumo de alimentos deste sector, as disponibilidades diárias *per capita* de gordura, quer de origem animal, quer de origem vegetal, também aumentaram desde a década de 90. A recomendação do valor energético total, pela Organização Mundial de Saúde, é de 10% (máximo). No entanto, há um excedente de consumo de gorduras saturadas. Este excesso representou em 2008 16% de gorduras saturadas, o que pode conduzir a potenciais riscos para a saúde (INE, 2010).

Contrariamente a certos produtos, os peixes são considerados um alimento saudável (Cahu *et al.*, 2003). Estes são capazes de fornecer todos os nutrientes procurados nas fontes animais, distinguindo-se ainda pela sua composição corporal de excelência no que toca à sua constituição lipídica. Os peixes possuem elevados níveis de ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa da série n-3, conhecidos como ómega-3, nomeadamente os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), importantes na alimentação humana. A ingestão destes ácidos substitui parcialmente os da série n-6 nas membranas celulares. Com isto é possível reduzir a coagulação do sangue nas paredes dos vasos (Simopoulos, 1999). O consumo de pescado é evidenciado nas dietas Mediterrâneas e Japonesas. Atualmente, sabe-se que este tipo de consumo reduz o risco de doenças cardiovasculares e pode prevenir ou auxiliar o tratamento de hipertensão, diabetes, artrite, outras doenças inflamatórias e, até mesmo, o cancro (Simopoulos, 1999; McMichael *et al.*, 2005). Experiências em animais e algumas evidências em humanos comprovam que o consumo de alimentos com longas cadeias de polinsaturados, do género ómega-3 (ou n-3), reduz várias anormalidades no coração, nos vasos sanguíneos e até mesmo no sangue. Para além disso, o consumo de peixe também é benéfico durante o desenvolvimento do cérebro das crianças, desde a sua fase de feto até à fase infantil (McMichael *et al.*, 2005).

Adversamente ao aumento da procura de peixe como fonte de gorduras saudáveis, a captura de peixe selvagem é limitada e encontra-se atualmente próxima do seu limite máximo. Uma das formas de combater o excesso da atividade pesqueira e ter uma resposta positiva à procura de pescado, é através da aquacultura (Cahu *et al.*, 2003; Willett *et al.*, 2005). No entanto, até mesmo esta atividade de produção necessita de repensar as origens do alimento dos peixes. Grande parte da captura selvagem das fontes de lípidos (gorduras) incluídas nas dietas, provêm de óleos de peixe. No entanto, existem fontes vegetais como os óleos de palma, de soja e de colza, que em 2010 se encontraram nos principais óleos vegetais produzidos mundialmente (FAO, 2012).

1.4. Biologia do linguado Senegalês (*Solea senegalensis*)

O linguado Senegalês, *Solea senegalensis*, é um peixe plano, com corpo oval e olhos assimétricos (Figura 4). É extremamente idêntico à *Solea solea* (linguado comum). Uma característica que os distingue visualmente é a presença de uma mancha escura na área posterior da barbatana peitoral, do lado superior do corpo do linguado Senegalês.



Fig. 4 – Linguado Senegalês (*Solea senegalensis*).

Solea senegalensis caracteriza-se por ser gonocórico e ovíparo. Alcança a sua maturidade sexual depois dos 2 anos, quando o seu comprimento total atinge cerca de 32cm (Dinis & Reis, 1995). A desova natural do linguado Senegalês ocorre geralmente entre Abril e Junho, época onde se atingem os 18°C. Resultam ovos com dimensões entre os 0,99 e os 1,02mm (Dinis *et al.*, 1999).

O linguado Senegalês distribui-se no Mediterrâneo, costa Atlântica e Africana, desde o Senegal até ao Golfo da Biscaia (Figura 5). No Sul de Portugal, esta espécie representa cerca de 95% das capturas totais dos peixes do género *Solea* (Dinis & Reis, 1995). A *Sola senegalensis* encontra-se predominantemente no litoral, em áreas costeiras com substratos arenosos ou enlameados, em profundidades que podem atingir os 100m. Esta espécie está adaptada a climas quentes. A sua temperatura ótima varia entre os $16,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e os $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$. A salinidade pode variar entre 30-35‰ (Dinis & Reis, 1995).



Fig. 5 – Distribuição espacial do Linguado Senegalês (adaptado de www.aquamaps.org)

O linguado Senegalês pode apresentar comportamentos relativamente sedentários, no entanto, existe uma variação na distribuição espacial entre linguados juvenis e adultos (Rijnsdorp *et al.*, 1992). Este facto pode ser explicado, de modo parcial, por uma diminuição da sensibilidade à temperatura e uma redução da temperatura ótima nos linguados adultos. Este fenómeno é comum na maioria das espécies de peixes planos (*e.g.*, Imsland *et al.*, 1996; Jonassen *et al.* 1999). Por outro lado, esta preferência por águas mais frias nos linguados adultos, poderá também estar relacionada com a tentativa de reduzir o risco de predação, bem como a procura de diferentes fontes alimentares (Imsland *et al.* 2004).

1.5. Utilização dos lípidos pelos peixes

Os peixes necessitam de nutrientes para os mais diversos fins durante o seu ciclo de vida. Esta necessidade está relacionada tanto com o ambiente envolvente, onde são exemplos a temperatura da água e a disponibilidade e a qualidade de alimento, como também com a sua fase de desenvolvimento, o sexo e a fase de maturação sexual e até mesmo com a própria espécie (Sargent *et al.*, 2002). Estes nutrientes podem ser macronutrientes, como por exemplo as proteínas e os lípidos, ou micronutrientes, como por exemplo as vitaminas e os minerais.

As proteínas são constituídas por vários aminoácidos e são os principais componentes dos tecidos dos peixes. São utilizadas essencialmente para a produção de novas proteínas ou para a renovação das já existentes, durante as fases de crescimento, manutenção e reprodução do ciclo de vida dos peixes. Para

além disso, as proteínas são fontes preferenciais para produzir energia, caso existam em excesso no peixe (Cowey, 1989; Wilson *et al.*, 2002).

Os peixes, em geral, necessitam de uma grande quantidade de proteína na dieta. As espécies de peixes planos requerem níveis muito mais elevados de proteína nas suas dietas, do que outros peixes pelágicos (Cowey *et al.*, 1972; Rema *et al.*, 2007). Um estudo realizado por Rema *et al.* (2007), desenvolvido em juvenis de linguado Senegalês, demonstrou que para este ter uma boa performance de crescimento necessita de, pelo menos, 53% de proteína bruta nas suas dietas. Tendo em conta os elevados níveis proteicos necessários nas dietas para peixes, e considerando todos os encargos financeiros das aquaculturas com as farinhas de peixe, são necessários estudos para determinar a possibilidade de substituição desta fonte animal de proteína por fontes vegetais mais sustentáveis (Hardy, 2010; Cabral *et al.*, 2011).

Os lípidos são biomoléculas compostas basicamente por carbono, hidrogénio e oxigénio, podendo também conter azoto, fósforo e enxofre. São macronutrientes hidrofóbicos e solúveis em solventes orgânicos, como por exemplo éter. Os lípidos podem ser divididos em dois grupos, segundo a sua classificação de polaridade: os lípidos neutros, uma vez que não apresentam carga, e a que são atribuídas as funções de armazenamento de energia como fontes de reserva. É exemplo deste grupo de lípidos o triacilglicerol. O outro grupo de lípidos engloba os lípidos polares que apresentam carga. Podem também ser designados por lípidos de membrana, pois um dos exemplos deste grupo são os fosfolípidos, que têm um papel direto na constituição das membranas celulares. Outro exemplo deste grupo de lípidos são os glicolípidos (Nelson & Cox, 2000; Sargent *et al.*, 2002).

Assim, o nível lipídico deve ser bem pensado na formulação de dietas para peixes, uma vez que os lípidos constituem uma importante fonte energética providenciando os ácidos gordos essenciais (Teles, 2012). Os peixes utilizam os lípidos como uma das fontes preferenciais de energia, como componentes estruturais das biomembranas e ainda como um possível precursor de hormonas (Higgs & Dong, 2000; Sargent *et al.*, 2002; Turchini *et al.*, 2009).

Os lípidos são metabolizados pelos peixes de modo semelhante aos mamíferos (Sheridan, 1988). Os processos bioquímicos da lipogénese, segundo Sheridan (1988), podem ser divididos em vários níveis, que compreendem os seguintes estados: absorção, transporte e deposição. Inicialmente os lípidos da dieta, principalmente os triacilgliceróis, são hidrolisados no lúmen do intestino, com o auxílio de lípases pancreáticas. Desta hidrólise formam-se ácidos gordos livres e 2-monoacilgliceróis. Seguidamente os ácidos gordos absorvidos são re-esterificados, de modo a reconstituir os triacilgliceróis. Estes lípidos, sintetizados novamente, são incorporados em lipoproteínas. As lipoproteínas entram no sistema linfático, por onde são transportadas até ao fígado. Uma vez no fígado, tanto os lípidos resultantes da dieta como os sintetizados novamente, podem ser incorporados noutras lipoproteínas. Por fim, os lípidos podem ser depositados quer em tecidos musculares, como hepáticos, tecidos adiposos periviscerais e/ou tecidos subcutâneos, como também podem ser utilizados como fontes energéticas (Sheridan, 1988; Fernandes *et al.*, 2012). A distribuição dos lípidos pelas várias frações celulares varia conforme a espécie de peixe. Os peixes planos constituem um grupo com baixo teor de gordura muscular, compreendido entre 2 – 4%. É neste grupo de peixes que está inserido o linguado Senegalês, sendo portanto considerado um peixe magro. Num estudo realizado por Fernandes *et al.* (2012), onde foi estudada a distribuição de gordura no linguado Senegalês, foram obtidos os resultados presentes na Figura 6.



Fig. 6 – Distribuição de gordura no linguado Senegalês (adaptado de Fernandes *et al.*, 2012).

Muitos dos lípidos não foram localizados nos tecidos amostrados, mas pensa-se que se encontrarão na gordura subcutânea e junto à base das barbatanas. A composição em gordura no peixe tem uma influência marcada no músculo, que é das partes edíveis mais importantes (Fernandes *et al.*, 2012). Qualquer manipulação dos lípidos fornecidos na dieta pode ter um impacto significativo no valor nutricional de uma espécie.

Embora a concentração lipídica da dieta dos peixes seja extremamente importante, deve ter-se em conta o metabolismo do próprio peixe e a sua tolerância aos lípidos. Segundo o estudo de Dias *et al.* (2004), em juvenis de linguado Senegalês, o aumento da inclusão de níveis lipídicos na dieta do linguado tendeu para uma diminuição da performance do seu crescimento. O mesmo se verificou num estudo efetuado por Borges *et al.* (2009), onde juvenis de linguado Senegalês, demonstraram ter uma baixa tolerância lipídica, sugerindo um máximo de inclusão de 8% de lípidos para um crescimento e utilização de nutrientes ótimos. A elevada pressão da indústria aquícola que se encontra num nível crescente de expansão, tende a aumentar os níveis lipídicos das dietas para acelerar o crescimento dos peixes. Atualmente, o óleo de peixe ainda é a fonte lipídica mais utilizada pela indústria (Turchini *et al.*, 2009). No entanto, esta fonte de lípidos está cada vez mais pressionada devido a questões ambientais e económicas. A sustentabilidade das empresas aquícolas está cada vez mais em causa, pois o óleo de peixe é uma fonte finita, e a pesca excessiva para produção desta fonte de lípidos leva a alterações ambientais preocupantes (Turchini *et al.*, 2009). É necessário avaliar a utilização de fontes alternativas de lípidos para as dietas dos peixes, de modo a combater o recurso excessivo ao óleo de peixe e garantir a contínua sustentabilidade das indústrias de aquacultura.

1.6. Substituição de fontes lipídicas animais por vegetais em dietas para peixe

O excesso da utilização dos recursos animais, como fonte lipídica para as dietas do pescado, está a levar ao esgotamento dos mesmos em meio selvagem (FAO, 2010). Ao contrário da produção de óleos de peixe, a produção de óleos vegetais tem vindo a aumentar (Turchini *et al.*, 2009). Segundo a FAOSTAT (Statistics Division of the FAO, 2012), os óleos mais produzidos mundialmente são: o óleo de palma, o óleo de soja, o óleo de colza e o óleo de girassol (Tabela 3).

Para além destas fontes, embora produzidos em menor escala, é possível encontrar os óleos de coco, linhaça, algodão, amendoim e ainda o azeite (USDA, 2012).

Tabela 3 - Produção Mundial de Óleos Vegetais (Toneladas)

Produção	2008	2009	2010
Óleo de palma	42304132	44004959	43573470
Óleo de soja	36057819	36022686	39840137
Óleo de colza	19101742	21277610	22774074
Óleo de girassol	11107608	13389670	12698807
Óleo de coco	3427030	3388856	3987563
Óleo de linhaça	514390	564084	595392

Adaptado de: FAOSTAT, 2012.

Os óleos de origem vegetal não apresentam um perfil de ácidos gordos essenciais igual aos óleos de origem animal (Hassankiadeh *et al.*, 2012). Esse perfil é diferente mesmo dentro das diferentes fontes de óleos vegetais (FAO, 1999), pelo que são necessários estudos relativos à substituição de fontes lipídicas. Os ácidos gordos são denominados “essenciais”, quando não é possível a sua biossíntese *de novo*, sendo necessária a suplementação dos mesmos na dieta dos peixes (Turchini *et al.*, 2009). Existem dois ácidos gordos considerados essenciais: o ácido linoleico (18:2 n-6) e o ácido α -linolénico (18:3 n-3). Contudo, uma vez que os peixes marinhos carnívoros perderam a capacidade de alongar ácidos gordos, necessitam que alguns ácidos gordos polinsaturados sejam introduzidos nas dietas, principalmente os ácidos gordos longos de cadeia n-3 (Turchini *et al.*, 2009). Contudo, as substituições de óleos de peixe por óleos vegetais podem também influenciar o valor nutricional e o sabor. Como resultado das transformações no perfil de ácidos gordos no peixe, pode haver uma alteração no conjunto de compostos voláteis do filete o que é repercutido no sabor e na qualidade sensorial do mesmo (Turchini *et al.*, 2009). Uma vez que os óleos vegetais são ricos em ácidos gordos da série n-6 e os óleos de peixe são particularmente ricos em ácidos gordos da série n-3, o pescado que consuma dietas sem fontes animais pode estar a comprometer o rácio n-3/n-6. Estudos realizados em várias espécies indicam que peixes alimentados com dietas modificadas sofreram alterações na sua composição em ácidos gordos (Turchini *et al.*, 2009). Num trabalho realizado por Hassankiadeh *et al.*, em 2012, desenvolvido com juvenis de esturção (*Huso huso*), foram testadas diferentes fontes lipídicas:

óleo de peixe, óleo de girassol, óleo de soja e óleo de colza. Estas fontes fizeram variar a razão n-3/n-6 nas dietas, entre 6,59 para a fonte animal, e 0,09-0,15 para as fontes vegetais. Consequentemente, o perfil de ácidos gordos dos peixes alimentados com as dietas testadas, apresentou diferenças significativas no rácio n-3/n-6, sendo que o valor mais elevado foi observado nos peixes alimentados com a dieta controlo, que continha óleo de peixe, e os valores mais baixos foram obtidos pelos peixes alimentados com óleos vegetais (Hassankiadeh *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, foram realizados vários trabalhos relativos à temática de substituição de fontes lipídicas, em peixes de variadas espécies, como é o caso do salmão do Atlântico, do rodovalho, do alabote do Atlântico, do robalo, da dourada, da truta, entre outros. No caso de juvenis de linguado Senegalês, nunca tinha sido estudada a substituição de óleos animais por vegetais. No caso do salmão do Atlântico (*Salmo salar*), existem alguns exemplos de estudos com substituições de óleos de peixe por óleos de colza, óleos de linhaça, ou óleos de girassol. Um estudo que envolveu a substituição de 10%, 25%, 50% e 100% de óleo de peixe por óleo de colza, foi desenvolvido por Bell *et al.* (2001) com salmão do Atlântico. Neste estudo, não foram detetadas diferenças significativas no crescimento, nem na eficiência alimentar entre os diferentes tratamentos. No entanto observaram-se diferenças significativas na composição lipídica da carcaça final. Também foram verificadas diferenças significativas relativamente à proteína da carcaça final, onde houve uma clara distinção entre o tratamento controlo (com 100% de óleo de peixe), dos restantes tratamentos com óleo de colza. Foi concluído do estudo que o óleo de colza poderia ser um bom substituto do óleo de peixe, para o salmão do Atlântico, uma vez que permitia o seu normal crescimento e eficiência alimentar, embora alterasse o valor nutricional do animal. Estudos semelhantes foram desenvolvidos para o salmão do Atlântico, com Matthew *et al.* (2003) e Bell *et al.* (2004), com substituições de óleo de peixe por óleo de girassol e de linhaça, respetivamente. Foi possível concluir em ambos os estudos, que também estes óleos são bons substitutos da fonte de óleo animal, uma vez que o crescimento, a eficiência alimentar e a saúde do salmão não foram alterados, pois não diferiram significativamente entre tratamentos com e sem óleo de peixe. Mais casos de sucesso foram obtidos para os óleos de linhaça, de colza, de soja, de palma e até mesmo de azeite, com várias espécies de peixes: o sargo bicudo (*Diplodus puntazzo*) (Piedecausa *et al.*, 2006), o robalo (*Dicentrarchus labrax* L.) (Mourente *et al.*, 2005), o rodovalho (*Psetta maxima*) por (Regost *et al.*, 2002) e a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e o salvelino ártico (*Salvelinus alpinus*) (Pettersson,

2010). Em todos estes casos não foram detetadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos em nenhum parâmetro do crescimento dos peixes e da sua performance alimentar. No entanto, em vários estudos se demonstrou uma alteração do perfil de ácidos gordos depositados no músculo, que poderá alterar o valor nutricional da carne (Regost *et al.*, 2003).

Para além da substituição de óleo de peixe por um único óleo vegetal, parece ser mais vantajoso avaliar a sua substituição por uma mistura de óleos vegetais. Além de se poderem prevenir flutuações de preço num determinado óleo, podemos manipular o perfil de ácidos gordos da mistura, de forma a ir de encontro às necessidades de cada espécie. Para além disso, o fator económico é muito importante para o desenvolvimento da atividade aquícola, por isso devem ser consideradas várias hipóteses de mistura de óleos vegetais para aumentar a flexibilidade de formulação de dietas para os peixes. Um exemplo claro de sucesso de uma mistura de óleos vegetais para substituição de óleo de peixe foi descrito na dourada (*Sparus aurata*) (Wassef *et al.*, 2008). Neste caso de estudo, foi testada a substituição de 60% de óleo de peixe, por duas misturas de óleos vegetais (VO1 e VO2) e comparadas com uma dieta controlo de óleo de peixe (100%). Na mistura VO1, foram substituídos 60% do óleo de peixe da dieta controlo, por um conjunto de óleos de girassol, de algodão e de linhaça. Para a mistura VO2, foram substituídos 60% do óleo de peixe da dieta controlo, por um conjunto de óleos de girassol, de algodão e de soja. Deste estudo verificou-se que a performance geral do peixe, não diferiu significativamente entre tratamentos. Apenas foram observadas umas ligeiras oscilações, não significativas, no parâmetro de crescimento, onde a mistura VO1 foi menos vantajosa que a mistura VO2. No entanto, todo o estudo teve sucesso, podendo indicar que a mistura de óleos vegetais pode trazer benefícios na formulação de dietas para peixes.

2. Trabalho experimental

2.1. Introdução

A aquacultura surgiu como uma atividade necessária para colmatar parte da procura de pescado pelos consumidores a nível mundial. Em Portugal, as espécies de pescado mais produzidas atualmente são o pregado (*Psetta maxima*), a dourada (*Sparus aurata*) e o robalo (*Disentrachus labrax*) (INE, 2012). Contudo, o mercado começa a ficar saturado das espécies anteriormente referidas. Por isso, a indústria aquícola necessita de diversificar a sua produção, de modo a ampliar o leque de oferta aos consumidores (Dinis *et al.*, 1999; Ismland *et al.*, 2004)

O linguado Senegalês (*Solea senegalensis*) surge como um forte candidato às espécies produzidas, uma vez que o seu preço de mercado é bastante apelativo à indústria de aquacultura. Para além disso, é uma espécie totalmente adaptada ao clima mediterrânico (Dinis *et al.*, 1999; Ismland *et al.*, 2004).

A formulação de dietas para peixes é uma temática em plena investigação. O pescado necessita de fontes lipídicas para produção de energia, evitando assim a utilização de proteína para essa função (Einen & Roem, 1997; Higgs & Dong, 2000; Hillestead *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 2002; Turchini *et al.*, 2009). Contudo, é necessário ajustar os níveis lipídicos para cada espécie e procurar fontes de gordura alternativas aos óleos de peixe. O perfil de ácidos gordos é diferente de óleo para óleo, quer dentro das fontes animais, quer nas fontes vegetais, o que pode provocar alterações na qualidade do peixe (FAO, 1999; Hassankiadeh *et al.*, 2012; Turchini *et al.*, 2009). É portanto imperativo conhecer os efeitos provenientes das substituições de fontes lipídicas nas mais diversas espécies de pescado. Foram testadas dietas com fontes de óleos vegetais, em muitas espécies de pescado, com mais ou menos sucesso, dependendo do nível de substituição testado e da pluralidade de óleo incluída na dieta, como exemplo o salmão do Atlântico, o rodovalho, o alabote do Atlântico, o robalo, a dourada, a truta, o esturção e a perca (Raso *et al.*, 2003; Regost *et al.*, 2003; Bell *et al.*, 2004; Sener *et al.*, 2005; Wassef *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2011).

Existem alguns estudos relacionados com o potencial de cultura do linguado Senegalês em Portugal e Espanha, e com seus requisitos nutricionais (Dinis *et al.*, 1999; Ismland *et al.*, 2004; Rema *et al.*, 2007; Vinagre *et al.*, 2007; Borges *et al.*, 2009). Contudo, ainda não foram testadas substituições de fontes lipídicas em juvenis de linguado Senegalês, o que demonstra a importância deste estudo.

2.2. Objetivos

O presente estudo desenvolveu-se inserido no Projeto Proambiente do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar (ICBAS) e do Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR), com o título: “Substituição de fontes lipídicas em alimentos compostos para linguados juvenis”. Este trabalho teve como objetivo geral estudar a possibilidade de substituir fontes lipídicas animais por vegetais, em juvenis de linguado Senegalês (*Solea senegalensis*). Para tal, foram desenvolvidas várias dietas com diferentes misturas de óleos vegetais e diferentes percentagens de substituição lipídica, e uma dieta com substituição simultânea de fontes lipídicas e proteicas, que foram testadas e avaliadas no desenvolvimento dos juvenis de linguado. No final do ensaio, foi estudado o crescimento, a ingestão de alimento, a composição corporal da carcaça, a retenção, o ganho e os índices somáticos.

2.3. Materiais e métodos

2.3.1. Dietas experimentais

Foram formuladas seis dietas experimentais, isoproteicas e isolipídicas (Tabela 4): uma dieta controlo (CTRL); quatro dietas com substituição de 50% e 100% (OV50 e OV100) de óleo de peixe por duas misturas de óleos vegetais (A e B); e uma dieta com substituição simultânea de fontes proteicas e lipídicas animais (farinha de peixe e óleo de peixe respetivamente), por fontes vegetais (OV50PP).

Tabela 4 - Ingredientes e composição proximal das diferentes dietas

Ingredientes	Tratamentos (%)					
	CTRL	OV50A	OV50B	OV100A	OV100B	OV50PP
Farinha de peixe 70 LT ¹	24,50	24,50	24,50	24,50	24,50	8,00
Farinha de peixe 60	27,00	27,00	27,00	27,00	27,00	13,00
CPSP 90 ²	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha de lula	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Lysamine GP ³	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,50
Farinha de soja	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00
Farinha de soja (micro)	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50	9,80
Concentrado de batata	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,50
Glúten de trigo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,30
Glúten de milho	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7,50
Aquatex G2000 ⁴	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	8,90
Farinha de trigo (Firmos)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	8,80
Óleo de peixe	2,50	1,25	1,25	0,00	0,00	3,00
Óleo de colza	0,00	0,37	0,37	0,75	1,00	0,90
Óleo de soja	0,00	0,25	0,00	0,50	0,00	0,60
Óleo de linhaça	0,00	0,63	0,88	1,25	1,50	1,50
Lecitina de soja	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vit ⁵ & Min ⁶ Premix	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Di-calcium phosphate	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,50
L-Lisina	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50
DL-Metionina	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20
Kieselguhr ⁷	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Composição Proximal						
Matéria Seca (%)	91,11	90,94	91,12	92,83	92,79	91,07
Cinzas (% matéria seca)	13,46	13,44	13,59	13,46	13,21	10,62
Proteína bruta (% matéria seca)	56,84	57,05	57,40	56,81	56,98	56,72
Gordura bruta (% matéria seca)	8,67	8,70	9,39	8,90	8,57	10,45
Energia bruta (kJ g ⁻¹ matéria seca)	20,57	20,59	20,68	20,29	20,26	21,59

¹LT – Low Temperature; ²CPSP 90 – Concentrado proteico solúvel em água; ³Lysamine GP – Proteína de ervilha; ⁴Aquatex G2000 – Ervilha extrusada; ⁵Vitaminas (mg, mcg ou IU/kg dieta) - Vitamina A, 20.000 UI; vitamina D3, 2000 UI; vitamina E, 100 mg; vitamina K3, 25 mg; vitamina B1, 30 mg; vitamina B2, 30 mg; vitamina B3, 100 mg; vitamina B5, 200 mg; vitamina B6, 20 mg; vitamina B9, 15 mg; vitamina B12, 100 mcg; vitamina H, 3000 mcg; vitamina C, 1000 mg; inositol, 500 mg; cloreto de colina, 1000 mg; betaína, 500 mg.; ⁶Minerais (mg ou % /kg dieta) - Co (carbonato de cobalto), 0.65 mg; Cu (sulfato cúprico), 9 mg; Fe (sulfato ferroso), 6 mg; I (iodeto de potássio), 0.05 mg; Mn (óxido de manganês), 9.6 mg; Se (selenito de sódio), 0.01 mg; Zn (sulfato de zinco) 7.5 mg; Ca (carbonato de cálcio), 0.0186 %; KCl, 0.00241%; NaCl, 0.004 %.; ⁷Kieselguhr – ligante.

A composição proximal e os ingredientes das dietas estão apresentados na Tabela 4.

Recorreu-se a uma mistura de óleos vegetais, provenientes de colza, soja e linhaça. Estes óleos foram escolhidos tendo em conta a sua disponibilidade no mercado e o seu perfil em ácidos gordos. Este perfil permite uma melhor aproximação possível ao perfil de ácidos gordos da dieta CTRL.

O teor lipídico das dietas OV50A e OV100A foi obtido por substituição de óleo de peixe em 50% e 100%, respetivamente, por uma mistura de óleos de colza, soja e linhaça. Nas dietas OV50B e OV100B, substituiu-se o óleo de peixe em 50% e 100%, respetivamente, por uma mistura de óleos de colza e linhaça. Para a dieta OV50PP, foram substituídos 50% dos ingredientes marinhos por fontes vegetais do seguinte modo: substituição de farinha de peixe por uma mistura de ervilha, farinha de soja, concentrado de batata e glúten de trigo e de milho; e substituição de óleo de peixe por uma mistura de óleos de colza, soja e linhaça. Com esta dieta OV50PP, tentou-se averiguar a existência de um possível efeito sinérgico das substituições proteica e lipídica.

2.3.2. Ensaio de crescimento

O ensaio experimental foi acompanhado por cientistas treinados (recomendações FELASA categoria C) e foi conduzido de acordo com a Directiva de bem-estar animal da União Europeia de 24 de Novembro de 1986 (86/609/EEC).

Este ensaio decorreu nas instalações do CIIMAR, nomeadamente na sala de nutrição pertencente ao LANUCE localizada no BOGA. Foi efectuado com juvenis de linguado (*Solea senegalensis*), fornecidos pela aquicultura promotora *A. Coelho e Castro Lda.*, localizada na Póvoa de Varzim (Estela). Foram transportados aproximadamente 500 peixes para as instalações do CIIMAR, onde foram aclimatados durante três semanas às condições experimentais num só tanque (Figura 7).



Fig. 7 – Tanque de aclimação (CIIMAR, Porto). (Foto de Ângela Palmas)

No início do ensaio foram recolhidos 12 peixes do grupo inicial e armazenados a uma temperatura de -20°C , para posterior determinação da composição corporal inicial.

Para cada tratamento foram distribuídos grupos homogéneos, em triplicado, de 20 peixes (peso médio inicial = $12 \pm 0,2$ g), por 18 tanques de fibra de vidro (50×35 cm; densidade inicial de 1kg/m^2) com água salgada (Figura 8), fornecida a um caudal de aproximadamente 2L/min , num sistema fechado, a temperatura de $19^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$. Os parâmetros físico-químicos (temperatura, O_2 dissolvido, salinidade, pH e compostos azotados) foram mantidos dentro dos limites recomendados para espécies marinhas. O fotoperíodo a que os animais estiveram sujeitos foi de 12h de luz por dia.



Fig. 8 – Tanques e alimentadores do circuito fechado do ensaio (CIIMAR, Porto). (Foto de Ângela Palmas).

Durante o ensaio a dieta foi distribuída entre 9 a 10 refeições por dia, ao longo de 24h, recorrendo-se a alimentadores automáticos. A quantidade de dieta foi fornecida até à saciedade aparente dos peixes (*ad libitum*). A porção de dieta distribuída a cada tanque foi ajustada diariamente, com base no refugo visível no fundo dos tanques, de forma a reduzir o desperdício de alimento.

Efetou-se uma pesagem de grupo de cada tanque, ao fim de 65 dias do ensaio. Todas as pesagens foram efetuadas num curto espaço de tempo para minimizar o stress causado aos peixes, que poderia ser posteriormente prejudicial.

O estudo decorreu em 89 dias. Antes da amostragem final, todos os peixes foram submetidos a um período de jejum de 24 h. Após o jejum, foram pesados e medidos individualmente para determinação do seu crescimento. Recolheram-se de cada tanque quatro peixes para determinação da composição corporal que foram posteriormente armazenados a -20°C. Foram também recolhidos mais oito peixes de cada tanque, ou seja, vinte e quatro peixes de cada tratamento, para remover amostras de fígado e intestino para determinação do IHS (índice hepatossomático) e do IVS (índice viscerossomático).

2.3.3. Análises químicas

Os quatro peixes recolhidos de cada tanque para determinação da composição corporal, foram triturados numa picadora e misturados de modo a obter uma mistura homogénea de cada tanque. Foi posteriormente determinado o seu teor em humidade e cinza, em triplicado, na amostra ainda em fresco. As amostras foram então liofilizadas, durante 3 dias, para as análises posteriores.

Com as amostras liofilizadas, analisou-se o teor de humidade, o valor calórico, a proteína bruta e a gordura bruta. Estas análises foram efectuadas em duplicado, segundo a metodologia analítica de referência (AOAC, 2000):

- **Matéria seca:** determinada após secagem em estufa a 105°C, num período de 24h.
- **Cinza total:** obtidas após incineração numa mufla (Nabertherm L9/11/ B170, Bremen, Alemanha), a 550°C, num período de 5h.
- **Energia Bruta:** obtida por combustão completa numa bomba calorimétrica (Werke C2000, IKA, Staufen, Alemanha).
- **Proteína Bruta:** obtida por determinação do teor em azoto total por combustão num analisador de azoto (Model FP-528, Leco Corporation , St. Joseph, USA).
- **Gordura Bruta:** determinada por extracção com éter de petróleo (Soxtherm Multistat / SX PC, Gerhardt, Königswinter, Alemanha ; 40 a 60°C).

2.3.4. Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados foi executado recorrendo aos métodos descritos por Zar (1999).

Todos os dados foram avaliados quanto à sua normalidade e homogeneidade de variância, antes de serem submetidos a uma ANOVA a um fator (dieta), usando o software SPSS (versão 19.0). Quando os testes demonstraram existir diferenças significativas entre grupos ($p \leq 0.05$), as médias individuais foram comparadas usando o teste de Tukey.

2.4. Resultados

No final do ensaio (89 dias), todos os juvenis de linguado dos vários tratamentos triplicaram o peso. Foram analisados os parâmetros de crescimento, como os pesos (g) e os comprimentos (cm) médios iniciais e finais, as taxas de crescimento diária (DGI), o índice de conversão alimentar (FCR), a eficiência proteica (PER) e o índice de condição (K), em todos os tratamentos (Tabela 5), não se verificando diferenças significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamentos. O peso final variou entre 36,1g (OV50PP) e 41,2g (OV100A), enquanto que o comprimento final variou entre os 13,1cm (CTRL) e os 13,5cm (OV100A). A taxa de crescimento diária variou entre 1,1 (OV50PP) e 1,3 (OV100A). O índice de conversão alimentar variou entre 1,1 (OV50PP) e 1,2 (OV50A). A eficiência proteica alcançou valores entre os 1,4 (OV50A) e os 1,7 (OV100A e OV50PP). No índice de condição, atingiram-se valores entre os 1,6 (OV50PP) e os 1,8 (CTRL).

Relativamente à Ingestão, também não se encontraram diferenças significativas em nenhum dos nutrientes ingeridos pelos tratamentos. A matéria seca variou entre os 12,0g (OV50PP) e 14,5g (OV50A). A proteína atingiu valores entre os 6,8g (OV50PP) e 8,3g (OV50A). Na ingestão de lípidos os valores variaram entre 1,2g (CTRL) e 1,3 (OV50A e OV50PP). Por fim, a energia obteve valores entre os 259,9 kJ (OV50PP) e os 299,1 (OV50A).

Foram também analisados os índices somáticos, a composição corporal, a retenção e o ganho (Tabela 6). Relativamente aos índices somáticos, foi possível verificar que existem diferenças significativas no índice hepatossomático, que oscilou entre 0,8% (CTRL) e 1,1% (OV50PP). O nível viscerossomático não apresentou diferenças significativas, variando entre 2,1% (OV100B) – 2,5% (OV50PP).

Na composição corporal verificou-se que: a humidade variou entre 75,9% (OV50B) e 76,6% (CTRL); os lípidos oscilaram entre 4,8% (CTRL) e 5,2% (OV50B) e a energia variou entre 5,5 kJ (OV50A e OV50PP) e 5,8 kJ (OV50B). Nenhum destes três parâmetros mencionados variou significativamente entre os tratamentos. No entanto, a cinza e a proteína encontraram diferenças significativas. Na cinza o tratamento OV50PP foi significativamente superior aos tratamentos CTRL, OV50B e OV100A. A proteína foi significativamente mais elevada no tratamento OV50B e mais baixa no tratamento OV50PP. Os restantes parâmetros de análise, quer na retenção, quer no ganho, não foram

significativamente diferentes entre tratamentos ($p \leq 0.05$). Na retenção, foi possível verificar que a matéria seca retida variou entre 20,1% (OV50A) e 23,3% (OV100A); a retenção proteica atingiu valores entre 25,1% (OV50A) e 28,7% (OV100A); a retenção lipídica variou entre 54,5% (OV50A) e 66,4% (OV100A) e a retenção energética compreendeu valores entre 23,4kJ (OV50A) e 28,7kJ (OV100A). Na análise do ganho, a matéria seca atingiu valores entre os 2,7g (OV50PP) e os 3,0g (OV100A); a proteína compreendeu valores entre 1,8g (OV50PP) e 2,1g (OV100A); os lípidos variaram entre 0,7g (CTRL) e 0,8g (OV100A) e a energia variou entre 66,5kJ (OV50PP) e 76,1kJ (OV100A).

Tabela 5 - Efeito dos diferentes tratamentos no crescimento e ingestão de alimento, após 89 dias, em juvenis de linguado (média e desvio padrão para n=3)

	Tratamentos					
	CTRL	OV50A	OV50B	OV100A	OV100B	OV50PP
Crescimento						
Peso inicial (g)	11,9 ± 0,16	12,0 ± 0,16	12,1 ± 0,21	12,0 ± 0,15	12,0 ± 0,16	12,0 ± 0,07
Peso final (g)	39,1 ± 2,85	39,4 ± 4,13	39,5 ± 3,25	41,2 ± 3,81	39,1 ± 2,36	36,1 ± 0,53
Comprimento inicial (cm)	11,2 ± 0,04	11,3 ± 0,09	11,2 ± 0,10	11,2 ± 0,05	11,3 ± 0,02	11,3 ± 0,02
Comprimento final (cm)	13,1 ± 0,19	13,2 ± 0,57	13,2 ± 0,41	13,5 ± 0,48	13,3 ± 0,25	13,1 ± 0,12
Taxa de crescimento diária (DGI) ¹	1,2 ± 0,09	1,3 ± 0,14	1,3 ± 0,09	1,3 ± 0,13	1,2 ± 0,07	1,1 ± 0,11
Índice de conversão alimentar (FCR) ³	1,1 ± 0,04	1,2 ± 0,05	1,2 ± 0,04	1,1 ± 0,15	1,2 ± 0,08	1,1 ± 0,06
Eficiência proteica (PER) ⁴	1,6 ± 0,05	1,4 ± 0,06	1,6 ± 0,05	1,7 ± 0,25	1,5 ± 0,10	1,7 ± 0,10
Índice de condição (K) ⁵	1,8 ± 0,05	1,7 ± 0,05	1,7 ± 0,02	1,7 ± 0,05	1,7 ± 0,03	1,6 ± 0,17
Ingestão (g ou kJ/kg peso médio/dia)						
Matéria seca	13,5 ± 1,06	14,5 ± 1,17	13,3 ± 0,63	13,2 ± 1,17	14,2 ± 1,13	12,0 ± 0,22
Proteína	7,7 ± 0,60	8,3 ± 0,67	7,7 ± 0,36	7,5 ± 0,67	8,1 ± 0,64	6,8 ± 0,12
Lípidos	1,2 ± 0,09	1,3 ± 0,10	1,3 ± 0,06	1,2 ± 0,10	1,2 ± 0,10	1,3 ± 0,02
Energia (kJ)	277,1 ± 21,74	299,1 ± 24,03	275,5 ± 13,03	268,4 ± 23,82	287,1 ± 22,80	259,9 ± 4,64

1 – Taxa de crescimento diária = $100 \times ((\text{peso final}^{1/3}) - (\text{peso inicial}^{1/3})) / \text{n}^\circ \text{ dias}$.

2 – Taxa de crescimento específica = $100 \times (\text{LN}(\text{peso final}) - \text{LN}(\text{peso inicial})) / \text{n}^\circ \text{ dias}$.

3 – Índice de conversão alimentar = $\text{Consumo} / (\text{peso final} - \text{peso inicial})$.

4 – Eficiência proteica = $(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{Proteína ingerida}$.

5 – Índice de condição = $(\text{peso final} \times 100) / (\text{comprimento final}^3)$.

Tabela 6 - Efeito dos diferentes tratamentos nos índices somáticos, composição corporal (% ou kJ/g de peso fresco), retenção (% do consumo) e ganho (g/kg/dia) nutricional, após 89 dias, em juvenis de linguado (média e desvio padrão para n=3)

	Tratamentos					
	CTRL	VO50A	VO50B	VO100A	VO100B	VO50PP
Índices Somáticos						
IHS ¹	0,8 ± 0,06 b	0,9 ± 0,08 ab	0,9 ± 0,06 ab	1,0 ± 0,09 ab	0,9 ± 0,06 ab	1,1 ± 0,14 a
IVS ²	2,3 ± 0,25	2,2 ± 0,18	2,2 ± 0,02	2,3 ± 0,15	2,1 ± 0,17	2,5 ± 0,40
Composição corporal (%PF)						
Humidade	76,6 ± 0,49	76,3 ± 0,46	75,9 ± 0,32	76,1 ± 0,76	75,9 ± 0,44	76,6 ± 0,55
Cinzas	1,8 ± 0,18 b	2,1 ± 0,18 ab	1,8 ± 0,16 b	1,8 ± 0,06 b	1,9 ± 0,14 ab	2,3 ± 0,27 a
Proteína	17,2 ± 0,19 ab	17,2 ± 0,57 ab	17,4 ± 0,03 a	17,2 ± 0,32 ab	17,4 ± 0,37 ab	16,4 ± 0,32 b
Lípidos	4,8 ± 0,51	4,8 ± 0,40	5,2 ± 0,15	5,2 ± 0,52	5,1 ± 0,32	5,6 ± 0,80
Energia (kJ/g)	5,6 ± 0,34	5,5 ± 0,19	5,8 ± 0,04	5,8 ± 0,19	5,7 ± 0,26	5,5 ± 0,43
Retenção (%ingerido) ³						
Matéria seca	21,4 ± 0,67	20,1 ± 0,80	22,5 ± 0,64	23,3 ± 4,41	21,1 ± 1,81	22,6 ± 1,91
Proteína	27,1 ± 0,56	25,1 ± 1,76	27,6 ± 0,87	28,7 ± 5,04	26,0 ± 2,15	26,7 ± 1,40
Lípidos	58,5 ± 6,90	54,5 ± 4,36	60,8 ± 2,78	66,4 ± 15,54	61,1 ± 8,45	57,7 ± 12,49
Energia (kJ/g)	25,6 ± 2,42	23,4 ± 0,96	27,0 ± 1,10	28,7 ± 5,34	25,6 ± 2,96	25,6 ± 3,94
Ganho (g ou kJ/kg peso médio/dia) ⁴						
Matéria seca	2,9 ± 0,20	2,9 ± 0,14	3,0 ± 0,17	3,0 ± 0,31	3,0 ± 0,15	2,7 ± 0,26
Proteína	2,1 ± 0,13	2,1 ± 0,09	2,1 ± 0,10	2,1 ± 0,18	2,1 ± 0,13	1,8 ± 0,12
Lípidos	0,7 ± 0,10	0,7 ± 0,06	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,12	0,7 ± 0,06	0,7 ± 0,16
Energia (kJ)	70,9 ± 7,13	69,9 ± 2,70	74,4 ± 3,10	76,1 ± 7,22	73,0 ± 6,11	66,5 ± 11,03

As letras “a”, “ab” e “b” correspondem a diferenças significativas entre tratamentos, para $p \leq 0,05$; 1 – Índice hepatossomático = $100 \times (\text{peso do fígado/peso corporal}) (\%)$; 2 – Índice viscerossomático = $100 \times (\text{peso da víscera/peso corporal}) (\%)$; 3 – Retenção = $((\text{peso final (g)} \times \text{matéria seca da carcaça final (\%)}) - (\text{peso inicial (g)} \times \text{matéria seca da carcaça inicial (\%))) / \text{consumo de alimento (g/MS peixe)}$; 4 – Ganho = $(\text{nutrientes na carcaça final (g/kJ)} - \text{nutrientes na carcaça inicial (g/kJ)}) / \text{peso médio (g)} / n^\circ \text{ dias}$.

2.5. Discussão

No final do ensaio, os juvenis de linguado Senegalês triplicaram o seu peso médio em todos os tratamentos. Nenhum dos parâmetros de crescimento (peso, comprimento, DGI, FCR, PER e K) nos tratamentos estudados (OV50A, OV50B, OV100A, OV100B e OV50PP) foram significativamente diferentes do tratamento controlo. Estes resultados relativos ao crescimento e eficiência alimentar estão de acordo com outros resultados obtidos em estudos anteriores, como o de Borges *et al.* (2009), utilizando juvenis de linguado e dietas com 8% de lípidos.

As substituições de óleos noutras espécies conduziram a resultados idênticos aos obtidos neste estudo, por exemplo, em adultos de dourada (*Sparus aurata*) e de sargo-bicudo (*Diplodus puntazzo*) (Wassef *et al.*, 2009; Piedecausa *et al.*, 2007). O mesmo sucedeu em estudos com juvenis de salmão do Atlântico (*Salmo salar*), de esturjão-do-Cáspio (*Huso huso*) e de alabote-do-Atlântico (*Hippoglossus hippoglossus*) (Bransden *et al.*, 2003; Hassankiadeh *et al.*, 2012; Martins *et al.*, 2011). No estudo em juvenis de esturjão-do-Cáspio, desenvolvido por Hassankiadeh *et al.* (2012), foram testadas cinco dietas experimentais, com substituições de óleo de peixe por óleos vegetais (simples ou misturados) que variaram entre os 25% e os 100%. Com a análise estatística dos resultados destas dietas, foi possível verificar que não existiram diferenças significativas nem nos parâmetros de crescimento, nem na composição proximal dos peixes. Contudo, registaram-se valores mais elevados no peso dos peixes alimentados com as dietas que possuíam uma fonte de óleo de peixe (Hassankiadeh *et al.*, 2012).

Nem todos os trabalhos registaram o total sucesso na substituição de óleos em dietas para peixe. Num estudo realizado por Benedito-Palos *et al.* (2007), desenvolvido em juvenis de dourada, foram testados quatro tratamentos com substituições de óleo de peixe por óleos vegetais a diferentes níveis. No final desta experiência, observaram-se diferenças significativas em alguns parâmetros da performance de crescimento dos peixes, onde o peso final dos juvenis foi inferior no tratamento com substituição total de óleo de peixe, comparado com os restantes tratamentos. O mesmo sucedeu com a ingestão de matéria seca, com o índice de crescimento diário e com o ganho de peso. Apesar destes resultados no crescimento, não se verificaram diferenças significativas na composição corporal dos peixes (Benedito – Palos *et al.*, 2007). Algumas das possíveis fontes para o

sucesso alcançado, estão relacionadas com o melhoramento nas formulações das dietas testadas, com o manejo do peixe e com as condições de produção. A diminuição da ingestão de alimento e a deposição de gordura no fígado são características de desequilíbrios nutricionais e hormonais (Benedito – Palos *et al.*, 2007).

Noutro estudo, com juvenis de pangasius sutchi (*Pangasius hypophthalmus*), desenvolvido por Asdari *et al.* (2011), foram testados quatro tratamentos com substituições totais de óleo de peixe por óleos vegetais. O peso final foi diferente entre tratamentos. O consumo de alimento foi proporcional ao peso final. As diferenças no crescimento entre os tratamentos podem dever-se a efeitos de resistência ao stress e imunossupressão nos peixes (Asdari *et al.*, 2011). Apesar das diferenças significativas nos resultados anteriormente descritos, o estudo concluiu que é possível substituir totalmente o óleo de peixe por óleos vegetais, obtendo efeitos positivos no crescimento dos juvenis de *Pangasius hypophthalmus* (Asdari *et al.*, 2011).

Mais estudos demonstraram diferenças no crescimento e composição da carcaça dos peixes estudados. Por vezes, essas diferenças podem estar relacionadas com as fontes de gordura nas dietas. Segundo o estudo de Francis *et al.* (2006), com bacalhaus Murray (*Maccullochella peelii peelii*), as diferenças significativas presentes nos resultados dos parâmetros de crescimento, podem ter sido diretamente influenciadas pelo perfil de ácidos gordos das diferentes dietas, uma vez que estas eram isoproteicas e isolipídicas e apenas variaram na fonte de lípidos. Neste trabalho, as dietas que induziram maiores crescimentos, foram a dieta controlo com óleo de peixe e a dieta contendo simultaneamente óleo de peixe e óleo de linhaça (Francis *et al.* 2006).

Contrariamente aos estudos anteriormente descritos existem outros que demonstram os benefícios da utilização de óleos vegetais para outras espécies. É o caso de um trabalho desenvolvido com a perca-gigante (*Lates calcarifer*), por Raso *et al.* (2003). O objetivo deste foi testar dez dietas diferentes com a finalidade de avaliar o seu efeito no crescimento dos peixes. No final do ensaio, foi possível verificar que os juvenis se adaptaram bem a todas as dietas. Os resultados foram extremamente positivos. Contudo, existiram diferenças significativas no aumento de peso e, conseqüentemente, no peso final. De um modo global, é possível

verificar que as dietas contendo apenas óleos vegetais obtiveram pesos mais baixos do que as dietas com misturas de óleos vegetais e animais. As dietas com misturas enquadraram-se nos valores de crescimento da dieta com apenas óleo de peixe. Uma das conclusões referidas neste estudo, foi que a mistura de óleos vegetais com óleo de peixe pode melhorar a digestibilidade energética da dieta, uma vez que existe um balanço mais eficiente entre a digestibilidade dos ácidos gordos saturados, provenientes do óleo de peixe, e polinsaturados, provenientes dos óleos vegetais. Existem também indícios de que os peixes utilizam os lípidos para fins energéticos, uma vez que a composição corporal dos peixes não foi afetada pelas diferentes fontes de gordura.

Relativamente ao presente estudo de juvenis de linguado Senegalês, a ingestão de nutrientes também foi elevada em todos os tratamentos, sem demonstrar diferenças significativas entre eles. Estes resultados são idênticos aos obtidos com Borges *et al.* (2009), comparando com o tratamento testado de 8% de lípidos na dieta.

Contudo, a composição corporal da carcaça do linguado Senegalês apresentou diferenças significativas em alguns parâmetros. A percentagem de proteína da carcaça foi inferior ao obtido por Borges *et al.* (2009) em níveis de 8% de lípidos. Foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos OV50B e OV50PP. Os restantes tratamentos não apresentaram diferenças entre si. Os resultados obtidos foram de algum modo semelhantes aos apresentados no estudo do alabote-do-Atlântico. Nesse estudo elaborado por Martins *et al.* (2011), o alabote-do-Atlântico foi submetido a três tratamentos diferentes. Os resultados desta experiência demonstraram diferenças significativas na percentagem de proteína da composição corporal dos peixes. A gordura da carcaça não sofreu diferenças significativas entre tratamentos. O mesmo aponta o presente trabalho, onde a carcaça de juvenis de linguado Senegalês apresentou valores entre 4,8 – 5,2% de lípidos. Esta percentagem de gordura é típica de peixes magros, e foi igualmente atingida noutros estudos com juvenis de linguado Senegalês (Borges *et al.*, 2009; Cabral *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2009).

Para além dos resultados já comentados do presente estudo, foram também demonstradas diferenças significativas no índice hepatossomático que, comparativamente ao trabalho de Borges *et al.* (2009), atingiu valores superiores aos obtidos para tratamentos com 8% de lípidos. Contudo, as diferenças não aparentam ter uma relação direta nem com as percentagens de óleos substituídos,

nem com a fonte vegetal, uma vez que as dietas com substituição lipídica (OV50A, OV50B, OV100A e OV100B) e a dieta controlo (CTRL) são estatisticamente idênticas. A diferença encontra-se entre a dieta OV50PP, onde se substituiu simultaneamente as fontes lipídicas e proteicas animais por vegetais, e a dieta CTRL. Os resultados das substituições lipídicas não estão de acordo com outros estudos semelhantes para outras espécies. Um exemplo desses estudos é o de Piedecausa *et al.* (2006), referido anteriormente. Nesse estudo foram apresentadas diferenças significativas no índice hepatossomático entre peixes alimentados com três dietas com substituição do óleo de peixe por óleos vegetais. Nos parâmetros somáticos, os peixes alimentados com óleo de soja obtiveram um índice hepatossomático superior aos alimentados com óleo de peixe ou óleo de linhaça. Os autores descrevem que os fígados, provenientes dos peixes alimentados apenas com óleo de soja, eram menos consistentes do que os fígados dos peixes alimentados com as restantes dietas. Uma das origens do sucesso da dieta com óleo de linhaça, poderá estar na proporção elevada de 18:3 n-3, que promove a oxidação dos lípidos hepáticos, tornando os efeitos atingidos semelhantes aos resultados com óleo de peixe (Piedecausa *et al.*, 2007).

Contrariamente aos resultados provenientes do presente estudo, foram encontradas diferenças significativas nos índices viscerossomáticos em trabalhos com outras espécies. É o caso do estudo de Asdari *et al.* (2011), descrito anteriormente. Nesse estudo, não foram demonstradas diferenças significativas no índice hepatossomático entre os diferentes tratamentos. Contudo, o índice viscerossomático apresentou diferenças entre o tratamento com óleo de palma bruto, e o tratamento com óleo de linhaça. Os elevados valores atingidos em alguns dos tratamentos sugerem que os juvenis de *Pangasius hypophthalmus*, alimentados com estas fontes lipídicas, depositam mais gordura nos tecidos adiposos periviscerais, comparados com os alimentados à base do tratamento com óleo de linhaça (Asdari *et al.*, 2011).

2.6. Conclusão

Em conclusão, os resultados apresentados no presente estudo pioneiro com juvenis de linguado Senegalês, sugerem que a substituição, em diferentes percentagens, de óleo de peixe por uma mistura de óleos vegetais, é possível ser realizada com sucesso no crescimento dos peixes. O mesmo é possível afirmar para a substituição simultânea, em 50%, de óleo e farinha de peixe por fontes vegetais, contudo é necessário ter em atenção a acumulação de gordura indicada pelo índice hepatossomático. Serão necessários estudos complementares, no sentido de apurar os efeitos das dietas testadas na qualidade sensorial e no perfil de ácidos gordos, presente nos juvenis de *Solea senegalensis*.

3. Referências bibliográficas

- AOAC, 2000. Analytical Methods (141-144).
http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/1564/2/279542_app.pdf.
- Asdari R., Aliyu-Paiko M., Hashim R. & Ramachandran S., 2011. Effects of different dietary lipid sources in the diet for *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) juvenile on growth performance, nutrient utilization, body indices and muscle and liver fatty acid composition. *Aquaculture Nutrition* 17, 44-53.
- Bandarra N.M., Rema P., Batista I., Pousão-Ferreira P., Valente L.M.P., Batista S.M.G. & Ozório R.O.A., 2011. Effects of dietary n-3/n-6 ratio on lipid metabolism of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 113, 1332-1341.
- Bell J.G., McEvoy J., Tocher D.R., McGhee F., Campbell P.J. & Sargent J.R., 2001. Replacement of Fish Oil with Rapessed Oil in Diets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Tissue Lipid Compositions and Hepatocyte Fatty Acid Metabolism. *The Journal of Nutrition (JN)* 131, 1535-1543.
- Bell J.G., Henderson R.J., Tocher D.R. & Sargent J.R., 2004. Replacement of Dietary Fish Oil with Increasing Levels of Linseed Oil: Modification of Flesh Fatty Acid Compositions in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Using a Fish Oil Finishing Diet. *Lipids* 39, 223-232.
- Benedito-Palos L., Saera-Vila A., Calduch-Giner J., Kaushik S., Pérez-Sánchez J., 2007. Combined replacement of fish meal and oil in practical diets for fast growing juveniles of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.): Networking of systemic and local components of GH/IGF axis. *Aquaculture* 267, 199-212.
- Borges P., Oliveira B., Casal S., Dias J., Conceição L. & Valente L.M.P., 2009. Dietary lipid level affects growth performance and nutriente utilisation of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *British Journal of Nutrition* 102, 1007-1014.
- Brandsen M.P., Carter C.G. & Nichols P.D., 2003. Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. *Comparative Biochemistry and Physiology (CBP) Part B* 135, 611-625.

- Buschmann A.H., Riquelme V.A., Hernández-González M.C., Varela D., Jiménez J.E., Henríquez L.A., Vergara P.A., Guíñez R. & Filún L., 2006. A review of the impacts of salmonid farming on marine coastal ecosystems in the southeast Pacific. *ICES Journal of Marine Science* 63, 1338-1345.
- Cabral E.M., Bacelar M., Batista S., Castro-Cunha M., Ozório R.O.A. & Valente L.M.P., 2011. Replacement of fishmeal by increasing levels of plant protein blends in diets for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture* 322-323, 74-81.
- Cahu C, Salen P. & Lorgeril M., 2004. Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 14, 34-41.
- DGRM, Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, 2008. Grupo de trabalho sobre o sector da aquicultura em Portugal. *Despacho Conjunto nº 420/2006, D.R. II série nº101, de 25 de Maio*.
- DGRM, 2012. Produção Nacional de Aquicultura. <http://www.dgrm.min-agricultura.pt/xportal/xmain?xpid=dgrm&actualmenu=54207&selectedmenu=168404&xpgid=genericPage&conteudoDetalhe=168968> (acedido em Maio de 2012).
- Dias J., Rueda-Jasso R., Panserat S., Conceição L.E.C., Gomes E.F. & Dinis M.T., 2004. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, lipid deposition and metabolic hepatic enzymes in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup). *Aquaculture Research* 35, 1122-1130.
- Dias J., Yúfera M., Valente L.M.P. & Rema P., 2010. Feed transit and apparent protein, phosphorus and energy digestibility of practical feed ingredients by Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 302, 94-99.
- Dinis M.T. & Reis J., 1995. Culture of *Solea* spp. *Cah. Options méditer., Marine Aquaculture Finfish Species Diversification* 16, 9-19.
- Dinis M.T., Ribeiro L., Soares F. & Sarasquete C., 1999. A review on the cultivation potential of *Solea senegalensis* in Spain and in Portugal. *Aquaculture* 176, 27-38.

- Einen O. & Roem A.J., 1997. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: growth, feed utilization and slaughter quality. *Aquaculture Nutrition* 3, 115-126.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1999. Codex Standard for Named Vegetable Oils (CODEX-STAN 210 - 1999).
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2010. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, Italy: FAO.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2011. World aquaculture 2010. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* 500/1, Rome, Italy: FAO.
- Fernandes T.J.R., Alves R.C., Souza T., Silva J.M.G., Castro-Cunha M., Valente L.M.P., 2012. Lipid content and fatty acid profile of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles as affected by feed containing different amounts of plant protein sources. *Food Chemistry* 134, 1337-1342.
- Fishbase, 2012. *Solea senegalensis* Kaup, 1858. <http://www.fishbase.us/summary/Solea-senegalensis.html> (acedido em Janeiro de 2012).
- Francis D.S., Turchini G.M. Jones P.L. & Silva S.S.D., 2006. Effects of dietary oil source on growth and fillet fatty acid composition of Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquaculture* 253, 547-556.
- Gatlin D.M. III, Barrows F.T., Brown P., Dabrowski K., Gaylord T.G., Hardy R.W., Herman E., Hu G., Kroghdahl A., Nelson R., Overturf K., Rust M., Sealey W., Skonberg D., Souza E.J., Stone D., Wilson R. & Wurtele E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38, 551-579.
- Gatlin D.M.III. 2010. Principles of Fish Nutrition. *Southern Regional Aquaculture Center (SRAC)* 5003.
- González F.M.R., 2011. Breve historia de una gran desconocida: la Acuicultura. *Revista Eubacteria* nº26.

- Hassankiadeh M.N., Khara H., Sadati M.A.Y. & Parandavar H., 2012. Effects of dietary fish oil substitution with mixed vegetable oils on growth and fillet fatty acid composition of juvenile Caspian great sturgeon (*Huso huso*). *Aquacult Int.*
- Hillestad M., Johnsen F., Austreng E. & Asgard T., 1998. Long-term effects of dietary fat level and feeding rate on growth, feed utilization and carcass quality of Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition* 4, 89-97.
- Hoffmann R.C., 2004. A brief history of aquatic resource use in medieval Europe. *Helgol Mar Res* 59, 22-30.
- IBM, 2011. IBM SPSS Statistics, 19.0 package. *IBM Corporation*, New York, USA.
- INE (Instituto Nacional de Estatística), 2010. Balança Alimentar Portuguesa. *Instituto Nacional de Estatística*, I.P. Lisboa.
- INE (Instituto Nacional de Estatística), 2012. Estatísticas da Pesca – 2011. *Instituto Nacional de Estatística*, I.P. Lisboa.
- Ismland A.K., Foss A., Conceição L.E.C., Dinis M.T., Delbare D., Schram E., Kamstra A., Rema P. & White P., 2004. A review of the culture potential of *Solea solea* and *S. senegalensis*. *Fish Biology and Fisheries* 13, 379-407.
- Lovell R.T., 1991. Nutrition of aquaculture species. *Journal of Animal Science* 69, 4193-4200.
- Martins D.A., Valente L.M.P. & Lall S.P., 2007. Effects of dietary lipid level on growth and lipid utilization by juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.). *Aquaculture* 263, 150-158.
- Martins D.A., Valente L.M.P. & Lall S.P., 2011. Partial replacement of fish oil by flaxseed oil in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*, L.) diets: effects on growth, nutritional and sensory quality. *Aquaculture Nutrition* 17, 671-684.
- McMichael A.J., PhD, Butler C.D., PhD, 2005. Fish, Health and Sustainability. *American Journal of Preventive Medicine* 29 (4).
- Mendes A.M., 2005. Pescas em Portugal: Ultramar – um apontamento histórico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias (RPCV)* 100, 553-554, 17-32.

- Mourente G., Good J.E. & Bell J.G., 2005. Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E₂ and F_{2α}, immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquaculture Nutrition* 11, 25-40.
- Oliva-Teles A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases* 35, 83-108.
- Pettersson A., 2010. Effects of Replacing Fish Oil with Vegetable Oils in Feed for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*). *Swedish University of Agricultural Sciences, Doctoral Thesis*.
- Piedecausa M.A., Mazón M.J., García B.G. & Hernández M.D., 2006. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture* 263, 211-219.
- Rabanal H.R., 1988. History of Aquaculture. ASEAN/SF/88/Tech. 7.
- Raso S., Anderson T. A., 2003. Effects of dietary fish oil replacement on growth and carcass proximate composition of juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Research* 34, 813-819.
- Read P. & Fernandes T., 2003. Management of environmental impacts of marine aquaculture in Europe. *Aquaculture* 226, 139-163.
- Regost C., Arzel J., Robin J., Rosenlund G. & Kaushik S.J., 2003. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*) 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Aquaculture* 217, 465-482.
- Rema P., Condição L.E.C., Evers F., Castro-Cunha M., Dinis M.T. & Dias J., 2007. Optimal dietary protein levels in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture Nutrition* 14, 263-269.
- Rijnsdorp A.D., Beek F.A.V., Flatman S., Millner R.M., Riley J.D., Giret M., Clerck R.D., 1999. Recruitment of sole stocks, *Solea solea* (L.), in the Northeast Atlantic. *Netherlands Journal of Sea Research* 29, 173-192.
- Sargent J.R., Tocher D.R., Bell J.G., 2002. The Lipids. *Halver, Je., Hardy, R.W.(Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed. Academic Press, New York, 181-257.*

- Schipp G., Manager Aquaculture, Fisheries, Darwin Aquaculture Centre, 2008. Is the Use of Fishmeal and Fish Oil in Aquaculture Diets Sustainable?. Northern Territory Government 0158-2755.
- Sener E., Yildiz M. & Savas E., 2005. Effects of Dietary Lipids on Growth and Fatty Acid Composition in Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) Juveniles. *Turk J Vet Anim Sci* 29, 1101-1107.
- Shearer K.D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture* 119, 63-88.
- Sheridan M.A., 1988. Mini-Review – Lipid dynamics in fish: Aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochem. Physiol.* 90B (4), 679-690.
- Silva J.M.G., Espe M., Conceição L.E.C., Dias J., Valente L.M.P., 2009. Senegalese sole juveniles (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) grow equally well on diets devoid of fish meal provided the dietary amino acids are balanced. *Aquaculture* 296, 309-317.
- Simopoulos A.P., 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal Clinical Nutrition* 70, 560S-9S.
- Talbot C., 1993. Symposium on “Fish and Nutrition” – Some aspects of the biology of feeding and growth in fish. *Proceedings of the Nutrition Society* 52, 403-416.
- Teixeira C.M., Batista M.I. & Cabral H.N., 2010. Diet, growth and reproduction of four flatfishes on the Portuguese coast. *Scientia Marina* 74 (2), 223-233.
- Thu T.T.N., Bodin N., Saeger S., Larondelle Y. & Rollin X., 2011. Substitution of fish meal by sesame oil cake (*Sesamum indicum* L.) in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.). *Aquaculture Nutrition* 17, 80-89.
- Turchini G.M., Torstensen B.E. & Ng W., 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1, 10-57.
- USDA (United States Department of Agriculture), 2012. Oilseeds: World Markets and Trade. http://www.fas.usda.gov/oilseeds_arc.asp (acedido em Junho de 2012).

- Vergara J.M., López-Calero G., Robaina L., Caballero M.J., Montero D., Izquierdo M.S. & Aksnes A., 1999. Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of diferente quality. *Aquaculture* 179, 35-44.
- Vinagre C., Salgado J., Costa M.J. & Cabral H.N., 2007. Nursery fidelity, food web interactions and primary sources of nutrition of the juveniles of *Solea solea* and *S. senegalensis* in the Tagus estuary (Portugal): A stable isotope approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 76, 255-264.
- Wassef E.A., Saleh N.E. & El – Abd El – Hady H.A., 2008. Vegetable oil blend as alternative lipid resources in diets for gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Aquacult Int* 17, 421-435.
- White K., O’Neill B. & Tzankova Z., 2004. At a Crossroads: Will Aquaculture Fulfill the Promise of the Blue Revolution?. *SeaWeb Aquaculture Cleatinghouse*.
- Willett W.C., MD & DrPH, 2005. Fish Balancing Health Risks and Benefits. *American Journal of Preventive Medicine* 29 (4).
- Zar J.H., 1999. Biostatistical Analysis, 4th ed. *London: Prentice Hall*.