

RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

AQUACULTURA MULTI-TRÓFICA INTEGRADA
EM TANQUES DE TERRA

Maria Emília Cunha, Hugo Quental-Ferreira, Laura
Ribeiro, Márcio Moreira, Florbela Soares, Miguel Caetano
e Pedro Pousão Ferreira

2016

13



RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS DO IPMA – SÉRIE DIGITAL

Destinam-se a promover uma divulgação rápida de resultados de carácter científico e técnico, resultantes da actividade de investigação e do desenvolvimento e inovação tecnológica nas áreas de investigação do mar e da atmosfera. Esta publicação é aberta à comunidade científica e aos utentes, podendo os trabalhos serem escritos em Português, Francês ou Inglês.

Edição

IPMA

Rua C – Aeroporto de Lisboa
1749-007 LISBOA
Portugal

Corpo Editorial

Francisco Ruano – Coordenador

Aida Campos

Irineu Batista

Lourdes Bogalho

Mário Mil-Homens

Rogélia Martins

Teresa Drago

Edição Digital

Anabela Farinha

As instruções aos autores estão disponíveis no sitio web do IPMA

<http://ipma.pt>

ou podem ser solicitadas aos membros do Corpo Editorial desta publicação

Capa

Conceição Almeida

ISSN

2183-2900

Todos os direitos reservados

AQUACULTURA MULTI-TRÓFICA INTEGRADA

EM TANQUES DE TERRA

Maria Emília Cunha, Hugo Quental-Ferreira, Laura Ribeiro, Márcio Moreira, Florbela Soares, Miguel Caetano, Pedro Pousão Ferreira

IPMA / DMRM / Divisão de Aquacultura e Valorização - Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO)
Av. 5 de Outubro, s/n, 8700-305 Olhão, Portugal

Recebido em: 2016 -09-20

Aceite em: 2016-10-07

RESUMO

A aquacultura multi-trófica integrada (Integrated Multi-Trophic Aquaculture, IMTA) combina o cultivo de animais que necessitam do fornecimento de alimento para crescerem com organismos que utilizam a matéria inorgânica e orgânica, criando um sistema de produção equilibrado do ponto de vista ambiental.

Este trabalho apresenta os resultados obtidos no primeiro ano de uma produção multi-trófica integrada de dourada (*Sparus aurata*), diversas espécies de sargo (*Diplodus sargus*, *D. cervinus*, *D. puntazzo*, *D. vulgaris*), ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*) e pepinos do mar (*Holothuria mammata*) cultivados em tanques de terra com o objetivo de avaliar a adaptabilidade destas espécies ao cultivo integrado, o seu crescimento e as estruturas de cultivo das ostras mais adequadas à sua produção em tanques de terra.

Os valores de biomassa animal produzida por metro cúbico e por tanque no final desta experiência foram 0,4 kg e 0,6 kg nos sistemas de policultivo simples e policultivo multitrófico, respetivamente. Foi possível observar que nos tanques de policultivo simples as concentrações de nitrato+nitrito e de fosfato foram superiores em oposição aos de cultivo integrado que apresentaram valores de clorofila *a*, carbono e azoto orgânicos totais mais altos.

As ostras tiveram uma taxa de crescimento que variou entre 10,3 % e 7,2 % de aumento de peso diário, tendo sido mais elevada durante o verão – outono, mas a sua mortalidade também foi superior. Estas ostras apresentaram uma qualidade microbiológica (classe A) superior às dos viveiros vizinhos da Ria Formosa, sugerindo a existência de um processo de depuração intermédio da água de entrada e que se pensa ocorrer no reservatório de abastecimento dos tanques. Das estruturas de cultivo de ostras testadas, cestos, lanternas e sacos de rede, as que apresentaram melhores resultados, relativamente a sobrevivência, foram as lanternas suspensas.

As espécies de peixe que melhor se adaptaram ao crescimento em tanques de terra foram *Sparus aurata* e *Diplodus cervinus*. Por sua vez, *D. cervinus* teve um melhor desempenho (crescimento e sobrevivência) nos tanques de cultivo integrado. Os parasitas externos que afetaram as brânquias dos peixes foram essencialmente dos géneros *Microcotyle* e *Lamellodiscus* e não houve diferenças significativas na prevalência e/ou incidência daqueles ectoparasitas entre os dois sistemas de cultivo. *Lamellodiscus* afetou os peixes de maiores dimensões e *Microcotyleos* menores. Os pepinos do mar tiveram uma sobrevivência muito baixa nas condições de cultivo experimentadas.

Palavras chave: IMTA, policultivo, dourada, sargos, ostra portuguesa, pepinos do mar, qualidade da água

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CUNHA, M.E.; QUENTAL-FERREIRA, H.; RIBEIRO, L.; MOREIRA, M.; SOARES, F.; CAETANO, M.; POUSÃO FERREIRA, P., 2016. Aquacultura multi-trófica integrada em tanques de terra. *Relat. Cient. Téc. do IPMA* (<http://ipma.pt>) nº 13, 23p. + Anexo

ABSTRACT

Title: Integrated Multi-Trophic Aquaculture in Ponds.

Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) is the combined cultivation of animals that need food from external origins together with organisms that extract organic and inorganic matter from the rearing environment creating a balanced production system.

This paper presents the results obtained during the first year of an integrated multi-trophic production of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and several sea-breams species (*Diplodus sargus*, *D. cervinus*, *D. puntazzo*, and *D. vulgaris*), Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*) and a sea cucumber (*Holothuria mammata*) grown in earthen ponds in order to evaluate the adaptability of these species to integrated cultivation, their growth performance and the most suitable structures for oyster farming in ponds.

Animal biomass produced per cubic meter per tank at the end of this experiment were respectively 0.4 kg and 0.6 kg in simple polyculture and multi-trophic polyculture. It was observed in tanks of simple polyculture that the concentrations of nitrate + nitrite and phosphate were higher comparatively to the multi-trophic polyculture that showed higher values of chlorophyll *a*, and total organic carbon and total organic nitrogen.

Oysters daily growth rates varied between 10.3% and 7.2% and were higher during the summer - autumn when mortality was also higher. The microbiological quality of the oysters in the rearing tanks was better than the neighboring oyster beds at Ria Formosa coastal lagoon from where the water comes from suggesting the existence of an intermediate purification process of the inlet water. From the tested oysters farming structures, the suspended lanterns showed better results in terms of survival.

The fish species showing better adaptation to growth in earthen ponds were *Sparus aurata* and *Diplodus cervinus*. *D. cervinus* seemed to be better adapted (growth and survival) to multi-trophic integration. The external parasites that affect the fish gills were *Microcotyle* and *Lamellodiscus* and there were no differences in prevalence and/or incidence between the two rearing systems. *Lamellodiscus* affected the larger fish and *Microcotyle* the smaller ones. In the rearing conditions of the experiment sea cucumbers had very low survival.

Keywords: IMTA, polyculture, gilthead sea-bream, seabream species, Portuguese oyster, sea cucumber, water quality

INTRODUÇÃO

O regime de produção de peixes em tanques de terra mais utilizado na aquacultura em Portugal é o semi-intensivo. Esses tanques de terra são, em geral, antigas salinas que foram adaptados à aquacultura. A densidade de produção é relativamente baixa (<1 a 3 kg por m³) e, dados os custos energéticos e da ração, assim como perdas por predação e doenças, o rendimento é quase nulo pois o preço de venda precisa de competir com peixe de importação, colocados no mercado a preços muito inferiores. O baixo ou nulo rendimento tem levado ao progressivo abandono da atividade com perdas para o meio ambiente dada a progressiva sedimentação dos tanques e reservatórios.

Para aumentar o rendimento desta atividade é necessário aumentar a carga de produção nos tanques. No entanto, o aumento da densidade de peixes é proporcional ao consumo alimentar e energético, mas acima de tudo leva a um aumento da concentração de azoto e fósforo no meio ambiente em resultado do aumento da excreção e lixiviação da ração não ingerida. Mais alimento e mais excreção levam a uma eutrofização das zonas húmidas adjacentes com consequências adversas para o meio ambiente. Este problema é contornado nas pisciculturas com maior carga animal com a passagem dos efluentes por tanques de decantação antes de serem vertidos no meio ambiente.

Para se conseguir um aumento de produção de forma sustentável torna-se indispensável conceber um sistema equilibrado em que o excesso de nutrientes e matéria orgânica seja utilizado para produção de biomassa e proveito do produtor. A aquacultura multi-trófica integrada (Integrated Multi-Trophic Aquaculture, IMTA) é um desses sistemas. A IMTA combina o cultivo de animais que necessitam do fornecimento de alimento (p. ex., peixe) com organismos que utilizam matéria inorgânica (p. ex., algas) e orgânica (p. ex., bivalves), criando sistemas ambientalmente equilibrados (Troell *et al.*, 2003, 2009; Neori *et al.*, 2004). Para além da bio-remediação, estes sistemas proporcionam estabilidade económica (produtos melhores e mais diversificados, custos menores e redução de riscos) e aceitação social (melhoria das práticas de gestão).

Para que este tipo de produção tenha sucesso, é necessário selecionar espécies apropriadas e dimensionar convenientemente as várias populações de modo a que ocupem os diversos nichos de um ecossistema em que os processos biológicos e químicos envolvidos estejam num equilíbrio estável. De um modo ideal, cada uma das espécies cultivadas em IMTA deverá ter um bom rendimento comercial. A produção em IMTA pode, no seu conjunto, contribuir para aumentar a rentabilidade económica final, mesmo que algumas das espécies

produzidas possam, por si só, render menos do que seria obtido se essa espécie fosse produzida em monocultura.

No caso dos tanques de terra, o processo mais simples é aproveitar os nutrientes inorgânicos gerados pela excreção dos peixes que são alimentados com ração e que fomentam o crescimento das populações de fitoplâncton. Estas populações e a matéria orgânica particulada proveniente dos desperdícios da ração podem ser usadas com proveito para a produção de bivalves filtradores tal como as ostras.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a adaptabilidade da dourada (*Sparus aurata*), do sargo bicudo (*Diplodus puntazzo*), do sargo legítimo (*D. sargus*), do sargo veado (*D. cervinus*) e da safia (*D. vulgaris*) ao cultivo integrado com ostras (*Crassostrea angulata*) e pepinos do mar (*Holothuria mammata*) numa perspectiva de contribuir para o desenvolvimento da Aquacultura Multi-Trófica Integrada (IMTA) em tanques de terra. Dado não ser comum a produção de ostras em tanques de terra foram também testadas diferentes estruturas de cultivo no sentido de se conhecerem as que melhor se adaptariam ao cultivo integrado neste tipo de tanques.



Figura 1 – Fotografia aérea das instalações da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (delimitada a amarelo) e sua localização geográfica. Captação da água assinalada com a seta verde.

METODOLOGIA

A fase experimental decorreu nas instalações da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO) do Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA) (Fig. 1) durante o período compreendido entre 27 de maio de 2010 e 27 de janeiro de 2011. Seis tanques de terra com 1,5 m de profundidade e área de 500 m² cada (750 m³) foram utilizados para se poder comparar a rentabilidade destes sistemas de produção utilizando unicamente peixes (3 tanques) (denominado por POLI) ou em integração com ostras e pepinos do mar (3 tanques) (denominado por IMTA). A produção decorreu em sistema semi-aberto com renovação diária da água do tanque de 40 a 60 %, bombeada de um reservatório de 75000 m³ de água da Ria Formosa (salinidade entre 35 e 36 ‰) que é cheio durante a maré alta. O fundo dos tanques era lodoso com alguma areia. Em todos os tanques foram estabelecidas 5 espécies de peixe em policultivo (Tabela 1) alimentados com ração comercial para peixes (Balance 5A) da SORGAL (composição aproximada em ANEXO) distribuída por alimentadores automáticos três vezes por dia durante o verão (junho a setembro) e duas vezes por dia a partir de outubro.

Os pepinos do mar, da espécie *Holoturia mammata*, obtidos por captura na Ria Formosa, eram adultos que foram estabelecidos com uma densidade de 0,2 indivíduos por m² após terem sido previamente aclimatados a condições de cativeiro por um período de 15 dias.

A espécie de ostra cultivada foi a ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*), proveniente da zona de produção do Monte da Pedra no rio Sado, tendo-se usado 3 tipos de estruturas de produção diferentes: cestos e lanternas suspensas e sacos de rede colocados sobre suportes de ferro próximo do fundo (Fig. 2). Foram efetuados dois ciclos de produção em que um teve início em finais de maio e o outro em finais de outubro de 2010. O primeiro ciclo durou 5 meses e as ostras foram cultivadas em cestos suspensos enquanto o segundo ciclo durou 2 meses e meio, tendo as ostras sido cultivadas nas 3 diferentes estruturas mencionadas anteriormente. Foi feita uma amostragem para avaliação dos parâmetros de crescimento e sobrevivência das ostras com uma periodicidade bimestral no primeiro ciclo e mensal no segundo.

Ao longo do ensaio realizaram-se amostragens trimestrais dos peixes para determinar o peso e o comprimento total. A temperatura e o oxigénio dissolvido na água foram monitorizados diariamente. As amostras de água foram recolhidas de 15 em 15 dias para analisar parâmetros de qualidade (nutrientes e clorofila *a*) e amostras de sedimentos de 2 em 2 meses para analisar o carbono e azoto orgânicos totais. Quinzenalmente foram ainda amostrados 5 peixes de cada

espécie para enumeração e identificação dos ectoparasitas presentes nos arcos branquiais. Foram ainda recolhidas ostras para controlar a sua qualidade microbiológica.

Tabela 1 – Número inicial, peso total e peso médio das diferentes espécies usadas em cada tanque.

Espécies	Número inicial (n)	Peso total (kg)	Peso médio (g)
<i>Sparus aurata</i>	153	18	119,5 ± 30,1
<i>Diplodus puntazzo</i>	420	57	134,7 ± 28,9
<i>D. sargus</i>	579	105	181,8 ± 39,8
<i>D. cervinus</i>	30	1	37,6 ± 16,2
<i>D. vulgaris</i>	84	8	93,1 ± 26,4
<i>Holothuria mammata</i>	106	42	398,3 ± 150,6
<i>Crassostrea angulata</i>			
1º ciclo de produção	1500	78	50,9 ± 14,1
2º ciclo de produção	900	31	34,4 ± 10,5



Figura 2 – Estruturas utilizadas no cultivo das ostras em tanques de terra: a) cestos; b) lanternas; c) sacos de rede.

No final da experiência os peixes nos tanques foram pescados na totalidade e determinados o seu peso (g) e comprimento total (mm). O número máximo de peixes medidos por espécie em cada tanque foi de 100.

Biometria

Os valores do peso e comprimento total dos peixes foram usados para calcular o Índice de Condição de Fulton (K), tendo-se usado a seguinte equação:

$$K = 100 * W / L^3,$$

em que W é o peso do peixe em gramas e L é o comprimento total em centímetros.

A taxa de conversão alimentar (TCA) foi calculada como:

$$TCA = Ac / (M_{pf} - M_{pi})$$

em que Ac = quantidade de alimento fornecido por tanque, em quilogramas, durante o período de crescimento analisado; M_{pf} = peso total de peixe produzido por tanque, em quilogramas, no final do ensaio; M_{pi} = peso total de peixe introduzido por tanque, em quilogramas, no início do ensaio

Análise da qualidade da água

A monitorização da qualidade da água foi feita com base em amostras de 60 litros constituídas por água recolhida junto à entrada, meio e saída de cada tanque (20 litros recolhidos em cada local). As amostras de água para determinação de nutrientes foram colocadas em frascos de plástico descontaminados e refrigeradas. As amostras destinadas à determinação do carbono e azoto orgânicos totais e clorofila *a* (Cl_a) foram filtradas através de filtros de fibra de vidro WHATMAN GF/C, com 47 mm diâmetro (1,20 µm). Os filtros contendo os sólidos em suspensão foram guardados em tubos de centrífuga, envoltos em papel de alumínio e congelados a -4 °C (por um período nunca superior a 30 dias até à realização das análises de clorofila *a*).

A clorofila *a* foi determinada por espectrofotometria, de acordo com o método de Lorenzen (1967) após extração com acetona (90%).

Os nutrientes analisados, amónia, nitrato, nitrito, fosfato e silicato, foram determinados com um autoanalisador “Skalar” com quatro canais em simultâneo, tendo-se aplicado a

metodologia Technicon Industrial (Grasshoff, 1983). Os limites de deteção foram 0,2 µM para a amónia e silicato e 0,05 µM para o nitrito, nitrato e fosfato com erros de precisão <1%.

Parasitas

O grau de infestação dos peixes por ectoparasitas foi determinado quinzenalmente. Para tal foram recolhidos 5 exemplares de cada espécie e efetuada uma observação em fresco dos dois primeiros arcos branquiais do flanco direito do peixe para identificação e contagem dos parasitas ao microscópio nas ampliações 10, 20 e 40 X.

Qualidade microbiológica das ostras

Quantificação de *Echerichia coli*

Nos meses de julho, outubro, dezembro (2010), janeiro, junho e julho (2011) foram recolhidas, de cada sistema, 30 ostras para análise microbiológica. Logo após a recolha, as amostras foram colocadas em caixas térmicas, o que permite evitar a exposição à luz e conservar as amostras refrigeradas, sendo transportadas de seguida para o laboratório, onde se procedeu, de imediato, à respectiva análise microbiológica.

Para pesquisa de *Echerichia coli* nas ostras foi feita uma preparação das amostras de acordo com a norma NP-1829 (1982), tendo-se previamente eliminado as ostras que apresentavam valvas danificadas ou permanentemente abertas assim como os indivíduos mortos. Em ambiente asséptico, iniciou-se a abertura das valvas através de corte do músculo adutor. O músculo e o líquido intervalvar dos bivalves com pesos iguais ou superiores a 80 g foram homogeneizados num *Stomacher*® (*Stomacher* 400 Circulator, Seward Limited, London, UK). Retirara-se 40 g do homogeneizado que foram diluídos numa proporção de 1:10 em solução salina de triptona (Tryptona sal BL014) que constituíram a suspensão-mãe. Na determinação da concentração dos coliformes totais foi utilizada esta suspensão-mãe, tendo-se realizado diluições decimais seriadas, baseadas na técnica de fermentação em tubos múltiplos (séries de 5 tubos) de acordo com o método descrito por Donovan *et al.* (1998) e normalizado na ISO/TS16649-3 (ISO/TS 16649-3:2005) com determinação do NMP (Número Mais Provável).

Análise estatística

Os resultados obtidos foram expressos pela média aritmética simples e desvio padrão para todos os parâmetros analisados. Todas as médias e respetivos desvios padrão, gráficos e tabelas foram efetuados com auxílio do Microsoft Office Excel® para o Windows®.

Os resultados dos parâmetros zootécnicos das espécies de peixe foram analisados através de análise de variância (ANOVA), sempre que os pressupostos eram cumpridos. A significância estatística foi estabelecida com $p < 0,05$ e esta análise foi realizada com auxílio do Microsoft Office Excel® para o Windows®.

Para verificar quais as variáveis da qualidade da água que mais contribuíam para a diferenciação dos dois sistemas de produção foi feita uma análise de componentes principais (PCA) que foi executada com o auxílio do pacote informático BRODGAR (v 2.5.2) (Copyright © Highland Statistics Ltd. 2000) ® ligado a uma interface do pacote estatístico R (v3.0.0) depois das diversas variáveis ambientais terem sido transformadas (raiz quadrada) de modo a permitir uma aproximação à distribuição normal dos dados e centradas (Clarke e Warwick, 1994).

RESULTADOS

As concentrações matinais (\pm 08:30 h) de oxigénio dissolvido na água (OD) durante o período em que decorreu o ensaio (Fig. 3) apresentaram um mínimo no mês de agosto, mas com valores que nunca chegaram a ser limitantes para a produção dos animais. Os valores mensais médios de temperatura corresponderam ao padrão térmico normalmente registado nesta zona do país, com valores mais elevados nos meses de julho e agosto e uma diminuição acentuada (cerca de 14 °C) nos meses de inverno.

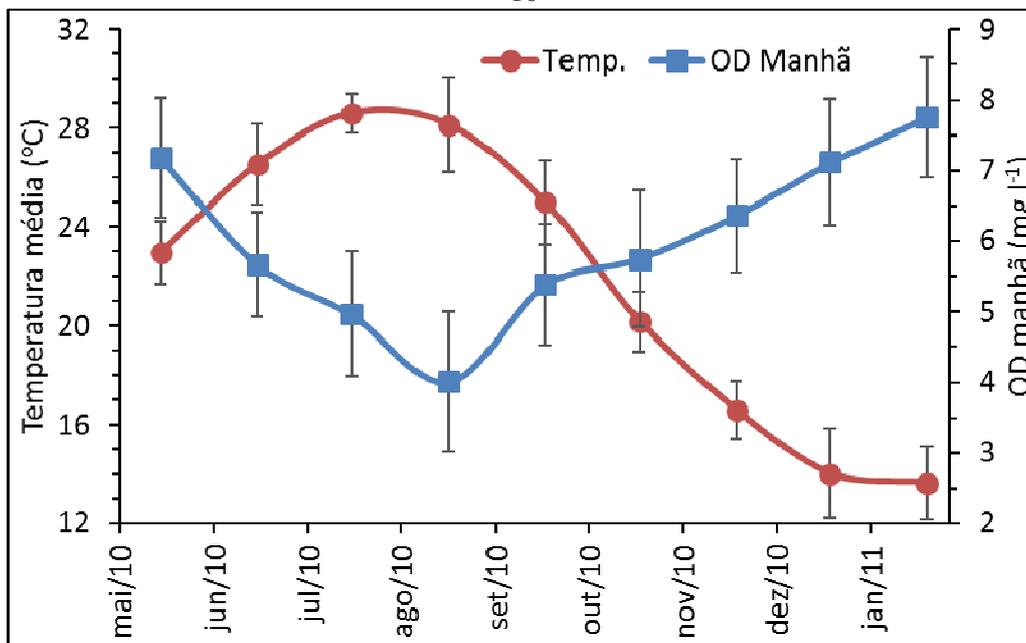


Figura 3 – Valores médios mensais e desvio padrão do teor de oxigênio dissolvido na água no período da manhã (OD) e da média da temperatura diária nos tanques.

Qualidade da água e do sedimento

Os tanques de IMTA apresentaram valores superiores de concentração de clorofila *a* e silicato enquanto os de policultivo só com peixes (POLI) tiveram concentrações superiores de nitrato+nitrito e de fosfato (Fig. 4). A análise de componentes principais (PCA), que resume esta informação, mostra bem esta dicotomia. As diferenças na concentração de amônia e do carbono orgânico total (COT) no sedimento não discriminam os sistemas. Os valores médios deste último parâmetro assim como os do azoto orgânico total (AOT) são ligeiramente superiores nos tanques de IMTA (Fig. 5) mas a diferença não era significativa.

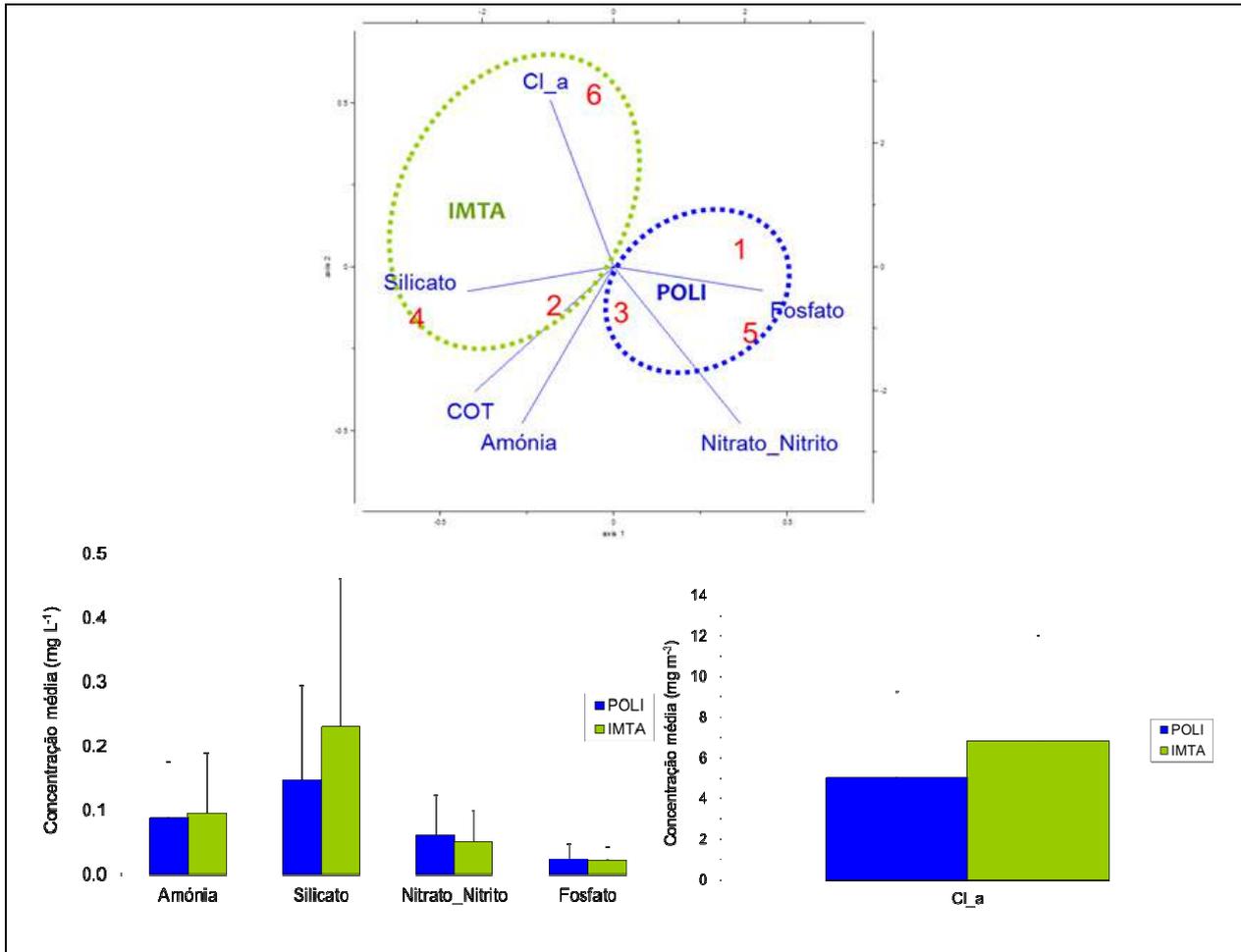


Figura 4 – Resultados da análise de componentes principais (PCA) dos parâmetros de qualidade da água: nutrientes, clorofila *a* (Cl_a) e carbono orgânico total (COT). Os 2 primeiros eixos da PCA explicaram 78% da variabilidade total. IMTA refere-se aos tanques de cultura integrada com ostras e POLI ao sistema de policultura só com peixes. Os números referem-se à numeração dos tanques; 2, 4 e 6 –IMTA; 1, 3 e 5 – POLI.

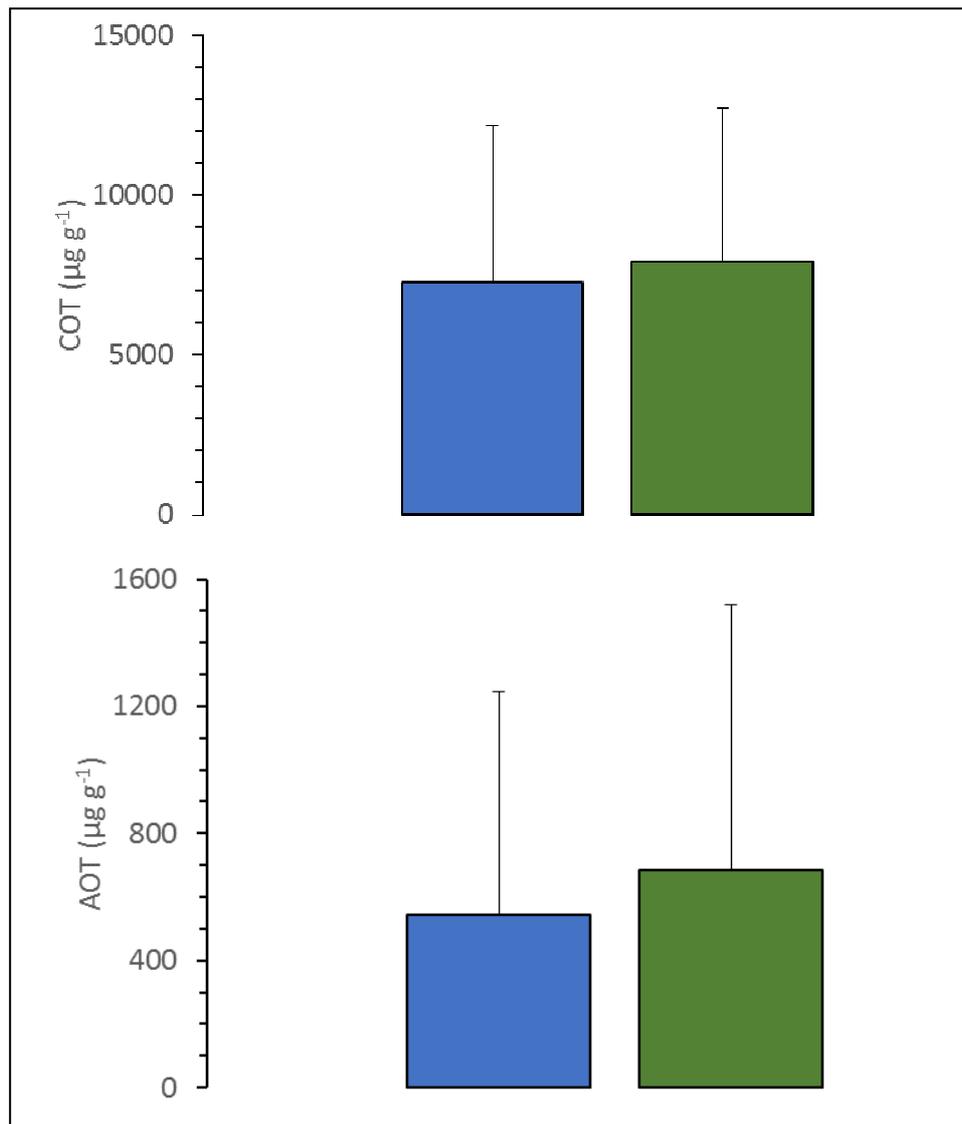


Figura 5 – Concentração média de carbono orgânico total (COT) e de azoto orgânico total (AOT) no sedimento dos tanques de policultura de peixes - POLI (azul) e nos tanques de IMTA (verde).

Mortalidade dos pepinos do mar

No final da experiência a mortalidade foi quase 100 %, tendo sido capturado apenas um pepino do mar num dos tanques e 5 noutro. Desconhece-se a razão desta mortalidade elevada.

Crescimento e sobrevivência das ostras

Foram efetuados dois ciclos de produção, um com início em finais de maio e o outro em finais de outubro. Como as ostras introduzidas possuíam tamanhos médios iniciais diferentes, os parâmetros de crescimento das ostras foram calculados a partir da equação que melhor se

adaptou aos dados, neste caso a exponencial (Fig. 6). A taxa de crescimento diária (aumento de peso por dia) foi superior no ciclo de produção que decorreu de maio a outubro (10,3 %) quando comparada com o do segundo ciclo de novembro a janeiro (7,2 %). Esta última taxa corresponde ao valor médio de crescimento nas 3 estruturas de cultivo, tendo a taxa de crescimento sido superior nas ostras colocadas nas lanternas.

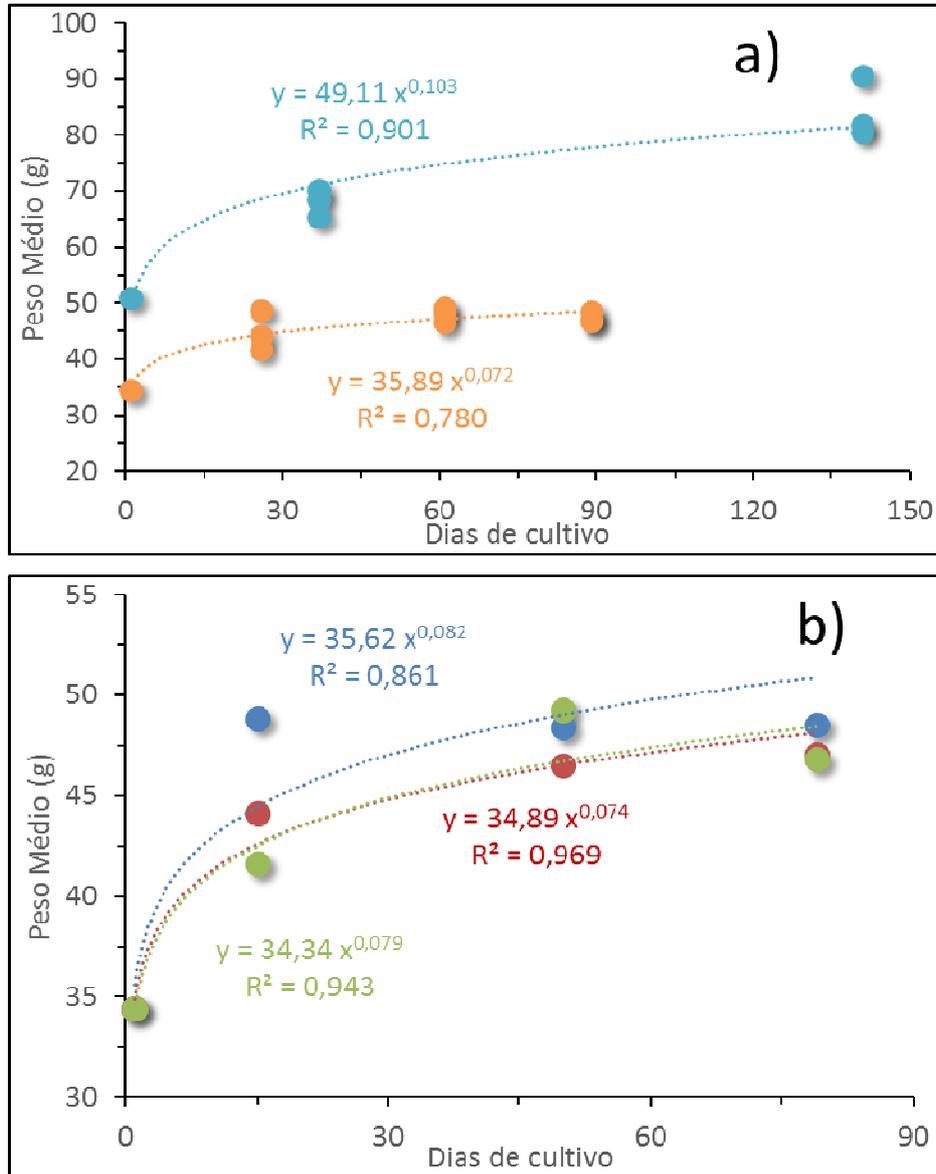


Figura 6 –Aumento do peso médio das ostras em: a) período de produção de maio-outubro (azul) e novembro-janeiro (laranja); b) diferentes estruturas de produção utilizadas no ciclo de novembro-janeiro: cestos (carmim), lanternas (azul), sacos de rede (verde).

A taxa de sobrevivência bimestral das ostras cultivadas em cestos durante o 1º período de cultivo (maio a outubro 2010) foi relativamente baixa (Fig. 7a) e em especial durante os

meses de julho e agosto. A análise de variância a dois fatores (tanques e período de amostragem) com repetição mostrou que existiram diferenças significativas nas taxas de sobrevivência entre os períodos de amostragem assim como entre os 3 tanques de IMTA. O mesmo não sucedeu com as ostras cultivadas nos cestos durante o 2º período de cultivo que apresentaram taxas de sobrevivências altas (Fig. 7b). A mortalidade das ostras foi significativamente diferente entre as diversas estruturas ($P < 0,05$) com mortalidades mais elevadas nos sacos de rede próximo do fundo.

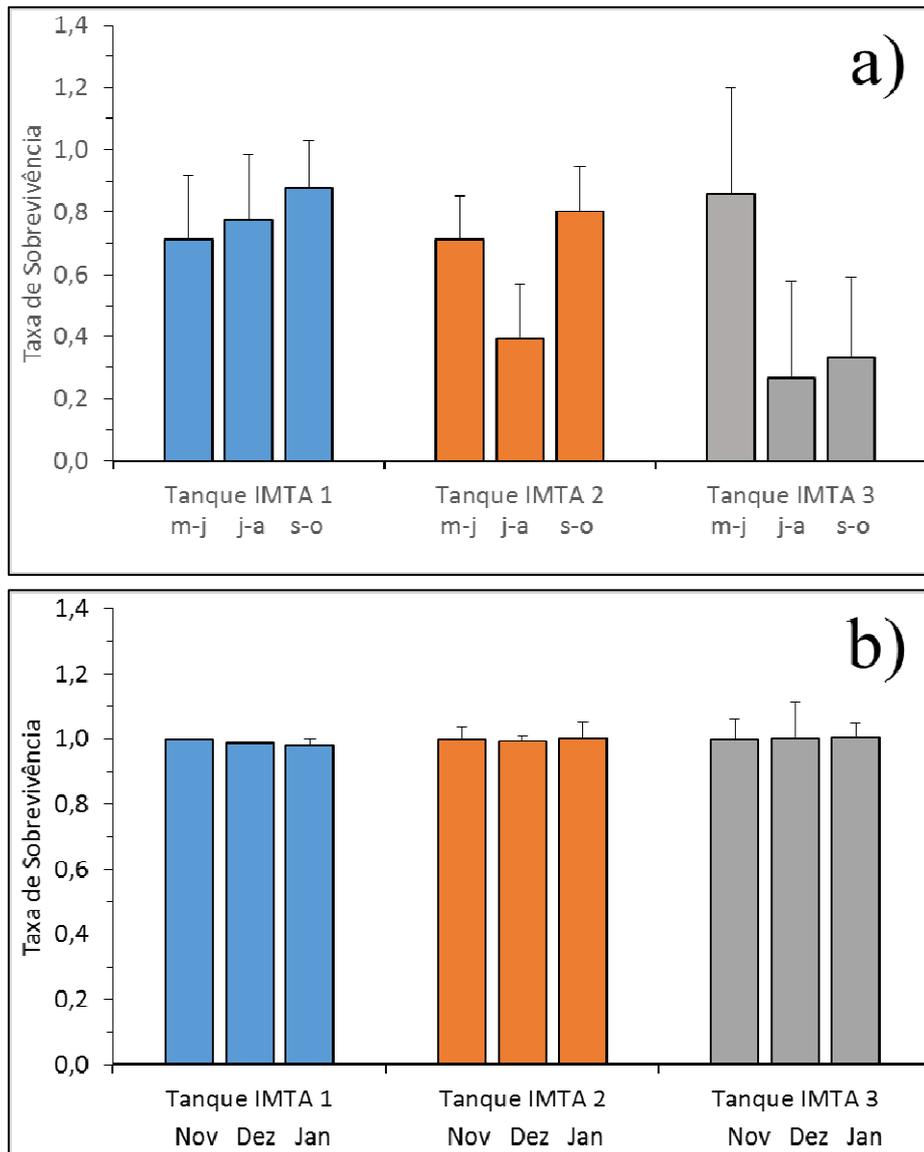


Figura 7 – Evolução da taxa de sobrevivência das ostras durante os ciclos de (a) maio a outubro 2010 - sobrevivência bimestral (m-j: maio-junho; j-a: julho-agosto; s-o: setembro-outubro); (b) novembro 2010 a janeiro 2011 – sobrevivência mensal. As barras de erro correspondem ao desvio padrão.

Qualidade microbiológica das ostras

Com exceção do mês de dezembro, as ostras provenientes dos tanques de IMTA apresentaram um nível de qualidade microbiológica correspondente ao estatuto A (Fig. 8a) o que corresponde a um produto suscetível de consumo direto. Ostras amostradas na Ria Formosa e próximo da EPPO não apresentaram o mesmo nível de qualidade microbiológica (Fig. 8b), sugerindo a existência de um processo de depuração da água que deverá ocorrer no reservatório de água de 75 000 m³ que abastece os tanques da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão.

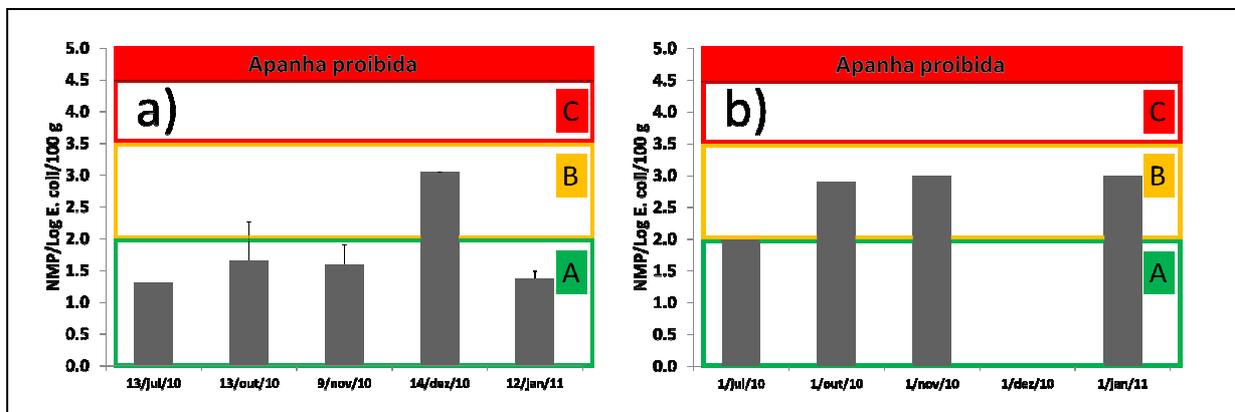


Figura 8 - Evolução temporal do teor de *Escherichia coli* nas amostras de ostra nos tanques de IMTA (a) e na Ria Formosa em local próximo da entrada de água para a EPPO (b) durante o mesmo período de tempo. (A – classe de ostras para consumo direto; B – classe de ostras que necessitam ser depuradas ou sofrer um processo de tratamento térmico por método aprovado; C – classe de ostras que, para consumo humano, têm de permanecer numa zona de transposição aprovada, seguido de depuração ou serem processadas na indústria transformadora, de acordo com o Regulamento (CE) n° 854/2004).

Produção final dos peixes e sobrevivência

As curvas de crescimento das diferentes espécies durante o tempo de cultivo (Fig. 9) foram representadas por equações polinomiais de 2º grau na forma:

$$f(x) = ax^2 + bx + c$$

e os coeficientes quadráticos (a), lineares (b) e constante (c) são apresentados na Tabela 3. O coeficiente quadrático reflete, de certa forma, a adaptação da espécie ao cultivo, o coeficiente linear indica o aumento diário do peso, ou seja, a taxa de crescimento diário durante todo o período de produção e o termo independente corresponde ao peso inicial da espécie aquando

da sua introdução nos tanques. Durante o período de cultivo *S. aurata* e *D. cervinus* foram as espécies que, inicialmente, melhor se adaptaram ao crescimento em tanques de terra e com taxas de crescimento mais elevadas conforme indicado respetivamente pelos maiores valores dos coeficientes quadráticos e lineares (Tabela 2), apresentando as espécies *Diplodus puntazzo*, *D. sargus* e *D. vulgaris* grau de adaptação semelhante no cultivo, mas *D. puntazzo* teve uma taxa de crescimento maior do que as duas outras espécies de sargos. *Diplodus vulgaris* foi a espécie com menor taxa de crescimento.

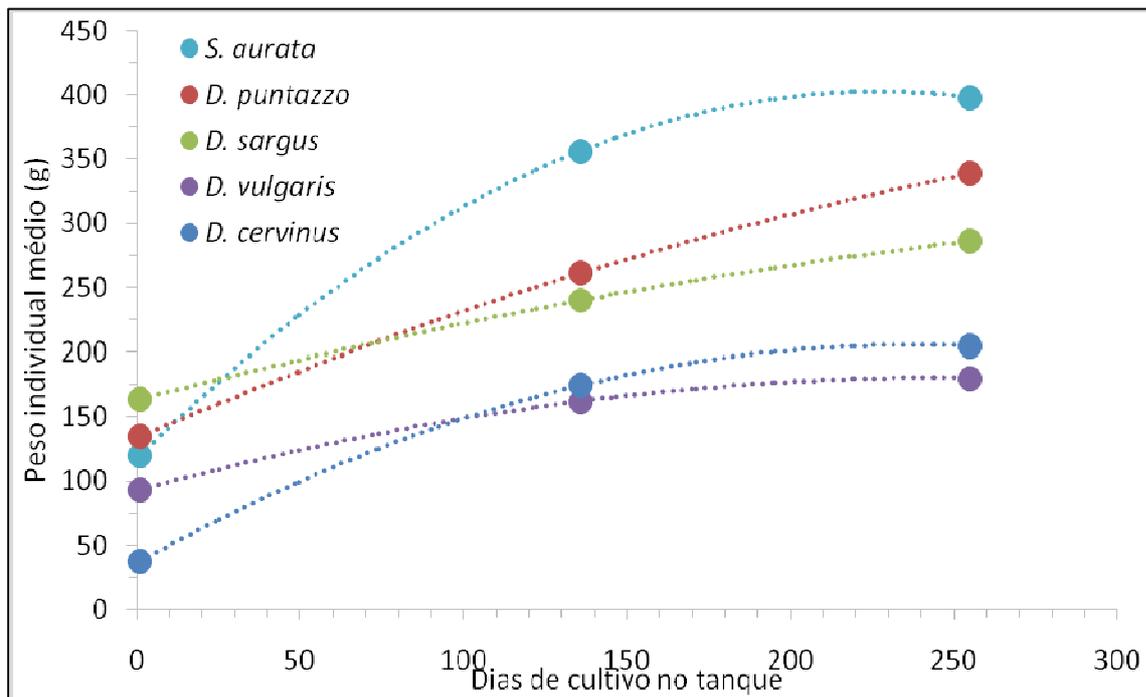


Figura 9- Curvas de crescimento médio (em peso) das diferentes espécies de peixe nos tanques de terra. As equações das curvas de crescimento encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Coeficientes do modelo de crescimento (equações polinomiais de 2º grau) das diferentes espécies estudadas em sistema de policultivo simples (POLI) e em sistema multi-trófico integrado (IMTA).

	<i>S. aurata</i>	<i>D. vulgaris</i>	<i>D. sargus</i>	<i>D. puntazzo</i>	<i>D. cervinus</i>
Coeficiente quadrático (a)	-0,006	-0,001	-0,001	-0,001	-0,003
Coeficiente linear (b)	2,507	0,592	0,660	1,088	1,428
Termo independente (c)	117	93	163	134	36

As taxas de conversão alimentar (TCA) dos peixes dos diferentes tanques não foram significativamente diferentes, sendo de 1,50 nos tanques de cultivo multi-trófico integrado (IMTA) e de 1,33 nos tanques de policultivo (POLI). A biomassa média final de peixe produzida nos tanques de policultivo simples foi de $0,44 \pm 0,05 \text{ kg m}^{-3}$ e nos tanques de produção multi-trófica integrada (IMTA) de $0,43 \pm 0,01 \text{ kg m}^{-3}$, valores que não são significativamente diferentes. A biomassa final por espécie de peixe produzido nos dois sistemas de cultivo também não foi significativamente diferente (Fig. 10).

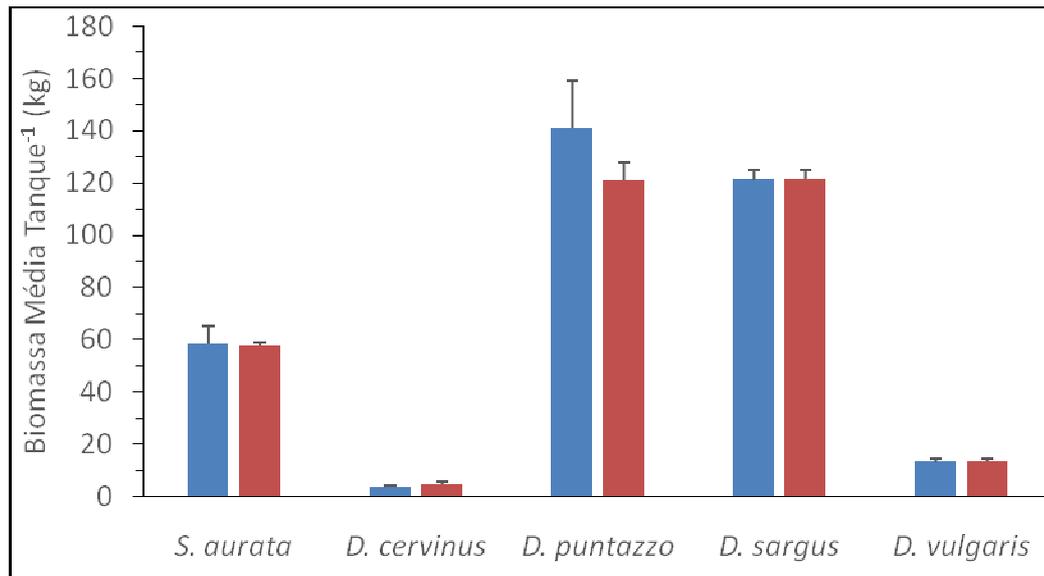


Figura 10 - Média dos pesos totais das diferentes espécies produzidas em sistema POLI (azul) e em IMTA (carmim). As barras de erro correspondem ao desvio padrão.

Verificaram-se, no entanto, diferenças significativas entre os dois sistemas no que respeita a alguns dos parâmetros zootécnicos (Tabela 3). Com exceção de *D. sargus* e *D. cervinus*, as espécies apresentaram um peso e/ou comprimento médios superiores nos tanques de POLI tendo sido *Diplodus puntazzo* a espécie que apresentou valores significativamente mais elevados destes dois parâmetros. O Índice de Condição foi, no entanto, significativamente superior nos tanques de IMTA, sugerindo indivíduos mais robustos nestes tanques. A sobrevivência de todas as espécies foi semelhante nos dois sistemas com exceção de *D. cervinus* que apresentou uma sobrevivência média superior nos tanques de IMTA, embora a diferença não tenha sido significativa do ponto de vista estatístico dada a variabilidade entre tanques.

Tabela 3 – Parâmetros zootécnicos finais das diferentes espécies de peixe produzido em sistema de policultivo (POLI) e em sistema multitrófico integrado (IMTA). Os asteriscos indicam o grau de significância da comparação entre sistemas.

		<i>S. aurata</i>	<i>D. cervinus</i>	<i>D. puntazzo</i>	<i>D. sargus</i>	<i>D. vulgaris</i>
N	POLI	149	51	300	349	150
	IMTA	148	64	298	301	146
Peso (g)	POLI	398,8	198,4	353,1 ***	268,6 ***	178,4
	IMTA	387,2	202,1	309,1 ***	289,2 ***	175,7
Comprimento (mm)	POLI	29,0**	22,0	26,9 ***	24,1 ***	21,9 *
	IMTA	28,5**	21,7	25,8 ***	24,3 ***	21,7 *
Índice de Condição	POLI	1,64 **	1,87 **	1,81	1,93	1,69 *
	IMTA	1,68 **	1,97 **	1,80	2,01	1,73 *
Sobrevivência (%)	POLI	94,0	57,8	92,6	70,7	86,1
	IMTA	95,9	73,3	91,3	70,9	89,3
Nota:		$p < 0,05$ - *		$p < 0,01$ - **		$p < 0,001$ - ***

Parasitas nos peixes

A análise microscópica das lamelas branquiais das diferentes espécies de peixes observadas, revelou duas espécies de parasitas externos pertencentes aos géneros *Microcotyle* e *Lamellodiscus* (Fig. 11).

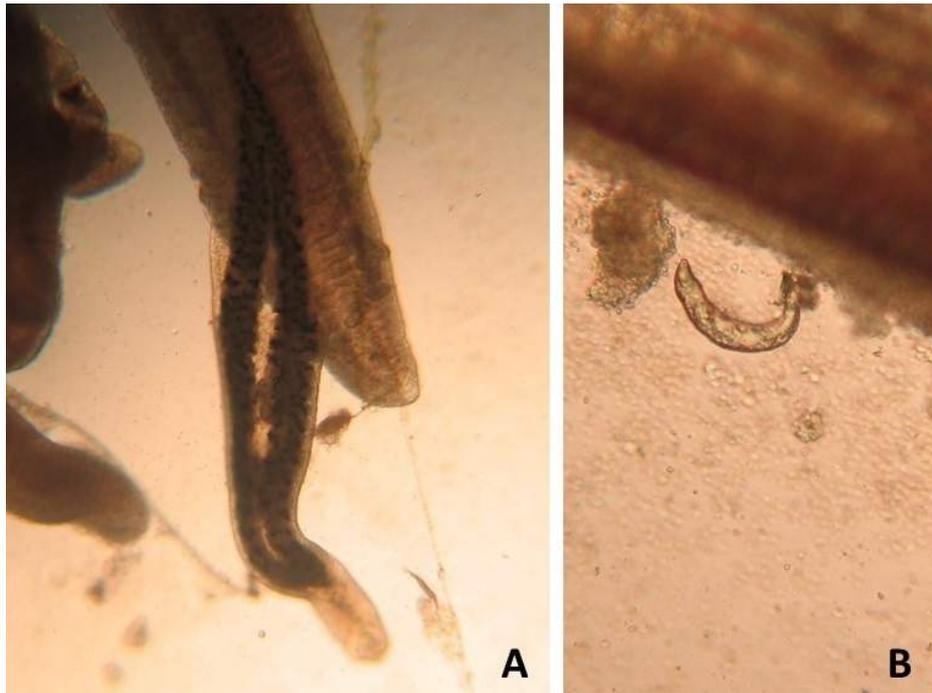


Figura 11- Parasitas branquiais, *Microcotyle* sp. (A) e *Lamellodiscus* sp. (B).

A percentagem de peixes parasitados nos diferentes sistemas variou com a espécie e o sistema de cultivo. Os exemplares de *D. puntazzo* e *D. vulgaris* apresentaram uma maior percentagem de parasitas branquiais quando cultivados no sistema IMTA em oposição a *D. cervinus* e *D. sargus* com valores superiores nos tanques de POLI. No caso de *S. aurata*, para além de ser a espécie com maior percentagem de parasitas, apresentou valores idênticos nos dois sistemas de cultivo (Fig. 12).

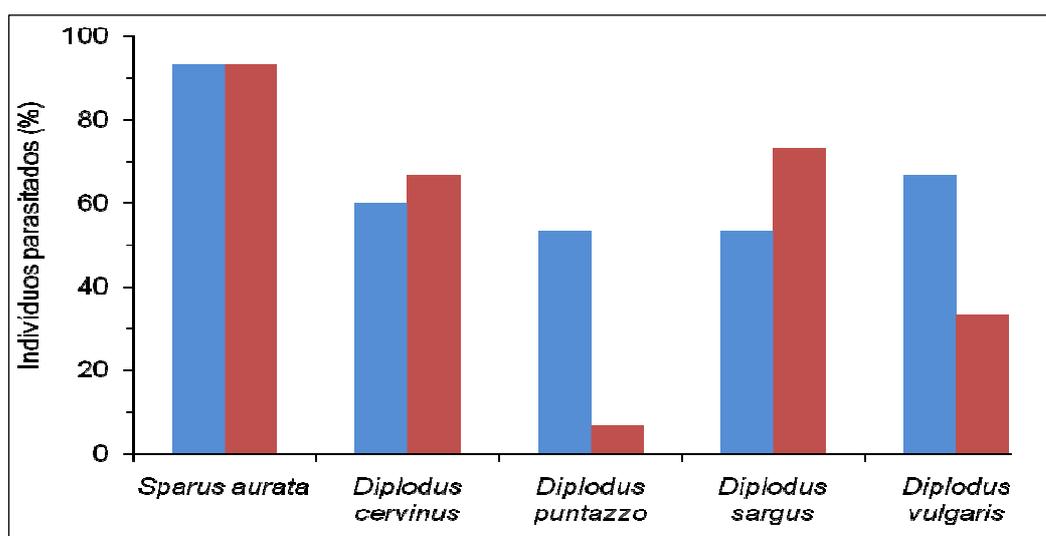


Figura 12 – Percentagem de parasitas branquiais presentes nas diferentes espécies de peixes produzidos em sistema de policultivo (azul) e no sistema integrado (carmim).

Os exemplares das espécies *S. aurata*, *D. puntazzo* e *D. sargus* foram preferencialmente infestados por *Lamellodiscus* sp. (Fig. 13). Estas são também as espécies que apresentaram as maiores dimensões. Os exemplares de peixes com pesos médios mais baixos das espécies *D. cervinus* e *D. vulgaris* foram preferencialmente infestados por *Microcotyle* sp. (Fig. 13). A infestação por *Lamellodiscus* sp. e/ou *Microcotyle* sp. não apresentou um padrão definido, sugerindo que não existe competição entre estas duas espécies de parasitas.

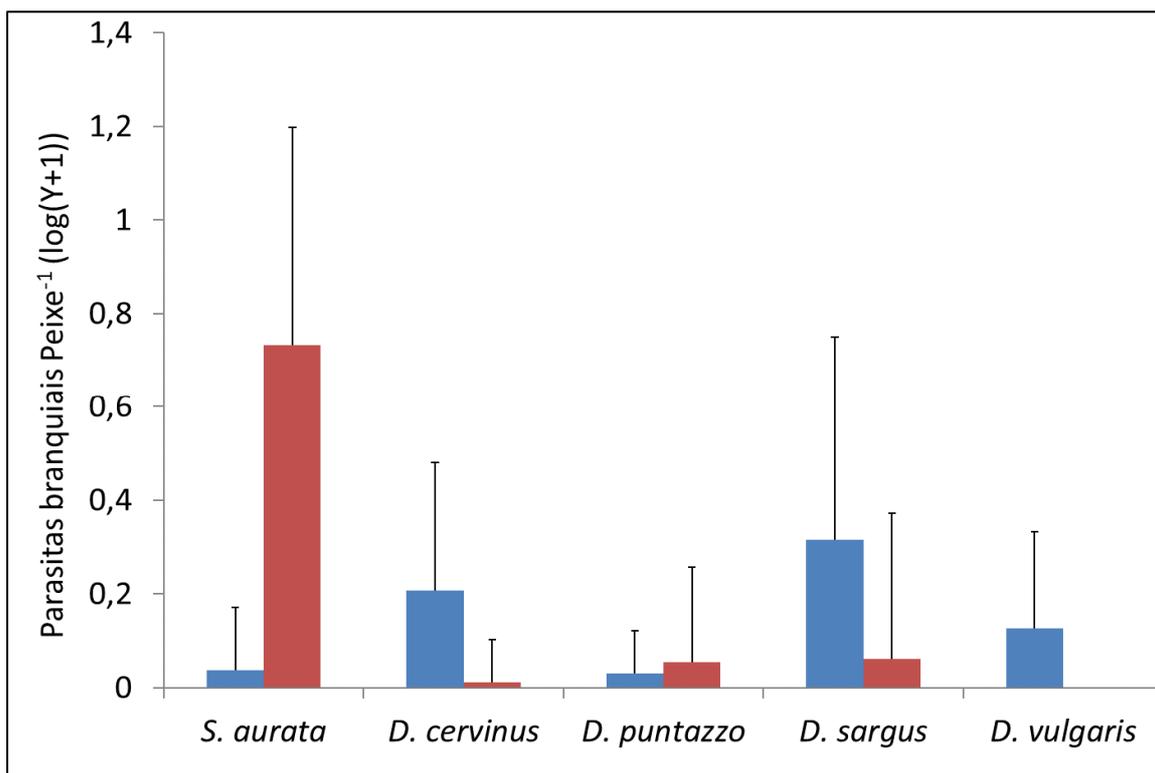


Figura 13 – Média do número de parasitas branquiais, *Microcotyle* sp. (azul) e *Lamellodiscus* sp. (carmim) presentes por arco branquial nas diferentes espécies de peixe.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os valores de biomassa animal produzida por metro cúbico e por tanque no final desta experiência, 0,4 kg e 0,6 kg nos sistemas POLI e IMTA, respectivamente, corresponderam a uma produção semi-intensiva de baixa densidade pelo que o impacto observado na qualidade da água não foi significativamente diferente nos dois sistemas. No entanto, foi possível observar que nos tanques de policultivo de peixes as concentrações de nitrato+nitrato e de fosfato foram superiores em oposição aos de cultivo integrado. Estes apresentaram valores médios de clorofila *a*, carbono e azoto orgânicos totais mais altos, refletindo a sua maior

carga orgânica e possivelmente a maior agitação do fundo em consequência das atividades de manejo das ostras. Outro resultado das atividades de manejo refletiu-se nas concentrações médias de silicato superiores nos tanques de IMTA.

As ostras tiveram uma taxa de crescimento que variou entre 10,3 % e 7,2 % de aumento de peso diário, tendo sido mais elevada durante o período de maior produção primária (verão - outono), mas a mortalidade também foi superior devido a elevadas temperaturas observadas em julho e agosto. Estas ostras apresentaram uma qualidade microbiológica (classe A) superior às dos viveiros vizinhos da Ria Formosa, sugerindo a existência de um processo de depuração intermédio da água de entrada e que se pensa ocorrer no reservatório de abastecimento dos tanques. Este reservatório é abastecido durante a maré alta com água da Ria Formosa e possui grande cobertura de plantas aquáticas e de macroalgas que ajudam à sedimentação da matéria particulada presente na água de entrada. A sedimentação deverá levar ao aumento da transparência da água, facilitando a penetração da radiação solar e dos ultravioletas com forte ação bactericida sobre os microrganismos presentes nessa massa de água. Os resultados da mortalidade das ostras nas diferentes estruturas de cultivo sugerem que se deverão utilizar estruturas suspensas próximo da superfície.

Das estruturas de cultivo de ostras testadas - cestos, lanternas e sacos de rede - as que melhor resultados apresentaram, relativamente à sobrevivência, foram as lanternas suspensas. No entanto e dada a disseminação da utilização de sacos de rede nos viveiros da Ria Formosa estes poderão ser igualmente utilizados desde que suspensos.

As espécies de peixe que melhor se adaptaram ao crescimento em tanques de terra foram *Sparus aurata* e *Diplodus cervinus*. Este último teve melhor desempenho (crescimento e sobrevivência) nos tanques de IMTA. Os parasitas externos que afetaram as brânquias dos peixes foram essencialmente dos géneros *Microcotyle* e *Lamellodiscus* e não houve diferenças entre os dois sistemas de cultivo. Registaram-se diferenças relacionadas com o tamanho dos peixes em que *Lamellodiscus* afetava os peixes de maiores dimensões e *Microcotyle* os mais pequenos.

No final do ciclo de produção o sistema de IMTA produziu uma quantidade de biomassa 1,3 vezes superior ao do sistema de poli-cultivo (Tabela 4). Este acréscimo de biomassa reflete a maior utilização dos nutrientes e da matéria particulada (originados nos tanques como resultado da alimentação externa fornecida aos peixes) pelo fitoplâncton e pelas ostras, sugerindo que a produção das ostras integrada com produção de peixes poderá ser uma mais

valia na produção em tanques de terra. As ostras tiveram um bom crescimento e a sua qualidade microbiológica foi superior à dos viveiros naturais, sugerindo a possibilidade do reservatório de água, que abastece os tanques de terra, atuar como depurador da água proveniente da Ria. A sobrevivência das ostras durante o verão e principalmente nos meses de temperatura mais elevada poderá ser melhorada com um aumento da taxa de renovação da água. É, no entanto, importante respeitar a capacidade de carga dos tanques para que não seja ultrapassada, pois se tal acontecer as biomassas produzidas e a qualidade do produto e da água serão inferiores.

As condições de cultivo utilizadas para os pepinos do mar, estabulação direta no fundo dos tanques, levaram a que tivessem uma sobrevivência muito baixa. Embora se desconheça a razão da elevada mortalidade, pensa-se que possa estar ligada ao excesso de sedimento no fundo dos tanques o que poder ter levado à asfixia dos exemplares. Na natureza, os pepinos do mar vivem em condições semi-oligotróficas e necessitam de uma camada de substrato de vasa arenosa com estruturas duras que permitam a fixação das larvas.

Tabela 4 – Quadro comparativo da produção inicial e final por tanque das diferentes espécies produzidas em sistema de policultivo (POLI) e em sistema multitrófico integrado (IMTA).

Espécies	Peso médio inicial (kg)		Peso médio final (kg)	
	POLI	IMTA	POLI	IMTA
<i>Peixe</i>	189 ± 1,1	189 ± 1,2	337 ± 29,1	318 ± 10,3
<i>Ostra</i>				
1º ciclo de produção		77 ± 10,2		79 ± 9,2
2º ciclo de produção		31 ± 9,4		42 ± 11,0
TOTAL	189	297	337	439

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CLARKE, K.R.; WARWICK, R.M., 1994. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Natural Environment Research Council: Plymouth Marine Laboratory, 144 p.

DONOVAN, T.J.; GALLACHER, S.; ANDREWS, N.J.; GREENWOOD, M.H.; GRAHAM, J.; RUSSELL, J.E.; ROBERTS, D.; LEE, R., 1998. Modification of the standard method used in the United Kingdom for counting *Escherichia coli* in live bivalve molluscs. *Communicable Disease and Public Health*, 1 (3): 188-196.

ISO/TS 16649-3:2005. Microbiology of the food chain – Horizontal Method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide. ISO/TC 34/SC 9 Microbiology, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland. 10 p.

GRASSHOFF, K., 1983. Methods of seawater analysis. Verlagchemie. New York, 317p.

LORENZEN, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and phaeopigments: Spectrophotometric equation. *Limnology & Oceanography*, 12: 343 – 346.

NEORI, A.; CHOPIN, T.; TROELL, M.; BUSCHMANN, A.H.; KRAEMER, G.P.; HALLING, C.; SHPIGEL, M.; YARISH, C. 2004. Integrated aquaculture: rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture. *Aquaculture*, 231: 361–391.

NP-1829 1982. Microbiologia alimentar. Colheita de amostras para análise microbiológica. Normas Portuguesas IPQ.

REGULAMENTO (CE) N.º 854/2004 - Regulamento (CE) N.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004. *Jornal Oficial da União Europeia*, L139/206, 115 p.

TROELL, M.; HALLING, C.; NEORI, A.; CHOPIN, T.; BUSCHMANN, A.H.; KAUTSKY, N.; YARISH, C., 2003. Integrated mariculture: asking the right questions. *Aquaculture*, 226: 69–90.

TROELL, M.; JOYCE, A.; CHOPIN, T.; NEORI, A.; BUSCHMANN, A.H.; FANG, J.G., 2009. Ecological engineering in aquaculture — potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. *Aquaculture*, 297: 1–9.

ANEXO

Informação sobre a composição química aproximada da ração comercial para peixes (Balance 5A) fornecidas aos peixes durante o ensaio.

Constituintes	Percentagem
Proteína bruta	40,0
Gordura	16,0
Cinzas	9,9
Fibra bruta	3,5
Fósforo	1,3
Aditivos (por kg de ração)	
Vitamina A	5000 UI
Vitamina D3	1000 UI
Alfa tocoferol	250 mg
Cobre	13 mg
Antioxidantes (E324, E321)	
Antifúngicos (E200, E236, E280, E282)	

