



UNIVERSIDADE DO PORTO

FACULDADE DE CIÊNCIAS

Departamento de Geociências, Ambiente
e Ordenamento do Território

UTILIZAÇÃO DE FONTES PROTEICAS EM DIETAS PARA LINGUADO DO SENEGAL (*Solea senegalensis*)

JOANA MOREIRA DA SILVA GOMES

Dissertação de Mestrado
em Engenharia Agronómica

2012

Joana Moreira da Silva Gomes

**Utilização de fontes proteicas em dietas para
linguado do Senegal
(*Solea senegalensis*)**

Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Engenharia Agronómica, submetida à Faculdade de Ciências, Universidade do Porto.

Orientação: Ana Rita Jordão Bentes Cabrita, Professora Auxiliar da Faculdade de Ciências, Universidade do Porto.

Co-orientação: Luísa Maria Pinheiro Valente, Professora Associada do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto.



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

O Presidente do Júri,

Porto: 14/12/2012

Agradecimentos

À Professora Doutora Luísa Valente, por me ter aceite como estagiária e por todo o apoio, orientação e paciência que demonstrou em todos os momentos da minha tese. O meu muito obrigada!

À Professora Doutora Rita Cabrita pela orientação e atenção que demonstrou ao longo deste percurso.

À minha colega e amiga Ângela Palmas, que participou comigo nesta longa etapa. Obrigada pelo apoio e pela amizade. Todos os telefonemas, todas as dúvidas, todas as nossas conversas deram um fruto: a minha tese.

Ao grupo de trabalho do LANUCE - Pedro, Bruno, Eduarda, Vera e Ângela -, por toda a ajuda, paciência, motivação, integração e solidariedade dadas. Estou grata pelo companheirismo vivido durante todo o tempo que estive no CIIMAR.

À minha irmã Sofia, que me ajudou em todos os momentos.

À minha prima Marinela, que me ajudou a superar a minha dislexia.

Aos meus pais que sempre me apoiaram, me motivaram e me deram sempre o “colinho” tão necessário em tantos momentos de desânimo.

Aos meus AVÓS (os quatros), por confiarem em mim.

À minha amiga Sara, à minha afilhada Catarina, ao meu namorado Daniel que me ajudaram nos momentos mais complicados! Sem vocês não conseguiria terminar o meu trabalho.

À minha equipa da Associação Recreativa e Cultural de Aveleda, que me dizia: “Agarra-te a isso, Joana!”

Às minhas amigas da Faculdade: Joana, Fófinha, Teresa, Brandão e Sandra por me proporcionarem bons momentos que nunca serão esquecidos.

À D. Ana e ao Dr. Isidro, por serem bons companheiros.

Resumo

O linguado Senegal (*Solea senegalensis*) é uma espécie com um alto valor comercial no sudoeste da Europa, existindo um grande interesse na produção desta espécie. Nos últimos anos ocorreram vários avanços significativos na otimização das técnicas de desmane e de nutrição das larvas, sendo que atualmente as equipas de investigação se debruçam sobre as necessidades nutricionais da espécie na fase juvenil e na fase de engorda. O linguado é um peixe plano, sendo característico desta espécie ter um requisito de proteína elevada na sua dieta. A proteína, numa dieta para peixes, é o nutriente mais dispendioso e usado em maior quantidade, representando 20 a 60% da dieta. A farinha de peixe, principal fonte proteica de uma dieta, é um produto bastante dispendioso e por isso têm sido feitos grandes esforços no sentido de encontrar fontes proteicas alternativas de elevada qualidade e com preços bastante competitivos. Estudos recentes demonstraram que a farinha de peixe pode ser parcialmente substituída por uma mistura de fontes proteicas vegetais, tendo em conta que o perfil de aminoácidos essenciais seja suprido.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é comparar uma dieta vegetal com uma dieta comercial para linguado disponível no mercado (dieta controlo). No entanto, dado o elevado nível lipídico da dieta comercial (19%), optou-se por testar duas dietas com fontes proteicas vegetais (PV), variando o seu nível lipídico: alta energia 17-18% (PV-AE) e baixa energia 7-9% (PV-BE). Estas três dietas foram testadas num estudo de larga duração em distintas fases de crescimento: pré-engorda (10-60g de peso vivo) e engorda (60-210g de peso vivo). Nos resultados foi observado que o peso corporal final e o índice de crescimento diário no tratamento PV-AE obtiveram valores inferiores aos restantes tratamentos em ambas as fases. Relativamente ao tratamento PV-BE, os peixes retiveram mais lípidos do que nos outros tratamentos em ambas as fases de crescimento. No que diz respeito ao ganho de proteína, o tratamento com elevada concentração de lípidos, na fase de engorda, obteve o menor valor (1g /kg/dia) em relação aos tratamentos controlo e baixa energia.

Com base nos resultados das análises realizadas às amostras recolhidas, conclui-se que as dietas de baixo teor lipídico são bastante viáveis para a utilização de fontes proteicas vegetais - a dieta PV-BE - sem afetar o desempenho do crescimento comparativamente com o tratamento controlo.

Abstract

Senegalese sole (*Solea senegalensis*) is a high commercial value species in Southwestern Europe, whose production has shown an increasing interest in recent years. In this context, significant advances have been achieved in the optimization of larvae weaning and feeding techniques. Nowadays, research teams are focusing on the species nutritional needs at both early-life and feeding stages. Sole is a flat fish and this kind of species requires a high-protein diet. Protein is the most expensive and the most used nutrient in fish diet, representing 20 to 60% of daily feed intake. Fishmeal, the main source of protein in a diet, is a very expensive product and, therefore, several efforts have been made in order to find alternative high quality protein sources at highly competitive prices. Recent studies show that fishmeal may be partially replaced by a mixture of vegetal protein sources, as long as the essential amino acids profile is provided.

Thus, the aim of this study is to compare a vegetable diet with a commercial diet available at the market for the Senegalese sole (control diet). However, considering the high lipid level of the commercial diet (19%), it was decided to test two diets with vegetable protein sources (VP), varying its lipid level: high energy 17-18% (PV-AE) and low energy 7-9% (PV-BE). These three diets were tested in a long-term study at different stages of growth: pre-weaning (10-60g live weight) and weaning (60-210g live weight). In the results, it was observed that the final body weight and the daily growth rate in the PV-AE treatment obtained lower values than in the other treatments at both stages. Regarding the PV-BE treatment, the fish retained more lipids than in the other treatments at both stages of growth. Concerning the protein gain, the treatment with higher concentration of lipids, at the weaning stage, obtained the lower value (1g/kg/day) when compared to control and low energy treatments.

Based on the obtained results, one may conclude that vegetable protein sources are viable ingredients for Senegalese sole diets if a low lipid content is used – PV-BE , not affecting growth performance when compared to control treatment.

Índice

	Págs.
Agradecimentos	iv
Resumo	v
Abstract	vi
Listas de figuras	viii
Listas de tabelas	ix
Lista de abreviaturas	x
I-Revisão bibliográfica	
1. Evolução da Aquacultura	1
2. Requisitos nutricionais do Linguado Senegalês	6
3. Nutrição Proteica	8
II- Parte experimental	
1. Introdução	13
2. Material e Métodos	14
2.1 Dietas experimentais	14
2.2 Ensaio de crescimento	16
2.2.1 Ensaio de pré engorda	16
2.2.2 Ensaio de engorda	17
2.3 Amostragens	17
2.4 Análise química	18
2.5 Análise estatística	18
3. Resultados	19
3.1 Ensaio de pré-engorda	19
3.2 Ensaio de engorda	22
4. Discussão	25
5. Conclusão	27
III- Referências bibliográficas	28

Lista de figuras

	Págs.
Figura 1. Produção mundial de aquacultura: crescimento por região desde 1070.	2
Figura 2. Produção aquícola total por estado membro no ano de 2009.	3
Figura 3. Produção aquícola em Portugal nos anos 2009 e 2011.	5
Figura 4. A evolução de preços da farinha de peixe e da farinha de soja, praticados na Alemanha e na Holanda desde 1986 até 2010.	9
Figura 5. Tanques de crescimento com alimentadores automáticos	16
Figura 6. Medição do comprimento do linguado	17

Lista de tabelas

	Págs.
Tabela 1. Ingredientes e composição proximal das dietas usadas nos ensaios: Pré-engorda e Engorda.	15
Tabela 2. Crescimento e ingestão de alimento de linguados em pré-engorda, após 130 dias de alimentação com dietas experimentais.	19
Tabela 3. Composição corporal, retenção e ganho nutricional de linguados em fase de pré-engorda, após 130 dias de alimentação com dietas experimentais.	21
Tabela 4. Crescimento e ingestão de alimento dos linguados na fase de engorda, após 151 dias de alimentação com dietas experimentais.	22
Tabela 5. Composição corporal, retenção e ganho nutricional de linguados em engorda, após 151 dias de alimentação com dietas experimentais.	24

Lista de abreviaturas

ANOVA. Analysis of Variance;

CIIMAR. Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research;

DGI. Índice de Crescimento Diário;

FAO. Food and Agriculture Organization;

FCR. Índice de Conversão Alimentar;

IGAFA. Instituto Galego de Formacion en Acuicultura;

INE. Instituto Nacional de Estatística;

LANUCE. Laboratório de Nutrição , Crescimento e Qualidade do Peixe;

MS. Matéria Seca;

PER. Eficiência proteica;

PV-BE. Proteína Vegetal de Baixa Energia;

PV-AE. Proteína Vegetal de Alta Energia;

SPSS. Statistical Package for the Social Sciences;

UE. União Europeia;

Revisão Bibliográfica

1-Evolução da Aquacultura

A aquacultura pode ser definida como a produção em cativeiro de animais, tais como peixes, moluscos, crustáceos, répteis, batráquios ou plantas que tenham um habitat predominantemente aquático. A cultura destes seres vivos implica a sua propagação, manutenção e colheita em ambientes controlados, evitando os efeitos que acarreta a seleção natural no meio ambiente. Para que uma espécie possa ser considerada de origem aquícola, durante o seu ciclo de vida, é necessário que ocorra uma manipulação do processo natural de crescimento, um controlo dos valores reguladores de reserva, uma alimentação controlada e uma proteção de predadores, de modo a aumentar a sua produção (FAO, 2007; FEAP, www.aquamedia.org).

Não se sabe bem há quanto tempo surgiu a arte e a ciência de cultivar organismos aquáticos, mas pensa-se que a China terá sido o primeiro país a fazê-lo, por volta de 3500 a.C. a 4000 a.C. (Stickney, 1994). O seu desenvolvimento ocorreu a partir do momento em que as populações chinesas se tornaram sedentárias e começaram a aproveitar os recursos hídricos das culturas do arroz para a cultura da carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Landau, 1992).

Na Europa, a difusão da aquacultura esteve a cargo do Império Romano. Inicialmente, a prática de produção de peixes nos aquedutos era, essencialmente, para uso dos banhos romanos. Posteriormente, durante a Idade Média, o desenvolvimento da arte aquícola esteve relacionado com a construção dos mosteiros, onde as carpas eram produzidas para a alimentação dos monges, em dias de jejum. Também para o combate da peste negra, na Europa de leste, foram construídos, em algumas vilas, pequenos viveiros de carpas (Landau, 1992). Com o passar dos anos, a estabilidade nos recursos alimentares e o aumento da diversificação da alimentação provocou uma redução na criação de ciprinídeos.

No século XIX, ocorrem grandes inovações na aquacultura. Com o aumento populacional, as exigências nutricionais e culturais para o consumo de peixe aumentaram, proporcionando a necessidade de criar sistemas de aquacultura (Hoffmann, 2004). Foram desenvolvidos alimentos artificiais para as diferentes

espécies cultivadas, ocorrendo uma renovação das técnicas de criação. O desenvolvimento de técnicas de reprodução e incubação artificial, bem como a intensificação do uso de alimentos concentrados foram inicialmente utilizados na produção de salmões. No início do século XX foi introduzida a policultura na Europa (Landau, 1992).

A aquacultura desenvolveu-se como indústria, mundialmente, de forma mais visível nos últimos 30-40 anos, através dos avanços no aperfeiçoamento dos alimentos artificiais, principalmente quanto à sua estabilidade na água, à composição nutricional e ao melhoramento das técnicas de arejamento artificial (Landau, 1992).

Atualmente, esta cultura desempenha um papel importantíssimo no abastecimento global de peixe, graças aos progressos alcançados nas tecnologias de criação e transformação. De acordo com estimativas da FAO, 46% do peixe para consumo é proveniente da aquacultura (FAO, 2008).

Dados da FAO (2010) confirmam que a aquacultura tem demonstrado uma rápida expansão nos últimos tempos. No período de 1970-2008, a produção de peixes de aquacultura para consumo humano aumentou a uma taxa média de 8,3%, enquanto que a população mundial cresceu em média 1,6% (FAO, 2010). Na China, o maior produtor de peixes em aquacultura no mundo, 80,2% do peixe consumido em 2008 é de origem aquícola (FAO, 2010). Na Europa, o crescimento médio anual da produção tem abrandado substancialmente (Figura 1), desde a década de 1990 (FAO, 2010).

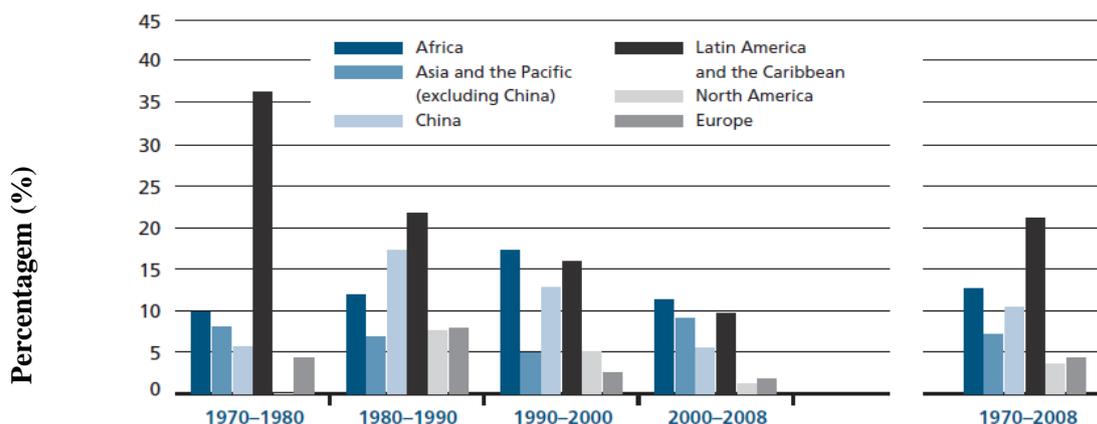


Figura 1: Produção mundial de aquacultura: crescimento anual, por região, desde 1970 (Adaptado de FAO, 2010).

Uma vez que a produção aquícola na Europa se manteve mais ou menos constante no virar do século, não conseguiu acompanhar a expansão mundial do setor. No entanto, a Europa é líder em tecnologia e investigação, apresenta uma base empreendedora forte, tem um nível de formação elevado e um clima bastante favorável à produção de peixes com elevado valor comercial (EU, 2012). Segundo a Comissão Europeia, a produção aquícola na UE, em 2009, foi de 1,3 milhões de toneladas, representando 20,4% do volume total de produção de peixe na UE (Figura 2) (CE, 2012).

	Produção aquícola (toneladas)	Valor (milhares de euros)
BE	576	4 035
BG	7912	19 513
CZ	20 071	39 267
DK	34 131	88 240
DE	39 957	94 240
EE	654	2 235
IE	47 212	104 271
EL	121 971	397 791
ES	268 565	396 739
FR	236 438	697 965
IT	162 325	474 863
CY	3 356	16 464
LV	517	1 115
LT	3 428	6 655
HU	14 171	26 495
MT	5 619	47 057
NL	55 561	84 109
AT	2 141	13 879
PL	36 503	76 373
PT	6 727	34 064
RO	13 131	16 990
SI	1 308	3 069
SK	823	1 766
FI	13 627	39 582
SE	8 540	18 436
UK	196 603	540 741

Figura 2. Produção aquícola total por estado membro no ano 2009 (Adaptado de European Commission, 2012)

É expectável que o crescimento verificado no sector aquícola nos últimos anos, a nível mundial, que se mantenha no futuro, devido à escassez de recursos selvagens e à produção competitiva de muitas espécies com elevado valor comercial. Com a população mundial em fase de crescimento, a produção aquícola deve aumentar de forma a garantir o acesso à proteína animal a um custo razoável. Por outro lado, o consumidor também exerce pressão ao procurar pescado em substituição da carne, por considerar que é um alimento mais equilibrado (Damsgard, 2008a).

No sentido de aumentar a competitividade do sector aquícola, a UE tem vindo a promover o desenvolvimento da investigação e da tecnologia neste contexto (CE, 2009). As prioridades da UE são: o aumento da produção e desenvolvimento dos mercados, a garantia de um elevado nível de qualidade e segurança dos produtos, a promoção do bem-estar animal e das práticas responsáveis de produção. A implementação destas medidas pressupõe novas atitudes por parte dos profissionais desta atividade. Devem utilizar novas técnicas de manejo, dietas e estratégias alimentares mais eficazes, diminuir os desperdícios para o meio ambiente, bem como reduzir o *stress* aquando da captura e do abate dos animais.

Relativamente à estratégia de desenvolvimento do mercado, esta insere-se na diversificação da oferta, através de novas espécies, cuja produção possa ser alternativa ou complementar a aquacultura já estabelecida, de forma a aumentar a competitividade e rentabilidade da atividade aquícola. Neste contexto, o desenvolvimento da produção de corvina, sargo, bacalhau, atum e linguado Senegalês à escala comercial tem uma grande importância, pelo seu elevado valor económico.

Portugal tem uma grande tradição de consumo de pescado, sendo a produção nacional (pesca e aquacultura) insuficiente para satisfazer os elevados níveis de consumo (DGRM, 2012). Saliente-se que a referida produção nacional do pescado permitiria satisfazer níveis de consumo *per capita* da ordem de 23kg/ano, os quais, sendo idênticos à média comunitária, se manifestam insuficientes para valores de 57 kg/ano de consumo nacional. Assim, Portugal coloca-se em terceiro lugar a nível mundial, depois do Japão e da Islândia, no consumo de pescado (FAO, 2010).

Até 1980, a prática da aquacultura em Portugal resumia-se ao cultivo de trutas e bivalves. No entanto, em meados dos anos 80, a produção de espécies em aquacultura marinha sofreu grandes avanços.

Em 2010, a produção em aquicultura foi cerca de 8 mil toneladas, correspondendo a 46 mil euros, o que representa um ligeiro aumento em quantidade e um acentuado valor relativamente à atividade em 2009 (Figura 3) (INE,2011).

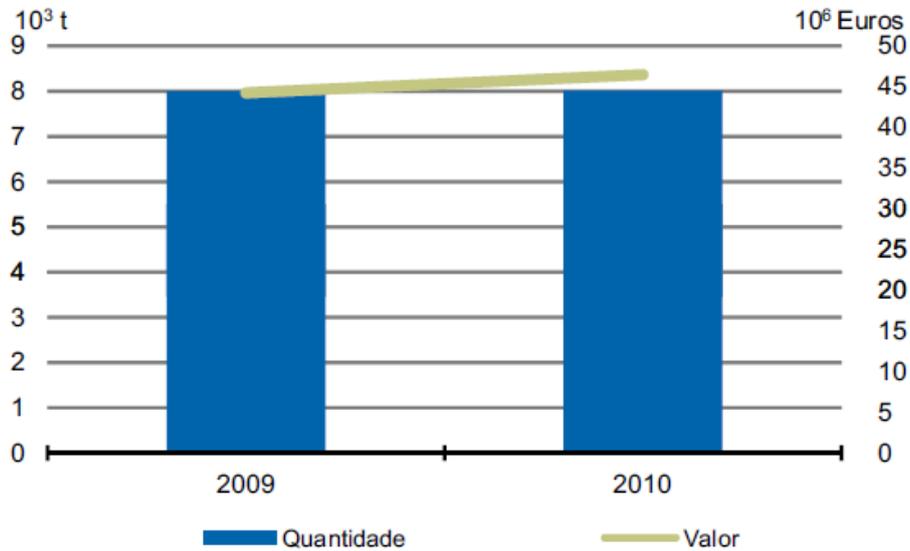


Figura 3. Produção aquícola em Portugal nos anos 2009 e 2010 (INE, 2011).

As principais espécies produzidas em Portugal, em aquicultura são: truta arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), truta comum (*Salmo trutta*), amêijoia boa (*Ruditapes decussatus*), amêijoia macha (*Venerupis pullastra*), berbigão (*Cerastoderma edule*), choco (*Sépiea officinalis*), dourada (*Sparus aurata*), enguia (*Anguilla anguilla*), linguado (*Solea spp*), longueirão curvo (*Pharus legumen*), longueirão direito (*Ensis spp*), mexilhão (*Mytilus spp*), ostra portuguesa (*Crassostrea spp*), ostra (*Ostrea spp*), pregado (*Psetta maxima*), robalo (*Disentrachus labrax*), sargo (*Diplodus sargus*) e tainha (*Mugil spp*) (DGRM, 2012).

Nos países do sul da Europa, a aquicultura marinha está concentrada na produção de dourada e de robalo. Porém, devido à elevada produção destas espécies, o mercado começa a ficar saturado (Dinis *et al.*, 1998). Uma das estratégias de aumentar as oportunidades de mercado passa pela investigação de novas espécies com potencial para aquicultura (Dinis *et al.*, 1999).

A espécie *Solea senegalensis* trata-se de um peixe plano comum no Mediterrâneo e no Atlântico, que possui elevado valor comercial. Trata-se de uma espécie promissora para a aquicultura na Europa e é uma espécie candidata para o cultivo intensivo na região do Mediterrâneo. Este peixe é, vulgarmente, cultivado em

regime extensivo e semi-extensivo em Portugal e Espanha (Dias *et al.*, 1999; Dinis *et al.*, 2004).

O conhecimento científico e técnico do cultivo do linguado senegalês tem evoluído lentamente, devido a entraves no desenvolvimento larvar, no desmame e no crescimento desta espécie (Dinis *et al.*, 1996). Nos últimos anos, têm sido desenvolvidos diferentes projetos nacionais e europeus destinados a ultrapassar todas estas limitações; no entanto, a maior parte destes problemas é solucionada em laboratórios, ficando por resolver muitas questões relativas à produção comercial (Tejada *et al.*, 2007).

2-Requisitos nutricionais do linguado senegalês

O linguado senegalês distribui-se desde o Senegal até ao Golfo da Biscaia (Quéro *et al.*, 1989). Os linguados adultos vivem em águas marinhas a 100 metros de profundidade (Dinis, 1986). É um peixe gonocórico, ovíparo, sendo os ovos fertilizados externamente. Esta espécie alimenta-se, basicamente, de invertebrados bentónicos, larvas de quiromídeos e pequenos crustáceos (Whitehead *et al.*, 1984). Dado o seu estômago ser pouco desenvolvido necessita de se alimentar frequentemente. Atingem a maturidade aos 3 anos de idade e com um comprimento de 32 cm (Dinis, 1986). A desova acontece, normalmente, entre os meses de março e junho (Imsland *et al.*, 2003).

Nos últimos anos, as pesquisas relativas a esta espécie têm-se debruçando sobre a otimização das técnicas de desmame e sobre a alimentação, consideradas essenciais para o desenvolvimento da espécie à escala comercial (Howell, 1997; Dinis *et al.*, 1999; Imsland *et al.*, 2003; Morais *et al.*, 2006). A maior parte das espécies marinhas tende a usar, preferencialmente, as proteínas como fonte de energia e intermediário anabólico para o crescimento (Cowey, 1989). No entanto, dado o elevado custo deste ingrediente, a sua incorporação alimentar para a maior parte das espécies cultivadas em aquacultura tem vindo a diminuir. O conhecimento dos requisitos mínimos de proteínas, ou de uma mistura equilibrada de aminoácidos, é uma das principais preocupações em aquacultura porque é necessário satisfazer estes requisitos de modo a assegurar o crescimento e a saúde do peixe. Por outro lado, o fornecimento de níveis excessivos é geralmente pouco económico, já que as proteínas

são o componente mais caro de uma dieta (Gatlin III, 2002).

De um modo geral, a dieta para peixes planos é mais rica em proteína bruta do que a de outro tipo de peixes (Rema *et al.*, 2007). Os requisitos de proteína bruta para o crescimento do rodovalho, linguado, solha e alabote do Atlântico variam entre 50% e 60% da dieta (Guillaume *et al.*, 1991; Berge & Storbakken, 1991; Aksnes *et al.*, 1996; Helland & Grisdale-Helland, 1998). De acordo com o estudo realizado por Rema *et al.* (2007), as dietas para linguados juvenis do Senegal devem incluir pelo menos 53% de proteína bruta para manter uma boa performance de crescimento. A necessidade diária de proteína bruta para um ganho máximo de azoto total para o linguado é de 6.43g/kg peso corporal/dia, o que corresponde a um valor de 1.03g azoto ingerido/kg peso corporal/dia (Rema *et al.*, 2007).

Os lípidos são compostos altamente energéticos, capazes de suprir as necessidades energéticas do peixe, permitindo assim que o máximo de proteínas da dieta seja depositada no músculo, contribuindo para o crescimento dos peixes (Sargent, 2002). Atualmente, a pressão comercial para aumentar a velocidade de crescimento e reduzir os custos de produção dos peixes é a principal impulsionadora da formulação de dietas ricas em energia (Sargent, 2002). Porém, o metabolismo básico de cada peixe limita a quantidade de lípidos que podem ser metabolizados como alternativa às proteínas. O linguado senegalês, segundo o estudo de Dias *et al.* (2004), tem tendência para melhorar a performance geral de crescimento, quando os níveis lipídicos são baixos. Resultados similares podem-se encontrar no trabalho de Borges *et al.* (2009), onde se evidencia a baixa tolerância do teor lipídico em dietas para linguados juvenis, sugerindo-se um nível ideal de lípidos inferior (8% de lípidos). Para além de fornecerem energia, os lípidos da dieta são também importantes como fonte de ácidos gordos essenciais, necessários para a síntese de novos lípidos celulares, para o crescimento e para a reprodução. Assim, os requisitos lipídicos podem ser divididos em três categorias: o requisito bruto lipídico em termos de provisão energética e os requisitos qualitativos e quantitativos de ácidos gordos essenciais (Sargent, 2002).

3-Nutrição proteica

Uma vez que a maior parte da energia usada pelos peixes provém das proteínas, essencialmente para o crescimento (Stickney, 1994), os peixes necessitam de alto conteúdo proteico na dieta, cerca de 35-60% (Halver *et al.*, 1979; NRC, 1993). As necessidades proteicas dependem da espécie do peixe, da idade, do estado fisiológico, das condições ambientais, da quantidade e qualidade do nutriente, da proporção relativa a outros nutrientes e de processos tecnológicos a que o alimento tenha sido submetido (Morales, 1986).

As proteínas integram grande parte da estrutura corporal, constituindo cerca de 60% do peso corporal de um peixe. São também importantes na formação de enzimas e hormonas, catalisando reações bioquímicas necessárias para a vida do animal. Nos peixes, embora as proteínas sejam preferencialmente metabolizadas a fim de produzir energia, o objetivo principal da nutrição em aquacultura é canalizar o máximo de energia proteica para o crescimento, deixando os lípidos e os hidratos de carbono fornecer a energia necessária para o metabolismo (Stickney, 1994).

Como as proteínas encarecem o custo da alimentação, foram feitos testes com diferentes níveis proteicos de modo a determinar a quantidade mínima necessária para se obter o máximo crescimento dos animais (Morales, 1986). Em linguados juvenis, a exigência proteica é de mais de 53% de proteína bruta numa dieta, não podendo ultrapassar os 60% de proteína bruta (Rema *et al.*, 2008). Devido ao seu valor nutritivo, a farinha de peixe continua a ser a fonte proteica mais importante, compreendendo 20% a 60% de uma dieta para peixes (Tacon, 1995). A farinha de peixe é a fonte principal de proteína numa dieta para os peixes, pois tem um elevado teor em proteína com um perfil excelente de aminoácidos, uma boa digestibilidade dos nutrientes, uma alta palatabilidade e uma grande quantidade de micronutrientes (Glatlin *et al.*, 2007; Kaushilk & Seiluz, 2010; Krogdahl *et al.*, 2010). A composição média da farinha de peixe (em percentagem de matéria seca), segundo dados da FAO, é de 90,9 a 92,9% de matéria seca, 56,2 a 58,1% de proteína, 7,1 a 9,1% de lípidos. Dependendo da espécie do peixe, a farinha de peixe difere no conteúdo em proteínas e lípidos, no perfil de aminoácidos, na composição mineral, bem como na digestibilidade dos nutrientes e da energia. No entanto, o abastecimento de farinha de peixe não é capaz de atender à crescente procura devido à expansão da aquacultura. Além disso, os preços são bastante elevados (Figura 4) (FAO, 2010).

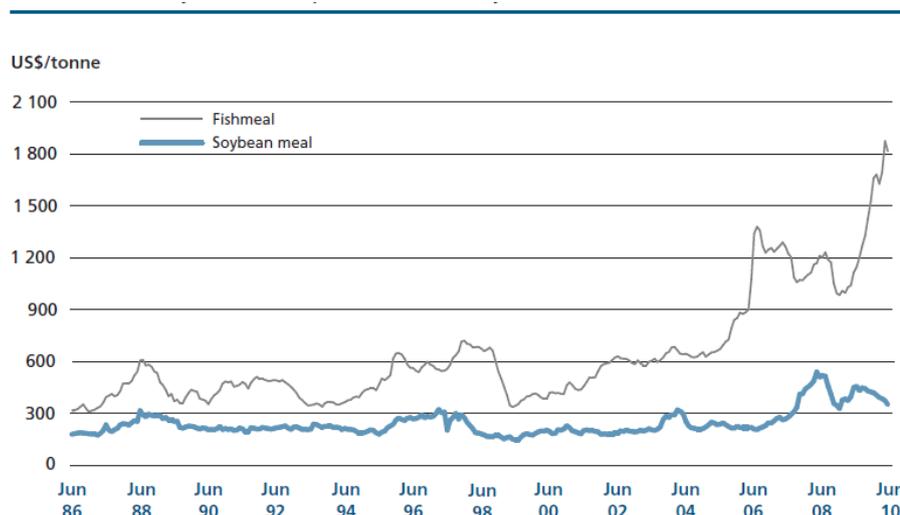


Figura 4. A evolução de preços da farinha de peixe e da farinha de soja, praticados na Alemanha e na Holanda desde 1986 até 2010 (FAO,2010).

As questões de sustentabilidade económica e ecológica criaram uma pressão significativa na redução dos níveis de farinha de peixe na alimentação dos peixes, tornando-se necessário encontrar ingredientes proteicos alternativos, como fontes proteicas vegetais. Este ainda é um desafio para o sector devido à informação insuficiente sobre a biodisponibilidade de nutrientes essenciais à formulação de dietas alternativas para as principais espécies produzidas em aquacultura (Hardy, 2010). No entanto, grandes esforços de pesquisa têm sido dedicados à avaliação de ingredientes vegetais como fonte alternativa de proteína. Atualmente, a substituição de farinha de peixe por uma mistura de fontes vegetais como fonte proteica na ração é uma grande tendência em aquacultura (Gatlin *et al.*, 2007; Tacon & Metian, 2008; Hardy, 2010). No entanto, a resposta por parte dos peixes às fontes proteicas alternativas é um assunto bastante complexo. Os ingredientes vegetais têm um perfil de aminoácidos desequilibrado, além de conterem uma elevada proporção de fibras e fatores anti nutricionais, que podem gerar efeitos adversos no valor nutritivo e na palatabilidade da dieta (Kaushik, 1989). Segundo Espe *et al.* (2006), a substituição elevada ou total de farinha de peixe requer uma mistura equilibrada de fontes vegetais diferentes e um nível de aminoácidos adequado, de modo a cumprir os requisitos de uma dada espécie. A combinação de diferentes fontes proteicas vegetais numa dieta pode ajudar a equilibrar o perfil de aminoácidos, mas deve ser associada à inclusão de ingredientes que aumentem a palatabilidade, como por exemplo, a farinha de lulas ou

proteínas hidrolisadas da farinha de peixe (CPSP). Esta inclusão foi eficaz em estudos anteriores com linguados (Silva *et al.*, 2010; Cabral *et al.*, 2011; Valente *et al.*, 2011), onde se testaram níveis de incorporação proteicas vegetais bastante elevadas (até 75%).

O desenvolvimento de dietas proteicas vegetais de substituição visa a redução de emissões de fósforo e azoto para o meio ambiente. Isto pode ser alcançado melhorando a disponibilidade de nutrientes e a otimização da proteína digestível para o equilíbrio energético da dieta (Watanabe, 2002). O impacto ambiental de uma piscicultura está intimamente associado ao desperdício de alimentação excessiva e à utilização de nutrientes adequados na dieta. A farinha de peixe, a fonte proteica mais utilizada na dieta de um peixe, contém níveis elevados de fósforo, e este mineral é um dos mais poluentes para o meio ambiente. As dietas com alimentos proteicos vegetais contêm menos fósforo do que a farinha de peixe (NRC, 1993), tendo Yang *et al.* (2010) e Cabral *et al.* (2011) demonstrado que a redução de farinha de peixe na dieta reduzia a excreção de fósforo.

Um ingrediente vegetal para constituir uma alternativa viável à farinha de peixe deve possuir certas características: preço competitivo, produção em grande escala, facilidade de manuseio, transporte e armazenamento. Devem ainda possuir características nutricionais adequadas, nomeadamente um elevado valor teórico proteico, um perfil de aminoácidos favorável, uma boa palatabilidade, uma elevada digestibilidade dos nutrientes e níveis reduzidos de fibra, de amido e de fatores anti nutricionais (Gatlin *et al.*, 2007). Alguns ingredientes de origem vegetal, tais como o concentrado de soja ou o glúten de trigo, possuem a maior parte destas características. O linguado senegalês parece aceitar ingredientes vegetais, uma vez que se registaram coeficientes de digestibilidade aparente, elevados para ingredientes como a farinha de soja, o glúten de milho e a farinha de trigo (Dias *et al.*, 2010).

Todas as dietas devem ser formuladas de modo a incluírem os aminoácidos essenciais e não essenciais, a cada espécie, nas devidas percentagens de proteína total (Stickney, 1994). Segundo Cho *et al.* (1992), há diferenças distintas entre alguns aminoácidos essenciais em espécies da mesma família, por exemplo: a quantidade de arginina necessária para a truta arco-íris é menor do que a necessária para o salmão. A maior preocupação dos nutricionistas ao escolher os ingredientes a incluir numa dieta centra-se, assim, no balanço equilibrado em aminoácidos a fornecer a cada espécie de peixes (Lovell, 1989; Stickney, 1994). Como as fontes proteicas diferem consideravelmente na sua composição em aminoácidos, a substituição de farinha de peixe parcial por fontes proteicas vegetais pode levar a uma deficiência nas quantidades de aminoácidos essenciais. Este desequilíbrio nutricional pode retardar o crescimento dos peixes devido a diferenças na digestibilidade, no balanço de aminoácidos, na presença de nutrientes não proteicos na dieta, na relação energia/proteína, na taxa de alimentação, entre outros (Stickney, 1994). Em comparação com as proteínas de origem animal, a maioria de proteínas de plantas são deficientes nos aminoácidos lisina e metionina. Mas, certas proteínas vegetais contêm toxinas e outros fatores anti nutricionais que podem ou não ser inativadas durante o processo de fabrico da dieta (Francis *et al.*, 2001; Kaushick & Hemre, 2008). A diminuição da ingestão é um dos fatores de maior importância e de maior impacto nos trabalhos que envolvem substituição de fontes proteicas, embora os resultados variem muito entre espécies.

A substituição da farinha de peixe por fontes de proteínas vegetais tem sido bem-sucedida num grande número de espécies onde se testaram níveis entre os 50 e os 95%, sem comprometer o crescimento, a ingestão de alimentos e a acreção de proteína (Refstie *et al.*, 1998; Burel *et al.*, 2000a; Kaushik *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2009). Esta substituição parcial da farinha de peixe por farinha de origem vegetal foi realizada em peixes marinhos carnívoros como o rodovalho (*Psetta maxima*), o linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*), o salmão do Atlântico (*Salmo salar*) e o bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) (Regost *et al.*, 1999; Kikuchi, 1999; Espe *et al.*, 2007, 2008; Hansen *et al.*, 2007).

A redução do crescimento associada a dietas com fontes vegetais foi observada em várias espécies como a truta arco-íris (Gomes *et al.*, 1995; Kaushik *et al.*, 1995; Storebakken *et al.*, 1998), o salmão do Atlântico (Carter & Hauler, 2000; Refstie *et al.*, 2000; Opstvedt *et al.*, 2003), o rodovalho (Regost *et al.*, 1999; Fournier *et al.*, 2004), a dourada (Gomez-Requeni *et al.*, 2004) e o linguado japonês (Kikuchi, 1999). Contudo, o nível de substituição é importante nos resultados, tendo sido

referido que uma substituição de 45% de farinha de peixe por concentrado de soja numa dieta de alabote não provocou qualquer efeito adverso sobre o crescimento ou a utilização de nutrientes (Berge *et al.*, 1999). No entanto, no caso do rodovalho houve uma diminuição do ganho de proteína e um aumento do ganho lipídico, quando 80% da farinha de peixe foi substituída por uma dieta equilibrada de fontes proteicas e com um perfil de aminoácidos adequado (Fournier *et al.*, 2004).

A substituição de farinha de peixe por ingredientes vegetais gera alguma preocupação com o aumento da taxa de conversão alimentar e a utilização reduzida de proteína (Robaina *et al.*, 1995; Refstire *et al.*, 1998; Refstie *et al.*, 2000; Opstvedt *et al.*, 2003). Alguns destes efeitos prejudiciais podem estar na origem da má utilização das proteínas vegetais, de um perfil de aminoácidos desequilibrado e/ou da presença de fatores anti nutricionais (Francis *et al.*, 2001). Para superar os obstáculos, como a presença dos fatores anti nutricionais em vários ingredientes, várias tecnologias modernas de processamento têm sido empregadas (Oliva-Teles *et al.*, 1994; Francis *et al.*, 2001).

A capacidade do linguado senegalês em lidar com dietas em que a proteína animal foi substituída por fontes de proteínas de origem vegetal foi recentemente demonstrada (Cabral *et al.*, 2011; Valente *et al.*, 2011). Também é de realçar que em linguados juvenis, o crescimento é igualmente bem concebido com dietas de substituição, desde que os aminoácidos sejam equilibrados (Silva *et al.*, 2009, 2010; Cabral *et al.*, 2011). Também em linguados em fase de engorda, Valente *et al.* (2011) demonstraram o mesmo comportamento perante uma elevada substituição da farinha de peixe por uma mistura de fontes proteicas vegetais (15 % de proteína marinha na dieta).

II- Trabalho experimental

1-Introdução

A aquacultura é o sector de produção animal que mais tem crescido nos últimos anos. Este desenvolvimento da atividade veio estimular a procura e o consumo de várias espécies de grande valor económico, principalmente na Europa do Sul. Uma das espécies com elevado valor comercial é o linguado senegalês. É uma espécie muito apreciada, sendo atualmente uma espécie promissora para o desenvolvimento aquícola no Mediterrâneo. Recentemente, os investigadores têm feito um grande esforço para desenvolver dietas específicas para esta espécie durante os estágios juvenis (Rema *et al.*, 2008; Borges *et al.*, 2009; Rubio *et al.*, 2009). De acordo com Rema *et al.* (2008), as dietas dos linguados juvenis devem conter, pelo menos, 53% de proteína bruta, enquanto que Borges *et al.* (2009) sugeriram uma inclusão máxima de 8% de lípidos.

Dado o elevado requisito proteico do linguado, a sua produção intensiva deve considerar a inclusão de ingredientes vegetais, a fim de reduzir a dependência de fontes marinhas, isto é, de farinha de peixe. Estudos recentes demonstram que a farinha de peixe poderia ser totalmente substituída por uma mistura de fontes proteicas vegetais, se devidamente suplementada com aminoácidos essenciais (Silva *et al.*, 2009, 2010).

As formulações alimentares na aquicultura tendem a diminuir o teor proteico e a aumentar o teor lipídico, efeito de “poupança de proteína”, de modo a aumentar o crescimento (Sargent *et al.*, 2002), reduzindo as emissões de matéria orgânica para a água. No entanto, para o linguado senegalês foram testados níveis lipídicos de 4 a 20%, não se obtendo resultados positivos no crescimento. Borges *et al.* (2009) relatam que para um baixo nível lipídico (8%) os linguados senegaleses juvenis obtêm um crescimento ideal e uma boa utilização dos alimentos, com um nível de proteína de 57%.

Vários trabalhos recentes testaram dietas com níveis elevados de incorporação de fontes proteicas vegetais, quer em juvenis (Silva *et al.*, 2009; Cabral *et al.*, 2001), quer em peixes de tamanho comercial (Valente *et al.*, 2011). No entanto, todos estes estudos foram de curta duração e recorreram a dietas com formulação não comercial, como controlo. Cabral *et al.* (2011), recorrendo a uma mistura prática de ingredientes vegetais, conseguiram substituir até 75% das fontes proteicas de origem marinha por fontes vegetais num estudo de 92 dias, sem efeitos adversos no crescimento.

Neste contexto, o objetivo deste estudo é comparar uma dieta vegetal com uma dieta comercial para linguado disponível no mercado (dieta controlo). No entanto, dado o elevado nível lipídico da dieta comercial (19%), optou-se por testar duas dietas com fontes proteicas vegetais (PV), variando o seu nível energético: 23 kJ/g alta energia (AE) e 21 kJ/g baixa energia (BE). Estas três dietas foram testadas num estudo de longa duração em distintas fases de crescimento: pré-engorda (10-60g de peso vivo) e engorda (60-210g de peso vivo).

2-Material e Métodos

2.1. Dietas experimentais

Uma dieta comercial para linguado (60% proteína, 19% lípidos) foi comparada com duas dietas isoproteicas, com 78 % de substituição dos ingredientes marinhos por ingredientes vegetais, mas com dois níveis de lípidos: 7-9% (PV-BE) e 17-19% (PV-AE). As fontes proteicas vegetais das dietas PV-BE e PV-AE compreenderam uma mistura de ingredientes que incluía ervilha, farinha de soja e de trigo e concentrado de batata em quantidades variáveis de forma a obter dietas com níveis proteicos e perfis de aminoácidos semelhantes ao controlo. As dietas experimentais (PV-BE e PV-AE) foram suplementadas com 0,4% de metionina e 0,6% de lisina para que os níveis de aminoácidos ficassem semelhantes aos da dieta controlo.

Os ingredientes utilizados nas dietas e a sua composição proximal estão apresentados na Tabela 1. As dietas foram extrudidas pela Sparos, s.a., usando-se uma granulometria de 3 e 5 mm, de acordo com o tamanho dos peixes.

Tabela 1 - Ingredientes e composição proximal das dietas usadas.

	Dietas experimentais		
	Controlo	PV-AE	PV-BE
Ingredientes da ração (%)			
Farinha de peixe 70 LT ¹	*	5	5
Farinha 65	*	0	0
CPSP 90 ²	*	5	5
Farinha de lula	*	5	5
Farinha de soja	*	12,5	14,9
Soja PC ³	*	7	7
Ervilha	*	15,2	14
Glúten Trigo	*	5	5
Farinha de trigo	*	9,5	19,1
Concentrado de Batata	*	8,3	6,5
Glúten de Milho	*	8,5	8,5
Óleo de peixe	*	14	5
Vit ³ & Min ⁴ Premix	*	1	1
MCP ⁵	*	3	3
Lisina	*	0,6	0,6
Metionina	*	0,4	0,4
Composição Proximal (pré-engorda)			
Matéria Seca (%)	94,3	93,4	93,0
Proteína Bruta (% MS)	61,6	56,0	56,0
Gordura Bruta (%MS)	19,0	18,3	7,0
Energia Bruta (kJ/g)	23,2	23,4	21,5
Composição Proximal (engorda)			
Matéria Seca (%)	94,3	94	93,6
Proteína Bruta (% MS)	59,4	55,3	55,7
Gordura Bruta (%MS)	19,3	16,9	8,7
Energia Bruta (kJ/g)	22,4	23	21,1

¹LT- baixa temperatura.

²Concentrado proteico solúvel de peixe, com cerca de 90% de proteína.

³Pc-Concentrado proteico de soja.

⁴- Vitaminas (mg 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.

⁵- Minerais (mg ou % /kg dieta): Mn (óxido de magnésio),33mg; I (iodeto de potássio), 2.48 mg; Cu (sulfato cúprico), 8.3mg; Co (sulfato de cobalto), 0.17mg; Zn (óxido de zinco), 49.5 mg ; Se (selenito de sódio),0.41mg; e Fe (sulfato de ferro), 0.99mg.

⁶- Mano-fosfato de cálcio.

*Informação não disponível: a dieta é comercial: Sketting, Gemma Diamond.

2.2. Ensaio de crescimento

2.2.1. Ensaio pré-engorda

A experiência foi conduzida num circuito fechado nas instalações do IGafa, Espanha. Utilizaram-se juvenis de linguado (*Solea senegalensis*), com um peso médio de $10,8 \pm 0,43$ g e com um comprimento médio de $9,6 \pm 0,20$ cm, que foram distribuídos em 9 grupos de 80 peixes (3 grupos por tratamento). Cada grupo foi distribuído por tanques com 1m^2 e uma coluna de água de 20cm (Figura 5). O sistema era abastecido com água salgada (30‰), filtrada e aquecida a $19 \pm 1^\circ\text{C}$, com uma taxa de renovação de 2L por minuto. A distribuição de alimento a cada tanque era efetuada com alimentadores automáticos que distribuíram 4 refeições por dia. Esta experiência teve uma duração de 135 dias.



Figura 5. Tanques de crescimento com alimentadores automáticos.

2.2.2. Ensaio de engorda

Esta experiência, à semelhança do ensaio em juvenis, foi conduzida num circuito fechado nas instalações do IGAFSA. Foram utilizados grupos de linguados de 30 peixes, com peso médio de $64,1 \pm 1,54$ g, em triplicado. Estes peixes foram alimentados com dietas comerciais até ao início do ensaio. Cada grupo foi distribuído por 9 tanques com 1m^2 , com alimentadores automáticos, com água filtrada e aquecida a $19 \pm 1^\circ\text{C}$, com uma salinidade de 30‰ e com uma taxa de fluxo de 2L por minuto. Esta experiência decorreu durante 155 dias.

2.3. Amostragens

Durante ambas as experiências, foram realizadas amostragens mensais (Figura 6), de modo a avaliar o ganho de peso, ajustar a distribuição da dieta por tanque e calcular o respetivo índice de conversão alimentar (FCR).

Para ambas as experiências, após um período de jejum de 24 horas, foram recolhidos 12 peixes inteiros do lote inicial e 4 peixes de cada um dos tanques no final dos ensaios para a análise da composição corporal. Os peixes foram mortos de uma forma rápida, com uma pancada seca na cabeça, tendo sido congelados até análises posteriores.



Figura 6. Medição do comprimento do linguado.

2.4. Análise química

Após a realização dos dois ensaios de crescimento analisou-se a composição corporal dos peixes. As amostras recolhidas de cada tanque foram trituradas numa picadora, de modo a obter uma amostra homogénea de todos os peixes recolhidos. Determinou-se imediatamente o seu teor em humidade, numa estufa a 105°C durante 24 horas, em triplicado, na amostra ainda em fresco. Seguidamente, procedeu-se à liofilização das amostras, durante 3 dias, para a realização das análises. Posteriormente, para cada amostra, em duplicado, determinou-se o valor calórico, a proteína e a gordura bruta. Estas análises foram efetuadas segundo a metodologia analítica de referência (AOAC, 2006):

- a matéria seca, após a secagem em estufa a 105°C, num período de 24h;
- a cinza, através da combustão da amostra numa mufla (Nabertherm L9/11/B170, Bremen, Alemanha) a 550°C, num período de 6h;
- a energia bruta utilizando uma bomba calorimétrica adiabática (Werke C2000, IKA, Staufen, Alemanha);
- a gordura bruta através da extração com éter de petróleo (Soxtherm Multistat / SX PC, Gerhardt, Königswinter, Alemanha; 40 a 60°C);
- a proteína bruta (N x 6.25), obtida a partir da determinação do teor de azoto por combustão total num analisador Leco (Model FP-528, Leco Corporation, St. Joseph, USA).

2.5. Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados foi executado recorrendo aos métodos descritos por Zar (1999). Os dados foram submetidos a uma análise de homogeneidade de variância (Leven) e a um teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov). No caso de cumprimento dos pressupostos da ANOVA, os dados foram submetidos a uma ANOVA a um fator (tratamento), usando o software SPSS (versão 18). Quando os pressupostos da ANOVA não foram atendidos, foi efetuado um teste não paramétrico de Kolmogorov-Smirnov. Sempre que estes testes mostravam significância ($p \leq 0.05$), as médias foram comparadas, usando o teste de Tukey.

3- Resultados

3.1. Ensaio de pré-engorda

No final da experiência, todos os peixes quintuplicaram de peso, tendo-se registado diferenças significativas no peso final dos linguados juvenis entre os tratamentos controlo (59,9±7,69g) e PV-AE (46,9±0,08g). A mesma tendência foi observada para o índice de crescimento diário (DGI). O índice de conversão alimentar (FCR) apresentou diferenças significativas entre os tratamentos controlo (1,0±0,04) e PV-AE (1,2±0,03). A eficiência proteica (PER) não variou de forma significativa entre os tratamentos (Tabela 2.)

	Tratamentos					
	Controlo		PV-AE		PV-BE	
Crescimento						
<i>Peso inicial (g)</i>	10,8	± 0,85	10,8	± 0,08	10,8	± 0,36
<i>Peso final (g)</i>	60,0	± 7,69	a 47,0	± 0,08	b 53,7	± 1,10 ab
<i>Índice de crescimento diário (DGI)¹</i>	1,3	± 0,10	a 1,1	± 0,03	b 1,2	± 0,00 ab
<i>Índice de conversão alimentar (FCR)²</i>	1,0	± 0,04	b 1,2	± 0,03	a 1,1	± 0,06 ab
<i>Eficiência proteica (PER)³</i>	1,6	± 0,05	1,5	± 0,03	1,6	± 0,08
Ingestão (g ou Kj/Kg peso médio /dia)						
<i>Matéria Seca</i>	10,9	± 0,70	11,6	± 0,11	11,5	± 0,58
<i>Proteína</i>	6,7	± 0,43	6,5	± 0,06	6,4	± 0,32
<i>Lípidos</i>	2,1	± 0,13	a 2,1	± 0,02	a 0,8	± 0,04 b
<i>Energia (Kj)</i>	253,5	± 16,17	272,1	± 2,59	246,5	± 12,38

Os valores são médias ±desvio padrão.

Diferentes letras em expoente indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p≤0,05).

A ausência de letras em expoente indica a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos (p>0,05) .

¹DGI, Índice de crescimento diário = 100 x ((peso corporal final) 1/3 - (peso corporal inicial) 1/3) / n° dias .

² FCR, Índice de conversão alimentar = alimento seco ingerido /peso ganho.

³PER, Eficiência proteica = peso ganho / ingestão de proteína.

A ingestão de matéria seca, proteína e energia, nos diferentes tratamentos foi semelhante ($p > 0,05$). No entanto, observaram-se diferenças significativas entre os tratamentos controlo ($2,1 \pm 0,13$) e PV-BE ($0,8 \pm 0,04$) para a ingestão de lípidos. As dietas não tiveram qualquer impacto na composição corporal proteica, embora para a energia, os tratamentos controlo e PV-BE indicaram diferenças significativas (Tabela 3.).

Quanto à retenção da matéria seca, os tratamentos PV-BE e PV-AE diferiram significativamente do tratamento controlo. À semelhança da retenção de matéria seca, a retenção energética não variou entre os tratamentos. Relativamente aos lípidos, os tratamentos PV-AE e controlo diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) do tratamento PV-BE, sendo este tratamento aquele que obteve maior retenção ($65,5 \pm 4,00$).

Os ganhos de matéria seca e energéticos apresentam diferenças significativas entre o tratamento controlo e os tratamentos PV-BE e PV-AE. Os ganhos proteicos e lipídicos apresentam resultados semelhantes entre tratamentos, isto é, não houve diferenças significativas.

Tabela 3. Composição corporal (% ou kJ/g de peso fresco), retenção (% do consumo) e ganho (g/kg/dia) nutricional de linguados em fase de pré-engorda, após 130 dias, de alimentação com dietas experimentais (média e desvio padrão para n=3)

	Tratamentos		
	Controlo	PV-AE	PV-BE
Composição Corporal (%PF)			
<i>Peso húmido</i>	72,0 ± 0,66	73,1 ± 1,46	73,9 ± 0,53
<i>Cinzas</i>	1,8 ± 0,06 b	2,5 ± 0,13 a	2,5 ± 0,11 a
<i>Proteína</i>	16,5 ± 0,32	16,7 ± 1,01	17,4 ± 0,32
<i>Lípidos</i>	5,6 ± 0,95	5,0 ± 0,22	5,0 ± 0,19
<i>Energia (kJ/g)</i>	7,0 ± 0,15 a	6,5 ± 0,37 ab	6,1 ± 0,15 b
Retenção (%ingerido)			
<i>Matéria Seca</i>	28,2 ± 1,40 a	22,9 ± 1,48 b	23,7 ± 1,66 b
<i>Proteína</i>	26,7 ± 1,92	25,1 ± 1,85	28,6 ± 2,12
<i>Lípidos</i>	30,3 ± 6,85 b	23,1 ± 1,66 b	65,5 ± 4,00 a
<i>Energia (kJ)</i>	31,0 ± 1,68 a	24,0 ± 1,66 b	25,9 ± 1,88 b
Ganho (g ou kJ/Kg peso médio /dia)			
<i>Matéria Seca</i>	3,1 ± 0,07 a	2,7 ± 0,18 b	2,7 ± 0,06 b
<i>Proteína</i>	1,8 ± 0,10	1,6 ± 0,13	1,8 ± 0,04
<i>Lípidos</i>	0,6 ± 0,12	0,5 ± 0,03	0,5 ± 0,03
<i>Energia (kJ)</i>	78,4 ± 0,86 a	65,3 ± 4,70 b	63,6 ± 1,69 b

Os valores da composição corporal inicial dos peixes são: Peso húmido 75,59%; Cinza 2,43%; Proteína 15,35%; Lípidos 4,56% e Energia 5,55kJ/g.

3.2. Ensaio de engorda

No final deste ensaio, os peixes passaram de 60g para 150-210g. A performance do crescimento variou significativamente entre os tratamentos. O tratamento controlo obteve um maior peso final (209,5±21,72g) do que o tratamento PV-AE (150,3±1.37g), tendo-se refletido no índice de crescimento diário. Relativamente ao FCR, o tratamento PV-AE (2,1±0,28) foi o menos eficaz e diferiu significativamente dos tratamentos controlo (1,5±0,08) e PV-BE (1,6±0,06). A PER dos tratamentos controlo e PV-BE (1,13) foi significativamente superior à do tratamento PV-AE (0,88) (Tabela 4.).

Tabela 4. O crescimento e ingestão de alimento de linguados na fase da engorda, após 151 dias de alimentação com dietas experimentais (média e desvio-padrão para n=3).

	Tratamentos											
	Controlo			PV-AE			PV-BE					
Crescimento												
<i>Peso inicial (g)</i>	63,8	±	1,95	64,3	±	1,37	64,3	±	1,30			
<i>Peso final (g)</i>	209,5	±	21,72	a	150,3	±	1,37	b	187,9	±	3,54	ab
<i>Índice de crescimento diária (DGI)¹</i>	1,3	±	0,11	a	0,9	±	0,11	b	1,1	±	0,03	a
<i>Índice de conversão alimentar (FCR)²</i>	1,5	±	0,08	b	2,1	±	0,28	a	1,6	±	0,06	b
<i>Eficiência proteica (PER)³</i>	1,1	±	0,06	a	0,9	±	0,11	b	1,1	±	0,04	a
Ingestão (g ou kJ/Kg peso médio /dia)												
<i>Matéria Seca</i>	10,5	±	0,03		10,9	±	0,41		10,4	±	0,16	
<i>Proteína</i>	6,2	±	0,02	a	6,0	±	0,23	ab	5,8	±	0,09	b
<i>Lípidos</i>	2,0	±	0,01	a	1,8	±	0,07	b	0,9	±	0,01	c
<i>Energia (kJ)</i>	234,5	±	0,59	b	249,4	±	9,40	a	218,7	±	3,45	c

Os valores são medias ±desvio padrão .

Diferentes letras em expoente indicam diferenças significativas entre os tratamentos (p≤0.05).

A ausência de letras em expoente indica a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos (p> 0.05).

¹DGI, Índice de crescimento diário = 100 x ((peso corporal final) 1/3 - (peso corporal inicial) 1/3) / n° dias .

²-FCR, Índice de conversão alimentar = alimento seco ingerido /peso ganho.

³PER, Eficiência proteica = peso ganho / ingestão de proteína.

A ingestão de matéria seca, nos diferentes tratamentos, foi semelhante ($p > 0,05$). No entanto, observaram-se diferenças significativas entre os tratamentos controlo ($6,2 \pm 0,02$) e PV-BE ($5,8 \pm 0,09$) para a ingestão proteica. A ingestão de lípidos e de energia foram significativamente diferentes entre os vários tratamentos: o controlo levou a uma maior ingestão de lípidos, seguida pelo PV-AE e finalmente pelo PV-BE. Já o PV-AE conduziu a uma maior ingestão de energia ($249,4 \pm 9,40$) (Tabela 5.).

A composição corporal de proteína diferiu significativamente entre os tratamentos PV-BE e PV-AE – sendo ambos semelhantes ao controlo. A deposição lipídica foi semelhante nos tratamentos PV-BE e PV-AE, mas significativamente inferior ao tratamento controlo. A composição corporal de energia do controlo foi significativamente superior à do tratamento PV-BE. Quanto à retenção da matéria seca, o tratamento controlo diferiu significativamente do tratamento PV-AE. A retenção de lípidos, nos tratamentos PV-AE e controlo (26 e 37% respetivamente) foi significativamente diferente ($p \leq 0,05$) da do tratamento PV-BE, sendo este tratamento aquele que obteve maior retenção ($51,5 \pm 5,93$). A retenção proteica e energética dos tratamentos controlo e PV-BE diferiram significativamente do tratamento PV-AE.

Os ganhos lipídicos e energéticos apresentaram diferenças significativas entre o tratamento controlo e os tratamentos PV-BE e PV-AE, sendo ambos superiores ao controlo. Os ganhos proteicos dos tratamentos controlo e PV-BE foram significativamente diferentes do tratamento PV-AE. Relativamente aos ganhos de matéria seca, o tratamento controlo apresentou diferenças significativas face ao tratamento PV-AE.

Tabela 5. A composição corporal (% ou kJ/g de peso fresco), retenção (% do consumo) e ganho (g/kg/dia) nutricional de linguados em engorda, após 151 dias de alimentação com dietas experimentais (média e desvio padrão para n=3).

	Tratamentos								
	Controlo		PV-AE		PV-BE				
Composição Corporal (%PF)									
<i>Peso húmido</i>	70,7	± 0,66	71,2	± 0,63	71,6	± 0,66			
<i>Cinzas</i>	1,8	± 0,07	b	2,7	± 0,09	a	2,8	± 0,21	a
<i>Proteína</i>	18,3	± 0,28	ab	17,6	± 0,49	b	18,9	± 0,28	a
<i>Lípidos</i>	9,4	± 0,33	a	8,0	± 0,64	b	7,0	± 0,46	b
<i>Energia (kJ/g)</i>	7,5	± 0,27	a	7,0	± 0,18	ab	6,8	± 0,27	b
Retenção (%ingerido)									
<i>Matéria Seca</i>	20,5	± 0,34	a	14,9	± 2,30	b	18,4	± 0,90	ab
<i>Proteína</i>	21,5	± 0,47	a	16,2	± 2,27	b	22,7	± 0,93	a
<i>Lípidos</i>	36,6	± 0,26	b	26,0	± 5,71	b	51,5	± 5,93	a
<i>Energia (kJ)</i>	24,1	± 0,47	a	15,9	± 2,48	b	21,2	± 1,51	a
Ganho (g ou kJ/Kg peso médio /dia)									
<i>Matéria Seca</i>	2,2	± 0,04	a	1,6	± 0,19	b	1,9	± 0,07	ab
<i>Proteína</i>	1,3	± 0,03	a	1,0	± 0,10	b	1,3	± 0,03	a
<i>Lípidos</i>	0,7	± 0,00	a	0,5	± 0,09	b	0,5	± 0,05	b
<i>Energia (kJ)</i>	56,4	± 1,06	a	39,6	± 4,87	b	46,3	± 2,70	b

Os valores da composição corporal inicial dos peixes são: Peso húmido 73,49%; Cinzas 2,21%; Proteína 16,54%; Lípidos 6,71% e Energia 6,26kJ/g.

4- Discussão

Nos últimos anos, o esforço da investigação tem sido dirigido substancialmente para a substituição da farinha de peixe por fontes alternativas sustentáveis, tais como os ingredientes vegetais. A adequação da substituição em termos de desempenho de crescimento é altamente variável entre espécies de peixes e condições experimentais. O conhecimento disponível mostra que uma mistura equilibrada de diferentes fontes proteicas, de modo a equilibrar o perfil de aminoácidos, minimiza a suplementação de aminoácidos na dieta para peixes (Dias *et al.*, 2009; Kaushilk *et al.*, 2004; Schulz *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2009; Cabral *et al.*, 2011). No caso do linguado, estudos anteriores confirmaram a grande aceitação desta espécie por fontes vegetais (Cabral *et al.*, 2011; Valente *et al.*, 2011).

No final do ensaio de pré-engorda, os linguados dos tratamentos quintuplicaram o seu peso e os valores DGI entre 1,3 e 1,07 foram igualmente observados num estudo anterior semelhante em juvenis (Cabral *et al.*, 2011). No final do ensaio de engorda, os peixes triplicaram o seu peso durante os 155 dias. O tratamento PV-BE não demonstrou uma redução significativa no crescimento relativamente ao tratamento controlo. Estes resultados estão, de modo geral, de acordo com os estudos anteriores de Borges *et al.* (2009) e Valente *et al.* (2011) onde para um nível lipídico de 8 %, com uma percentagem de 57 e 59% de proteína bruta, obtiveram um ótimo crescimento e uma boa utilização da dieta para o linguado senegalês. Os valores de DGI, dos peixes adultos, variaram entre 1,3 e 0,9. Estes valores são superiores aos valores obtidos num estudo em peixes adultos (Valente *et al.*, 2011). Os resultados atuais mostram que a crescente substituição, na dieta, de farinha de peixe por uma mistura de fontes vegetais, leva a um impacto significativo sobre o crescimento dos linguados, quando o nível de lípidos é alto. Os linguados alimentados com PV-BE obtiveram um comportamento similar à performance dos linguados do tratamento controlo, mas os peixes alimentados com PV-AE obtiveram um DGI baixo (0,9). Estes dados sugerem o grande potencial dos ingredientes vegetais para a substituição da farinha de peixe como fonte alimentar para o peixe em estudo (*Solea senegaleses*), desde que as dietas possuam níveis lipídicos adequados e que os aminoácidos sejam equilibrados como se pode observar em Silva *et al.* (2009, 2010). No presente estudo, os níveis de aminoácidos incorporados (metionina e lisina) nas dietas foram iguais para os tratamentos experimentais, PV-BE e PV-AE. Vários estudos obtiveram sucesso com uma substituição quase total da farinha de peixe por fontes proteicas vegetais, como por exemplo, o robalo europeu (Kaushik *et al.*, 2004) e o salmão do Atlântico (*Salmo salar L.*) (Espe *et al.*, 2006).

Em contrapartida, altos valores de substituição de níveis de farinha de peixe levaram a uma redução no crescimento do rodovalho (Regost *et al.*, 1999), da truta arco-íris (Gomes *et al.*, 1995), do robalo europeu (Dias *et al.*, 2005), do bacalhau do Atlântico (Hansen *et al.*, 2007) e do linguado japonês (Kikuchi, 1999). A inclusão de fontes proteicas vegetais em dietas para linguados é viável, quer em juvenis, quer em peixes de tamanho comercial, desde que o nível lipídico da dieta seja baixo. Estes resultados corroboram um estudo anterior demonstrando a baixa capacidade do linguado em utilizar dietas com elevado valor lipídico (superior a 10 %). Borges *et al.* (2009) demonstraram que, para linguados juvenis, a inclusão máxima de lípidos na dieta é de 8% (57% proteína bruta), sendo a mais equilibrada tanto para o crescimento ótimo como para a utilização de nutrientes de uma dieta desta espécie.

Um aumento no índice de conversão alimentar e uma redução da utilização de proteína constituem a preocupação principal quando a farinha de peixe é substituída por proteínas vegetais (Refstie *et al.*, 1998; Robaiana *et al.*, 1995; Opstvedt *et al.*, 2003). Nos dois ensaios, pré-engorda e engorda, obteve-se um excelente FCR, comparativamente a estudos anteriores (Cabral *et al.*, 2011; Valente *et al.*, 2011), podendo, assim, concluir-se que fontes proteicas vegetais são facilmente utilizadas pela espécie, independentemente do nível de lípidos na dieta.

Quanto à ingestão de nutrientes, nos dois ensaios não existiram diferenças significativas na ingestão da matéria seca, pelo que se concluiu que todas as dietas foram bem aceites pelos peixes. No ensaio de pré-engorda, a ingestão de lípidos foi inferior no tratamento PV-BE, o que levou a uma maior retenção de lípidos. Para o mesmo ensaio, a composição corporal dos peixes não variou entre os vários tratamentos, concluindo-se que todas as dietas formuladas foram adequadas para os peixes em estudo. Nas dietas experimentais foi incorporado um concentrado de proteínas hidrolisadas (CPSP) e farinha de lula para que a palatabilidade da dieta fosse melhorada, tal como foi sugerido em outras espécies de peixes (Espe *et al.*, 2006). No ensaio de engorda, a composição corporal proteica, a retenção e o ganho proteico foram semelhantes no tratamento controlo e no tratamento PV-BE, levando a uma melhor eficácia da eficiência proteica (PER). Relativamente à retenção de lípidos, o tratamento PV-BE foi o que provocou mais retenção proteica. Os peixes alimentados com a dieta PV-BE demonstraram uma retenção de nutrientes (% ingestão) e um ganho semelhante ao dos peixes alimentados com o tratamento controlo, para

ambos os ensaios. Estes resultados refletem a qualidade da mistura de proteína vegetal utilizada associada a uma baixa inclusão de lípidos na dieta.

5- Conclusão

Estes resultados indicam que o linguado senegalês pode efetivamente lidar com dietas com fontes proteicas vegetais, desde que o nível de lípidos seja reduzido (<10%). Estas dietas são bastantes viáveis para a utilização de fontes proteicas vegetais sem afetar o desempenho do crescimento, a ingestão da dieta ou a utilização de proteína dos linguados em fase de pré-engorda e em engorda.

A dieta PV-BE, uma dieta com baixa energia, parece ser uma boa alternativa para os linguados em fase de pré-engorda e em engorda, quando o objetivo é reduzir um ingrediente escasso e não sustentável, como a farinha de peixe, com uma dieta com fontes proteicas vegetais, sem comprometer o desempenho do peixe.

III- Referências bibliográficas

- AOAC, 2006. Official methods of analysis of AOAC International, 18th ed. AOAC International, Maryland, USA.
- Aksnes, A., Hjertnes, T., Opstvedt, J., 1996. Effect of dietary protein level on growth and carcass composition in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 145, 225-233.
- Berge, G. M., Storebakken, T., 1991. Effect of dietary fat level on weight gain, digestibility and fillet composition of Atlantic halibut. *Aquaculture* 99, 33-338.
- Borges, P., Oliveira, B., Casal, S., Dias, J., Conceição, L., Valente, L. M. P., 2009. Dietary lipid level affects growth performance and nutrient utilization of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *The British Journal of Nutrition* 102, 100-1014.
- Bromley, P. J., 1980. Effect of dietary protein, lipid and energy content on the growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L). *Aquaculture* 19, 359-369.
- Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S. J., Boeuf, G., Van Der Geyten, S., Mol, K. A., Kühn, E.R., Quinsac, A., Krouti, M., Ribaillet, D., 2000a. Potential of plant-protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilization and thyroid status. *Aquaculture* 188, 363-382.
- Cabral, E. M., Bacelar, M., Batista, S., Castro-Cunha, M., Ozoário, R. O. A., Valente, L. M. P. 2001. Replacement of fishmeal by increasing levels of plant protein blends in diets for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture* 322-323, 74-81.
- Caceres-Martinez, C., Cadena-Roa, M., Métailler, R., 1984. Nutritional requirements of turbot (*Scophthalmus maximus*): I. A preliminary study of protein and lipid utilization. *Journal of the World Mariculture Society* 15, 191-202.
- Carter, C. G., Hauler, R. C., 2000. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Aquaculture* 185, 299-311.
- CE, 2009. A política comum da pesca. A aquicultura na União Europeia. http://ec.europa.eu/fisheries/cfp/aquaculture_processing/aquaculture_pt.htm
- CE, 2012. Facts and figures on the common fisheries policy – basic statistical data. Fisheries.

- Cho, C. Y., S. Kaushik, Woodward, B., 1992. Dietary arginine requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 102A: 211-216.
- Cowey, C. B., Walton, M. J., 1989. Intermediary metabolism. In: Halver, J. E. (Ed.), *Fish Nutrition*, 2nd ed. Academic Press, New York, 259-329.
- Damsgård, B., 2008a. Introduction to part V: Seafood from aquaculture - added value possibilities and potential impacts. In: *Improving seafood products for the consumer*. Børresen, T., Ed., Woohed Publishing limited, Cambridge, 463-464.
- DGRM (Direção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos), 2012. Aquicultura – Principais espécies. <http://www.dgrm.min-agricultura.pt/xportal/xmain?xid=dgrm&actualmenu=54207&selectedmenu=168207&xpgid=genericPage&conteudoDetalhe=168674>
- DGRM (Direção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos), 2012. Aquicultura – Produção nacional. <http://www.dgrm.min-agricultura.pt/xportal/xmain?xid=dgrm&actualmenu=54207&selectedmenu=168404&xpgid=genericPage&conteudoDetalhe=168968>
- Dias, J., Conceição, L. E. C., Ribeiro, A. R., Borges, P., Valente, L. M. P., Dinis, M. T., 2009. Practical diet with low fish-derived protein is able to sustain growth performance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) during the grow-out phase. *Aquaculture* 293, 255-262.
- Dias, J., Rebeca Rueda-Jasso, Stephan Panserat, Luís E. C. da Conceição, 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).
- Dinis, M. T., 1986. Quatre Soleidae de l'Estuaire du Tage-Reproduction et Croissance-Essai d'Élevage de *Solea senegalensis* Kaup 1858. Thèse d'État ès-Sciences Naturelles, Université de Bretagne Occidentale, France, 347.
- Dinis, M. T., Reis, J., Arrobas, I., 1996. Evaluation of the farming potential for *Solea senegalensis* Kaup, a new species for aquaculture in the Mediterranean area. *Book of Abstracts World Aquaculture* (96), Bangkok, Thailand, 107-109.

- 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.
- Espe, M., Hevrøy, E. M., Liaset, B., Lemme, A., El-Mowafi, A., 2008. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 274, 132-141.
- Espe, M., Lemme, A., Petri, A., El-Mowafi, A., 2007. Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. *Aquaculture* 263, 163-178.
- Espe, M., Lemme, A., Petri, A., El-Mowafi, A., 2006. Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal? *Aquaculture* 255, 255-262.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2008. Fishery and Aquaculture Country Profile, Portugal. Fisheries and Aquaculture Department. http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_PT/3/en
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2010. Regional Synthesis of the Mediterranean Marine Finfish Aquaculture Sector and Development of a Strategy for Marketing and Promotion of Mediterranean Aquaculture. FAO, Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy: FAO.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2007. The State of world fisheries and aquaculture. Rome, Italy: FAO.
- 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.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2011. Animal Feed Resources Information System- Fish meal. <http://www.fao.org/ag/AGA/AGAP/FRG/AFRIS/Data/332.HTM>

- Federation of European Aquaculture Producers (FEAP), 1998. Information and Communication Technology in Aquaculture. A summary of different presentations made at MARSOURCE Seminars & Workshops for the “Maritime Information Society”, Geneva, Bilbao and Sassnitz (www.aquamedia.org).
- Francis, G., Makkar, H.P. S., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-227.
- Gatlin, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. C., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Krogdahl, 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 III, D. M., 2002. Nutrition and fish health. In: Halver, J. E., Hardy, R. W. (Eds.), *Fish Nutrition*, 3rd ed. Academic Press, New York, 671-702.
- Gomes, E. F., Rema, P., Gouveia, A., Teles, A. O., 1995. Replacement of fish-meal by plant-proteins in diets for Rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*) – effect of quality of the fish-meal-based control diets on digestibility and nutrient balances. *Water Sci. Technol.* 31, 205-211.
- Gomez- Requeni, P., Mingarro, M., Calduch- Giner, J. A., Medale, F., Martin, S. A. M., Houlihan, D. F., Kaushik, S., Perez- Sanchez, J., 2004. Protein growth performance, amino acid utilization and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant-protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 235, 493-510.
- Guillaume, J., Coustans, M., Métailler, R., Person-Le Ruyet, J., Robin, J., 1991. Flatfish: turbot, sole and plaice. In: Wilson, R.P. (Ed.), *Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*, CRC Press, Boca Raton, FL, 77-82.
- Halver, J. E., Tiems, K., 1979. *Finfish nutrition and fishfeed technology*. Proceedings of world symposium. Heeneman Verlagsgesellschaft mbH, Berlin.

- Hansen, A. C., Rosenlund, G., Karlsten, Ø., Koppe, W., Hemre, G. I., 2007. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I – Effects on growth and protein retention. *Aquaculture* 272, 599-611.
- Hardy, R. W., 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research* 41, 770-776.
- Hebb, C. D., Castell, J. D., Anderson, D. M., Batt, J., 2003. Growth and feed conversion of juvenile winter flounder (*Pleuronectes americanus*) in relation to different protein-to-lipid levels in isocaloric diets. *Aquaculture* 221, 439-449.
- Helland, S. J., Grisdale-Helland, B., 1998. Growth, feed utilization and body composition of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in the ratio between the macronutrients. *Aquaculture* 166, 49-56.
- Hoffmann, R. C., 2004. A brief history of aquatic resource use in medieval Europe. *Helgoland Marine Research*, Springer-Verlag and AWI: 10.1007/S10152-004-0203-5.
- Howell, B. R., 1997. A re-appraisal of the potential of the sole, *Solea solea* (L.), for commercial cultivation. *Aquaculture* 155, 359-369.
- IBM, 2011. IBM SPSS Statistics, 18.0 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., 2003. A review of the culture potential of *Solea solea* and *S. senegalensis*. *Fish Biology and Fisheries* 13, 379-407.
- Kaushik, S. J., 1995. Nutrient requirements, supply and utilization in context of carp culture. *Aquaculture* 129, 225-241.
- Kaushik, S. J., Covès, D., Dutto, G., Blanc, D., 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 230, 391-404.

- Kikuchi, K., 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 179, 3-11.
- Landau, M., 1992. *Introduction to Aquaculture*. John Wiley & Sons, Inc.
- Lovell, T., 1989. In: *Nutrition and feeding of fish*. AVI (Eds.), New York.
- Luten, J.; Schram, E., 2006. Enrichment of functional selenium in farmed African catfish (*Clarias goriepinus*) by dietary modulation. In: *Seafood research from fish to dish. Quality, Safety and processing of wild and farmed fish*. Luten, J. B.; Jacobsen, C., Bekaert, K.; Saebø, A.; Oehlenschäder, J., (Eds.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, 193-200.
- Morais, S., Conceição, L. E. C., Dinis, M. T., 2006. Senegaleses sole. *Aqua Feeds: Formulation Beyond 2*, 13-16.
- Morales, J. C., 1986. *Aquacultura Marina Animal*, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- NRC, 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington, D.C.
- Opstvedt, J., Aksnes, A., Hope, B., Pike, I. H., 2003. Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed diets with increasing substitution of fish meal with vegetable proteins. *Aquaculture* 221, 365-379.
- Quéro, J. C., Desoutter, M., Lagardère, F., 1989. Soleidae. In: Whitehead, P. J. P., Bauchot, M. L., Hureau, J. C., Nielsen, J., Tortonese, E. (Eds.), *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, Paris, Unesco, 473.
- Refstie, S., Storebakken, T., Roem, A. J., 1998. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. *Aquaculture* 162, 301-312.
- Regost, C., Arzel, J., Kaushik, S. J., 1999. Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in the diet for turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 180, 99-117.
- Regost, C., Arzel, J., Cardinal, M., Robin, J., Laroche, M., Kaushik, S.J., 2001. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 193, 291-309.

- Rema, P. Conceição, 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* 13, 1-7
- Rema, P., Conceição, L. E. C., Evers, F., Castro-Cunha, M., Dinis, M. T., Dias, J., 2008. Optimal dietary protein levels in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture Nutrition* 14, 263-269.
- Refstie, S., Storebakken, T., Roem, A. J., 1998. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. *Aquaculture* 162, 301-312.
- Refstie, S., Korsoen, O. J., Storebakken, T., Baeverfjord, G., Lein, I., Roem, A. J., 2000. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 190, 49-63.
- Robaina, L., Izquierdo, M. S., Moyano, F. J., Soccorro, J., Vergara, J. M., Monteiro, D., Fernandez Palacios, H., 1995. Soybean and lupin seed meals as protein-sources in diets for Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) – nutritional and histological implications. *Aquaculture* 130, 219-233.
- Sargent, J. R., Tocher D. R., Bell, J. G., 2002. The lipids. In: Halver, Je., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, 3rd ed. Academic Press, New York, 181-257.
- Silva, J. M. G., Espe, M., Conceição, L. E. C., Dias, J., Costas, B., Valente, L. M. P., 2010. Feed intake and growth performance of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) fed diets with partial replacement of fish meal with plant proteins. *Aquacult. Res.* 41, e20-e30.
- 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.
- Stickney, R. R., 1994: *Principles of Aquaculture*. John Wiley & Sons, New York.

- Storebakken, T., Shearer, K. D., Roem, A. J., 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmon salar*. *Aquaculture* 161, 365-379.
- Tacon, A .G. J., 1995. Feed ingredients for carnivorous fish species: alternatives to fishmeal and other fishery resources. In: Reinertsen, H., Haaland, H. (Eds.). *Sustainable Fish Farming*, 89-114.
- Tacon, A. G .J., Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146-158.
- Tejada, M., De las Heras, C., Kent, M., 2007. Changes in the quality indices during ice storage of farmed Senegalese Sole (*Sole Senegalensis*). *European Food Research and Technology* 225, 225-232.
- Valente, L. M. P.; Bandarra, N. M.; Figueiredo-Silva, A. C.; Cordeiro, A. R.; Simões, R. M.; Nunes, M. L., 2007. Influence of conjugated linoleic acid on growth, lipid composition and hepatic lipogenesis in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 267, 225-235.
- Valente, L. M. P., Linares, F., Villanueva, J. L. R., Silva, J. M. G., Espe, M., Escórcio, C., Pires, M. A., Saavedra, M. J., Borges, P., Medale, F., Álvarez-Blázquez, B., Peleteiro, J. B., 2011. Dietary protein source or energy levels have no major impact on growth performance, nutrient utilization or flesh fatty acids composition of market-sized Senegalese sole. *Aquaculture* 318, 128-137.
- Watanabe, T., 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68, 242-252.
- Whitehead, P. J. P., Bauchot M. L.; Hureau J. C.; Nielsen J., Tortonese E. (Eds.), 1984. *Fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean*, Vols. I, II & III. UNESCO, Paris, 1473 pp.
- Yang, Y.-H., Wang, Y.-y., Lu, Y., Li, Q.-Z., 2010. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and nitrogen and phosphorus excretion on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International* 1-15.

Zar, J. H., 1999. Biostatistical Analysis, 4thed. Prentice Hall, London.