



**POLITÉCNICO  
DE LEIRIA**

ESCOLA SUPERIOR  
DE TURISMO E  
TECNOLOGIA DO MAR

**Variações no crescimento e desenvolvimento da medusa  
*Chrysaora chesapeakei* (Papenfuss, 1936), utilizando  
diferentes dietas**

Miguel Gomes de Sousa Serrão

2023



**POLITÉCNICO  
DE LEIRIA**

ESCOLA SUPERIOR  
DE TURISMO E  
TECNOLOGIA DO MAR

**Variações no crescimento e desenvolvimento da medusa  
*Chrysaora chesapeakei* (Papenfuss, 1936), utilizando  
diferentes dietas**

Miguel Gomes de Sousa Serrão

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob orientação da Professora Doutora Sónia Cotrim  
Marques e coorientação do Professor Doutor Sérgio Miguel Leandro

2023

Título: Variações no crescimento e desenvolvimento da medusa *Chrysaora chesapeakei* (Papenfuss, 1936), utilizando diferentes dietas

Copyright © Miguel Gomes de Sousa Serrão

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2023

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## **Agradecimentos**

Com esta dissertação termino uma etapa da minha vida a qual vai servir como ferramenta para construir o meu futuro, querendo agradecer às seguintes pessoas:

À Professora Doutora Sónia Cotrim, que esteve presente no desenvolvimento deste projeto, sempre com grandes níveis de entusiasmo e dedicação desde o início ao fim. Demonstrou-se sempre disponível para todas as minhas dúvidas e ajudou-me sempre.

Ao Professor Doutor Sérgio Leandro que garantiu o fornecimento de todos os equipamentos, espaço e condições para desenvolver este trabalho.

À mestre Inês Duarte que, com o seu enorme conhecimento em medusas, me aconselhou e ajudou ao longo de todo o processo, e à restante equipa do CETEMARES, Simão Maia, Joana Figueira e Cristiana Roso.

À minha namorada Inês Rodrigues que sempre me apoiou em tudo e esteve sempre presente, especialmente quando as coisas corriam mal.

Aos meus amigos, Carlos Custódio, Tiago Rodrigues, e Tiago Vieira.

Ao meu amigo, Professor Manuel Ponciano que também teve um contributo especial no desenvolvimento desta tese

Por último, queria também agradecer aos meus pais Susana Gomes e Pedro Serrão, que estiveram sempre ao meu lado desde o dia em que nasci. Especialmente um grande obrigado ao meu pai por me ter posto o bichinho e a paixão pelo mar e os seus habitantes, que influenciou todo o meu percurso académico e que servirá para preparar o meu futuro.

*“Um barco sem rumo é um barco à deriva” - Pedro Serrão*

## Resumo

Esta tese de mestrado teve como principal objetivo a otimização do crescimento e desenvolvimento de éfiras até à fase adulta da espécie *Chrysaora chesapeakei* (Papenfuss, 1936), envolvendo duas dietas distintas. Realizaram-se ensaios laboratoriais com parâmetros idênticos que decorreram em aquários tipo *Kreisel*, a uma salinidade de 18 e a uma temperatura controlada de 20°C. As dietas testadas consistiram em metanúplios de artémia recém-eclodidos (Dieta Controlo), e preparados de medusa *Catostylus tagi* (Haeckel, 1869) (Dieta 1) e de pescada *Merluccius capensis* (Castelnau, 1861) (Dieta 2). Em ambas as dietas 1 e 2, foram fornecidos metanúplios de artémia duas vezes ao dia e o preparado ao final do dia. A dieta de controlo consistiu em artémia fornecida três vezes ao dia.

Os resultados obtidos com este ensaio, indicaram que medusas desta espécie necessitam na sua dieta, para além de artémia, de um suplemento adicional. Existiram diferenças estatisticamente significativas (ANOVA  $p\text{-value}<0,05$ ), entre a dieta 1 e o controlo, sugerindo assim que esta dieta proporcionou um melhor crescimento, em termos do aumento do diâmetro da umbela, da medusa *Chrysaora chesapeakei* em condições de laboratório.

Também se verificou algumas diferenças morfológicas entre as duas dietas. Por exemplo, o desenvolvimento dos tentáculos mais rápido na dieta do preparado de medusa que na dieta do preparado de pescada. Por sua vez, o desenvolvimento dos braços orais foi mais pronunciado nos indivíduos alimentados com a dieta de pescada.

Com os resultados obtidos, concluiu-se que as medusas desta espécie podem ser mantidas com uma dieta em metanúplios de artémia (média de incremento do diâmetro da umbela 13,08 mm por mês), no entanto, têm um melhor crescimento (média de incremento do diâmetro da umbela 25,82 mm por mês) quando fornecidas com uma dieta com medusas de outra espécie.

**Palavas chave:** Aquacultura, ornamental, éfira, tratamentos, medusa, *Kreisel*.



## Abstract

This master's thesis main objective was the optimization of the growth and development of post-ephyrae to the adult stage of the species *Chrysaora chesapeakei*, involving two distinct diets and a control group. Laboratory trials were carried out that took place in *Kreisel*-type aquariums, at a salinity of 18 and at a controlled temperature of 20°C. The diets tested consisted of newly hatched artemia metanauplii (Control Diet), and preparations of the jellyfish *Catostylus tagi* (Diet 1) and hake (*Merluccius capensis*) (Diet 2). In both diets 1 and 2, metanauplii of artemia were provided twice a day and the prepared at the end of the day. The control diet consisted of artemia supplied three times a day.

The results obtained with this assay indicated that jellyfish of this species need a supplement in their diet, in addition to artemia. There were statistically significant differences (ANOVA  $p$ -value<0.05) between diet 1 and the control diet, thus suggesting that this diet provided a more efficient growth of the bell of the *Chrysaora chesapeakei* jellyfish under laboratory conditions.

There were also some morphological differences between the two diets, which are described in detail in the discussion of this thesis. For instance, the development of the tentacles, which was faster in diet 1 than in diet 2. Also, a more pronounced development of the oral arms, were observed in individuals fed diet 2.

With the obtained results, we can conclude that jellyfish of this species can be kept using metanauplii of artemia (average increase in bell diameter 13,08 mm per month), however, have an optimized growth (average increase in bell diameter 25,82 mm per month) when provided with a diet containing other jellyfish species. Further studies with species belonging to the genus *Chrysaora*, and potentially with further variations in the type of food supplied and the duration of the trial, will be needed to understand the growth of this jellyfish species.

**Keywords:** Aquaculture, ornamental, ephyra, treatment, medusa, *Kreisel*



## Índice

1. Introdução.....	1
1.1. O que é uma medusa?.....	1
1.2. Ciclo de Vida das medusas.....	2
1.3. Comportamento alimentar.....	3
1.4. Aquacultura de medusas.....	4
1.4.1. Tipo de aquários.....	6
1.5. Género em estudo <i>Chrysaora</i> .....	8
1.6. Espécie em estudo: <i>Chrysaora chesapeakei</i> (Papenfuss 1936).....	9
1.7. Objetivo.....	11
2. Materiais e Métodos.....	12
2.1. Cultivos auxiliares.....	12
2.1.1. Artémia ( <i>Artemia franciscana</i> (Kellog, 1906)).....	12
2.1.2. Rotíferos ( <i>Brachionus plicatilis</i> (Müller, 1786)).....	12
2.2. Manutenção dos pólipos.....	13
2.2.1. Indução da estrobilação.....	13
2.3. Manutenção das éfiras.....	14
2.4. Desenho experimental.....	15
2.4.1. Tratamentos.....	15
2.4.1.1. Preparados.....	15
2.4.1.2. Composição nutricional das dietas.....	16
2.4.2. Sistema RAS.....	16
2.4.3. Parâmetros avaliados.....	19
2.4.4. Análise estatística.....	20
2.5. Desenho experimental.....	20
3. Resultados.....	21
3.1. Crescimento.....	21
3.2. Incrementos totais.....	22
3.3. Alterações morfológicas.....	23
4. Discussão.....	25
4.1. Viabilidade do ensaio.....	25
4.2. Crescimento.....	25
5. Conclusão.....	29
5.1. Pontos a melhorar no futuro.....	30
6. Referências Bibliográficas.....	31
7. Anexos.....	38
7.1. Medições.....	38

7.1.1.	Primeira etapa .....	38
7.1.2.	Segunda etapa .....	39
7.1.3.	Incrementos totais.....	40
7.2.	Parâmetros físico-químicos.....	41
7.2.1.	Primeira etapa.....	41
7.2.2.	Segunda etapa.....	43

## Índice de Figuras

Figura 1: A cifomedusa <i>Aurelia aurita</i> (Linnaeus, 1758) (ordem Semaestomeae). Esquema adaptado de Kavanau (2006) retirado de Duarte, 2018. ....	2
Figura 2: Representação esquemática do ciclo de vida de <i>Rhizostoma pulmo</i> (Macri, 1778). Legenda: (1) Larvas planctónicas; (2) Pólipo principal assente no substrato; (3) Pólipo totalmente desenvolvido; (3a) Reprodução assexuada por gemulação; (4) Estrobilação; (5) Éfira; (6) Meta-éfira; (7) Medusa adulta. Imagem de Fuentes <i>et al.</i> , 2011, obtida em Purcell <i>et al.</i> , 2013. ....	3
Figura 3: Tipos de aquários utilizados em aquacultura de medusas. (a) Aquário <i>Kreisel</i> ; (b) <i>Pseudo-Kreisel</i> ; (c) Tanque retangular; e (d) tanque cilíndrico. Legenda: A – Saída da água; B – Crivos; C – Entrada de água. Imagem de Purcell <i>et al.</i> , 2013 ....	7
Figura 4: Comportamento alimentar em pólipos de <i>Chrysaora</i> ; (A) pólipo com boca fechada e tentáculos estendidos antes da introdução do estimulante alimentar; (B) pólipo após exposição. A maioria dos tentáculos foram omitidos dos desenhos para maior clareza. Imagem de Loeb & Blanquet, (1973). ....	8
Figura 5: <i>Chrysaora chesapeakei</i> . Foto por Miguel Serrão. ....	9
Figura 6: Representação das diferenças entre as espécies <i>Chrysaora chesapeakei</i> ( <i>Bay Nettle</i> ) e <i>Chrysaora quinquecirrha</i> ( <i>Sea nettle</i> ). Imagem de <i>Smithsonian insider</i> . ....	10
Figura 7: Cultivo de rotíferos (a) e garrafas para eclodir cistos de artémia (b) Fotos por Miguel Serrão. ....	12
Figura 8: Foto de um Pólipo de <i>Chrysaora chesapeakei</i> tirada à lupa binocular. Conseguem-se observar reprodução assexuada pela formação de dois pólipos mais pequenos. Foto por Miguel Serrão. ....	13
Figura 9: Fotos de éfiras de <i>Chrysaora chesapeakei</i> tiradas à lupa binocular. Fotos por Miguel Serrão. ....	14
Figura 10: <i>Goblets</i> com arejamento nos quais foram mantidas as éfiras. Foto por Miguel Serrão ....	14
Figura 11: Fotos dos aquários tipo <i>Kreisel</i> onde foram realizados os ensaios. Fotos por Miguel Serrão. ....	17
Figura 12: (a) Foto da <i>sump</i> contendo biobolas, filtro UV, escumador de proteínas e bombas de recirculação. (b) <i>Chiller</i> . Fotos por Miguel Serrão ....	17
Figura 13: Esquema com a representação visual do desenho experimental. ....	18
Figura 14: Esquema com a representação do circuito de água dos sistemas. ....	18

Figura 15: Exemplos visuais para demonstração de como foram feitas as medições com recurso a (a) Lupa binocular e (b) Papel milimétrico. Fotos por Miguel Serrão .....	19
Figura 16: Representação da média dos incrementos no diâmetro da umbela das medusas, para as 3 dietas, nos quatro dias de medições. C=dieta controlo; D1=dieta de medusa; D2=dieta de pescada. ....	21
Figura 17: Gráfico de barras da média e desvio-padrão dos incrementos no diâmetro da umbela das medusas, nos quatro dias de medição. C=dieta controlo; D1=dieta de medusa; D2=dieta de pescada. ....	21
Figura 18: Representação gráfica da média dos incrementos no diâmetro da umbela (mm), no último dia de medição. C – dieta controlo, D1 – dieta de medusa, D2 – dieta de pescada...	22
Figura 19: Média e desvio padrão dos incrementos do diâmetro da umbela nos dias 2, 3 e 4 de medição .....	23
Figura 20: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C1 e C2. ....	41
Figura 21: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C3 e C4. ....	42
Figura 22: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C5 e C6. ....	45
Figura 23: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C7 e C8. ....	45

## Índice de tabelas

Tabela 1: Composição nutricional dos alimentos utilizados neste ensaio .....	16
Tabela 2: Médias de medições das medusas em milímetros e incremento de crescimento do diâmetro da umbela, da primeira etapa. ....	38
Tabela 3: Médias de medições das medusas em milímetros e incremento de crescimento do diâmetro da umbela, da segunda etapa. ....	39
Tabela 4: Médias de medições $\pm$ desvio-padrão das medusas em milímetros e incremento de crescimento do diâmetro da umbela entre o primeiro e último dia em ambos os ensaios.....	40
Tabela 5: Análise de variância (ANOVA) de um fator entre as 3 dietas. ....	40
Tabela 6: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C1 e C2. ....	41
Tabela 7: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C3 e C4. ....	42
Tabela 8: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C5 e C6. ....	43
Tabela 9: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C7 e C8. ....	44

# 1. Introdução

## 1.1. O que é uma medusa?

O Filo Cnidaria é composto por um grupo de animais com uma estrutura corporal relativamente simples com simetria radial (Ceh *et al.*, 2015). O corpo destes organismos é formado por duas camadas de tecido, uma interna denominada de gastroderme e uma externa, a epiderme, separadas por mesogleia, um líquido com um teor de cerca de 95% de água. Os cnidários partilham uma característica única, pois possuem organelos especializados chamados cnidócitos, que contêm no seu interior nematocistos, os quais possuem uma mistura complexa de diversas toxinas e dão aos cnidários o seu nome. Quando uma presa ou predador se aproxima, os cnidócitos são ativados e os nematocistos descarregadas como resposta a um estímulo físico e químico.

As classes presentes neste filo incluem: Anthozoa, Cubozoa, Hydrozoa, Myxozoa, Polydipodiozoa, Scyphozoa e Staurozoa (WoRMS, 2023). Os cnidários são encontrados em muitos ambientes aquáticos, podendo tolerar águas com baixa salinidade (Dumont, 1994; Purcell *et al.*, 1999), desde as águas frias do Ártico até ao Equador, desde as poças de maré até ao fundo do oceano profundo, existindo também em água doce.

Variam bastante em tamanho, como é o caso da chamada *Lion's Mane* (*Cyanea capillata* (Linnaeus, 1758)), a maior medusa do mundo podendo atingir, até 36 metros de comprimento com 1 metro de diâmetro (Trevett *et al.*, 2019). Como também podem ser muito pequenas, como é o caso de algumas espécies de *Box Jellyfish* como a *Chironex fleckeri* (Southcott, 1956) e a *Carukia barnesi* (Southcott, 1967) que podem ser fatais para humanos.

Os cnidários da classe Scyphozoa são tradicionalmente agrupados nas seguintes características: possuem simetria radial, quatro braços orais, grandes, em torno de uma boca central; se presentes, tentáculos localizados na periferia da umbela ou subumbela (Straehler-Pohl, 2011). Apesar destas medusas não possuírem sistema circulatório nem respiratório, possuem quatro cavidades gastrovasculares presente na umbela. É com a contração da musculatura da umbela que estes organismos se movimentam na coluna de água.

As cifomedusas, conhecidas como as “medusas verdadeiras”, são provavelmente os predadores invertebrados mais comuns em ecossistemas marinhos (Dawson, 2003) Representam uma componente bastante visível do plâncton, especialmente durante os meses de verão (Brodeur *et al.*, 2002; Barz *et al.*, 2007). Estas medusas também variam muito em formato e em cor, sendo organismos extremamente apelativos, tanto no mundo da aquariofilia ornamental, tanto doméstica como para exposições em aquários públicos. A anatomia das medusas (Figura 1) é altamente adaptada para uma alimentação eficiente. São predadores

não visuais que capturam presas por contacto direto (usando nematocistos), permitindo-lhes alimentar-se em águas escuras ou turvas. Devido ao seu alto teor de água, as medusas podem crescer muito rapidamente, permitindo-lhes capturar mais alimentos com os seus grandes corpos (Acñua *et al.*, 2011).

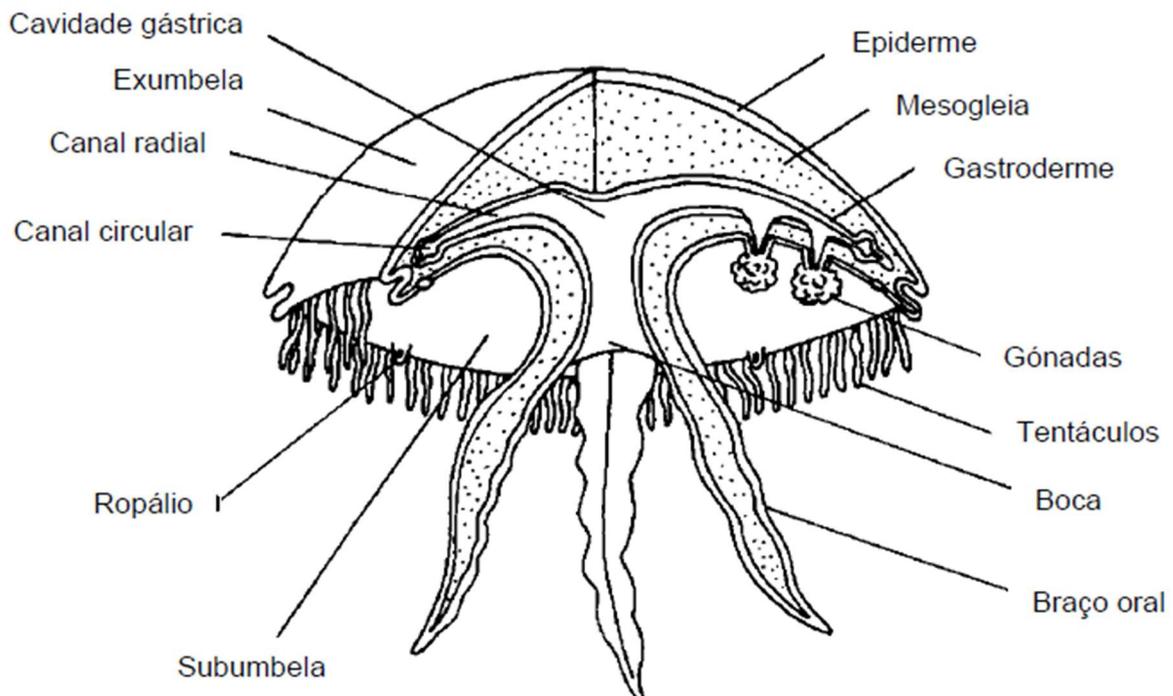


Figura 1: A cifomedusa *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758) (ordem Semaestomeae). Esquema adaptado de Kavanau (2006) retirado de Duarte (2018).

## 1.2. Ciclo de Vida das medusas

A maioria das espécies de medusas, que pertencem à classe Scyphozoa, têm duas fases no seu ciclo de vida (Figura 2), sendo este designado por ciclo bifásico: fase pelágica (medusas ou cifomedusas) e fase bentónica sésil (pólipos ou cifístomas). A fase bentónica sésil é passada em estado de pólipos, enquanto a fase pelágica é móvel, começando com o estado de éfira até chegar ao estado de medusa adulta. Através de um estímulo do meio ambiente, como a alteração de temperatura, salinidade, entre outros, os pólipos (bentónicos) iniciam um processo denominado de estrobilação e é neste que se vai originar o primeiro estágio da fase pelágica denominado de éfira. Com alimentação e tempo estas vão crescer até pós-éfiras, juvenis, até atingirem o último estágio do seu ciclo de vida de medusa. Tornam-se em medusas adultas após um período de crescimento relativamente curto, geralmente de 2 a 3 meses (Prieto *et al.*, 2010).

O ciclo de vida destas medusas inclui tanto reprodução sexuada como assexuada. A reprodução sexuada ocorre entre duas medusas adultas, macho e fêmea, através da libertação de gâmetas para a coluna de água que, após a sua fecundação, originam larvas planctónicas que posteriormente se fixam ao substrato marinho, e se transformam em pólipos. A reprodução assexuada pode ocorrer, por exemplo, por gemulação, quando os pólipos produzem gomos que posteriormente se tornam em novos pólipos, ou por estrobilação, quando os pólipos sofrem metamorfose da sua cavidade oral e produzem uma (monodisco) ou mais éfiras (polidisco) (Arai, 1997; Duarte, 2018). Estas éfiras vão, então, desenvolver-se em medusas. Quando todas as éfiras se libertam do corpo, o pólipo regenerado, mais curto, retoma a alimentação (Loeb & Hayes, 1981).

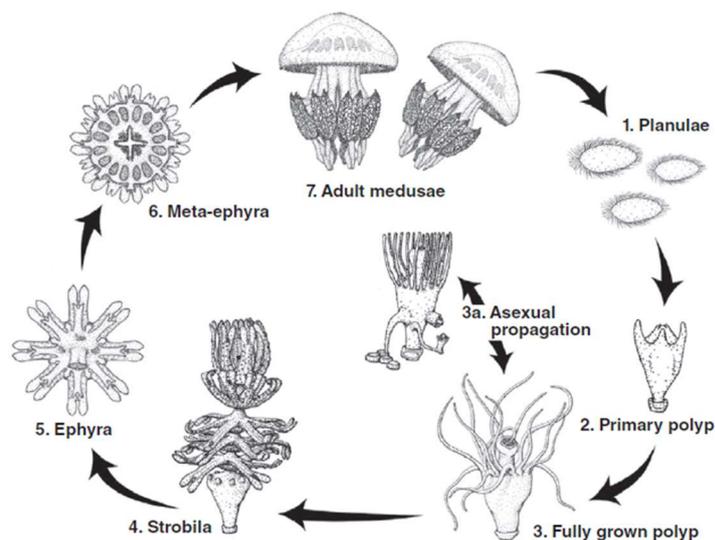


Figura 2: Representação esquemática do ciclo de vida de *Rhizostoma pulmo* (Macri, 1778). Legenda: (1) Larvas planctónicas; (2) Pólipo principal assente no substrato; (3) Pólipo totalmente desenvolvido; (3a) Reprodução assexuada por gemulação; (4) Estrobilação; (5) Éfira; (6) Meta-éfira; (7) Medusa adulta. Imagem de Fuentes *et al.*, (2011), obtida em Purcell *et al.*, (2013).

### 1.3. Comportamento alimentar

As medusas têm uma única abertura, a boca, que também funciona como ânus. Ao seu redor estão 4 a 8 braços orais que são usados para transportar alimentos capturados previamente pelos tentáculos. Todos os cnidários são carnívoros (Hale, 1999) e muitas espécies de medusas capturam o seu alimento imobilizando a sua presa através de veneno. Este está contido em estruturas especializadas, chamadas nematocistos, os quais são formados por uma cápsula de natureza proteica contendo um fio (cnidocílio) embrulhado e em espiral que, após a estimulação química ou mecânica, é rapidamente projetada injetando o veneno na presa ou no agressor (Mariottini & Pane, 2010).

Após o contato, a maioria das presas é retida para ingestão. No entanto, a probabilidade de ocorrer um contato depende de vários fatores, incluindo morfologia da superfície de captura, tamanho e comportamento da presa (Wagner *et al.*, 2020).

Existem também outras espécies que são conhecidas por absorver nutrientes diretamente da água do mar (Edwards & Breazeale, 2012). O desenvolvimento e distribuição de certos tipos de nematocistos e a injeção de compostos bioativos são um fator crucial para a captura e digestão de presas por cnidários (Kintner *et al.*, 2005).

A sua alimentação no meio selvagem provém sobretudo de pequenos crustáceos pertencentes ao zooplâncton, maioritariamente copépodes (Raskoff *et al.*, 2003), ou de outras espécies de medusas (Purcell, 1992), podendo também alimentar-se de ovos, larvas e peixes pequenos. No entanto, as alterações sazonais de parâmetros ambientais (como a temperatura, salinidade, luz e disponibilidade de alimento) e a sua migração e deslocação nas correntes ou mesmo a migração das próprias presas, podem provocar modificações na sua dieta (Gordon & Seymour, 2012).

#### **1.4. Aquacultura de medusas**

Devido a mudanças drásticas no número de indivíduos nas populações de medusas, tem havido um aumento de interesse nestas, especialmente tendo em consideração que podem transmitir um forte controlo sobre a dinâmica do plâncton marinho (Richardson *et al.*, 2009; Robinson *et al.*, 2014). Como organismos com taxas de alimentação, em termos de eficiência de assimilação, altamente eficientes, as medusas podem ter impactos substanciais nas populações que são predadas por estes (Tay, 2020).

As cifomedusas competem com muitas espécies de peixes por alimento e alimentam-se das larvas e ovos dos seus competidores (Barz & Hirche, 2007; Sabatés *et al.*, 2010), mas adquirir conhecimentos sobre a dinâmica do ciclo de vida das medusas não se revela importante apenas na sua vertente ecológica. *Blooms* de medusas afetam também a aquacultura (Mills, 2001; Purcell *et al.*, 2007; Purcell, 2012), a pesca (Lynam *et al.*, 2006), o turismo e operações de centrais elétricas (por exemplo, ao obstruírem o fornecimento de água dos sistemas de refrigeração) (Lesniowski *et al.*, 2015).

Existe um mercado crescente na procura de medusas na indústria alimentar, farmacêutica e outros sectores relacionados, no entanto existem poucos estudos sobre a ecologia e biologia das medusas, pouca informação está disponível sobre a reprodução, nutrição e manutenção das mesmas. O conhecimento atual está claramente atrasado

comparando com outros animais de aquacultura comuns, como camarões e peixes (You *et al.*, 2007).

As medusas são uma iguaria popular nos países do sul e leste da Ásia com uma elevada procura principalmente no mercado Chinês e Japonês (Omori & Nakano, 2001; Hsieh *et al.*, 2001; You *et al.*, 2007; You *et al.*, 2016). As pescarias de medusas para consumo humano são significativamente elevadas, com, recentemente, desembarques a nível global superiores a 1 milhão de toneladas (Brotz 2016; Brotz & Pauly, 2016; Brotz *et al.*, 2017)

No entanto, apenas certos tipos de medusas são considerados adequadas para consumo humano, como por exemplo a espécie *Rhopilema esculentum* (Kishinouye, 1891) da subordem Daktyliophorae, ordem Rhizostomeae, classe Scyphozoa (Purcell *et al.*, 2013). Estas medusas são caracterizadas por uma textura firme, com altos teores de proteína (colagénio) (Hsieh *et al.*, 2001). As qualidades mais valiosas são uma textura crocante-elástica e cor branca.

Para além de valores dietéticos e medicinais, algumas medusas também são usadas para fins ornamentais, quer em aquários domésticos, quer em aquários públicos. Alguns exemplos populares, incluem medusa-Lua (*Aurelia aurita*) que é, muito provavelmente, a medusa mais popular no ramo da aquariofilia ornamental e, também, a medusa-de-pintas (*Phyllorhiza punctata* (von Lendenfeld, 1884)).

Mais recentemente, preocupações nos setores públicos, industriais e governamentais, foram crescendo devido aos problemas causados por medusas, como acidentes em praias públicas devido ao seu veneno e o desaparecimento de algumas zonas pesqueiras devido ao seu número de indivíduos, estarem aparentemente a aumentar (Purcell *et al.*, 2007; Purcell, 2012). Consequentemente, torna-se importante o estudo e a compreensão da biologia e ecologia destes organismos para uma melhor compreensão destes fenómenos. No entanto, cultivar espécies de medusas é ainda um desafio para investigadores e aquaristas. Para se conseguir a reprodução destas é necessário: conhecimentos sobre a história e ecologia da espécie; aquários adequados para cada estágio do organismo (desde pólipo até pequenas ou grandes medusas), ter em consideração o volume, fluxo e corrente da água; características da água próprias para a espécie (filtração, temperatura e salinidade); dieta adequada e captura e transporte cuidadosos (Purcell *et al.*, 2013).

Por fim, devido ao facto de as medusas proporcionarem exposições deslumbrantes em aquários, e porque as suas populações e os problemas que causam aos humanos parecem estar a aumentar em todo o mundo, o interesse em estudar, cultivar e exhibir medusas em aquários públicos provavelmente vai continuar a aumentar (Purcell *et al.*, 2013).

#### 1.4.1. Tipo de aquários

Manter medusas em cativeiro coloca alguns problemas. Em primeiro lugar, elas não estão adaptadas a espaços fechados, uma vez que dependem das correntes marítimas para as transportar e lhes fornecer alimento. Para compensar, os aquários que as mantêm, são tipicamente circulares para evitar que os animais fiquem presos num canto e têm um mecanismo que proporciona um movimento circular da água. Em aquários públicos, existe geralmente um fundo azul ou preto, com iluminação lateral para maior contraste, uma vez que, em condições naturais, muitas medusas são tão transparentes o que as torna invisíveis se uma iluminação correta não for aplicada.

Apesar das variações existentes entre aquários do tipo *Kreisel*, a maioria dos *designs* baseia-se nos mesmos princípios básicos, nomeadamente ao possuírem uma estrutura de tanque circular ou semicircular, uma parte traseira e frontal planas e entradas e saídas de água, separadas por uma tela de drenagem; estas características criam um fluxo de água difuso, que permite aos organismos nadarem livremente sem perigo de serem sugados e minimiza o contacto destes com as paredes dos tanques (Duarte *et al.*, 2021). A Figura 3 representa quatro tipos de aquários tipicamente utilizados no seu cultivo. Estes devem permitir um movimento livre dos organismos. Os que possuem tentáculos mais longos podem precisar de aquários de maiores dimensões.

O tanque mais conhecido para manter medusas é o tanque *Kreisel* (Figura 3a). Este é em forma de círculo, o que ajuda a água a fluir constantemente num movimento circular. Com a sua entrada e saída de água únicas, o sistema de filtração utiliza crivos de malha variada, para evitar que as medusas sejam sugadas para fora do tanque.

O *Kreisel* foi modificado pela primeira vez pelo Aquário de *Monterey Bay* para criar o *pseudo-Kreisel* (Figura 3b) que é fácil de construir e provou ser versátil e satisfatório para várias espécies de medusas. Este tanque segue o mesmo princípio de um *Kreisel* e é basicamente um tanque quadrado com cantos curvos (Purcell *et al.*, 2013).

Independentemente do design do tanque, a combinação de entrada e saída de água deve fornecer um *loop* de Hartford, de modo a garantir que o tanque não fique abaixo do compartimento de pulverização, (se posicionado perto do topo), para evitar a formação de bolhas de ar, que podem facilmente ficar presas na umbrela das medusas e danificar seriamente indivíduos juvenis e adultos (Raskoff *et al.*, 2003; Widmer *et al.*, 2008; Crow *et al.*, 2013; Duarte *et al.*, 2021)

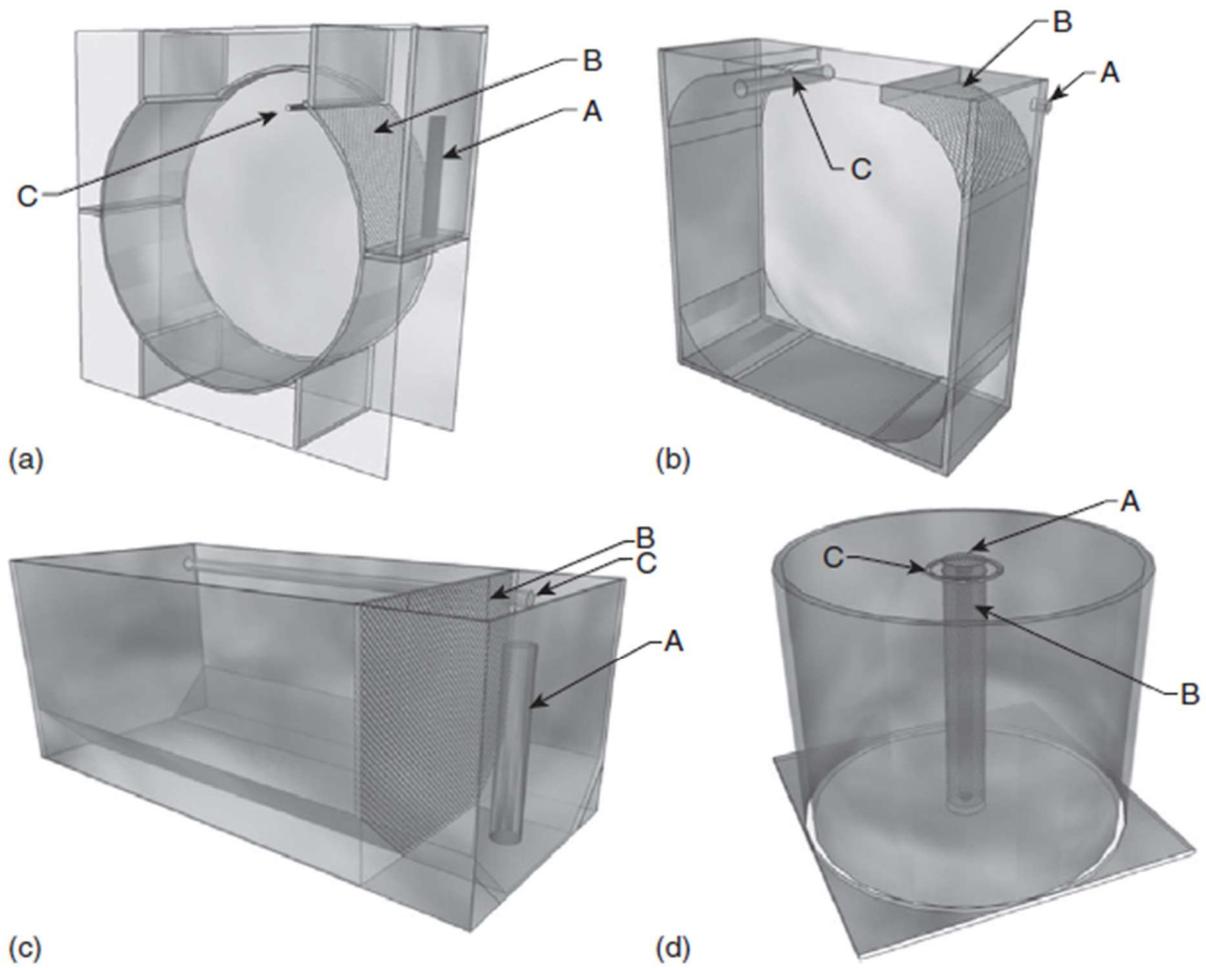


Figura 3: Tipos de aquários utilizados em aquacultura de medusas. (a) Aquário *Kreisel*; (b) *Pseudo-Kreisel*; (c) Tanque rectangular; e (d) tanque cilíndrico. Legenda: A – Saída da água; B – Crivos; C – Entrada de água. Imagem de Purcell *et al.*, 2013

### 1.5. Gênero em estudo *Chrysaora*

Tipicamente conhecidas como urtigas do mar (*sea nettles*), as medusas *Chrysaora* (Péron & Lesueur 1810) é um gênero de medusas majoritariamente marinho, pertencente à classe Scyphozoa (Filo Cnidaria), que pode ser encontrado em todos os mares temperados e tropicais (Ras *et al.*, 2020). É o gênero com mais diversidade dentro da subclasse Discomedusae, com 15 espécies válidas atualmente reconhecidas, com muitas outras não formalmente descritas. O gênero é amplamente distribuído por todos os oceanos costeiros (Morandini & Marques, 2010), e contém alguns membros muito abundantes e ecologicamente importantes, que podem influenciar o funcionamento do ecossistema e os fluxos tróficos (Ras *et al.*, 2020).

A maior parte do ciclo de vida das espécies pertencentes ao gênero *Chrysaora* ocorre no estado de pólipó com 0,5 a 3 mm de comprimento. No seu *habitat* natural, os pólipos alimentam-se de vários tipos de pequenos invertebrados (Cargo & Schultz, 1966) os quais são capturados com nematocistos, os organelos urticantes, presentes nos tentáculos. O seu comportamento alimentar é semelhante aos indivíduos pertencentes ao gênero *Hydra* (Lenhoff, 1961) e em vários outros cnidários (Fulton, 1963; Mariscal & Lenhoff, 1968; Lindstedt, 1971; Reimer, 1971) e geralmente podem ser descritos da seguinte forma: após a estimulação, os tentáculos contraem-se e dobram-se em direção à boca. Esta, então, abre-se e, na maioria dos casos, os tentáculos passam pela boca, abrindo e entrando na cavidade gastrointestinal (Figura 4) (Loeb & Blanquet, 1973).

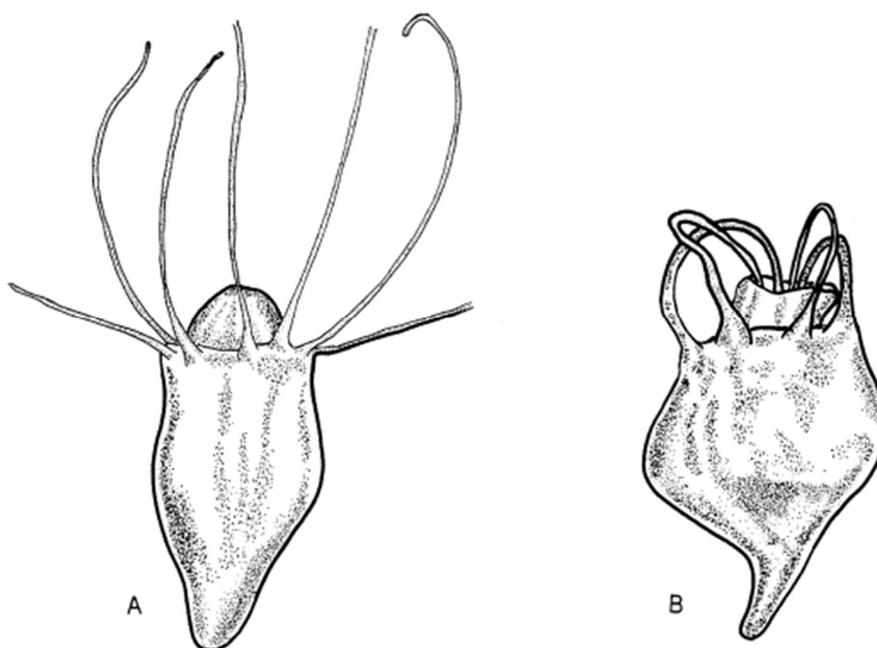


Figura 4: Comportamento alimentar em pólipos de *Chrysaora*; (A) pólipó com boca fechada e tentáculos estendidos antes da introdução do estimulante alimentar; (B) pólipó após exposição. A maioria dos tentáculos foram omitidos dos desenhos para maior clareza. Imagem de Loeb & Blanquet, (1973).

### 1.6. Espécie em estudo: *Chrysaora chesapeakei* (Papenfuss 1936)

Pertencente à classe Scyphozoa do filo Cnidaria, *Chrysaora chesapeakei* (Papenfuss 1936) (Figura 5) é uma espécie pertencente ao grupo das “urtigas-do-mar” a qual possui o nome comum em inglês de *Bay nettle*. É maioritariamente encontrada no estuário Chesapeake (Estados Unidos da América), daí a origem do seu nome. Pode também ser encontrada em águas abertas, salobras e estuarinas.

Dependendo da sua localização no estuário Chesapeake, estas podem apresentar diferentes colorações. As que são encontradas nas mais a montante do estuário, apresentam uma coloração branca “leitosa”. Aquelas que se encontram na mais a jusante, onde a salinidade é mais alta, podem apresentar riscas vermelho-acastanhadas e até roxas. Uma espécime adulta pode apresentar uma umbela com um diâmetro de aproximadamente 20 centímetros e a sua “picada” é considerada moderada, mas não é perigosa. Membros desta espécie têm uma média de vinte e quatro tentáculos, mas este número pode variar. Ocorre também em águas estuarinas do Atlântico Noroeste e em águas costeiras ao largo do Golfo do México (Virginia Institute of Marine Science, 2023).

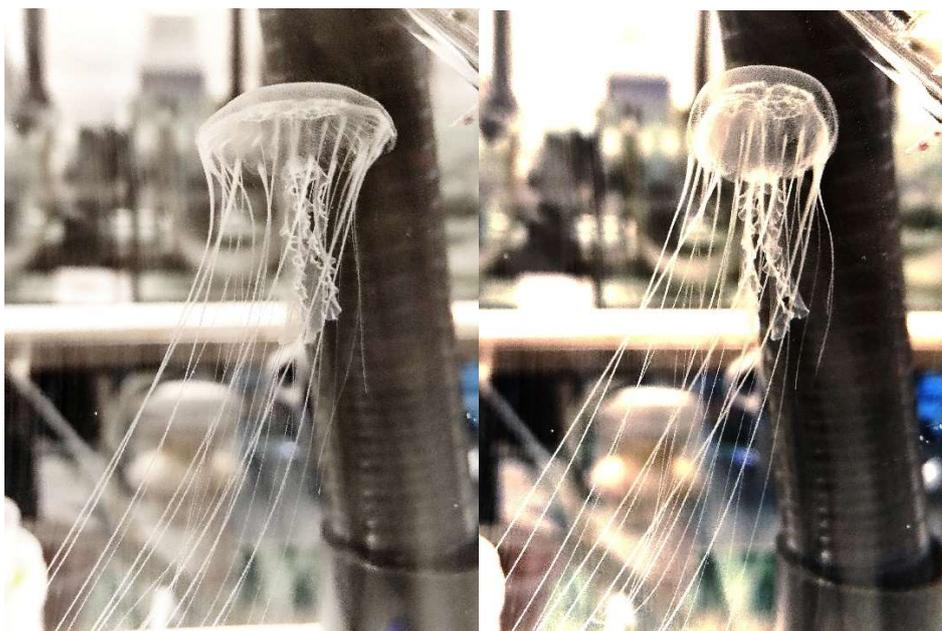


Figura 5: *Chrysaora chesapeakei*. Foto por Miguel Serrão.

Esta medusa consegue capturar presas usando tanto a umbela como os tentáculos e braços orais. Uma vez preso à medusa, o alimento é transferido para os braços orais, onde é envolvido pelas dobras labiais presentes nestes. Estes movimentam a presa o mais próxima possível através de contrações musculares e, se a presa for demasiado grande para entrar no estômago, é digerida dentro dos braços por enzimas proteolíticas extracelulares (Larson,

1986). A sua dieta inclui plâncton, pequenos invertebrados como crustáceos, larvas de mosquito, ovos de peixes e até outras medusas.

*C. chesapeakei* também pode reproduzir-se rapidamente em condições favoráveis, mas esta espécie alterna entre a reprodução sexuada e assexuada. Quando a temperatura da água excede os 17°C na primavera (Cargo & King, 1990), os pólipos bentônicos reproduzem-se assexuadamente através de estrobilação, libertando éfiras. A produção destas é maior quando a salinidade está entre 9 e 25 (Purcell *et al.*, 1999; Stone *et al.*, 2019). A medusa é geralmente gonocórica e, após a maturação, machos e fêmeas libertam os seus gâmetas da cavidade gastrovascular e saem pela boca (Medina, 2018).

A espécie *Chrysaora chesapeakei* tem muitos aspetos em comum com a urtiga-do-mar, *Chrysaora quinquecirrha* (Desor, 1848), que, até 2017, pensou-se que as duas fossem apenas uma espécie. Embora estas espécies se sobreponham nas suas distribuições geográficas, deve notar-se que *C. chesapeakei* aparenta ser uma espécie em grande parte estuarina, enquanto *C. quinquecirrha* é predominantemente costeira, com áreas limitadas de sobreposição entre as duas (Bayha *et al.*, 2017, Ras *et al.*, 2020). Foram diferenciadas através de análises genéticas ao DNA nuclear e mitocondrial, juntamente com várias medidas morfológicas (Bayha *et al.*, 2017). A sua diferenciação morfológica é baseada principalmente no número de tentáculos, forma dos septos radiais, ordem de desenvolvimento dos tentáculos, coloração e medições dos nematocistos (Morandini & Marques, 2010). A diferenciação visual mais óbvia entre as espécies pode ser feita através do número de tentáculos entre ropálios. No caso da *C. quinquecirrha*, esta apresenta cinco tentáculos entre cada ropálio, enquanto a *C. chesapeakei* apresenta apenas três. Esta também possui uma umbrela menor e braços orais mais alongados. Todas estas observações podem ser confirmadas na Figura 6.

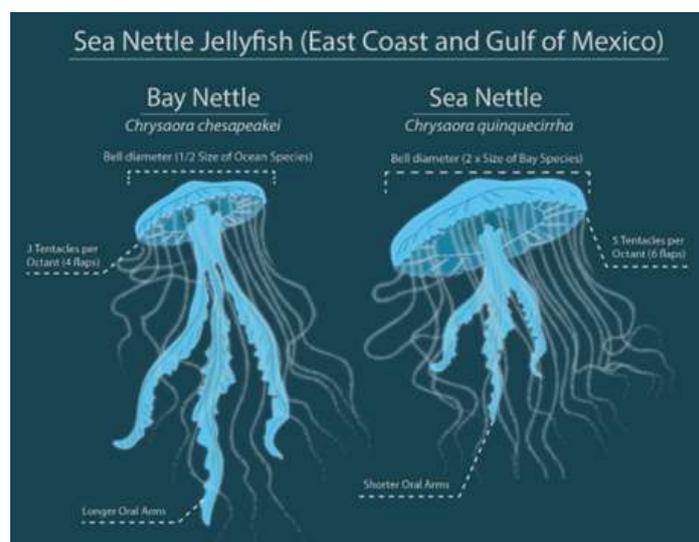


Figura 6: Representação das diferenças entre as espécies *Chrysaora chesapeakei* (Bay Nettle) e *Chrysaora quinquecirrha* (Sea nettle). Imagem de *Smithsonian insider*.

### **1.7. Objetivo**

A aquacultura de medusas é crucial para vários tipos de mercados como o farmacêutico no desenvolvimento de novos medicamentos e também de antivenenos, no mercado para consumo humano que é mais comum em países asiáticos e no mercado ornamental, em que exposições com várias espécies de medusas podem ser apreciadas em aquários públicos e domésticos por todo o mundo.

Pouco é conhecido sobre a nutrição da espécie em estudo e, de acordo com a pesquisa efetuada, não existem muitos ensaios experimentais de nutrição em espécies do género *Chrysaora*. Assim, o objetivo desta tese de mestrado foi avaliar e otimizar o crescimento e o desenvolvimento de indivíduos da espécie *Chrysaora chesapeakei*, desde a fase juvenil até à fase adulta, recorrendo a dietas diferentes, em condições de laboratório, em sistemas de recirculação (RAS). Para tal foram realizadas medições no diâmetro da umbela e foram também feitas anotações nas diferenças morfológicas dos indivíduos das diferentes dietas ao longo do tempo.

## 2. Materiais e Métodos

Os ensaios experimentais realizaram-se nos laboratórios do Edifício CETEMARES, Centro I&D, Formação e Divulgação do Conhecimento Marítimo, do Instituto Politécnico de Leiria e Sede do MARE- IPLeia (Peniche, Portugal).

### 2.1. Cultivos auxiliares

#### 2.1.1. Artémia (*Artemia franciscana* (Kellog, 1906))

Os cistos utilizados durante o ensaio foram da referência “EG Artemia” da *INVE Aquaculture* (<https://www.inveaquaculture.com/>). Estes foram descapsulados e postos a eclodir em garrafas próprias (Figura 7b) num período de 24 horas, com arejamento forte, a uma temperatura ambiente de 25°C e a uma salinidade de 34. Tanto na alimentação dos pólipos como das éfiras foram fornecidos metanúplios recém-eclodidos. Numa fase inicial efetuaram-se diversas contagens para acertar a concentração de artémia e esta foi sempre fornecida a uma concentração de aproximadamente 120 metanúplios ml<sup>-1</sup>.

#### 2.1.2. Rotíferos (*Brachionus plicatilis* (Müller, 1786))

Os rotíferos foram mantidos num tanque cilindro-cónico 20 L (Figura 7a) com arejamento fraco a uma temperatura de 25°C e a salinidade 24. Estes foram alimentados duas vezes por semana com uma mistura de 1 L de duas microalgas, *Nannochloropsis gaditana* (L.M.Lubián, 1982) e *Tetraselmis chuii* (Butcher, 1959), a uma concentração de aproximadamente 10<sup>6</sup> células mL<sup>-1</sup>. Uma vez por semana o tanque era limpo (troca de água parcial), e foram também feitas contagens para garantir que o cultivo se encontrava saudável.

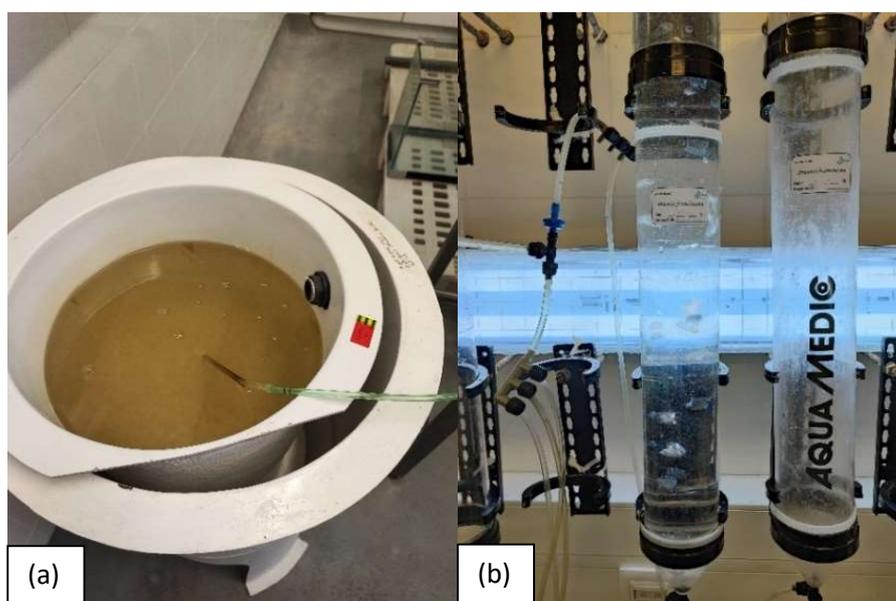


Figura 7: Cultivo de rotíferos (a) e garrafas para eclodir cistos de artémia (b). Fotos por Miguel Serrão

## 2.2. Manutenção dos pólipos

Os pólipos (Figura 8) foram mantidos em *goblets* de 500mL a uma temperatura de 20°C e a uma salinidade de 18 com fotoperíodo de 12:12. Foram fornecidos 3 mL de artémia a 120 metanúplios mL<sup>-1</sup> e 3 mL de rotíferos a 205 rot mL<sup>-1</sup> duas vezes por semana e foram efetuadas trocas de água parciais de 50% também duas vezes por semana para controlo da qualidade da água e salinidade. No início da estrobilação foi fornecido arejamento à colónia, para que as éfiras não ficassem depositadas no fundo do *goblet*.

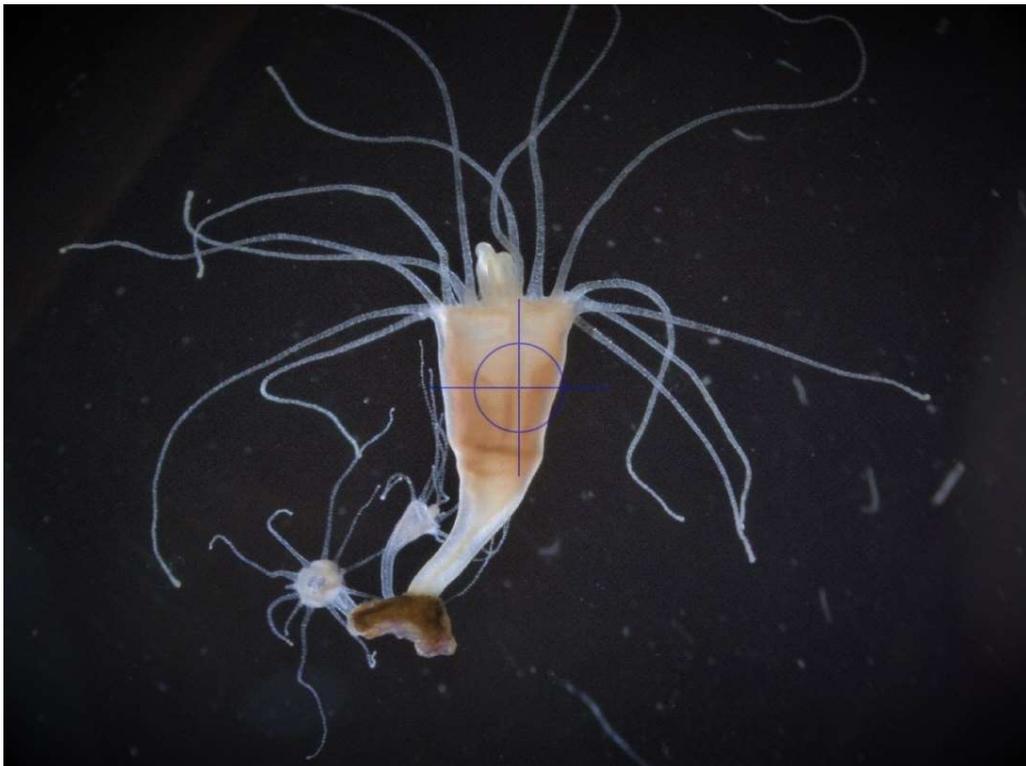


Figura 8: Foto de um Pólipo de *Chrysaora chesapeakei* tirada à lupa binocular. Consegue-se observar reprodução assexuada pela formação de dois pólipos mais pequenos. Foto por Miguel Serrão.

### 2.2.1. Indução da estrobilação

A estrobilação foi induzida através do choque de temperatura que nesta espécie, é feita através do aumento desta. Os pólipos que se encontravam a uma temperatura controlada de 20°C, foram colocados numa sala a 25°C. Uma vez que não se observou estrobilação com este aumento, os pólipos foram então colocados numa camara climática à temperatura de 14°C. Assim, quando fossem colocadas de novo na sala a 25°C, a diferença de temperatura fosse maior. Com este aumento dos 14°C para os 25°C a indução da estrobilação foi realizada com sucesso.

Durante este período os pólipos foram alimentados de igual forma e foram realizadas trocas parciais de água de 50%, também duas vezes por semana, em que se teve o cuidado de manter a água para efetuar as trocas num *goblet* de vidro, dentro da mesma câmara climática, para que esta esteja à mesma temperatura que a água dos pólipos na altura das trocas.

### 2.3. Manutenção das éfiras

Numa fase inicial as éfiras (Figura 9) foram colocadas em *goblets* de 1 L (Figura 10) a uma concentração de 6 ind L<sup>-1</sup>, com arejamento para impedir estas de ficarem no fundo. Os *goblets* foram colocados numa sala com uma temperatura controlada de 20°C, a uma salinidade de 18. No início foram alimentadas diariamente, apenas com 15 mL rotíferos a uma concentração de aproximadamente 100 ind mL<sup>-1</sup>. Após 15 dias iniciou-se a administração de 5 mL de artémia a uma concentração de 120 metanúplios mL<sup>-1</sup>, também diariamente, pois foi na altura que as éfiras desenvolveram os seus braços orais o suficiente, para conseguirem capturar a artémia. Passados 30 dias as pós-éfiras foram transferidas para aquários tipo *Kreisel* para dar início ao ensaio. Foram efetuadas trocas parciais de água de dois em dois dias.



Figura 9: Fotos de éfiras de *Chrysaora chesapeakei* tiradas à lupa binocular. Fotos por Miguel Serrão



Figura 10: *Goblets* com arejamento nos quais foram mantidas as éfiras. Foto por Miguel Serão

## 2.4. Desenho experimental

Devido à insuficiência de éfiras obtidas numa primeira estrobilação, este ensaio foi conduzido em duas etapas, de modo a obter resultados mais fidedignos. Assim, induziram-se duas estrobilações e realizaram-se dois ensaios experimentais em alturas diferentes e os resultados foram analisados como um todo.

### 2.4.1. Tratamentos

O objetivo deste ensaio foi avaliar o efeito de duas dietas diferentes e um grupo de controlo no crescimento de éfiras da espécie *Chrysaora chesapeakei* em laboratório. As dietas testadas consistiram em metanúplios de artémia e preparados de medusa e de peixe, da espécie *Catostylus tagi* e de *Merluccius capensis*, respetivamente. A primeira dieta (D1) consistiu em 4 mL de metanúplios de artémia, à mesma concentração que a fornecida aos pólipos e às éfiras, administrados duas vezes por dia e 0,36g L<sup>-1</sup> de preparado de medusa (*C. tagi*) por aquário. A dieta 2 (D2) consistiu em 4 mL de metanúplios de artémia duas vezes por dia e de 0,045g L<sup>-1</sup>, de preparado de pescada (*M. capensis*). As éfiras foram alimentadas às 9, 13 e 17 horas, sendo que a última alimentação foi de preparado. Foi feito também um grupo de controlo (C) em que foi alimentado apenas com artémia, com as mesmas dosagens e às mesmas horas.

Para cada tratamento com preparados foram feitas 4 réplicas denominadas de D1.1.; D1.2; D1.3; D1.4 e D2.1; D2.2; D2.3; D2.4. Quanto ao controlo foram feitas 8 réplicas para se obter um mesmo número de indivíduos submetidos a preparado e submetidos a apenas artémia, denominadas de C1; C2; C3; C4; C5; C6; C7; C8. Cada réplica foi composta por quatro indivíduos.

#### 2.4.1.1. Preparados

Foram administrados dois tipos de preparados, um composto pela medusa do Tejo *Catostylus tagi*, capturada no seu meio ambiente, em que apenas a campânula foi triturada até o preparado estar com uma consistência de “papa”, com pedaços de tamanho muito reduzido. O preparado resultante foi, então, pesado e congelado em cuvettes de gelo, de forma que cada cubo correspondesse a uma dose diária a ser administrada para todos os aquários. Assim, cada divisória da *cuvette* foi preenchida com 0,72 g de preparado. O segundo preparado foi composto por lombo de pescada (*Merluccius capensis*), pré-congelado adquirido no supermercado. Este foi triturado e congelado de forma idêntica ao primeiro preparado em que cada *cuvette* foi preenchida com 0,09 g.

As doses iniciais de cada preparado foram baseadas na tese de mestrado de Duarte (2019). Foram também realizados pré-ensaios para determinara a quantidade certa de preparado a administrar e acertou-se a dose para os valores descritos anteriormente

Para administrar os preparados, estes foram colocados em recipientes com 120 mL de água proveniente da *sump* de cada sistema RAS, homogeneizou a solução e colocou-se 30 mL desta em cada um dos aquários, de modo a fornecer a mesma dose a cada répilca.

#### 2.4.1.2. Composição nutricional das dietas

As Tabela 1, representa as composições nutricional dos alimentos que compuseram as dietas deste ensaio. Estes incluem metanáuplios de artémia *Artemia franciscana* (Fonte: Léger *et al.*, 1987), a medusa *Catostylus tagi* (Fonte: Morais *et al.*, 2009) e pescada *Merluccius capensis* (Fonte: Marques *et al.*, 2009).

Tabela 1: Composição nutricional dos alimentos utilizados neste ensaio

	<b>Artémia (%)</b>	<b>C. tagi (g/100g)</b>	<b>M. capensis (g/100g)</b>
<b>Proteína</b>	52,2	1,85	17
<b>Lípidos</b>	18,9	0,22	0,8
<b>Hidratos de Carbono</b>	14,8	-	0
<b>Cinza</b>	9,7	18,85	1,3

#### 2.4.2. Sistema RAS

Pelo facto de as medusas da espécie *Chrysaora chesapeakei* não serem organismos filtradores e, uma vez que ao controlo apenas foi fornecido artémia, foram usados apenas dois sistemas RAS (Figura 11) distintos para D1 e D2, e as réplicas de controlo foram distribuídas entre os dois sistemas como está representado na Figura 13, em que as réplicas da dieta de medusa foram colocadas na prateleira de baixo, juntamente com metade do grupo de controlo e as da dieta de pescada na prateleira de cima com as restantes réplicas do controlo.



Figura 11: Fotos dos aquários tipo *Kreisel* onde foram realizados os ensaios. Fotos por Miguel Serrão

Cada sistema RAS consistia de aquários tipo de *Kreisel*, com um volume útil de 1,5L. Cada sistema RAS tinha duas bombas (Eheim 1262), uma que bombeava água da *sump* para o sistema e a outra da *sump* para um *chiller* (HAILEA modelo: HC – 500 A), de volta para a *sump*, para manter a temperatura do sistema estável. Em termos de filtração, continha um filtro UV (Vecton V2 600), sacos com biobolas e um escumador de proteína (TMC, Reef-Skim 1000). Cada aquário continha também dois crivos com malha de 125  $\mu\text{m}$  nos próprios tanques.

O sistema foi mantido a uma temperatura de 20°C a uma salinidade de 18. A salinidade e temperatura forma medidas todos os dias, parâmetros, como nitritos, nitratos, amónia e pH foram medidos uma vez por semana.

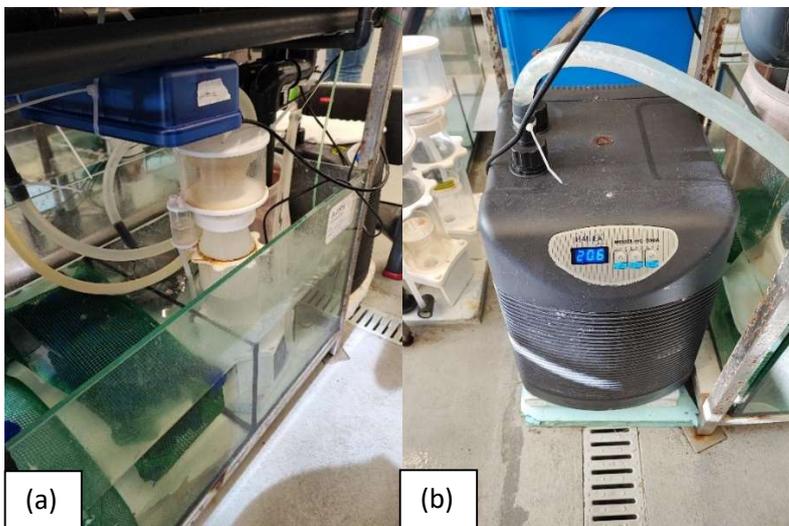


Figura 12: (a) Foto da *sump* contendo biobolas, filtro UV, escumador de proteínas e bombas de recirculação. (b) Chiller. Fotos por Miguel Serrão

Os sistemas de suporte de vida foram desenhados de raiz, no entanto as tubagens, circuito hidráulico e distribuição dos aquários foi desenhada pela equipa do CETEMARES. As figuras 13 e 14, representam os esquemas com a organização do sistema do ensaio e o fluxo de água do sistema de suporte de vida (respetivamente).

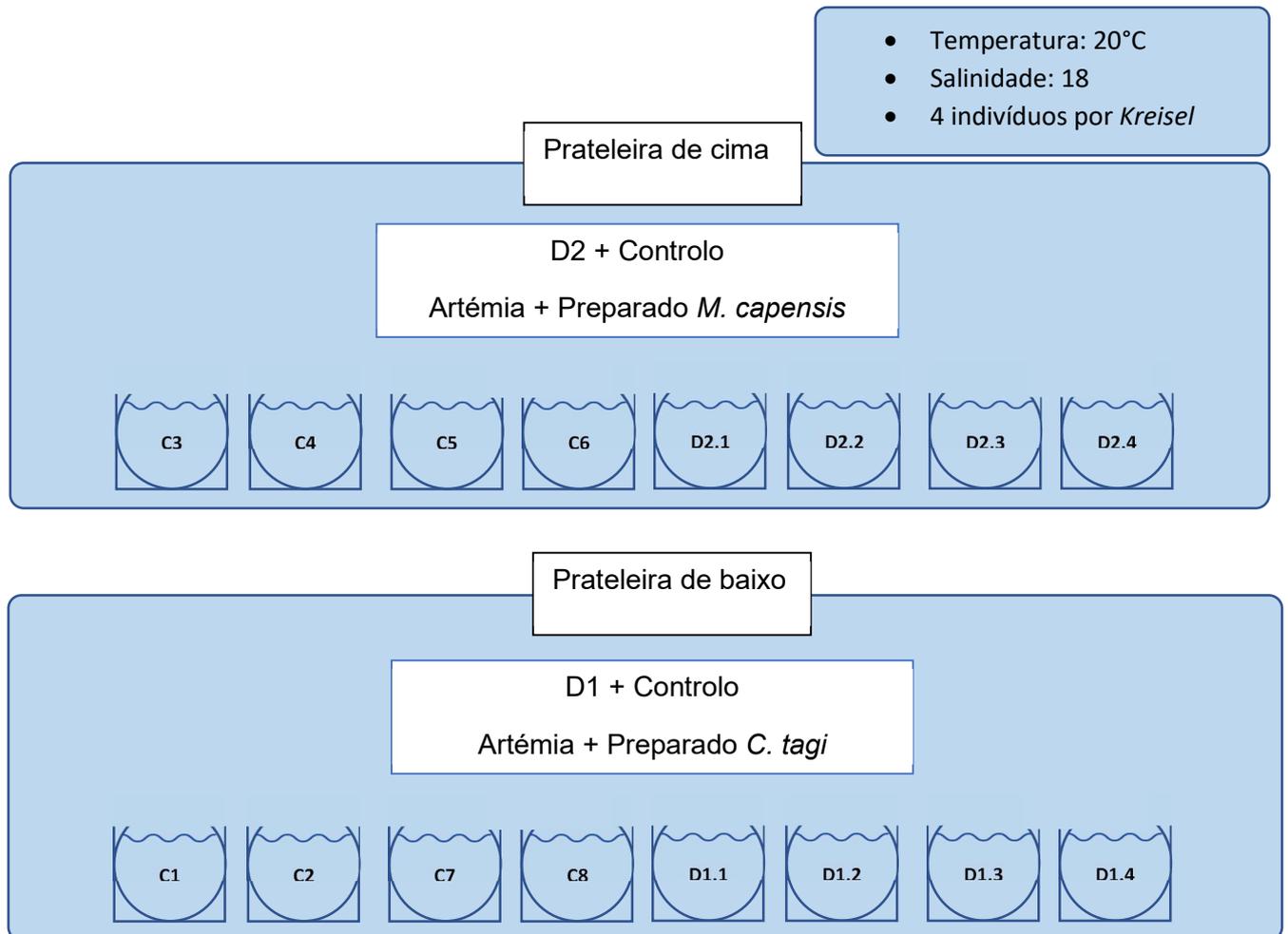


Figura 13. Esquema com a representação visual do desenho experimental.

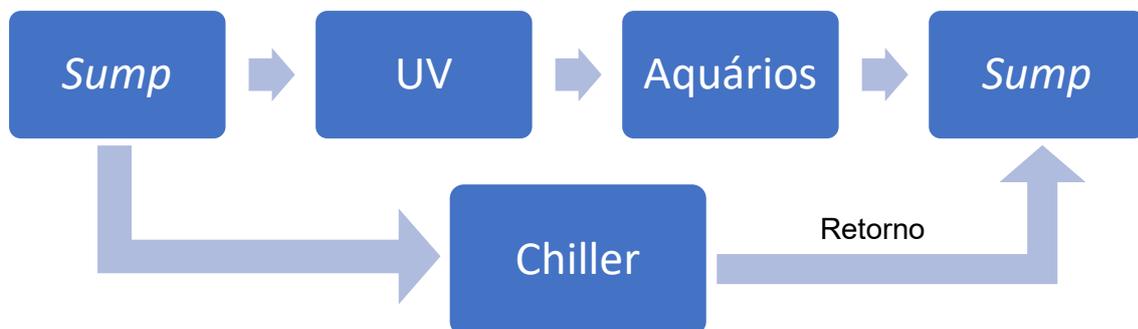


Figura 14. Esquema com a representação do circuito de água dos sistemas.

### 2.4.3. Parâmetros avaliados

Ao longo do ensaio foram efetuadas 4 medições, sendo que estas foram distribuídas por quatro semanas, ou seja, 1 medição por semana. De todas as réplicas foram selecionados 2 indivíduos e, uma vez que cada réplica continha 4 indivíduos e atendendo à grande diferença de tamanhos nos indivíduos em cada réplica, optou-se por apenas medir os 2 indivíduos maiores de cada réplica e posteriormente foram seguidos sempre estes indivíduos. Foram medidas a 2, 9, 16 e 23 de Novembro.

Para este ensaio optou-se por medir o diâmetro da umbela (em milímetros) como está representado na Figura 15a. No início, as éfiras foram medidas recorrendo-se a uma lupa binocular (ZEISS Stemi 305) e ao programa ZEN 2.1 (blue edition). No entanto, devido ao elevado crescimento das medusas, no final do ensaio teve de se recorrer a papel milimétrico, colocando a medusa numa placa de *petri* e medir o diâmetro a olho nu recorrendo a papel milimétrico (Figura 15b).

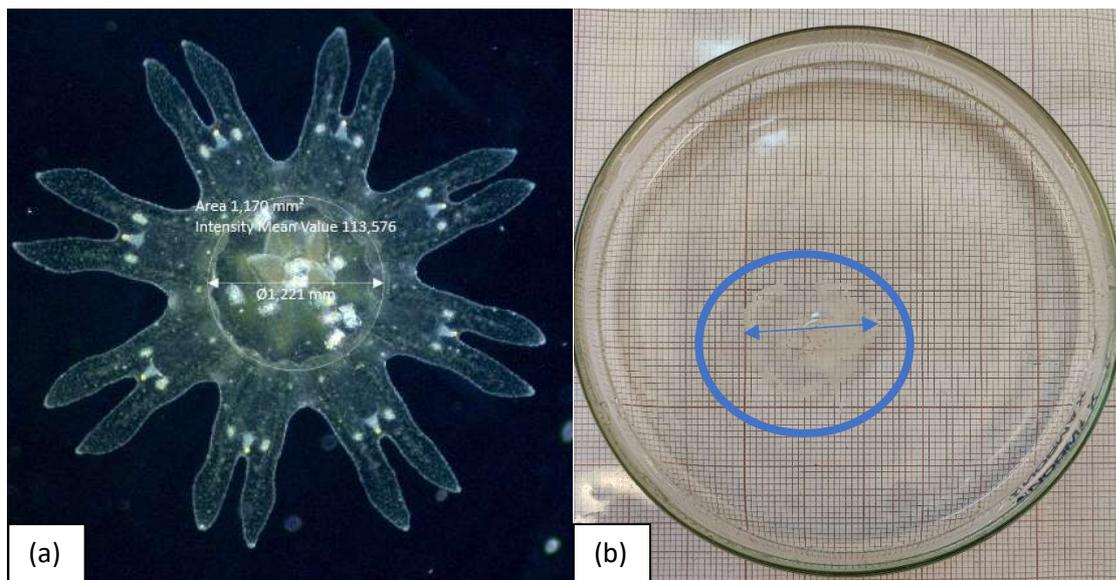


Figura 15: Exemplos visuais para demonstração de como foram feitas as medições com recurso a (a) Lupa binocular e (b) Papel milimétrico. Fotos por Miguel Serrão

Para além das medições descritas anteriormente, também foram feitas observações visuais nas diferenças morfológicas entre as medusas de cada dieta ao longo do tempo, tais como o comprimento dos tentáculos e braços orais.

#### 2.4.4. Análise estatística

Para este ensaio experimental foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de um fator, com o intuito de avaliar o efeito das diferentes dietas no crescimento das medusas da espécie *Chrysaora chesapeakei*, através do incremento do diâmetro da umbela. Os pressupostos (normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias) foram devidamente validados.

Quando aplicável, os resultados apresentam-se na forma de média  $\pm$  desvio-padrão (DP). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando a versão R 4.2.1 (R Development Core Team, 2022), tendo sido aplicado um nível de significância de 5%, ou seja, sempre que  $p\text{-value} < 0,05$ , as diferenças eram consideradas estatisticamente significativas.

#### 2.5. Identificação da espécie

Após o término do ensaio, as medusas foram mantidas em aquários tipo Kreisel de maiores dimensões, para fins recreacionais, para capturar as fotografias apresentadas na Figura 5 e também para ter a confirmação que esta espécie é, de facto, a *Chrysaora chesapeakei*, através da contagem do número de tentáculos (três entre cada ropálio). Já na sua fase adulta, as diferenças morfológicas como o comprimento dos tentáculos e a grossura dos braços orais, entre os indivíduos das duas dietas e do grupo de controlo foram sendo cada vez menos evidentes à medida que estas cresciam.

### 3. Resultados

#### 3.1. Crescimento

Com a análise das figuras 16 e 17 foi possível observar-se que com as dietas de medusa e pescada (D1 e D2), as medusas apresentaram um crescimento mais elevado, comparativamente ao grupo de controlo.

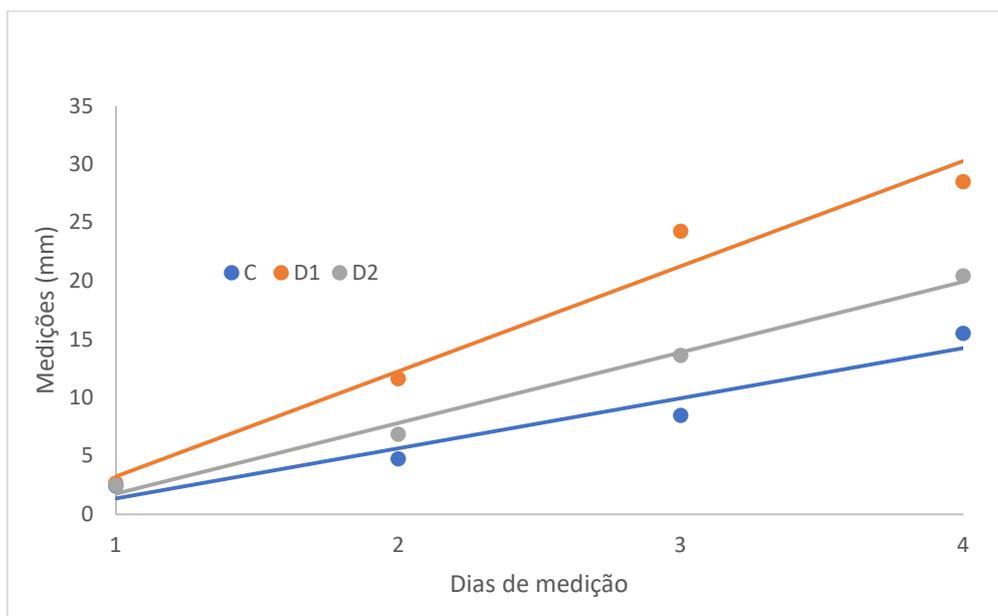


Figura 16: Representação da média dos incrementos no diâmetro da umbela das medusas, para as 3 dietas, nos quatro dias de medições. C=dieta controlo; D1=dieta de medusa; D2=dieta de pescada.

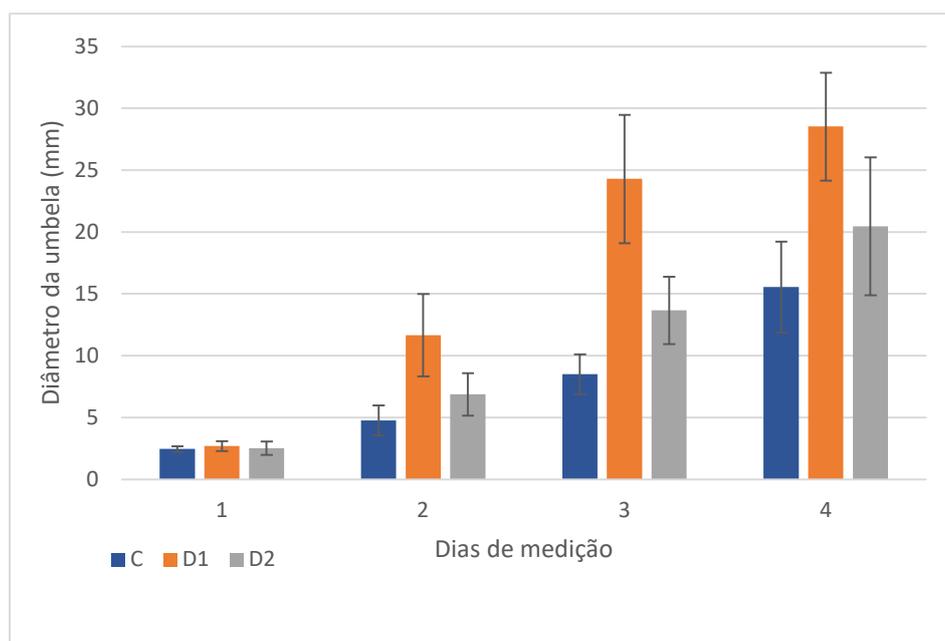


Figura 17: Gráfico de barras da média e desvio-padrão dos incrementos no diâmetro da umbela das medusas, nos quatro dias de medição. C=dieta controlo; D1=dieta de medusa; D2=dieta de pescada.

Foi possível observar que as medusas alimentadas com a dieta de *C. tagi*, apresentaram valores mais elevados no incremento do diâmetro da umbela, em relação a D2 e também em relação ao grupo de controlo. No final do ensaio, a média dos diâmetros da umbela para cada tratamento foram:  $15.54 \pm 4,69$  mm para o grupo de controlo,  $28,52 \pm 3,01$  mm para a D1 e  $20,46 \pm 9,98$  mm para a D2. Em relação ao diâmetro máximo registado, obtiveram-se em D1 (1.4) um indivíduo com 35 mm de diâmetro em D2 (2.2), um indivíduo com 30 mm e no grupo de controlo (C2) com 22,5 mm.

### 3.3. Incrementos totais

As éfiras utilizadas neste ensaio, apresentavam um tamanho médio inicial de  $2,70 \pm 0,59$  mm para D1,  $2,53 \pm 1,00$  mm para D2 e  $2,46 \pm 0,86$  mm para a dieta controlo, não existindo diferenças estatisticamente significativas entre o tamanho médio inicial para os diferentes tratamentos (ANOVA  $p$ -value > 0,05).

Analisando da Figura 18 e a Tabela 4 (em anexo), onde se pode observar o incremento do diâmetro da umbela, podemos concluir que o maior incremento foi registado em D1, réplica 1.3 com um incremento de 28,03 mm. Em D2 o maior foi na réplica 2.1 com 27,00 mm e o no grupo de controlo na réplica C2 com 19,17 mm.

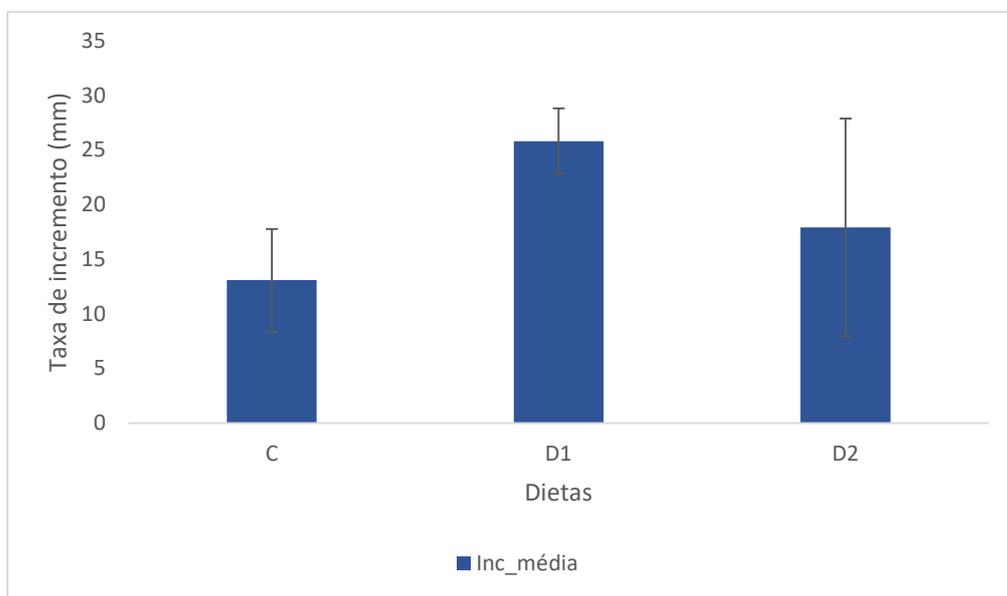


Figura 18: Representação gráfica da média dos incrementos no diâmetro da umbela (mm), no último dia de medição. C – dieta controlo, D1 – dieta de medusa, D2 – dieta de pescada.

Observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre a dieta controlo e a dieta de medusa (ANOVA  $p\text{-value}<0,05$ ). No entanto, não se obtiveram diferenças nem entre a dieta de medusa e dieta de pescada nem entre o controlo e a dieta de pescada (Tabela 5 em anexo).

Analisando a Figura 19 que representa a média dos incrementos ao longo de todos os dias de ensaio, podemos observar um declínio no incremento a partir do terceiro dia em D1 e D2, sendo que este foi mais evidente em D1. No entanto, o mesmo não se verifica no grupo de controlo.

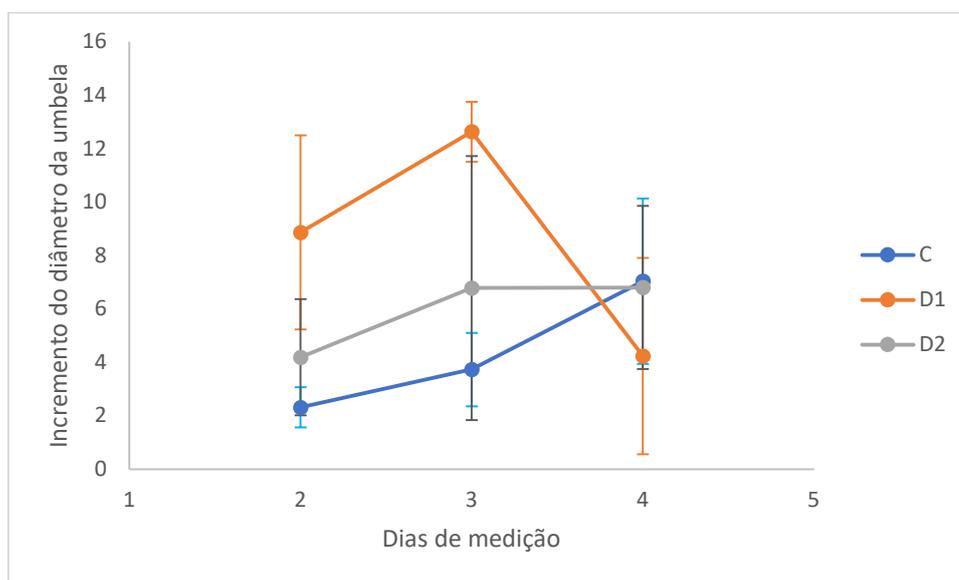


Figura 19: Média e desvio padrão dos incrementos do diâmetro da umbela nos dias 2, 3 e 4 de medição.

### 3.4. Alterações morfológicas

Ao longo deste ensaio foram feitas várias observações na morfologia tais como comprimento e diâmetro dos tentáculos e braços orais, ao longo do desenvolvimento das medusas nos diferentes tratamentos. Passados seis dias, desde o começo do ensaio, notou-se que os indivíduos maiores de D1 apresentavam tentáculos mais alongados que D2, no entanto, os braços orais de D2 eram maiores e mais robustos. Ao final de doze dias verificaram-se as mesmas diferenças. Isto pode ser explicado devido ao facto de que D2 era composta por pedaços de alimento de maiores dimensões que D1. Finalmente, passados dezassete dias, os indivíduos de D1 começaram a desenvolver mais pares de tentáculos na sua umbela, ao contrário dos de D2.

Já na sua fase adulta, quando foram mantidas para fins recreacionais, as diferenças morfológicas como o comprimento dos tentáculos e a grossura dos braços orais, entre os indivíduos das duas dietas e do grupo de controlo foram sendo cada vez menos evidentes à medida que estas cresciam.

## 4. Discussão

### 4.1. Viabilidade do ensaio

Segundo Larson (1986), tendo em conta a sua morfologia (tentáculos e braços orais compridos), a medusa *Chrysaora chesapeakei* aparenta estar mais adaptada a uma alimentação em macrozooplâncton como ctenóforos o que coincide com os resultados deste estudo, em que se obtiveram diferenças estatisticamente significativas entre o controlo e a dieta de preparado de medusa, no incremento do diâmetro da umbela. No entanto, medusas do género *Chrysaora* são conhecidas por se alimentarem numa ampla variedade de tanto macro como microzooplâncton e são conhecidas por serem oportunistas, alimentando-se numa grande variedade de presas (Larson, 1986). Ao terem este comportamento oportunista, as medusas deste ensaio aceitaram o preparado de medusa como alimento, no entanto, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre as duas dietas e entre o grupo de controlo.

Em laboratório medusas do género *Chrysaora* já foram mantidas com sucesso, tanto com dietas de outras medusas (Delap, 1901), como outros tipos de presas (por exemplo ctenóforos e poliquetas, Cargo & Schultz, 1966, 1967; Miller, 1974), em que se obteve crescimentos mais elevados quando fornecidas medusas.

Larson (1986) afirma que medir apenas variações no diâmetro da umbela, em espécies do género *Chrysaora*, não é um bom indicador de crescimento porque diferenças em biomassa podem ocorrer com pequenas ou nenhuma mudanças no diâmetro da umbela. As observações feitas neste ensaio, verificaram um desenvolvimento mais acentuado dos braços orais em medusas alimentadas com pescada. Isto pode ser explicado porque D2 era composta por pedaços de alimento de maiores dimensões que a D1. Em futuras experiências, seria importante, efetuar pesagens ou realizar outros tipos de medições como distância de ropálio a ropálio de modo a garantir a viabilidade dos resultados obtidos em termos de crescimento.

### 4.2. Crescimento

Larson (1986) realizou um estudo em que três medusas pertencentes à espécie *Chrysaora quinquecirrha* (25, 150 e 300 g peso húmido ou 55, 125, e 150 mm em diâmetro) foram mantidas numa dieta de *Cassiopea frondosa* (Pallas, 1774) durante 60 dias de modo que o crescimento e eficiência de crescimento pudessem ser medidos. Os espécimes mais pequenos mostraram crescimento rápido com uma média de aumento de peso húmido de 4 e 8 g (respetivamente) por dia. O indivíduo maior, uma fêmea sexualmente madura, aumentou

apenas 1,5 g de peso húmido por dia. Durante este período, a alteração do maior espécime foi de apenas 5 mm, sugerindo que, alterações no diâmetro da umbela não é um indicador adequado de crescimento. Neste trabalho, observou-se um grande incremento (13,15 mm) com a dieta de medusa em apenas uma semana, indicando que este tipo de dieta poderá potencializar um crescimento otimizado nestas espécies de medusas.

Cruz (2015) testou três dietas diferentes, *Artemia salina* (Linnaeus, 1758), *Acartia grani* (Sars G.O., 1904) e *Aurelia aurita* no crescimento de éfiras de *Chrysaora quinquecirrha*, e verificou que a dieta que obteve uma maior taxa de crescimento foi a de *Aurelia aurita*. Estes dados vão de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, em que se obteve uma taxa de crescimento mais elevada com o fornecimento de organismos gelatinosos. Purcell (1992) examinou conteúdos estomacais e concluiu que todas as espécies de medusas, examinadas até à data, consomem uma grande variedade de zooplâncton, consumindo frequentemente organismos gelatinosos. É também prudente anotar que nem a medusa utilizada na alimentação dos espécimes deste ensaio (*Catostylus tagi*) nem a usada por Cruz (2015), *Aurelia aurita*, fazem parte da alimentação natural de *C. chesapeakei* e *C. quinquecirrha* (respetivamente).

Neste ensaio, notou-se que sobrava sempre artémia nos aquários do grupo de controlo, mas no caso da dieta de medusa, a partir do terceiro dia de medição não sobrava nem artémia nem restos de preparados. Em algumas réplicas de D2, reparou-se que havia bastantes restos de preparado no fundo do aquário, provavelmente por causa do peso dos pedaços, o que nos leva a concluir que estas alimentavam-se maioritariamente de metanúplios de artémia, daí a taxa de crescimento ao longo do ensaio (Figura 16) e o incremento do diâmetro da umbela (Figura 18) ser mais reduzido comparativamente a D1. Purcell *et al.* (2013) afirmam que metanúplios de artémia recém-eclodidos são usados para alimentar a maioria das medusas. Estes servem bem como base durante todo o ciclo de vida; no entanto, suplementos nutricionais são necessários. Sem suplementos à sua dieta, medusas mantidas em cativeiro podem ficar deformadas e não atingirem um tamanho desejável.

Neste trabalho, foi possível observar-se um declínio no incremento de crescimento do terceiro para o quarto dia de medição em D1 e D2, enquanto no caso do grupo controlo, este manteve-se sempre a aumentar durante o ensaio, o que poderá significar que, nesta fase de desenvolvimento, as medusas necessitavam de um aquário tipo *Kreisel* maior.

Outro fator que provavelmente interferiu na captura do alimento das medusas da dieta de pescada foi o *design* do aquário tipo *Kreisel*. Estes aquários, onde se realizou o ensaio, têm as saídas de água inseridas no próprio aquário apontadas para a parede criando um efeito de corrente circular para a manutenção deste tipo de animais. O que se observou,

constantemente, foi que as medusas conseguiam captar um pedaço de preparado, no entanto ao se posicionarem à frente da saída de água, a força desta muita das vezes era suficiente, para que o preparado fosse retirado dos braços da éfira. Quando as medusas se tornaram maiores, isto deixou de ser um problema visto que já possuíam, não só braços orais mais robustos, como também tentáculos mais alongados. Kreps *et al.* (1997), afirmam que, em experiências laboratoriais, pequenos indivíduos da espécie *Chrysaora quinquecirrha* (diâmetro de 20 mm) consumiram parcialmente ctenóforos maiores que as próprias medusas. Confirmando assim que, a partir de um certo tamanho, as medusas ficam aptas a captar alimento de maiores dimensões. Concluindo então, que o preparado de pescada só se torna eficiente, quando as medusas forem maiores, ou então será importante triturar mais o preparado em estágios iniciais.

Segundo Larson (1986), as taxas de alimentação de espécies do género *Chrysaora* com ctenóforos (Miller 1974) são cerca de 14 vezes maiores do que as taxas de alimentação com náuplios de artémia (Feigenbaum *et al.*, 1982). Além disso, as taxas de alimentação de *Chrysaora quinquecirrha* alimentada com copépodes podem ser menores do que as alimentadas com náuplios de artémia, devido à maior mobilidade dos copépodes (Clifford & Cargo, 1978). A mobilidade do alimento também tem de ser levada em consideração, no entanto, como os tratamentos deste ensaio foram realizados, em parte, com alimento inerte, e considerando o reduzido espaço do aquário, este problema apenas foi mais evidente numa fase inicial, com o fornecimento de artémia, quando as éfiras eram mais pequenas.

Bâmstedt *et al.* 2001, realizaram um ensaio com medusas-lua (*Aurelia aurita*) em que testaram dietas com metanáuplios de artémia e com mexilhão (*Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758)), variando também a temperatura. As medições efetuadas foram o diâmetro da umbela e a distância entre os ropálios opostos. Os autores chegaram à conclusão de que se obtiveram melhores resultados no que toca ao crescimento quando se fornecia mexilhão em vez de apenas artémia.

Segundo Cargo & Schultz (1966) as medusas são seletivas no seu alimento. Estes autores forneceram peixes cortados em pedaços, peixes pequenos e poliquetas vivas (*Glycera dibranchiata*) como alimento a medusas da espécie *Chrysaora quinquecirrha*. Nem todos os alimentos foram aceites pelas medusas; por exemplo, alimentos invulgares como as poliquetas, apesar de no início serem captadas, foram rapidamente rejeitadas, antes de ocorrer a digestão. Apesar de as medusas da espécie *Chrysaora chesapeakei* aceitarem o preparado de pescada e apresentarem um bom crescimento, podemos concluir que este não é o ideal.

Algumas espécies de medusas alimentam-se de outras na natureza. Isto é importante porque espécies que se alimentam de outras medusas, não vão crescer corretamente sem outras medusas na sua dieta (Purcell *et al.*, 2013). Esta afirmação confirma-se com os resultados obtidos nestes ensaios nutricionais. Não só se obtiveram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de controlo e D1, como também se verificaram diferenças morfológicas entre tratamentos, como o desenvolvimento de braços orais mais pronunciados nos indivíduos de D2 comparativamente aos de D1 e do grupo de controlo. Isto pode ser explicado devido ao facto de que D2 era composta por pedaços de alimento de maiores dimensões que a D1. De facto, as dietas de medusas, pertencentes ao filo Scyphozoa, como a *Chrysaora quinquecirrha*, contêm muitos organismos gelatinosos como suas presas. A seleção de presas gelatinosas aparenta ser previsível devido ao tamanho elevado das presas, proteção pobre e natação fraca (Kreps *et al.*, 1997).

Numa *review* realizada por Purcell (1991), o autor descreve e enumera diversas presas de cnidários, inclusive algumas espécies do género *Chrysaora*. A sua pesquisa revelou que a espécie *Chrysaora hysoscella* (Linnaeus, 1767) se alimentava de medusas pertencentes à classe Hydromedusae como a *Amphinema dinema* (Péron & Lesueur, 1810), *Clytia gregari* (Agassiz, 1862), *Cosmetira pilosella* (Forbes, 1848), *Obelia spp.* Também o caso da *Chrysaora melanaster* (Brandt, 1835) que se alimentava de *Eutonina indicans* (Romanes, 1876) e o caso de *Chrysaora quinquecirrha* que se alimentava do ctenóforo *Mnemiopsis leidyi*. O autor também apresentou espécies que se alimentam de outras Cifomedusas como é o caso de *Cyanea capillata* que se alimenta de *Aurelia aurita* e também de *Chrysaora melanaster*. Revelando que a predação de medusas por outras é, de facto, uma ocorrência natural e essencial para a sua nutrição e desenvolvimento.

## 5. Conclusão

Ensaio nutricionais com a espécie do género *Chrysaora chesapeakei* são muito escassos, sendo necessário mais estudos com espécies deste género. Neste trabalho, apenas foram testadas duas dietas (mais um grupo de controlo), em que ambas eram compostas por organismos que não são encontrados no *habitat* natural da espécie em estudo, logo não são consumidas por esta.

Com este estudo foi possível comprovar que um alimento adicional, para além de artémia, é essencial para o crescimento de indivíduos da espécie *Chrysaora chesapeakei*, uma vez que houve diferenças estatisticamente significativas entre o controlo, em que apenas foi fornecido artémia, e a dieta em que foi administrado preparado de *Catostylus tagi*.

Também foi possível concluir que entre os preparados utilizados, os indivíduos desta espécie apresentaram um crescimento mais acentuado com o preparado de *C. tagi*, em comparação com o controlo e com a dieta de *M. capensis*. Foi notório também, que os indivíduos expostos ao tratamento com *C. tagi* desenvolveram os tentáculos mais depressa do que com o tratamento com *M. capensis*. Em contrapartida, os indivíduos expostos à dieta de pescada desenvolveram os braços orais mais cedo.

No caso de D2, notou-se no início que as éfiras tiveram dificuldades em capturar os pedaços de preparado devido não só ao seu tamanho, como também devido ao funcionamento de um aquário tipo *Kreisel*. Concluindo assim, que, numa fase inicial de crescimento, a dieta de pescada não é ideal para esta espécie, mas tem efeitos positivos quando as medusas apresentam maiores dimensões.

Apenas se obtiveram diferenças estatisticamente (ANOVA  $p$ -value<0,05) significativas entre D1 e o grupo de controlo, demonstrando, assim, que das dietas testadas nesta tese, a mais adequada para o crescimento desta espécie é, de facto, metanúplios de artémia recém-eclodidos e o preparado de *Catostylus tagi* o que, sendo esta espécie conhecida por predar outras medusas, é um resultado esperado. No entanto, é importante não menosprezar o fornecimento de metanúplios de artémia, que também são essenciais para o crescimento destas medusas, especialmente no início do seu desenvolvimento.

### 5.1. Pontos a melhorar no futuro

- Prolongar o tempo do ensaio de maneira que os indivíduos possam crescer ainda mais e, eventualmente, transferi-los para aquários *Kreisel* de maiores dimensões de maneira a poderem ser obtidos resultados mais robustos e fidedignos.
- Outro fenómeno que se observou foi a redução de alimento presente nos aquários de um dia para o outro, à medida que os indivíduos aumentavam de tamanho. Deste modo era também interessante aumentar a dose de alimento fornecido à medida que os espécimes fossem crescendo.
- Como foi apontado na discussão desta tese, espécies do género *Chrysaora* têm uma dieta muito variada, de maneira que, testar outros tipos de alimentos como ctenóforos, mexilhão e até outras espécies de medusas, como *Aurelia aurita*, pode ser relevante.

## 6. Referências bibliográficas

Acuña, J. L., López-Urrutia, Á., & Colin, S. (2011). Faking giants: the evolution of high prey clearance rates in jellyfishes. *science*, 333(6049), 1627-1629.

Arai, M. N. (1997). *A Functional Biology of Scyphozoa*. Chapman e Hall, first edition 1997. DOI: 10.1007/ 978-94-009-1497-1

Båmstedt, U., Wild, B., & Martinussen, M. (2001). Significance of food type for growth of ephyrae *Aurelia aurita* (Scyphozoa). *Marine Biology*, 139, 641-650.

Barz, K., & Hirche, H. J. (2007). Abundance, distribution and prey composition of scyphomedusae in the southern North Sea. *Marine Biology*, 151(3), 1021-1033.

Bayha, K. M., Collins, A. G., & Gaffney, P. M. (2017). Multigene phylogeny of the scyphozoan jellyfish family Pelagiidae reveals that the common US Atlantic Sea nettle comprises two distinct species (*Chrysaora quinquecirrha* and *C. chesapeakei*). *PeerJ*, 5, e3863.

Brodeur, R. D., Sugisaki, H., & Hunt Jr, G. L. (2002). Increases in jellyfish biomass in the Bering Sea: implications for the ecosystem. *Marine Ecology Progress Series*, 233, 89-103.

Brotz, L. (2016). *Jellyfish fisheries of the world* (Doctoral dissertation, University of British Columbia).

Brotz, L., & Pauly, D. (2016). Studying jellyfish fisheries: toward accurate national catch reports and appropriate methods for stock assessments. *Jellyfish: ecology, distribution patterns and human interactions*. Nova Publishers, New York, 313-329.

Brotz, L., Schiariti, A., López-Martínez, J., Álvarez-Tello, J., Peggy Hsieh, Y. H., Jones, R. P., Quinones, J., Dong, Z., Morandi., Preciado, M., Laaz, E., & Mianzan, H. (2017). Jellyfish fisheries in the Americas: origin, state of the art, and perspectives on new fishing grounds. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 27, 1-29.

Cargo, D. G., & King, D. R. (1990). Forecasting the abundance of the sea nettle, *Chrysaora quinquecirrha*, in the Chesapeake Bay. *Estuaries*, 13, 486-491.

Cargo, D. G., & Schultz, L. P. (1966). Notes on the biology of the sea nettle, *Chrysaora quinquecirrha*, in Chesapeake Bay. *Chesapeake Science*, 7(2), 95-100.

Cargo, D. G., & Schultz, L. P. (1967). Further observations on the biology of the sea nettle and jellyfishes in Chesapeake Bay. *Chesapeake Science*, 8, 209-220.

Ceh, J., Gonzalez, J., Pacheco, A. S., & Riascos, J. M. (2015). The elusive life cycle of scyphozoan jellyfish—metagenesis revisited. *Scientific reports*, 5(1), 12037.

Clifford, H. C., & Cargo, D. G. (1978). Feeding rates of the sea nettle, *Chrysaora quinquecirrha*, under laboratory conditions. *Estuaries*, 1, 58-61.

Crow, G. L., Howard, M., Levesque, V., Matsushige, L., Spina, S., Schaadt, M., Sowinski, N., Widmer, C. L., & Upton, B. (2013). Jellyfish (Cnidaria/Ctenophora) Care Manual. Association of Zoos and Aquariums in association with the AZA Animal Welfare Committee, Silver Spring.

Cruz, G. D. C. (2015). Growth and development of *Chrysaora quinquecirrha* reared under different diet compositions (Master's thesis), Universidade de Lisboa Faculdade de ciências

Dawson, M. N. (2003). Macro-morphological variation among cryptic species of the moon jellyfish, *Aurelia* (Cnidaria: Scyphozoa). *Marine Biology*, 143, 369-379.

Delap, M. J. (1901). Notes on the rearing of *Chrysaora isosceles* in an aquarium. *The Irish Naturalist*, 10(2), 25-28.

Duarte, I. (2018) Efeito da dieta no Crescimento da Medusa *Phyllorhiza punctata*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Instituto Politécnico de Leiria, Peniche.

Duarte, I. M., Marques, S. C., Leandro, S. M., & Calado, R. (2021). An overview of jellyfish aquaculture: for food, feed, pharma and fun. *Reviews in Aquaculture*, 14(1), 265-287.

Dumont, H. J. (1994). The distribution and ecology of the fresh-and brackish-water medusae of the world. *Studies on the ecology of tropical zooplankton*, 1-12.

Edwards, H. & Breazeale C. (2012). *Cnidarians Stinging Beauties*. The Institute for Marine Mammal Studies (IMMS).

Feigenbaum, D. L., Knowles, D., & Kelly, M. (1982). Trophic interactions of the sea nettle (No. 82-2). *Chrysaora quinquecirrha*. Technical Rept.

Fulton, C. (1963). Proline control of the feeding reaction of *Cordylophora*. *The Journal of general physiology*, 46(4), 823-837.

Gordon, M. & Seymour, J. (2012). Growth, Development and Temporal Variation in the Onset of Six *Chironex fleckeri* Medusae Seasons: A Contribution to Understanding Jellyfish Ecology. *PLoS ONE* 7(2):e31277. DOI: 10.1371/journal.pone.0031277.

Hale, G. (1999). The classification and distribution of the class Scyphozoa. Eugene: University of Oregon.

Hsieh, Y. P., Leong, F. M., & Rudloe, J. (2001). Jellyfish as food. In Jellyfish Blooms: Ecological and Societal Importance: Proceedings of the International Conference on Jellyfish Blooms, held in Gulf Shores, Alabama, 12–14 January 2000 (pp. 11-17). Springer Netherlands.

Kintner, A. H., Seymour, J. E., & Edwards, S. L. (2005). Variation in lethality and effects of two Australian chirodropid jellyfish venoms in fish. *Toxicon*, 46(6), 699-708.

Kreps, T. A., Purcell, J. E., & Heidelberg, K. B. (1997). Escape of the ctenophore *Mnemiopsis leidyi* from the scyphomedusa predator *Chrysaora quinquecirrha*. *Marine Biology*, 128, 441-446.

Larson, R. J. (1986). The feeding and growth of the sea nettle, *Chrysaora quinquecirrha* (Desor), in the laboratory. *Estuaries*, 9(4), 376-379.

Léger, P., Bengtson, D. A., Sorgeloos, P., Simpson, K. L., & Beck, A. D. (1987). The nutritional value of *Artemia*: a review. *Artemia research and its applications*, 3, 357-372.

Lenhoff, H. M. (1961). Activation of the feeding reflex in *Hydra littoralis*: I. Role played by reduced glutathione, and quantitative assay of the feeding reflex. *The Journal of General Physiology*, 45(2), 331-344.

Lesniewski, T. J., Gambill, M., Holst, S., Peck, M. A., Algueró-Muñiz, M., Haunost, M., Malzahn, A. M. & Boersma, M. (2015). Effects of food and CO<sub>2</sub> on growth dynamics of polyps of two scyphozoan species (*Cyanea capillata* and *Chrysaora hysoscella*). *Marine Biology*, 162(6), 1371-1382.

Lindstedt, K. J. (1971). Chemical control of feeding behavior. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 39(3), 553-581.

Loeb, M. J., & Blanquet, R. S. (1973). Feeding behaviour in polyps of the Chesapeake Bay Sea nettle, *Chrysaora quinquecirrha* (Desor, 1848). *The Biological Bulletin*, 145(1), 150-158.

Loeb, M. J., & Hayes, D. K. (1981). Strobilation in the Chesapeake Bay Sea nettle, *Chrysaora quinquecirrha*. V. Neurons and neurosecretion. *Transactions of the American Microscopical Society*, 264-270.

Lynam, C. P., Gibbons, M. J., Axelsen, B. E., Sparks, C. A., Coetzee, J., Heywood, B. G., & Brierley, A. S. (2006). Jellyfish overtake fish in a heavily fished ecosystem. *Current biology*, 16(13), R492-R493.

Mariottini, G. L., & Pane, L. (2010). Mediterranean jellyfish venoms: A review on scyphomedusae. *Marine drugs*, 8(4), 1122-1152.

Mariscal, R. N., & Lenhoff, H. M. (1968). The chemical control of feeding behaviour in *Cyphastrea ocellina* and in some other Hawaiian corals. *Journal of Experimental Biology*, 49(3), 689-699.

Marques, I., Botelho, G., & Guiné, R. (2019). Comparative study on nutritional composition of fish available in Portugal. *Nutrition & Food Science*, 49(5), 925-941.

Medina, J. C. (2018). Evidence of POGO Transposable Elements in the Atlantic Bay Nettle (*Chrysaora chesapeakei*) Genome.

Miller, R. J. (1974). Distribution and biomass of an estuarine ctenophore population, *Mnemiopsis leidyi* (A. Agassiz). *Chesapeake Science*, 15, 1-8.

Morais, Z. B., Pintão, A. M., Costa, I. M., Calejo, M. T., Bandarra, N. M., & Abreu, P. (2009). Composition and in vitro antioxidant effects of jellyfish *Catostylus tagi* from Sado Estuary (SW Portugal). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18(1-2), 90-107.

Morandini, A. C., & Marques, A. C. (2010). Revision of the genus *Chrysaora* Péron & Lesueur, 1810 (Cnidaria: Scyphozoa). *Zootaxa*, 2464(1), 1-97.

Omori, M., & Nakano, E. (2001). Jellyfish fisheries in southeast Asia. *Hydrobiologia*, 451, 19-26.

Prieto, L., Astorga, D., Navarro, G. & Ruiz, J. (2010). Environmental Control of Phase Transition and Polyp Survival of a Massive-Outbreaker Jellyfish. *PLoS ONE* 5(11): e13793. DOI: 10.1371/journal.pone.0013793.

Purcell, J. E. (1991). A review of cnidarians and ctenophores feeding on competitors in the plankton. *Hydrobiologia*, 216(1), 335-342.

Purcell, J. E. (1992). Effects of predation by the scyphomedusan *Chrysaora quinquecirrha* on zooplankton populations in Chesapeake Bay, USA. *Marine Ecology-progress Series*, 87, 65-65.

Purcell, J. E. (2012). Jellyfish and ctenophore blooms coincide with human proliferations and environmental perturbations. *Annual review of marine science*, 4, 209-235.

Purcell, J. E., Baxter, E. J., & Fuentes, V. L. (2013). Jellyfish as products and problems of aquaculture. In *Advances in aquaculture hatchery technology* (pp. 404-430). Woodhead Publishing.

Purcell, J. E., Uye, S. I., & Lo, W. T. (2007). Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology Progress Series*, 350, 153-174.

Purcell, J. E., White, J. R., Nemazie, D. A., & Wright, D. A. (1999). Temperature, salinity and food effects on asexual reproduction and abundance of the scyphozoan *Chrysaora quinquecirrha*. *Marine Ecology Progress Series*, 180, 187-196.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ras, V., Neethling, S., Engelbrecht, A., Morandini, A. C., Bayha, K. M., Skrypzeck, H., & Gibbons, M. J. (2020). There are three species of *Chrysaora* (Scyphozoa: Discomedusae) in the Benguela upwelling ecosystem, not two. *Zootaxa*, 4778(3), 401-438.

Raskoff, K. A., Sommer, F. A., Hamner, W. M., & Cross, K. M. (2003). Collection and culture techniques for gelatinous zooplankton. *The Biological Bulletin*, 204(1), 68-80.

Reimer, A. A. (1971). Observations on the relationships between several species of tropical zoanthids (Zoanthidea, Coelenterata) and their zooxanthellae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 7(2), 207-214.

Richardson, A. J., Bakun, A., Hays, G. C., & Gibbons, M. J. (2009). The jellyfish joyride: causes, consequences and management responses to a more gelatinous future. *Trends in ecology & evolution*, 24(6), 312-322.

Robinson, K. L., Ruzicka, J. J., Decker, M. B., Brodeur, R. D., Hernandez, F. J., Quiñones, J., Acha, E. M., Uye, S., Mianzan H., & Graham, W. M. (2014). Jellyfish, forage fish, and the world's major fisheries. *Oceanography*, 27(4), 104-115.

Sabatés, A., Pages, F., Atienza, D., Fuentes, V., Purcell, J. E., & Gili, J. M. (2010). Planktonic cnidarian distribution and feeding of *Pelagia noctiluca* in the NW Mediterranean Sea. *Jellyfish Blooms: New Problems and Solutions*, 153-165.

Stone, J. P., Steinberg, D. K., & Fabrizio, M. C. (2019). Long-term changes in gelatinous zooplankton in Chesapeake Bay, USA: Environmental controls and interspecific interactions. *Estuaries and Coasts*, 42(2), 513-527.

Straehler-Pohl, I., Widmer, C. L., & Morandini, A. C. (2011). Characterizations of juvenile stages of some sennaeostome Scyphozoa (Cnidaria), with recognition of a new family (Phacellophoridae). *Zootaxa*, 2741(1), 1-37.

Tay, J. (2020). The Population Biology and Ecosystem Effects of the *Sea nettle*, *Chrysaora chesapeakei* (Doctoral dissertation, University of Maryland, College Park).

Trevett, A., Sheehan, C., Wilkinson, A., & Moss, I. (2019). Lion's mane jellyfish (*Cyanea capillata*) envenoming presenting as suspected decompression sickness. *Diving and hyperbaric medicine*, 49(1), 57-60.

Virginia Institute of Marine Science (2023). Bay nettle Accessed at: [https://www.vims.edu/bayinfo/jellyfish/guide/bay\\_nettle.php](https://www.vims.edu/bayinfo/jellyfish/guide/bay_nettle.php) on 2023-03-25.

Wagner, Z., Costello, J. H., & Colin, S. P. (2020). Fluid and predator-prey interactions of scyphomedusae fed calanoid copepods. *Fluids*, 5(2), 60.

Widmer, C. L. (2008). How to keep jellyfish in aquariums: an introductory guide for maintaining healthy jellies. Tucson, Ariz: Wheatmark.

WoRMS (2023). Cnidaria. Accessed at: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1267> on 2023-03-25.

You, K., Bian, Y., Ma, C., Chi, X., Liu, Z., & Zhang, Y. (2016). Study on the carry capacity of edible jellyfish fishery in Liaodong Bay. *Journal of Ocean University of China*, 15, 471-479.

You, K., Ma, C., Gao, H., Li, F., Zhang, M., Qiu, Y., & Wang, B. (2007). Research on the jellyfish (*Rhopilema esculentum* Kishinouye) and associated aquaculture techniques in China: current status. *Aquaculture International*, 15(6), 479-488.



## 7. Anexos

### 7.1. Medições

#### 7.1.1. Primeira etapa

Tabela 2: Médias de medições das medusas em milímetros e incremento de crescimento do diâmetro da umbela, da primeira etapa.

<b>Dieta</b>	<b>Réplica</b>	<b>Dia Medição</b>	<b>Medição</b>	<b>Incremento (mm)</b>
<b>Controlo</b>	1	2/nov	2,94	
<b>Controlo</b>	2	2/nov	3,85	
<b>Controlo</b>	3	2/nov	3,33	
<b>Dieta 1</b>	1	2/nov	3,73	
<b>Dieta 1</b>	2	2/nov	2,94	
<b>Dieta 2</b>	1	2/nov	4,28	
<b>Dieta 2</b>	2	2/nov	3,00	
<b>Controlo</b>	1	9/nov	5,06	2,12
<b>Controlo</b>	2	9/nov	6,16	2,30
<b>Controlo</b>	3	9/nov	5,61	2,28
<b>Dieta 1</b>	1	9/nov	10,56	6,83
<b>Dieta 1</b>	2	9/nov	8,35	5,41
<b>Dieta 2</b>	1	9/nov	11,07	6,79
<b>Dieta 2</b>	2	9/nov	7,91	4,91
<b>Controlo</b>	1	16/nov	9,71	4,65
<b>Controlo</b>	2	16/nov	12,02	5,86
<b>Controlo</b>	3	16/nov	10,21	4,60
<b>Dieta 1</b>	1	16/nov	23,00	12,44
<b>Dieta 1</b>	2	16/nov	21,50	13,15
<b>Dieta 2</b>	1	16/nov	21,50	10,43
<b>Dieta 2</b>	2	16/nov	19,50	11,59
<b>Controlo</b>	1	23/nov	19,25	9,54
<b>Controlo</b>	2	23/nov	22,50	10,49
<b>Controlo</b>	3	23/nov	20,00	9,79
<b>Dieta 1</b>	1	23/nov	30,00	7,00
<b>Dieta 1</b>	2	23/nov	29,25	7,75
<b>Dieta 2</b>	1	23/nov	30,00	8,50
<b>Dieta 2</b>	2	23/nov	29,00	9,50

### 7.1.2. Segunda etapa

Tabela 3: Médias de medições das medusas em milímetros e incremento de crescimento do diâmetro da umbela, da segunda etapa.

<b>Dieta</b>	<b>Réplica</b>	<b>Dia Medição</b>	<b>Medição (mm)</b>	<b>Incremento (mm)</b>
<b>Controlo</b>	4	27/dez	1,77	
<b>Controlo</b>	5	27/dez	1,88	
<b>Controlo</b>	6	27/dez	1,47	
<b>Controlo</b>	7	27/dez	1,99	
<b>Dieta 1</b>	3	27/dez	1,97	
<b>Dieta 1</b>	4	27/dez	2,54	
<b>Dieta 2</b>	3	27/dez	2,12	
<b>Dieta 2</b>	4	27/dez	1,36	
<b>Controlo</b>	4	07/jan	3,02	1,25
<b>Controlo</b>	5	07/jan	4,78	2,90
<b>Controlo</b>	6	07/jan	3,24	1,78
<b>Controlo</b>	7	07/jan	5,55	3,56
<b>Dieta 1</b>	3	07/jan	11,50	9,54
<b>Dieta 1</b>	4	07/jan	16,21	13,68
<b>Dieta 2</b>	3	07/jan	5,49	3,37
<b>Dieta 2</b>	4	07/jan	3,06	1,69
<b>Controlo</b>	4	14/jan	6,15	3,13
<b>Controlo</b>	5	14/jan	7,15	2,37
<b>Controlo</b>	6	14/jan	5,27	2,02
<b>Controlo</b>	7	14/jan	9,03	3,48
<b>Dieta 1</b>	3	14/jan	22,67	11,16
<b>Dieta 1</b>	4	14/jan	30,00	13,79
<b>Dieta 2</b>	3	14/jan	8,74	3,26
<b>Dieta 2</b>	4	14/jan	4,89	1,84
<b>Controlo</b>	4	21/jan	9,80	3,65
<b>Controlo</b>	5	21/jan	12,96	5,81
<b>Controlo</b>	6	21/jan	7,96	2,69
<b>Controlo</b>	7	21/jan	16,33	7,30
<b>Dieta 1</b>	3	21/jan	24,33	1,67
<b>Dieta 1</b>	4	21/jan	30,50	0,50
<b>Dieta 2</b>	3	21/jan	15,36	6,62
<b>Dieta 2</b>	4	21/jan	7,49	2,59

### 7.1.3. Incrementos totais

Tabela 4: Médias de medições  $\pm$  desvio-padrão das medusas em milímetros e incremento de crescimento do diâmetro da umbela entre o primeiro e último dia em ambos os ensaios.

<b>Dieta</b>	<b>Réplica</b>	<b>Dia Medição</b>	<b>Medição <math>\pm</math> Desvio padrão (mm)</b>	<b>Incremento (mm)</b>
<b>Controlo</b>	C1	4	19,25 $\pm$ 0,35	15,86
<b>Controlo</b>	C2	4	22,50 $\pm$ 3,54	19,17
<b>Controlo</b>	C3	4	20,00 $\pm$ 0	16,62
<b>Controlo</b>	C4	4	9,80 $\pm$ 1,94	8,03
<b>Controlo</b>	C5	4	12,96 $\pm$ 7,48	11,08
<b>Controlo</b>	C6	4	7,96 $\pm$ 1,80	6,49
<b>Controlo</b>	C7	4	16,33 $\pm$ 4,16	14,34
<b>Dieta 1</b>	D.1.1	4	24,33 $\pm$ 5,13	21,39
<b>Dieta 1</b>	D.1.2	4	30,50 $\pm$ 6,36	27,16
<b>Dieta 1</b>	D.1.3	4	30,00 $\pm$ 1,41	28,03
<b>Dieta 1</b>	D.1.4	4	29,25 $\pm$ 1,77	26,71
<b>Dieta 2</b>	D.2.1	4	30,00 $\pm$ 1,41	27,00
<b>Dieta 2</b>	D.2.2	4	29,00 $\pm$ 1,41	25,36
<b>Dieta 2</b>	D.2.3	4	15,36 $\pm$ 4,68	13,24
<b>Dieta 2</b>	D.2.4	4	7,49 $\pm$ 0,51	6,12

Tabela 5- Análise de variância (ANOVA) de um fator entre as 3 dietas

	<b>diff</b>	<b>lwr</b>	<b>upr</b>	<b>p adj</b>
<b>D1-C</b>	12,738214	2,408746	23,067682	<b>0,0164747</b>
<b>D2-C</b>	4,845714	-5,483754	15,175182	0,4473932
<b>D2-D1</b>	-7,8925	-19,545712	3,760712	0,2088864

## 7.2. Parâmetros físico-químicos

### 7.2.1. Primeira etapa

Tabela 6: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C1 e C2.

D1/C1 e C2						
Data	Temperatura	Salinidade	NH3	NO2	NO3	pH
03/nov	19,8	17	0	0	0	8,01
04/nov	19,8	18				
05/nov	19,8	18				
06/nov	19,8	18				
07/nov	19,6	19				
08/nov	19,7	18				
09/nov	19,7	18				
10/nov	19,7	19	0	0	0	8,1
11/nov	19,7	18				
12/nov	19,7	18				
13/nov	19,7	18				
14/nov	19,9	19				
15/nov	19,8	18				
16/nov	19,8	19				
17/nov	19,8	18	0	0	0	8,13
18/nov	19,9	18				
19/nov	19,8	19				
20/nov	19,9	18				
21/nov	19,7	18				
22/nov	19,8	19	0	0	0	8,22
<b>Média</b>	<b>19,77</b>	<b>18,25</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8,115</b>

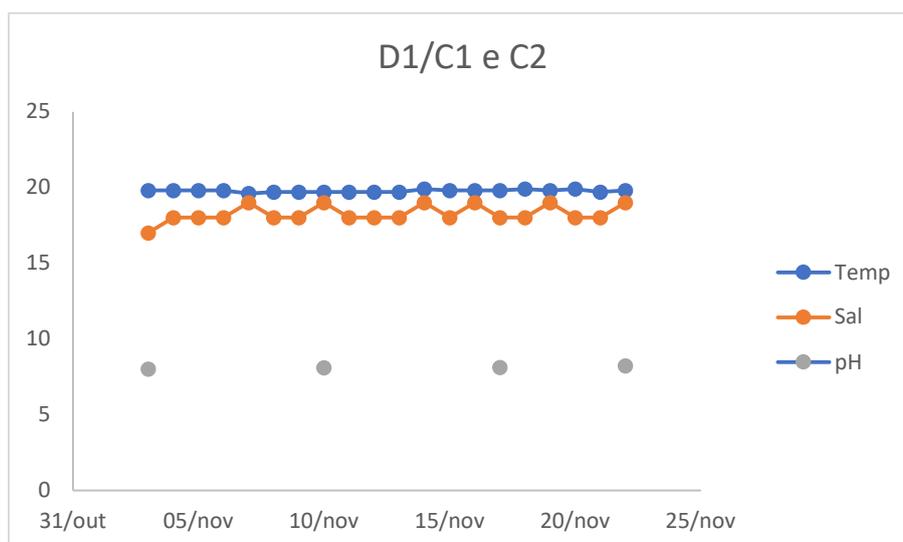


Figura 20: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C1 e C2.

Tabela 7: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C3 e C4.

D2/C3 e C4						
Data	Temperatura	Salinidade	NH3	NO2	NO3	pH
03/nov	19,7	18	0	0	0	8,13
04/nov	19,7	18				
05/nov	19,8	18				
06/nov	20,2	21				
07/nov	20	17				
08/nov	20	18				
09/nov	20	18				
10/nov	20	18	0	0	0	8,24
11/nov	19,8	19				
12/nov	19,8	19				
13/nov	19,9	18				
14/nov	20	18				
15/nov	19,9	18				
16/nov	19,9	18				
17/nov	19,8	18	0	0	0	8,29
18/nov	19,8	18				
19/nov	19,7	19				
20/nov	19,8	18				
21/nov	19,9	17				
22/nov	20	18	0	0	0	8,22
<b>Média</b>	<b>19,885</b>	<b>18,2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8,22</b>

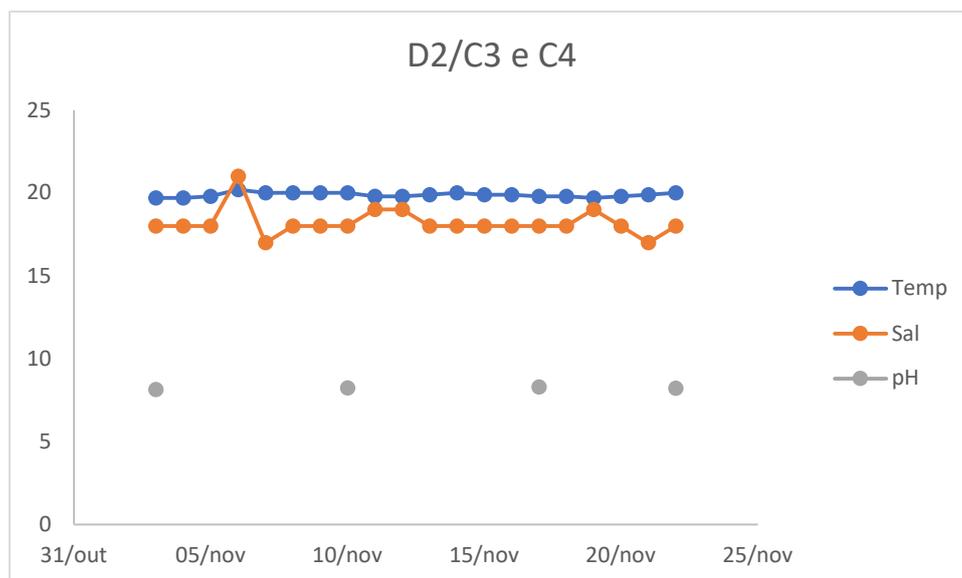


Figura 21: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C3 e C4.

## 7.2.2. Segunda etapa

Tabela 8: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C5 e C6.

<b>D1/C5 e C6</b>						
<b>Data</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Salinidade</b>	<b>NH3</b>	<b>NO2</b>	<b>NO3</b>	<b>pH</b>
<b>27/dez</b>	19,5	19	0	0	0	8,17
<b>28/dez</b>		19				
<b>29/dez</b>		19				
<b>30/dez</b>		18				
<b>31/dez</b>		19				
<b>01/jan</b>	19,5	18	0	0	0	8,16
<b>02/jan</b>		18				
<b>03/jan</b>		18				
<b>04/jan</b>	19,8	19	0	0	0	7,99
<b>05/jan</b>		18				
<b>06/jan</b>		19				
<b>07/jan</b>		18				
<b>08/jan</b>	19,8	18	0	0	0	8,22
<b>09/jan</b>		18				
<b>10/jan</b>		18				
<b>11/jan</b>		18				
<b>12/jan</b>		19				
<b>13/jan</b>		18				
<b>14/jan</b>	19,6	18	0	0	0	8,17
<b>15/jan</b>		18				
<b>16/jan</b>		18				
<b>17/jan</b>		18				
<b>18/jan</b>		18				
<b>19/jan</b>		18				
<b>20/jan</b>		18				
<b>21/jan</b>	19,6	19	0	0	0	8,22
<b>Média</b>	<b>19,63</b>	<b>18,31</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8,16</b>

Tabela 9: Parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C7 e C8.

<b>D2/C7 e C8</b>						
<b>Data</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Salinidade</b>	<b>NH3</b>	<b>NO2</b>	<b>NO3</b>	<b>pH</b>
<b>27/dez</b>	19,7	20	0	0	0	8,16
<b>28/dez</b>		19				
<b>29/dez</b>		19				
<b>30/dez</b>		18				
<b>31/dez</b>		20				
<b>01/jan</b>	19,8	18	0	0	0	8,18
<b>02/jan</b>		18				
<b>03/jan</b>		19				
<b>04/jan</b>	20	18	0	0	0	8,05
<b>05/jan</b>		19				
<b>06/jan</b>		18				
<b>07/jan</b>		18				
<b>08/jan</b>	19,6	18	0	0	0	8,11
<b>09/jan</b>		19				
<b>10/jan</b>		18				
<b>11/jan</b>		19				
<b>12/jan</b>		18				
<b>13/jan</b>		18				
<b>14/jan</b>	19,6	18	0	0	0	8,17
<b>15/jan</b>		19				
<b>16/jan</b>		18				
<b>17/jan</b>		18				
<b>18/jan</b>		18				
<b>19/jan</b>		18				
<b>20/jan</b>		18				
<b>21/jan</b>	19,8	19	0	0	0	8,19
<b>Média</b>	<b>19,74</b>	<b>18,46</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8,13</b>

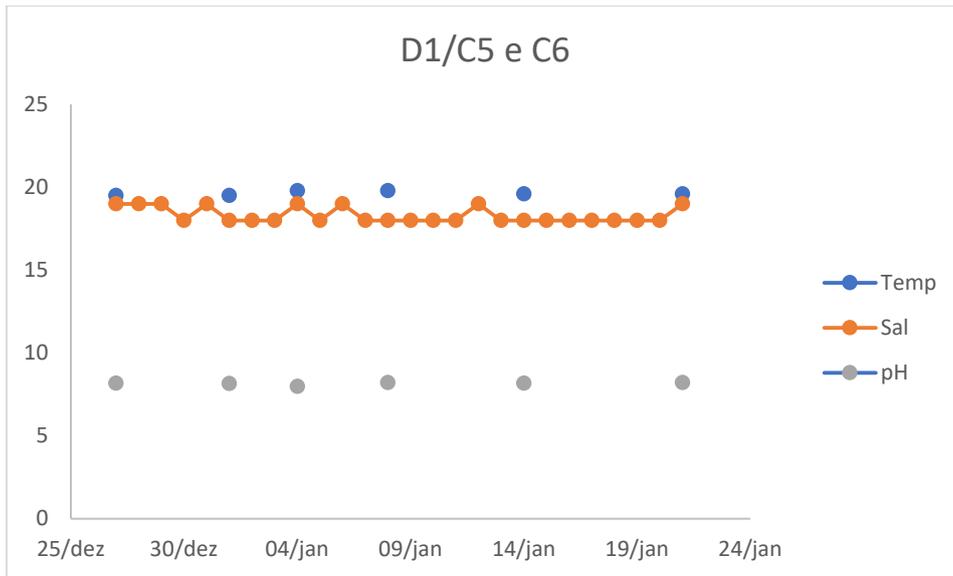


Figura 22: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D1, C5 e C6.

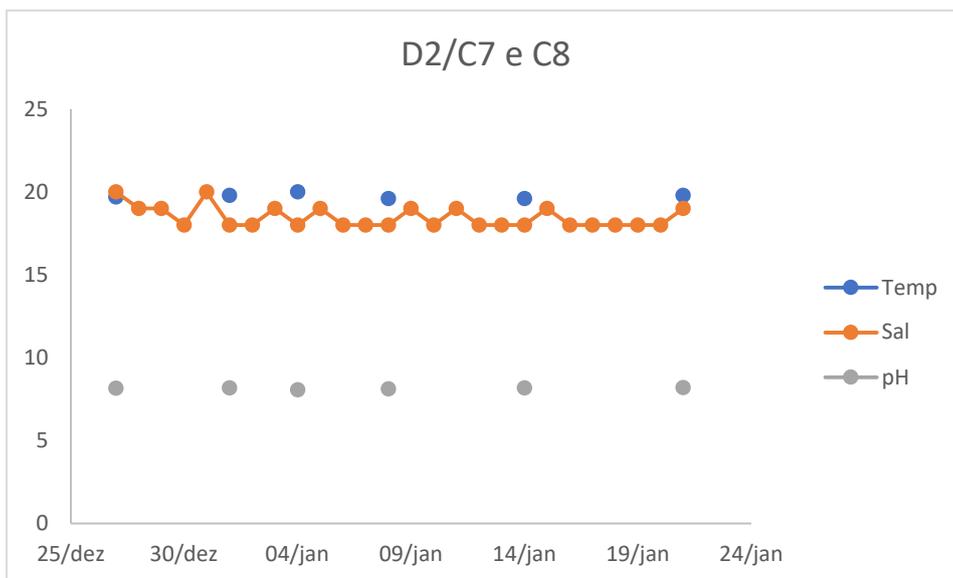


Figura 23: Representação gráfica dos parâmetros físico-químicos da água do sistema que continha D2, C7 e C8.