



Universidade dos Açores

Departamento de Oceanografia e Pescas

**Otimização das condições de cultivo de *Ulva lactuca* (Chlorophyta,  
Chlorophyceae) para alimentação de *Haliotis tuberculata***

Por:

*Flávio Alexandre António Rodrigues*

**Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Estudos Integrados dos  
Oceanos**

**Horta 2015**

**Dissertação de Mestrado**

**Otimização das condições de cultivo de *Ulva lactuca* (Chlorophyta,  
Chlorophyceae) para alimentação de *Haliotis tuberculata***

por

***Flávio Alexandre António Rodrigues***

**Orientador:** Doutor Eduardo José Louçã Florêncio Isidro

**Coorientador:** Professor Doutor Rui Orlando Pimenta Santos



**Dissertação apresentada no Departamento de Oceanografia e Pescas da  
Universidade dos Açores, para a obtenção do grau de  
Mestre em Estudos Integrados dos Oceanos**

Horta 2015

Esta Dissertação de Mestrado foi escrita de acordo com o novo Acordo Ortográfico.

**Como citar este trabalho:**

Rodrigues, F. A. A. 2015. Otimização das condições de cultivo de *Ulva lactuca* (Chlorophyta, Chlorophyceae) para alimentação de *Haliotis tuberculata*. Dissertação apresentada no Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores para a obtenção do grau de Mestre em Estudos Integrados dos Oceanos. Horta.

*I really don't know why it is that all of us are so committed to the sea, except I think it is because in addition to the fact that the sea changes and the light changes, and ships change, it is because we all came from the sea. And it is an interesting biological fact that all of us have, in our veins the exact same percentage of salt in our blood that exists in the ocean, and, therefore, we have salt in our blood, in our sweat, in our tears. We are tied to the ocean. And when we go back to the sea, whether it is to sail or to watch it, we are going back from whence we came.*

John F. Kennedy (Remarks at the Dinner for the America's Cup Crews, September 14 1962).

## Agradecimentos

Agradeço ao Doutor Eduardo Isidro pela sua orientação no planeamento dos testes executados, disponibilidade, conselhos e pelas suas melhorias na dissertação.

Ao Professor Doutor Rui Santos pelo seu estímulo intelectual e críticas construtivas durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Doutor Leonardo Mata pelas informações a nível de cultivo de *Ulva* em laboratório.

À equipa AquaLab:

Ao Doutor Mirko De Girolamo pela sua valiosa ajuda na análise estatística.

Ao Dr. João Rodeia pelo auxílio na colheita de algas e manutenção dos sistemas de cultivo.

À Dra. Carla Nunes, pela ajuda na colheita de algas e na colocação de escalas em fotografias de microscópio.

Ao Dr. Márcio Martins pela elaboração do mapa de localização geográfica e auxílio na remoção de epífitos das algas coletadas.

Um agradecimento ao Departamento de Oceanografia e Pescas, que deu todo o suporte para a realização da minha formação académica.

Ao Governo Regional, que através da Secretaria Regional dos Recursos Naturais financiou o AquaLab permitindo a realização dos testes experimentais necessários.

Aos verdadeiros amigos e namorada, que em alturas mais stressantes estiveram ao meu lado para me apoiar com o seu carinho e folia.

Um agradecimento muito especial à minha família, nomeadamente aos meus pais, que apesar das dificuldades enfrentadas, permitiram-me vir para os Açores e enveredar nesta jornada de ser biólogo marinho.

Saliento ainda que esta tese foi realizada em memória do meu Pai. Que embora longe, ainda está muito presente na minha vida.

## Lista de conteúdos

Agradecimentos .....	i
Lista de conteúdos .....	ii
Lista de ilustrações.....	ii
Lista de tabelas .....	iii
Resumo.....	iv
Abstract .....	v
1 – Introdução.....	1
1.1 – Alimentação de <i>Haliotis tuberculata</i> .....	1
1.2 – Biologia da <i>Ulva lactuca</i> .....	2
1.3 – Cultivo de <i>Ulva lactuca</i> .....	4
1.4 – Objetivos .....	5
2 – Material E Métodos.....	5
2.1 – Condições laboratoriais para o cultivo de algas .....	5
2.2 – Desenho experimental.....	7
2.3 – Recolha de <i>Ulva lactuca</i> .....	8
2.4 – Procedimento laboratorial .....	9
2.5 – Análise de dados.....	12
3 – Resultados.....	12
3.1 – Testes de temperatura .....	12
3.2 – Teste de salinidade.....	14
3.3 – Consumo de azoto de nitratos (NO <sub>3</sub> -N).....	15
3.4 – Taxa de crescimento em peso.....	17
3.5 – Produção máxima de algas em laboratório e alimentação de juvenis de lapa-burra.....	17
4 – Discussão .....	18
5 – Bibliografia .....	21

## Lista de ilustrações

Figura 1- <i>Haliotis tuberculata</i> .....	1
Figura 2- <i>Ulva lactuca</i> (alga verde). .....	2
Figura 3 - Estrutura celular de <i>U. lactuca</i> . Ampliação 100x. ....	2
Figura 4- Ciclo de vida de <i>U. lactuca</i> (Hoek et al. 1995).....	4
Figura 5- Luzes utilizadas nos testes de cultivo.....	6

Figura 6- Mangas plásticas. ....	7
Figura 7- Sensor de condutividade (a) e espectrofotômetro (b).....	8
Figura 8- Zona de colheita de <i>Ulva lactuca</i> (mapa elaborado pelo Dr. Márcio Martins).....	9
Figura 9- Caixa de limpeza de algas (a) e remoção de epífitos em lupa (b).....	9
Figura 10- Tanque de stock.....	10
Figura 11- Método de secagem (a) e pesagem (b). ....	10
Figura 12- Mangas plásticas para o crescimento de <i>U. lactuca</i> .....	11
Figura 13- Sistemas de estabilização de temperatura utilizados: chiller (a) e termostatos (b).....	11
Figura 14- Evolução da biomassa média ao longo do tempo de acordo com a temperatura 15°C e 19°C (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão). ....	13
Figura 15 - Evolução da biomassa média ao longo do tempo de acordo com as salinidades 25 psu e 35 psu (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão). ....	14
Figura 16- Consumo médio ao longo do tempo de azoto de nitratos (NO <sub>3</sub> -N) em diferentes testes (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão).....	15
Figura 17- Correlação de Pearson entre o consumo de NO <sub>3</sub> -N e o aumento de peso nos testes (a) 19°C a 35 psu, (b) 15°C a 35 psu e (c) 19°C a 25 psu. ....	16
Figura 18- Taxa de crescimento médio de <i>Ulva lactuca</i> (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão). ....	17

## Lista de tabelas

Tabela 1- Análise de Levene para as temperaturas de 15°C e de 19°C.....	13
Tabela 2- Análise de variância (ANOVA, teste F), para medidas repetidas entre sujeitos.13	
Tabela 3- Análise de Levene para a salinidade 25 psu e 35 psu ao longo do tempo. ....	14
Tabela 4- Análise de variância (ANOVA, teste F) para medidas repetidas entre sujeitos.15	

## Resumo

O crescimento em peso de *Ulva lactuca* foi estudado tendo em consideração diferentes temperaturas e salinidades do meio de cultivo. Neste contexto foi testado o efeito da temperatura a 15°C e a 19°C, mantendo-se a salinidade a 35 psu, e o efeito da salinidade a 25 psu com uma temperatura fixa de 19°C.

Foi observado um crescimento variável em todas as experiências com decaimento no momento da densidade máxima suportada pelo sistema de cultivo na ordem dos 7,1g/L. Também foi registada uma forte correlação entre o consumo de azoto dos nitratos e o aumento de peso. Foram observadas taxas médias de crescimento em peso na ordem dos 1,8% (a 19°C e 35 psu), 1,7% (a 15°C e 35 psu), e 2,1% (a 19°C e 25 psu) por dia.

Neste estudo, o efeito combinado entre a salinidade a 25 psu e a temperatura a 19°C promoveu o maior crescimento de biomassa em laboratório. Os abalones juvenis utilizados em laboratório no ano de 2014 necessitavam de uma quantidade máxima de algas de 0,144g/dia. Com uma produção média diária de 42g de algas em mangas de 25L seria possível manter um cultivo de abalone juvenil até um máximo de 291 juvenis com peso máximo individual de 0,48g. Utilizando mangas de 80L para uma maior produção de algas seria possível aumentar o número de indivíduos juvenis no cultivo para 931.

Palavras-chave- *Ulva lactuca*, *Haliotis tuberculata*, abalone, juvenil, crescimento, cultivo, Nitrato, salinidade, temperatura.

## Abstract

The growth in weight of *Ulva lactuca*, was studied considering different temperatures and salinities. In this context it was tested the effect of temperature at 15°C and at 19°C for a fixed salinity of 35 psu, and the effect of salinity of 25 psu with a fixed temperature of 19°C.

A varying growth in all experiments with decay at the maximum density supported by cropping system was observed around 7.1g/L. A strong correlation between the consumption of nitrate nitrogen and weight gain, was also recorded. Average growth rates were observed around 1.8% (19°C 35 psu) 1.7% (15°C 35 psu) and 2.1% (19°C 25 psu) per day.

In this study, the combined effect of salinity at 25 psu and the temperature at 19°C promoted the highest increase of biomass in the laboratory. Juvenile abalones used in the laboratory in 2014 required a maximum of algae 0,144g per day. With an average daily production of 42g of algae in 25L sleeves would be possible to maintain a juvenile abalone farming up to 291 juveniles with maximum weight of 0.48g/individual. Using sleeves of 80L for greater production of algae would be possible to increase the number of juvenile in farming for 931.

Key words: *Ulva lactuca*, *Haliotis tuberculata*, Abalone, Juvenile, growth, cropping system, nitrate, salinity, temperature.

# 1 – Introdução

## 1.1 – Alimentação de *Haliotis tuberculata*

Há diversas espécies de abalone (*Haliotis* spp.), encontradas em diversas partes do mundo, que se estão a tornar importantes para a diversificação da produção em aquacultura, devido ao seu alto preço de mercado e à sobreexploração dos *stocks* selvagens. Na Europa, a indústria de abalones é focada na produção de *Haliotis tuberculata* Linnaeus (1758) (Viera et al. 2011), espécie esta que é conhecida nos Açores com o nome de Lapa-burra (Fig. 1). A cultura comercial de abalones é frequentemente limitada pela necessidade de adquirir uma quantidade suficiente de algas adequadas à sua dieta alimentar. No entanto, grandes quantidades de clorófitas, como as do género *Ulva*, podem ser produzidas em aquacultura servindo de biofiltros associadas a cultivos intensivos de peixes (Neori et al. 1996). Estudos relacionados com alimentação de *Haliotis tuberculata* (Neori et al. 1998; Shpigel et al. 1999) demonstram que a *Ulva* enriquecida com nutrientes promove de modo eficiente boas taxas de crescimento para a espécie. Este crescimento está relacionado com a quantidade elevada de proteínas e aminoácidos existentes nas algas enriquecidas, sugerindo que o azoto pode ser um fator limitante, afetando indiretamente o crescimento de *Haliotis* spp. (Shpingel et al. 1999). Hahn (1989) relata que estes organismos comem entre 10 a 30% do seu peso corporal de algas por cada dia, o que significa que é necessária uma grande quantidade de alimento para o desenvolvimento de uma exploração comercial.



Figura 1- *Haliotis tuberculata*.

## 1.2 – Biologia da *Ulva lactuca*

A macroalga *Ulva lactuca* (Fig.2) (Filo Chlorophyta, Classe Ulvophyceae, Ordem *Ulvales*, Família *Ulvaceae*) foi primeiramente identificada por Linnaeus em 1753 (Guiry & Guiry 2015). Chamada de “alface-do-mar” é uma alga laminar orbicular de cor verde translúcida com superfície lisa. Um estipe muito curto faz a ligação entre um pequeno disco de fixação e a lâmina (Pereira 2009). Geralmente encontra-se em grupos densos, fixadas em substrato rochoso, em poças de maré ou sobre outras algas. A sua densidade deve-se ao facto desta espécie ser oportunista, sucesso esse atribuído à sua morfologia que lhe permite uma rápida assimilação de nutrientes e reprodução em massa (MBARI 2001).



Figura 2- *Ulva lactuca* (alga verde).

Esta espécie pode ser distinguida das restantes pela sua estrutura celular que apresenta uma dupla camada celular cuboide (Fig. 3) (Pereira 2009).

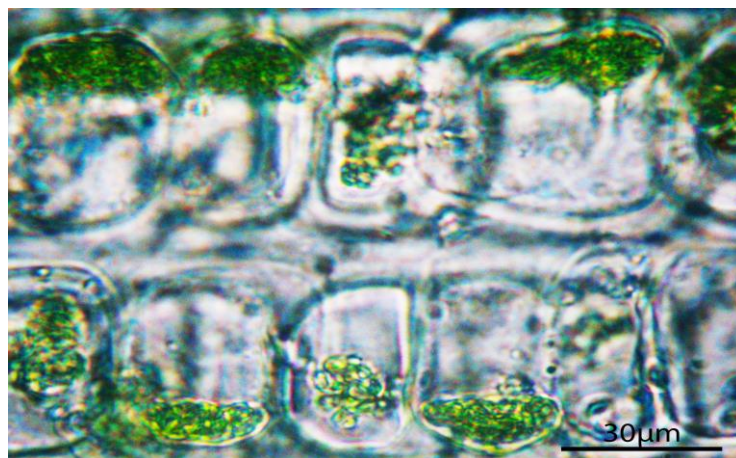


Figura 3 - Estrutura celular de *U. lactuca*. Ampliação 100x.

Na figura 4 apresenta-se o ciclo de vida desta espécie, que apresenta um ciclo haplodiplonte isomórfico com gâmetas anisogâmicos que envolve duas fases: gametófita e esporófita (Hoek et al. 1995). O talo haploide gametófito (a, a') produz gâmetas biflagelados anisogâmicos (c, c') através de processos mitóticos (b, b'). A fusão (d) entre um gâmeta masculino biflagelado (c') e um gâmeta feminino (c) dá origem a um zigoto diplóide (e). O zigoto diploide germina dando origem a uma estrutura filamentosa e unisseriada (f), que se desenvolve num filamento plurisseriado e em seguida, em pequenas estruturas semelhantes a tubos ocos (g). As estruturas, em seguida, sofrem um "colapso" formando o característico talo distromático do esporófito adulto (h). O esporófito é morfologicamente idêntico ao gametófito a olho nu.

O esporófito (h) através da meiose no esporângio (i) produz zoósporos quadriflagelados haplóides (meiosporos) (j, j'). Morfologicamente, o desenvolvimento (k, l) (k', l') entre zoósporos (j, j') e o resultante gametófito é semelhante ao desenvolvimento do zigoto diplóide para um esporófito (h). Metade dos zoósporos haplóides quadriflagelados desenvolvem-se em gametófitos masculinos (a'), e a outra metade em gametófitos femininos (a) (Hoek et al. 1995).

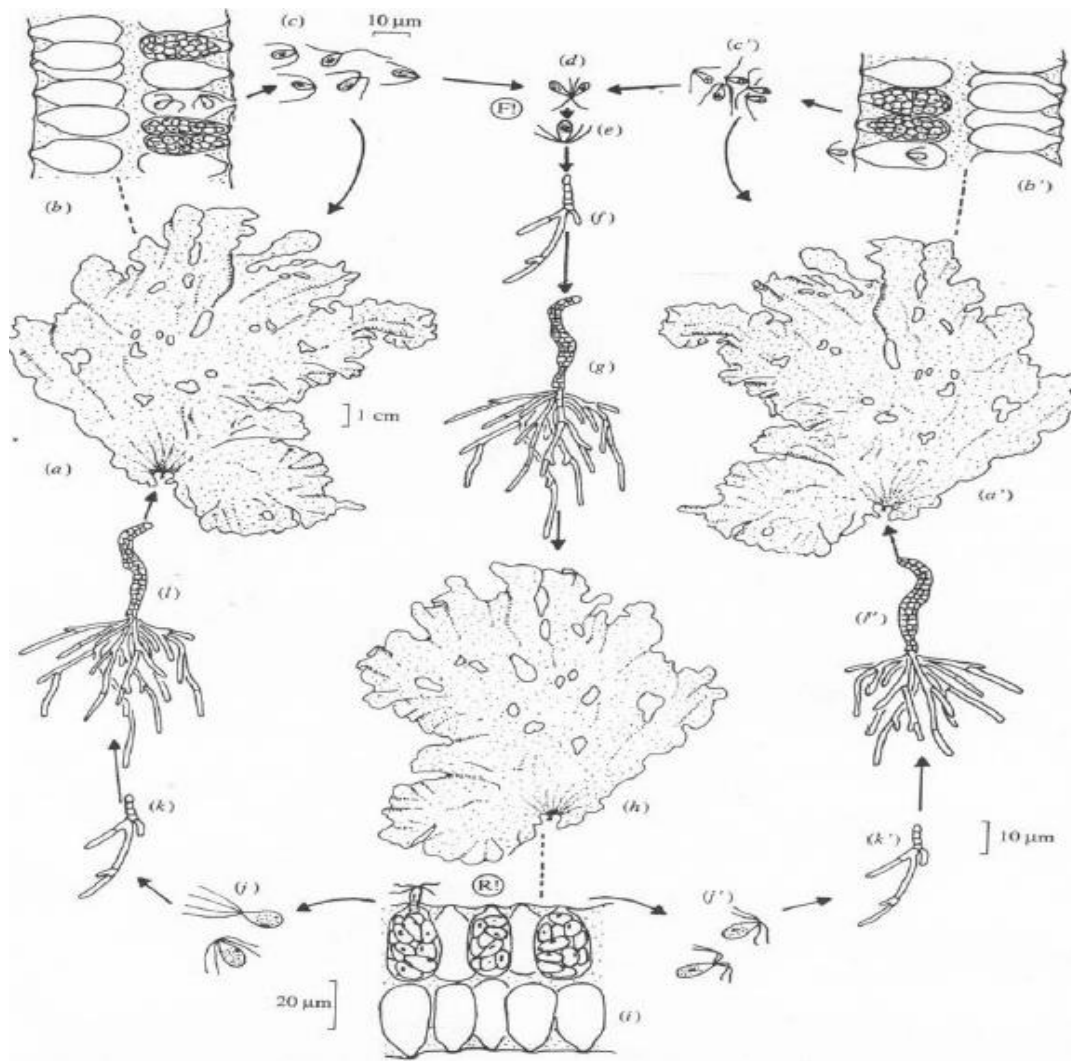


Figura 4- Ciclo de vida de *U. lactuca* (Hoek et al. 1995).

### 1.3 – Cultivo de *Ulva lactuca*

Ao longo das últimas décadas as investigações sobre o cultivo de *Ulva* spp. (Sand-Jensen 1988a; Sand-Jensen 1988b; Taylor et al. 2001; Rautenberger et al. 2015) permitiram identificar os parâmetros ambientais propícios para o cultivo eficiente em tanques. Estes parâmetros incluem: irradiância, temperatura, salinidade, densidade e concentração de nutrientes (Robertson-Andersson et al. 2008).

A *Ulva* apresenta uma notável capacidade de lidar com os níveis de irradiância altamente variáveis, como a que ocorre na zona intertidal de uma costa de clima temperado (Sand-Jensen 1988a). Demonstra também a capacidade de se fotoaclimatizar em poucos dias e pode, até certo ponto, manter as taxas de crescimento. Esta característica fisiológica é particularmente útil quando altas densidades promovem o auto-ensombreamento, (Sand-Jensen 1988a; Malta et al. 2003). Para a espécie *U. lactuca* a luz torna-se um fator limitante abaixo de  $2,5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  (185 lux). No entanto,

a saturação de luz para o crescimento desta espécie ocorre na ordem dos  $55\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  (4070 lux) (Sand-Jensen 1988b).

Apresenta uma ampla tolerância a flutuações de temperatura, e a fim de manter a produção ótima, a temperatura da água deve estar no limite ótimo do crescimento vegetativo (Nelson et al. 2008). Pode sobreviver a períodos de frio extremo, abaixo de  $0^{\circ}\text{C}$  durante períodos prolongados, no entanto, a sua taxa de crescimento é significativamente reduzida (Kamermans et al. 1998). Os resultados de Shaojun & Tifeng (2008) revelaram que esta espécie é capaz de suportar altas temperaturas sem aparente declínio no rendimento de fluorescência da clorofila, sendo uma ótima candidata a suportar temperaturas entre os  $20^{\circ}\text{C}$  e os  $25^{\circ}\text{C}$ . Para outras espécies deste género, as condições ótimas de temperatura variam entre os  $10^{\circ}\text{C}$  e os  $20^{\circ}\text{C}$  (Taylor et al. 2001). Quanto à salinidade, as taxas de crescimento ótimas foram conseguidas quando esta foi mantida entre 20 psu e 35 psu (Mantri et al. 2011).

## 1.4 – Objetivos

O presente estudo, enquadrado nos trabalhos iniciais de cultivo de *Ulva lactuca*. no AquaLab, tem por objetivo determinar alguns dos parâmetros de cultivo que otimizam o seu crescimento (temperatura e salinidade) e de estimar a capacidade máxima de produção do próprio laboratório, dadas as suas atuais condições e limitações técnicas. Sendo a *Ulva lactuca* fundamental para assegurar a alimentação de pós-larvas, juvenis e adultos de *Haliotis tuberculata* (Lapa-burra), estima-se também a biomassa máxima de juvenis que se poderá manter no AquaLab, sem recurso a fornecimento externo ou à apanha de algas na natureza.

## 2 – Material E Métodos

### 2.1 – Condições laboratoriais para o cultivo de algas

O Aqualab – Laboratório Experimental de Aquacultura, situado no Departamento de Oceanografia e Pescas da Universidade dos Açores (DOP – UAc), começou a ser criado em 2012, e dispõe de infraestruturas específicas para o desenvolvimento de pesquisas científicas e tecnológicas relacionadas com a aquacultura. Nele começaram a ser desenvolvidas atividades relacionadas com o cultivo de invertebrados marinhos. Para tal, foi também necessário desenvolver o cultivo de microalgas e de zooplâncton, para suportar os estudos laboratoriais relacionados com o crescimento e manutenção destes organismos. Em 2014, tendo por horizonte o desenvolvimento de um futuro

sistema de cultivo de lapa-burra (*H. tuberculata*), entendeu-se ser também essencial obter o domínio do cultivo de algumas macroalgas para a alimentação destes organismos, uma vez que a sua disponibilidade na natureza é muito variável ao longo do ano, e a apanha é uma atividade que levanta problemas de sustentabilidade ambiental e económica.

O laboratório possui abastecimento de água às unidades experimentais que é obtido através de uma estação de bombagem e que fornece água do mar pressurizada a cada unidade. Em geral, os sistemas de cultivo possuem arejamento proveniente da pressurização de ar atmosférico que é controlado através de torneiras de redução de caudal de ar.

A sala de cultura de macroalgas e microalgas é climatizada para manter a temperatura ótima para os desenvolvimentos experimentais.

Para a luminosidade são utilizados 2 tipos de lâmpadas (Fig. 5): OSRAM Cool Daylight (lâmpada de cor branca) 58w e OSRAM Flora (lâmpada de cor lilás) de 58w. A lâmpada branca possui uma maior intensidade luminosa do que a lâmpada lilás, enquanto esta última fornece um espectro de luz mais útil para as algas influenciando o consumo de compostos azotados (López-Figueroa & Rüdiger 1991). Esta diferença de intensidade pode ser explicada pela baixa intensidade de luz verde nas lâmpadas Flora.

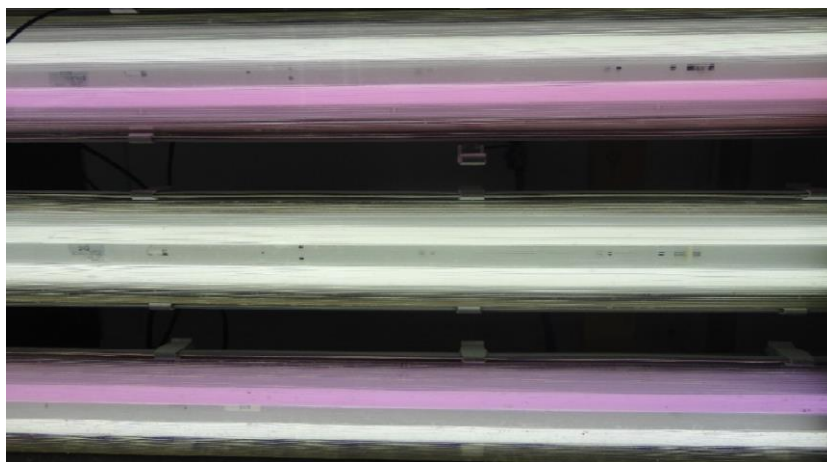


Figura 5- Luzes utilizadas nos testes de cultivo.

A sala está preparada para que as culturas de micro e de macroalgas sejam efetuadas em mangas plásticas (Fig. 6) usualmente seladas transversalmente. Esta técnica foi idealizada por Ryther et al. (1975) e concisamente descrita por DeBusk et al. (1986). O princípio básico desta tecnologia consiste no movimento vertical, por arejamento de fundo, da suspensão das algas, e a passagem através delas de nutrientes existentes na água. Estas mangas possuem uma espessura de 22 micra e uma largura de

40 cm, sendo possível variar a altura das mangas consoante o volume necessário. No AquaLab existem dois suportes para mangas plásticas, podendo cada suporte conter até 10 mangas plásticas, com um volume máximo de 80L cada.

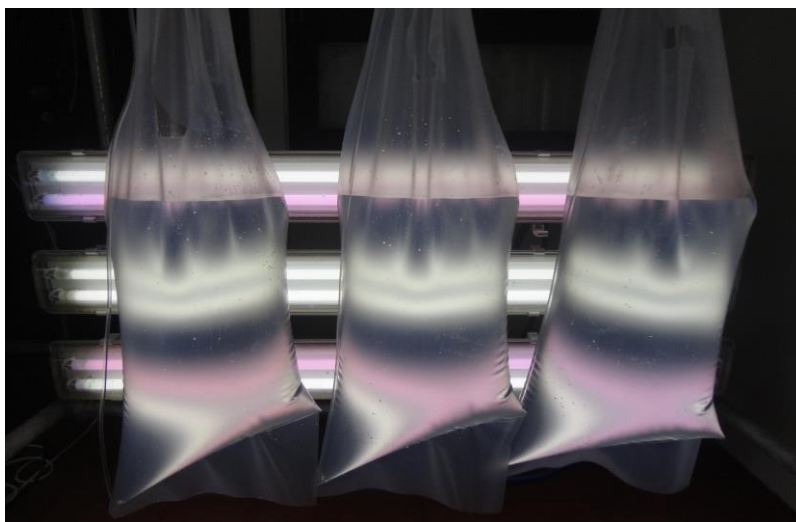


Figura 6- Mangas plásticas.

Em testes exploratórios foi analisada a quantidade de azoto de nitrato ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) necessária para manter o sistema sem a sua limitação. Avaliando a quantidade de  $\text{NO}_3\text{-N}$ , 3 vezes por dia, foi possível observar que apenas a solução nutritiva idealizada por Walne em 1970 (com as condições reais de teste) não garantia a quantidade suficiente deste composto sendo necessária a adição desta solução entre 2 a 3 vezes por dia. Foi necessário desenvolver uma solução nutritiva com maior concentração em  $\text{NO}_3\text{-N}$  e que fosse mais acessível em termos monetários. Foi criada uma solução para macroalgas com recurso ao adubo líquido Substral por ser um adubo concentrado com alto teor em azoto de nitratos.

## 2.2 – Desenho experimental

Com base nos parâmetros ótimos conseguidos para outras espécies do género *Ulva* foram testadas as temperaturas de 15°C e 19°C à salinidade de 35 psu e a salinidade 25 psu com uma temperatura de 19°C. Os testes foram executados com recurso a mangas plásticas com um volume de 25L. Os valores de salinidade e de temperatura foram medidos regularmente através da utilização do sensor de condutividade (WTW – ProfiLab LF 597) (Fig 7a). A quantidade de  $\text{NO}_3\text{-N}$  existente na água das mangas foi analisada com recurso a um espectrofotómetro (Hach – DR3900) (Fig. 7b) através do método químico de redução de cádmio (NitraVer ® Nitrate Reagent).

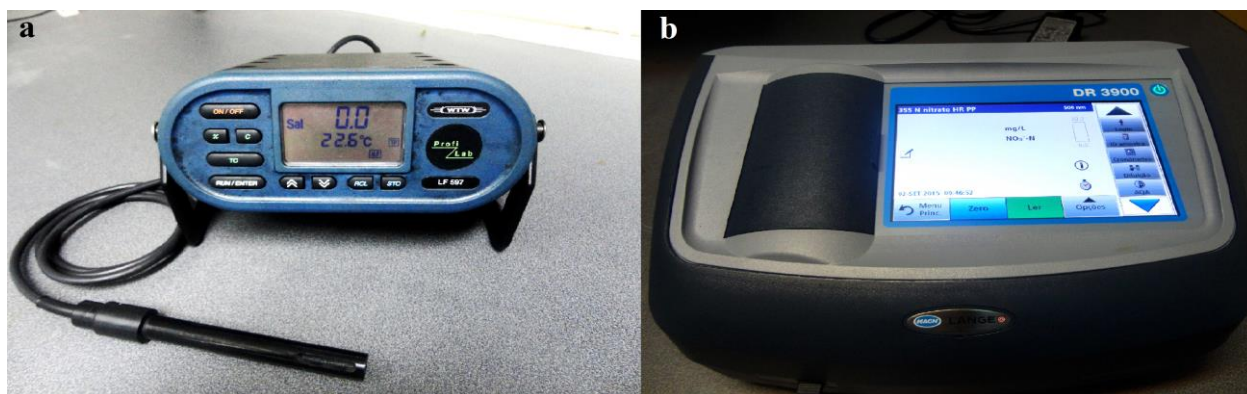


Figura 7- Sensor de condutividade (a) e espectrofotómetro (b).

A solução nutritiva utilizada foi resultante da adição de: 450ml de meio Walne, 250 ml de adubo líquido Substral e 800 mL de água destilada. Foi utilizado um volume de 1mL/L de meio nutritivo em todas as experiências com uma concentração final de 6,3 mg/L de NO<sub>3</sub>-N. O consumo de NO<sub>3</sub>-N foi calculado através da seguinte fórmula: Consumo de NO<sub>3</sub>-N= NO<sub>3</sub>-N (inicial) – NO<sub>3</sub>-N (final).

### 2.3 – Recolha de *Ulva lactuca*

As algas utilizadas neste estudo foram coletadas na zona intertidal da Lajinha, situada no Faial, na freguesia da Feteira (38°31'21.6"N e 28°40'07.2"W) (Fig. 8) em baixa-mar. Devido à facilidade de identificação das algas pretendidas, as algas foram selecionadas em zonas de maior abundância e retiradas do substrato utilizando uma espátula. De modo a não danificar as mesmas, estas foram retiradas cuidadosamente e colocadas numa caixa térmica com água do mar.

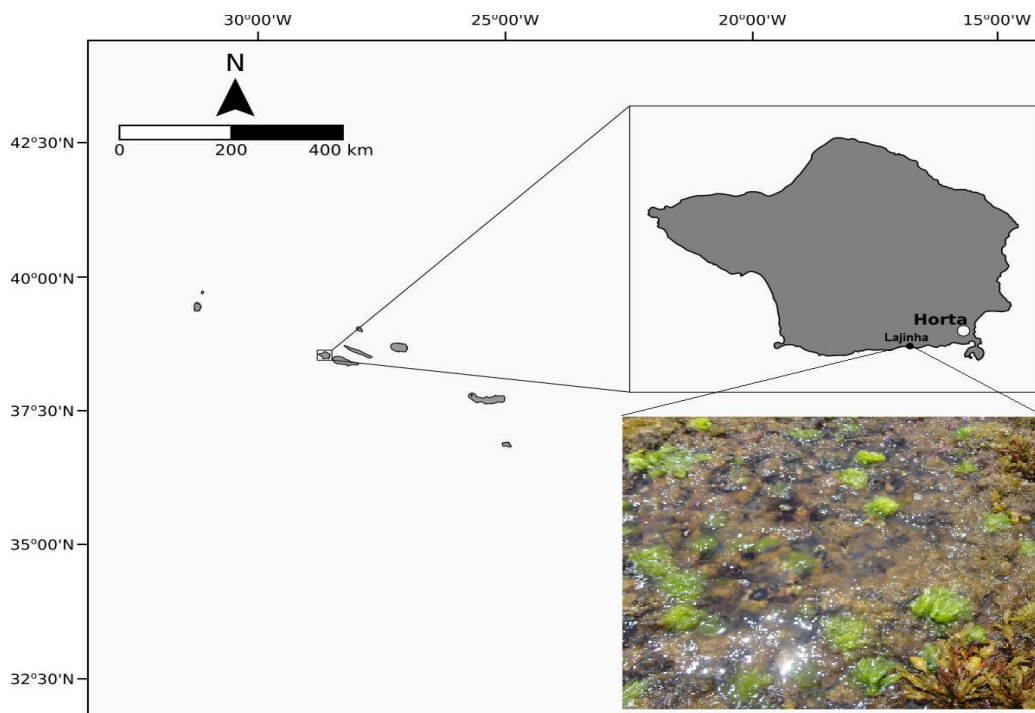


Figura 8- Zona de colheita de *Ulva lactuca* (mapa elaborado pelo Dr. Márcio Martins).

## 2.4 – Procedimento laboratorial

As algas coletadas foram colocadas numa caixa de plástico com aberturas no fundo (Fig. 9a) e passadas abundantemente por água doce para remover invertebrados evidentes, como por exemplo anfípodas. Posteriormente as algas passaram por um processo mecânico de remoção de algas epífitas, com auxílio de lupa e pinça (Fig. 9b), sendo de seguida abundantemente passadas por água salgada esterilizada em UV.

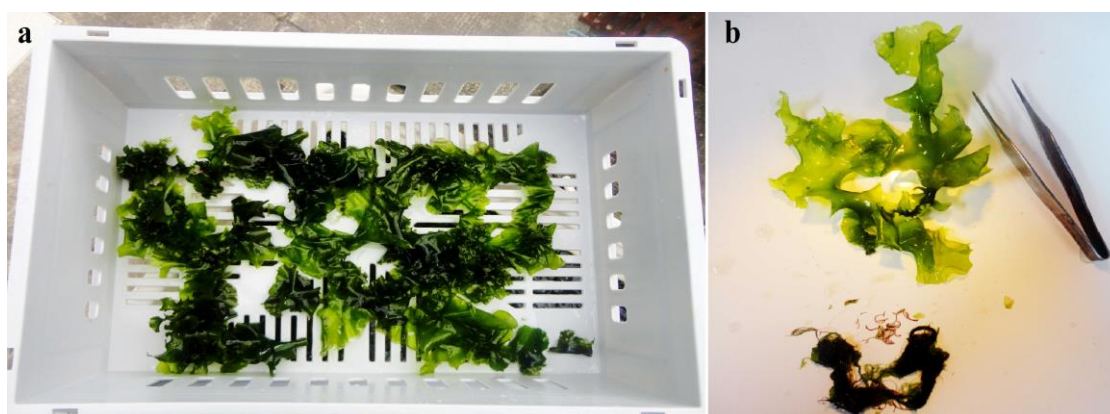


Figura 9- Caixa de limpeza de algas (a) e remoção de epífitas em lupa (b)

Após o processo de limpeza, o material algal foi colocado num tanque de *stock* (Fig. 10) com um volume de 250L localizado no exterior do laboratório. O tanque esteve sujeito ao efeito combinado de luz e temperatura ambiente, com uma renovação de água de 2L/min.



Figura 10- Tanque de stock.

Para preparar cada teste foi retirada uma porção de algas do tanque de *stock* e posteriormente colocada numa saladeira comercial giratória (Fig. 11a). O excesso de água foi removido através do movimento giratório da saladeira efetuado durante 30 segundos, e as amostras frescas assim escorridas, foram pesadas numa balança analítica (precisão = 0,1g) (Fig. 11b). O peso fresco inicial de algas em cada uma das mangas foi de 100g.

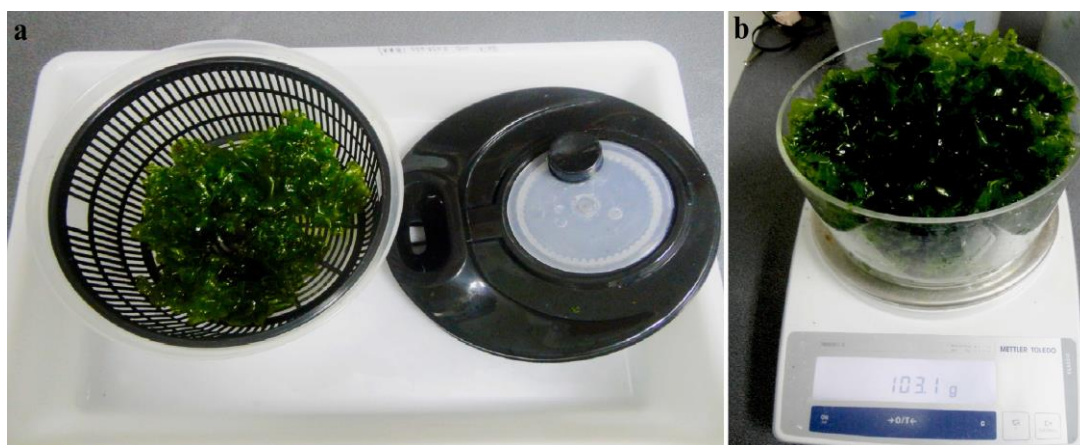


Figura 11- Método de secagem (a) e pesagem (b).

Em cada experiência efetuaram-se 3 replicados (Fig. 12). O efeito da temperatura no crescimento da *U. lactuca* foi testado através de uma experiência com dois níveis: o primeiro mantendo a água a 19°C e o segundo a 15°C. Os restantes fatores, tais como a salinidade (35 psu), a intensidade da luz (com uma variação vertical entre os 6000 e 7000 lux), o fotoperíodo (14 horas de luz e 10 horas de escuro) e 1 mL de solução nutritiva por litro de água foram mantidos constantes. O efeito da salinidade no crescimento de *U. lactuca* foi avaliado mantendo o sistema de cultivo a 25 psu e a uma temperatura fixa de 19°C.

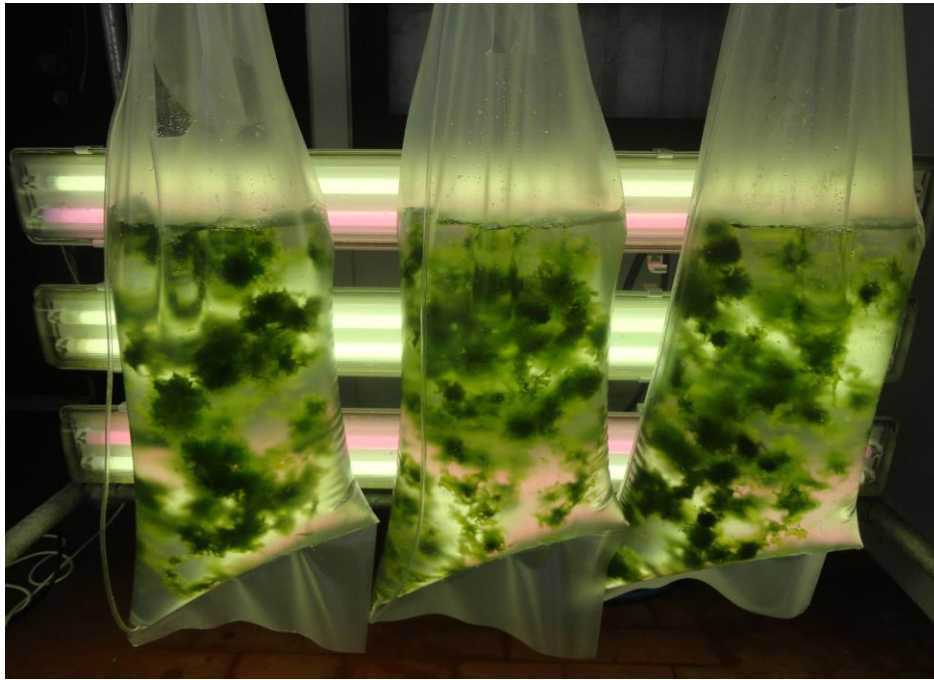


Figura 12- Mangas plásticas para o crescimento de *U. lactuca*.

A temperatura de 19°C foi mantida constante com recurso a 2 termostatos (Fig. 13b). Para o teste com a temperatura estabilizada nos 15°C utilizou-se 1 *chiller* (Fig. 13a) por manga. Quanto ao teste de salinidade, foram utilizados 2 termostatos por manga e água doce até existir 25 psu de salinidade no meio de cultivo. De 3 em 3 dias as algas foram retiradas das mangas, o excesso de água retirado com recurso à saladeira comercial e de seguida pesadas na balança analítica. Nos dias em que a pesagem foi realizada, foi também retirada uma amostra de água para avaliar a quantidade de NO<sub>3</sub>-N. Após o registo de todos os dados necessários, novas mangas foram montadas com as condições supramencionadas. A temperatura e a salinidade foram monitorizadas diariamente.



Figura 13- Sistemas de estabilização de temperatura utilizados: *chiller* (a) e termostatos (b).

## 2.5 – Análise de dados

Todos os dados obtidos foram analisados com recurso ao Software Statistica (StatSoft, inc) versão 10.0 para o Windows. O grau de confiança utilizado foi de 95% ( $p = 0,05$ ). Foi feito o teste de Levene para averiguar a homogeneidade das variâncias. Posteriormente foi utilizada a análise de variância (ANOVA, teste F) para medidas repetidas entre sujeitos para analisar os níveis de temperatura e salinidade. Os tratamentos foram comparados através do teste Post-hoc Fisher LSD para averiguar a existência de diferenças significativas ao longo do tempo. Para a análise de  $\text{NO}_3\text{-N}$  foi feita uma correlação de Pearson entre o consumo de  $\text{NO}_3\text{-N}$  e o aumento de peso. A taxa de crescimento diário em peso (TCD) foi calculada com a fórmula de Luhan & Sollesta, (2010):

$$\text{TCD} = \text{Ln}(\text{peso } 2) - \text{Ln}(\text{peso } 1) / \text{tempo decorrido (3 dias)} * 100.$$

## 3 – Resultados

### 3.1 – Testes de temperatura

Na primeira experiência testou-se o efeito da temperatura a  $19^\circ\text{C}$  e a  $15^\circ\text{C}$  com uma salinidade fixa de 35 psu.

A fig. 14, indica que a temperatura de  $19^\circ\text{C}$  promoveu maior crescimento de *U. lactuca*. Embora a média do peso, ao longo do tempo, se tenha mantido mais alta a esta temperatura, apenas foi verificada, através do teste Post-hoc Fisher LSD, uma diferença significativa ao 18º e ao 21º dia ( $p < 0,05$ ).

Ao 33º dia a  $15^\circ\text{C}$  foi possível observar uma diminuição no crescimento de biomassa média acabando esta por decrescer ao 36º dia. Deste modo foi possível concluir que a densidade máxima suportada por este sistema nas condições utilizadas é de 7,1g/L.

O teste a  $19^\circ\text{C}$  terminou no 24º dia devido a um colapso do sistema de cultivo não sendo possível determinar a densidade máxima para esta temperatura. No entanto, como a média de crescimento de biomassa se manteve mais alta a  $19^\circ\text{C}$ , e ainda existiram diferenças significativas, foi esta a temperatura definida para o teste da salinidade.

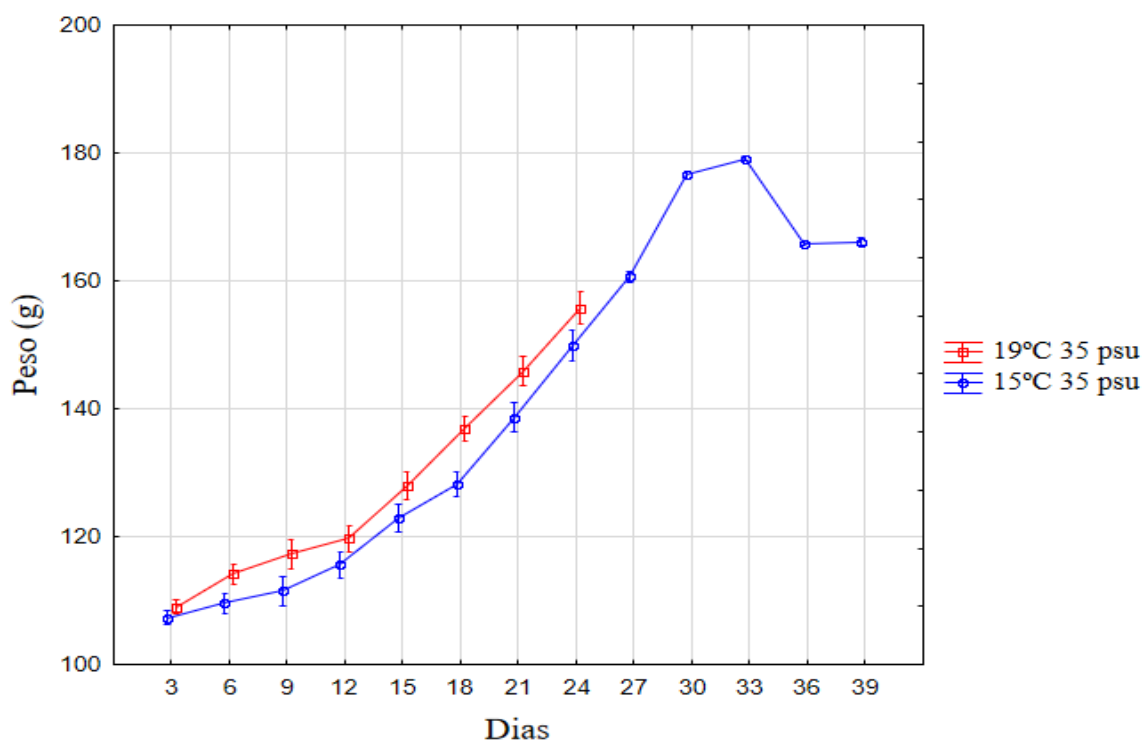


Figura 14- Evolução da biomassa média ao longo do tempo de acordo com a temperatura 15°C e 19°C (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão).

Através do teste de Levene (Tab. 1), foi confirmada a homogeneidade das variâncias e como tal, pode-se fazer o teste ANOVA (teste F) para medidas repetidas.

Tabela 1- Análise de Levene para as temperaturas de 15°C e de 19°C.

Dias	MS (Efeito)	MS (Erro)	F	p
3	1,5000	0,4559	3,2900	0,1439
6	4,9807	0,9246	5,3867	0,0811
9	11,3896	3,6593	3,1126	0,1525
12	12,5185	1,6607	7,5379	0,0516
15	9,9674	4,1915	2,3780	0,1979
18	13,5000	2,0233	6,6722	0,0611
21	12,9067	2,6367	4,8951	0,0914
24	2,6667	2,7717	0,9621	0,3822

Os resultados da análise de variância (ANOVA, teste F), para medidas repetidas entre sujeitos, são apresentados na Tab. 2, e mostram que a biomassa média para as temperaturas de 15°C e de 19°C são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). A variação do peso médio ao longo do tempo apresenta também diferença de caráter significativo com  $p$  inferior a 0,05. No entanto não existe interação entre ambos os efeitos ( $p > 0,05$ ).

Tabela 2- Análise de variância (ANOVA, teste F), para medidas repetidas entre sujeitos.

Efeito	SS	DF	MS	F	p
Interceção	757920,8	1	757920,8	17827,31	0,000000
Temperatura	347,8	1	347,8	8,18	0,045927
Erro	170,1	4	42,5		
Dias	10486,5	7	1498,1	188,41	0,000000
Dias*Temperatura	45,3	7	6,5	0,81	0,583644
Erro	222,6	28	8,0		

### 3.2 – Teste de salinidade

A fig. 15 mostra a variação da biomassa média ao longo do tempo para as duas salinidades testadas, podendo-se observar que a partir do sexto dia, a biomassa média se torna sistematicamente maior no meio de cultivo a 25 psu. Contudo, através do teste Post-hoc Fisher LSD, só a partir do 9º dia foram registadas diferenças significativas até ao 24º dia com  $p < 0,05$ . Na salinidade de 25 psu foi observada uma diminuição no crescimento de biomassa no 30º dia acabando por decrescer acentuadamente ao 33º dia. Concluiu-se que a densidade máxima suportada por este sistema nas condições utilizadas é de 7,1g/L.

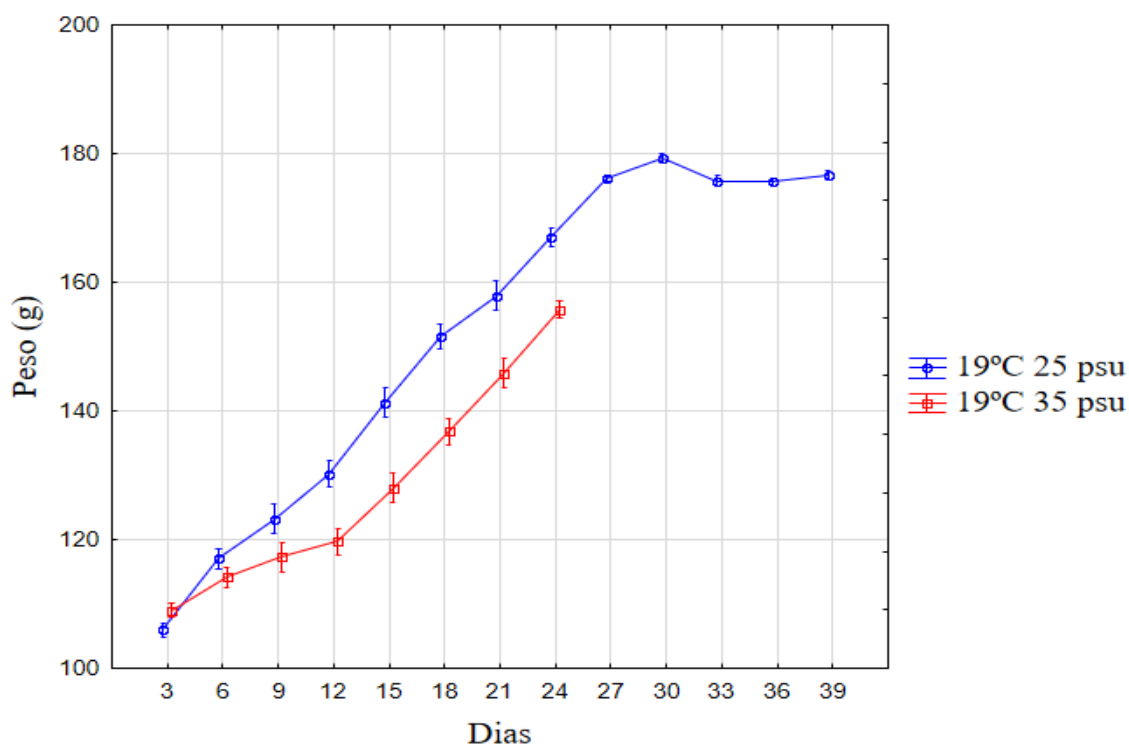


Figura 15 - Evolução da biomassa média ao longo do tempo de acordo com as salinidades 25 psu e 35 psu (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão).

Através do teste de Levene (Tabela 3), foi confirmada a homogeneidade das variâncias e como tal, pode-se fazer o teste ANOVA (teste F) para medidas repetidas.

Tabela 3- Análise de Levene para a salinidade 25 psu e 35 psu ao longo do tempo.

Dias	MS (Efeito)	MS (Erro)	F	p
3	1,9267	0,4470	4,3099	0,1065
6	4,7407	0,8730	5,4306	0,0802
9	13,3007	3,5885	3,7065	0,1265
12	9,9674	1,9565	5,0946	0,0870
15	5,1030	4,2359	1,2047	0,3340
18	9,2919	2,1063	4,4115	0,1036
21	12,5185	2,4719	5,0644	0,0876
24	3,5267	1,0317	3,4184	0,1382

No seguimento da análise de variância (ANOVA, teste F), para medidas repetidas entre sujeitos (Tab. 4), foi constatada uma diferença significativa entre ambas as salinidades ( $p < 0,05$ ). A variação da biomassa média ao longo do tempo apresenta também diferença de caráter significativo com  $p < 0,05$ . Foi ainda observada uma interação significativa entre ambos os efeitos ( $p < 0,05$ ).

Tabela 4- Análise de variância (ANOVA, teste F) para medidas repetidas entre sujeitos.

Efeito	SS	DF	MS	F	p
Interceção	843574,7	1	843574,7	20832,86	0,000000
Salinidade	854,3	1	854,3	21,10	0,010082
Erro	162,0	4	40,5		
Dias	14831,0	7	2118,7	307,35	0,000000
Dias*Salinidade	390,7	7	55,8	8,10	0,000022
Erro	193,0	28	6,9		

### 3.3 – Consumo de azoto de nitratos ( $\text{NO}_3\text{-N}$ )

Os testes realizados demonstraram uma variação no consumo de  $\text{NO}_3\text{-N}$ , observando-se um consumo mais elevado com a combinação  $19^\circ\text{C}$  e 25 psu. Inicialmente verificaram-se variações elevadas do consumo de azoto de nitratos, possivelmente derivado da adaptação das algas ao meio de cultivo.

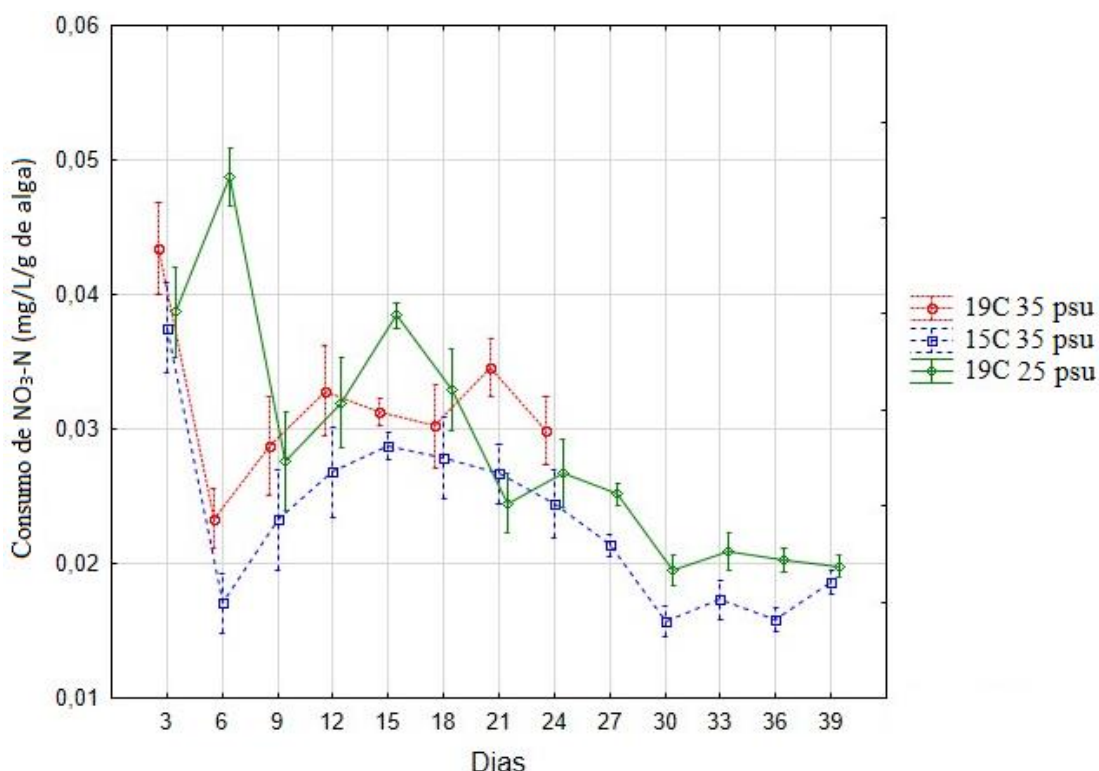


Figura 16- Consumo médio ao longo do tempo de azoto de nitratos ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) em diferentes testes (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão).

O peso algal e consumo de  $\text{NO}_3\text{-N}$  apresenta uma forte correlação positiva (Fig. 17). O maior crescimento em peso, por períodos de 3 dias, foi registado no tratamento a  $19^\circ\text{C}$  e 25 psu verificando-se também um maior consumo de  $\text{NO}_3\text{-N}$ .

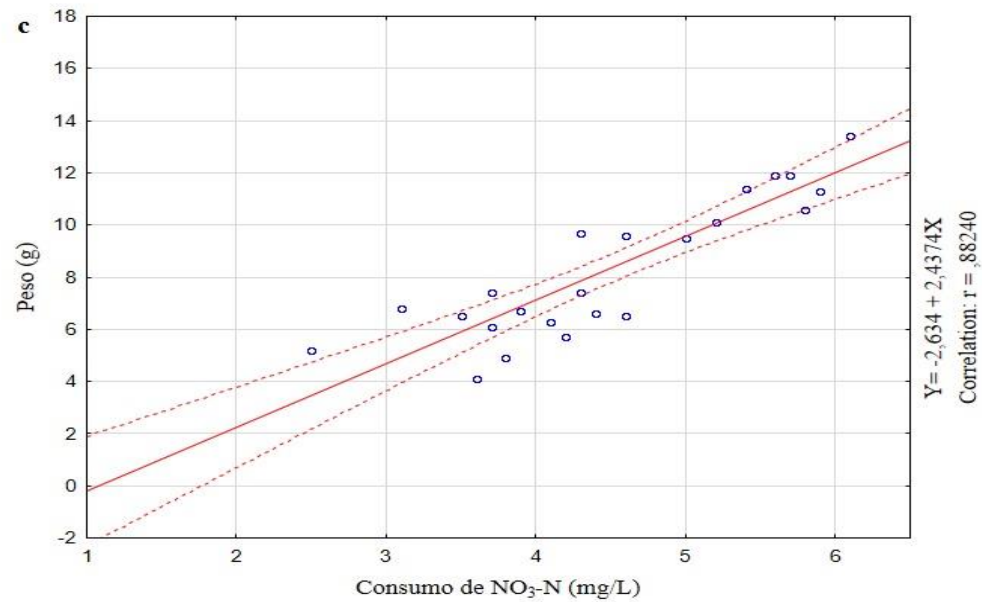
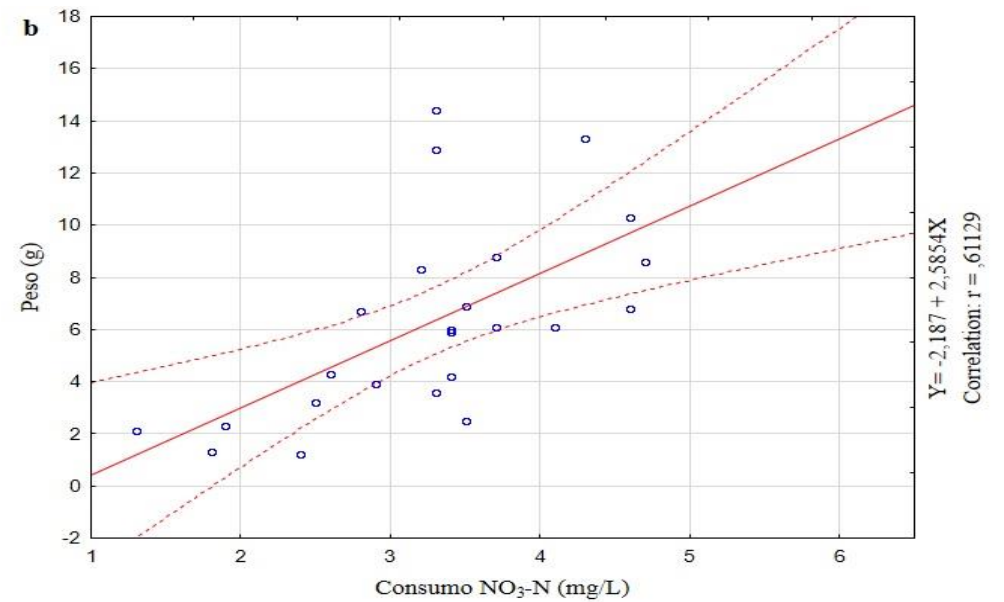
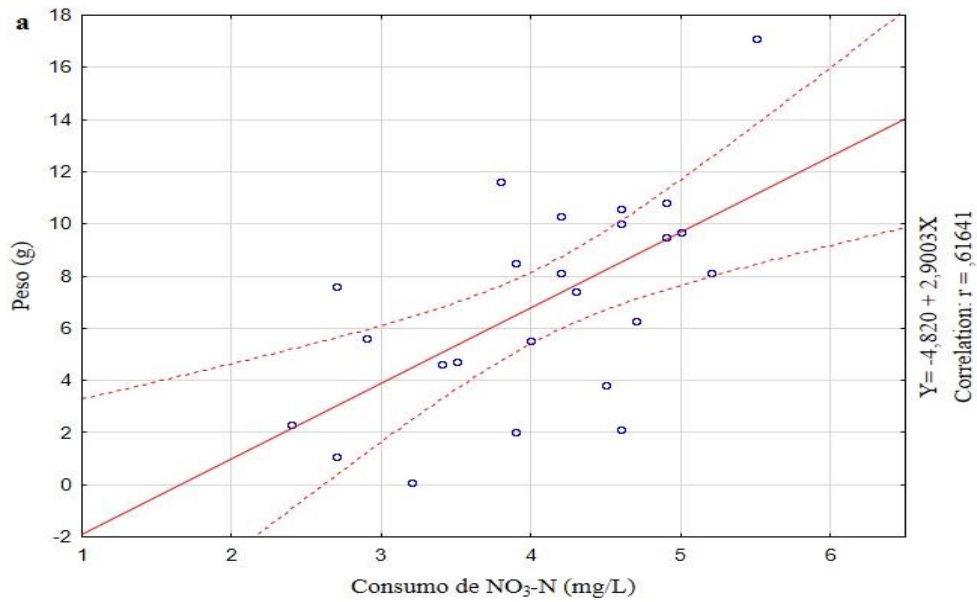


Figura 17- Correlação de Pearson entre o consumo de NO<sub>3</sub>-N e o aumento de peso nos testes (a) 19°C a 35 psu, (b) 15°C a 35 psu e (c) 19°C a 25 psu.

### 3.4 – Taxa de crescimento em peso

Segundo o teste de Levene, pôde ser observada a homogeneidade das variâncias nos diferentes testes realizados ( $p > 0,05$ ). Quando comparados os testes 19°C a 35 psu e 19°C a 25 psu (utilizando a análise de variância (ANOVA, teste F) para medidas repetidas entre sujeitos), a taxa de crescimento diária foi mais elevada à salinidade menor ( $F_{(1, 4)}=30,02$ ,  $p < 0,01$ ) (máximo de 3,3% por dia). Existem diferenças ao longo do tempo com amplas variações do crescimento ( $F_{(7, 28)}=2,96$ ,  $p=0,02$ ) e uma interação entre os fatores analisados ( $F_{(7, 28)}=2,71$ ,  $p=0,03$ ). Relativamente aos testes de temperatura, não se observaram diferenças de caráter significativo ao longo do tempo ( $F_{(1, 4)}=2,92$ ,  $p=0,16$ ) e na interação entre efeitos ( $F_{(7, 28)}=0,89$ ,  $p=0,53$ ). As médias de taxas de crescimento para as experiências 19°C a 35psu, 15°C a 35 psu e 19°C a 25 psu ao longo do tempo foram de 1,8%, 1,7% e 2,1% por dia, respetivamente.

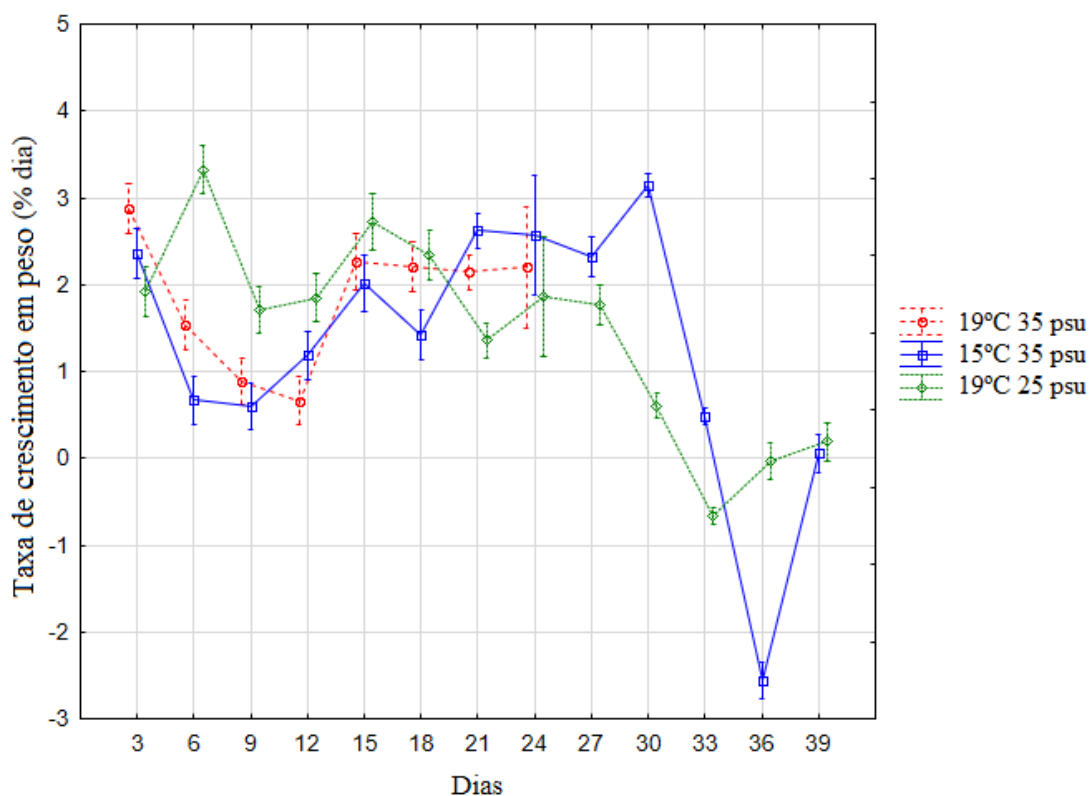


Figura 18- Taxa de crescimento médio de *Ulva lactuca* (barras verticais denotam +/- 1,96 do erro padrão).

### 3.5 – Produção máxima de algas em laboratório e alimentação de juvenis de lapa-burra

A maior produção obtida, com os tratamentos ensaiados, foi a resultante da combinação da temperatura a 19°C e da salinidade a 25 psu com uma taxa média de crescimento em peso de 2,1 % (i.e. 2,1 g/dia). Partindo do princípio de que as duas

estruturas existentes para as mangas suportam 10 mangas de 25L cada uma (10 mangas x 2 estruturas) submetidas às condições ótimas testadas (19°C e 25 psu), seria possível produzir uma média de 42 g/dia de *Ulva lactuca*:

Crescimento máximo diário para 20 mangas de 25L = 2,1g (Crescimento médio por manga/dia) x 20 (n de mangas) = 42 g/dia

Aumentando o volume das mangas para 80L e mantendo a combinação de fatores ótimos para o cultivo (19°C e 25 psu), seria possível ter um crescimento médio por manga de 6,72g/dia/manga. Assim, com um total de 20 mangas de 80L, é possível obter um crescimento médio diário de 134,4g/dia.

No ano de 2014 foram utilizados juvenis de lapa-burra com um peso médio individual de 0,37g para testes de alimentação. Ao fim de 6 semanas o peso médio individual obtido foi de 0,48g (dados não publicados). Partindo do princípio que estes animais necessitam de uma alimentação máxima diária equivalente a 30% do seu peso (Hahn 1989), a quantidade de algas necessária deve variar entre 0,111g/indivíduo/dia e 0,144g/indivíduo/dia. Com uma produção média diária de 42g de algas possível manter um cultivo até um máximo de 291 abalones juvenis com peso máximo de 0,48g/indivíduo. Utilizando mangas de 80l para uma maior produção de algas seria possível aumentar o número de indivíduos juvenis no cultivo para 931:

Consumo médio de algas inicial por juvenil= 0,37g x 0.30 (consumo máximo diário) = 0,111 g/dia

Consumo médio de algas final por juvenil = 0,48g x 0.30 (consumo máximo diário) = 0,144 g/dia

Máximo de juvenis para mangas de 25L = 42 (produção média de *U. lactuca*) / 0,144g (quantidade de algas necessária final) = 291 juvenis

Máximo de juvenis para mangas de 80L= 134,4g (produção média de *U. lactuca*) / 0,144g (quantidade de algas necessária final) = 931 juvenis

## 4 – Discussão

A evolução de biomassa para os tratamentos às temperaturas de 15°C e 19°C foi bastante semelhante, existindo maior crescimento à temperatura de 19°C. De acordo com Geertz-Hansen & Sand-Jensen (1992), as temperaturas mais altas promovem o crescimento em peso de *Ulva* spp. Neste trabalho, verificou-se que mesmo à

temperatura de 15°C se poderá produzir com sucesso *Ulva lactuca*, o que sugere que esta espécie, poderá possuir adaptações, de caráter fisiológico, às condições ambientais existentes nos Açores, em que a temperatura média da água varia entre 15,5°C e 19,5°C (Martins et al. 2007)

O crescimento em peso das algas foi maior quando foram submetidas ao tratamento com a salinidade a 25 psu e temperatura a 19°C. Quando comparado com outros tratamentos, a salinidade teve a maior diferença existindo ainda uma interação significativa entre a salinidade e o tempo. Esta interação permite concluir que o efeito da salinidade a 25 psu ao longo do tempo promove um maior crescimento das algas. Este resultado vai de encontro ao estudo efetuado por Lartigue et al. (2003) que constataram que o ponto de maior atividade fotossintética para a *Ulva lactuca* se encontra a esta salinidade, resultando numa maior produtividade algal. Embora o crescimento se tenha mantido mais elevado a 25 psu, verificou-se que nos primeiros 3 dias a biomassa inicial pouco aumentou. Esse baixo aumento de peso pode estar relacionado com adaptação das algas a uma salinidade diferente da do local de colheita e da do meio em que foram inicialmente estabelecidas para limpeza (cerca de 35 psu).

A variação inicial do consumo de NO<sub>3</sub>-N pode ser explicada pela adaptação das algas ao meio de cultivo onde a concentração deste componente é mais elevada do que a encontrada no habitat natural (cerca de 0,6 mg/l de NO<sub>3</sub>-N). A forte correlação positiva entre o consumo de NO<sub>3</sub>-N e o ganho de peso, observada em todas as experiências, comprova a importância deste composto para o crescimento das algas. Estes resultados vão de encontro ao trabalho efetuado por Magnusson et al. 1996 que afirma que o rápido crescimento da *U. lactuca* é atribuído à sua elevada capacidade de absorção de compostos azotados. Segundo López-Figueroa & Rüdiger (1991), a absorção de nitrato e a sua redução em nitrito para a alga *Ulva rigida* está relacionada com a acumulação de luz recebida. Desta maneira, a diminuição do consumo de azoto de nitratos pode estar relacionada com a elevada densidade de algas que teve como consequência uma menor quantidade de luz incidente em todas as algas.

Em estudos relacionados com a densidade de *U. lactuca*, Vandermeulen & Gordin (1990) constataram que quando esta espécie se encontra a uma densidade de 4 g/L, existe um decréscimo da biomassa nos períodos de tempo seguintes. Já Neori et al. (1991) demonstrou que a densidade do *stock* desta espécie poderia ser aumentada para valores entre 4 e 6 g/L sob uma concentração de nutrientes suficientes aumentando o teor de compostos azotados. Este estudo supera o que está descrito por ambos os

autores, resultando numa diminuição da biomassa média após uma densidade de 7,1 g/L.

Neste trabalho concluiu-se que o efeito combinado entre a salinidade a 25 psu e a temperatura a 19°C foi o tratamento que promoveu o maior crescimento de biomassa em laboratório. Nestas condições, tendo o laboratório capacidade para suportar 20 mangas plásticas de 80L, será possível produzir 134,4g de algas por dia, o que permitirá suprir as necessidades nutricionais de 931 juvenis de *H. tuberculata* com peso máximo individual de 0,48g.

Em estudos futuros seria importante testar o efeito da adição de dióxido de carbono na taxa de crescimento. O trabalho de Chen et al. (2015) refere que a *U. lactuca* apresenta maiores taxas de crescimento sob níveis altos de CO<sub>2</sub> quando esta espécie se encontra em monocultura. O mesmo autor refere que níveis altos de CO<sub>2</sub> promovem a assimilação de compostos azotados. O fornecimento de outros compostos nutritivos, como a amónio, poderá promover o crescimento desta espécie em laboratório. Ale et al. (2010) relataram que o amónio é preferencialmente assimilado pela *Ulva lactuca*; dando origem a uma maior taxa de crescimento e rendimento da biomassa. O aumento da intensidade luminosa, também poderá ser um efeito a testar. Neste estudo apenas foi utilizada uma intensidade luminosa máxima de 7000 Lux. No entanto, de acordo com Sand-Jensen (1988b) a *Ulva lactuca* respondeu favoravelmente a uma irradiância até 11000 Lux. Outro aspeto a abordar no futuro será a avaliação da qualidade nutritiva das algas, nomeadamente os seus conteúdos em proteínas e lípidos. Shpigel et al. (1999) sugere que existe uma modificação considerável do valor nutricional da *Ulva* quando sujeita a elevadas concentrações de N. Boarder & Shpigel, (2001) demonstraram que a cultura de *Ulva spp.* em águas ricas em nutrientes aumenta o seu teor em proteínas de 11% para mais de 32% em peso seco, propiciando simultaneamente um crescimento significativamente mais rápido quer da *Ulva*, quer do *Haliothis* que dela se alimenta.

## 5 – Bibliografia

- Ale, M.T., J.D. Mikkelsen & A.S. Meyer 2010. Differential growth response of *Ulva lactuca* to ammonium and nitrate assimilation. *Journal of Applied Phycology*, 23 (3), 345–351.
- Boarder, S.J. & M. Shpigel 2001. Comparative performances of juvenile *Haliotis roei* fed on enriched *Ulva rigida* and various artificial diets. *J. Shellfish Res.*
- Chen, B., D. Zou & H. Jiang 2015. Elevated CO<sub>2</sub> exacerbates competition for growth and photosynthesis between *Gracilaria lemaneiformis* and *Ulva lactuca*. *Aquaculture*, 443, 49–55.
- DeBusk, T.A., M. Blakeslee & J.H. Ryther 1986. Studies on the outdoor cultivation of *Ulva lactuca*, *L. Bot. Mar.* 29, 381 – 386.
- Geertz-Hansen, O. & K. Sand-Jensen 1992. Growth rates and photon yield of growth in natural populations of a marine macroalga *Ulva lactuca*. *Mar. Ecol. Prog., no. Ser.* 81, pp. 179–183
- Guiry, M.D. & G.M. Guiry 2015. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 14 January 2015.
- Hahn, K. 1989. Nutrition and growth of abalone. In: K. Hahn (Editor), *Handbook of Culture of Abalone and other Marine Gastropods*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 135–180.
- Hoek, C., D.G. Mann & H.M. Jahns 1995. *Algae, An introduction to phycology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kamermans, P., E.J. Malta, J.M. Verschuure, L.F. Lentz & L. Schrijvers 1998. Role of cold resistance and burial for winter survival and spring initiation of an *Ulva spp.* (Chlorophyta) bloom in a eutrophic lagoon (Veerse Meer lagoon, The Netherlands). *Marine Biology*, 131(1), 45–51.
- Lartigue, J., A. Neill, B.L. Hayden, J. Pulfer & J. Cebrian 2003. The impact of salinity fluctuations on net oxygen production and inorganic nitrogen uptake by *Ulva lactuca* (Chlorophyceae). *Aquatic botany*, 75(4), 339–350.
- López-Figueroa, F. & W. Rüdiger 1991. Stimulation Of Nitrate Net Uptake And Reduction By Red And Blue Light And Reversion By Far-Red Light In The Green Alga *Ulva Rigida*. *Journal of phycology*, 27(3), 389–394.
- Luhan M.R.J & H. Sollesta 2010. Growing the reproductive cells (carpospores) of the seaweed, *Kappaphycus striatum*, in the laboratory until outplanting in the field and maturation tetrasporophyte. *J Appl Phycol* 22:579 – 585
- Magnusson, G., C. Larsson & L. Axelsson 1996. Effects of high CO<sub>2</sub> treatment on nitrate and ammonium uptake by *Ulva lactuca* grown in different nutrient regimes. *Sci Mar* 60:179–189
- Malta, E., J.W. Rijstenbil, P.E.M. Brouwer & J.C. Kromkamp 2003. Vertical heterogeneity in physiological characteristics of *Ulva spp.* mats. *Marine Biology*, 143 (5), 1029–1038.

- Mantri, V.A., R.P. Singh, A.J. Bijo, P. Kumari, C.R.K. Reddy & B. Jha 2011. Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, *Ulvales*). *Journal of applied phycology*, 23(2), 243-250.
- Martins, A.M., A.S.B. Amorim, M.P. Figueiredo, R.J. Souza, A.P. Mendonça, I.L. Bashmachnikov & Carvalho, D.S. 2007. Sea surface temperature (AVHRR, MODIS) and ocean colour (MODIS) seasonal and interannual variability in the Macaronesian islands of Azores, Madeira, and Canaries, *Proc. SPIE Vol. 6743, 67430A* (Oct. 10, 2007), 15 pp.
- Monterey Bay Aquarium Research Institute (MBARI) 2001. *Biotic Interactions: Ulva ecology*. <http://www.mbari.org/staff/conn/botany/greens/anna/frontpages/default.htm> (cited 12 January 2015).
- Nelson, T.A., K. Haberlin, A.V. Nelson, H. Ribarich, R. Hotchkiss, K.L. Van Alstyne, L. Buckingham, D. J. Simunds & K. Fredrickson 2008. Ecological and physiological controls of species composition in green macroalgal blooms. *Ecology* 89:1287–1298
- Neori, A., I. Cohen & H. Gordin 1991. *Ulva lactuca* Biofilters for Marine Fishpond Effluents II. Growth Rate, Yield and C:N ratio. *Bot. Mar.*, 34: 483-489.
- Neori, A., M.D. Krom, S.P. Ellner, C.E. Boyd, D. Popper, R. Rabinovitch, P.J. Davison, O. Dvir, D. Zuber, M. Ucko, D. Angel & H. Gordin 1996. Seaweed biofilters as regulators of water quality in integrated fish-seaweed culture units. *Aquaculture* 141, 183–199.
- Neori, A., N. Ragg & M. Shpigel 1998. The integrated culture of seaweed, abalone, fish and clams in modular intensive land-based systems: II. Performance and nitrogen partitioning within an abalone (*Haliotis tuberculata*) and macroalgae culture system. *Aquacultural Engineering*, 17(4), 215–239.
- Pereira, L. 2009 *Guia Ilustrado das Macroalgas*. Imprensa da Universidade de Coimbra.
- Robertson-Andersson, D. V., M. Potgieter, J. Hansen, J.J. Bolton, M. Troell, R.J. Anderson, C. Halling & T. Probyn, 2008. Integrated seaweed cultivation on an abalone farm in South Africa. *Journal of Applied Phycology*, 20(5), 579–595.
- Rautenberger, R., P.A. Fernández, M. Strittmatter, S. Heesch, C.E. Cornwall, C.L. Hurd & M.Y. Roleda 2015. Saturating light and not increased carbon dioxide under ocean acidification drives photosynthesis and growth in *Ulva rigida* (chlorophyta). *Ecology and evolution*, 5, 874-888.
- Ryther, J. H., J.C. Goldman, J.E. Gifford, J.E. Huguenin, A.S. Wing, J.P. Clarner, L.D. Williams & B.E. Lapointe 1975. Physical models of integrated waste recycling—marine polyculture systems. *Aquaculture* 5, 163 – 177.
- Sand-Jensen, K. 1988a. Photosynthetic responses of *Ulva lactuca* at very low light. *Marine Ecology Progress Series*, 50, 195–201.

- Sand-Jensen, K. 1988b. Minimum light requirements for growth in *Ulva lactuca*. Marine Ecology Progress Series, 50, 187–193.
- Shaojun, P.A.N.G. & S.H.A.N. Tifeng 2008. Temperature and light tolerance of representative brown, green and red algae in tumble culture revealed by chlorophyll fluorescence measurements. 海洋学报, 27(4).
- Shpigel, M., N.C. Ragg, I. Lupatsch & A. Neori 1999. Protein content determines the nutritional value of the seaweed *Ulva lactuca* for the abalone *Haliotis tuberculata* and *H. discus hannai*. J. Shellfish Res. 18, 227–233.
- Taylor, R., R.L. Fletcher & J.A. Raven 2001. Preliminary Studies on the Growth of Selected “Green Tide” Algae in Laboratory Culture: Effects of Irradiance, Temperature, Salinity and Nutrients on Growth Rate. Botanica Marina, 44, 327–336.
- Vandermeulen, H. & H. Gordin 1990. Ammonia uptake using *Ulva* (Chlorophyta) in intensive fishpond system: Mass culture and treatment of effluent. J. Appl. Phycol., 2: 363-374.
- Viera, M.P., G.C. De Vicose, J.L. Gómez-Pinchetti, A. Bilbao, H. Fernandez-Palacios & M.S. Izquierdo 2011. Comparative performances of juvenile abalone (*Haliotis tuberculata coccinea* Reeve) fed enriched vs non-enriched macroalgae: Effect on growth and body composition. Aquaculture, 319, 423-429.
- Guiry, M.D. & G.M. Guiry 2015. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; (Cited 14 January 2015).
- Walne, P. R. 1970. Studies on the food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mercenaria* and *Mytilus*. Fish. Invest. Ser. 2, 26(5).