



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE PEIXES E  
BIVALVES EM AQUACULTURA:  
CRESCIMENTO E INDICADORES DE  
QUALIDADE**

**Diogo Manuel Azevedo da Cunha Teixeira**

Orientação: Prof. Doutora Maria Manuela Clemente  
Vilhena

Co-Orientação: Doutora Florbela Maria Benjamim  
Soares

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

Évora, 2016



**UNIVERSIDADE DE ÉVORA**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE PEIXES E  
BIVALVES EM AQUACULTURA:  
CRESCIMENTO E INDICADORES DE  
QUALIDADE**

**Diogo Manuel Azevedo da Cunha Teixeira**

Orientação: Prof. Doutora Maria Manuela Clemente  
Vilhena

Co-Orientação: Doutora Florbela Maria Benjamim  
Soares

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

Évora, 2016

## Agradecimentos

Felizmente, sinto-me muito agradecido tanto com a minha vida como com todos aqueles que a preenchem! Apesar de ter a certeza de que todos aqueles a quem quero agradecer sabem disso, estou rodeado de tantas pessoas maravilhosas que a lista seria imensa.

Em primeiro lugar e com **grande destaque** agradeço aos meus maravilhosos pais e irmã que sempre, mas sempre estiveram do meu lado em todas as decisões mesmo naquelas que nem a mim próprio hoje me fazem grande sentido. Lutaram sempre do meu lado e por isso são os meus soldados, os meus pilares, a minha força e sinto-me muito sortudo por me fazerem sentir tão amado e acarinhado a cada segundo! É recíproco e eles sabem. Á Tó e avós! Neste grande destaque incluo também o meu Atum, grande amigo e companheiro, sempre ao meu lado, fiel, bom ouvinte e sempre disponível para mim. Infelizmente, o meu cão Skate já não está cá, mas acompanhou-me desde a 4ª classe até ao estágio final de curso, por isso, um grande destaque para ele também, um dia voltaremos a brincar juntos!

Gostava de agradecer aos “Nós os Gordos”, a malta de Viana do Castelo. “Felizes aqueles que carregam os amigos da adolescência para o resto da vida” e eu até nisso não podia ter mais sorte!

Aos meus colegas de casa “Barones”, Ivo e Rafael com os quais tive o prazer, a honra de morar 5 anos e com os quais tenho a esperança de vir a morar muitos mais, por tudo...

Quero também agradecer às restantes pessoas, igualmente importantes, que me acompanharam durante o curso de Medicina Veterinária.

À Prof. Doutora Manuela Vilhena pela sua disponibilidade imediata em me aceitar como seu tutorando, pela paciência, palavras carinhosas, compreensão e motivação transmitida.

Ao Dr. Pedro Pousão por me ter permitido fazer o estágio num lugar tão especial como a EPPO e à Doutora Florbela por ter aceite orientar este estágio, por ter a porta do seu gabinete sempre aberta, pela ajuda e simpatia.

Um ENORME agradecimento ao Hugo Quental Ferreira que me mostrou o conceito de “excelente profissional”. Além de ser o sonho de qualquer patrão, é o sonho de qualquer colega por toda a disponibilidade em ensinar, corrigir, motivar, ajudar... Sem palavras!

Ao Márcio Moreira por toda a paciência, amizade e ajuda e à restante malta da EPPO que encheu estes 6 meses de alegria, animo e muita vida. O tempo passou a voar nesta excelente companhia. Orgulho-me por saber que acima de colegas de trabalho, ganhei amigos.

Á minha Dona Lurdes que levarei sempre no coração, passou de senhoria a mãe, avó...

Aos AMIGOS DO MAR de Viana do Castelo, meus fiéis mergulhadores que partilham comigo toda a magia que cada mergulho nos traz. Em especial ao Edgar Cachada, por ter sido um grande impulsionador deste estágio e de muitas outras coisas maravilhosas na minha vida!

Em forma de agradecimento gostava de pedir desculpa a todos os peixes a quem tive de provocar medo, *stress* ou sofrimento. Foi por um bem maior e com muito respeito! Sinto sempre que se eles me ouvissem e compreendessem, podíamos ser grandes amigos!

A todos os que me acompanharam e acompanham e em quem eu penso enquanto escrevo estas palavras!

## **Resumo**

O presente relatório refere-se ao estágio curricular realizado na Estação Piloto de Piscicultura de Olhão, no período compreendido entre janeiro e julho de 2016, no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

Este trabalho divide-se em duas partes. A primeira parte descreve as atividades e respetiva casuística desenvolvidas nas diferentes áreas de produção aquícola. Na segunda parte é abordado o tema “Produção Aquícola de Peixes e Ostras em regime Semi-intensivo”, onde são enquadrados os conceitos relacionados com aquacultura, sistemas de produção e pesquisa de biomarcadores na qualidade e bem-estar animal. São ainda descritas as ações de acompanhamento, durante o estágio, de um projeto de investigação em sistemas de produção em tanques de terra exteriores e um caso clínico.

Este relatório atesta a importância da Medicina Preventiva em aquacultura.

**Palavras chave: Biomarcadores, Aquacultura, Ostras, Peixes, Medicina Preventiva.**

## **Abstract**

### **Fish and bivalve aquaculture production systems: growth and quality indicators**

The following report was elaborated after the externship conducted at the Olhão Pilot Aquaculture Station, between January and July of 2016, in order to fulfill the requirements for a Masters degree in Veterinary Medicine at the University of Évora.

This report is divided in two parts. The first part contains a description of the developed activities and the casuistic at the different aquaculture production areas. The second part will focus on the development of the theme “Fish and Oyster aquaculture production in a semi-intensive culture system”, with a theoretical framework about aquaculture concepts, production systems and identifying biomarkers in animal healthcare. At last, are presented and supported the monitoring actions taken in an investigation study case about inshore production systems and a clinic case followed during the externship.

This report attests the importance of Preventive Medicine in aquaculture.

**Keywords: Biomarkers, Aquaculture, Oyster, Fish, Preventive Medicine.**

## ÍNDICE

|   |        |
|---|--------|
| Agradecimentos .....  | I      |
| Resumo .....  | II     |
| Abstract .....  | II     |
| Índice de Gráficos .....  | V      |
| Índice de Tabelas .....   | VII    |
| Índice de Figuras .....   | VIII   |
| Abreviaturas e Siglas .....   | X      |
| I. Introdução .....   | - 1 -  |
| II. Relatório de Casuística .....   | - 3 -  |
| 1. Organização da Casuística .....  | - 3 -  |
| 2. Áreas de Produção e Rotinas .....  | - 4 -  |
| 2.1. Reprodutores .....   | - 4 -  |
| 2.2. Produção larvar .....  | - 6 -  |
| 2.3. Cadeia alimentar .....   | - 7 -  |
| 2.4. Juvenis .....  | - 10 - |
| 2.5. Pré Engorda .....  | - 11 - |
| 2.6. Engorda .....  | - 12 - |
| 2.7. Sala de Estudo .....   | - 21 - |
| 3. Intervenções Médico-Preventivas e Clínicas.....                                    | - 21 - |
| 3.2 Análises de rotina ou diagnóstico .....   | - 27 - |
| III. Monografia “ Produção Aquícola de Peixes e Ostras em regime Semi-intensivo” .... | - 32 - |
| 1. Aquicultura .....  | - 32 - |
| 1.2. Estado mundial da aquicultura .....  | - 33 - |
| 1.3. Aquicultura em Portugal .....  | - 34 - |
| 1.4. Desafios da aquicultura .....  | - 36 - |
| 1.5. Sistemas e métodos de produção aquícola .....                                    | - 37 - |
| 2. O Médico Veterinário em Aquicultura .....  | - 39 - |
| 3. Escolha das Espécies a Produzir .....  | - 40 - |
| 3.1. Espécies Piscícolas.....   | - 40 - |
| 3.2. Espécie de Bivalves.....   | - 46 - |
| 3.3. Macroalgas .....   | - 48 - |
| 4. Critérios de Avaliação Médica .....  | - 50 - |
| 4.1. Anamnese e história clínica.....   | - 51 - |
| 4.2. Hematologia .....  | - 51 - |
| 4.3. Técnicas de sacrifício do peixe .....  | - 53 - |

|   |         |
|---|---------|
| 4.4. Anatomia patológica .....                      | - 53 -  |
| 4.5. Parasitologia.....                             | - 55 -  |
| 4.6. Microbiologia .....                            | - 56 -  |
| 4.7. Histologia.....                                | - 57 -  |
| 5. Parasitologia em aquacultura .....               | - 57 -  |
| 5.1. Relação Peixe/Parasita .....                   | - 57 -  |
| 5.2. Tipos de parasitas.....                        | - 58 -  |
| 5.3. Grupos de parasitas em aquacultura .....       | - 59 -  |
| 5.4. Monogenea .....                                | - 60 -  |
| 5.5. Dinoflagelados.....                            | - 61 -  |
| 6. Químicos em aquacultura .....                    | - 63 -  |
| 6.1. Peroxido de hidrogénio .....                   | - 64 -  |
| 6.2. Sulfato de cobre .....                         | - 65 -  |
| 7. Estudo de Caso: IMTA Effect Project.....         | - 66 -  |
| 7.1. Introdução e descrição.....                    | - 66 -  |
| 7.2. Ideias Principais do Estudo Multinacional..... | - 66 -  |
| 7.3. Objetivo do Projeto .....                      | - 66 -  |
| 7.4. Estrutura e Organização do Sistema .....       | - 67 -  |
| 7.5. Espécies utilizadas: .....                     | - 67 -  |
| 7.6. Calendarização .....                           | -70 -   |
| 7.7. Material e Métodos:.....                       | - 71 -  |
| 7.8. Rotinas e Procedimentos .....                  | - 74 -  |
| 7.9. Amostragens .....                              | - 75 -  |
| 7.10. Resultados e Análise.....                     | - 82 -  |
| 7.11 Discussão .....                                | - 92 -  |
| 8. Caso Clínico .....                               | - 93 -  |
| 8.1. História Clínica.....                          | - 93 -  |
| 8.2. Fatores Abióticos.....                         | - 93 -  |
| 8.3. Análise Parasitológica.....                    | - 93 -  |
| 8.4. Tratamento Químico .....                       | - 94 -  |
| 8.5. Reavaliação.....                               | - 94 -  |
| 8.6. Discussão .....                                | - 94 -  |
| 9. Conclusão .....                                  | - 95 -  |
| 10. Considerações Finais .....                      | - 96 -  |
| IV. Bibliografia .....                              | - 97 -  |
| V. Anexos .....                                     | - 106 - |

## Índice de Gráficos

|   |        |
|---|--------|
| <b>Gráfico 1:</b> Distribuição temporal por áreas do ciclo produtivo no período de estágio. ....  | - 3 -  |
| <b>Gráfico 2:</b> Estimativa do número de indivíduos da eppo, por espécie, em fase de engorda no mês de março. ....   | - 13 - |
| <b>Gráfico 3:</b> Relação entre os procedimentos considerados preventivos e os procedimentos médicos/tratamentos durante o período de estágio.....                          | - 22 - |
| <b>Gráfico 4:</b> Estimativa da relação dos animais avaliados que apresentavam ou não sinais clínicos. ....   | - 23 - |
| <b>Gráfico 5:</b> Estimativa da relação entre o equilíbrio e o comprometimento do estado clínico de animais avaliados que não apresentavam sinais clínicos. ....            | - 23 - |
| <b>Gráfico 6:</b> Estimativa da relação entre as diferentes análises divididas por área médica realizadas no período de estágio na EPPO. ....                               | - 24 - |
| <b>Gráfico 7:</b> Comparação entre o número de peixes avaliados por tanque (numerados de 1-17), Em Procedimentos Calendarizados (Projetos Científicos) Ou De Rotina. ....   | - 29 - |
| <b>Gráfico 8:</b> Comparação, em milhões de toneladas entre a quantidade de peixe capturado e o produzido em Aquacultura, a nível Mundial. [Adaptado de (FAO, 2016a)]. .... | - 33 - |
| <b>Gráfico 9:</b> Evolução ao longo dos anos, em milhares de toneladas, por grupos de espécies produzidas a nível mundial. [Adaptado de (FAO, 2016a)]. ....                 | - 34 - |
| <b>Gráfico 10:</b> Evolução da produção aquícola Portuguesa, em milhares de toneladas. [(Adaptado de FAO, 2005)]. ....  | - 36 - |
| <b>Gráfico 11:</b> Produção mundial de <i>Mugil cephalus</i> em toneladas. [Adaptado de (FAO, 2016b)]. . .  | - 42 - |
| <b>Gráfico 12:</b> Produção mundial de <i>Sparus aurata</i> em toneladas. [Adaptado de (FAO, 2016c)]. ....  | - 44 - |
| <b>Gráfico 13:</b> Produção mundial de <i>Diplodus sargus</i> em toneladas. [Adaptado de (FAO, 2016d)]. ....  | - 46 - |
| <b>Gráfico 14:</b> Produção mundial de <i>Crassostrea gigas</i> em milhares de toneladas. [Adaptado de (FAO, 2016e)]. ....  | - 48 - |
| <b>Gráfico 15:</b> Esquema representativo de alguns ectoparasitas frequentemente encontrados numa aquacultura Portuguesa, divididos por grupos.....                         | - 59 - |
| <b>Gráfico 16:</b> Evolução média da temperatura da água (° C) entre os períodos de amostragem, por tanque. ....  | - 82 - |

|  |        |
|--|--------|
| <b>Gráfico 17:</b> Evolução média do oxigênio (ppm) entre os períodos de amostragem, por tanque .<br>.....   | - 82 - |
| <b>Gráfico 18:</b> Evolução dos valores médios de temperatura da água e de oxigênio dissolvido.<br>.....   | - 83 - |
| <b>Gráfico 19:</b> Média do índice de condição (IC) dos peixes em cada amostragem agrupados por tratamento. ....                                   | - 84 - |
| <b>Gráfico 20:</b> Relação da Média total do Índice de Condição dos peixes e da média total do número de parasitas monogéneos. ....                | - 84 - |
| <b>Gráfico 21:</b> Relação da Média total do Índice de Condição dos peixes e da média total do número de <i>Amyloodinium ocellatum</i> . ....      | - 84 - |
| <b>Gráfico 22:</b> Relação parasitária (Monogéneos e <i>Amyloodinium ocellatum</i> ) e temperatura da água (° C) nos tanques 11 e 16. ....         | - 86 - |
| <b>Gráfico 23:</b> Relação parasitária (Monogéneos e <i>Amyloodinium ocellatum</i> ) e oxigênio dissolvido na água (ppm) nos tanques 11 e 16. .... | - 86 - |
| <b>Gráfico 24:</b> Relação parasitária (Monogéneos e <i>Amyloodinium ocellatum</i> ) e temperatura da água (° C) nos tanques 12 e 14. ....         | - 87 - |
| <b>Gráfico 25:</b> Relação parasitária (Monogéneos e <i>Amyloodinium ocellatum</i> ) e oxigênio dissolvido na água (ppm) nos tanques 12 e 14 ....  | - 87 - |
| <b>Gráfico 26:</b> Relação parasitária (Monogéneos e <i>Amyloodinium ocellatum</i> ) e temperatura da água (° C) nos tanques 13 e 15. ....         | - 88 - |
| <b>Gráfico 27:</b> Relação parasitária (Monogéneos e <i>Amyloodinium ocellatum</i> ) e oxigênio dissolvido na água (ppm) nos tanques 13 e 15. .... | - 88 - |
| <b>Gráfico 28:</b> Comparação dos níveis médios do número de parasitas monogéneos por tratamento, em cada amostragem. ....                         | - 89 - |
| <b>Gráfico 29:</b> Comparação dos níveis médios de <i>Amyloodinium ocellatum</i> por tratamento, em cada amostragem. ....                          | - 89 - |
| <b>Gráfico 30:</b> Valores médios de hematócrito agrupados por tratamento nas 4 amostragens mensais. ....  | - 90 - |
| <b>Gráfico 31:</b> Média dos valores de hematócrito entre peixes parasitados e não parasitados com <i>Amyloodinium ocellatum</i> . ....            | - 91 - |



## Índice de Tabelas

|  |        |
|--|--------|
| <b>Tabela 1:</b> Frequência absoluta (Fi) e relativa (Fr) do número de observações feitas aos tanques (OT) e de peixes analisados (PA), durante o período de estágio.....                                    | - 25 - |
| <b>Tabela 2:</b> Frequência absoluta (Fi) e relativa (Fr) dos peixes analisados (PA) <i>relacionando a área de análise e espécie dos indivíduos</i> .....  | - 25 - |
| <b>Tabela 3:</b> Frequência absoluta (Fi) e relativa (Fr) do total dos peixes de cada espécie analisados (PA). .....   | - 26 - |
| <b>Tabela 4:</b> Frequência absoluta (Fi) e relativa (Fr) dos peixes analisados (PA) por área de análise clínica e por área do ciclo produtivo. ....   | - 27 - |
| <b>Tabela 5:</b> Frequência absoluta (Fi) e relativa (Fr) das análises de rotina/prevenção (AR) e das análises calendarizadas (AC) por área de análise clínica. ....   | - 27 - |
| <b>Tabela 6:</b> Frequência absoluta (Fi) e relativa (Fr) do número de Parasitas(P) encontrado em avaliações parasitológicas de rotina, em diferentes espécies de peixes, durante o período de estágio. .... | - 29 - |
| <b>Tabela 7:</b> Número de parasitas de cada espécie relacionado com as espécies piscícolas, durante o período de estágio.....   | - 30 - |
| <b>Tabela 8:</b> Relação entre a Quantidade de Parasitas identificados e a espécie do indivíduo observado .....  | - 30 - |
| <b>Tabela 9:</b> Frequência absoluta (Fi) e relativa (Fr) das medidas efetuadas com caracter de tratamento na Engorda e Pré-Engorda. ....  | - 31 - |
| <b>Tabela 10:</b> Utilização dos produtos piscícolas obtidos em aquacultura e pescas, por ano. (FAO, 2016) .....   | - 33 - |
| <b>Tabela 11:</b> Biomassa (Kg) e distribuição de espécies por tanque .....  | - 68 - |
| <b>Tabela 12:</b> Calendarização dos Procedimentos e Medições realizadas ao longo do projeto IMTA 2016 .....   | - 70 - |
| <b>Tabela 13:</b> Fatores Abióticos TT12. Dia 13-16Julho. ....   | - 93 - |

## Índice de Figuras

|  |        |
|--|--------|
| <b>Figura 1:</b> Estação Piloto de Piscicultura de Olhão. Imagem aérea gentilmente cedida pela EPPO.<br>.....  | - 2 -  |
| <b>Figura 2:</b> Representação dos tanques de reprodutores interiores (R's) e exteriores (Text) no período Janeiro-Julho 2016 da EPPO. ....  | - 4 -  |
| <b>Figura 3:</b> <i>Mugil cephalus</i> . (Tomelleri, 2016).....  | - 41 - |
| <b>Figura 4:</b> Ciclo Produtivo da tainha ( <i>Mugil cephalus</i> ) em regime semi-intensivo. [Adaptado de (FAO, 2016b)]. ....  | - 41 - |
| <b>Figura 5:</b> <i>Sparus aurata</i> (FAO, 2016c).....  | - 43 - |
| <b>Figura 6:</b> Ciclo produtivo de dourada ( <i>Sparus aurata</i> ) em regime semi-intensivo. [Adaptado de (FAO, 2016)] .....   | - 44 - |
| <b>Figura 7:</b> <i>Diplodus sargus</i> (FAO, 2016d) .....   | - 45 - |
| <b>Figura 8:</b> Anatomia da ostra. Adaptado de Aquaculture Shellfish Anatomy, Oysters.....  | - 47 - |
| <b>Figura 9:</b> <i>Crassostrea gigas</i> produzida na eppo. ....  | - 47 - |
| <b>Figura 10:</b> <i>Ulva lactuca</i> . (Lindeberg, 2003). ....  | - 49 - |
| <b>Figura 11:</b> <i>Ulva</i> removida de um TT da EPPO no decorrer do ensaio em IMTA. ....  | - 49 - |
| <b>Figura 12:</b> Legenda das estruturas anatómicas externas e dos órgãos internos, após dissecação de uma Truta-arco-íris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ). [Adaptado de (Oregon State University, 2016)].<br>..... | - 54 - |
| <b>Figura 13:</b> Representação das estruturas anatómicas de um parasita pertencente à classe Monogenea ( <i>Gyrodactylus olsoni</i> ) (Oswald S., 2015). ....   | - 60 - |
| <b>Figura 14:</b> Ciclo de vida de <i>Amyloodinium ocellatum</i> . Adaptado de (Martins <i>et al.</i> , 2015)....  | - 62 - |
| <b>Figura 15:</b> Sulfato de cobre usado na eppo. ....   | - 65 - |
| <b>Figura 16:</b> Conjunto de seis estruturas colocado em todos os tanques para comparativo de crescimento de <i>Ulva</i> spp. em diferentes densidades.....   | - 69 - |
| <b>Figura 17:</b> Estrutura de crescimento de <i>Ulva</i> spp. em baixa densidade. ....  | - 69 - |
| <b>Figura 18:</b> Ostras de 0,5g utilizadas para o projeto. ....   | - 70 - |
| <b>Figura 19:</b> Totalidade de ostras de 0,5g utilizadas para o projeto. ....   | - 70 - |
| <b>Figura 20:</b> Fotografia aérea dos TT da EPPO. Obtida através do “Google Maps”.....  | - 71 - |
| <b>Figura 21:</b> Perspetiva lateral e aérea, em esboço, das medidas aproximadas dos tanques.-   | - 71 - |
| <b>Figura 22:</b> Injetor de ar utilizado para a experiencia. ....   | - 72 - |
| <b>Figura 23:</b> Alimentador automático utilizado para a experiência .....  | - 72 - |

|  |        |
|--|--------|
| <b>Figura 24:</b> Rótulo de alimento composto para peixes utilizado ao longo do projeto.....                             | - 73 - |
| <b>Figura 25:</b> Procedimento de colheita de Sangue e de contenção. ....  | - 76 - |
| <b>Figura 26:</b> Eppendorfs refrigerados em caixa térmica com gelo moído. ....  | - 76 - |
| <b>Figura 27:</b> Esfregaços de sangue corados. ....   | - 76 - |
| <b>Figura 28:</b> Aparelho de microhematócrito com 4 tubos capilares. ....   | - 77 - |
| <b>Figura 29:</b> Procedimento de diluição do Muco. ....   | - 77 - |
| <b>Figura 30:</b> Preparação dos arcos branquiais para observação microscópica. Corte do arco cartilágneo. ....          | - 78 - |
| <b>Figura 31:</b> Filamentos branquiais organizados na lamina para observação microscópica e contagem de parasitas. .... | - 79 - |
| <b>Figura 32:</b> Observação microscópica, contagem e identificação de parasitas. ....                                   | - 79 - |
| <b>Figura 33:</b> Abertura do peixe pela linha ventral desde o poro anal até à região opercular. ....                    | - 80 - |
| <b>Figura 34:</b> Observação dos órgãos internos após abertura do peixe. ....  | - 80 - |
| <b>Figura 35:</b> Isolamento de órgãos para pesagem e histologia. ....   | - 81 - |
| <b>Figura 36:</b> Recolha de tecidos para histologia. ....   | - 81 - |

## Abreviaturas e Siglas

EPPO: Estação Piloto de Piscicultura de Olhão

EDTA: Ethylenediamine Tetraacetic Acid

IC: Índice de Condição

IMTA: Integrated Multi-Trophic Aquaculture

IPMA: Instituto Português do Mar e da Atmosfera

J's; Tanques juvenis da EPPO

L's: Tanques larvares da EPPO

OD: Oxigénio dissolvido na água

OMS: Organização Mundial de Saúde

P's: Tanques de pré-engorda da EPPO

ppm: partes por milhão

R's: Tanques interiores de reprodutores da EPPO

Rpm: Rotações por minuto

TCBS: Tiosulfato-Citrato-Bilis-Sacarose

Text: Tanques exteriores de reprodutores da EPPO

Tqr: Tanques usados para quarentena ou produção de Linguados (*Solea senegalensis*) da EPPO

TSA: Trypticase-Soy-Agar

Tt: Tanques-Terra da EPPO

## I. Introdução

O presente relatório refere-se às atividades e procedimentos praticados no estágio realizado na Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO), sob orientação da Doutora Florbela Soares, durante o período compreendido entre janeiro e julho de 2016.

A EPPO, situada no Parque Natural da Ria Formosa, na cidade de Olhão, é uma infraestrutura de carácter único no país, pertencente ao Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), projetada para realizar e conduzir estudos científicos de investigação, desenvolvimento e demonstração experimental à escala piloto.

Os objetivos principais da EPPO são o desenvolvimento das técnicas de produção, associados à tecnologia e fundamentos científicos de forma a contribuir para o crescimento da Aquacultura em Portugal, conciliando com o carácter formativo nas áreas técnicas e científicas, tanto a nível profissional como universitário.

Sendo a aquacultura uma área em grande desenvolvimento, é importante que as equipas de trabalho sejam multidisciplinares de forma a complementarem as suas funções, assim, a EPPO conta com especialistas em diversas áreas.

Esta unidade tem a capacidade de concluir a totalidade do ciclo reprodutivo de variadas espécies marinhas (adaptadas a cativeiro). Dispondo de uma zona de reprodução/maternidade onde se realizam ensaios de reprodução e de desenvolvimento larvar, pré engorda e ainda uma zona de engorda em tanques de terra onde são desenvolvidos diversos projetos com intuito comparativo entre os vários sistemas de produção: monocultivo/policultivo/multitrófico.

Nas diferentes fases do ciclo de produção são efetuados estudos a nível da fisiologia, nutrição, patologia, bem-estar e desenvolvimento animal. Os trabalhos realizados envolvem não só espécies piscícolas como Dourada (*Sparus aurata*), Robalo (*Dicentrarchus labrax*), Mero (*Epinephelus marginatus*), Sargo (*Diplodus Sargus*, *Diplodus vulgaris*), Linguado (*Solea senegalensis*), Tainha (*Mugil cephalus*) e Corvina (*Argyrosomus regius*), como também espécies bivalves como Ostras (*Crassostrea gigas* e *Crassostrea angulata*) e ainda diversos tipos de algas marinhas.

É de salientar a importância dos atos de beneficência da EPPO, doando a instituições de caridade como ajuda humanitária os produtos produzidos de acordo com as melhores práticas de sustentabilidade e que, do ponto de vista de qualidade e segurança alimentar, cumprem todos os requisitos exigidos.

A investigação e as atividades desenvolvidas são suportadas por projetos de financiamento nacional e internacional e contam ainda com a colaboração de outros institutos de investigação, universidades e empresas de carácter privado.

A escolha do tema, bem como do local de estágio, foi baseada no gosto pela área das espécies marinhas e da sua conservação. Assim, os principais objetivos deste estágio prendem-se com aquisição de conhecimentos e competências que potenciem o bom desempenho das práticas de uma piscicultura e, por conseguinte, da profissão futura.

O presente trabalho visa ainda contribuir para um esclarecimento das rotinas executadas na EPPO, bem como salientar os domínios onde a atuação do Médico Veterinário é mais importante, descrevendo o seu papel numa unidade piscícola.



**FIGURA 1: ESTAÇÃO PILOTO DE PISCICULTURA DE OLHÃO. IMAGEM AÉREA GENTILMENTE CEDIDA PELA EPPO.**

## II. Relatório de Casuística

### 1. Organização da Casuística

A casuística descrita no presente relatório divide-se por diversas áreas de produção: Maternidade/Reprodução, Microalgas, Cadeia Alimentar, Juvenis, Pré-Engorda e Engorda. Durante o estágio curricular houve possibilidade de participar nas diversas áreas do ciclo produtivo, traduzindo-se num maior conhecimento e numa noção geral das rotinas e procedimentos, bem como de toda a logística necessária.

Houve ainda a oportunidade de acompanhar de raiz um projeto de investigação referente ao sistema de produção multitrófico (área de “Engorda”) em tanques de terra exteriores, num regime semi-intensivo, trabalho este ao qual foi dedicado grande parte do estágio. Desta forma, o presente trabalho aborda mais detalhadamente os conceitos e procedimentos relacionados com o referido projeto.

Importa ainda referir que as rotinas e procedimentos praticados, bem como a estrutura e sistemas de produção aqui descritos, se referem às práticas da EPPO.

Neste relatório é feita uma breve descrição das diversas áreas, focando essencialmente os procedimentos realizados durante os seis meses de trabalho, evitando desenvolver temas que não se prendem com a finalidade do projeto. Assim, é importante que se entenda que as descrições feitas são meramente indicativas das tarefas realizadas, mas que existe uma complexidade envolvente muito maior.

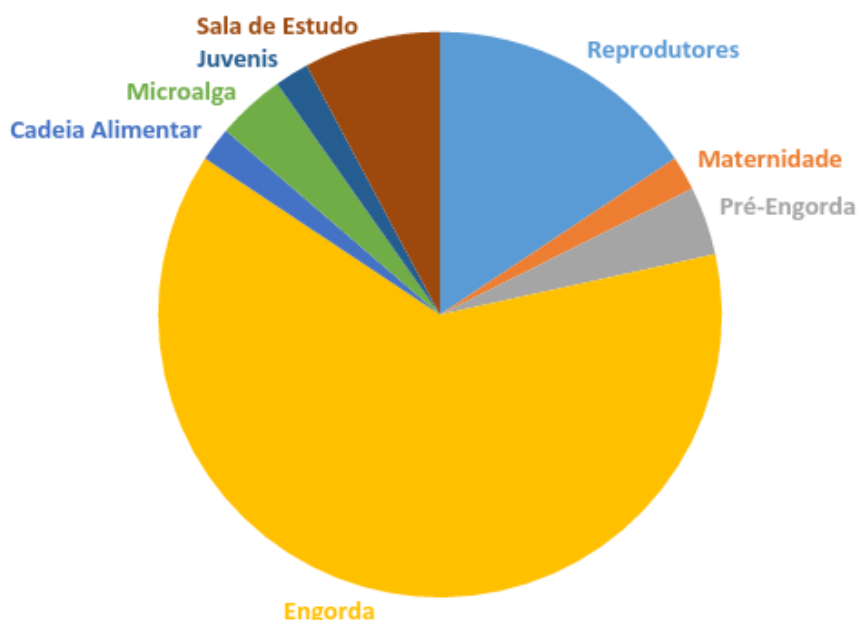


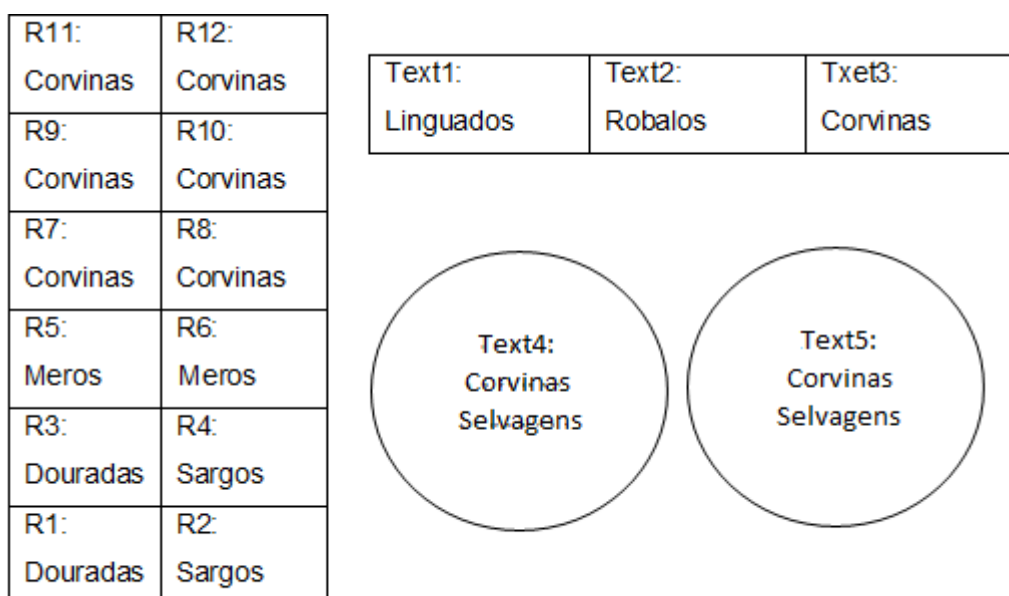
GRÁFICO 1: DISTRIBUIÇÃO TEMPORAL POR ÁREAS DO CICLO PRODUTIVO NO PERÍODO DE ESTÁGIO.

Como se pode constatar pela análise do Gráfico 1, o estágio curricular decorreu sobretudo na área de engorda à qual foi dedicada mais de três meses, seguindo-se as áreas dos Reprodutores e Sala de estudo.

## 2. Áreas de Produção e Rotinas

### 2.1. Reprodutores

Considera-se o início da cadeia produtiva. A EPPO dispõe de 12 tanques interiores ("R's") e 5 exteriores ("Text"), como demonstrado na Figura 2, onde se acondicionam exemplares reprodutores de diversas espécies, na proporção macho/fêmea ideal para o sucesso reprodutivo de cada espécie. De forma a potenciar a reprodução e o bem-estar animal, não há misturas de espécies no mesmo tanque, a densidade de indivíduos é baixa e as condições da água são mantidas nos valores ideais previamente estudados, simulando as condições da natureza (Swann, 1997).



**FIGURA 2 REPRESENTAÇÃO DOS TANQUES DE REPRODUTORES INTERIORES (R's) E EXTERIORES (TEXT) NO PERÍODO JANEIRO-JULHO 2016 DA EPPO.**

Os animais reprodutores são escolhidos de acordo com as suas características e podem ser selecionados logo a partir do estado juvenil ou ser capturados de tanques de engorda, já com maiores dimensões. Contudo, normalmente os reprodutores são selvagens (capturados no mar) de forma a evitar problemas genéticos.

As rotinas diárias prendem-se essencialmente com recolha de ovos, limpeza dos tanques, alimentação, manutenção dos parâmetros da água e observação dos animais para identificar possíveis alterações de comportamento (Bakos, 1984).



### 2.1.1. Recolha de ovos

As espécies produzidas na EPPO produzem ovos com uma densidade menor que a da própria água salgada, o que os leva a flutuar quando se apresentam em boas condições e, pelo contrário, a afundar quando não são viáveis (Moretti *et al.*, 1999). As correntes de água à superfície estrategicamente criadas através de difusoras de ar embutidas em tubos de PVC (“air-lifts”), encaminham os ovos flutuantes para um coletor, onde ficam retidos numa malha filtrante. Após a passagem dos ovos dos coletores para baldes mais facilmente manipuláveis, esperam-se alguns minutos de forma a deixar decantar ovos não viáveis e, fazendo passar toda a água através de um coador, retêm-se apenas os ovos viáveis que serão imediatamente pesados e avaliados à lupa para que se identifique a respetiva fase de desenvolvimento.

Os ovos inviáveis que decantaram são também pesados para que se possa fazer uma relação diária da qualidade da postura. Posturas sucessivamente insatisfatórias, tanto em quantidade como em percentagem de inviabilidade, podem sugerir a substituição dos reprodutores, alteração de algum parâmetro físico-químico, necessidade de reforço alimentar ou simplesmente traduzir a aproximação do final da época reprodutiva. É de extrema importância uma manipulação cuidada dos ovos para evitar deterioração da qualidade ou mesmo inviabilidade (Moretti *et al.*, 1999).

### 2.1.2. Limpeza dos tanques

É essencial que se faça uma limpeza diária dos tanques de forma a eliminar os resíduos sólidos contaminantes da água (restos de ração, fezes, etc...) e para além disso, é conveniente fazer purgas (renovação de água) bi-diárias de forma a manter a qualidade da água e os parâmetros físico-químicos dentro de valores aceitáveis para cada espécie (Woynarovich, 1980).

A limpeza é feita da parte de fora do tanque, com uma vassoura que conduz os resíduos a uma saída de água previamente aberta, onde os detritos são sugados. Quando o nível da água baixa até ao estipulado como limite ( $\frac{1}{3}$  do tanque), a torneira de escape é imediatamente fechada para evitar que o tanque fique com pouca água, afetando o bem-estar dos animais. Assim, o maior desafio deste procedimento prende-se com o tempo limite para uma boa limpeza enquanto o nível da água vai baixando.

Todos os utensílios usados para a limpeza do tanque são lavados e desinfetados antes de serem utilizados novamente noutros tanques de forma a evitar possíveis contaminações cruzadas com agentes patogénicos (OIE, 2009). Durante a limpeza do tanque observam-se os animais e o seu comportamento, como a capacidade natatória, os movimentos de cardume, reações de *stress*, indícios de infeções parasitológicas e lesões.

### 2.1.3. Alimentação

O período principal de alimentação ocorre ao início da tarde. Contudo, de forma a evitar desperdícios alimentares, a quantidade de comida estipulada para o dia vai sendo distribuída em diversos momentos do mesmo. Cada tanque de reprodutores tem um plano alimentar definido e adaptado aos hábitos alimentares da espécie, época reprodutiva e estado nutricional dos indivíduos. O momento de alimentação é também fundamental para identificação de comportamentos anormais, como o excesso de apetite ou, pelo contrário, falta dele e que podem ser indicadores de algum problema mais grave.

## 2.2. Produção larvar

Após a colheita dos ovos, caso se pretenda dar continuidade à linha de produção, são encaminhados para a sala de ensaios. Esta sala possui um sistema de filtração próprio (filtros mecânicos de 5 a 50 micras, filtros biológicos e filtros de luz UV), é composta por diversos tipos de tanques variáveis em tamanho e volume. Os ovos são colocados nesta sala em tanques apelidados de “incubadoras” e sujeitos a condições de temperatura da água adaptada, oxigenação permanente e condições de luminosidade ideais para cada espécie. Quando se achar conveniente é feita a transferência das larvas eclodidas nesta sala em tanques de 200L para os tanques Larvares (“L”s, com 1500L) que se encontram no edifício comum, juntamente com os tanques de juvenis (“J”s, 9000L).

A eclosão dos ovos começa aproximadamente 48 horas após incubação (a 18-19°C) e as novas larvas têm aproximadamente três milímetros (pode variar consoante a espécie). Os olhos não são pigmentados (na maioria das espécies como por exemplo a corvina), a boca está fechada e as barbatanas peitorais ainda não estão desenvolvidas (o que irá suceder apenas dois dias depois). Passados três ou quatro dias a pigmentação do corpo aumenta, a boca abre-se e os olhos já se apresentam totalmente pigmentados. A bexiga natatória começa a insuflar quando as larvas atingem aproximadamente quatro milímetros. Ao fim de 15 dias desenvolvem-se as barbatanas caudais e o corpo ganha uma pigmentação extensiva. Vinte dias após a eclosão, as barbatanas anais e o estômago já se encontram totalmente desenvolvidos e quando a idade das larvas ronda os 50 dias desenvolvem-se as barbatanas dorsal e ventral e a bexiga natatória atinge o seu tamanho definitivo (Moretti *et al.*, 1999).

Apesar das rotinas diárias da maternidade serem semelhantes às dos reprodutores (limpeza, alimentação e observação dos animais), as técnicas mudam completamente e o rigor aumenta uma vez que a sensibilidade e debilidade dos animais é muito maior (Sim *et al.*, 2005).

### 2.2.1. Limpeza dos tanques larvares

É feita várias vezes ao dia, tantas quanto os níveis de sujidade do tanque justificarem. Utiliza-se um pequeno tubo, com uma escova na ponta que pelo método de sifão funciona como

aspirador da sujidade. Por questões de segurança, a mangueira por onde é aspirada a sujidade termina num coletor com uma malha filtrante de forma a reter possíveis larvas que acidentalmente tenham sido sugadas. É um procedimento moroso e exige muito cuidado para não danificar a integridade física das larvas.

#### 2.2.2. Contagem de larvas mortas

É importante monitorizar e registar a quantidade de larvas mortas em cada dia. As taxas de mortalidade/sobrevivência funcionam como indicadores do desenvolvimento larvar. A contagem é feita logo após a aspiração do tanque quando o coletor para onde a água foi aspirada é despejado gradualmente para recipientes mais pequenos (geralmente Placas de Petri), permitindo a contagem dos animais mortos que ficaram retidos.

#### 2.2.3. Alimentação

Durante os primeiros dias após eclosão, as larvas adquirem as suas reservas nutricionais do saco lipídico que as envolve. Só ao fim de alguns dias, quando adquirem comportamento natatório, a boca abre-se e o trato digestivo ganha capacidade de assimilar comida, iniciando-se o fornecimento de alimento vivo como rotíferos, artémias ou copépodes que apresentam pequenas dimensões e bons valores nutricionais (Moretti *et al.*, 1999). O fornecimento de alimento vivo não tem um prazo estipulado, sendo variável com a espécie e condições da água, mas pode durar até aos 40/50 dias. Porém, com o desenvolvimento de novas rações, incorporadas com vitaminas, imunoestimulantes e de sabor apelativo às larvas, as dietas artificiais começam a ser instauradas mais precocemente, o que representa menos gastos financeiros e melhor desenvolvimento larvar (Moretti *et al.*, 1999).

É fundamental referir que esta breve descrição é apenas um resumo muito generalista de todos os procedimentos e rotinas que a área da maternidade envolve, pois devido à sensibilidade dos animais e à incapacidade de manipulação individual torna-se muito complexa.

### 2.3. Cadeia alimentar

#### 2.3.1. Microalgas

As microalgas usam-se para cultivar e enriquecer organismos vivos que por sua vez servem de alimento às larvas (Artémias e Rotíferos). Existe ainda uma técnica atualmente muito utilizada na maternidade de peixes marinhos, “Green Water Technique”, onde a microalga é diretamente adicionada nos tanques larvares juntamente com o alimento vivo, trazendo diversas vantagens (Lavens, 1996):

- Estabiliza a qualidade de água através da remoção de produtos metabólicos e produção de oxigénio;

- A presença de polissacarídeos na parede celular das algas é um estimulante para o sistema imunitário não específico das larvas;
- Torna-se uma fonte indireta de nutrientes para as larvas de peixe uma vez que enriquece nutricionalmente o alimento vivo do tanque;
- Facilita a alimentação das larvas devido ao contraste visual e dispersão da luz, diminuindo o nível de *stress* larvar;
- Controla a flora bacteriana da água pela produção de compostos químicos que evitam o crescimento de bactérias potencialmente patogénicas para as larvas

As rotinas da produção de microalgas passam pela produção contínua de forma a assegurar sempre a existência de alga pronta a utilizar durante a produção larvar. Na EPPO, a produção é em regime intensivo, em ambiente fechado e termicamente controlado (18°C), com luz e arejamento artificial, recorrendo a mangas plásticas para a produção e armazenamento.

A linha de produção começa com culturas em *stock*, conhecidas como “culturas mestre” das diferentes espécies com interesse produtivo. Uma das rotinas semanais é nutrir e fertilizar as culturas para que se mantenham viáveis, sendo também importante conservar nas condições de luminosidade, arejamento e temperatura ideais (Lavens, 1996).

As culturas mestre são apenas usadas como inóculos, ou seja, funcionam como culturas de arranque e devem ser manipuladas com muito cuidado para evitar o risco de contaminação por microrganismos (Helm *et al.*, 2004).

O ciclo de produção começa em recipientes (balões de erlenmeyer) de baixo volume (aproximadamente 250 ml) onde é colocada a cultura de arranque juntamente com água do mar filtrada, esterilizada e nutrientes e à medida que a microalga se vai desenvolvendo, incorpora-se esse meio a volumes sucessivamente maiores. Idealmente, a diluição das culturas para novos volumes deve ser feita de forma gradual para que haja maior facilidade de desenvolvimento da microalga (Helm *et al.*, 2004). Assim, na EPPO, de um volume de 250 ml da cultura de arranque, passa-se para recipientes de 5 litros e só então, quando o meio já estiver pronto a ser transferido (em média após 2/3 dias e avalia-se essencialmente pela coloração) é que se utilizam as mangas plásticas previamente preparadas com água do mar esterilizada enriquecida com nutrientes, com cerca de 60/80 litros de capacidade. Dentro das mangas as culturas demoram cerca de uma semana até estarem totalmente prontas para serem utilizadas.

Importante referir novamente que durante todo o processo as condições de climatização, arejamento e luminosidade são fundamentais para o bom e rápido desenvolvimento das culturas. Se for necessário acelerar o processo, o arejamento pode ser feito à base de dióxido de carbono puro (Helm *et al.*, 2004).

#### 2.3.1.1. Preparação das mangas

As mangas de produção são preparadas a partir de um rolo de polietileno de grandes dimensões que é cortado sucessivamente na medida desejada. Cada unidade é selada em

ambas as pontas onde é dado um nó que serve também para pendurar a manga num suporte de fixação, ficando posicionada verticalmente, frente a uma fonte de luz artificial. Uma vez pronta, a manga começa a ser cheia com água do mar filtrada (cerca de 60 litros) e no final são adicionados cerca de 10ml de lixívia (hipoclorito de sódio) para evitar possíveis contaminações por microrganismos. Algumas horas após a atuação do hipoclorito de sódio, é adicionado tiosulfato de sódio para neutralizar a lixívia e normalizar o pH do meio, bem como 10ml de caldo nutritivo que servirá de suporte à cultura futuramente introduzida. Na base da manga é colocado um pequeno cateter ligado à rede de ar artificial da estação. Nesta fase a manga está pronta a ser usada e quando a cultura de microalga intermédia (5 L) estiver pronta, poderá ser diretamente adicionada.

### 2.3.2. Alimento vivo

As larvas de peixes marinhos recentemente eclodidas necessitam de alimento vivo que contenha nutrientes essenciais nas concentrações apropriadas, principalmente ácidos gordos. (Kovalenko *et al.*, 2002).

Por ser uma área muito específica dentro da aquacultura, apesar de estar dependente da produção larvar, decorre num espaço próprio. Na EPPO existem duas salas destinadas à cadeia alimentar, uma para produção de Rotíferos e outra destinada à produção de Artémia.

#### 2.3.2.1. Rotíferos

São pequenos metazoários com mais de 2000 espécies descritas (Lubzens e Zamora, 2003). A produção de rotíferos consegue ser bastante eficiente, satisfazendo as necessidades de uma maternidade de peixes marinhos. Para além disso, podem ser cultivados juntamente com as microalgas, simplificando o processo e diminuindo o custo de produção. Devido às suas reduzidas dimensões é o primeiro alimento a ser fornecido às larvas recém eclodidas. Contudo, uma adversidade do uso de rotíferos como alimento vivo é a ausência de um perfil nutricional suficiente para satisfazer as necessidades das larvas de peixe, sendo necessário o enriquecimento (com produtos comercializados) antes da administração (Sargent *et al.*, 1997).

#### 2.3.2.1. Artémia

São o alimento vivo mais usado no mundo para larvas de peixe. A capacidade de ser armazenado por longos períodos e o facto de ter uma aceitabilidade grande por parte das larvas de espécies marinhas, tornam o uso da artémia muito racional.

Uma vez que apresenta dimensões ligeiramente superiores às dos rotíferos, a artémia é administrada numa fase seguinte e é também necessário enriquecer nutricionalmente antes de servir como alimento. Quando se utiliza este alimento vivo é necessário ter alguns cuidados para que a qualidade da água não se deteriore (devido principalmente à amónia ou possíveis resíduos que possam surgir) (Ohs *et al.*, 2010).

### 2.3.3. Alimento inerte

Quando as larvas atingem determinado tamanho e idade, começa a ser introduzida gradualmente ração inerte. Existem diversos produtos no mercado e parte dos ensaios realizados na EPPO prende-se com estudos comparativos entre rações na qualidade e desenvolvimento larvar.

Durante o período de estágio, não foram produzidos outros alimentos vivos e como tal não são introduzidos neste trabalho. As rotinas diárias relacionam-se com a gestão da produção (quantidades necessárias e já produzidas), idade/prazo da cultura e gestão do enriquecimento. Uma vez que a quantidade de alimento vivo a fornecer é variável e adaptada a cada tanque com larvas, não só pela espécie a ser alimentada mas também pela idade e estado nutricional, antes da administração é feita a relação de alimento vivo por ml de forma a calcular o volume com a concentração pretendida (Ohs *et al.*, 2010).

### 2.4. Juvenis

Quando as larvas já desenvolveram todas as suas estruturas anatómicas, já se alimentam de ração inerte e já apresentam um tamanho considerável, de forma a melhorar o bem-estar e a potenciar o desenvolvimento, são transferidas para a área dos juvenis. A EPPO dispõe de 20 tanques de juvenis de grandes dimensões (J's) prontos a serem utilizados e cerca de 6 tanques em forma de paralelepípedo (Tqr's) para acomodar juvenis de linguados (*Solea senegalensis*). As rotinas diárias dos juvenis passam essencialmente pela limpeza e aspiração dos tanques, alimentação, controlo da qualidade da água e observação dos animais.

Atendendo ao tamanho e idade dos juvenis é escolhida a ração a ser administrada e dependendo da quantidade de espécimes no tanque calcula-se a dose ideal a fornecer diariamente. Contudo, a distribuição de alimento ao longo do dia é feita também de acordo com as necessidades alimentares dos juvenis de cada tanque (Russell, 1996).

#### 2.4.1. Limpeza dos tanques

O método de limpeza é semelhante aos tanques de reprodutores.

A frequência com que é feita a limpeza e renovação de água está relacionada com a densidade populacional do tanque e também com a quantidade e tipo de ração que está a ser fornecida. Devido à sensibilidade dos animais, é de extrema importância assegurar sempre uma excelente qualidade da água.

Quando os tanques de juvenis se fizerem notar insuficientes em espaço é tomada a decisão acerca do seu futuro. Estas decisões dependem dos projetos que estiverem a decorrer ou que se pretendam iniciar, da necessidade de reprodutores e das características dos próprios juvenis (idade, peso e espécie).

#### 2.4.2. Finalidades dos juvenis no caso da EPPO

- Pré-Engorda. Quando os juvenis ainda não estão suficientemente desenvolvidos para serem libertados diretamente nos tanques de terra (engorda) ou quando se pretende fazer algum tipo de estudo específico na área da pré-engorda.

- Engorda. Quando já há desenvolvimento suficiente e não há procura de juvenis para ensaios de outras áreas, são transferidos diretamente para os tanques de terra exteriores.

-Libertação. A aquacultura pode contribuir para o repovoamento dos mares, aliviando o impacto das pescas excessivas (Henriques, 1998). Quando os juvenis pertencem a espécies autóctones da região, podem ser libertados na natureza. Durante o período de estágio, as libertações de juvenis para repovoamento foram constantes, inclusivamente numa sessão solene com a Exma. Sra. Ministra do Mar, Ana Paula Vitorino.

- Reprodutores. Quando atingem a idade de maturação, o que depende das espécies, podem ser selecionados como reprodutores, o que ocorre normalmente em ensaios de reprodução da EPPO. Preferencialmente os reprodutores têm origem selvagem.

Se houver indivíduos com manifestações patológicas são transferidos para um Tqr disponível, onde são mantidos em quarentena. As dimensões menores do tanque e a facilidade de acesso tornam os tratamentos e a manipulação dos animais mais conveniente.

#### 2.5. Pré Engorda

Destinados a esta área a EPPO dispõe de 8 tanques ovais no exterior com 18000L ("P"), utilizados com diversas finalidades:

- Acolher juvenis que ainda não estejam suficientemente desenvolvidos para serem libertados em tanques de terra sujeitos a condições mais naturais, mas que já não tenham condições para permanecer nos tanques "J".

- Acolher espécimes (não necessariamente juvenis) que estejam integrados em algum projeto ou estudo comparativo e que necessitem de uma observação ou manipulação constante.

- Funcionar como quarentena de peixes feridos ou com alguma manifestação clínica, provenientes da engorda (tanques terra).

As rotinas diárias gerais prendem-se novamente com a limpeza, alimentação e manutenção dos parâmetros ideais do meio. Em caso de tratamento, são seguidos os procedimentos e as normas estabelecidas.

## 2.6. Engorda

Durante o período de estágio, como se pode comprovar no Gráfico 1, cerca de 60% do tempo foi dedicado a esta área, sendo por isso o foco principal deste relatório.

A fase de engorda na EPPO decorre em tanques de terra (“TT”), num regime de produção semi-intensivo. Para além dos tanques de produção existem ainda duas divisões, o reservatório e o tanque de decantação. O reservatório funciona como um acumulador de água vinda diretamente da Ria Formosa. A água entra através de sistemas de comportas por ação das marés e fica retida, sendo então bombeada/sugada e distribuída pelos tanques através de canalização. A decantação é o local de descarga da água proveniente dos tanques de terra e da maternidade e serve para sedimentar a matéria orgânica e permitir a assimilação do excesso de nutrientes (azoto, fósforo, sílica) por microalgas e macroalgas presentes naturalmente nestes tanques antes da devolução dos efluentes à Ria Formosa.

No total existem à disposição 17 tanques de terra, reaproveitados de antigas salinas, sendo que 10 são de maiores dimensões (aproximadamente 0,19 hectares) e 7 mais pequenos (0,07 hectares), dispostos em linhas paralelas e todos eles apresentam as mesmas características, condições e equipamentos:

- Sistemas de canalização por onde chega a água bombeada do reservatório com torneiras para regular o caudal de entrada. De forma a manter uma taxa de renovação de água constante, contribuindo também para a oxigenação, a entrada da água no tanque é contínua.
- Sistemas de comportas na saída do tanque que permitem evacuar água diretamente no canal de descarga que conduzirá até à zona de sedimentação.
- Redes “anti pássaros” que funcionam como medidas de dissuasão dos predadores, reduzindo a mortalidade e contribuindo para a biossegurança da exploração. Uma das principais causas de perdas na engorda é a predação, com destaque para o corvo-marinho (*Phalacrocorax carbo*) (Pousão-Ferreira, 1995).
- Arejadores automáticos para oxigenar a água ligados a sondas medidoras de oxigénio que regulam o funcionamento através de um sistema informático. Se as sondas detetarem baixos níveis de oxigénio, automaticamente os arejadores são ligados e trabalham até que sejam repostos os níveis ideais.
- Alimentadores automáticos onde se coloca a ração que é distribuída ao tanque. As horas e o tempo de funcionamento são programados num relógio automático e variam consoante a época do ano e biomassa de peixe em cada tanque.

Os tanques de terra são utilizados conforme os ensaios a decorrer na instituição e também de acordo com a quantidade de peixe existente em toda a cadeia produtiva. Por outro lado, a distribuição do peixe não é igual em todos os tanques nem em espécies nem em

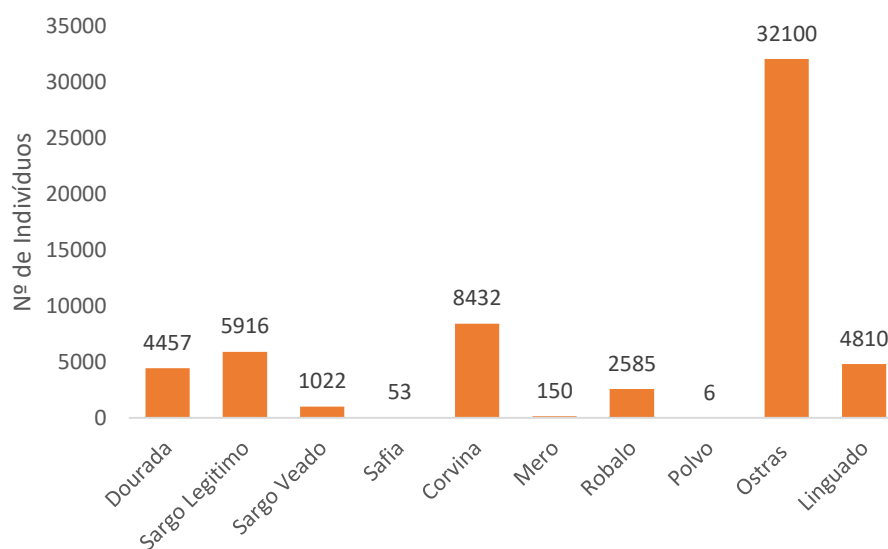


quantidades, fazendo com que cada tanque tenha as suas próprias necessidades de caudal de água, arejamento e alimentação.

Apesar das diferenças, as rotinas são iguais para todos os tanques, passando essencialmente pela observação dos animais, reposição de alimento, verificação e manutenção de equipamentos, medição de parâmetros físico-químicos, pescas para amostragem ou doação e avaliação de critérios de qualidade e bem-estar animal.

Estas rotinas fizeram parte dos trabalhos diários na estação e por conseguinte são descritas neste “Relatório de Casuística”. No entanto, mais adiante, na secção “Monografia” serão aprofundados cientificamente alguns dos temas aqui mencionados. O “Estudo de caso” apresentado no final do presente trabalho, sendo um projeto desenvolvido nestes tanques de engorda, está incluído em todas estas rotinas e procedimentos abaixo descritos.

Sendo a EPPO uma estação dedicada à investigação, a quantidade de peixes por espécie e a sua distribuição pelos tanques é muito variável. Contudo, de uma forma geral, as proporções de indivíduos mantêm-se semelhantes. O Gráfico 2 foi elaborado com valores obtidos no final de março, representando uma estimativa do número de indivíduos de cada espécie em fase de engorda na EPPO nesse período.



**GRÁFICO 2: ESTIMATIVA DO NÚMERO DE INDIVÍDUOS DA EPPO, POR ESPÉCIE, EM FASE DE ENGORDA NO MÊS DE MARÇO.**

## 2.6.1. Rotinas diárias

### 2.6.1.1. Medição dos parâmetros da água

Diariamente (incluindo fins de semana e feriados) medem-se os parâmetros da água duas vezes por dia, uma pela manhã e outra ao final da tarde. A medição é feita com uma sonda devidamente calibrada que tem a capacidade de medir e registar diversos parâmetros como temperatura da água, percentagem de oxigenação, salinidade, turbidez e pH. O objetivo desta

medição frequente prende-se com a monitorização constante da qualidade de água dos tanques, permitindo não só precaver possíveis danos produtivos, bem como relacionar determinada ocorrência ou resultados obtidos com alguma alteração registada a nível de parâmetros (Elvira, 1989). Os dados recolhidos são diariamente registados em Tabelas num computador, permitindo acompanhar a evolução dos tanques ao longo do tempo.

Quando é registada alguma alteração significativa, tomam-se medidas preventivas, como modificação do caudal de água e do arejamento, ficando os respetivos tanques sobre vigilância reforçada de forma a evitar danos na qualidade e bem-estar animal (e, por conseguinte, na produção) até que a normalidade seja reposta.

Durante esta medição, denominada na gíria laboral por “Ronda”, procuram-se também possíveis alterações envolventes ao tanque (estado das comportas, das portas de rede e das redes anti pássaros) e falhas nos equipamentos (importante verificar o estado de funcionamento dos arejadores e alimentadores). Caso se reporte algum desvio são tomadas de imediato ações para repor a condição básica.

#### 2.6.1.2. Avaliação do estado geral dos animais

Dependendo da quantidade de mão-de-obra disponível, esta etapa pode ser realizada em conjunto com a medição de parâmetros da água ou então é feita como um ato isolado. Atendendo à relação com a Medicina Veterinária, este foi um dos procedimentos principais e diariamente exercido durante o estágio.

O objetivo é observar os animais e os seus comportamentos a fim de detetar alguma alteração permitindo a atuação imediata. Esta rotina envolve tempo e habituação e deve ser realizada sempre pelo mesmo método e preferencialmente pela mesma pessoa de forma a otimizar a distinção entre normalidade e possíveis alterações. Como foi referido anteriormente, cada tanque possui as suas próprias características, ou seja, não devem ser todos comparados da mesma forma. Uma avaliação contínua e constante permite que se identifiquem rapidamente situações que não são usuais.

Este procedimento, tal como a medição dos parâmetros é feito para cada tanque individualmente e começa com a observação do tanque em busca de animais com comportamentos incomuns como natação alterada (à superfície ou pelas margens), sinais de *stress* evidente (animais agitados, alteração da coloração) e falhas nos comportamentos de cardume (peixes a nadar individualmente quando não é habitual para determinada espécie) e eventualmente a contagem e identificação de animais mortos à superfície. Contudo, o momento ideal para avaliação do estado geral do peixe é a altura da alimentação e deve-se fazer coincidir esta “ronda médica” com o período em que os alimentadores se encontram a dispensar ração. Tal permite avaliar com maior precisão a condição dos animais (uma vez que vêm à superfície em busca do alimento), o estado geral, identificar possíveis patologias a nível individual ou coletivo e muito importante, avaliar a resposta dos animais ao alimento. Quando um tanque que frequentemente se mostra bastante ativo na hora da alimentação demonstra pouco apetite ou

baixa recetividade ao alimento, passa automaticamente para um estado de vigilância contínuo e procurar-se-á uma justificação de forma a contornar o problema de forma mais breve possível.

#### 2.6.1.3. Reposição de alimento

A verificação constante da quantidade de alimento disponível nos alimentadores automáticos é de extrema importância para evitar que haja falhas. Apesar da ração ser, geralmente, reposta nas mesmas quantidades (três sacos de 25 kg), como a densidade populacional, o tamanho e as necessidades alimentares dos animais variam de tanque para tanque, a quantidade de ração dispensada por dia não é igual em todos os casos (Elvira, 1989). Além disso, é fundamental verificar o estado de funcionamento do alimentador uma vez que facilmente ocorre uma obstrução do sistema mecânico que projeta a ração para o tanque, bastando para isso que a ração não esteja uniformemente cortada no mesmo tamanho e haja a presença de grânulos de maiores dimensões.

A escolha da ração é variável e adaptada às espécies e respetivo tamanho em cada tanque. Caso haja algum estudo nutricional a decorrer em que o objetivo seja precisamente a comparação de diversas rações, os tanques são identificados e cumprem-se as medidas estipuladas, caso contrário, o alimento é o mesmo para todos os tanques variando apenas no calibre do grão da ração. Assim, tanques onde os peixes são maiores são alimentados com granulado de grande tamanho (7mm) e por conseguinte, tanques com animais mais pequenos são alimentados com granulado de pequeno tamanho (3mm), havendo ainda um tamanho intermédio (5mm).

Ao contrário do que acontece na maternidade ou nos juvenis em que há necessidade de variar a composição da ração uma vez que as necessidades nutricionais nos primeiros meses de vida são muito exigentes e variáveis, no período de engorda, considerando que os animais já apresentam um estado de desenvolvimento avançado, não é viável em termos de produção e gestão de *stocks* utilizar diversos tipos de composições alimentares.

#### 2.6.1.4. Renovação de água

A renovação de água nos tanques é contínua uma vez que está sempre a entrar água no tanque pela canalização proveniente da estação de bombagem e que por conseguinte alguma dessa água é expulsa quando se ultrapassa o limite superior das comportas. Porém, as grandes renovações de água designadas “Purgas”, são medidas intencionalmente tomadas com determinada justificação e cujo objetivo é precisamente eliminar grande parte da água presente no tanque através da abertura das comportas. Uma vez atingido o nível de água pretendido as comportas são manualmente fechadas e, com o enchimento contínuo, a quantidade de água volta a repor-se até que processo de renovação fique concluído.

Os motivos que levam à decisão de renovar grandes quantidades de água podem ser muito variados e não há nenhuma calendarização específica para o fazer:

- Necessidade de baixar o caudal da água. Como será explicado futuramente, as ostras encontram-se em *longlines* à superfície e precisam de ser viradas manualmente todas as semanas, assim, para que os trabalhadores se consigam estabilizar numa posição vertical durante este trabalho, é necessário que se baixe o nível de água cerca de 40 cm, ficando os tanques com uma altura de água média de 1,2 metros.

- Excesso de microalgas no tanque. Os organismos autotróficos como as micro e macroalgas presentes nos tanques produzem oxigénio através do processo de fotossíntese que decorre durante o dia na presença de luz solar. Contudo, durante a noite o oxigénio deixa de ser produzido passando a ser consumido (respiração). Essa respiração desses organismos juntamente com a dos peixes e da decomposição de matéria orgânica pode levar à diminuição de oxigénio, podendo atingir níveis letais para os peixes. Quando a intensidade da luz solar é grande durante o dia, a quantidade de oxigénio produzida poderá ser suficiente para suportar as necessidades no período noturno, no entanto, quando a radiação é menos intensa a disponibilidade de oxigénio à noite será menor (Kepenyes e Váradi, 1984). Por esse motivo é importante monitorizar os valores de oxigénio e turbidez diariamente, de forma a gerir a quantidade de microalga no tanque.

- Aumentar os níveis de oxigénio (Loix, 1986).

- Eliminar matérias tóxicas provenientes de subprodutos e excrementos (Loix, 1986).

- Medida preventiva. Caso haja indicadores de *stress* nos animais ou se identifiquem alterações no comportamento, mesmo que a causa não esteja identificada pode ser feita uma renovação parcial de água.

- Medida terapêutica. Na EPPO, de forma a evitar tratamentos químicos, a renovação de água é utilizada como primeira solução em casos de patologias identificadas, níveis parasitários elevados ou mesmo na presença de animais mortos.

## 2.6.2. Rotinas semanais

### 2.6.2.1. Limpeza e manutenção de sondas e comportas

A manutenção do equipamento é essencial para garantir o seu bom funcionamento e evitar falhas que possam ser prejudiciais ao ciclo produtivo. A limpeza das sondas medidoras de oxigénio e temperatura é feita semanalmente para evitar erros de medição devido à acumulação de matéria orgânica presente no tanque que facilmente se acumula na sonda. A limpeza é relativamente simples e faz-se apenas com uma esponja que permita remover a sujidade. As sondas estão ligadas a um sistema informático que permite um acesso direto a partir de qualquer computador ou *smartphone*, facilitando a análise dos valores atualizados. Como já foi anteriormente referido, o mesmo sistema informático controla também os arejadores de água,

permitindo uma gestão automática. Em casos de avaria ou de níveis preocupantes de oxigénio, são emitidos alarmes através do sistema informático para o pessoal responsável permitindo uma atuação imediata. Além da limpeza das sondas poderá ser necessário também calibrar para que se mantenha o rigor na medição (procedimento realizado de acordo com o manual do fabricante).

A limpeza das comportas de saída de água do tanque é, geralmente, feita em conjunto com a limpeza das sondas e serve para evitar acumulação de macroalgas que possam comprometer o seu bom funcionamento. Neste processo escovam-se as comportas com uma vassoura de cerdas rígidas até não haver acumulação de matéria orgânica e grandes quantidades de organismos invertebrados que poderão colmatar a rede.

#### 2.6.2.2. Viragem de ostras

Conforme as condições ambientais e do meio produtivo (amplitude de marés, profundidade da água, capacidade de renovação de água, natureza do substrato, etc...) existem diversos métodos utilizados para a produção de ostras (Helm *et al.*, 2004). Na EPPO o método utilizado é o de cultura flutuante que consiste em manter as ostras em sacos rígidos de rede plástica presos a placas de polietileno com capacidade flutuante que por sua vez estão presas em série a um cabo fixo em ambas as margens do tanque. A este conjunto dá-se o nome de *Longline*.

De forma a simular condições ambientais de maré baixa, as ostras são viradas semanalmente ficando totalmente emersas e expostas à luz solar (Lin, H-J, 2009). Na EPPO, atendendo ao método de produção utilizado, este procedimento implica que os trabalhadores entrem nos tanques de cultivo e virem todas as estruturas onde estão armazenadas as ostras. Devido às características dos tanques de terra da estação, é necessário que o volume de água dos tanques seja reduzido para que se consiga realizar este procedimento.

#### 2.6.3. Rotinas ocasionais

##### 2.6.3.1. Pescas

Uma vez que a EPPO não tem uma finalidade comercial em que seria necessário obter um produto com características de tamanho, peso e espécie definidas, as capturas não são rotinas assíduas. Os motivos da pesca podem ser variados:

- Transferência de peixe.
- Amostragem/Análise.
- Doação.

Independentemente do motivo da pesca, o método adotado é sempre o mesmo visando evitar ao máximo sofrimento e mal-estar animal, tornando-se um procedimento moroso e delicado. Como as pescas com rede geralmente envolvem quantidades significativas de peixe é necessário usar uma rede de pesca de grandes dimensões com a capacidade de se manter numa posição vertical dentro de água, tal acontece porque num dos lados da rede estão chumbos

que através do seu peso se afundam e no lado oposto encontram-se boias que conferem flutuabilidade à rede. Uma vez colocada dentro do tanque, a rede vai sendo esticada e puxada por trabalhadores que se movimentam dentro de água junto às margens tentando abranger a maior área de superfície possível. Durante este procedimento o alimentador é ligado de forma a atrair o peixe para a zona da alimentação, facilitando a captura. Quando o cerco estiver concluído, a rede vai sendo cautelosamente puxada para terra por ambas as pontas, fazendo com que o peixe se condense na zona de rede ainda submersa. De forma a não comprometer o bem-estar animal, a rede não é totalmente puxada para fora de água deixando um cerco relativamente folgado e o peixe é apanhado com o auxílio de um chalavar (tradicionalmente chamado “camaroeiro”). Dependendo do objetivo da pesca, os procedimentos seguintes variam:

#### 2.6.3.2. Transferência de peixe

Ocorre quando se pretende transferir peixe de um tanque para outro, geralmente para dar início a um novo ensaio com densidades iguais ou até mesmo para aliviar a carga populacional de um tanque.

Quando o peixe é capturado com o chalavar é colocado em tinas devidamente preparadas com água e oxigenação nas condições adequadas. Idealmente são contados os indivíduos de cada espécie para que fique registado nos dados do “tanque recetor” e seguidamente são libertados no novo ambiente com a ajuda do chalavar. Caso o propósito seja a libertação de animais na natureza, a transferência é feita diretamente para o mar/Ria Formosa.

#### 2.6.3.3. Doação

Quando o peixe é destinado à doação é morto por choque térmico usando gelo em água salgada. O propósito deste choque é diminuir a temperatura e atrasar o *rigor mortis*, tornando o peixe refrigerado virtualmente indistinguível do peixe fresco. Métodos de sacrifício que desencadeiam um menor esforço físico por parte do peixe minimizam o *stress* e, por conseguinte, minimizam as alterações *post mortem*. O método de sacrifício tem de ser ponderado não só do ponto de vista de qualidade do produto final, mas também de um ponto de vista ético e bem-estar animal. Assim, a morte por choque térmico é vista como um método que provoca inconsciência até à morte evitando excitação, dor ou sofrimento e preservando as qualidades do produto desejado (Poli *et al.*, 2005).

#### 2.6.3.4. Amostragem

Como o próprio nome indica, o objetivo é capturar uma determinada quantidade de indivíduos (amostra) que representem a totalidade da população, permitindo avaliar o panorama geral do tanque. A amostragem pode ter diversas finalidades: análise evolutiva do tamanho e peso dos animais (biométrica), avaliação do estado de condição geral e identificação de patologias ou deformações. Regra geral, uma vez que o peixe já está capturado, analisam-se

todos esses parâmetros (em diferentes indivíduos) para evitar manipulações constantes dos animais.

Após o cerco feito no tanque, tal como na transferência de peixe, os animais são acondicionados numa tina com água devidamente preparada que por sua vez é transportada com auxílio de um trator para próximo das instalações onde serão manipulados. Seguidamente, de acordo com a finalidade da amostragem os animais são ou não sujeitos a anestesia.

#### 2.6.3.4.1. Amostragem biométrica

A finalidade é avaliar a evolução do tamanho, do peso e identificar possíveis patologias ou deformações que possam comprometer o bem-estar animal ou que impliquem o início de um tratamento coletivo, não sendo necessário o sacrifício dos animais. A quantidade de indivíduos amostrada para biometria pode ser variável, mas pelo procedimento habitual da EPPO avaliam-se entre 50 a 100 exemplares de cada espécie. De forma a minimizar o *stress* provocado pela manipulação, recorre-se ao uso de anestésicos que promovam uma perda generalizada da percepção sensorial e da memória e também um estado de imobilização e alívio de dor (Zahl *et al.*, 2012). O uso dos anestésicos e das doses corretas evita a ocorrência de danos físicos nos animais, assegurando as funções vitais e fisiológicas dos peixes (Cooke *et al.*, 2004). Existem no mercado diversos produtos com capacidades anestésicas que estão dentro das normas legais para o uso em aquacultura. Contudo, este capítulo visa apenas retratar as rotinas e métodos adotados na EPPO onde durante o período de estágio apenas foi utilizado o Fenoxietanol, um líquido oleoso incolor moderadamente solúvel em água, que apesar de não apresentar grandes vantagens a outros anestésicos é um produto relativamente barato e com um período de atividade, no estado diluído, de pelo menos três dias (Ross e Ross, 2008) (King *et al.*, 2005). O método utilizado para a administração do anestésico é o banho de imersão, um procedimento que consiste em dissolver uma quantidade de anestésico num volume de água conhecido de forma a obter a concentração desejada (Neiffer e Stamper, 2009).

Uma vez induzido o estado de anestesia, a intervenção no peixe pode ser efetuada, seguindo uma linha de procedimentos que envolve trabalho e coordenação de equipa. Os animais imóveis à superfície do tanque com anestesia são recolhidos manualmente e passados cuidadosamente por uma toalha com a finalidade de reter alguma água. Segue-se a pesagem e por fim a medição com um ictiómetro. Durante estes procedimentos é feito um breve exame de estado geral do animal e qualquer alteração ou deformação, bem como os dados obtidos na pesagem e medição, são devidamente registados.

O estado de anestesia pode ainda ser aproveitado para marcação eletrónica de animais, com chips e aplicativos comumente usados nas restantes áreas da Medicina Veterinária. Este procedimento apenas é realizado em animais com finalidades específicas como reprodução, repovoamento ou estudos científicos que exijam a identificação do animal.

Uma vez obtidos e registados todos os resultados, os animais são colocados numa outra tina com água em condições ideais, mas desprovida de anestésico, para que possam recuperar o seu estado normal. Assim que a amostragem esteja completa os indivíduos são devolvidos ao tanque inicial.

A partir dos resultados obtidos, calcula-se o Índice de Condição de cada indivíduo através da relação tamanho/peso e faz-se uma média correspondente à amostra analisada. Para cada espécie e idade existem valores ideais de índices de condição cientificamente estudados que são utilizados comparativamente para concluir acerca do estado geral do peixe (Williams, 2000). Um índice de condição diferente do pretendido é um indicador da necessidade de alterar os parâmetros alimentares do tanque, levando ao ajuste da quantidade de ração fornecida (Ighwela, 2011).

#### 2.6.3.4.2. Amostragem parasitológica

Ao contrário da amostragem biométrica os animais são necessariamente sacrificados e por esse motivo o número de indivíduos analisado é sempre muito menor, que, dependendo do panorama geral do tanque, pode variar entre dois e seis peixes. De forma a evitar possíveis alterações de resultados, estes animais não são sujeitos a qualquer anestésico, uma vez que já foi provado que existem anestésicos com capacidades antiparasitárias (Sutili *et al.*, 2014). Desse modo, da tina de transporte com a totalidade dos indivíduos pescados são imediatamente isolados aqueles que seguirão para análise parasitológica.

#### 2.6.3.5. Preparação dos tanques

Entende-se por “preparação dos tanques” os procedimentos a realizar para que se reúnam todas as condições essenciais ao início da produção em determinado tanque e, tal como a pesca e as suas finalidades, é um dos procedimentos que ocorre ocasionalmente. A utilização dos tanques na EPPO é rotativa e entre cada experiência ou ciclo produtivo, os tanques são drenados e submetidos a um conjunto de intervenções.

Após o esvaziamento total do tanque, se necessário, são efetuadas pequenas reparações como reposicionamento de pedras, limpeza e verificação das comportas, desentupimento da canalização de admissão de água, etc.... Além disso, os arejadores e alimentadores são revistos e limpos para que o seu correto funcionamento seja assegurado e as redes anti-pássaros, se necessário, são remendadas.

O tanque deve ser totalmente drenado e permanecer seco pelo menos por duas ou três semanas preferencialmente exposto à luz solar e, regra geral, não é necessário remover o sedimento. Contudo, se o ciclo produtivo anterior tiver sido muito extenso ou a densidade populacional no tanque muito elevada, o sedimento pode ser excessivo e deverá ser removido, não só pelo volume de água que se perde, mas acima de tudo pela possibilidade de deterioração da nova água e do risco de contaminação com agentes patogénicos. Ainda antes do tanque ser



cheio, o solo deve ser lavrado para aumentar a oxigenação, especialmente em tanques como os da EPPO que apresentam uma textura firme (para esse efeito, uma vez que a dimensão dos tanques não justifica maquinaria, usam-se ferramentas manuais como sacholas e pás) (New, 2002).

## 2.7. Sala de Estudo

Pela análise do Gráfico 1 apresentado no início do presente relatório, pode-se constatar que além de todas as áreas acima enunciadas e brevemente descritas, ainda foi dedicado tempo “à Sala de Estudo”. Numa entidade devotada à investigação, como é o caso da Estação Piloto, o interesse produtivo está sempre relacionado com o desenvolvimento científico. Como tal, é fundamental que para além de todas as rotinas de manutenção e produção, se dedique tempo à pesquisa e fundamentação científica de projetos, técnicas e novos procedimentos bem como à escrita e publicação de resultados, artigos, normas ou condutas. Assim, o tempo destinado aos estudos e à escrita (investigação) faz também parte das rotinas de trabalho da casa e a EPPO dispõe de uma sala que reúne todas as condições favoráveis a este tipo de trabalhos:

- Computadores com internet e de acesso livre a artigos científicos.
- Base de dados digital com artigos, projetos, resultados, registos e outros trabalhos desenvolvidos na estação.
- Livros para consulta.
- Telefone com ligações internas para esclarecimento de dúvidas imediatas.

Durante o período de estágio dedicado à sala de estudo foram desenvolvidas fichas de análise parasitológica e anátomo-patológica para uso da EPPO e foi ainda escrito um guia prático, de fundamento científico, para identificação de parasitas.

## 3. Intervenções Médico-Preventivas e Clínicas

Além de todas as rotinas acima descritas que visam sempre assegurar a qualidade e bem-estar animal, evitando provocar sensações como dor, sofrimento e *stress* e lutando para que as condições dos ecossistemas produtivos sejam sempre mantidas num nível de excelência, é necessário promover rotinas de carácter preventivo ou, caso haja necessidade, de carácter médico.

Este tema encontra-se individualizado no presente relatório por ser transversal à maioria das áreas do ciclo de produção. Além disso, a explicação prévia da estação e dos procedimentos habituais numa aquacultura facilitam a descrição e fundamentam a importância destas

intervenções, também elas adotadas como rotinas. Alguns dos assuntos abordados neste Relatório de Casuística são alvo de estudo do restante trabalho e serão futuramente mencionados.

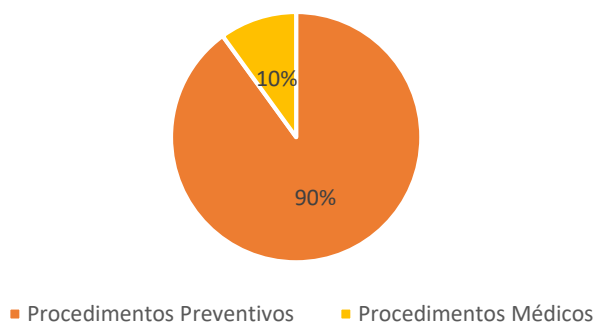
Primeiramente é essencial voltar a referir que exceto casos extremamente raros em que é possível isolar indivíduos e colocar em quarentena, os animais são avaliados ou até mesmo tratados de forma coletiva sendo a totalidade do *stock* alvo de intervenção. Por conseguinte a análise estatística do número de casos individuais avaliados/tratados torna-se irrelevante, fazendo-se principalmente referencia à totalidade do tanque.

Do mesmo modo, dadas as constantes transferências dos animais desde a eclosão do ovo até à engorda, as diversas experiencias que acabam e começam frequentemente (a maioria delas focada apenas numa área do ciclo), libertações de peixe na natureza, pescas para doação, taxas de natalidade e mortalidade variáveis e o carácter de rotatividade dos tanques de engorda, torna-se inviável fazer estimativas acerca da população e da sua variação ao longo do período de estágio.

Os animais aquáticos não são facilmente visíveis e vivem num ambiente dinâmico e complexo que muitas vezes encobre algum problema (mortalidades que ficam por contabilizar/identificar, contaminação dos solos por excesso de matéria orgânica, etc...) o que torna a sua avaliação mais difícil. A complexidade do ecossistema aquático torna a “fronteira” entre o equilíbrio de condições perfeito e um estado de calamidade uma linha muito ténue (Bondad-Reantaso. *et al.*, 2001).

Os processos patológicos em aquacultura são provocados por uma tríade de influências (Snieszko, 1974):

- Hospedeiro (Estado nutricional, reprodutivo, fisiológico e de desenvolvimento);
- Meio Ambiente. Inclui não só as próprias condições e parâmetros da água (oxigénio, pH, temperatura, amónia, turbidez, etc...) como a própria gestão e manipulação do meio: Medidas Preventivas instituídas (carga/densidade populacional utilizada, combinação de espécies e tamanhos, tratamentos, intervenções no tanque, etc...);
- Agente Patogénico (Pode incluir parasitas, fungos, vírus e bactérias);



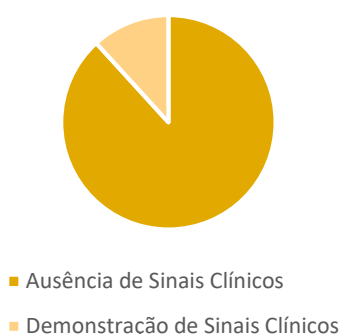
**GRÁFICO 3: RELAÇÃO ENTRE OS PROCEDIMENTOS CONSIDERADOS PREVENTIVOS E OS PROCEDIMENTOS MÉDICOS/TRATAMENTOS DURANTE O PERÍODO DE ESTÁGIO.**

Pela análise do Gráfico 3 pode-se constatar que 90% do trabalho desenvolvido na EPPO foi de carácter preventivo e apenas 10% desse trabalho foi considerado uma medida de tratamento, tendo sido feita a relação de todas as intervenções rotineiras com aquelas que efetivamente foram consideradas uma medida de tratamento. O reconhecimento de que as patologias poderão surgir de forma inesperada e ter a capacidade de intervir de imediato não só na sua identificação bem como no tratamento adequado, é a melhor forma de lutar contra as falhas produtivas ou, mais grave ainda, impactos na saúde pública e no ambiente (Bondad-Reantaso *et al.*, 2001). Ao reconhecer este facto, tomam-se as medidas preventivas necessárias para minimizar o surgimento de ações imprevistas e indesejáveis.

Grande parte das patologias ocorrentes em aquacultura iniciam-se por uma fase subclínica, na qual não há qualquer alteração da normalidade e, quando os animais demonstram sinais clínicos a dificuldade de tratamento aumenta exponencialmente. Quando há demonstração de sinais clínicos, alterações alarmantes do comportamento ou comprometimento do estado de saúde dos animais, são imediatamente tomadas medidas para determinar a causa do problema e fazer o diagnóstico correto. No entanto, de forma preventiva, essas mesmas análises fazem parte das rotinas de trabalho na EPPO e regra geral são executadas em animais que não demonstrem qualquer sinal clínico.

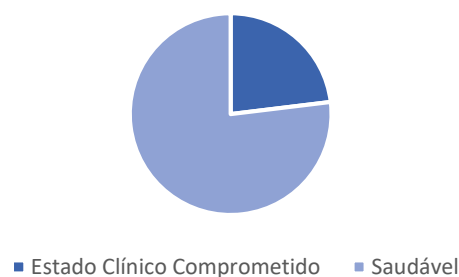
Como se pode analisar no Gráfico 4 abaixo apresentado a percentagem de animais analisados durante o estágio que não apresentava qualquer tipo de sinais clínicos foi muito superior à percentagem de animais clinicamente comprometidos. Da mesma forma, pode-se verificar no Gráfico 5 que na grande maioria dos animais analisados que não apresentava sinais clínicos não foi diagnosticado qualquer tipo de patologia que comprometesse o seu equilíbrio natural. No entanto em alguns casos foram diagnosticados agentes patogénicos que pelas suas características ou pela quantidade identificada poderiam assumir um carácter evolutivo e comprometer não só o estado clínico do animal, mas de todo o *stock*, podendo levar a grandes impactos na produção e nos trabalhos de investigação decorrentes.

**Animais Avaliados**



**GRÁFICO 4: ESTIMATIVA DA RELAÇÃO DOS ANIMAIS AVALIADOS QUE APRESENTAVAM OU NÃO SINAIS CLÍNICOS.**

**Animais Avaliados que não apresentavam sinais clínicos**



**GRÁFICO 5: ESTIMATIVA DA RELAÇÃO ENTRE O EQUILÍBRIO E O COMPROMETIMENTO DO ESTADO CLÍNICO DE ANIMAIS AVALIADOS QUE NÃO APRESENTAVAM SINAIS CLÍNICOS.**

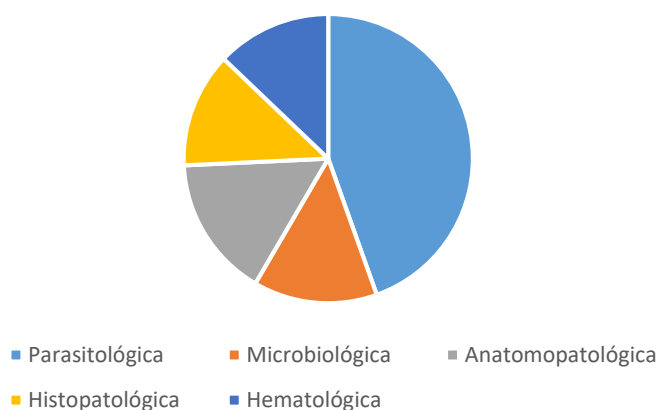
### 3.1. Análises e métodos de diagnóstico

Como já foi referido, não é necessário que se demonstrem alterações no estado clínico dos animais para que se realizem análises ou até mesmo, para que sejam diagnosticados agentes patogénicos. Sendo a Aquacultura uma área em exponencial desenvolvimento, cada vez mais existem meios, técnicas e equipamentos mais complexos e específicos para a avaliação do estado de saúde dos animais (Bondad-Reantaso *et al.*, 2001).

Na EPPO as análises realizadas e relacionadas com o estado médico dos animais são:

- Parasitológica;
- Hematológica;
- Histopatológica;
- Microbiológica;
- Anatomopatológica;

**Análises Realizadas na EPPO**



**GRÁFICO 6: ESTIMATIVA DA RELAÇÃO ENTRE AS DIFERENTES ANÁLISES DIVIDIDAS POR ÁREA MÉDICA REALIZADAS NO PERÍODO DE ESTÁGIO NA EPPO.**

Como se pode analisar a partir do Gráfico 6, a frequência dos diferentes tipos de análise distribuídos por área médica não é uniforme, sendo as análises Parasitológicas realizadas com uma frequência bastante superior às restantes. , por ser a principal causa de alteração do estado hígido dos animais.

Apesar das diferentes áreas de análise diferirem em material, métodos, procedimentos e equipamentos, a incapacidade de analisar a totalidade dos peixes do tanque é comum, levando a que sejam sempre selecionados um grupo de indivíduos (amostra). Essa amostra é variável em número conforme o tipo de análise a executar ou conforme os estudos pretendidos e importa ainda referir que a mesma amostra tem utilidade para as várias áreas de análise.

Como na Tabela 1 se pretende evidenciar, não há uma relação direta entre o número de observações feitas aos tanques e o número de peixes observados. Considera-se uma

“Observação feita ao tanque” a recolha de indivíduos para análise num determinado tanque e momento temporal. Assim, sempre que são avaliados animais de tanques diferentes ou os mesmos tanques, mas não no mesmo momento, contabiliza-se como uma “observação”.

O facto de haver diferenças significativas no número de observações aos tanques relacionado com a área de análise médica pode ser justificado com o tipo de estudos e de rotinas da EPPO, como será oportunamente explicado ao longo deste trabalho.

Uma vez que as análises parasitológicas são uma rotina preventiva (quase) diária na estação (nos meses de águas mais quentes) e, regra geral serem utilizados apenas dois peixes como amostra do tanque, contrasta com os restantes tipos de análise médica (em especial a histopatológica e a hematológica) que apenas se realizam em ensaios e estudos específicos, como o do Estudo de Caso apresentado no presente trabalho.

**TABELA 1: FREQUÊNCIA ABSOLUTA (Fi) E RELATIVA (Fr) DO NÚMERO DE OBSERVAÇÕES FEITAS AOS TANQUES (OT) E DE PEIXES ANALISADOS (PA), DURANTE O PERÍODO DE ESTÁGIO.**

| Análise           | Fi (OT)    | Fr (OT)     | Fi (PA)    | Fr (PA)     |
|-------------------|------------|-------------|------------|-------------|
| Parasitológica    | 102        | 50%         | 296        | 37%         |
| Anatomopatológica | 30         | 15%         | 130        | 16%         |
| Microbiológica    | 26         | 13%         | 124        | 16%         |
| Histopatológica   | 24         | 12%         | 120        | 15%         |
| Hematológica      | 24         | 12%         | 120        | 15%         |
| <b>Total</b>      | <b>206</b> | <b>100%</b> | <b>790</b> | <b>100%</b> |

**TABELA 2: FREQUÊNCIA ABSOLUTA (Fi) E RELATIVA (Fr) DOS PEIXES ANALISADOS (PA) RELACIONANDO A ÁREA DE ANÁLISE E ESPÉCIE DOS INDIVÍDUOS.**

| Análise           | Espécie                                   | Fi (PA) | Fr(PA) |
|-------------------|---|---------|--------|
| Parasitológica    | Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> )     | 239     | 30%    |
|                   | Dourada ( <i>Sparus aurata</i> )          | 28      | 4%     |
|                   | Sargo Legítimo ( <i>Diplodus sargus</i> ) | 16      | 2%     |
|                   | Sargo Veado ( <i>Diplodus cervinus</i> )  | 9       | 1%     |
|                   | Safia ( <i>Diplodus vulgaris</i> )        | 4       | 1%     |
| Anatomopatológica | Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> )     | 125     | 16%    |
|                   | Dourada ( <i>Sparus aurata</i> )          | 5       | 1%     |

|                 |                                       |     |      |
|-----------------|---------------------------------------|-----|------|
| Microbiológica  | Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) | 122 | 15%  |
|                 | Dourada ( <i>Sparus aurata</i> )      | 2   | 0%   |
| Histopatológica | Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) | 120 | 15%  |
| Hematológica    | Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) | 120 | 15%  |
| <b>Total</b>    |                                       | 790 | 100% |

A Tabela 2 relaciona a espécie dos animais intervencionados com o tipo de análise médica e pela sua leitura podemos concluir que a corvina (*Argyrosomus regius*) é, em todos os casos a espécie mais intervencionada. A justificação prende-se não só com a quantidade de animais de cada espécie residentes na EPPO (apesar do número de indivíduos ser variável diariamente, a corvina esteve sempre presente em maior quantidade) mas também com os objetivos dos estudos e experiências decorrentes nos meses de estágio.

Na Tabela 3, está referenciada a totalidade de peixes de cada espécie analisados durante os meses de estágio que correspondem ao total de animais sacrificados. A análise desta Tabela tem como objetivo evidenciar o facto de o mesmo indivíduo ou a mesma amostra serem clinicamente analisados nas diversas áreas médicas praticadas na EPPO.

**TABELA 3: FREQUÊNCIA ABSOLUTA (Fi) E RELATIVA (Fr) DO TOTAL DOS PEIXES DE CADA ESPÉCIE ANALISADOS (PA).**

| Espécie                                   | Fi (PA) | Fr (PA) |
|---|---------|---------|
| Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> )     | 239     | 81%     |
| Dourada ( <i>Sparus aurata</i> )          | 28      | 10%     |
| Sargo Legítimo ( <i>Diplodus sargus</i> ) | 16      | 5%      |
| Sargo Veado ( <i>Diplodus cervinus</i> )  | 9       | 3%      |
| Safia ( <i>Diplodus vulgaris</i> )        | 4       | 1%      |
| <b>Total</b>                              | 296     | 100%    |

A Tabela 4 relaciona as áreas de análise médica com as áreas do ciclo de produção da EPPO e, pelo seu estudo, podemos concluir que a grande maioria das intervenções médicas/clínicas se realizou em animais provenientes da engorda. São vários os fatores que permitem justificar essa ocorrência:

- O Período de estágio decorreu sobretudo na área de engorda e por conseguinte foi a área de estudo mais focada.
- O facto de ser necessário sacrificar os animais para a grande maioria das análises invalida o uso de reprodutores (exceto para avaliação anatomopatológica, em casos de morte natural, que pode ter um interesse bastante considerável).

- Atendendo a que apenas os animais na fase de engorda se apresentam expostos às condições ambientais e que os restantes têm um ambiente controlado/manipulado, as necessidades de analisar preventivamente os tanques de terra são maiores.

**TABELA 4: FREQUÊNCIA ABSOLUTA (Fi) E RELATIVA (Fr) DOS PEIXES ANALISADOS (PA) POR ÁREA DE ANÁLISE CLÍNICA E POR ÁREA DO CICLO PRODUTIVO.**

| <b>Análise</b>           | <b>Área do Ciclo Produtivo</b> | <b>Fi (PA)</b> | <b>Fr (PA)</b> |
|--------------------------|--------------------------------|----------------|----------------|
| <i>Parasitológica</i>    | Juvenis                        | 4              | 1%             |
|                          | Engorda                        | 288            | 36%            |
|                          | Maternidade                    | 4              | 1%             |
| <i>Anatomopatológica</i> | Engorda                        | 125            | 15%            |
|                          | Reprodutores                   | 5              | 1%             |
| <i>Microbiológica</i>    | Engorda                        | 124            | 16%            |
| <i>Histopatológica</i>   | Engorda                        | 120            | 15%            |
| <i>Hematológica</i>      | Engorda                        | 120            | 15%            |
| <b>Total</b>             |                                | 790            | 100%           |

**TABELA 5: FREQUÊNCIA ABSOLUTA (Fi) E RELATIVA (Fr) DAS ANÁLISES DE ROTINA/PREVENÇÃO (AR) E DAS ANÁLISES CALENDARIZADAS (AC) POR ÁREA DE ANÁLISE CLÍNICA.**

| <b>Análise</b>           | <b>Fi (AR)</b> | <b>Fr (AR)</b> | <b>Fi (AC)</b> | <b>Fr (AC)</b> |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <i>Parasitológica</i>    | 122            | 90%            | 174            | 27%            |
| <i>Anatomopatológica</i> | 10             | 7%             | 120            | 18%            |
| <i>Microbiológica</i>    | 4              | 3%             | 120            | 18%            |
| <i>Histopatológica</i>   | 0              | 0%             | 120            | 18%            |
| <i>Hematológica</i>      | 0              | 0%             | 120            | 18%            |
| <b>Total</b>             | 136            | 100%           | 654            | 100%           |

A Tabela 5 é apresentada de forma a fundamentar estatisticamente as diferenças numéricas entre o valor de peixes avaliados em análises de Rotina/Preventivas, rastreio ou ainda de diagnóstico e as análises calendarizadas, por área de análise clínica.

As análises calendarizadas correspondem a projetos ou ensaios cujas datas ou espaçamentos temporais entre as intervenções são previamente estabelecidos e têm de ser cumpridos.

### 3.2 Análises de rotina ou diagnóstico

Como foi previamente referido e fundamentado, análises clínicas como Histopatologia e Hematologia devido ao seu elevado grau de complexidade e à necessidade de métodos e

equipamentos bem como de pessoal especializado na área para realização dos procedimentos e análise dos resultados, apenas se realizam quando são parte integrante de um objetivo ou caso de estudo. Da mesma forma pode ser vista a Microbiologia que, como apresentado na Tabela 5, apenas quatro casos foram realizados sem fazerem parte de um estudo específico (dois dos casos para treino de procedimentos e outros dois para tentativa de identificação de agentes patogénicos em peixes com sinais clínicos evidentes).

Os dez casos de análises anatomopatológicas realizados extra projetos tiveram propósitos diferentes. Como se pode analisar na Tabela 4, cinco dos animais observados eram provenientes da linha de reprodução e outros cinco provinham da engorda. Os cinco reprodutores analisados não foram sacrificados (tendo “morte natural” recente) e as análises foram feitas em busca de alterações ou patologias que justificassem a morte dos animais. Os cinco peixes provenientes da engorda foram utilizados para treino e formação na identificação das diferentes estruturas anatómicas e respetivo estado. Importa referir que os animais não são sacrificados meramente para treino e que em todos os casos de análises anatomopatológicas, os animais tinham sido previamente analisados parasitologicamente.

### 3.2.1. Análise parasitológica de rotina

Dependendo da época do ano, a necessidade de avaliação parasitológica por rotina é variável, uma vez que nos meses de maior calor, a temperatura da água é mais alta e os níveis parasitários, regra geral, aumentam (Cecchini *et al.*, 1998).

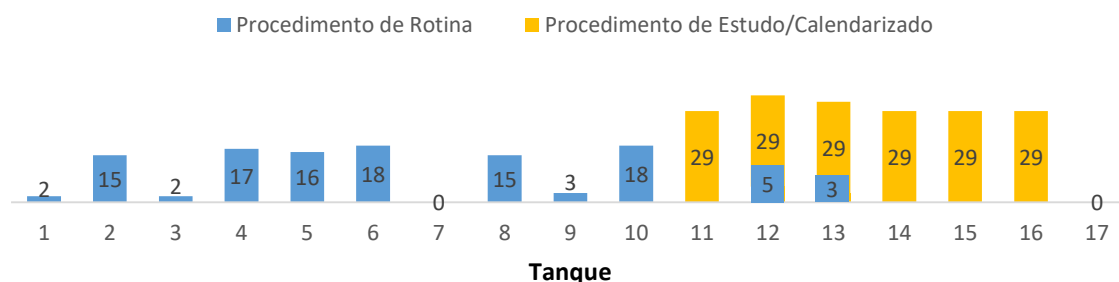
Não existe uma data fixa para que os tanques sejam analisados, mas convenientemente cada tanque (exceto os pertencentes a estudos específicos com análises calendarizadas ou aqueles cujos habitantes apresentem um elevado valor económico e o sacrifício não seja vantajoso), deve ser visto pelo menos uma vez por semana nos períodos considerados “críticos”. Dependendo dos resultados obtidos a partir da avaliação, pode ou não ser necessário reavaliar num curto período de tempo.

Como normalmente são utilizados apenas dois peixes como amostra nestas intervenções de rotina, não é necessário utilizar a rede de pesca e desenvolver todo o procedimento descrito em “Pescas” e “Amostragem Parasitológica”, assim, sendo baixo o número de peixes desejado, é utilizada uma cana de pesca convencional, com um anzol onde é colocado mexilhão como isco.

Atendendo ao sistema de policultivo praticado na EPPO, a espécie do peixe capturado para análise de rotina é aleatória, e nem sempre o resultado é o desejado, bastando para isso que o peixe não mostre interesse no isco ou que as condições ambientais estejam desfavoráveis à pesca.



### Peixes Avaliados por Tanque



**GRÁFICO 7: COMPARAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE PEIXES AVALIADOS POR TANQUE (NUMERADOS DE 1-17), EM PROCEDIMENTOS CALENDARIZADOS (PROJETOS CIENTÍFICOS) OU DE ROTINA.**

Pela análise do Gráfico 7 podemos constatar que a avaliação de cada TT (tanque de terra) foi variável em número de peixes durante o período de estágio. Essas diferenças podem ser explicadas:

- Os tanques 11-16 iniciaram um projeto em abril/maio de 2016 que terminará em novembro (do mesmo ano) e tanto o número de amostras utilizado como a data da análise está estipulado pelos “métodos” do projeto. Os tanques 12 e 13 foram alvo de análises de rotina por motivos clínicos, daí os casos registrados.

- Os tanques três, sete e 17 durante o período de estágio estiveram povoados com peixes de grandes dimensões, alguns deles com identificação eletrônica (Microchip) e devido às baixas densidades populacionais praticadas nestes tanques, não se revelou vantajoso o sacrifício destes animais para análises de rotina.

- Durante o período de estágio o tanque nove esteve maioritariamente desativado, traduzindo-se em poucas intervenções.

- Os restantes tanques foram avaliados conforme a necessidade e suspeitas clínicas. Como se pode analisar, nem sempre o total de peixes corresponde a números pares, muitas vezes relacionado com dificuldades na pesca.

**TABELA 6: FREQUÊNCIA ABSOLUTA (Fi) E RELATIVA (Fr) DO NÚMERO DE PARASITAS(P) ENCONTRADO EM AVALIAÇÕES PARASITOLÓGICAS DE ROTINA, EM DIFERENTES ESPÉCIES DE PEIXES, DURANTE O PERÍODO DE ESTÁGIO.**

| GRUPO            | PARASITA                      | FI(P) | FR(P) |
|------------------|-------------------------------|-------|-------|
| <b>Monogenea</b> | <i>Diplectanum sp.</i>        | 3421  | 81%   |
|                  | <i>Dactilogyrus sp.</i>       | 148   | 4%    |
|                  | <i>Lamellodiscus sp.</i>      | 393   | 9%    |
|                  | <i>Sciaena cotyle.</i>        | 91    | 2%    |
|                  | <i>Microcotyle sp.</i>        | 11    | 0%    |
| <b>Flagelado</b> | <i>Amyloodinium ocellatum</i> | 31    | 1%    |
| <b>Ciliado</b>   | <i>Trichodina sp.</i>         | 112   | 3%    |
|                  | <b>Total</b>                  | 4207  | 100%  |

Pela análise da Tabela 6 podemos concluir que mais de 95% dos parasitas encontrados na EPPO, entre janeiro e julho de 2016, em análises de rotina são monogénicos. Na Tabela 7 podemos ver a distribuição do número de parasitas (por género e espécie) relacionadas com as espécies piscícolas.

**TABELA 7: NÚMERO DE PARASITAS DE CADA ESPÉCIE RELACIONADO COM AS ESPÉCIES PISCÍCOLAS, DURANTE O PERÍODO DE ESTÁGIO.**

| GRUPO     | PARASITA                      | DOURADA | CORVINA | SARGO LEGITIMO | SARGO VEADO | SAFIA | TOTAL |
|-----------|-------------------------------|---------|---------|----------------|-------------|-------|-------|
| Monogenea | <i>Diplectanum sp.</i>        |         | 3421    |                |             |       | 3421  |
|           | <i>Dactylogyrus sp.</i>       | 148     |         |                |             |       | 148   |
|           | <i>Lamellodiscus sp.</i>      |         |         | 377            | 1           | 15    | 393   |
|           | <i>Sciaena cotyle sp.</i>     |         | 91      |                |             |       | 91    |
|           | <i>Microcotyle sp.</i>        | 11      |         |                |             |       | 11    |
| Flagelado | <i>Amyloodinium ocellatum</i> |         | 25      | 6              |             |       | 31    |
| Ciliado   | <i>Trichodina sp.</i>         | 60      |         | 52             |             |       | 112   |

É importante voltar a referir que uma vez que os valores obtidos foram provenientes de análises de rotina e foi avaliado o número de indivíduos estipulado, por espécie e numa data específica, a análise dos dados é meramente representativa dos valores obtidos. A análise da Tabela 8 dá-nos uma perceção da relação entre o número total de parasitas monogénicos observados e o número de indivíduos de cada espécie observados.

**TABELA 8: RELAÇÃO ENTRE A QUANTIDADE DE PARASITAS IDENTIFICADOS E A ESPÉCIE DO INDIVÍDUO OBSERVADO**

|                       | Nº indivíduos analisados | Nº monogénicos identificados | Relação quantidade parasita/espécie |
|-----------------------|--------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Dourada</b>        | 28                       | 159                          | 5,7                                 |
| <b>Corvina</b>        | 239                      | 3512                         | 14,7                                |
| <b>Sargo legitimo</b> | 16                       | 383                          | 23,9                                |
| <b>Sargo veado</b>    | 9                        | 1                            | 0,1                                 |
| <b>Safia</b>          | 4                        | 15                           | 3,8                                 |

### 3.3. Tratamentos/Medidas de resolução

Na EPPO os tratamentos médicos/farmacológicos são evitados ao máximo e só se realizam quando todas as outras opções não satisfazem. Assim, a não ser que o resultado inicial de uma avaliação (tanto de rotina como de diagnóstico) justifique de imediato o início de um tratamento farmacológico, são adotadas medidas menos invasivas no tanque e é mantido um

perfil de vigilância contínuo com avaliações sucessivas. De acordo com os resultados obtidos, é analisada a evolução da situação médica do tanque e são tomadas as respectivas medidas.

**TABELA 9: FREQUÊNCIA ABSOLUTA (Fi) E RELATIVA (Fr) DAS MEDIDAS EFETUADAS COM CARÁCTER DE TRATAMENTO NA ENGORDA E PRÉ-ENGORDA.**

| <b>Medida de Resolução</b>  | <b>Fi(TI)</b> | <b>Fr(TI)</b> |
|-----------------------------|---------------|---------------|
| Peroxido de Hidrogénio      | 2             | 8%            |
| Sulfato de Cobre            | 4             | 15%           |
| Renovação de Água do Tanque | 16            | 62%           |
| Oxitetraciclina             | 4             | 15%           |
| <b>Total</b>                | <b>26</b>     | <b>100%</b>   |

Quando as avaliações médicas de rotina apresentam níveis ligeiramente diferentes aos considerados ideais e pretendidos, são tomadas medidas de carácter resolutivo, mas não necessariamente de carácter médico. Assim, como se pode observar pela análise da Tabela 9 o procedimento mais frequente é a renovação de água dos tanques (dependendo da necessidade varia a quantidade de água renovada). Os tanques são mantidos sob vigilância e serão reavaliados num curto prazo de tempo e, só no caso dos resultados das análises não serem satisfatórios é que se pondera o uso de tratamentos químicos.

### III. Monografia

#### Produção Aquícola de Peixes e Ostras em regime Semi-intensivo.

##### 1. Aquacultura

###### 1.1 Abordagem geral

Num mundo onde a população mundial não pára de aumentar, bem como os casos de patologias associadas a má nutrição e carências alimentares, é essencial enfrentar o desafio de alimentar o nosso planeta, sem que para isso se comprometam os recursos naturais. A aquacultura é uma alternativa às explorações tradicionais dos elementos piscícolas, com um potencial elevado de obtenção de fontes proteicas (FAO, 2014).

Define-se aquacultura como a produção em cativeiro de diversos organismos com um habitat predominantemente aquático: peixes, algas, moluscos, crustáceos, répteis, batráquios e equinodermes. Está implícita no conceito de aquacultura a intervenção do ser humano, em pelo menos uma fase do ciclo de vida das espécies, de forma a aumentar a produtividade e prevenindo danos no bem-estar animal, reduzindo prejuízos financeiros e impactos na saúde pública. (FAO, 2016a).

Devido à sobre-exploração dos recursos naturais marinhos, muitos *stocks* encontram-se próximos do rendimento máximo sustentável, enquanto outros já ultrapassaram esse limite. Com as restrições legais impostas ao sector das pescas tradicionais, atualmente os produtos do mar encontram-se no mercado a custos cada vez mais elevados. Associada a essa realidade, enfrenta-se hoje em dia a dificuldade de empregabilidade e de sobrevivência financeira das pequenas empresas ligadas à pesca tradicional. Como tal, a aquacultura torna-se uma aposta estratégica, potenciando a criação de postos de trabalho e assumindo um papel fundamental a nível económico (Comissão das Comunidades Europeias, 2002).

As preferências dos mercados de consumo influenciam o crescimento deste sector, promovendo uma intensificação e diversificação dos sistemas e práticas utilizados, visando obter produtos seguros e de qualidade. Consequentemente é crescente a regulamentação e administração envolvente (FAO, 2006).

## 1.2. Estado mundial da aquacultura

Em 2014, o consumo de peixe *per capita* atingiu o seu recorde de 20 kg/ano devido ao exponencial crescimento da aquacultura mundial que neste momento providencia metade da totalidade do peixe consumido, como se pode comprovar pela análise do Gráfico 8.

Na Tabela 10 está evidenciado o destino dos produtos obtidos das capturas e da produção aquícola a nível mundial, em milhões de toneladas, apresentando o consumo de peixe *per capita* e a população mundial ao longo dos últimos anos (FAO, 2016a).

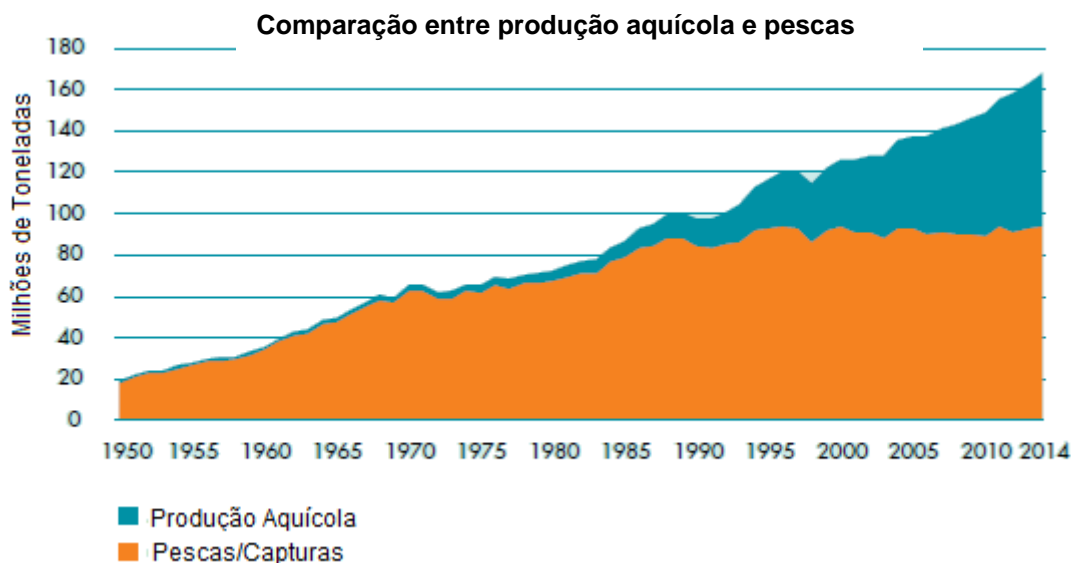


GRÁFICO 8: COMPARAÇÃO, EM MILHÕES DE TONELADAS ENTRE A QUANTIDADE DE PEIXE CAPTURADO E O PRODUZIDO EM AQUACULTURA, A NÍVEL MUNDIAL. [ADAPTADO DE (FAO, 2016A)].

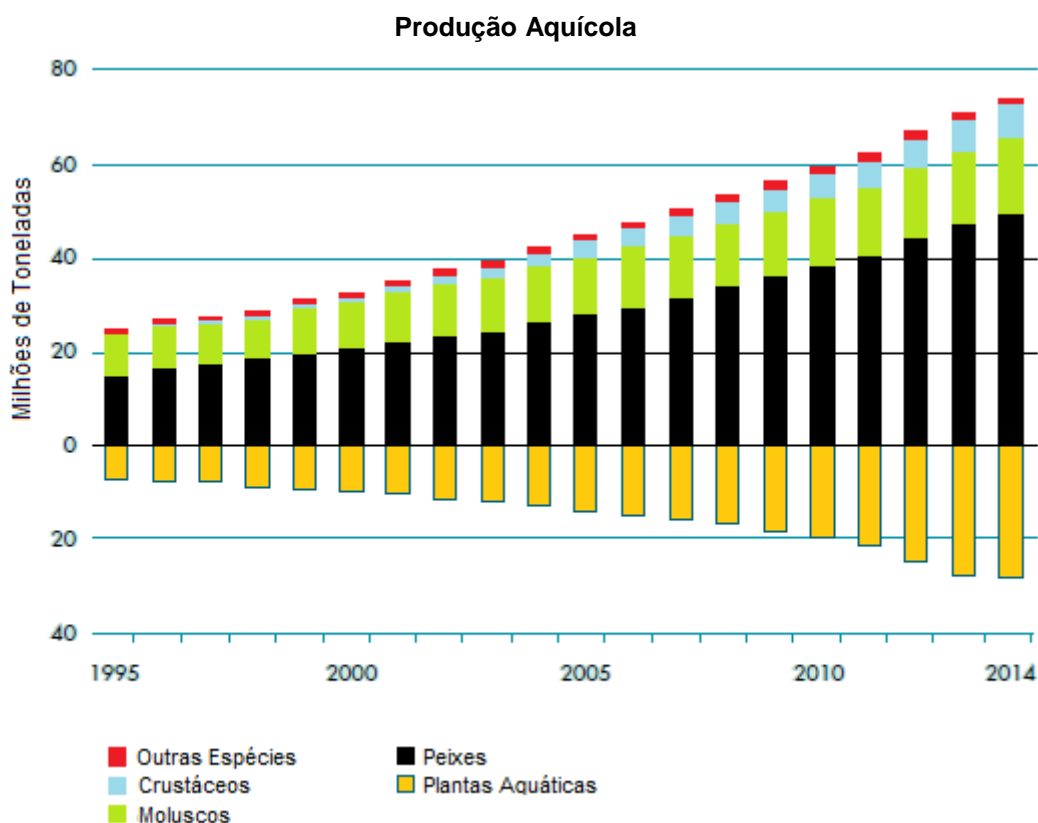
TABELA 10: UTILIZAÇÃO DOS PRODUTOS PISCÍCOLAS OBTIDOS EM AQUACULTURA E PESCAS, POR ANO. (FAO, 2016A)

| Utilização dos Produtos Piscícolas Obtidos / Ano | 2009  | 2010  | 2011  | 2012  | 2013  | 2014  |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Consumo Humano (Milhões de Toneladas)            | 123.8 | 128.1 | 130.8 | 136.9 | 141.5 | 146.3 |
| Uso não alimentar (Milhões de Toneladas)         | 22.0  | 20.0  | 24.7  | 20.9  | 21.4  | 20.9  |
| População Mundial (Biliões)                      | 6.8   | 6.9   | 7.0   | 7.1   | 7.2   | 7.3   |
| Consumo de peixe (Kg <i>per capita</i> )         | 18.1  | 18.5  | 18.6  | 19.3  | 19.7  | 20.1  |

Grande parte do crescimento da aquacultura mundial foi potenciado pela China, que representa mais de 60% da produção aquícola mundial, seguida da Índia, Vietname, Indonésia e Bangladesh. O país Europeu que apresentou níveis de produção aquícola mais elevados foi a Noruega, classificando-se como o sexto maior produtor mundial em 2014. As razões para as

diferenças de quantidades produtivas entre países podem ser explicadas pelo carácter geográfico, histórico, cultural, económico e ambiental de cada país.

Até 2014 foram registadas 580 espécies produzidas das quais 362 são piscícolas, 104 espécies de moluscos, 62 de crustáceos, seis de répteis, nove de invertebrados aquáticos e 37 de algas e plantas aquáticas. Pela análise do Gráfico 9 pode-se aferir que a produção de peixes foi sempre superior às restantes espécies produzidas. É de salientar a evolução da produção de plantas aquáticas que neste momento representa uma grande percentagem da totalidade de produtos aquícolas produzidos mundialmente (FAO, 2016a).



**GRÁFICO 9: EVOLUÇÃO AO LONGO DOS ANOS, EM MILHARES DE TONELADAS, POR GRUPOS DE ESPÉCIES PRODUZIDAS A NÍVEL MUNDIAL. [ADAPTADO DE (FAO, 2016A)].**

### 1.3. Aquacultura em Portugal

Atendendo às características geográficas de Portugal que se encontra não só sob influência de águas do Oceano Atlântico mas também de águas do mar Mediterrâneo, sabe-se que o potencial para a prática de aquacultura é elevado, apresentando capacidades para o desenvolvimento da cultura de espécies com elevado interesse comercial (Diniz, 1998).

Até meados dos anos 80, a aquacultura em Portugal consistia apenas na produção de Truta (*Salmo trutta*) em água doce e de bivalves em zonas estuarinas. Desde a entrada de Portugal para a União Europeia, foram introduzidas medidas políticas relacionadas com as pescas e preservação dos recursos marinhos das quais fazem parte (FAO, 2005):

- Ajuste das cotas de pesca e da respetiva legislação;
- Renovação e modernização dos navios pesqueiros;
- Proteção e desenvolvimento de zonas piscatórias e dos seus acessos (portos de mar, indústrias de processamento e armazenamento);
- Medidas socioeconómicas relacionadas com pescas, promoção e procura de novos mercados;
- Investimento em projetos piloto e ajudas financeiras em novos projetos privados relacionados com aquacultura.

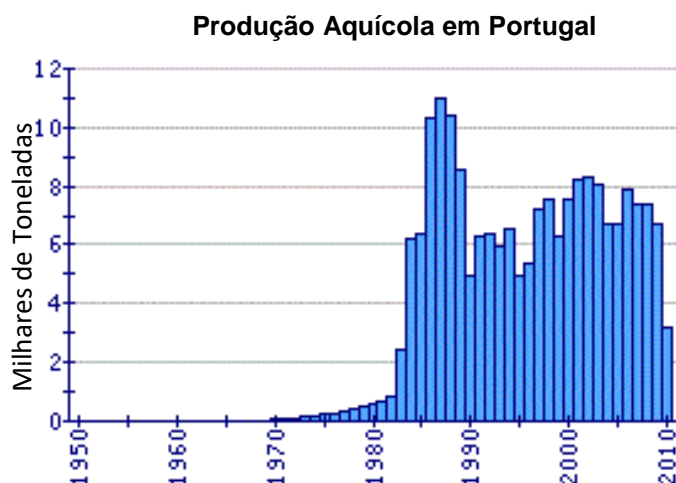
Após a implementação destas medidas a aquacultura em Portugal cresceu exponencialmente: grande parte das salinas deram origem a unidades de produção aquícola, os resíduos da pesca passaram a matéria prima para formulação de rações secas usadas como alimento artificial para peixes e houve um acréscimo de formação técnica para trabalhadores do ramo (Aquaculture Europe, 2010).

A aquacultura nacional é essencialmente representada pela produção em águas salgadas e salobras (88%), sendo as espécies mais produzidas os moluscos bivalves (Ameijoas e Ostras), a Dourada (*Sparus aurata*) e o Robalo (*Dicentrarchus labrax*). Espécies como o Linguado (*Solea senegalensis*), Pregado (*Psetta maxima*), Sargo (*Diplodus sargus*) e Corvina (*Argyrosomus regius*) têm também apresentado um elevado potencial produtivo (DGPA, 2008).

Como se pode verificar no Gráfico 10, a produção aquícola portuguesa sofreu uma quebra no seu crescimento expansivo, nos anos 2000, provocada pela entrada no mercado de grandes volumes de peixes oriundos de sistemas intensivos de produção da Grécia e Turquia, que baixaram o preço do peixe, tornando-se praticamente impossível para os produtores nacionais praticar preços competitivos. Assim, o crescimento da aquacultura portuguesa a partir dos anos 2000 não evoluiu da forma desejável atendendo ao potencial favorável para a atividade (DGPA, 2007).

Em 2014 a produção nacional foi cerca de 12 mil toneladas, mas a grande maioria das explorações nacionais ainda se caracteriza pelo seu regime semi-intensivo, de pequena dimensão e por conseguinte com produtividades e rentabilidades relativamente baixas. A nível mundial a aquacultura já contribui com metade do pescado consumido *per capita*. Na Europa esta contribuição é cerca de 25%, mas em Portugal representa pouco mais que 1,5% apesar do consumo de produtos aquícolas rondar os 8% do total de produto consumido (recurso à importação) (FAO, 2014).

Além da indistinção de preços entre produtos provenientes de métodos de produção diferentes (semi-intensivo e intensivo), existe a dificuldade burocrática para a requisição de novas licenças para explorações aquícolas. O facto de parte das explorações aquícolas se encontrar em zonas protegidas ou com potencial para outras fontes de rendimento como o turismo, limita a sua expansão e, por conseguinte, o aumento de produção (Aquaculture Europe, 2010).



**GRÁFICO 10: EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO AQUÍCOLA PORTUGUESA, EM MILHARES DE TONELADAS. [ADAPTADO DE (FAO, 2005)].**

#### 1.4. Desafios da aquicultura

Contrastando com todo o sucesso e potencial de expansão do sector, surgem dificuldades e problemas inevitáveis. Ao longo do tempo, a aquicultura enfrentou fases tanto positivas como negativas, sofrendo por vezes alguma marginalização e dificuldades de inserção no mercado, levando à procura de soluções como diversificar a produção de outras espécies, oferecendo uma maior variedade ao consumidor. No entanto, nem sempre se consegue ultrapassar a fase experimental da produção em escala piloto, o que representa um grande desafio a superar (Barazi-Yeroulanos, 2010)

##### 1.4.1. Aceitabilidade dos produtos de aquicultura

Nalgumas regiões a aquicultura ainda é vista de forma muito negativa, não só pelo seu possível impacto ambiental, mas essencialmente por questões relacionadas com a qualidade e segurança alimentar e integridade social/cultural.

A aposta na divulgação, marketing e campanhas de sensibilização é essencial para combater um dos maiores desafios que o sector enfrenta: transmitir à sociedade o conhecimento, potencialidades e as mais valias deste tipo de produção (Fezzardi *et al.*, 2013).

##### 1.4.2. Bem-estar animal

Dependendo dos sistemas e das técnicas produtivas, a aquicultura está sempre suscetível ao aparecimento de patologias ou danos no bem-estar animal que podem comprometer a sustentabilidade do sector. De forma a reduzir os riscos, é fundamental implementar medidas (preferencialmente preventivas) a nível dos cuidados de manuseamento dos animais, uso correto da farmacologia veterinária e estabelecer rotinas de análise e avaliação dos indivíduos e das comunidades piscícolas produzidas (Fezzardi *et al.*, 2013).

##### 1.4.3. Interação entre aquicultura e pesca

De uma perspetiva de desenvolvimento sustentável, monitorizar interações entre artes



de pesca e produção aquícola é essencial para entender e aproveitar os benefícios mútuos bem como para reduzir potenciais conflitos na coexistência dos sectores (Fezzardi *et al.*, 2013).

#### 1.4.4. Gestão da informação

Uma análise detalhada e constante de dados e informação sobre o estado dos recursos marinhos, bem como estudos de mercado (futuros consumidores, preferências, necessidades e hábitos), rentabilizam e adaptam não só a forma de produção como a própria capacidade produtiva (Fezzardi *et al.*, 2013).

#### 1.4.5. Investigação científica e cooperação

Com a finalidade de potenciar a competitividade e sustentabilidade do sector, a investigação científica assume um papel fundamental.

A divulgação dos dados provenientes de investigações bem como a cooperação e transmissão de conhecimento entre produtores promove uma melhor capacidade de resposta por parte da indústria aquícola (Fezzardi *et al.*, 2013).

### 1.5. Sistemas e métodos de produção aquícola

A aquacultura engloba uma larga variedade de sistemas de produção e tecnologias diferentes que se adaptam aos diversos ambientes, podendo ser aplicada em cultivo marinho ou de água doce.

Tradicionalmente a aquacultura é classificada, de acordo com os métodos de cultura e intensidade de produção (densidades), em: **extensiva**, **semi-intensiva** e **intensiva**. Quanto ao local de operação, designa-se por **Inshore** a produção em terra, **Onshore** em zona costeira e **Offshore** em mar aberto (Beveridge, 2004); (GFCM, 2009).

A aquacultura **Inshore** localiza-se em terra e geralmente perto de zonas costeiras ou de fontes de água. O exemplo mais comum é a engorda em tanques de terra. O sistema **Onshore**, localizado em zonas costeiras abrigadas (portos, bacias, etc...) é geralmente praticado em jaulas flutuantes (Pousão-Ferreira, 2008);

Na aquacultura **Offshore**, a distâncias consideráveis da linha de costa, os elementos marinhos são mantidos em jaulas e estão expostos a todas as condições naturais do oceano (Beveridge, 2004).

#### 1.5.1. Regime semi-Intensivo

Apesar da sua definição não ser universal, classifica-se em regime de **produção semi-intensiva** o sistema onde é fornecido alimento externo pelo menos duas vezes por semana. Outros critérios como a densidade populacional, a intensidade de produção e a disposição do produto final podem também interferir na classificação (Nilsson, 1994).

### 1.5.2. Monocultivo e policultivo

**Monocultivo**, como o próprio nome indica, é o cultivo de apenas uma espécie de organismos, independentemente da densidade, tipo de água ou método de produção.

**Policultivo** refere-se à produção de diferentes espécies piscícolas do mesmo nível trófico no mesmo sistema. Neste caso, apesar dos diferentes organismos partilharem os mesmos processos químicos e biológicos, existe um potencial de simbiose grande, trazendo benefícios para o ecossistema (diferentes hábitos alimentares, competição por alimento, comportamentos diferentes, etc.... contribuem para um equilíbrio saudável, complementando o sistema) (Jhingran, 1987).

### 1.5.3. IMTA (Integrated Multi-Trophic Aquaculture)

**Aquacultura multitrófica integrada (IMTA)** é um Sistema de policultivo onde os subprodutos de umas espécies são reciclados e reaproveitados por outras (fertilizantes, alimento e potenciadores energéticos), funcionando como um ecossistema com diversos níveis tróficos ou nutricionais que beneficiam entre si.

O sistema funciona com a combinação, em proporções apropriadas, de espécies animais com diferentes hábitos alimentares e espécies vegetais ou invertebradas, permitindo a reciclagem dos nutrientes (Barrington *et al.*, 2009). Com a integração do cultivo de espécies aquícolas alimentadas artificialmente (como espécies piscícolas), de espécies com capacidade de extração orgânica (como bivalves filtradores) e ainda espécies extractivistas inorgânicas (como macroalgas), potencia-se um equilíbrio do ecossistema com a promoção da reciclagem dos nutrientes residuais. A seleção das espécies para este sistema produtivo é então muito importante e é fundamental a sua correta combinação, tendo em conta a diversidade nos seus hábitos e comportamentos alimentares como (Rahman *et al.*, 1992):

- Espécies que se alimentem à superfície, na coluna de água ou espécies que se alimentem no fundo (benticas);
- Espécies planctívoras, detritívoras, omnívoras ou necrófagas;

Do ponto de vista ambiental e de equilíbrio do ecossistema, a IMTA está destinada a ser uma aposta em expansão a nível mundial e a sua prática tem vindo a aumentar significativamente a sustentabilidade na aquacultura, devido a todo o seu potencial não só ambiental, mas também social e económico-financeiro (Soto, 2009), (Troell *et al.*, 2009). O maior benefício do ponto de vista ambiental está relacionado com o facto das espécies de menor nível trófico promoverem a reciclagem de resíduos agrícolas e de nutrientes que foram desperdiçados por espécies de um nível trófico superior, diminuindo assim, as emissões de descargas prejudiciais ao ambiente (Ren *et al.*, 2012).

O ponto de vista económico-financeiro e social reflete-se com uma maior diversificação de produtos, potenciando um maior retorno económico, promovendo também mais postos de trabalho e dinamizando as empresas (Ren *et al.*, 2012).

O Sistema IMTA é proposto como uma solução sustentável, em termos económico-sociais e acima de tudo ambientais, visando diminuir os efeitos nefastos da produção aquícola e promovendo uma diversificação do mercado, aumentando a aceitabilidade social dos produtos e, assim associado, aumentar a rentabilidade por unidade produtiva a longo prazo (Chopin T. *et al.*, 2008).

## 2. O Médico Veterinário em Aquacultura

De acordo com a legislação Portuguesa e com a OMS (Organização Mundial de Saúde), a sanidade dos animais aquáticos é responsabilidade do Médico Veterinário.

A abrangência da área veterinária garante ao especialista não só conhecimentos de produção animal, mas essencialmente acerca da parte clínica, nas suas vertentes preventiva e curativa. Assim, o Médico Veterinário, em colaboração com especialistas de outras áreas, responsabiliza-se pela observação atenta dos animais (essencialmente nos períodos de alimentação ou manipulação) a fim de detetar alterações no comportamento, que possam denunciar alguma falha na qualidade e bem-estar animal, mas também se assegura do trabalho preventivo de avaliação rotineira dos pontos críticos na cadeia produtiva onde podem atuar.

Caso seja necessária a intervenção médica, para além da identificação das patologias (envolvendo áreas como: Microbiologia/Doenças Infeciosas, Parasitologia, etc...) poderá aplicar os conhecimentos de farmacologia, escolhendo o tratamento mais adequado a cada caso. (Shariff *et al.*, 2004).

Atualmente algumas das áreas mais representativas da Medicina Veterinária são “Higiene e Saúde Pública” e “Medicina Preventiva”. Numa aquacultura, em casos de surtos ou aparecimento de patologias contagiosas que representem risco de epidemia (comprometendo a segurança e saúde pública, outras linhas de produção ou o próprio ecossistema natural), o Médico Veterinário assume um papel de grande responsabilidade tomando as medidas necessárias para que o problema se resolva em segurança. Quarentenas, rejeição de produtos orgânicos, desinfecções das instalações e dos materiais ou mesmo encerramento temporário das instalações para cumprir períodos de segurança, são algumas das medidas que o Médico Veterinário poderá ter de tomar (Albinati, 2007).

A Organização Mundial de Saúde Animal tem um código relacionado com saúde animal de espécies aquáticas e implementa medidas de qualidade e bem-estar nas linhas de produção aquícola, bem como medidas de segurança para trocas/vendas internacionais de animais aquáticos ou derivados. Estas medidas devem ser usadas pelas autoridades competentes de cada país e servem para prevenir e controlar agentes patogénicos e a sua transmissão (OIE, 2016).

### 3. Escolha das Espécies a Produzir

De forma a rentabilizar a produtividade da exploração e a diminuir impactos no bem-estar animal, as espécies a produzir devem ser escolhidas em função do clima e das condições disponíveis. A ocorrência frequente de tempestades, trovoadas ou chuvadas fortes pode alterar os parâmetros ideais da água, aumentando a turvação e o nível de sólidos em suspensão que poderão danificar as estruturas respiratórias dos peixes. Excesso de temperatura e de radiação solar pode diminuir criticamente os níveis de oxigénio dissolvido na água ou até mesmo provocar queimaduras cutâneas nos peixes que, caso inviabilizem o seu consumo, representa impactos económicos para o produtor (Ramos, 2006).

Atendendo a que cada espécie se desenvolve num meio com características específicas (luminosidade, temperatura, parâmetros da água, alimentação, etc...), a sua escolha a nível de produção deve ser criteriosa e baseada em conhecimentos científicos e em estudos de mercado fundamentados e atualizados.

Idealmente, para aquacultura, o *stock* produtivo deve apresentar um crescimento rápido, elevada resistência a patologias, boa aceitação de mercado e fácil manuseamento (alimentação, amostragens, etc...). Além disso, para um sucesso produtivo, é importante que o produtor possua conhecimentos das técnicas de produção e das tecnologias adaptadas a cada espécie (Beveridge, 2004).

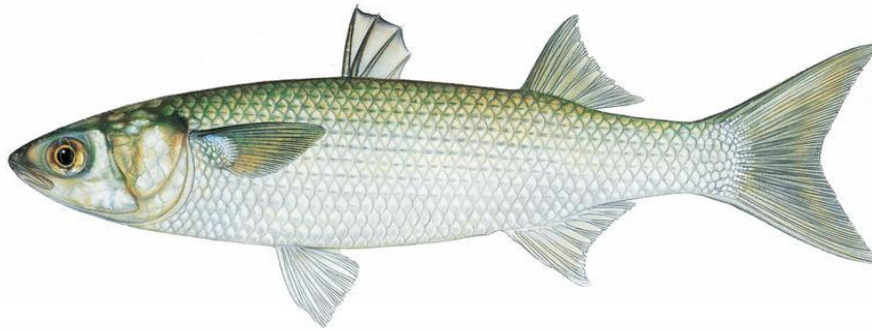
Como foi referido anteriormente, existem diversas espécies com potencial produtivo para a aquacultura em Portugal e por conseguinte torna-se inviável a apresentação de todas elas, no entanto será feita uma abordagem científica daquelas que foram utilizadas para a realização do projeto científico futuramente apresentado.

#### 3.1. Espécies Piscícolas

##### 3.1.1. Tainha (*Mugil cephalus*)

Família: *Mugilidae*; Género: *Mugil*; Espécie: *Mugil cephalus*

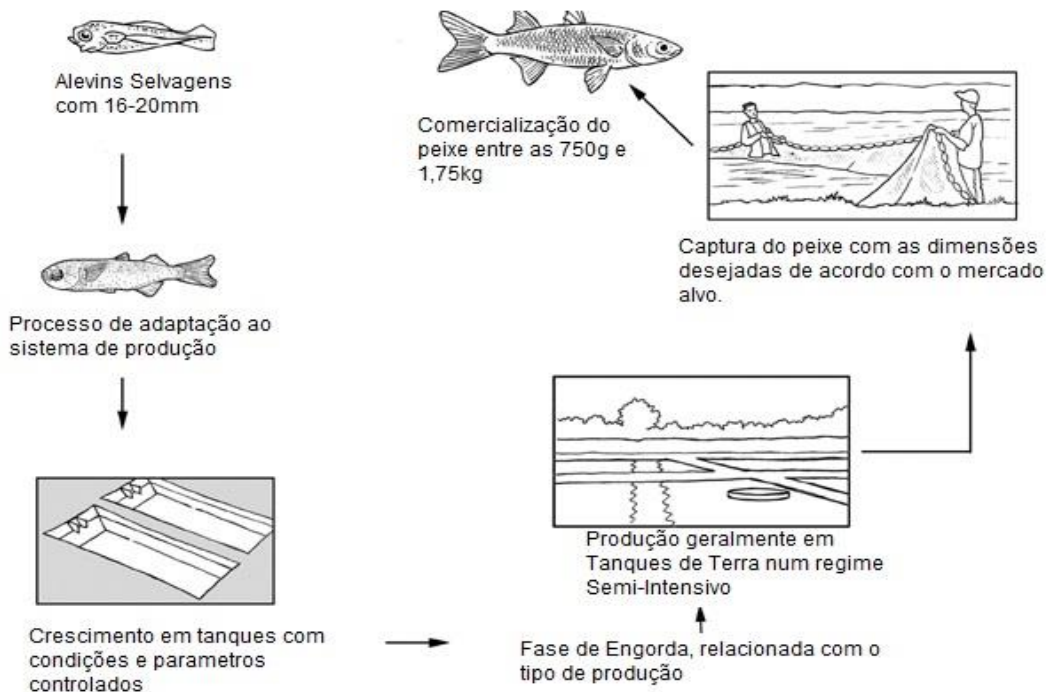
O seu corpo é fusiforme, com pedúnculo caudal forte, possuem duas barbatanas dorsais e cabeça achatada dorso-ventralmente (Figura 3). Os seus hábitos alimentares no ambiente natural (fitoplanctenófago) podem levar ao aparecimento de sabores que se tornam desagradáveis ao consumo humano, desvalorizando comercialmente a espécie, contudo, tem sido aproveitada para produção aquícola (hábitos alimentares controlados), em regimes extensivos e semi-intensivos em diversas partes do mundo (Região Mediterrânica, Sudoeste Asiático, China, Havai, Japão) sendo especialmente popular em Itália. (Harrison e Senou, 1999).



**FIGURA 3: *MUGIL CEPHALUS*. (TOMELLERI, 2016)**

A tainha alimenta-se no período diurno e consome essencialmente zooplâncton, matéria vegetal morta e detritos, desempenhando um papel ecológico muito importante no ciclo biológico das comunidades onde está inserida. A sua alimentação é essencialmente feita por sucção da camada superficial dos sedimentos acumulados no fundo, removendo detritos e microalgas. (Lee, 1987)

A maioria das aquaculturas produtoras de tainha, capturam os juvenis no seu estado selvagem pois o seu ciclo reprodutivo não é facilmente simulável numa aquacultura dedicada à produção, tendo apenas sido descrito em casos experimentais ou numa escala muito limitada de produtores em Itália, Israel e Egito.



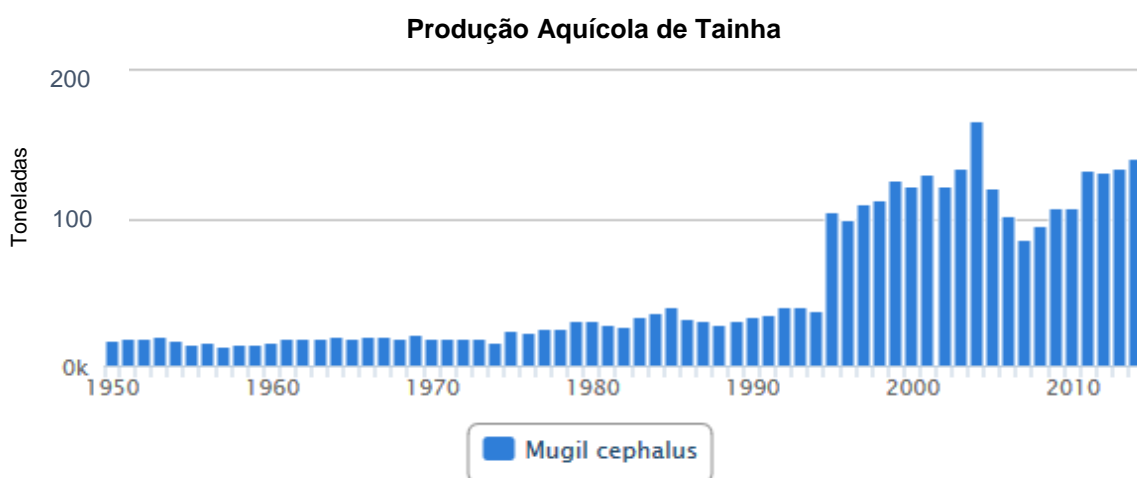
**FIGURA 4: CICLO PRODUTIVO DA TAINHA (*MUGIL CEPHALUS*) EM REGIME SEMI-INTENSIVO. [ADAPTADO DE (FAO, 2016B)]**

Esta espécie é frequentemente utilizada em sistemas semi-intensivos de policultivo e pode ser combinada de forma bem-sucedida com muitas outras espécies.

Em regime de monocultura, a alimentação é natural, baseada em produtos de origem vegetal presentes nos tanques. Num método de policultura a alimentação do tanque é formulada de acordo com as necessidades dietéticas das restantes espécies do tanque (Oren, 1981).

Dependendo da análise do mercado, esta espécie pode ser comercializada entre as 750 g e 1,75 kg, estando o produtor encarregue de uma análise detalhada dos riscos e tempo de crescimento comparativamente ao lucro obtido.

Os custos de produção variam consideravelmente, dependendo do tipo de sistema praticado, área geográfica e da tecnologia aplicada. Entre 1997 e 2003 a produção mundial de tainha passou de 25 para 147 toneladas (Gráfico 11) (FAO, 2016b). Atualmente a visão de expansão para o futuro é limitada atendendo à dificuldade de completar o ciclo de vida do peixe em cativeiro (Figura 4), necessitando de larvas/juvenis selvagens o que representa uma dificuldade grande para os produtores e que está a levar ao decréscimo de investimento nesta produção. A gestão da relação produção/lucro atualmente não se encontra favorável pois o valor comercial da tainha não suporta os entraves produtivos (Oren, 1981), (FAO, 2016b).



**GRÁFICO 11: PRODUÇÃO MUNDIAL DE *MUGIL CEPHALUS* EM TONELADAS. [ADAPTADO DE (FAO, 2016B)]**

### 3.1.2. Dourada (*Sparus aurata*)

Família: *Sparidae*; Género: *Sparus*; Espécie: *Sparus aurata*

O seu corpo tende para um perfil trapezoidal, comprimido lateralmente. As barbatanas peitorais terminam em pontas afiladas e a barbatana caudal é marcadamente bifurcada (não arredondada) (Figura 5) (FAO, 2016c).



**FIGURA 5: *SPARUS AURATA* (FAO, 2016c)**

Esta espécie é essencialmente carnívora e muito raramente herbívora. No ambiente natural a dourada alimenta-se sobretudo por moluscos bivalves, crustáceos, pequenos peixes e, por vezes, matéria vegetal. O tipo de dieta relaciona-se essencialmente com a idade do peixe, sendo que a base da alimentação dos juvenis são poliquetas e crustáceos e a dos adultos são moluscos, crustáceos e equinodermes (Pita *et al.*, 2002).

A produção desta espécie é uma das maiores histórias de sucesso do ramo da aquacultura. O seu rápido crescimento e a sua fácil adaptação aos diversos tipos de regime produtivo tornam a Dourada uma das espécies mais produzidas em todo o mundo. (FAO, 2016c).

Em aquaculturas com a parte do ciclo reprodutivo (como exemplificado na Figura 6), são geralmente mantidos vários grupos de reprodutores agrupados por escalões etários entre machos com idades a partir de um ano e fêmeas que podem chegar até aos cinco anos, mantidos sob condições de reprodução ideais (parâmetros da água, luminosidade e alimentação). A origem dos reprodutores pode ser o estado selvagem ou a proveniência de outras aquaculturas. (Le-Breton, 1996).

A produção de dourada pode ocorrer de várias formas, tanto em tanques de terra costeiros com regimes extensivos ou semi-intensivos, como em jaulas de mar num regime intensivo, havendo muitas diferenças entre métodos principalmente nas densidades praticadas e no regime alimentar. Num regime semi-intensivo em tanques de terra existe uma capacidade de manipulação dos fatores ambientais maior do que num regime intensivo em mar aberto, havendo um controle maior dos parâmetros da água e uma melhor gestão do alimento (Sola *et al.*, 2006).

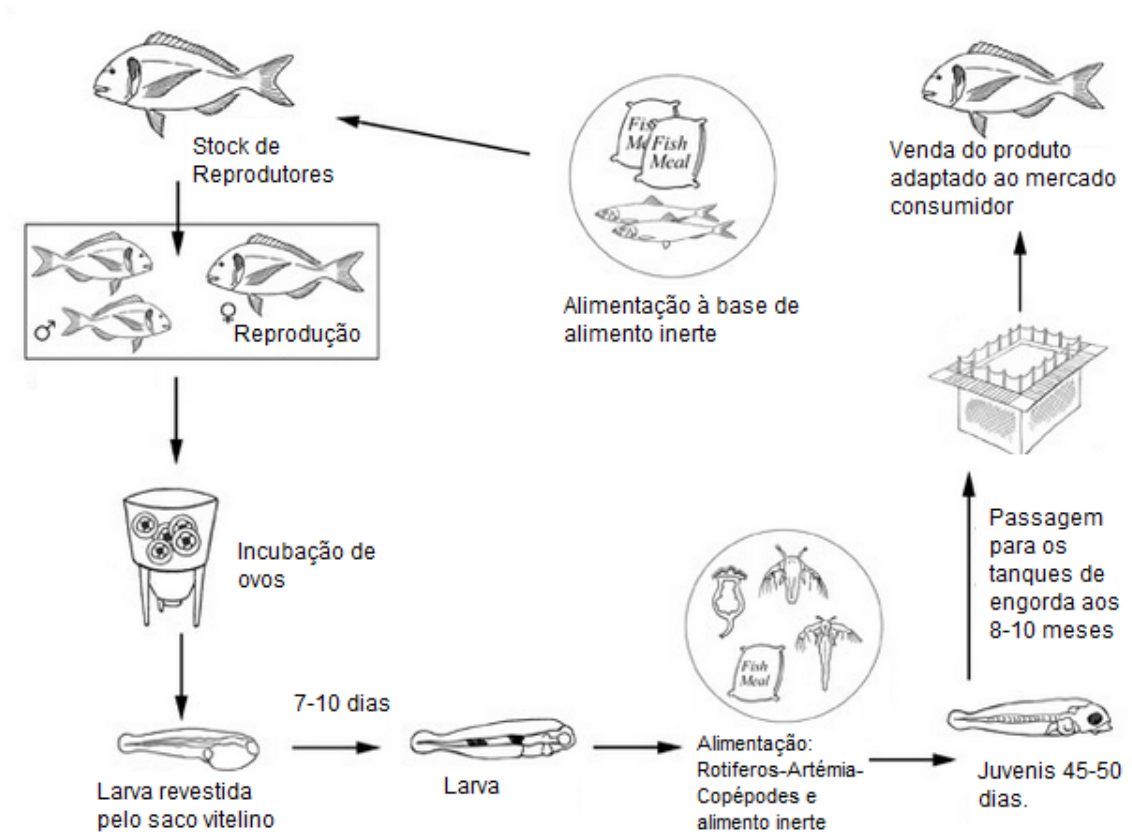


FIGURA 6: CICLO PRODUTIVO DE DOURADA (*SPARUS AURATA*) EM REGIME SEMI-INTENSIVO. [ADAPTADO DE (FAO, 2016c)]

Grande parte da produção ocorre na região Mediterrânea com a Grécia no topo da lista (49%), seguida da Turquia (15%), Espanha (14%) e Itália (6%) mas o maior produtor a nível mundial é Israel com 3% da produção mundial total (Morretti, 1999).

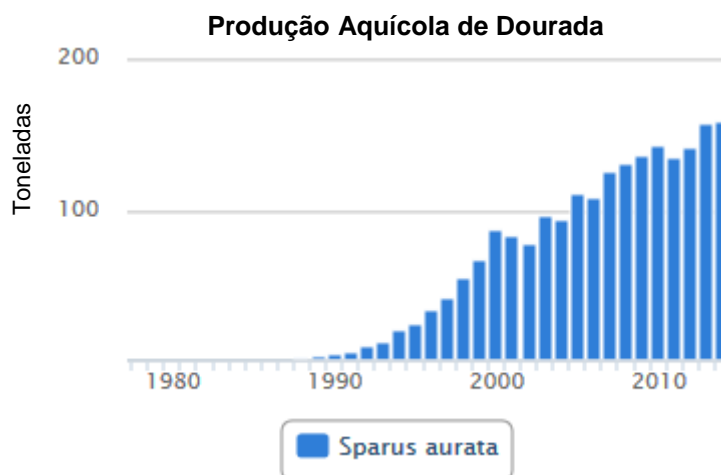


GRÁFICO 12: PRODUÇÃO MUNDIAL DE *SPARUS AURATA* EM TONELADAS. [ADAPTADO DE (FAO, 2016c)]



Atualmente a aquacultura desta espécie está a sofrer alterações deixando de ser uma indústria com grandes margens de lucro com baixos volumes de produção para passar a margens de lucro pequenas e grandes volumes de produção. O desenvolvimento rápido da produção em regimes intensivos nas jaulas de mar levou a um declínio de preços que ainda hoje não estabilizou. Dessa forma, as estratégias de marketing utilizadas passam por uma economia de escala, isto é, produzir em grande quantidade para reduzir o preço de produção por unidade ou, pelo contrário, produzir quantidades muito baixas, mas garantido uma melhor qualidade do peixe. Ainda é possível a aposta em nichos de mercado, apresentando produtos menos comuns (peixes fora da medida convencional, apresentação do produto processado em filetes, etc...). Em 2014 a produção mundial rondou as 158 toneladas (Gráfico 12) (FAO, 2016c).

### 3.1.2. Sargo-Legítimo (*Diplodus sargus*)

Família: *Sparidae*; Género: *Diplodus*; Espécie: *Diplodus sargus*

Tal como a dourada, o sargo é um sparídeo mas são facilmente distinguíveis. O sargo apresenta uma fiada com muitos dentes incisiviformes, proeminentes e duas fiadas de molares. O seu corpo tem a forma característica dos sparídeos e apresenta duas listas negras transversais mais pronunciadas: uma imediatamente a seguir à cabeça e outra na zona do pedúnculo caudal, mas poderá apresentar linhas escuras mais discretas ao longo do corpo (Figura 7) (Bauchot, 1986).

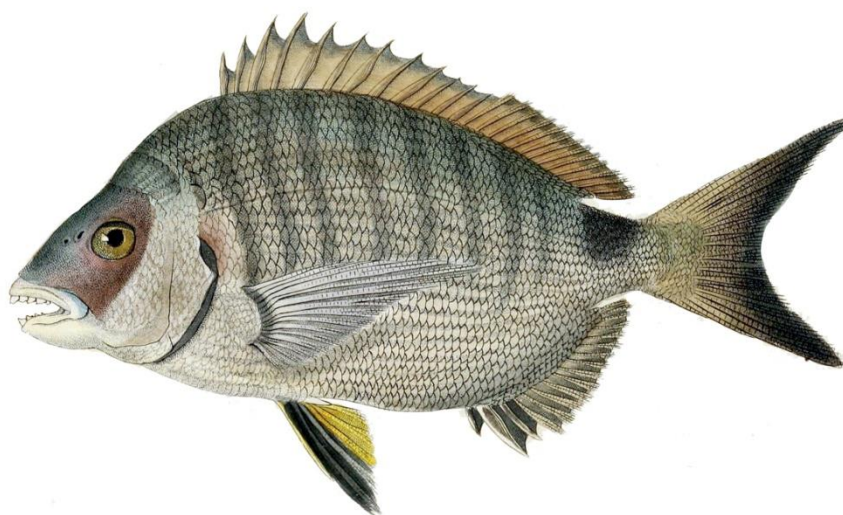


FIGURA 7: *DIPLodus SARGUS*. (FAO, 2016D)

São peixes bento-pelágicos (comportamento demersal), ou seja, apesar de terem capacidade de natação ativa vivem a maior parte do tempo nos fundos rochosos, semi-arenosos, em associação com o substrato.

O seu regime alimentar é omnívoro, alimentam-se de algas marinhas e invertebrados

bentônicos (pequenos crustáceos, moluscos e poliquetas) e o seu potencial a nível de maxilas e dentição permitem-lhe esmagar conchas e corais. Apresentam também um comportamento necrófago, tornando-o numa espécie com grande versatilidade alimentar, favorecendo a sua produção em sistemas de policultivo (FAO, 2016d).

Apesar de terem sido realizadas diversas tentativas para introduzir esta espécie em aquacultura o seu crescimento lento em cativeiro após o primeiro ano de vida e a sua baixa resistência a patologias torna a produção de *D. sargus* pouco rentável (Gonçalves, 2012).

A produção mundial passou de 174 para 13 toneladas entre os anos de 2010 e 2014 (Gráfico 13) (FAO, 2016d).

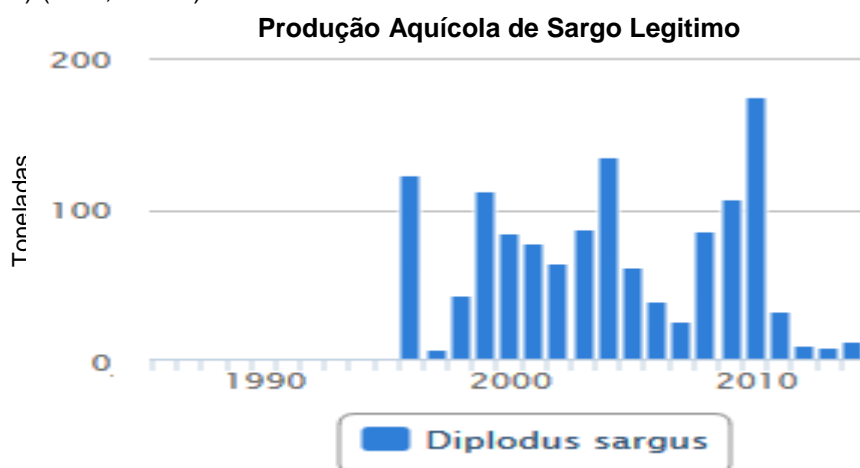


GRÁFICO 13: PRODUÇÃO MUNDIAL DE *DIPLODUS SARGUS* EM TONELADAS. [ADAPTADO DE (FAO, 2016D)].

### 3.2. Espécie de Bivalves

#### 3.2.1 Ostra (*Crassostrea gigas*)

Família: *Ostreidae*; Género: *Crassostrea*; Espécie: *Crassostrea gigas*

*Crassostrea gigas*, também chamada de Ostra do Pacífico, é composta por duas valvas sólidas e rugosas (constituídas essencialmente por carbonato de cálcio) distintas uma da outra sendo a valva superior (direita) plana e a inferior (esquerda) levemente côncava. As valvas estão unidas por um músculo adutor e por um ligamento que permite o seu fecho e abertura (Coutinho A., 2012).

O corpo, de textura mole, encontra-se protegido pelas valvas e é constituído por:

- Manto: Camada de tecido que recobre o corpo (exceto o músculo adutor);
- Tentáculos: Pequenos órgãos sensoriais fixos ao manto que detetam estímulos ambientais.
- Brânquias: Realizam as trocas gasosas (respiração) e servem também para a captura de alimento;
- Palpos labiais;
- Coração (pericárdio);
- Músculo adutor: Liga as duas valvas;

- Massa visceral: Órgãos do aparelho reprodutor, excretor e digestivo;

Na Figura 8 está exemplificada e descrita a anatomia da Ostra. Na Figura 9 é apresentada uma ostra produzida na EPPO, notando-se o perfil côncavo da valva esquerda.

As ostras *C. gigas* são bivalves euritérmicos e eurialinos, ou seja, suportam amplas variações tanto de temperatura como de salinidade respectivamente (para fins reprodutivos os parâmetros são mais específicos) (FAO, 2005).

Apesar da sua resistência às variações do meio ambiente, o seu crescimento, taxa de sobrevivência e qualidade estão diretamente relacionados com as condições ambientais a que a cultura está sujeita (Sarà e Mazzola, 1997).

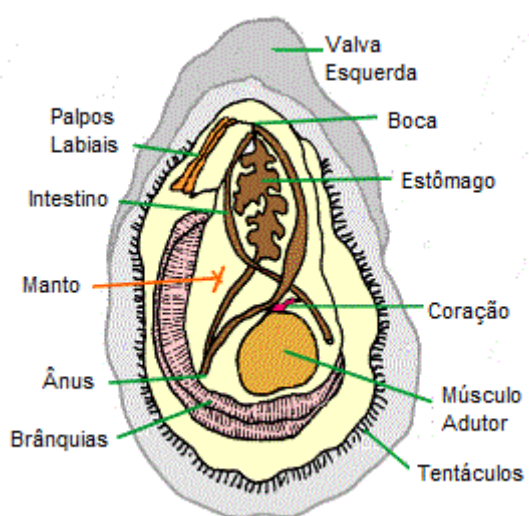
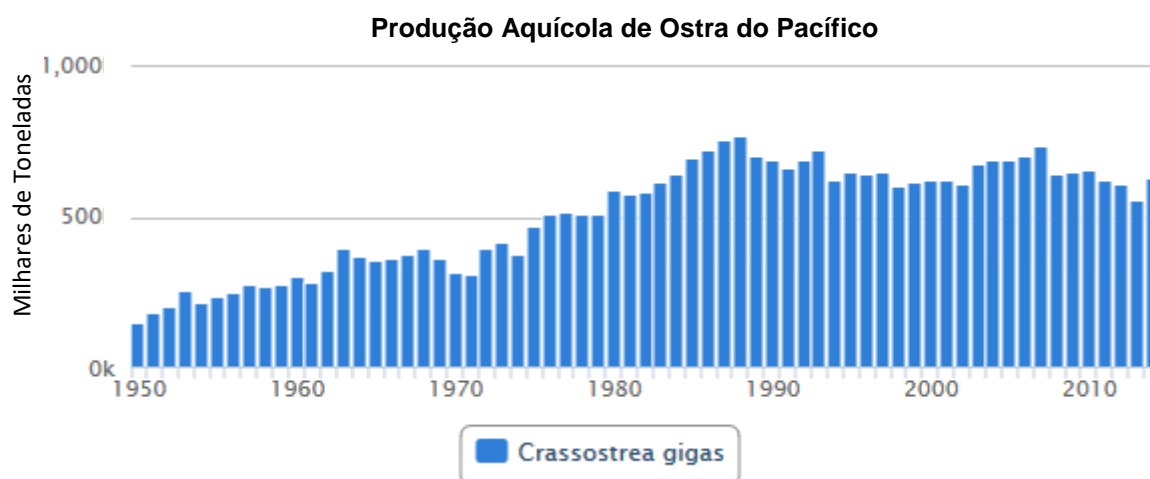


FIGURA 9: *CRASSOSTREA GIGAS* PRODUZIDA NA EPPO.

FIGURA 8: ANATOMIA DA OSTRA. [ADAPTADO DE (AQUACULTURE SHELLFISH ANATOMY, 2016)].

A ostra é um organismo filtrador de rápido crescimento que se alimenta principalmente de fitoplâncton e de matéria orgânica suspensa na água (Martinez-Cordova e Martinez-Porchas, 2006). A sua taxa de filtração pode variar entre cinco a 25 litros/hora (Christo, 2006). A quantidade de alimento ingerido pelas ostras é influenciada pela sua taxa de filtração que é regulada em função da concentração de alimento disponível o que torna esta espécie de nível trófico inferior um potencial para cultivos multitróficos (Foster-Smith, 1975), (FAO, 2005).

A China é o maior produtor de ostra do pacífico, com 84% da produção total, seguindo-se do Japão e da República da Coreia. A França ocupa o quarto lugar dos maiores produtores mundiais e é o único país Europeu a produzir mais de 10 mil toneladas por ano. Como se pode concluir pela análise do Gráfico 14, atualmente as produções anuais rondam as 626 mil toneladas (FAO, 2005).



**GRÁFICO 14: PRODUÇÃO MUNDIAL DE *CRASSOSTREA GIGAS* EM MILHARES DE TONELADAS. [ADAPTADO DE (FAO, 2016E)]**

A preferência por parte dos consumidores pelo produto final vivo limita o mercado global de larga escala. A maior percentagem da produção de cada nação é distribuída para mercados internos ou de países adjacentes para que o produto final seja entregue ao consumidor em perfeitas condições. Os produtos inovadores (ostras congeladas, em vácuo, com diferentes molhos, etc...) começam a surgir, mas como nichos de mercado, e potenciam a distribuição mundial (FAO, 2005).

### 3.3. Macroalgas

As macroalgas, organismos autotróficos, utilizam a luz solar para produzir biomassa mobilizando nutrientes inorgânicos disponíveis no sistema, traduzindo-se numa alternativa de alta viabilidade a nível ambiental e ecológico, diminuindo o impacto dos resíduos, convertendo-os em produtos de valor comercial. Além desse fator as macroalgas podem servir como alimento a diversas espécies podendo traduzir-se em menores investimentos na alimentação externa. Assim, os cultivos integrados de macroalgas e outras espécies tem crescido significativamente a nível mundial (Alencar, 2005).

A escolha da espécie de macroalga a ser utilizada num sistema integrado deve fundamentar-se em diversos critérios:

- Taxa de crescimento;
- Facilidade de cultivo;
- Controle e conhecimento do ciclo de vida/produtivo;
- Necessidade e requisitos para adequação ao meio de cultivo;
- Viabilidade para o cultivo;
- Estudos de mercado, viabilidade financeira, consumidores finais;

Além das referidas vantagens do cultivo de macroalga, é ainda de salientar o seu elevado valor comercial. Devido às suas propriedades gelificantes, estabilizantes e emulsificantes, algumas macroalgas passam a ter um papel muito importante na indústria alimentar, farmacêutica, biotecnológica e na agricultura (Cruz-Suárez *et al.*, 2010).

Como se pode comprovar pela análise do Gráfico 9 apresentado no capítulo “1.2. Estado Mundial da Aquacultura” presente neste relatório, atualmente a produção mundial de algas marinhas ronda os 25 milhões de toneladas (FAO, 2016a).

### 3.3.1 *Ulva (Ulva lactuca)*

Família: *Ulvaceae*; Género: *Ulva*; Espécie: *Ulva lactuca*

A sua coloração é verde brilhante, ligeiramente translúcida (Figuras 10 e 11) e pode atingir até 25cm (Marfaing e Lerat, 2007).



**FIGURA 10: *ULVA LACTUCA*. (LINDBERG, 2003).**

**FIGURA 11: *ULVA* REMOVIDA DE UM TANQUE DE TERRA DA EPPO NO DECORRER DO ENSAIO EM IMTA.**

As espécies de *Ulva* já são produzidas para consumo humano no continente asiático há algumas dezenas de anos, mas só a partir de 1990 é que foram autorizadas para consumo humano em países do continente Europeu (Marfaing e Lerat, 2007).

Em diversas partes do mundo esta alga tem sido produzida em sistemas piloto incluindo sistemas multitrofos onde a *Ulva* é combinada com espécies de animais marinhos. A principal razão para a ampla utilização/produção mundial de espécies de *Ulva* é a capacidade deste género se desenvolver e prosperar naturalmente em ambientes estuarinos ou marinhos (abrigados) sem que para isso tenha de estar fixa. O rápido crescimento potencia uma obtenção rápida de elevadas biomassas e por conseguinte dos produtos derivados (nutrientes) e do produto final, o que torna este género de alga um perfeito candidato para produção aquícola, independentemente do sistema produtivo (Bolton, 2009).

#### 4. Critérios de Avaliação Médica

Como em todos os sistemas de produção animal, a aquacultura é também afetada por problemas de saúde dos animais, em parte, provocados pela sua intensificação e a globalização.

A intensificação dos sistemas de produção (com aumento das densidades populacionais praticadas), introdução de novas espécies para produção, mercados globais de trocas de produtos, mistura de espécies selvagens com espécies de linhagem aquícola, fracas medidas de biossegurança, lenta atuação na identificação e resolução em casos urgentes (epidemias), mudanças climáticas bruscas, falhas dos sistemas de produção, são alguns dos fatores que contribuem de forma negativa para o critério de saúde e bem estar nesta indústria (FAO, 2016e).

Monitorização e vigilância são os termos usados para caracterizar o estado de doença ou de bem-estar em populações, incluindo peixes.

**Monitorização** é o conjunto de ações que envolve a recolha e o registo de dados médicos, ou de estados de doença, num período de tempo definido. Por norma, estas informações são recolhidas através de procedimentos rotineiros/comuns de operação e requerem pouca interferência com a população. São exemplos de medidas de monitorização:

- Registo de mortalidade diária;
- Registo de comportamentos alterados;
- Medição dos parâmetros ambientais: temperatura da água, pH, salinidade, saturação de oxigénio, turbidez, etc...;
- Investigações de rotina como necropsias de peixes mortos ou moribundos;

Os procedimentos de monitorização são geralmente simples de efetuar, não apresentam elevados custos e são uma ferramenta de anamnese pela diversidade de dados da história clínica que se podem obter (Midtlyng *et al.*, 2000).

**Vigilância** é o conceito usado para descrever as atividades nas quais o investigador interfere ativamente na população em estudo, com determinado propósito. Os estudos de vigilância geralmente são de observação analítica, onde um número de animais é aleatoriamente selecionado para ser intervencionado em medidas de diagnóstico e avaliação. Os resultados destes estudos por norma podem ser processados estatisticamente e utilizados para classificar a população como um grupo.

As amostragens de rotina para verificar a ausência de agentes patogénicos ou para avaliar a prevalência/evolução de determinada patologia num grupo definido de indivíduos são consideradas medidas de vigilância.

Esta informação serve não só para otimizar o sistema no que toca ao controle do estado de saúde dos animais como também para avaliar o impacto económico das patologias, representando menos riscos para falhas de produção. Contudo, as amostragens frequentes e aleatórias para detetar patologias latentes ou de baixa prevalência requerem um número elevado de análises e por conseguinte representam custos superiores às medidas de monitorização (Midtlyng *et al.*, 2000).

De forma a obter um conhecimento mais realista e aproximado do estado de saúde dos animais em linha de produção, as informações devem ser constantes e recolhidas tanto de medidas de monitorização como de vigilância (Midtlyng *et al.*, 2000).

#### 4.1. Anamnese e história clínica

Independentemente do motivo da análise, deve ser feita uma boa compilação e registo de todos os dados clínicos para que os resultados possam ser devidamente analisados (Roque, 2010):

- Sistema de cultivo (offshore/inshore, policultivo/monocultivo, multitrófico/monotrófico, intensivo/semi-intensivo, etc...);
- Fase do ciclo produtivo (maternidade, juvenis, engorda, reprodutores...);
- Historial de doenças e de tratamentos;
- Dados dos indivíduos analisados: espécie, idade, tamanho, peso, alteração de comportamentos, demonstração de sinais clínicos e resposta ao alimento;
- Regime alimentar;
- Evolução dos parâmetros ambientais (parâmetros da água e condições climatéricas que possam interferir na produção).

#### 4.2. Hematologia

A hematologia é uma ferramenta clínica que permite realizar o diagnóstico de diversas patologias e que pode atuar como um indicador pronóstico de condições adversas no estado de saúde dos peixes de uma aquacultura (Satake *et al.*, 2009).

À exceção do tecido epitelial e cartilaginoso, nas espécies piscícolas, o sangue banha todos os tecidos orgânicos, sendo por isso um ponto de avaliação estratégico. Atualmente a hematologia clínica tem sido utilizada para diversos fins científicos como pesquisa de hemoparasitas, necessidades nutricionais/vitamínicas/minerais adaptadas a cada espécie, estudos de toxicologia, etc... Dependendo do objetivo de estudo, a análise pode ser feita em peixes saudáveis ou doentes e a amostra é variável (Ishikawa *et al.*, 2010).

##### 4.2.1. Colheita de sangue em peixes

De forma a minimizar o mau estar animal, a colheita sanguínea deve ser realizada no mínimo tempo possível e com o maior grau de eficácia. Falhas na punção do animal ou excesso de manipulação do animal (fator de *stress*) podem comprometer os parâmetros sanguíneos a avaliar. Após a captura do animal que deve ser feita com o maior cuidado possível para que, caso seja essa a finalidade, o peixe possa ser reintroduzido ao cultivo com menores riscos de morte ou lesões, é iniciado o plano de contenção que deve ser auxiliado com recurso a um pano húmido para cobrir os olhos, acalmando o peixe. Entre diferentes acessos existentes, a venopunção de vasos localizados na região caudal, próximo do poro anal, tem sido a mais

explorada uma vez que a coluna vertebral orienta a localização do vaso sanguíneo.

É necessário utilizar uma seringa com agulha, previamente preparada com anticoagulante (EDTA 3%) e a penetração deve ser feita com uma angulação de 45°, próximo do poro anal, em direção à região ventral da coluna vertebral. No momento da canulação do vaso sanguíneo deve-se evitar a pressão negativa desnecessária de forma a preservar as células sanguíneas.

Após a colheita, a agulha deverá ser removida da seringa e o acondicionamento da amostra sanguínea deverá ser feito em microtubos apropriados e devidamente preparados (Ishikawa *et al.*, 2010),

#### 4.2.2. Acondicionamento do sangue

Mal se acabe a colheita de sangue, os microtubos com as amostras sanguíneas devem ser imediatamente armazenados sob refrigeração (entre 5°C e 7°C) o que torna crucial a presença de uma caixa térmica com gelo (ou algo similar que tenha o mesmo efeito). É fundamental impedir que ocorra a congelação de amostras que se traduzirá em rutura de células sanguíneas no momento da descongelação (Ishikawa *et al.*, 2010).

#### 4.2.3. Hematócrito

Nesta etapa, deverá ser utilizado um tubo capilar de hematócrito para recolha de uma pequena quantidade de sangue do microtubo, sendo seguidamente selado com uma espécie de plasticina e colocado numa centrífugadora de microhematocrito durante cinco minutos a 10.000 rotações por minuto (rpm).

O hematócrito é usado para determinar o volume de células sanguíneas num volume de sangue total e normalmente os valores rondam os 30-35% em animais adultos (peixes marinhos), podendo variar ligeiramente com a espécie. Nos peixes, o resultado obtido no hematócrito está muito dependente do *stress* a que o animal foi exposto durante o processo de recolha de sangue.

O hematócrito de um peixe saudável e de um medicamento comprometido pode apresentar grandes variações sendo um importante alerta de situações patológicas. Valores abaixo de 20% são considerados indicativos de anemia (Midtlyng *et al.*, 2000).

#### 4.2.4. Esfregaço sanguíneo

Deve ser realizado mal se acaba a colheita sanguínea.

Para a preparação dos esfregaços sanguíneos é colocada uma gota de sangue fresco (preferencialmente sem anticoagulante) na extremidade de uma lâmina limpa e desengordurada e, com a ajuda de uma segunda lâmina apoiada nesta, posicionada num ângulo de 45°, faz-se a espalhagem da gota procedendo ao deslize de uma lâmina sobre a outra num movimento firme e contínuo até à extremidade oposta da lâmina. Seguidamente as lâminas são coradas e passam por um processo de fixação.



A finalidade dos esfregaços sanguíneos é a contagem diferencial de células sanguíneas e a pesquisa de hemoparasitas (Caprette, 2012).

#### 4.3. Técnicas de sacrifício do peixe

A menos que apenas se pretenda a avaliação de parâmetros externos ou hematológicos, é necessário sacrificar os indivíduos. Independentemente das técnicas utilizadas, o objetivo principal será sempre evocar o mínimo de dor, sofrimento e *stress* no animal.

A menos que esteja comprovado que a anestesia pode interferir nos resultados e conclusões da pesquisa, os animais devem sempre ser anestesiados previamente antes da manipulação (CONCEA, 2013).

Existem diversas formas de sacrificar os animais e a escolha da técnica deve ser baseada no tipo de análises a realizar (Roque, 2010):

- Overdose anestésica;
- Sangramento após anestesia;
- Corte da espinal medula ou decapitação;
- Choque térmico (pouco comum em casos de análises clínicas);

No presente trabalho apenas será abordada a técnica utilizada no protocolo do projeto apresentado.

##### 4.3.1. Corte da espinal medula

Este método é vantajoso do ponto de vista em que não contamina o material biológico a ser utilizado, é um método rápido e os custos de execução são baixos uma vez que não são utilizados materiais consumíveis. Pelo contrário envolve manuseamento e a contenção dos animais que se revela *stressante*, apresentando-se como uma desvantagem evidente.

Preferencialmente deve-se fazer um uso prévio de anestesia, exceto se interferir com os resultados a obter (como é o caso da análise parasitológica e microbiológica), sendo um método apenas utilizado quando as condições de pesquisa em que os objetivos de estudo não permitem outro procedimento de eutanásia (CONCEA, 2013).

O método é simples e requer apenas uma faca em perfeitas condições de uso: lâmina bem afiada e desinfetada que será utilizada para efetuar a secção da espinal medula na zona dorsal, caudalmente ao crânio, onde serão também seccionados vasos sanguíneos, sangrando o animal (CONCEA, 2013).

#### 4.4. Anatomia patológica

O material para realizar o exame *post mortem* deve estar devidamente preparado e organizado antes do sacrifício do peixe uma vez que a autólise celular começa com a morte do animal e os

tecidos dos animais naturalmente sujeitos a água do mar iniciam o processo de autólise muito rapidamente quando sujeitos à temperatura ambiente de um laboratório. Pelo mesmo motivo, idealmente o sacrifício e a análise anátomo-patológica devem ser feitos num peixe de cada vez (Midtlyng *et al.*, 2000).

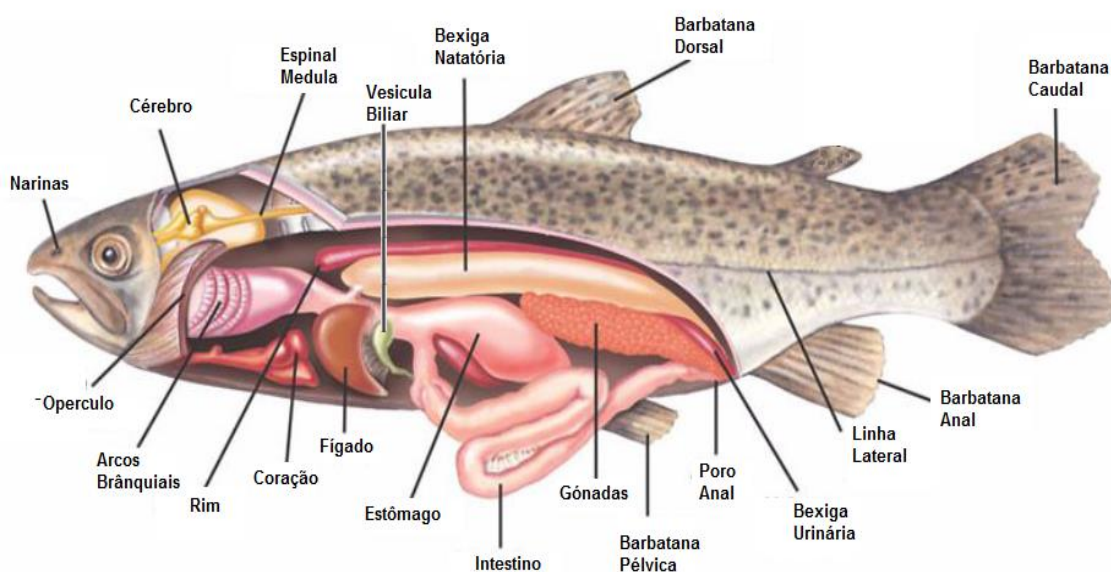
#### 4.4.1. Exame externo

Deve ser realizada uma observação detalhada da pele em busca de ectoparasitas e devem ser imediatamente removidos os arcos branquiais para análise parasitológica, se houver esse objetivo.

Na observação do estado externo do animal, além da observação geral, são avaliadas detalhadamente as várias estruturas anatómicas como olhos, boca, barbatanas e ânus em busca de lesões, deformações anatómicas ou sinais indicativos de patologias (Midtlyng *et al.*, 2000).

#### 4.4.2. Exame interno

Na prática comum da necropsia de um peixe, este deve-se apresentar em decúbito dorsal direito, com a cabeça para o lado esquerdo. Nesta posição, as branquias, os órgãos internos e os músculos podem ser expostos após a correta dissecação. Com a ajuda de pinças, tesouras e bisturis, deve ser aberta “uma janela” de forma trapezoidal, como está evidenciado na Figura 12, que é feita através de um corte ventral desde o poro anal até à região do opérculo, cortando-o numa direção diagonal de quase 45° até atingir a zona da linha lateral por onde segue a incisão até ao poro anal. Desta forma, toda a região torácica e abdominal fica exposta e os órgãos internos devem ser inspecionados, avaliando os padrões de coloração, textura, tamanho e sinais de patologia: focos hemorrágicos, edemas, granulomas, neoplasias ou até mesmo parasitas (Midtlyng *et al.*, 2000).



**FIGURA 12: LEGENDA DAS ESTRUTURAS ANATÔMICAS EXTERNAS E DOS ÓRGÃOS INTERNOS, APÓS DISSECAÇÃO DE UMA TRUTA-ARCO-ÍRIS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*). [ADAPTADO DE (OREGON STATE UNIVERSITY, 2016)]**

#### 4.5. Parasitologia

A análise parasitológica é também uma avaliação clínica fundamental tanto para avaliação de rotina como para diagnóstico e identificação de agentes causadores de doença ou mortes.

De forma a fazer uma abordagem mais geral, a avaliação deve começar por ser externa (ectoparasitas) e, se requerido, procede-se à pesquisa de parasitas internos ou hemoparasitas, cumprindo as normas de assepsia, combinando com análises microbiológicas, histológicas e hematológicas (Frimeth, 1994).

Para que os resultados obtidos sejam o mais realistas possível, uma vez que a identificação e contagem de parasitas está muito dependente do grau de frescura do hospedeiro, a análise deve ser o mais aproximada do momento de sacrifício e, caso não seja possível uma avaliação imediata, o peixe sacrificado deve ser colocado em gelo (sem congelar).

O sedimento que fica presente nas caixas de transporte do peixe vivo, de onde são coletados para o momento do sacrifício e início das análises, pode também ser analisado para pesquisa de ectoparasitas que se tenham libertado ou endoparasitas que tenham sido expulsos pelo ânus (Frimeth, 1994).

##### 4.5.1. Avaliação parasitológica externa

Após a morte do animal e a sua colocação em decúbito dorsal direito, inicia-se a procura de ectoparasitas macroscópicos e para tal, deve-se examinar detalhadamente toda a superfície corporal incluindo boca, olhos, narinas, barbatanas e guelras/arcsos branquiais. Apenas para uma observação externa de ectoparasitas não é necessário a dissecação do animal.

Seguidamente, com a ajuda de uma pinça e de uma tesoura, o opérculo é levantado e, à vez, são cortados os dois primeiros arcsos branquiais, sendo cada um deles colocado em lâminas individuais limpas e desengorduradas. Com a tesoura ou com o bisturi, os filamentos do arco branquial devem ser separados do arco cartilágneo (que será descartado) e espalhados ao longo da lâmina, hidratados com umas gotas de água (do tanque de onde provieram os animais) para evitar que os filamentos sequem e os parasitas morram, dificultando a contagem (Frimeth, 1994).

##### 4.5.2. Avaliação parasitológica interna

Geralmente é associada aos restantes tipos de análises médicas e requer a dissecação do peixe (utilizando a mesma técnica acima descrita). A pesquisa de endoparasitas macroscópicos torna-se coincidente com a análise de órgãos internos numa avaliação anátomo-patológica. Se o objetivo do estudo for a identificação de endoparasitas microscópicos, as técnicas utilizadas são microbiológicas ou histopatológicas (Frimeth, 1994), (Midtlyng *et al.*, 2000).

#### 4.6. Microbiologia

Os peixes estão em contacto íntimo e permanente com o seu meio ambiente, por conseguinte, estão permanentemente expostos a variados agentes externos perigosos (bactérias anaeróbias/aeróbias, vírus, parasitas, toxinas, poluentes, etc...) que deverão ser prevenidos ou intervencionados, usando-se para isso a avaliação microbiológica. (Benhamed *et al.*, 2014).

De acordo com o propósito da pesquisa microbiológica (isolamento e identificação de fungos, bactérias ou parasitas) tanto para avaliar o panorama geral do estado de saúde dos animais como para identificar agentes patogénicos específicos, podem ser adotados diversos métodos e técnicas que diferem não só nas amostras recolhidas como nos meios de cultura, material e formas de análise (Midtlyng *et al.*, 2000).

##### 4.6.1. Meios de cultura

Os meios de cultura podem ser gerais (onde crescem variados tipos de microrganismos), seletivos (onde crescem microrganismos específicos) e ainda diferenciais, quando pela análise dos resultados é possível distinguir colónias (Roque, 2010).

TCBS (Tiosulfato-citrato-bilis-sacarose) é um meio seletivo, permitindo o crescimento de determinados grupos de bactérias: *Vibrionaceas*.

CN Pseudomonas Agar é um meio seletivo, permitindo o crescimento de determinados grupos de bactérias: *Pseudomonas*.

TSA (Trypticase-soy-agar) é um meio geral, não seletivo onde crescem diversas bactérias marinhas.

##### 4.6.2. Análise do muco

De forma a proteger o peixe dos microrganismos patogénicos, a epiderme e a sua secreção, o muco, funcionam como uma barreira. Os peixes estão cobertos por uma camada de muco que é considerada a primeira barreira física, química e biológica à infeção, onde ocorre o primeiro contacto entre as células da pele e o agente.

A composição do muco é muito complexa e inclui numerosos fatores antibacterianos (imunoglobulinas, aglutininas, lectinas, lisinas e lisozimas), que têm a tarefa importante de discriminar os microrganismos comensais dos patogénicos.

A remoção do muco é feita com a ajuda de uma pequena espátula preferencialmente descartável que pela raspagem da superfície do corpo, sem provocar lesões, acumula muco, que será diluído e inoculado em placas previamente preparadas com meios de cultura (dependendo do objetivo) que serão colocadas na estufa durante um período de tempo e temperatura conhecida. (Benhamed *et al.*, 2014).

#### 4.7. Histologia

A examinação histológica de microestruturas dos tecidos é, por variadas razões, uma ferramenta fundamental para o diagnóstico de estados patológicos em peixes.

Esta análise fornece informação detalhada sobre a constituição e aparência das diferentes estruturas e tipos celulares de tecidos, permitindo distinguir situações patogénicas e até mesmo evidenciar situações patognomónicas. A relação entre a identificação de parasitas, fungos e bactérias com as lesões patológicas provocadas, permite decifrar a associação do agente infeccioso e a doença.

Outra grande vantagem desta técnica é a longevidade das suas preparações que podem ser utilizadas para pesquisa e investigação anos ou mesmo décadas após a realização da técnica, sem perderem validade (Midtlyng *et al.*, 2000).

### 5. Parasitologia em aquacultura

Os habitats aquáticos oferecem condições ideais para que se complete o ciclo de vida do parasita levando a que, mesmo no estado natural, as espécies piscícolas raramente se apresentem livres de infeções.

No conceito de parasita, pela sua definição, está implícita uma ação prejudicial nos seus hospedeiros, provocando danos de escala variável conforme a carga e espécie parasitária, mas também atendendo às características do hospedeiro: idade, sexo, estado nutricional e imunitário, etc... (Barber, 2007).

A aquacultura tem sido um importante vetor na introdução, transferência e propagação de parasitas e respetivas patologias provocadas.

As causas são multifatoriais e relacionam-se não só com os próprios indivíduos, mas também com o meio ambiente e sistema de produção em que estão inseridos. Quanto maior for a intensidade de produção e, portanto, a densidade populacional praticada, maior é o risco de ampliação dos processos patológicos.

As alterações no estado de saúde animal por infeções parasitárias podem comprometer a aceitação dos produtos para consumo humano e, por conseguinte, causar graves impactos económicos nas explorações aquícolas. De maior gravidade é de salientar a possibilidade de propagação para outras explorações ou até mesmo a contaminação do próprio meio ambiente natural que rodeia a exploração, gerando situações de epidemias e graves impactos na saúde pública (SeaWeb, 2005).

#### 5.1. Relação Peixe/Parasita

Cargas parasitárias elevadas podem induzir mortalidade. A presença de ectoparasitas nos arcos branquiais interfere nas trocas gasosas e iónicas, comprometendo os processos

respiratórios. Pelo mesmo princípio, a presença de parasitas internos pode afetar as funções anátomo-fisiológicas de diversos órgãos vitais (Wang *et al.*, 2009).

No estado natural, de forma geral, os peixes têm alguma capacidade de procurar diferentes condições ambientais que lhes sejam mais vantajosas desde parâmetros da água a disponibilidade de alimento. Contudo, numa produção aquícola essa oportunidade está muito limitada e é por esse motivo que, numa perspectiva de saúde e bem-estar animal, as condições praticadas sejam o mais naturais possível e que cumpram os requisitos das espécies produzidas.

Sistemas de produção de maior complexidade (policultivos ou cultivos multitróficos), onde há partilha do mesmo ambiente por várias espécies, podem fornecer as condições ideais para que o ciclo de vida de determinados parasitas se complete (espécies de crustáceos e moluscos, além da possibilidade de agirem como reservatório do agente podem assumir o papel de hospedeiro intermediário em ciclos parasitários) (Ronald, 2012).

Quando os organismos aquáticos se encontram intensamente parasitados ou com lesões profundas, alterações do comportamento e demonstração de sinais clínicos, dificilmente recuperam a sua normalidade com tratamentos. É, portanto, fundamental (Luque, 2004):

- Aplicar medidas de monitorização e vigilância;
- Evitar transmissão do agente patológico (medidas apropriadas para a manipulação de animais parasitados como quarentena e desinfecções de material e tanques).
- Fazer uma identificação correta do parasita, para que se possa obter o máximo de informação relativa às suas características, ciclo de vida, modo de atuação e tratamentos, permitindo uma atuação tão urgente quanto a necessária.

## 5.2. Tipos de parasitas

Estes microrganismos podem ser divididos em vários tipos (Rohde, 2005):

- Ectoparasitas/Endoparasitas. Conforme vivam na superfície ou no interior do hospedeiro, respetivamente;
- Obrigatórios/Facultativos. Quando um parasita necessita do hospedeiro para completar grande parte do seu ciclo de vida, é considerado obrigatório. Em casos que o parasita sobrevive no meio ambiente a grande maioria do ciclo de vida, é facultativo;
- Temporário/Permanente. Quando a infeção no hospedeiro é de curta duração, são parasitas temporários e quando os hospedeiros ficam infetados por muito tempo (geralmente parasitas do trato digestivo), são considerados permanentes;
- Larvares. São aqueles que apenas são considerados parasitas na sua forma larvar;
- Micro/Macroparasitas. Os microparasitas são pequenos (não visíveis a olho nu), reproduzem-se no hospedeiro e o ciclo de vida é rápido e curto. Os macroparasitas são visíveis a olho nu, não se reproduzem no hospedeiro e têm um ciclo de vida mais longo.

### 5.3. Grupos de parasitas em aquacultura

À semelhança dos outros hospedeiros vertebrados, os peixes também apresentam uma fauna parasitária própria que inclui numerosas espécies organizadas em grupos.

A incidência dos diferentes grupos de parasitas está relacionada com diversos fatores tanto ambientais (localização geográfica, parâmetros da água, etc..) como do próprio indivíduo e das características da espécie (Luque, 2004).

Os parasitas marinhos podem ser divididos em quatro grandes grupos (Rohde, 2005):

- Protistas e Myxozoa;
- Helmintas;
- Crustáceos;
- Grupos menores e fósseis;



**GRÁFICO 15: ESQUEMA REPRESENTATIVO DE ALGUNS ECTOPARASITAS FREQUENTEMENTE ENCONTRADOS NUMA AQUACULTURA PORTUGUESA, DIVIDIDOS POR GRUPOS.**

No presente trabalho apenas será abordada uma pequena quantidade de agentes parasitários (que representam uma pequena parte dos parasitas marinhos) e que podem ser encontrados numa aquacultura Portuguesa (Gráfico 15). A sua escolha tem relação direta com o trabalho desenvolvido no projeto futuramente apresentado.

#### 5.4. Monogenea

São ectoparasitas *Platyhelminthes* e pertencem ao grande grupo dos Helmintas.

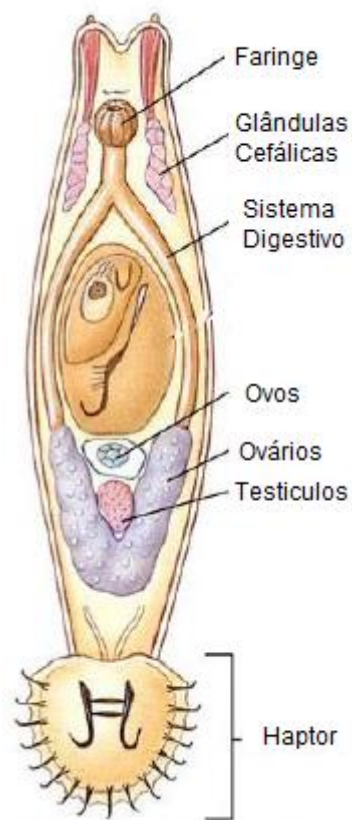
Como agentes de doenças em peixes, são uma ameaça à economia aquícola com bastante relevância, uma vez que podem atingir elevadas densidades rapidamente e causar grandes impactos na saúde e bem-estar dos animais (ou até morte), originando perdas económicas.

O seu ciclo de vida é direto (apenas um hospedeiro) e possuem estruturas de fixação características designadas haptor. Localizam-se preferencialmente nas brânquias, mas podem ser encontrados nas narinas, olhos e um pouco por toda a superfície corporal do peixe, provocando lesões nos tecidos. A sua patogenicidade está relacionada com o grau de intensidade parasitária e os efeitos provocados no animal: anorexia (perda de condição associada), alteração dos comportamentos por *stress*, aumento de produção do muco, hemorragias cutâneas ou branquiais, hiperplasia nos arcos branquiais e em casos mais graves, morte. Infecções menos intensas serão sempre potenciais fatores para que surjam infecções secundárias (Luque, 2004). A presença de alguns monogéneos num peixe adulto saudável geralmente não tem significado médico, contudo, níveis moderados ou elevados já são um sinal de alerta (Reed *et al.*, 2009).

Nesta classe, os parasitas são hermafroditas, possuindo estruturas anatómicas masculinas e femininas (ver Figura 13) e podem ser ovíparos (os ovos são libertados e eclodidos na água, fixando-se ao hospedeiro apenas na fase adulta) ou vivíparos (os parasitas libertam formas larvares que podem parasitar o mesmo hospedeiro ou passar para outro através da água).

Os parasitas monogénicos têm um tempo de sobrevivência curto após a morte do seu hospedeiro, portanto a sua pesquisa deve iniciar-se logo após o sacrifício (ou morte natural). A melhor forma de diagnosticar é pela avaliação microscópica dos filamentos dos arcos branquiais devidamente preparados em lâminas.

A correta identificação da família do parasita é essencial para que o tratamento seja adaptado e o mais eficiente possível (Reed *et al.*, 2009).



**FIGURA 13: REPRESENTAÇÃO DAS ESTRUTURAS ANATÓMICAS DE UM PARASITA PERTENCENTE À CLASSE MONOGENEA (GYRODACTYLUS OLSONI) (OSWALD, 2015).**



#### 5.4.1. *Diplectanum spp*

Pertencente à família Diplectanidae da classe Monogenea está descrito como um dos parasitas encontrados em corvinas e em tainhas na costa atlântica de Portugal e existem 11 espécies diferentes.

Na natureza a sua patogenicidade não é elevada, contudo, em aquacultura há vários casos associados a mortalidades, tendo sido relacionados com as grandes densidades populacionais e o *stress* provocado pelas manipulações (rotinas de produção), que compromete o sistema imunitário do animal, facilitando também a ocorrência de infeções secundárias de origem bacteriana (Andree *et al.*, 2016).

São encontrados fixados às brânquias dos hospedeiros e, dependendo da sua carga, podem causar hemorragias e hiperplasia nos arcos branquiais, comprometendo as trocas gasosas (Ronald, 2012).

Anatomicamente, têm um sistema digestivo simples constituído pela boca, faringe e intestino, sem abertura terminal (ânus). Os órgãos sensoriais e tecidos nervosos estão posicionados na zona da cabeça. A sua identificação anatómica é feita por quatro pontos negros presentes ao longo do corpo (presentes em outros géneros da mesma classe) e pelas estruturas que constituem o órgão haptor: dois *Squamodiscus* posicionados dorsal e ventralmente e sete pares de ganchos simétricos (Franco *et al.*, 2008).

#### 5.5. Dinoflagelados

São Protozoários (pertencem ao grupo dos Prostistas) e incluem-se no subfiló Mastigophora.

Denominam-se flagelados por se locomoverem usando a propulsão flagelar. A sua morfologia é distinta de acordo com a espécie e, atualmente já foram reportadas mais de 4000 espécies diferentes das quais apenas 140 foram identificadas em peixes.

Muitas espécies possuem pigmentos de cor que se tornam neurotóxicos para mamíferos marinhos quando atingem concentrações elevadas nos tecidos do peixe (Rohde, 2005).

##### 5.5.1. *Amyloodinium ocellatum*

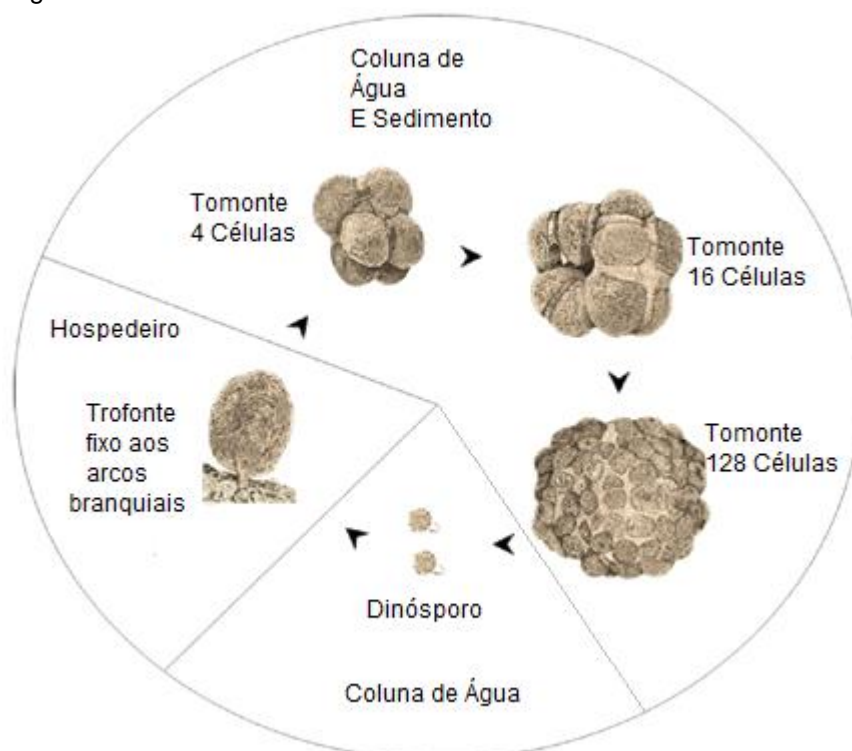
É um dinoflagelado obrigatório pouco específico para o hospedeiro, podendo ser encontrado em diversos tipos de ambientes e em diversas espécies piscícolas, incluindo peixes ornamentais. O seu impacto é tão grande que já foi responsável por graves casos de epidemias em diversas zonas do globo.

A infestação por *A. ocellatum* está dependente do hospedeiro, mas principalmente dos fatores abióticos como temperatura e salinidade da água, concentração de oxigénio e níveis de nitrogénio (Floyd e Floyd, 2011). Os meses de verão são considerados críticos, pois as infestações decorrem essencialmente nesse período, em que a temperatura da água é superior (Pereira *et al.*, 2011).

A sua presença é bastante temida em regimes de produção semi-intensivos no sudoeste Europeu devido às grandes mortalidades em peixes a que está associado e, desde o ano 2000 que tem sido anualmente registado em aquaculturas Portuguesas, sendo responsável por grandes mortalidades em dourada (*Sparus aurata*), robalo (*Dicentrarchus labrax*), corvina e mais recentemente em pregado (*Psetta maxima*) (Soares *et al.*, 2012).

Este dinoflagelado pode ser encontrado nos arcos branquiais e superfície corporal do hospedeiro e a sua elevada capacidade reprodutiva/proliferativa é o principal motivo para a sua letalidade. Fixa-se ao hospedeiro usando uma estrutura rizoide que penetra nos tecidos, danificando-os (Floyd e Floyd, 2011).

O ciclo de vida é simples, apenas de um hospedeiro e três diferentes estágios, como se pode comprovar na Figura 14.



**FIGURA 14: CICLO DE VIDA DE *AMYLOODINIUM OCELLATUM*. ADAPTADO DE (MARTINS ET AL, 2015)**

A fase infetante, o dinósporo, fixa-se aos arcos branquiais e/ou à pele do hospedeiro e perde os seus flagelos, transformando-se em trofante que se desenvolve no hospedeiro e ao fim de alguns dias desprende-se, retrai os rizoides e torna-se um tomonte que se divide originando mais de 256 dinósporos infestantes que são a fase livre do ciclo, com capacidade de locomoção flagelar para encontrar um hospedeiro e completar o ciclo.

O ciclo de vida completa-se entre três a seis dias com temperatura de água próximas de 20°C e a tolerância de temperaturas varia entre os 16 e os 30°C. A salinidade suportada está entre os 12 e os 50 ppt (Floyd e Floyd, 2011).

O *A. ocellatum* é tolerante a uma grande amplitude de temperaturas e níveis de salinidade da água e quando as condições são adversas (baixas temperaturas) ou mesmo com

tratamento farmacológico, os tomentos deixam de se dividir, mas o parasita não morre uma vez que a dose de fármaco letal também o seria para os peixes (Floyd e Floyd, 2011).

A sua patogenicidade está no facto de destruir células epiteliais da pele e arcos branquiais e é dependente do grau das lesões provocadas. Os peixes afetados podem morrer subitamente, mas geralmente manifestam alterações clínicas: anorexia, depressão, dificuldades respiratórias (peixes aflitos à superfície com a boca de fora) e prurido. Se a infeção ocorrer primariamente nas branquias os sintomas serão essencialmente respiratórios, caso ocorra na superfície corporal do peixe este manifesta uma coloração branca acastanhada com aspeto opaco na pele (Martins *et al.*, 2015).

A transmissão deste agente é feita por contacto direto com a forma infetante (dinosporo), bastando para isso que os peixes sejam sujeitos a água ou materiais contaminados. Apenas a fase livre é suscetível a tratamentos farmacológicos, o que torna o seu tratamento extremamente complicado.

## 6. Químicos em aquacultura

O uso de fármacos em sistemas de aquacultura é comum, contudo, com a crescente preocupação mundial pelas práticas responsáveis do seu uso, autoridades governamentais, comunidades científicas, indústria farmacêutica e associações de produtores têm tomado medidas cada vez mais restritivas ao seu uso, tentando proteger o ambiente e comunidade humana (Barg e Lavilla-Pitago, 1996).

Os químicos usados na indústria aquícola estão identificados e são acompanhados de breves informações: qual a finalidade do seu uso, escala de aplicação, tipos de sectores aquícolas a aplicar, principais impactos ambientais e na saúde humana, etc... Atualmente sabe-se que o uso da maioria dos químicos, usados apropriadamente, pode ser benéfico e sem prejuízo para o ambiente, mas está desaconselhado ou mesmo proibido o uso de fármacos cujos riscos ou potenciais danos no ambiente ainda não estão totalmente descobertos (UNESCO, 1997).

As recomendações são para o uso mínimo destes compostos, mas é reconhecido que o uso seguro e efetivo de alguns pode ser vantajoso, ajudando na rentabilidade, taxas de sobrevivência e controlo de doenças na linha de produção.

Dentro da lista dos químicos que podem ser usados em aquacultura encontram-se (UNESCO, 1997):

- Associados à própria estrutura dos materiais;
- Tratamento do solo e da água;
- Fertilizantes;
- Desinfetantes;
- Agentes antibióticos;
- Pesticidas;

- Herbicidas/Algicidas;
- Suplementos Alimentares;
- Anestésicos;
- Hormonas;

Antes de se iniciar qualquer tratamento deverá ser feita uma avaliação prévia e racional de todas as condições que estão implícitas e, cada caso deve ser estudado individualmente de forma a aplicar o correto tratamento. Assim, deve-se ter em consideração para a escolha e administração do fármaco (Roque, 2010):

- Condições e parâmetros (da água onde será aplicado o fármaco). Hoje em dia sabe-se que a temperatura, a salinidade, pH e outros parâmetros da água têm influência na sua estabilidade e no seu modo de ação.
- Volume do tanque. Conhecer o volume de um tanque é essencial para a escolha do fármaco, doseamento e estudo custo-benefício.
- Espécies. Conhecer bem as espécies a tratar, os seus ciclos de vida e as reações usuais aos tratamentos.
- Indivíduos. Deve-se ter em conta a idade, tamanho, índice de condição corporal, fase do ciclo de vida, estado imunitário e todos os fatores intrínsecos ao animal que possam ter influência no tratamento.
- Objetivo do Tratamento. Da lista dos grupos de químicos acima mencionados, cada um tem uma finalidade e um propósito diferente e nunca devem ser utilizados para outros fins que não os que estão descritos nas indicações.

Neste trabalho serão apenas mencionados compostos químicos que foram utilizados no decorrer do projeto apresentado.

#### 6.1. Peroxido de hidrogénio

Este composto tem um potencial efetivo no controle de numerosos patógenos externos de peixes e vários estudos demonstraram que elevadas concentrações deste produto podem ser aplicadas sem causar mortalidades e com um retorno total da homeostasia fisiológica (Fim e Almeida, 2007).

No entanto, o seu uso exige doses de tratamento elevadas (100 ppm) e alguns peixes poderão apresentar sinais de intolerância, sendo necessário uma manipulação cuidadosa. É essencialmente usado contra monogéneos, onde apresenta maiores taxas de sucesso (Reed *et al.*, 2009).

## 6.2. Sulfato de cobre

Em aquacultura o sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) (Figura 15) é um produto de grande aplicabilidade sendo utilizado para controle de bacterioses, parasitoses e ainda para reduzir a quantidade de fitoplâncton ou tratamentos profiláticos.

É muito utilizado na tentativa de controlo do *A. ocellatum*, sendo dos poucos fármacos com capacidade de atuar sobre a sua forma livre.

A sua aplicação é variável, mas normalmente é feita à base de banhos que podem durar desde minutos até vários dias (Varo *et al.*, 2007).

O cobre é essencialmente tóxico para as algas, contudo, a aplicação deste produto pode gerar efeitos adversos, uma vez que se pode revelar tóxico para organismos não-alvo. A morte das algas pode libertar toxinas em concentrações suficientemente elevadas que comprometam o estado de saúde das espécies e a qualidade da água.

A exposição dos peixes ao cobre proporciona diversas alterações: precipitação de muco, alterações físicas nas brânquias (dificuldades respiratórias), stress agudo e oxidativo, anorexia, comprometimento do sistema imunitário, enzimático e de alguns órgãos vitais (Vaz, 2011).

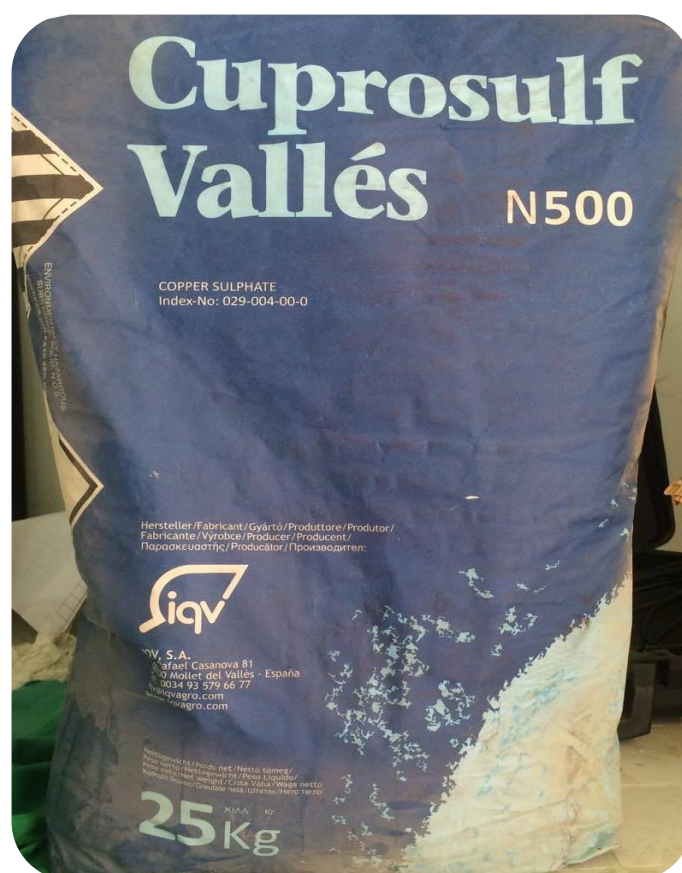


FIGURA 15: SULFATO DE COBRE USADO NA EPP0.

## 7. IMTA Effect Project

**Estudo de Caso:** Efeito de um Sistema De Produção Multi-Trófico no crescimento e indicadores de qualidade de peixes e ostras.

### 7.1. Introdução e descrição

O presente projeto europeu, IMTA\_EFFECT, sigla para Integrated Multitrophic Aquaculture for EFFicient and Ecological ConservaTion, é parte integrante de um estudo para o desenvolvimento de novas estratégias que apliquem os conceitos da aquacultura integrada de vários níveis tróficos (níveis da cadeia alimentar aquática) para uma maior eficiência e conservação dos ecossistemas onde essa aquacultura é ou poderá ser praticada. Dentro dos vários parceiros do projeto e das várias vertentes abordadas (aquacultura de água doce, marinha, interligada à agricultura e em diversos continentes) a EPPO assume um papel fundamental nesta parceria, ficando encarregue da realização de diversas experiências e atividades individuais com determinada calendarização, material e métodos e com diferentes objetivos. Neste relatório será apresentado um ensaio comparativo dentro do projeto IMTA\_EFFECT a decorrer na EPPO entre os meses de abril a novembro de 2016, ao qual foi dedicado grande parte do estágio curricular.

### 7.2. Ideias Principais do Estudo Multinacional

- Otimizar o uso de nutrientes e energia no ciclo produtivo de forma a tentar diminuir a dependência de fatores externos e aumentar a eficiência do sistema;
- Diminuir os impactos do lixo orgânico e bio-depósitos para o ambiente envolvente à aquacultura, limitando a perda de nutrientes na água e sedimento para o mesmo;
- Diversificar os produtos aquícolas e aumentar fontes de rendimento;
- Gerar e usar diferentes serviços para os diferentes níveis do ecossistema;
- Compreender a interação de espécies de diferentes níveis tróficos num sistema multi-trófico;
- Desenvolver referências confiáveis para a implementação do sistema;

### 7.3. Objetivo do Projeto

- Reportar as performances das diferentes espécies e densidades num projeto IMTA;
- Descrever a dinâmica dos nutrientes e gases (O<sub>2</sub> e Co<sub>2</sub>) nos diferentes tipos de produção (o que entra, fica e sai do sistema);
- Avaliar a qualidade da água e do sedimento em termos de nutrientes e matéria orgânica,
- Avaliar as alterações estruturais na flora bacteriana do dos peixes;

- Analisar comparativamente o estado de saúde dos peixes e das ostras;
- Avaliar a qualidade dos peixes, ostras e algas de forma comparativa entre um sistema convencional de cultivo e um sistema multi-trófico;

#### 7.4. Estrutura e Organização do Sistema

O estudo decorreu em seis tanques de terra (Tt11-Tt16) da EPPO, em sistema aberto com dois replicados de três diferentes métodos de produção (“tratamentos”):

- Tanques 12 e 14: Peixes + Ostras
- Tanques 13 e 15: Peixes + Algas
- Tanques 11 e 16: Peixes + Ostras + Algas

Cada grupo de diferentes organismos corresponde a um nível diferente na cadeia trófica: as macroalgas são produtores primários, as ostras são consumidores primários e os peixes consumidores secundários. A quantidade de peixes foi igual em todos os tanques e foram usadas três espécies (corvina, sargo-legítimo e tainha), com diferentes hábitos alimentares.

É importante referir que todos os tanques foram sujeitos às mesmas condições, que os procedimentos, materiais e métodos não diferiram e que qualquer intervenção necessária em determinado tanque seria aplicada a todos da mesma forma.

#### 7.5. Espécies utilizadas:

##### Produção Primária:

- Alga (*Ulvae*)
- Fitoplâncton
- Bactérias

##### Consumidores:

- Zooplâncton
- Ostras (*Crassostrea gigas*)
- Corvinas (*Argyrosomus regius*)
- Sargos (*Diplodus sargus*)
- Tainhas (*Mugil cephalus*)

**TABELA 11: BIOMASSA (KG) E DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES POR TANQUE**

| Total (IMTA)       | Total (Nº) | Tanque<br>11 | Tanque<br>12 | Tanque<br>13 | Tanque<br>14 | Tanque<br>15 | Tanque<br>16 |
|--------------------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <i>D. Sargus</i>   | 5100       | 850          | 850          | 850          | 850          | 850          | 850          |
| <i>A. Regius</i>   | 9000       | 1500         | 1500         | 1500         | 1500         | 1500         | 1500         |
| <i>M. Cephalus</i> | 3300       | 550          | 550          | 550          | 550          | 550          | 550          |
| <i>C. Gigas</i>    | 72000      | 18000        | 18000        | -            | 18000        | -            | 18000        |
| <i>Ulvae</i>       |            | +            | -            | +            | -            | +            | +            |
| Total (Kg)         |            | 424.2        | 424.2        | 415.2        | 424.2        | 415.2        | 424.2        |
| Densidade/m3       |            | 0.57         | 0.57         | 0.55         | 0.57         | 0.55         | 0.57         |

Na Tabela 11 está descrita a quantidade de indivíduos de cada espécie distribuída por tanque e a densidade inicial (km/m<sup>3</sup>).

#### 7.5.1. Peixes

Os peixes utilizados na experiência foram criados na EPPO e a sua transferência ocorreu diretamente da área dos juvenis para os tanques de terra.

O número de peixes utilizado na experiência está não só relacionado com as densidades finais pretendidas, mas também com a disponibilidade de *stocks* da EPPO no início do projeto, e a escolha das espécies integrantes no projeto está relacionada com os seus hábitos e comportamentos alimentares bem como o seu papel na cadeia trófica.

#### 7.5.2. Macroalga

A distribuição das macroalgas é difícil de quantificar uma vez que a sua presença é natural, ou seja, nos tanques com macroalga esta cresce naturalmente nas margens e superfície, tendo-se verificado o contrário nos tanques onde não era permitida a sua presença, em que estas foram constantemente removidas.

Além da presença natural das macroalgas foi realizado um estudo comparativo do crescimento de *Ulva spp.* em diferentes densidades. Para esse efeito foram colocadas seis estruturas criadas na EPPO, à base de esferovite e redes de pesca, com uma área de superfície conhecida (1m<sup>2</sup>), em cada um dos tanques onde a presença de algas era desejada para os efeitos pretendidos. Em três das estruturas foram colocadas baixas densidades de *Ulva spp.* fixada nas redes e nas outras três estruturas foram utilizadas maiores densidades de alga.

O objetivo principal deste estudo era avaliar e comparar as diferenças de crescimento da mesma alga variando apenas a densidade de produção nas estruturas. As seis estruturas



presentes nos quatro tanques utilizados (uma vez que dois dos seis não possuíam algas) foram semanalmente removidas para fora de água, de onde se recolheu e pesou a *Ulvae*, sendo novamente reposta a quantidade inicial nas estruturas para as duas densidades estudadas.

As densidades de alga utilizadas neste estudo não são representativas da densidade total do tanque.

Importa ainda referir que nos dois tanques onde não era desejada a presença de alga foram introduzidas as mesmas estruturas para produção de alga, na mesma quantidade e na mesma posição, mas sem a presença de *Ulva spp.*, apenas para expor os tanques todos às mesmas condições hidrográficas.



**FIGURA 16: CONJUNTO DE SEIS ESTRUTURAS COLOCADO EM TODOS OS TANQUES PARA COMPARATIVO DE CRESCIMENTO DE *ULVA SPP.* EM DIFERENTES DENSIDADES.**

**FIGURA 17: ESTRUTRA DE CRESCIMENTO DE *ULVA SPP.* EM BAIXA DENSIDADE.**

### 7.5.3. Ostras

As ostras são originárias de uma empresa privada que frequentemente colabora com a EPPO. No início do projeto foram introduzidas ostras ainda juvenis de 0,5g (Figuras 18 e 19) para se avaliarem não só as suas características evolutivas (crescimento, taxa de mortalidade, índice de condição, etc....) mas também o seu papel biofiltrador nos tanques.



FIGURA 18: OSTRAS DE 0,5G UTILIZADAS PARA O PROJETO.

FIGURA 19: TOTALIDADE DE OSTRAS DE 0,5G UTILIZADAS PARA O PROJETO.

### 7.6. Calendarização:

TABELA 12: CALENDARIZAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS E MEDIÇÕES REALIZADAS AO LONGO DO PROJETO IMTA 2016

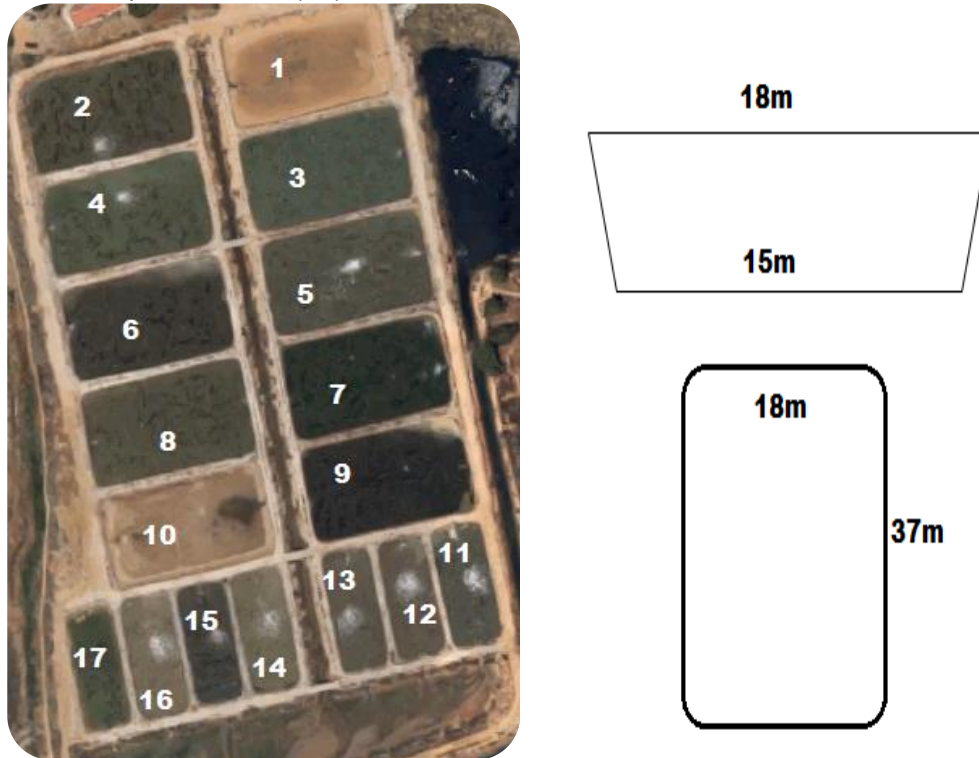
#### ENSAIO IMTA-EFFECT 2016

| Mês              | 4   | 4  | 4  | 5 | 5 | 5  | 5  | 6 | 6  | 6  | 6  | 7  | 7  | 7  | 7  | 8  | 8  | 8  | 8  | 9  | 9  | 9  | 9  | 10 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 | 11 |
|------------------|---|----|----|---|---|----|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 1º Dia da Semana | 11  | 18 | 25 | 2 | 9 | 16 | 23 | 6 | 13 | 20 | 27 | 4  | 11 | 18 | 25 | 1  | 8  | 15 | 22 | 5  | 12 | 19 | 26 | 3  | 10 | 17 | 24 | 1  | 7  | 14 |
| Semana           | 1   | 2  | 3  | 4 | 5 | 6  | 7  | 8 | 9  | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
| Diário           |   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Semanal          |   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Quinzenal        |   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Mensal           |   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Bimestral        |   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Período 70 dias  |   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Início e Fim     |   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Diário           | Temperatura, Oxigénio Dissolvido, pH, Salinidade, Renovação de água, Turbidez e Condições do tempo climático                        |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Semanal          | Renovação de água, Disco de Secchi (turbidez) e condições de tempo  |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Quinzenal        | Clorofilas e Pigmentos, Nutrientes e Análise Parasitológica em Peixes   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Mensal           | Biomassa de Macroalga, Matéria suspensa, Análises: Microbiológica, Hematológica, Anatomopatológica e Histopatológica                |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Bimestral        | Avaliação do crescimento e da biomassa de Ostras.   |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Período 70 dias  | Produtividade Primária, Biomassa de Zooplâncton, Amostragem de Sedimento  |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
| Início e Fim     | Isótopos e Ácidos gordos, Desenvolvimento de ostras e peixes, Taxa de sobrevivência, Diversidade Bentónica, Níveis de <i>E.Coli</i> |    |    |   |   |    |    |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |

Na Tabela 12 estão calendarizados os procedimentos e as medições realizadas no projeto IMTA ao longo dos meses decorridos. O estudo aqui apresentado foca essencialmente os eventos mensais de análises médicas.

## 7.7. Material e Métodos:

### 7.7.1. Tanques de Terra (TT)



**FIGURA 20: FOTOGRAFIA AÉREA DOS TT DA Eppo. OBTIDA ATRAVÉS DO “GOOGLE MAPS”.**

**FIGURA 21: PERSPETIVA LATERAL E AÉREA, EM ESBOÇO, DAS MEDIDAS APROXIMADAS DOS TANQUES.**

Os seis tanques usados neste projeto (11-16), expostos na Figura 20, apresentam todas medidas muito semelhantes (37 m comprimento, 18 m largura e 1,5 m profundidade) (Figura 21) e, por conseguinte, um volume de água aproximado. Além do tamanho, os tanques têm todas condições semelhantes:

- Mesma localização/orientação e exposição solar;
- Rede de canalização e fornecimento de água comum a todos os TT;
- Condições de acesso semelhantes;
- Propriedades dos tanques e medidas de proteção idênticas (constituição de solo, formato, rede anti pássaros, etc...);
- Equipamento (Alimentadores, injetores de ar, comportas, etc...);
- Condições de preparação semelhantes (Tempos de secagem, métodos de drenagem de água, etc...);

### 7.7.2. Injetores de Ar e Alimentadores

Os seis tanques foram equipados com injetores de ar (Figura 22) conectados a sondas medidoras de oxigênio (e temperatura) e foram programados de igual forma para que o funcionamento fosse semelhante (níveis mínimos de oxigênio estipulados para regular o seu funcionamento).

Os alimentadores automáticos (Figura 23) foram calibrados para dispensarem a mesma quantidade de alimento e programados para que o tempo e os períodos de funcionamento fossem iguais. Esta etapa requer uma monitorização e um reajuste constante para evitar falhas.

Ambos os equipamentos foram colocados em posições estratégicas, semelhantes em todos os tanques, atendendo às condições do vento, da circulação de água e da deposição de sedimentos.



**FIGURA 22: INJETOR DE AR UTILIZADO PARA A EXPERIÊNCIA.**



**FIGURA 23: ALIMENTADOR AUTOMÁTICO UTILIZADO PARA A EXPERIÊNCIA**

### 7.7.3 Alimento

O alimento utilizado foi o mesmo ao longo de todo o projeto e em todos os tanques, bem como a quantidade fornecida. A sua composição está descrita na Figura 24, bem como a espessura do granulado "3,2 mm".

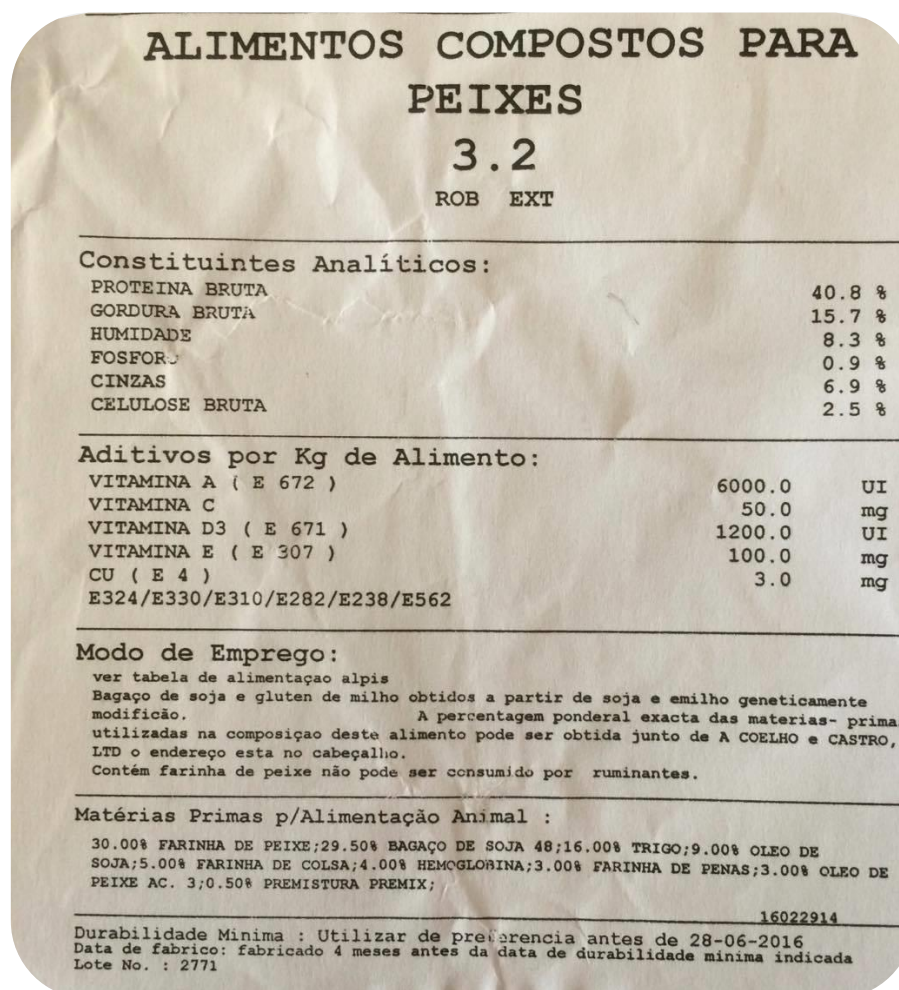


FIGURA 24: RÓTULO DE ALIMENTO COMPOSTO PARA PEIXES UTILIZADO AO LONGO DO PROJETO.

Semanalmente era reposta nos alimentadores (Figura 23) uma quantidade definida de alimento. A quantidade total fornecida foi variável ao longo do tempo, atendendo ao crescimento e às necessidades alimentares dos peixes bem como ao Índice de Condição corporal.

### 7.7.4. Material para Análises Clínicas

Hematologia: Colheita de Sangue (agulhas, seringas e Eppendorfs com e sem heparina), hematócrito (tubos capilares de microhematócrito, selante de capilares), esfregaço de sangue (lâminas limpas e desengorduradas, fixadores e corantes).

Sacrifício: Facas e material de apoio;

Parasitologia: Lâminas e material de apoio (tesoura, pinça, bisturi).

Microbiologia: Espátulas plásticas, placas de Petri e meios de cultura.

Histologia: Tubos, cassetes histológicas, fixador (Formoldeído) e reagentes.

Outro Material: Transporte (baldes e tabuleiros), pesagem (balança), medição (ictiómetro), segurança e higiene pessoal (luvas).

## 7.8. Rotinas e Procedimentos

Apesar do projeto apresentado ter objetivos de estudo específicos e determinada calendarização, a grande maioria das rotinas diárias de manutenção (diárias e semanais), avaliação e registo são comuns aos restantes TT e estão descritas no “Relatório de Casuística” apresentado no início do presente trabalho.

No caso das análises médicas, excepto a microbiológica, as rotinas apenas envolviam a preparação e ordenação prévia do material a ser utilizado.

### 7.8.1. Rotinas da Microbiologia

No caso das análises microbiológicas, uma vez que são necessários meios de cultura, é fundamental prepara-los e plaquear (colocar em Placas de Petri) atempadamente.

O uso de diferentes meios de cultura, permite uma complementaridade de resultados e, dá uma melhor ideia da estrutura populacional da comunidade bacteriana do muco, que por sua vez reflete o meio que rodeia o peixe.

Os meios utilizados no decorrer do projeto foram:

-TCBS, utilizado por ser um meio de diferenciação seletivo utilizado para isolar e cultivar espécies *Vibrio*.

-CN *Pseudomonas*, utilizado por ser um meio específico para crescimento e isolamento do género *Pseudomonas*.

-TSA, utilizado por ser um meio de isolamento que favorece o crescimento de todas as espécies atualmente encontradas em amostras clínicas.

A preparação dos meios segue um protocolo com quantidades, técnicas, tempos de espera e os produtos a utilizar, uma “receita”. O plaqueamento é feito após o meio líquido arrefecer e passa por verter uma quantidade estipulada de Meio em cada placa de Petri. É feita a identificação da placa com a data e o tipo de meio e procede-se ao armazenamento em refrigeração.

## 7.9. Amostragens

Apesar do projeto ter o seu fim calendarizado para novembro de 2016, no período de estágio apenas foi possível presenciar e colaborar em quatro amostragens mensais, e, por conseguinte, os dados aqui apresentados são referentes apenas ao período decorrido entre maio e julho.

Mensalmente foram recolhidos seis peixes de cada tanque para análises: hematologia, microbiologia, parasitologia, anatomopatologia e histopatologia. A calendarização das amostragens mensais foi:

- 25 de Maio 2016: amostragem 0;
- 28 de Junho 2016: amostragem 2;
- 26 de Julho 2016: amostragem 4;
- 23 de Agosto 2016: amostragem 6;

Quinzenalmente foram recolhidos apenas três peixes e meramente para avaliação biométrica e parasitária. A calendarização das amostragens quinzenais foi:

- 8 de Junho de 2016: amostragem 1;
- 12 de Julho de 2016: amostragem 3;
- 10 de Agosto de 2016: amostragem 5;

(Nos resultados será apresentada não só a data, mas também o número da amostragem). Os procedimentos da amostragem serão descritos por ordem cronológica, contudo, é importante referir que para a sua realização são necessários cerca de 15 colaboradores que se distribuem por equipas e formam uma “linha de montagem”, tornando o processo dinâmico, onde cada equipa recolhe material de trabalho e enquanto procede às preparações e análises, outras equipas darão seguimento ao processo, iniciando outras análises. O facto dos respetivos laboratórios de análise se encontrarem todos próximos, facilita o processo.

As técnicas adotadas nos procedimentos estão cientificamente descritas no capítulo “Monografia” e apenas, se necessário, serão mencionadas pequenas alterações adotadas pela EPPO.

### 7.9.1. Pesca e transporte

Uma vez que a quantidade pretendida de animais não justifica uma pesca com rede, é utilizada a cana de pesca com isco. A pesca deve ser feita na zona do alimentador que é ligado manualmente nesse momento, atraindo de imediato os peixes.

O transporte dos peixes para a zona de análises, atendendo à curta distância, é feito em baldes com água do respetivo tanque por um trabalhador que leva apenas três peixes de cada vez.

Na zona de análises está uma equipa já pronta a começar as intervenções.

## 7.9.2. Análises laboratoriais

### 7.9.2.1. Hematologia

Ainda com o peixe vivo, é feita uma correta contenção, cobrindo os olhos do animal que se encontra em decúbito dorsal direito (com a cabeça para o lado esquerdo) e, com uma seringa heparinizada e uma agulha, procede-se à recolha de sangue (Figura 25) e ao seu acondicionamento em eppendorfs que são imediatamente colocados numa caixa térmica com gelo moído (Figura 26).

Enquanto se iniciam os procedimentos de hematologia, uma outra equipa dá continuidade ao processo, recolhendo material para microbiologia. No laboratório de análises hematológicas começa por ser feito o microhematocrito (Figura 28) e seguidamente faz-se o esfregaço de sangue que é corado com a coloração Wright-Giemsa Eosina Azul de Metileno (Figura 27). A amostra de sangue em sobra é centrifugada a 2500 rpm por dez minutos e armazenada a -80 °C, para que futuramente possam ser medidos parâmetros imunológicos.



**FIGURA 25: PROCEDIMENTO DE COLHEITA DE SANGUE E DE CONTENÇÃO.**



**FIGURA 26: EPPENDORFS REFRIGERADOS EM CAIXA TÉRMICA COM GELO MOÍDO.**



**FIGURA 27: ESFREGAÇOS DE SANGUE CORADOS.**



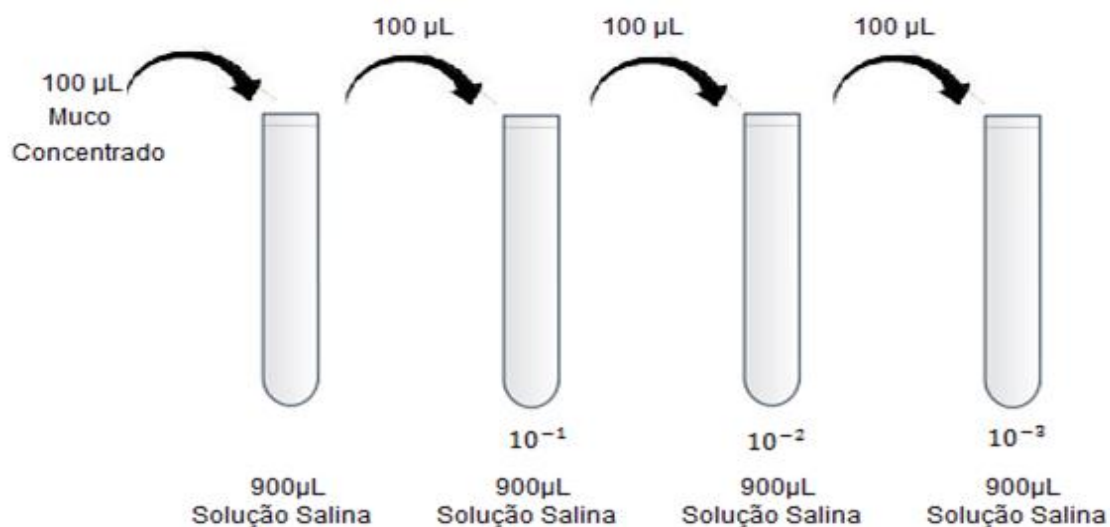


**FIGURA 28: APARELHO DE MICROHEMATÓCRITO COM 4 TUBOS CAPILARES.**

#### 7.9.2.2. Microbiologia

Ainda com o peixe em vida é recolhido muco para uma placa de Petri. O procedimento é simples, bastando apenas a raspagem com uma espátula plástica por toda a superfície do corpo numa direção crânio-caudal.

O muco recolhido individualmente é agrupado pelos tanques com o mesmo tratamento, ou seja, faz-se um concentrado de muco dos peixes do tanque 11 e 16, do 12 e 14 e do 13 e 15. O muco concentrado de cada tratamento, será diluído quatro vezes (procedimento descrito na Figura 29) e as três concentrações  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  são inoculadas (100 $\mu$ L) nos três meios de cultura diferentes, TSA, TCBS e CN Pseudomonas. O processo é repetido da mesma forma para os outros dois tratamentos.



**FIGURA 29: PROCEDIMENTO DE DILUIÇÃO DO MUCO.**

Após a inoculação as placas são colocadas na estufa a 23°C e a contagem de colónias é feita 48h e cinco dias após a inoculação.

#### 7.9.2.3. Sacrifício e biometria

Logo após a recolha do muco, uma outra equipa encarrega-se do sacrifício do peixe pela técnica do corte da espinal medula e procede à pesagem (na balança) e à medição (ictiómetro).

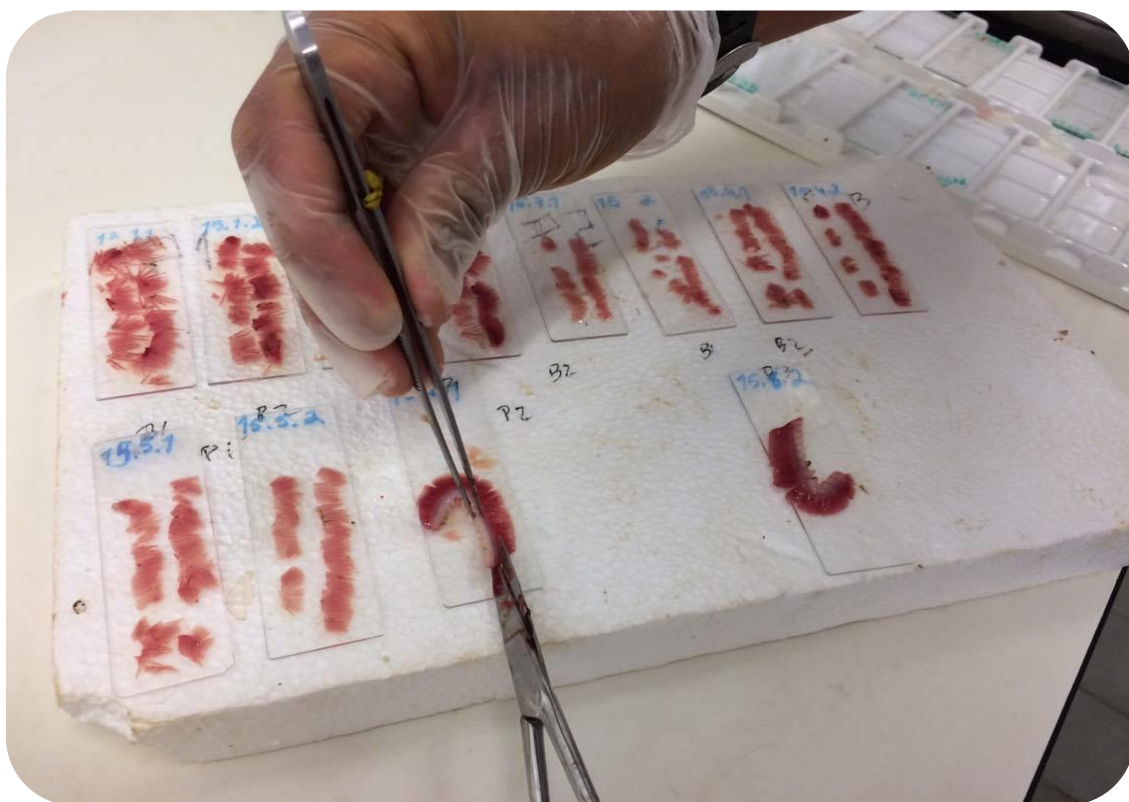
#### 7.9.2.4. Parasitologia

Enquanto as restantes análises decorrem, são removidos os dois primeiros arcos branquiais do lado esquerdo do peixe para avaliação parasitológica e o peixe segue para o laboratório onde será feita a avaliação anatomopatológica e a recolha de órgãos para histologia.

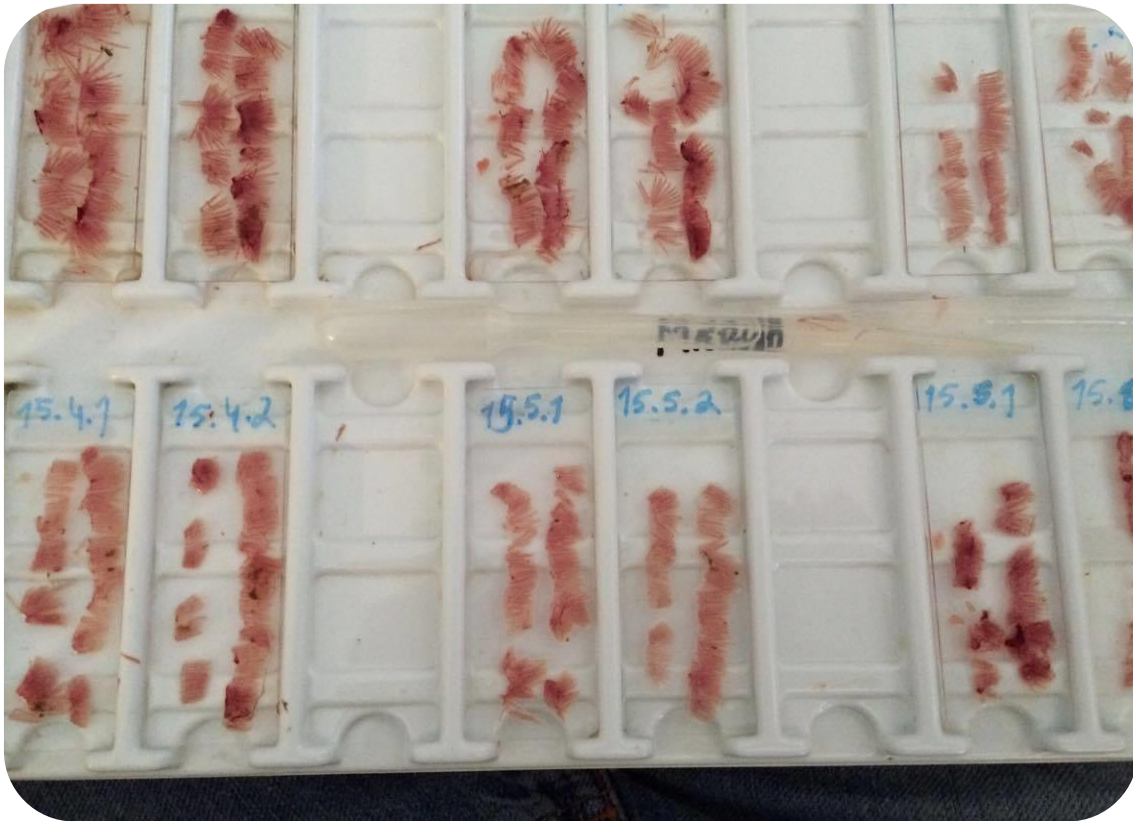
Os dois arcos branquiais removidos são colocados individualmente sobre lâminas limpas e, com a ajuda de uma pinça (que segura a parte cartilaginosa) e de uma tesoura cortam-se os filamentos branquiais que serão aproveitados para a observação microscópica (Figura 30).

O arco cartilágneo é descartado e os filamentos são colocados organizadamente sobre a lamina (Figura 31) e, para evitar que sequem (provocando a morte parasitária), são hidratados com água do próprio tanque recolhida diretamente do balde de transporte com uma pipeta de Pasteur.

A observação dos filamentos branquiais é feita num microscópio Nikon Eclipse Ci (Figura 32) e é feita no menor curto tempo possível após a morte do animal e a preparação das lâminas.



**FIGURA 30: PREPARAÇÃO DOS ARCOS BRANQUIAIS PARA OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA. CORTE DO ARCO CARTILAGÍNEO.**



**FIGURA 31: FILAMENTOS BRANQUIAIS ORGANIZADOS NA LAMINA PARA OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA E CONTAGEM DE PARASITAS.**



**FIGURA 32: OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA, CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE PARASITAS.**

#### 7.9.2.5. Anatomopatologia e histologia

Após a necropsia dos animais e a avaliação do seu estado interno (Figuras 33 e 34), foram recolhidas amostras de músculo, intestino, fígado, pele e brânquias (Figuras 35 e 36) que, para sua preservação foram colocadas numa solução de 10% Formaldeído e passadas 48 horas foram lavadas (duas vezes em períodos de 15 minutos) numa solução salina de fosfato de *Buffer*. Seguidamente, as amostras foram colocadas em álcool a 70% onde permanecerão até que sejam feitas as análises histológicas no final do projeto.



**FIGURA 33: ABERTURA DO PEIXE PELA LINHA VENTRAL DESDE O PORO ANAL ATÉ À REGIÃO OPERCULAR.**



**FIGURA 34: OBSERVAÇÃO DOS ÓRGÃOS INTERNOS APÓS ABERTURA DO PEIXE.**

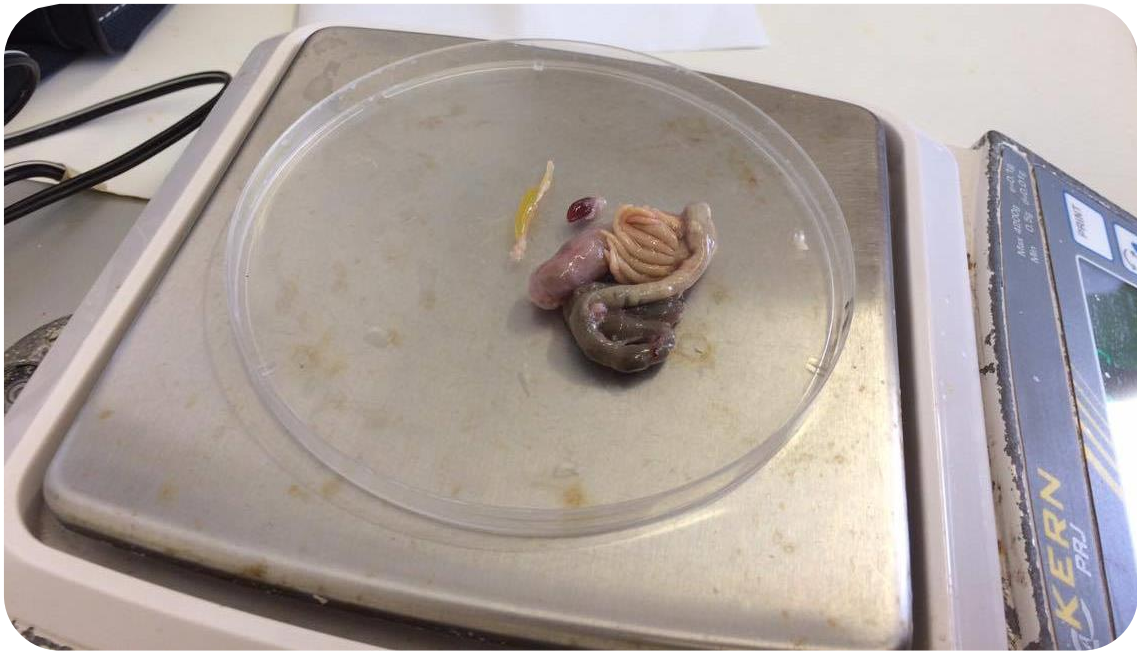


FIGURA 35: ISOLAMENTO DE ÓRGÃOS PARA PESAGEM E HISTOLOGIA.

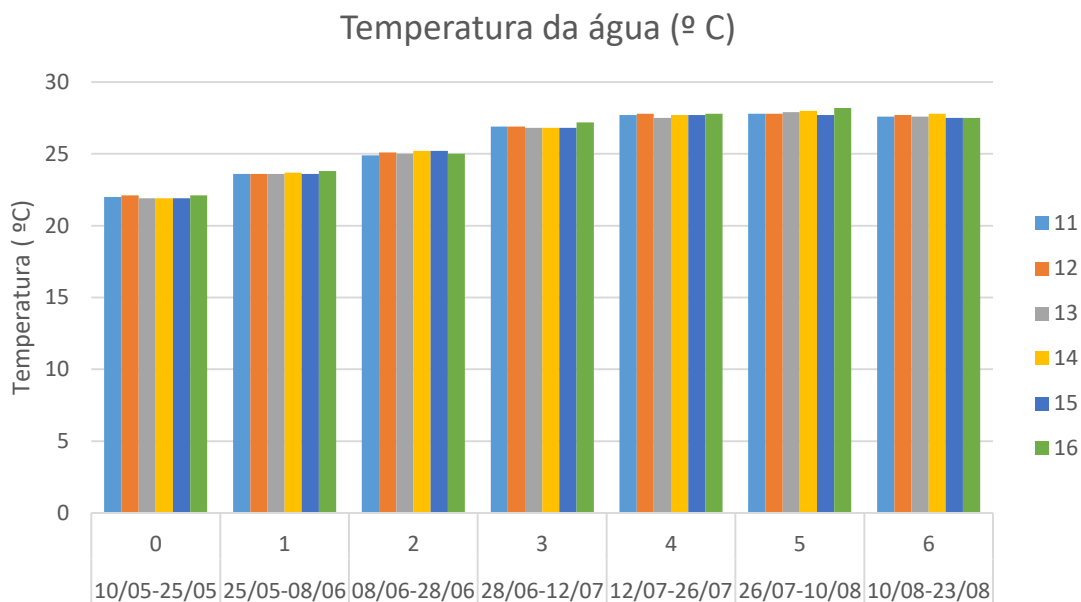


FIGURA 36: RECOLHA DE TECIDOS PARA HISTOLOGIA.

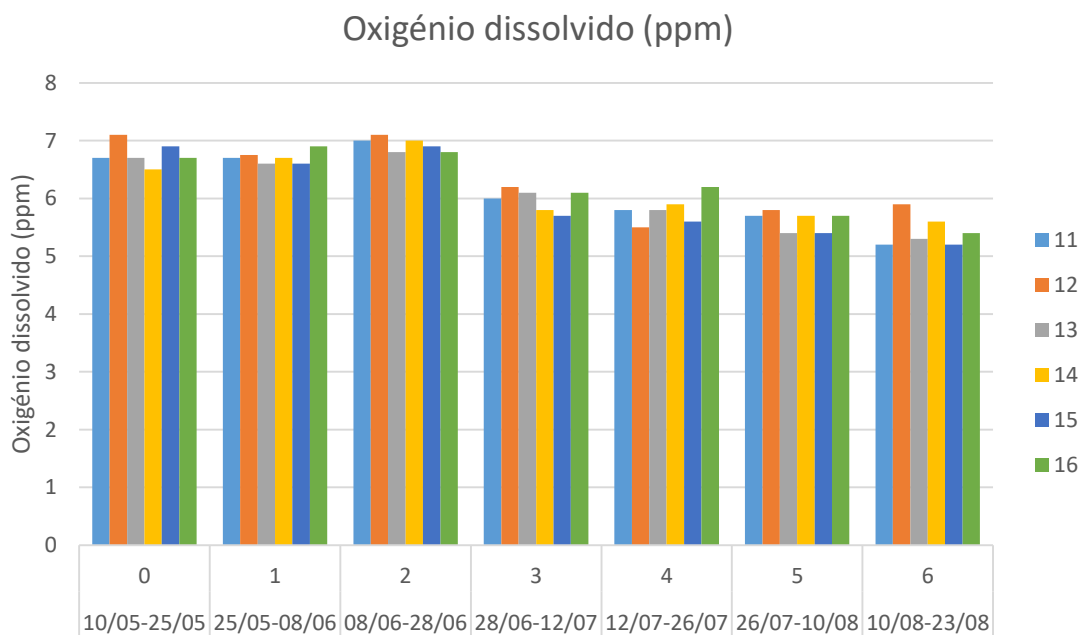
## 7.10. Resultados e Análise

Os resultados apresentados correspondem ao período decorrido entre 25 de Maio 2016 e 23 de Agosto de 2016.

### 7.10.1. Fatores Abióticos



**GRÁFICO 16: EVOLUÇÃO MÉDIA DA TEMPERATURA DA ÁGUA (° C) ENTRE OS PERÍODOS DE AMOSTRAGEM, POR TANQUE.**



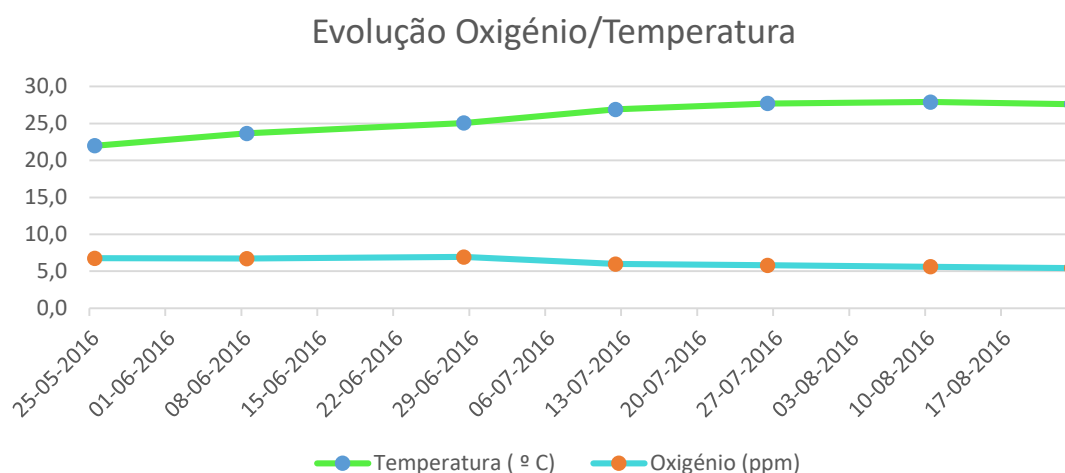
**GRÁFICO 17: EVOLUÇÃO MÉDIA DO OXIGÉNIO (PPM) ENTRE OS PERÍODOS DE AMOSTRAGEM, POR TANQUE.**

O Gráfico 16 representa a média da evolução de temperatura da água entre os períodos de amostragem, em cada tanque. Como já foi referido, os valores de temperatura são obtidos bi-diariamente, uma vez pela manhã e outra ao fim da tarde. Neste Gráfico é apresentada uma média dos valores da manhã e da tarde no período de dias decorrente entre cada amostragem, tanto as mensais como as quinzenais.

Através da sua análise pode-se constatar que não houve diferenças significativas entre tanques e que em todos eles a temperatura da água aumentou desde maio até julho, onde se manteve constante até ao mês de agosto.

O Gráfico 17 representa a média da evolução dos valores de oxigénio dissolvido (OD) na água, em partes por milhão (ppm) entre os períodos de amostragem, em cada tanque. Os valores do Gráfico correspondem também a uma média de valores bi-diários.

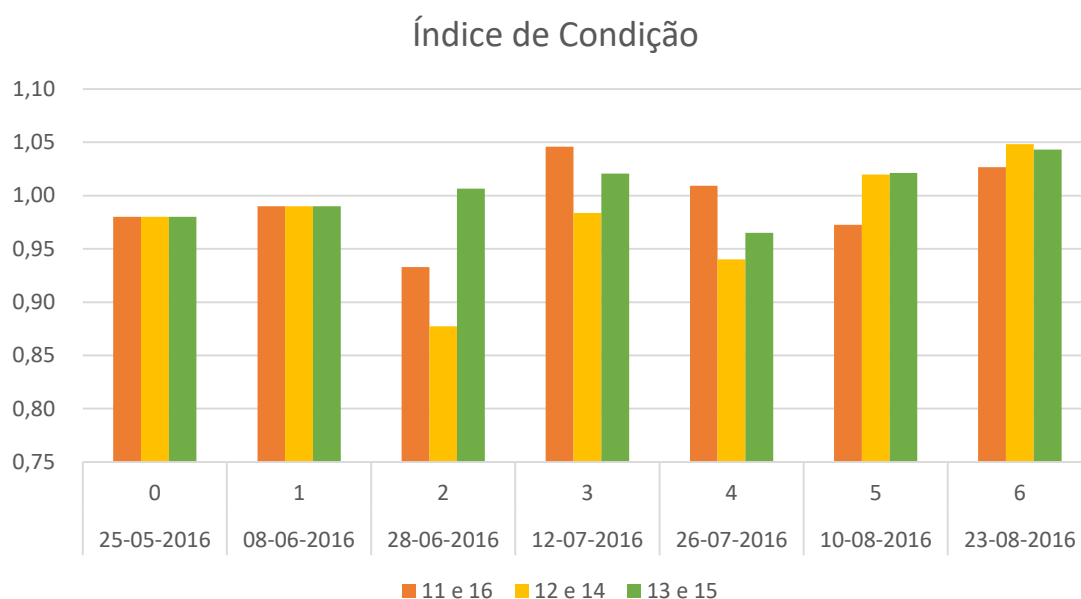
A sua análise sugere que não há variações significativas e tendenciosas, apesar da variação de OD entre tanques ser superior à variação de temperatura da água. Pode-se ainda aferir que os níveis de OD na água evoluíram de forma inversa à temperatura, assim, nos meses com água mais quente, os níveis de oxigénio foram inferiores, como suporta o Gráfico 18.



**GRÁFICO 18: EVOLUÇÃO DOS VALORES MÉDIOS DE TEMPERATURA DA ÁGUA E DE OXIGÉNIO DISSOLVIDO.**

O Gráfico 18 apresenta a evolução da média de todos os tanques tanto de oxigénio dissolvido como da temperatura da água. Pela sua análise pode-se observar que o período de variação mais significativo em ambos os casos foi o decorrido entre 29 de junho e 13 de julho, onde os níveis de temperatura aumentaram e os de oxigénio diminuíram.

## 7.10.2. Biometria



**GRÁFICO 19: MÉDIA DO ÍNDICE DE CONDIÇÃO (IC) DOS PEIXES EM CADA AMOSTRAGEM AGRUPADOS POR TRATAMENTOS**

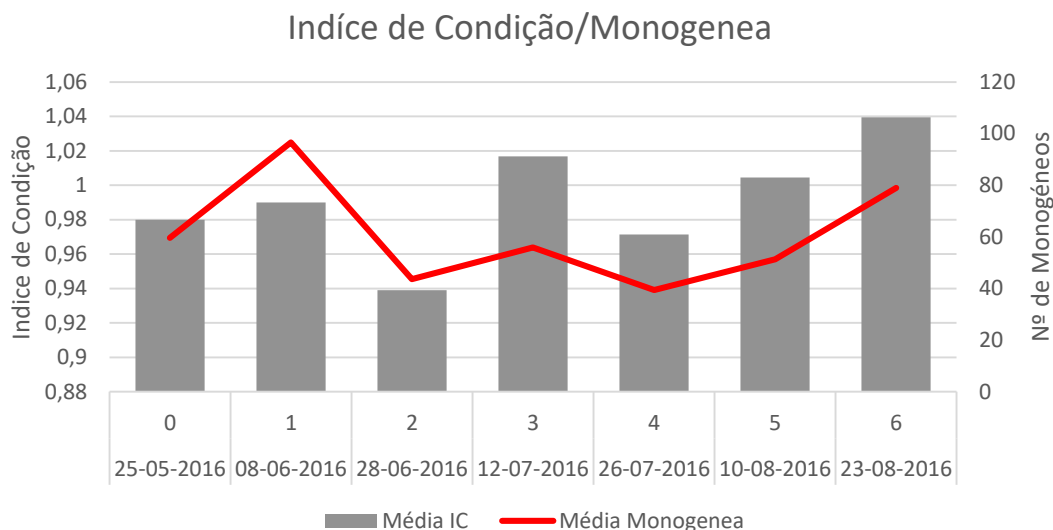
O índice de condição (IC) calcula-se pela seguinte fórmula  $\frac{\text{Peso(g)}}{\text{Comprimento (cm)}^3} \times 100$

Para cada espécie de peixe, dependendo da sua constituição anatômica, existe um valor de índice condição ideal. No caso da corvina esse valor deve ser próximo ou superior a um. Valores muito distantes dos considerados ideais para a espécie podem significar problemas nutritivos ou patologias e primariamente será necessário ajustar a alimentação e avaliar o estado médico dos peixes para diagnosticar a causa.

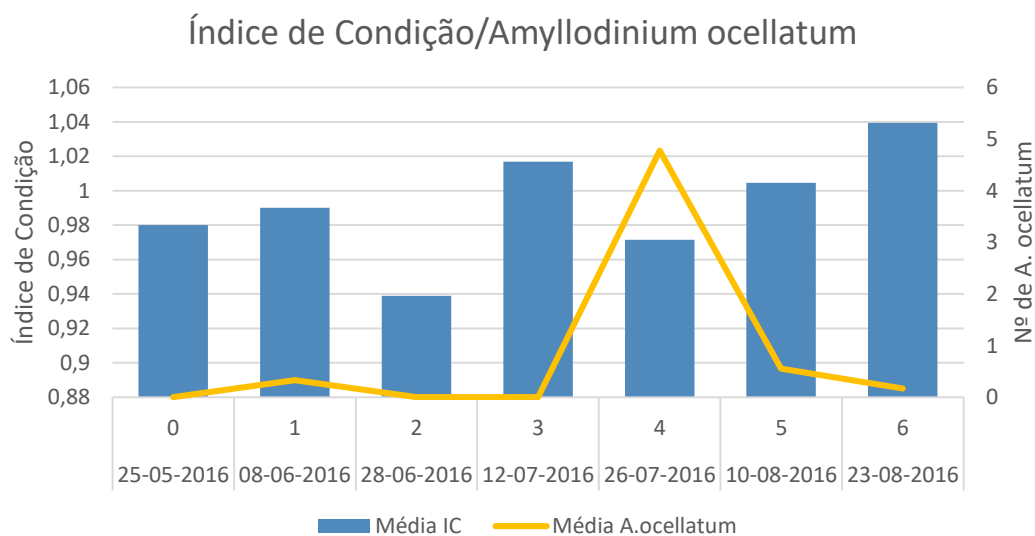
O Gráfico 19 apresenta a média do índice de condição, por tratamentos, em cada amostragem. A sua análise não sugere que o índice de condição de um tratamento específico tenha sido tendenciosa em relação aos outros grupos uma vez que em todas as amostragens houve variações no IC.

O Gráfico 20 relaciona a média total do IC com a média total do número de parasitas monogéneos contabilizados em cada peixe. Os resultados obtidos não são coincidentes com a bibliografia uma vez que os valores mínimos de carga parasitária corresponderam aos menores valores de IC e, pelo contrário, na sexta amostragem, os peixes atingem o valor máximo de IC que corresponde também a uma fase de elevada carga parasitária.





**GRÁFICO 20: RELAÇÃO DA MÉDIA TOTAL DO ÍNDICE DE CONDIÇÃO DOS PEIXES E DA MÉDIA TOTAL DO NÚMERO DE PARASITAS MONOGÊNEOS POR PEIXE**

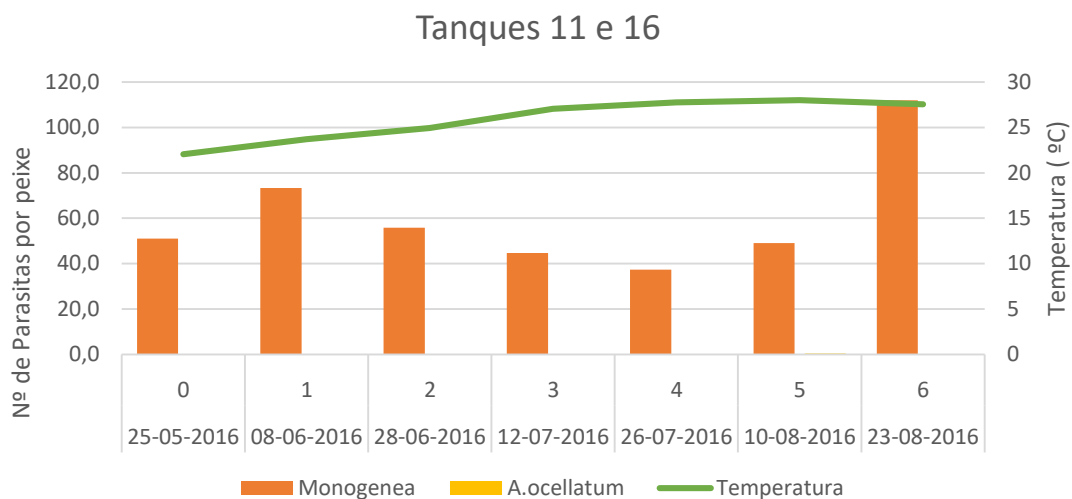


**GRÁFICO 21: RELAÇÃO DA MÉDIA TOTAL DO ÍNDICE DE CONDIÇÃO DOS PEIXES E DA MÉDIA TOTAL DO NÚMERO DE *AMYLODINIUM OCELLATUM* POR PEIXE**

No Gráfico 21 é apresentada a mesma média de valores de IC e a dos valores de *Amyllocladus ocellatum* de todos os tanques. Pela sua análise pode-se aferir que no pico máximo de valores de *A. ocellatum* o IC dos peixes foi ligeiramente inferior à generalidade das medições. Pode-se também notar que valores máximos de IC foram atingidos numa fase de ausência (ou de presença muito baixa do parasita), o que pode sugerir que haja uma relação entre a presença do parasita e o IC dos peixes.

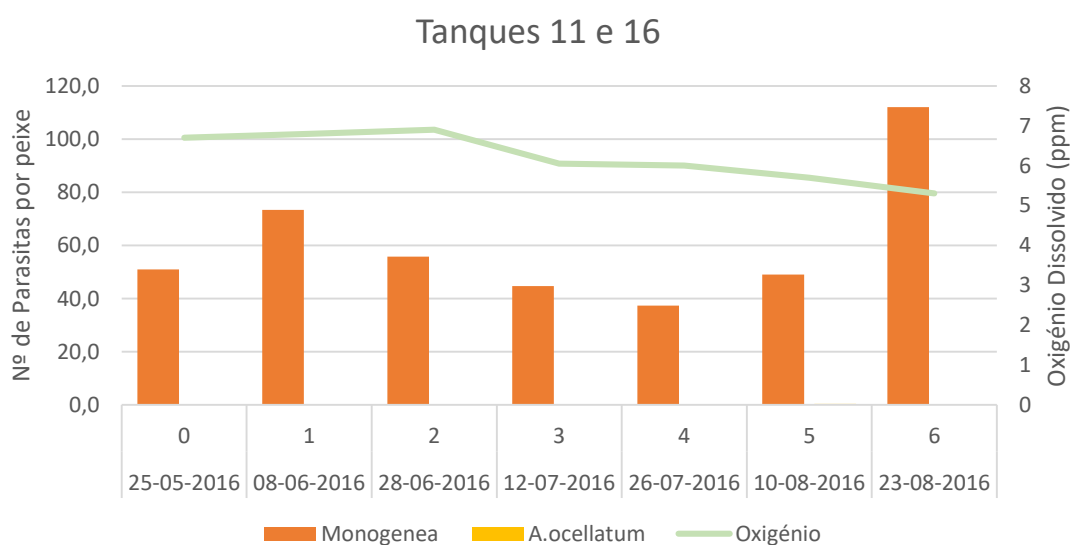
### 7.10.3. Parasitologia

Os resultados parasitológicos são apresentados com os valores médios entre os tanques com o mesmo tratamento. Fez-se uma média do valor de parasitas por peixe, tanto monogéneos como de *A. ocellatum*, nos tanques com mesmo tratamento e é feita uma relação com a média evolutiva da temperatura da água (° C) e oxigénio dissolvido (ppm) nos respetivos tanques.



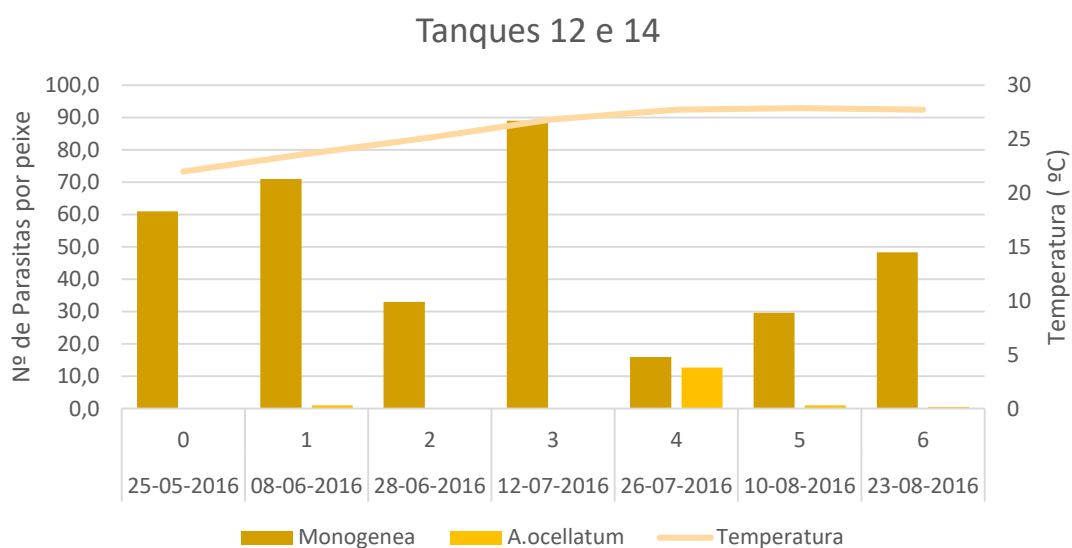
**GRÁFICO 22: RELAÇÃO PARASITÁRIA (MONOGÉNEOS E *AMYLOODINIUM OCELLATUM*) E TEMPERATURA DA ÁGUA (° C) NOS TANQUES 11 E 16.**

Pela análise do Gráfico 22, apesar do valor máximo de monogéneos corresponder a um valor próximo do máximo de temperatura, não parece haver relação, uma vez que nas amostragens 4 e 5 os valores de monogéneos foram substancialmente mais baixos e a temperatura foi semelhante.



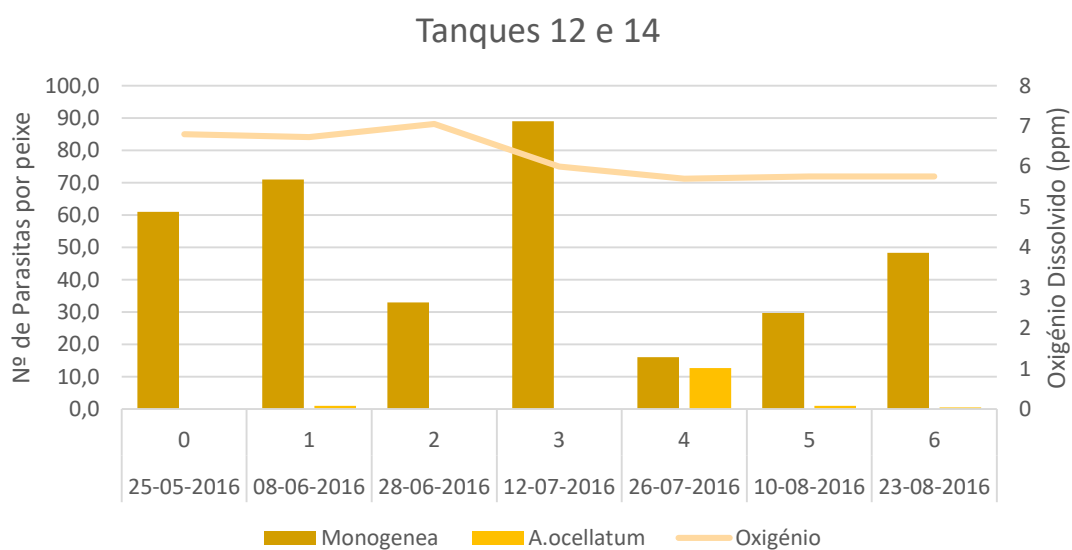
**GRÁFICO 23: RELAÇÃO PARASITÁRIA (MONOGÉNEOS E *AMYLOODINIUM OCELLATUM*) E OXIGÉNIO DISSOLVIDO NA ÁGUA (PPM) NOS TANQUES 11 E 16.**

No Gráfico 23 pode-se observar que os valores mínimos de oxigênio dissolvido na água corresponderam ao valor máximo de parasitas monogéneos, o que sugere uma possível relação de fatores.



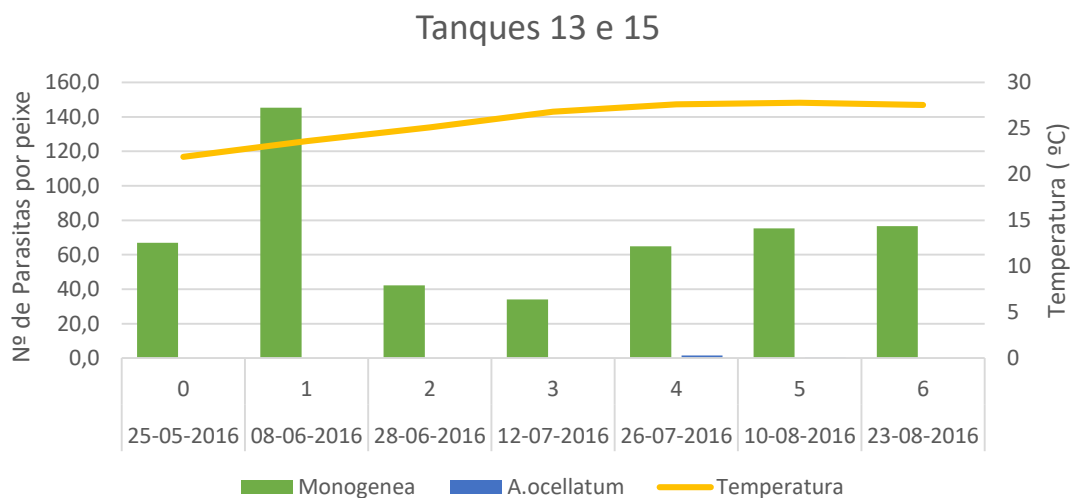
**GRÁFICO 24: RELAÇÃO PARASITÁRIA (MONOGÉNEOS E *AMYLOODINIUM OCELLATUM*) E TEMPERATURA DA ÁGUA (° C) NOS TANQUES 12 E 14.**

Como sugere a análise do Gráfico 24, os valores de máximos de *A. ocellatum* foram atingidos no pico máximo de temperatura, mas aparentemente não há uma tendência uma vez que a temperatura da água se manteve constante e os níveis de *A. ocellatum* reduziram significativamente. O mesmo aconteceu com os parasitas monogéneos.



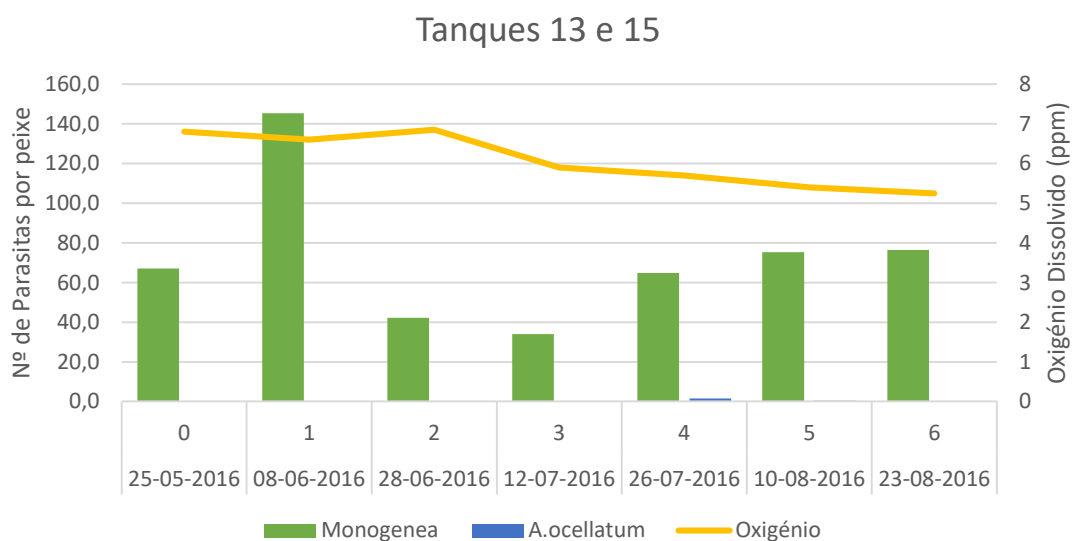
**GRÁFICO 25: RELAÇÃO PARASITÁRIA (MONOGÉNEOS E *AMYLOODINIUM OCELLATUM*) E OXIGÊNIO DISSOLVIDO NA ÁGUA (PPM) NOS TANQUES 12 E 14**

Na relação parasitária com o oxigénio dissolvido dos tanques 12 e 14 apresentada no Gráfico 25, ao contrário do que seria esperado, os níveis de monógenos foram superiores em níveis de oxigénio dissolvido mais elevados. O valor máximo de *A. ocellatum* correspondeu a um período de oxigénio dissolvido mais baixo, mas, tal como para a temperatura da água, não parece haver uma tendência.



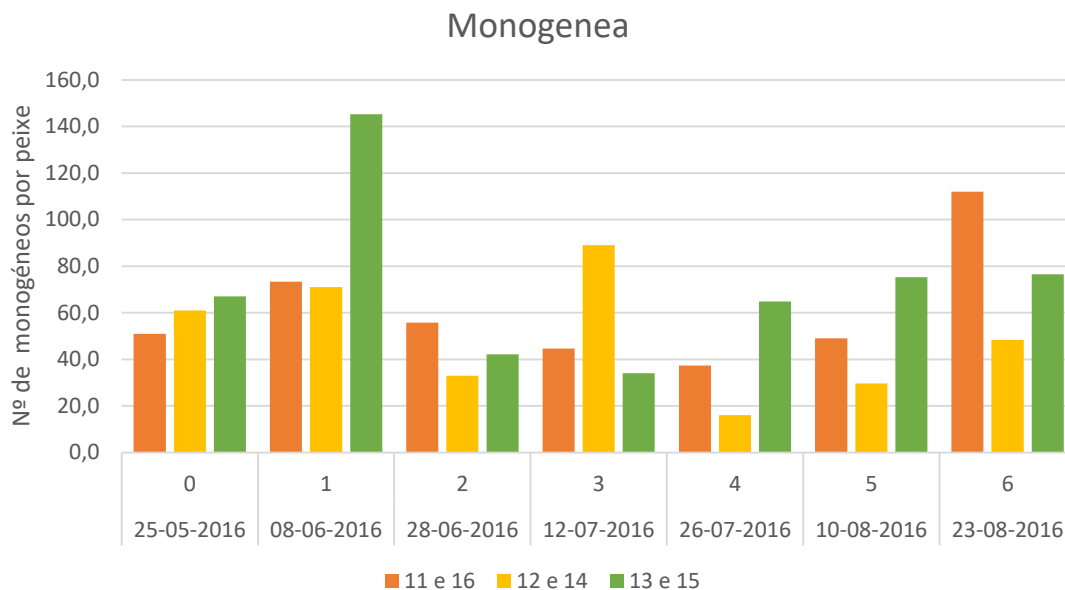
**GRÁFICO 26: RELAÇÃO PARASITÁRIA (MONOGÉNEOS E *AMYLOODINIUM OCELLATUM*) E TEMPERATURA DA ÁGUA (° C) NOS TANQUES 13 E 15.**

No Gráfico 26 podemos ver que o número de parasitas monogéneos atingiu os níveis mais elevados quando a temperatura estava mais baixa, o que não era esperado. Já a presença de *A. ocellatum*, mesmo que em pequena quantidade, surgiu na época de temperatura mais elevada.



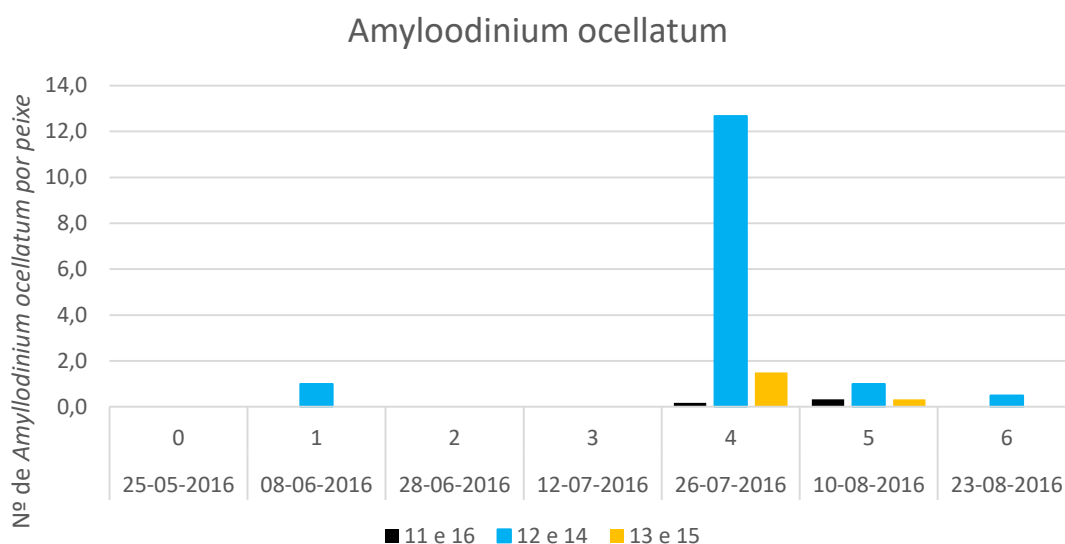
**GRÁFICO 27: RELAÇÃO PARASITÁRIA (MONOGÉNEOS E *AMYLOODINIUM OCELLATUM*) E OXIGÉNIO DISSOLVIDO NA ÁGUA (PPM) NOS TANQUES 13 E 15.**

Pela análise do Gráfico 27, não parece haver relação direta entre a média de oxigênio dissolvido na água e a média dos valores de parasitas nos tanques 13 e 15.



**GRÁFICO 28: COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS MÉDIOS DO NÚMERO DE PARASITAS MONOGÊNEOS POR TRATAMENTO, EM CADA AMOSTRAGEM.**

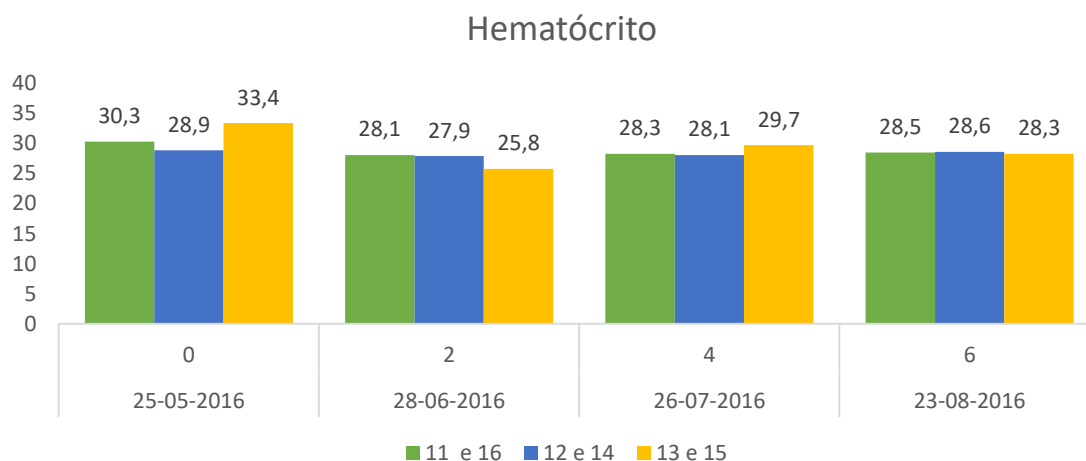
No Gráfico 28 é apresentada a relação do nível médio de parasitas monogêneos entre os tanques com diferentes tratamentos. O nível máximo de parasitas monogêneos foi atingido pelos tanques com apenas peixes e macroalgas (13 e 15) mas não é indicativo de uma tendência, uma vez que os valores variam e chega a ser o tanque com menor carga parasitária.



**GRÁFICO 29: COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS MÉDIOS DE *AMYLOODINIUM OCELLATUM* POR TRATAMENTO, EM CADA AMOSTRAGEM.**

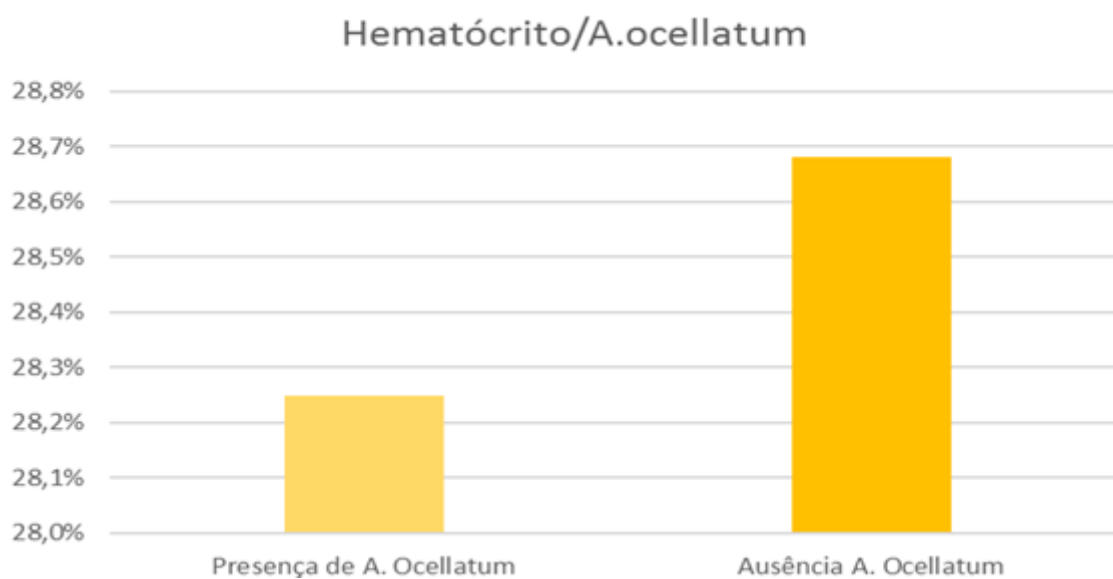
Pelo estudo do Gráfico 29 observa-se que os tanques com apenas ostras e peixes (12 e 14) foram aqueles que apresentaram sempre níveis de *A. ocellatum* superiores em relação aos restantes tanques. Pode-se ainda notar que houve um “surto” deste parasita no final do mês de julho, mas que os valores reduziram significativamente nas amostragens seguintes. Os tanques com ostras, peixes e algas (11 e 16) apresentaram menor abundância do parasita.

### 7.10.3. Hematologia



**GRÁFICO 30: VALORES MÉDIOS DE HEMATÓCRITO AGRUPADOS POR TRATAMENTO NAS 4 AMOSTRAGENS MENSAIS.**

A análise do Gráfico 30 sugere que apesar das diferenças bastante significativas entre a média dos valores dos diferentes tratamentos, não parece haver nenhuma tendência, uma vez que os valores máximos e mínimos atingidos pertencem ao mesmo duplicado de tanques (13 e 15).



**GRÁFICO 31: MÉDIA DOS VALORES DE HEMATÓCRITO ENTRE PEIXES PARASITADOS E NÃO PARASITADOS COM *AMYLOODINIUM OCELLATUM*.**

Apesar da diferença pouco significativa apresentada no Gráfico 31, pode-se observar que a média dos valores de hematócrito dos peixes parasitados com *Amyloodinium ocellatum* foi ligeiramente inferior aos restantes que não estavam infetados com este parasita, o que pode sugerir que haja uma relação de fatores.

## 7.11 Discussão

Apenas são apresentados os resultados que estavam disponíveis para análise. Uma vez que o projeto finaliza somente em novembro de 2016, muitos dos dados apenas serão trabalhados e estarão disponíveis para análise a partir dessa data.

Segundo a bibliografia atualmente disponível, são vários os fatores que despoletam a presença de parasitas nos peixes/tanque, sendo os mais relevantes a temperatura da água e o oxigênio dissolvido. Baixos níveis de oxigênio e altas temperaturas de água (acima dos 25 °C) estão descritos como potenciais desencadeadores de níveis parasitários e por esse motivo, sempre que uma destas condições se faz notar, os tanques são mantidos sob vigilância, sendo os meses de verão os mais críticos.

Contudo, existem muitos outros fatores a considerar, desde o regime de produção, densidade populacional praticada, espécies produzidas, estado geral dos peixes, etc... A presença ou ausência de macroalgas e ostras pode também ser um fator importante na relação com os níveis parasitários.

É sugestivo que os peixes com cargas parasitárias mais elevadas revelem níveis de índice corporal abaixo do pretendido, uma vez que o seu estado fisiológico pode estar comprometido e os seus níveis de *stress* aumentados.

Dos parasitas monogéneos contabilizados a grande maioria pertence ao género *Diplectanum spp.* e são facilmente identificados pelas suas características morfológicas. Ao contrário do que acontece com o *Amyloodinium ocellatum*, a sua identificação não implica um tratamento imediato, uma vez que a sua presença em baixas cargas é habitual. Quando a quantidade de monogéneos é considerada acima do desejado (dependendo da biometria do peixe e do seu estado geral), são feitas renovações de água que, regra geral, são suficientes para melhorar o panorama do tanque. Neste tipo de estudos comparativos, como já foi referido, sempre que se intervém num tanque (renovação de água para diminuir a carga parasitária, ajuste dos caudais, etc...) faz-se o mesmo procedimento em todos os tanques integrantes do projeto para evitar comprometimento de resultados.



## 8. Caso Clínico

O presente caso clínico vem no seguimento do projeto IMTA previamente apresentado uma vez que surgiu no seu decorrer.

### 8.1. História Clínica

No dia 14 de julho de 2016, durante a “Volta médica”, uma das rotinas matinais, foi avistada no Tanque Terra 12 (Pertencente ao projeto IMTA) a maioria dos Sargos Legítimo (*Diplodus sargus*) a nadar junto à superfície, na zona de entrada de água no tanque, com sinais de dificuldades respiratórias, boca fora de água, natação alterada, ausência de reação de fuga e muitos com ausência total de movimentos. Cerca de 15 peixes estavam mortos.

Reparou-se que o injetor de ar do tanque, ao contrário do que seria de esperar àquela hora, não estava a funcionar. Concluiu-se que por algum motivo o quadro elétrico tinha disparado e o injetor não estava em funcionamento.

### 8.2. Fatores Abióticos

**TABELA 13: FATORES ABIÓTICOS TT12. DIAS 13-16JULHO.**

| TT12<br>Dia | Valores Manhã |               |       | Valores Tarde |               |      |
|-------------|---------------|---------------|-------|---------------|---------------|------|
|             | O2<br>(ppm)   | Sat O2<br>(%) | T °C  | O2<br>(ppm)   | Sat O2<br>(%) | T °C |
| 13 Julho    | 5,16          | 75,6          | 25,75 | 5,6           | 85,5          | 27,2 |
| 14 Julho    | <b>1,6</b>    | <b>21</b>     | 25,8  | 7,06          | 117           | 29,3 |
| 15 Julho    | 5,85          | 87,9          | 26,2  | 5,25          | 83,6          | 28,2 |
| 16 Julho    | 4,2           | 62,7          | 25,8  | 4,79          | 75,4          | 27,7 |

Os fatores abióticos estão apresentados na Tabela 13 e, como se pode ver, no dia 14 julho de manhã os valores de oxigénio estavam muito abaixo do habitual.

### 8.3. Análise Parasitológica

De imediato recolheram-se peixes moribundos para análise parasitológica.

No dia 14 de julho a carga parasitária não era preocupante e não foi detetada presença de *Amyloodinium ocellatum*. O tanque foi mantido sob vigilância e no dia seguinte (15 julho) foi feita nova reavaliação parasitária. Os resultados revelaram presença de *A. ocellatum* numa carga considerável e, como sugerido na bibliografia, sempre que se deteta a sua presença inicia-se o tratamento de imediato (Devido à sua grande expansibilidade, capacidade de contágio, patogenicidade e aumento da dificuldade de controlo proporcional à carga parasitária do tanque).

#### 8.4. Tratamento Químico

Ainda no dia 14, após se ligar o injetor de ar e aumentar o caudal para renovação de água, foi adicionada uma dose de Peróxido de Hidrogénio (100 ppm) para uma rápida oxigenação da água, numa tentativa de repor os valores na normalidade o mais rápido possível.

No dia 15 após identificação de *Amyloodinium ocellatum* iniciou-se o tratamento com Sulfato de cobre Penta-hidratado. A sua aplicação é feita em banho contínuo, ou seja, é adicionada uma dose recomendada ao tanque e os valores de cobre nunca podem baixar de um mínimo estipulado. Antes da adição de cobre, baixou-se a água do tanque cerca de 20 cm para evitar que a concentração se alterasse com a renovação constante de água.

Este produto vem em estado sólido (pó) e é feita uma pequena diluição com água salina antes da incorporação no tanque, que por sua vez só é feita após a medição dos níveis de cobre na água do tanque (com um kit próprio) para evitar que sejam ultrapassados os valores máximos de concentração.

Foram feitos tratamentos bidários (a frequência da aplicação do produto está relacionada com as taxas de renovação de água praticadas) durante três dias.

#### 8.5. Reavaliação

Após três dias de tratamento com Sulfato de Cobre Penta-Hidratado, nos resultados da análise parasitológica ainda se fazia notar a presença de *A. ocellatum* e o tratamento prolongou-se por mais uma semana, até dia 25. No dia 26 julho (amostragem mensal), como se pode constatar pelos resultados previamente apresentados, ainda havia uma elevada carga do parasita. Prolongou-se o tratamento até dia 3 de agosto e fez-se nova reavaliação onde não foi identificada a presença do parasita, suspendendo-se o tratamento.

#### 8.6. Discussão

No dia 14 julho, após o correto funcionamento do injetor de ar e da aplicação de Peróxido de Hidrogénio, com a normalização dos valores, os peixes começaram a recuperar e a restabelecer os seus comportamentos habituais. As tainhas e corvinas presentes no tanque não chegaram a manifestar sinais.

Apesar da presença de *A. ocellatum* no tanque, com o tratamento aplicado e a vigilância constante, não houve mortes para além das iniciais (provocadas pela falta de oxigénio).

Para que o tratamento à base de cobre pudesse ser feito e de forma a evitar danos colaterais, o *longline* de ostras foi temporariamente transferido para outro tanque que não integrava o projeto.

Até a temperatura baixar dos 25° C o tanque manteve-se sempre sob vigilância e com avaliações parasitárias constantes.

## 9. Conclusão

Na literatura atualmente disponível existem diversos estudos que relacionam a ocorrência de patologias com fatores abióticos como a temperatura da água ou os níveis de oxigênio. Contudo, existem muitos outros fatores influentes a ter em conta.

Num regime de produção semi-intensivo exposto às condições da Natureza, como é o caso da EPPO, os tanques estão sujeitos a muitos fatores incontrolláveis pelo ser humano. Na teoria, os princípios de uma produção multi-trófica aparentam ser muito vantajosos, no entanto, serão necessários muitos ensaios, muitos estudos comparativos para que se consigam analisar todos os parâmetros que estão em causa. Além disso, é fundamental ter em consideração não só o sistema de produção, mas as próprias características do sistema e as espécies a produzir.

Neste estudo apresentado, os resultados não apresentaram nenhuma tendência relevante e nem sempre coincidiram com as descrições bibliográficas, possivelmente pela influência de muitos fatores externos e acima de tudo pelo curto período temporal que decorreu entre o início do projeto e a última recolha de resultados para apresentação. O período entre maio e agosto não apresentou grandes variações de fatores abióticos (temperatura da água e oxigênio dissolvido), não havendo termo de comparação com valores significativamente diferentes como seria de esperar nos meses de inverno.

O caso clínico apresentado pretende comprovar a dificuldade existente em tratar certas patologias. Uma vez que transmissão do agente infeccioso é feita pelo próprio meio e que o sedimento é um bom reservatório para esse tipo de agentes, o controle das doenças torna-se muito complicado e é de extrema importância iniciar o tratamento quando as cargas infecciosas ainda são baixas e ainda não há demonstração de sinais clínicos por parte dos habitantes do tanque, para isso é necessário um bom plano de vigilância e rotinas médicas bem estabelecidas. Desse modo, é fundamental proceder a boas práticas de higiene e segurança, evitando contaminações, bem como as boas práticas de uso farmacêutico, adaptando rigorosamente cada tratamento à patologia, nas doses e prazos estabelecidos.

Difícilmente se conseguirá controlar uma doença já em elevado estado de evolução e após o surgimento de sinais clínicos nos peixes.

Além da vertente médica e de bem-estar animal mais focada neste estudo, é ainda essencial para um produtor avaliar a perspectiva económico-financeira. Assim, só considerando os investimentos iniciais e fazendo a comparação do gasto na manutenção dos diferentes tipos de sistema bem como os lucros finais é que se poderá ter uma noção da adaptabilidade ao sistema multi-trófico. Nestes valores estará incluído o valor da mão-de-obra necessária, a aceitabilidade e valor dos produtos finais no mercado atendendo à sua qualidade e características.

## 10. Considerações Finais

A realização do estágio curricular na Estação Piloto de Piscicultura de Olhão foi extremamente importante no percurso académico e permitiu-me ganhar muitos conhecimentos e competências naquela que sempre foi a minha área de eleição: Espécies Marinhas.

Este estágio revelou-se uma surpresa muito agradável por me mostrar que mesmo tendo lidado pouco com o tema “Aquacultura” durante a parte letiva do curso de Medicina Veterinária, existem muitas ligações e muitas outras áreas que se aprendem durante o curso que são valências extremamente importantes para a compreensão e execução de diversos procedimentos. A grande maioria das disciplinas que envolvem uma componente médica foram utilizadas frequentemente durante este estágio, contudo, muitas outras como Estatística, Medicina Preventiva, Saúde Pública, Inspeção Sanitária, etc... revelaram-se de extrema importância e utilidade, não só para a execução de tarefas, bem como para a escrita do presente trabalho. Foi muito vantajoso não só a nível profissional, mas também a nível pessoal sentir que rentabilizei e coloquei em prática grande parte da teoria aprendida durante os cinco anos de formação académica.

Ao contrário do que se possa pensar, a formação em Medicina Veterinária possibilita uma grande autonomia numa aquacultura, principalmente se o principal propósito for a investigação como é o caso da EPPO e, pode-se revelar de extrema importância.

A aquacultura é uma área em constante desenvolvimento e continuará a ser e, por conseguinte, é importante apostar no desenvolvimento técnico e científico que permita não só aumentar a rentabilidade dos sistemas como aumentar a qualidade dos produtos alimentares.

Os grandes desafios atuais da aquacultura prendem-se com os mitos que “assombram” este ramo. É comum achar-se que os produtos de origem aquícola são deficitários em qualidade e que muitas vezes representam um risco para a saúde pública por razões relacionadas com a aplicação de químicos (hormonas, tratamentos, etc...), no entanto, é importante que se conheça um pouco melhor as linhas de produção aquícola bem como as regras e regulamentos para o uso de fármacos. Associada a este facto está toda a burocracia e exigências legais que, não só inviabilizam possíveis projetos, como de certa forma, limitam os atualmente existentes. Esse é o principal motivo pelo qual têm encerrado muitas aquaculturas em Portugal.

A EPPO tem um grande impacto na desmistificação dos produtos aquícolas, realizando constantemente campanhas de sensibilização, instrução e demonstração das boas práticas de uma aquacultura, apresentando também produtos finais de grande qualidade.

O grande reconhecimento internacional da EPPO valoriza muito o trabalho de investigação desenvolvido diariamente e é uma fonte de inspiração e motivação para quem colabora e integra os diferentes projetos ocorrentes. O facto de se obterem resultados e de se descobrirem técnicas que aumentam e melhoram a produção e, por conseguinte, o estado da aquacultura nacional, satisfazendo os hábitos alimentares de uma população transforma-se numa grande realização pessoal.

#### IV. Bibliografia

Albinati, R.C.B (2007). Aquicultura: Cadeia Produtiva e Inserção do Médico Veterinário e do Zootecnista. Revista CFMV, No.40, Brasília, 9.

Alencar, J. R. (2005). Cultivo da macroalga *Ulva lactuca* Linneaus (*Chlorophyta*) integrado à produção do camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), para tratamento de efluentes em sistema fechado de recirculação (Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Universidade Federal de Santa Catarina).

Andree, K. B., Roque, A., Duncan, N., Gisbert, E., Estevez, A., Tsertou, M. I., Katharios, P. (2016). *Diplectanum sciaenae* (Van Beneden & Hesse, 1863) (Monogenea) infecting meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) broodstock in Catalonia, Spain. A case report. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*.

Aquaculture Europe (2010) Focus on Portugal: Current Status and perspectives. *Aquaculture Europe*.

Bakos, J. (1984) *Technology for Fish Propagation*. Fish Culture Research Institute. Szarvas, Hungary.

Barazi-Yeroulanos, L. (2010). Synthesis of Mediterranean marine finfish aquaculture – a marketing and promotion strategy. *Studies and Reviews*. General Fisheries Commission for the Mediterranean. No. 88. Rome, FAO, 198.

Barber, I. (2007). Parasites, behaviour and welfare in fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 104(3), 251-264.

Barg, U., & Lavilla-Pitago, C. R. (1996). The use of chemicals in aquaculture: a summary brief of two international expert meetings. *FAO Aquaculture Newsletter* (FAO).

Barrington, K., Chopin, T. and Robinson, S. (2009). Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine temperature waters. In D.Soto (ed.). *Integrated mariculture: a global review*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 529. Rome, FAO. 7-46

Bauchot, M. L. & J. C. Hureau. (1986). Sparidae In: P.J.P. Whitehead, M. L. Bauchot, J. C. Hureau, J. Nielsen and E. Tortonese (eds). *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean* (FNAM). Unesco, Paris. Vol. II: 883-907.

Benhamed, S., Guardiola, F. A., Mars, M., & Esteban, M. Á. (2014). Pathogen bacteria adhesion to skin mucus of fishes. *Veterinary microbiology*, 171(1), 1-12.

Beveridge, M. C. M. (ed) (2004) *Cage Aquaculture - Origins and Principles*, in *Cage Aquaculture*, Third Edition, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK

Bolton, J. J., Robertson-Andersson, D. V., Shuuluka, D., & Kandjengo, L. (2009). Growing *Ulva* (*Chlorophyta*) in integrated systems as a commercial crop for abalone feed in South Africa: a SWOT analysis. *Journal of Applied Phycology*, 21(5), 575-583.

Bondad-Reantaso, M.G., McGladdery, S.E., East, I. and Subasinghe, R.P (eds.). (2001). *Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases*. FAO Fisheries Technical Paper No. 402, Supplement 2. Rome, FAO. 240p.

Caprette, David R. (2012). Examining a Mammalian Blood Smear. *Experimental Biosciences - Resources for introductory and intermediate level laboratory courses*. Disponível em: <http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/studies/sds-page/bloodcytology.html>.

Consultado pela última vez em 2016/09/10.

Cecchini, S., Saroglia, M., Berni, P., & Cognetti-Varriale, A. M. (1998). Influence of temperature on the life cycle of *Diplectanum aequans* (Monogenea, Diplectanidae), parasitic on sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *Journal of Fish Diseases* (United Kingdom).

Chopin, T., Robinson, S. M. C., Troell, M., Neori, A., Buschmann, A., & Fang, J. G. (2008). Ecological engineering: multi-trophic integration for sustainable marine aquaculture.

Christo, S. W. (2006). *Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do género Crassostrea sacco, 1897 na Baía de Guaratuba (Paraná-Brasil): um subsídio ao cultivo*.

das Comunidades Europeias, C. C. (2002). *Estratégia de Desenvolvimento Sustentável da Aqüicultura Européia*.

CONCEA (2013). *Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA*. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.

Cooke S., S. Suski, K. Ostrand, B. Tufts, D. Wahl. (2004). Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 239: 509-529.

Coutinho, Â. (2012). *Influência da variação sazonal no valor nutricional e avaliação da estabilidade da ostra do Sado*. Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar do Instituto Politécnico de Leiria.

Cruz-Suárez, L. E., León, A., Peña-Rodríguez, A., Rodríguez-Peña, G., Moll, B., Ricque-Marie, D. (2010). Shrimp/*Ulva* co-culture: a sustainable alternative to diminish the need for artificial feed and improve shrimp quality. *Aquaculture*, 301(1), 64-68.

DGPA, G.D. *Aquicultura -Artigos de Vulgarização, Relatório Final do Grupo de Trabalho do Sector da Aquicultura*. Disponível em [www.dgpa.min-agricultura.pt/](http://www.dgpa.min-agricultura.pt/).

Consultado pela última vez em 2016/08/01.

- Diniz, M. (1998). A Aquacultura. In M. Henriques, Manual de Aquacultura. Lisboa, Portugal, 13.
- Elvira A. (1989). Baluyut. Aquaculture Systems and Practices: A Selected Review. United Nations Development Programme. Food and Agriculture Organization Of The United Nations. Rome.
- Fezzardi D., Massa F., Àvila-Zaragoza P., Rad F., Yücel-Gier G., Deniz H., Hadj Ali Salem M., Hamza H.A., Ben Salem S. (2013). Indicators for sustainable aquaculture in Mediterranean and Black Sea countries. Guide for the use of indicators to monitor sustainable development of aquaculture. Studies and Reviews. General Fisheries Commission for the Mediterranean. No 93. Rome, FAO. 60 pp.
- Fim, J. D. I., & de Almeida, A. M. (2007). Efeito de banhos terapêuticos com peróxido de hidrogênio sobre os parâmetros sanguíneos de tambaqui (*C% ssoma macropomum*) após infecção por *Aeromonas hydrophila*.
- Food And Agriculture Organization (2005). Full text of the Fisheries and Aquaculture Country Profile. Disponível em [ftp://ftp.fao.org/FI/DOCUMENT/fcp/en/FI\\_CP\\_PT.pdf](ftp://ftp.fao.org/FI/DOCUMENT/fcp/en/FI_CP_PT.pdf). Consultado pela última vez em 2016/09/02.
- Food And Agriculture Organization. (2006). State of world aquaculture 2006. FAO Fisheries Technical Paper No. 500 Rome: FAO.
- Food And Agriculture Organization. (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Roma. 253 págs. (Disponível em <http://www.fao.org/3/a-i3720s/index.html> ) Consultado pela última vez em 2016/09/05.
- Food And Agriculture Organization. (2016c). Cultured Aquatic Species Information Programme, *Sparus aurata*. Disponível em ([http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus\\_aurata/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en)) Consultado pela última vez em 2016/09/05.
- Food And Agriculture Organization. (2016d). Cultured Aquatic Species Information Programme, *Diplodus sargus*. Disponível em (<http://www.fao.org/fishery/species/2370/en>) Consultado pela última vez em 2016/09/05.
- Food And Agriculture Organization. (2016b). Cultured Aquatic Species Information Programme, *Mugil cephalus*. Disponível em ([http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil\\_cephalus/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/en)) Consultado pela última vez em 2016/09/05.
- Food And Agriculture Organization. (2016e). Cultured Aquatic Species Information Programme, *Crassostrea gigas*. Disponível em: ([http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Crassostrea\\_gigas/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Crassostrea_gigas/en)).
- Consultado pela última vez em 2016/09/06.
- Food And Agriculture Organization (2016a). The state of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Roma. 200.

Food And Agriculture Organization (2016e). Fisheries and Aquaculture Department. Fish health management. Disponível em <http://www.fao.org/fishery/topic/16124/en>  
Consultado pela última vez em 2016/08/20.

Foster-Smith, R. L. (1975). The effect of concentration of suspension and inert material on the assimilation of algae by three bivalves. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 55(02), 411-418.

Francis-Floyd, R., & Floyd, M. R. (2011). *Amyloodinium ocellatum*, an important parasite of cultured marine fish. Southern Regional Aquaculture Center.

Franco, E. F. M., Roche, D. G., & Torchin, M. E. (2008). New species of *Diplectanum* (Monogenoidea: Diplectanidae), and proposal of a new genus of the Dactylogyridae from the gills of gerreid fishes (Teleostei) from Mexico and Panama. *Folia parasitologica*, 55(3), 171.

Frimeth, J. (1994). 3.1. 1 General Procedures for Parasitology. Ontario Ministry of Natural Resources. Fish Health Lab, Department of Microbiology, College of Biological Science. Universidade de Guelph, Canada.

GFCM. (2009). Report of the 11th Session on Information System for the Promotion of Aquaculture in the Mediterranean (SIPAM). Trabzon, Turkey, 19.

Gonçalves A. (2012). Agonistic Behaviour of Juvenile White Seabream (*Diplodus sargus*): Implications for Aquaculture. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

Harrison, I.J. & Senou, H. (1999). Order Mugiliformes. Mugilidae. Mulletts. In: K.E. Carpenter & V.H. Niem (eds.), FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Volume 4. Bony fishes Part 2 (*Mugilidae to Carangidae*), pp. 2069–2108. FAO, Rome, Italy.

Helm, M.M, Bourne, N.; Lovatelli, A. (comp/ed.). (2004). Hatchery Culture of bivalves. A practical manual. FAO Fisheries Technical Paper. No. 471. Rome, FAO, 177.

Henriques, M. A. (1998). Manual de aquacultura. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.

Ighwela K. A., Ahmed, A. B., & Abol-Munafi, A. B. (2011). Condition factor as an indicator of growth and feeding intensity of Nile tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*) feed on different levels of maltose. *Agric. & Environ. Sci*, 11(4), 559.

Ishikawa, M. M., PÁDUA, S. D., Satake, F., de Pietro, P. S., & Hisano, H. (2010). Procedimentos básicos para colheita de sangue em peixes. Embrapa Agropecuária Oeste. Circular técnica.

J. E. Williams. (2000). The Coefficient of Condition of Fish. Capítulo 13 in Schneider, James C. (ed.). Manual of fisheries survey methods II: with periodic updates. Michigan Department of Natural Resources, Fisheries Special Report 25, Ann Arbor.



Jhingran, V.G. (1987). Introduction to aquaculture. United nations development programme food and agriculture organization of the united nations. Nigerian institute for oceanography and marine research project raf/82/009.

Joseph R. Tomelleri, Fishes of Texas. A Virtual Museum on the State's Fish Biodiversity.(Disponível em <http://www.fishesoftexas.org/taxonomy>) Consultado pela última vez em 2016/09/05.

Kepenyes J. and L. Váradi. (1984) Aeration and Oxygenation in Aquaculture. Fish Culture Research Institute. Food and Agriculture Organization Of The United Nations. Szarvas, Hungary.

King W. V., B. Hooper, S. Hillsgrove, C. Benton, D. L. Berlinsky. (2005). The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol *stress* response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). *Aquac Res* 36, 1442-1449.

Kovalenko, E. E., D'Abramo, L. R., Ohs, C. L., & Buddington, R. K. (2002). A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 210(1), 385-395.

Lavens, P; Sorgeloos, P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Rome, FAO. 295p.

Le-Breton, A. (1996). An overview of the main infectious problems in cultured seabass *Dicentrarchus labrax* and seabream *Sparus aurata*: solutions? pp. 67-86 In: Handbook of contributions and short communications presented at the International Workshop on 'Seabass and Seabream Culture: Problems and Prospects', Verona, Italia, de Outubro 16-18. European Aquaculture Society, Oostende, Belgium.

Lee, C. S., Tamaru, C. S., Miyamoto, G. T., & Kelley, C. D. (1987). Induced spawning of grey mullet (*Mugil cephalus*) by LHRH-a. *Aquaculture*, 62(3), 327-336.

Lin, H-J., Shao, K-T., Hsieh, H-L., Lo, W-T., and Dai, X-X. (2009). The effects of system-scale removal of oyster-culture racks from Tapong Bay, southwestern Taiwan: model exploration and comparison with field observations. – *ICES Journal of Marine Science*, 66, 797–810.

Lindberg M. Seaweeds of Alaska. *Ulva lactuca*. (Disponível em: <http://www.seaweedsfalaska.com/species.asp?SeaweedID=13> ). Consultado pela última vez em 2016/08/08.

Loix, B. (1986). Technics used for intensive rearing and alimentation of fish and shellfish. Mediterranean Regional Aquaculture Project. Villanova di Motta di Livenza, Italia.

Lubzens, E., O.Zamora.(2003). Production and nutritional value of rotifers. In: Stottrup, J. G., L. A. McEvoy (Eds.), Live Feeds in Marine Aquaculture. Blackwell Scientific Publications Ltd, Oxford, 17-64.

- Luque, J. L. (2004). Biología, epidemiología e controle de parasitos de peixes. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 13(Supl 1), 161-165.
- Marfaing, H., & Lerat, Y. (2007). Les algues ont-elles une place en nutrition?. *Phytothérapie*, 5(1), 2-5.
- Martinez-Cordova, L. R., & Martinez-Porchas, M. (2006). Polyculture of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, giant oyster, *Crassostrea gigas* and black clam, *Chione fluctifraga* in ponds in Sonora, Mexico. *Aquaculture*, 258(1), 321-326.
- Martins, M. L., Cardoso, L., Marchiori, N., & Benites de Pádua, S. (2015). Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24(1), 1-20.
- Midtlyng, P. J., Bleie, H., Helgason, S., Jansson, E., Larsen, J. L., Olesen, N. J., ... & Vennerstrøm, P. (2000). Nordic manual for the surveillance and diagnosis of infectious diseases in farmed salmonids. Nordic Council of Ministers.
- Moretti, A; Pedini Fernandez-Criado, M.; Cittolin, G.; Guidastrì, R. (1999). Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream. Vol. 1. Rome, FAO. 194. 83-90
- Neiffer D., M. Stamper. (2009). Fish Sedation, Anaesthesia, Analgesia, and Euthanasia: Considerations, Methods, and Types of Drugs. *ILAR Journal* 50: 343-360.
- New, M. B. (2002). Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). Food and agriculture organization of the United Nations. No. 428.
- Nilsson, H., & Wetengere, K. (1994). Adoption and viability criteria for semi-intensive fish farming: A report on a socio-economic study in Ruvuma and Mbeya regions, Tanzania.
- Ohs, C. L., Chang, K. L., Grabe, S. W., DiMaggio, M. A., & Stenn, E. (2010). Evaluation of dietary microalgae for culture of the calanoid copepod *Pseudodiaptomus pelagicus*. *Aquaculture*, 307(3), 225-232.
- OIE (2009). Methods for disinfection of aquaculture establishments. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals.
- OIE (2016). Aquatic Animal Health Code. 19ª Edição. Disponível em: <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/aquatic-code/>. Consultado pela última vez em 2016/09/10.
- Oregon Sea Grant Marine Education Program (2016). Hatfield Marine Science Center. Fish Dissection.
- Oren, O.H. (1981). Aquaculture of grey mullets. (International Biological Programme No. 26). Cambridge University Press, Cambridge, England. 507 pp.
- Oswald S. (2015). ZLY 103 Animal Diversity phylum platyhelminthes The Acoelomates.

- Pereira, J. C., Abrantes, I., Martins, I., Barata, J., Frias, P., & Pereira, I. (2011). Ecological and morphological features of *Amyloodinium ocellatum* occurrences in cultivated gilthead seabream *Sparus aurata* L.; A case study. *Aquaculture*, 310(3), 289-297.
- Pita, C., Gamito, S., & Erzini, K. (2002). Feeding habits of the gilthead seabream (*Sparus aurata*) from the Ria Formosa (southern Portugal) as compared to the black seabream (*Spondyliosoma cantharus*) and the annular seabream (*Diplodus annularis*). *Journal of Applied Ichthyology*, 18(2), 81-86.
- Poli, B. M., Parisi, G., Scappini, F., & Zampacavallo, G. (2005). Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International*, 13(1-2), 29-49.
- Pousão-Ferreira, P. (1995). A produção em piscicultura marinha: alguns aspectos da sua metodologia. Actas do 8º Congresso do Algarve, pp-853-860
- Pousão-Ferreira, P. (2008). Piscicultura em Mar Aberto, XI Jornadas Técnicas "O Sector Marítimo Português", IST, APL e IPIMAR
- Rahman, M. M., Varga, I., & Chowdhury, S. N. (1992). Manual on polyculture and integrated fish farming in Bangladesh.
- Ramos, P. (2006). Morbilidade/Mortalidade de peixe: o que fazer? In *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* nº 558-560, (pp 299-304).
- Reed, P., Francis-Floyd, R., Klinger, R., & Petty, D. (2009). Monogenean parasites of fish. *Fisheries and Aquatic Sciences*. University of Florida, 1-4.
- Ren, J. S., Stenton-Dozey, J., Plew, D. R., Fang, J., & Gall, M. (2012) An ecosystem model for optimising production in integrated multitrophic aquaculture systems. *Ecological Modelling*, 246, 34-46.
- Rohde, K. (Ed.). (2005). *Marine parasitology*. Csiro Publishing.
- Ronald, J. R. (2012). *Fish Pathology*. 4ª Edição, Wiley-blackwell (ed.), 298-299.
- Roque A. (2010). *Introdução às Doenças de Peixes Marinhos*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera.
- Ross L. G., B. Ross. (2008). *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*. Blackwell Publishing. Oxford, UK.
- Russell, N. R., Fish, J. D., & Wootton, R. J. (1996). Feeding and growth of juvenile sea bass: the effect of ration and temperature on growth rate and efficiency. *Journal of Fish Biology*, 49(2), 206-220.
- Sarà, G., & Mazzola, A. (1997). Effects of trophic and environmental conditions on the growth of *Crassostrea gigas* in culture. *Aquaculture*, 153(1), 81-91.

- Sargent, J., L. McEvoy, J. G. Bell, (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155, 117-127
- Satake F., Pádua S. B., Ishikawa M. M. (2009). Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In: Tavares-Dias M. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá. P. 330-345.
- SeaWeb. (2005). Diseases and Parasites in Aquaculture. SeaWeb Aquaculture Center Fact Sheet Series.
- Shariff, M., Iskandar, C. T. N. F., Hassan, L., & Dhaliwal, G. K. (2004). New horizon for veterinarians in aquaculture. *Animal health: a breakpoint in economic development*, 17-20.
- Sim, S. Y., Rimmer, M. A., Toledo, J. D., Sugama, K., Rumengan, I., Williams, K. C., & Phillips, M. J. (2005). A guide to small-scale marine finfish hatchery technology. NACA, Bangkok, Thailand, 17.
- Snieszko, S.F. (1974). The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *J. Fish. Biol.* 6:197-208.
- Soares, F., Quental-Ferreira, H., Moreira, M., Cunha, E., Ribeiro, L., & Pousão-Ferreira, P. (2012). First report of *Amyloodinium ocellatum* in farmed meagre (*Argyrosomus regius*). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 32(1), 31.
- Sola, L., Moretti, A., Crosetti, D., Karaïskou, N., Magoulas, A., Rossi, A. R., ... & Tsigenopoulos, C. S. (2006). Gilthead seabream—*Sparus aurata*. In *Proceedings of the WP1 workshop on Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish*, Viterbo, Italia, 12-17.
- Soto, D. (2009). *Integrated Mariculture: A Global Review*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 529, Roma.
- Sutili F. J., Gressler, L. T., Baldisserotto, B. (2014). Anthelmintic activity of the phytochemical eugenol against the fish parasite *Gyrodactylus* sp. and acute toxicity in *Daphnia pulex*. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 9(3), 223-227.
- Swann L. (1997). *A fish farmer's guide to understanding water quality*. Aquaculture Extension, Illinois-Indiana Sea Grant Program.
- Troell, M., Joyce, A., Chopin, T., Neori, A., Buschmann, A. H., & Fang, J. G. (2009). Ecological engineering in aquaculture—potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. *Aquaculture*, 297(1), 1-9.
- UNESCO, P. F., & World Health Organization. (1997). *Towards safe and effective use of chemicals in coastal aquaculture*. Reports and Studies, GESAMP. No. 65. Roma, FAO. 1997. 40.

Varo, I., Nunes, B., Amat, F., Torreblanca, A., Guilhermino, L., & Navarro, J. C. (2007). Effect of sublethal concentrations of copper sulphate on seabream *Sparus aurata* fingerlings. *Aquatic Living Resources*, 20(3), 263-270.

Vaz, C. L. D. O. (2011). Efeitos do cobre no sargo (*Diplodus sargus*, Linnaeus 1758): implicações quer a nível fisiológico, quer de crescimento ((Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária).

Wang, G. X., Han, J., Feng, T. T., Li, F. Y., & Zhu, B. (2009). Bioassay-guided isolation and identification of active compounds from Fructus Arctii against *Dactylogyrus* intermedius (Monogenea) in goldfish (*Carassius auratus*). *Parasitology research*, 106(1), 247-255.

Woynarovich, E. (1980). The artificial propagation of warm-water finfishes-a manual for extension. Food and agriculture organization of the United Nations,.

Zahl, I. H., O. Samuelsen, and A. Kiessling. (2012). Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry* 38: 201-218.

## V. Anexos

Ficha de Análise Patológica Individual (desenvolvida durante o estágio curricular)

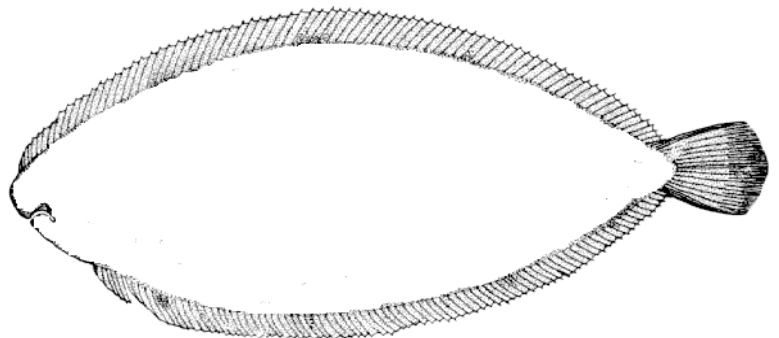
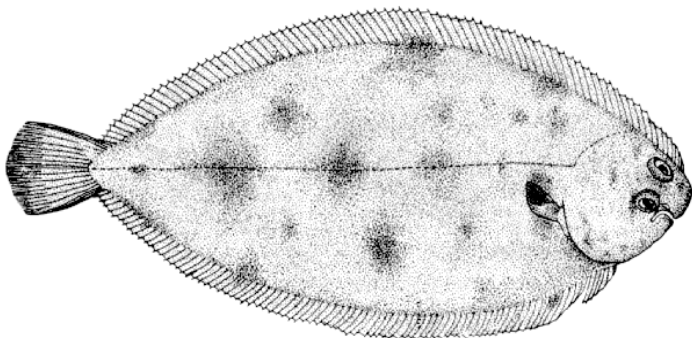
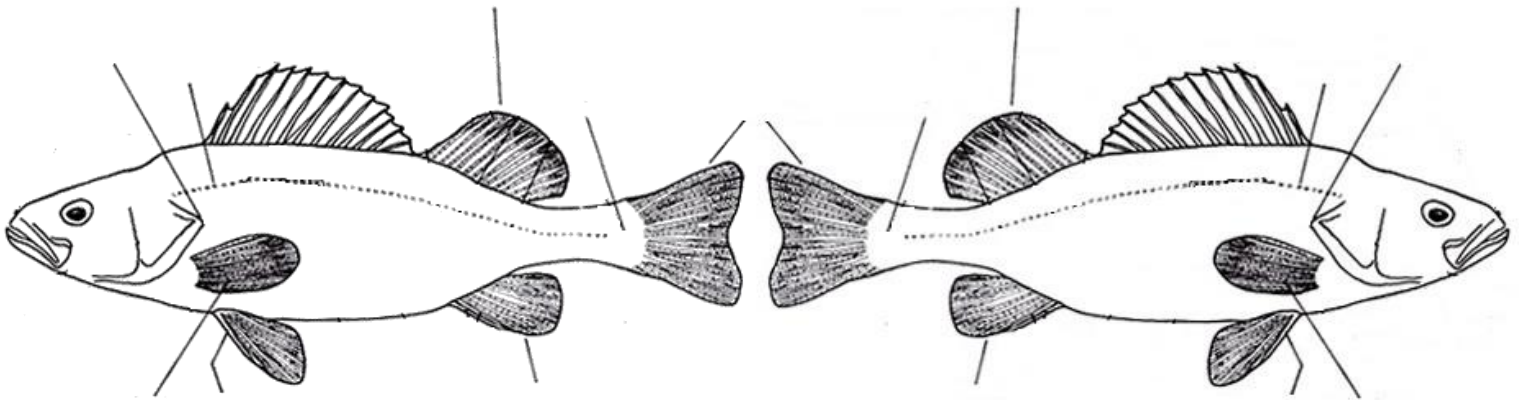
|   |  |                   |                          |
|---|--|-------------------|--------------------------|
| Nº Amostra                              |  | Total de Amostras |                          |
| Referência                              |  | Tanque            |                          |
| Registo fotográfico anexado ao processo |  | Sim               | <input type="checkbox"/> |
|   |  | Não               | <input type="checkbox"/> |

|                         |  |       |      |
|-------------------------|--|-------|------|
| Identificação do Animal |  |       |      |
| Espécie                 |  | Idade |      |
| Nº Identificação (Chip) |  |       | Sexo |
|                         |  |       |      |

|          |                         |                        |
|----------|-------------------------|------------------------|
| Peso (g) | Comprimento Furcal (cm) | Comprimento Total (cm) |
|          |                         |                        |

|   |                          |                          |     |                          |
|---|--------------------------|--------------------------|-----|--------------------------|
| Sacrifício                                    | Sim                      | <input type="checkbox"/> | Não | <input type="checkbox"/> |
| Data  |                          |                          |     |                          |
| Método  |                          |                          |     |                          |
| Análise Patológica de Animal Encontrado Morto | <input type="checkbox"/> |                          |     |                          |

## Exame de Estado Geral



### Sintomatologia Externa

| S/N/NO/Local./Qt   |  |
|--------------------|--|
| Anorexia           |  |
| Lordose            |  |
| Cifose             |  |
| Deformação Dorsal  |  |
| Deformação Ventral |  |
| Exoftalmia         |  |
| Opacidade Ocular   |  |
| Feridas            |  |
| Úlceras            |  |
| Zonas Necróticas   |  |
| Pontos Brancos     |  |
| Manchas Escuras    |  |
| Corpo Hemorrágico  |  |

| S/N/NO/Local./Qt        |  |
|-------------------------|--|
| Boca Hemorrágica        |  |
| Hemorragia Periocular   |  |
| Brânquias Hemorrágicas  |  |
| Hemorragia Perianal     |  |
| Barbatanas Hemorrágicas |  |
| Coloração das Brânquias |  |
| Excesso de Muco         |  |
| Alteração do Muco       |  |
| Parasitas Externos      |  |
| Parasitas nas Brânquias |  |
| Barbatanas Ratadas      |  |
| Nódulos (Linfocistos)   |  |
| Inchaço Abdominal       |  |
| Deformação Abdominal    |  |

### Sintomatologia Interna

| S/N/NO/Norm./Qt  |  |
|------------------|--|
| Ascite           |  |
| <b>Fígado</b>    |  |
| Volume Aumentado |  |
| Hemorragias      |  |
| Petéquias        |  |
| Necrose Focal    |  |
| Nódulos          |  |
| Coloração        |  |
| Peso (g)         |  |
| <b>Baço</b>      |  |
| Volume Aumentado |  |
| Petéquias        |  |
| Necrose Focal    |  |
| Pontos Brancos   |  |
| Nódulos          |  |
| Coloração        |  |
| Peso (g)         |  |
| <b>Cérebro</b>   |  |
| Alterações       |  |

| S/N/NO/Norm./Qt                                 |  |
|---|--|
| <b>Bexiga-natatória</b>                         |  |
| Alterações                                      |  |
| Hemorragias                                     |  |
| <b>Rim</b>                                      |  |
| Volume Aumentado                                |  |
| Consistência Alterada                           |  |
| Necrose Focal                                   |  |
| Nódulos   |  |
| Coloração                                       |  |
| Peso (g)  |  |
| <b>Sistema Digestivo (Estômago e Intestino)</b> |  |
| Acumulação de comida não digerida               |  |
| Hemorragias                                     |  |
| Acumulação de líquido seroso                    |  |
| Presença de líquido sanguinolento               |  |

LEGENDA: S – Sim; N- Não; NO – Não Observado; Local. – Localização; Qt – Quantidade; Norm. - Normal  
 Caso haja outra sintomatologia não descrita na tabela ou caso seja relevante pormenorizar determinada afeição, por favor, fazê-lo no verso da folha.  
 Espaços por preencher serão considerados não relevantes para o efeito pretendido.

**Dados Clínicos do Animal Vivo**

|  |        |  |     |      |
|--|--------|--|-----|------|
| Tratamento Necessário?   | Sim    |  | Não |      |
| Tratamento Geral do Tanque (Descrito na Ficha Geral De Amostragem)     |        |  |     |      |
| Fármaco a Utilizar   |        |  |     | Dose |
| Data do Tratamento   | Início |  | Fim |      |
| História Pgressa (anamnese) do Animal                                  |        |  |     |      |
| Motivo do Tratamento<br>Suspeita Clínica<br>Prognóstico                |        |  |     |      |
| Descrição/Indicações do Tratamento<br>Observações<br>Medidas a Adoptar |        |  |     |      |
| Repetição do Ciclo de Tratamento?                                      |        |  |     |      |

**Dados Clínicos do Animal Morto/Sacrificado**

|                  |  |
|------------------|--|
| História Pgressa |  |
| Suspeita Clínica |  |

**Material colhido para exames complementares**

|                 |                |                |       |
|-----------------|----------------|----------------|-------|
| Histopatológico | Bacteriológico | Parasitológico | Outro |
|-----------------|----------------|----------------|-------|

NOTA: Caso se trate de um exame parasitológico, anexar a respectiva folha de registos.

|   | Hist | Bact | Orgão/Tecido Amostrado | Referência | Data Envio | Data Recep. | Data Exame | Responsável |
|---|------|------|------------------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|
| 1 |      |      |                        |            |            |             |            |             |
| 2 |      |      |                        |            |            |             |            |             |
| 3 |      |      |                        |            |            |             |            |             |
| 4 |      |      |                        |            |            |             |            |             |
| 5 |      |      |                        |            |            |             |            |             |

**Diagnóstico/Resultados/Conclusões/Observações**

|   |
|---|
| - |
| - |
| - |
| - |
| - |

NOTA: Caso seja necessário, continuar no verso da folha.