



Relatório de Estágio no Aquário Vasco da Gama

Rui Patrício dos Santos Calado

2017/2018

Relatório de Estágio no Aquário Vasco da Gama

Rui Patrício dos Santos Calado

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Dra. Maria de Fátima Santos Gil e
coorientação da especialista Teresa Maria Coelho Baptista

2017/2018

Título: Relatório de Estágio no Aquário Vasco da Gama

Copyright © Rui Patrício dos Santos Calado

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2018

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

Agradecimentos

Agradeço a todo o *staff* do serviço de aquariologia do Aquário Vasco da Gama pelos conhecimentos que partilharam comigo, pela paciência e boa disposição que sempre demonstraram.

Agradeço, em especial, à Dra. Fátima Gil, por todo o conhecimento que me transmitiu e pelo grande apoio que me prestou ao longo dos sete meses de estágio.

Agradeço, ainda, à Dra. Carla Sousa Santos, por todas as pequenas (grandes) ajudas que me deu na elaboração dos protocolos e do poster, pelo apoio que me foi dando ao longo do percurso de estágio, bem como pelos conhecimentos que me transmitiu.

Deixo, também, o meu agradecimento à minha orientadora, à Professora Dra. Teresa Baptista, por todo o apoio dado durante o estágio.

Em último lugar, e não menos importante, agradeço aos meus pais e família por me ajudarem e me possibilitarem estes 5 anos de faculdade, bem como à minha namorada por me apoiar nos momentos mais difíceis.

Resumo

Trabalhar num Aquário Público apresenta múltiplos desafios: lidar com organismos vivos que requerem cuidados e monitorização constante e especializada, em ambiente húmido, salgado e, por vezes, gelado, é um trabalho que implica rotinas exigentes, empenho e dedicação. Paralelamente, este tipo de instituições tem um papel importante na educação e sensibilização ativa da população para a preservação dos sistemas marinhos, salobros e doces cuja biodiversidade tem vindo a ser reduzida pela ação da poluição, do aquecimento global e da exploração ilimitada e irresponsável. O Aquário Vasco da Gama (AVG) visa, assim, educar as gerações futuras com vista a reduzir o impacto provocado pela nossa espécie naqueles sistemas.

Neste relatório, descrevo as principais tarefas realizadas no Aquário Vasco da Gama, desde rotinas simples de manutenção e alimentação a trabalho de laboratório, técnicas usadas e atividades realizadas. Faço também uma descrição do projeto de conservação de espécies endémicas das ribeiras portuguesas - *Iberochondrostoma lusitanicum*, *Iberochondrostoma almaçai* e *Achondrostoma occidentale* - com a vertente de reprodução e manutenção nos tanques do aquário e a vertente educativa na ribeira do Safarujo e na escola básica do Sobral da Abelheira, graças aos esforços conjuntos da escola e do AVG.

O trabalho efetuado gerou dois protocolos relativos ao projeto de conservação, com o intuito de criar um documento com as rotinas, com os equipamentos e técnicas utilizadas na reprodução, manutenção, transporte e libertação destas espécies endémicas.

Por último, refiro a minha participação e apoio na organização do “2.º Seminário: Estudo dos cnidários, as ferramentas disponíveis”, no âmbito dos eventos e palestras que o AVG organiza enquanto instituição pública e de carácter científico.

Abstract

Working in a Public Aquarium presents many challenges: working with living organisms requires constant and specialized care and monitoring; constantly moist, salty and sometimes chilly environment makes this a difficult and demanding job; in addition, such institutions have a main role in education and awareness of the marine, brackish and freshwater systems, where biodiversity have been significantly reduced by pollution, global warming, coupled with uncontrolled exploitation of resources. The AVG aims educating future generations in order to reduce and minimize the impacts caused by human species in those systems.

Throughout this report there is a description of the main tasks carried out at Aquário Vasco da Gama, from simple maintenance and breeding routines to laboratory work, used techniques and activities achieved, as well as a description of the conservation project of endemic species of the Portuguese streams - *Iberochondrostoma lusitanicum*, *Iberochondrostoma almaçai* and *Achondrostoma occidentale* - with the breeding and maintenance aspects on the aquarium tanks and the educational point on the Safarujo stream and Sobral da Abelheira primary school, thanks to the joint efforts of the school and the AVG.

The work carried out originated two protocols related to the conservation project, with the purpose of creating a document with the routines, equipment and techniques used in the reproduction, maintenance, transport and release of these endemic species.

Last, as a public and scientific institution, the AVG organizes events and lectures. As an example, there is a description of how I have participated and helped in the organization of the “2.º Seminário: Estudo dos cnidários, as ferramentas disponíveis”.

Índice de Matérias

Introdução	1
Objetivos	5
1. Projeto de conservação.....	6
1.1. Espécies do projeto	6
1.2. Rotinas	7
1.2.1. Manutenção dos tanques do Torreão	8
1.2.2. Rotinas anuais	10
1.2.3. Observações	10
1.3. Transferências	11
1.4. Transportes.....	11
1.5. Protocolos.....	12
1.6. Educação	12
2. Estágio.....	15
2.1. Rotinas	15
2.1.1. Manutenção dos aquários da galeria salgada tropical (GST).....	15
2.1.2. Manutenção dos Aquários dos corais.....	16
2.1.3. Manutenção de Aquários de água salgada fria (GS, GN, Cambalhão e TE)	17
2.1.4. Manutenção de aquários de quarentena Salgada tropical (QST)	18
2.1.5. Trabalho de Laboratório/Análises.....	19
2.1.6. Rotinas anuais	21
2.2. Limpezas	22
2.3. Reparações	24
2.4. Equipamentos de filtração.....	25
3. Eventos.....	28
4. Conclusão.....	31
5. Bibliografia	33
6. ANEXOS	35

Índice de Figuras

Figura 1 - Observação e explicação dos tanques de reprodução e do processo.....	13
Figura 2 - Amostras de água do rio Safarujo e do tanque de reprodução.....	13
Figura 3 - <i>A. occidentale</i> para libertação na ribeira do Safarujo.....	14
Figura 4 - Desenho relativo ao rio e aos seus habitantes.....	14
Figura 5 - Captura dos indivíduos para baldes de transporte.....	14
Figura 6 - Mostra e explicação dos organismos às crianças.....	14
Figura 7 - Análises de amónia e nitritos à água da ribeira do Safarujo.....	20
Figura 8 - Limpeza de um aquário de linguados.....	23
Figura 9 - Reconstrução da decoração de um aquário salgado tropical.....	25
Figura 10 - <i>Gymnothorax favagineus</i>	25
Figura 11 – Palestra sobre cnidários.....	28
Figura 12 – Mostra gastronómica de medusas como produto gourmet.....	28
Figura 13 – Captura de indivíduos em teste para observações.....	29
Figura 14 - Organismos em aclimatização.....	30
Figura 15 - Chegada e preparação de indivíduos para aclimatização.....	30

Índice de tabelas

Tabela I - Rotinas na Manutenção dos exemplares.....8

Tabela II - Tabela II - Valores médios por população/espécie no período de 18/09/2017 a
18/09/2018.....21

Introdução

Trabalhar num Aquário Público apresenta múltiplos desafios e implica cuidados especiais, distintos dos do trabalho normal de aquariologia. Para além do bem-estar animal, é necessário coordenar a manutenção com o horário dos visitantes e, por esta razão, há que ter cuidados redobrados. Aparentemente parece simples, mas o frio, o sal, o barulho dos equipamentos, a par de uma rotina longa e constante, tornam o trabalho complexo e exigente, sendo necessário nutrir uma grande paixão e dedicação para trabalhar e vingar neste meio. Simultaneamente, a introdução e aplicação de novas técnicas e equipamentos, que estão constantemente a ser desenvolvidos, exigem um estudo permanente daquilo que é a aquariologia e a biologia.

O Aquário Vasco da Gama (AVG) é uma instituição dedicada à educação, proteção e conservação de espécies de água doce e salgada, com especial atenção em organismos marinhos. Fundado em 1898 pelo Rei D. Carlos I, para comemorar os 400 anos da chegada de Vasco da Gama à Índia, o AVG tem sido destacado como uma instituição de alto valor público, em parte devido à extensa coleção de espécimes recolhidos no período de vivência do Rei, capturadas pelo mesmo, em parceria com o naturalista Albert Girard. Esta coleção é vista como uma das mais ricas e diversificadas e inclui espécies de peixes de profundidade, grandes pelágicos e mamíferos marinhos, assim como uma extensa coleção de aves marinhas e uma rica e diversificada coleção de moluscos. Em anos mais recentes, o AVG destaca-se também pelos esforços de conservação de diversas espécies, nomeadamente tartarugas marinhas. 2017 foi o último ano em que foi possível observar um animal destes em recuperação e exibição no aquário, tendo o último exemplar sido devolvido ao mar em novembro desse mesmo ano. Um dos símbolos mais reconhecidos do aquário eram as otárias, mas o último exemplar morreu em 2016, marcando o fim de uma longa família e o de qualquer exemplar destes animais no aquário. Espécies criadas em cativeiro nos aquários da exposição e da quarentena são também muitas vezes devolvidas ao habitat natural dando ainda mais importância ao trabalho aqui efetuado.

Para manter qualquer tipo de instituição deste género é necessário compreender os desafios que existem e prever sempre o imprevisto (manutenção de aquários, economia de um aquário, etc.). Uma instituição destas, tal como qualquer outra do género, tem como principal foco educar. Educar sobre o passado e educar para o futuro. Mostrar como é o mundo subaquático, mostrar a importância deste mundo escondido e tão valioso onde a vida começou. E grande parte desta educação passa pela conservação de espécies e pela criação de projetos de recuperação de sistemas marinhos e fluviais.

O Aquário é reconhecido pelos esforços pioneiros na criação de um projeto de recuperação de espécies endémicas criticamente em perigo das ribeiras portuguesas que visa a captura e reprodução das mesmas, sendo estas posteriormente devolvidas ao habitat natural. Projetos de

recuperação como estes são essenciais para preservar o património biológico existente nestes cursos de água.

Desde que existe vida no nosso planeta existem alturas de proliferação de espécies e extinção de outras, e este é um processo biológico que ocorre naturalmente e faz parte do ciclo da vida (Hakanson, 2004). Magin et al. (1994) estimou que aproximadamente três espécies descritas se extinguíam naturalmente por ano antes de qualquer influência humana. No entanto, nos últimos 400 anos a taxa de extinção é cerca de 45 espécies descritas por ano, aproximadamente 15 vezes superior ao valor estimado sem influência humana. Este aumento na extinção de espécies é notório e está bem documentado (Barnosky et al., 2011; Dirzo et al., 2014). Causa perplexidade, pela negativa, como é que o impacto gerado por apenas uma só espécie, a espécie humana, é tão forte. O aumento da população mundial a um enorme ritmo e a incapacidade dos restantes ecossistemas se adaptarem a esta nova espécie dominadora levam a este crescente desequilíbrio.

Embora as pressões sobre os ecossistemas sejam cada vez maiores (Tittensor et al. 2014), esforços na conservação têm um impacto positivo (Hoffmann et al. 2010), especialmente a nível de mamíferos e aves onde os esforços de conservação são mais antigos e onde os organismos a serem protegidos são fácil e diretamente observados. O que é facto é que existe uma crescente preocupação com cada vez maior número de espécies, tanto terrestres como marinhas. A expansão das redes sociais, sobretudo entre as camadas da população mais jovem, levou à sua utilização para promoção de campanhas de proteção. É assim que um público cada vez mais jovem se tem vindo a interessar por causas que visam a proteção da biodiversidade, e muitos já se tornaram seus embaixadores.

No entanto, muitos dos programas de proteção e criação de áreas protegidas estão restritos a pequenas áreas, quando comparados com a área total que os organismos podem ocupar. As já muito conhecidas *MPA's* (*Marine protected areas*) têm tido bastante sucesso em sistemas costeiros, com um aumento muito considerável da biomassa e do rácio de indivíduos adultos e jovens (García-Charton, 2008), o que traz grandes benefícios às comunidades pesqueiras devido ao efeito de *Spillover*. O mesmo pode ser aplicado em reservas e parques no meio terrestre. A criação destes locais permite que os animais aumentem os seus efetivos assim como o rácio entre jovens e adultos. Para muitas espécies estes são os últimos locais onde é possível sobreviver. Tal como as *MPA's* estes santuários de vida trazem benefícios para as populações locais. Só o turismo de vida selvagem atrai cerca de oito milhões de visitantes todos os anos na Austrália (Higginbottom et al, 2001).

Infelizmente, este tipo de conservação não abrange espécies migradoras como grandes pelágicos e grandes cardumes ou, no meio terrestre, aves e mamíferos. Desde borboletas a andorinhas do Ártico ou de salmões a tubarões é impossível conservar áreas atendendo às enormes distâncias das migrações, as quais podem chegar aos 70.000 quilómetros. No entanto, nem só a distância é o maior impeditivo à conservação de uma dada espécie e/ou habitat. Se imaginarmos um rio, capaz de

suportar uma enorme diversidade de vida, que atravessa vários países, ou mesmo, numa menor escala, que atravesse vários territórios dentro do mesmo país, podemos começar a ver a razão pela qual a conservação é difícil. Diferentes territórios possuem diferentes leis e a conservação de um rio tem de ser algo acordado pelos governos locais. A título de exemplo, o rio Nilo tem uma extensão de 6.700 quilómetros e atravessa dez países durante o seu percurso pelo nordeste do continente africano - Ruanda, Burundi, Zaire/Congo, Tanzânia, Quênia, Uganda, Eritreia, Etiópia, Sudão e Egipto - antes de desaguar no Mediterrâneo (Swain, 1997). Coordenar em sintonia a proteção de um organismo em dez países é um esforço hercúleo. Basta que haja algum desastre a montante para afetar a vida a jusante.

Os rios e ribeiras contêm apenas uma pequeníssima fração da água existente na nossa biosfera, e, no entanto, são da maior importância para a biologia, a química e os eventos físicos do nosso planeta. Os rios e ribeiras têm um papel da mais extrema importância no ciclo da água e no fluxo de minerais e nutrientes de terras altas para terras baixas (Allan e Flecker, 1993).

Qualquer curso de água pode ter uma origem do mais variado tipo. Um rio pode ter origem numa nascente, um lago, em zonas de pântano constantemente alagadas, pelo derretimento de um glaciar ou devido ao aparecimento de águas de lençóis freáticos à superfície ou pela simples canalização de águas provenientes de estruturas humanas. A maior parte dos cursos de água consiste em pequenas ribeiras que se vão juntando e aumentam o caudal desta massa de água.

Em Portugal, os rios e ribeiras são resultantes das alterações geológicas que ocorreram na Península Ibérica há milhões de anos atrás. Estas alterações levaram a que grandes bacias e lagos “escorressem” para o mar, formando os rios e ribeiras que conhecemos hoje (Loidi, 2017). As espécies que habitam estes ecossistemas são um reflexo da história destes cursos de água, um testemunho da evolução da crosta terrestre e ao longo de milhões de anos foram-se adaptando a novas condições, a um habitat em constante evolução.

Excetuando uma pequeníssima fração de todas as reservas de água doce do planeta, não há qualquer tipo de registos, ou levantamentos sobre a biodiversidade presente ou qual o estado presente destas reservas de vida (Abell, 2002). Estas espécies são, como referido anteriormente, o resultado de anos de evolução. A restrição a um ambiente específico e isolado, característico das pequenas ribeiras espalhadas por toda a Península Ibérica leva a que estes organismos tenham evoluído de forma diferente em cada rio.

Existe um sem número de pressões que afetam as espécies ribeirinhas diretamente. A introdução de espécies invasoras é dos fatores que mais tem contribuído para a extinção de espécies endémicas (Didham et al., 2005). A poluição é também responsável pela destruição e eutrofização destes habitats. Nos Estados Unidos, de todos os rios analisados, em pelo menos metade destes existia algum tipo de agressor com a predominância de fatores agroalimentares (US EPA, 2000). Na China,

45% dos rios analisados em 2008 estavam entre moderadamente a muito poluídos (PRC MEP, 2009 *in* Vörösmarty et al., 2010). Estes fatores, aliados a situações de seca extrema, cada vez mais severas devido ao aquecimento global (Sousa-Santos, 2014), degradação dos habitats e baixa qualidade da água são responsáveis pelo desaparecimento das espécies das ribeiras portuguesas. (Collares-Pereira & Cowx, 2004). Na Península Ibérica existe uma relação consistente entre as ameaças a uma espécie e o nível de perigo de extinção da mesma, onde a extração de água e espécies invasores são as principais causas do declínio das espécies nativas (Clavero et al., 2010 *in* Sousa-Santos et al., 2014).

Face ao avançado estado de destruição de muitos locais e a condições de água incompatíveis com a vida foi posto em ação um plano de reprodução *ex-situ*. A reprodução em cativeiro de espécies criticamente em perigo é considerada um instrumento essencial quando os habitats naturais estão severamente destruídos ou o número de indivíduos dessa população é extremamente baixo ou inexistente (Bentsen & Olesen, 2002; Maitland & Morgan, 2002; Faria et al., 2010; Sousa-Santos et al., 2014; McGowan et al., 2016). Programas de repovoamento *ex-situ* podem ser o suficiente para salvar uma espécie da extinção (Redford et al., 2011). Estes programas em conjunto com a educação, reestruturação e reabilitação do habitat natural têm mostrado bons resultados na conservação de espécies, de tal maneira que estes são cada vez mais aplicados em conjunto, e os limites entre a conservação *ex-situ* e gestão *in-situ* são cada vez mais ténues (Pritchard et al., 2011; Redford et al., 2012).

Numa perspetiva a longo prazo, a gestão *in-situ* é o principal fator na conservação de uma espécie. É possível manter durante um largo período de tempo, com renovação genética, uma população em *stock*, *ex-situ* e o futuro dessa espécie estar assegurado. Mas melhor que isso é conseguir proteger a espécie e renovar o habitat da mesma. Para tal, é preciso educar as pessoas para que elas consigam tratar e proteger aquilo que é o habitat natural destes organismos para que um dia não seja necessário programas de reprodução *ex-situ* e que estes animais deixem de estar em perigo.

Objetivos

O trabalho desenvolvido durante o período de estágio compreendido entre 18 de setembro de 2017 e 22 de maio de 2018, no Aquário Vasco da Gama, teve como objetivos principais a produção, manutenção e libertação de três espécies de peixes de água doce, *Iberochondrostoma almaçai*, *Iberochondrostoma lusitanicum* e *Achondrostoma occidentale*, para efeitos de repovoamento no meio natural de ribeiras portuguesas.

Para além dos objetivos principais foram realizadas tarefas de rotina diárias na manutenção de outras espécies presentes no Aquário Vasco da Gama e assistência em eventos ou palestras realizadas.

Foram elaborados dois protocolos (Anexo): um sobre manutenção de peixes de água doce, com o intuito de simular as condições do meio natural, e outro sobre o transporte e libertação de peixes de água doce para efeitos de repovoamento.

É também referida a importância da educação de gerações futuras para a preservação das espécies, dado o peso que estas detêm no ciclo natural e no ecossistema onde se inserem, sendo que foram realizadas sessões de esclarecimento e atividades com crianças antes e aquando da libertação dos organismos.

1. Projeto de conservação

O projeto de conservação tem como principal objetivo reproduzir e manter em cativeiro diferentes populações de espécies endémicas de peixes de sistemas fluviais com estatuto de conservação criticamente em perigo e repovoamento dos rios de origem dos progenitores com exemplares reproduzidos e mantidos em cativeiro.

A produção em cativeiro destas espécies pode representar o único meio de preservar a herança biológica deixada por anos de evolução nestes locais confinados. Muitas destas espécies têm a sua evolução condicionada pelo ambiente onde se encontram. A decisão de integrar estas espécies num projeto de conservação *ex-situ* segue as regras impostas pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN), no uso de técnicas de conservação *ex-situ* para a conservação de espécies criticamente em perigo, e pelo Decreto-Lei n.º 242/2015. Com base nestes documentos e no conhecimento do estado das populações, estabeleceu-se que estas espécies, endémicas dos rios portugueses, necessitavam de medidas de conservação. Este é um projeto em ação desde 2008 que já ajudou a diminuir o risco de extinção das espécies mencionadas, tendo sido criados em cativeiro e libertados mais de 19000 indivíduos nas ribeiras portuguesas desde então (Sousa-Santos et al., 2013).

1.1. Espécies do projeto

As espécies em reprodução no AVG foram escolhidas devido ao seu estatuto de “criticamente em perigo”. A poluição nos cursos de água de onde estas são originárias é o principal fator que ameaça estes organismos, assim como as situações cada vez mais frequentes de seca extrema agravadas pelas atividades de agricultura que utilizam a grande maior parte da água para a rega dos campos.

O projeto conta com três espécies em reprodução no AVG, *Iberochondrostoma almaçai*, *Iberochondrostoma lusitanicum* e *Achondrostoma occidentale*, tendo outrora sido reproduzida outra espécie, *Squalius pyrenaicus*, da ribeira de Colares, que na altura se considerou em perigo.

Iberochondrostoma almaçai - Habita os rios Mira e Arade. Médios a pequenos caudais, podendo ficar reduzidos a pequenas poças durante o verão. Desova em zonas de pequenas cascatas com águas de correntes rápidas. Descrita pela primeira vez por Mesquita et al. (2005). Entrada para “animal em perigo” ocorrida em 2008 (Freyhof & Kottelat, 2008).

Iberochondrostoma lusitanicum - Ocorre nas bacias do oeste, Tejo e Sado. Prefere ribeiras ou outros cursos de água de pequena e média dimensão, de corrente fraca ou moderada. O

acasalamento ocorre em águas paradas ou de corrente fraca. Descrita pela primeira vez por Collares-Pereira (1980).

Achondrostoma occidentale - Habita os rios Alcabrichel, Sizandro e Safarujo. Tem um impacto muito forte pela poluição doméstica e agro cultural e pela seca durante os meses do verão. Pensou-se que durante os períodos em que o Safarujo tenha secado, a espécie se tenha extinguido neste local. Descrito pela primeira vez por Robalo et al. (2005)

1.2. Rotinas

As rotinas efetuadas neste projeto de conservação estão compreendidas no cuidado dos organismos de água doce do projeto que se encontram na estrutura do Torreão no Aquário Vasco da Gama, duplicando este como local de filtração do circuito geral de água salgada das instalações. (Tabela I).

Estas rotinas foram efetuadas como parte principal do tratamento e cuidado dos organismos e serviram para garantir que estes tinham o maior sucesso possível na reprodução, mas que mantinham as qualidades e comportamentos o mais semelhantes possíveis aos dos organismos selvagens. Embora nem todos os tanques possuam peixes do projeto é dada a mesma atenção a estes pois são reserva de espécies do AVG.

Tabela I - Rotinas na Manutenção dos exemplares.						
	2ªFeira	3ªFeira	4ªFeira	5ªFeira	6ªFeira	Fim-de-Semana
Manutenção	- Ver se existem mortos e retirar, registrar e observar esfregaço de pele e brânquias à lupa. - Retirar restos de comida que sobrem.					
Alimentação	Larva Mosquito + Artémia	-	Larva Mosquito + Artémia	-	Larva Mosquito + Artémia	Pode ser dada uma combinação de larva com papa.
Verificações	- Confirmar se o arejamento está a funcionar e se não há qualquer entupimento. - Confirmar se as entradas de água estão a correr. - Verificar e limpar as redes de proteção dos tubos-ladrão (<i>tropoleins</i>). - Verificar o comportamento e estado geral dos exemplares.					
Sempre que necessário	- Excesso de depósito no fundo dos tanques (o lodo não é necessariamente sujidade, mas a sua acumulação pode provocar o aparecimento de zonas de anóxia) - deve ser removido com sifão. Não apanhar com uma rede. - Substituir as tampas de rede.					
Medições	O ₂ , Temperatura e Caudal	O ₂ , Temperatura e Caudal	O ₂ , Temperatura e Caudal	O ₂ , Temperatura Caudal Amónia Nitritos pH Dureza	O ₂ , Temperatura e Caudal	-

1.2.1. Manutenção dos tanques do Torreão

O sistema de tanques do Torreão compreende nove tanques independentes sendo que seis deles possuem uma cubicagem de 1250 litros cada e os restantes três, de 3000 litros cada. O número de tanques reservados para o projeto de conservação varia conforme a altura do ano, as libertações efetuadas e renovação dos reprodutores, mas geralmente existem seis tanques em uso para este fim.

Não possuem qualquer sistema de recirculação sendo que existe sempre entrada de água da rede num caudal reduzido e esgoto permanente. Alguns dos tanques podem possuir um pequeno filtro de areia; no entanto o caudal constante e a filtração dada pelas plantas presentes no tanque é suficiente. O nível de água é regulado por dois *tropolein* em cada tanque, sendo um de nível e um fixo caso o primeiro entupa. Cada *tropolein* e saída de emergência possuem uma rede que impede que os organismos possam ser despejados e reter restos de plantas que possam entupir o esgoto. Diariamente é feita uma observação cuidada dos tanques e dos componentes que contêm. Os tanques são primeiramente observados para determinar se existe algum indivíduo morto ou algum comportamento

estranho, indicador de alguma anomalia presente. É dada especial atenção ao tanque número 1, pois é o tanque que possui maior carga orgânica de todos os disponíveis.

Cada tanque de projeto contém vasos com plantas que atuam como substrato de desova, sombra e refúgio de predadores (Sousa-Santos et al., 2014) e tijolos que atuam como refúgio. Uma caixa de rede está presente no centro do tanque, que permite a entrada e saída de larvas e juvenis para se refugiarem e evitarem competição por alimento de indivíduos adultos (Gil et al., 2010). A capacidade das larvas se refugiarem nestas zonas é também um benefício para a população, selecionando os indivíduos capazes de identificar um refúgio, promovendo a manutenção de características selvagens.

Entre as 9:30 e as 10:00 da manhã são feitas medições de oxigênio e temperatura e do caudal de entrada de cada tanque. Isto permite determinar/estimar a quantidade de alimento a fornecer com base no oxigênio dissolvido e na temperatura da água. Quanto menor for a quantidade de oxigênio dissolvido menor será a quantidade de alimento fornecida. Foi também observado que na população de *A. occidentale* do rio Sizandro, quando a temperatura atingiu os 11°C, os indivíduos deixaram de se alimentar, ao contrário da população de *A. occidentale* do rio Safarujó, que manteve uma alimentação constante. Uma possível explicação para este fenômeno poderá ser que, devido a um maior caudal do rio Sizandro, as flutuações de temperatura não são tão extremas não estando esta população habituada a tal provação.

É necessário fazer as verificações constantes dos tubos de arejamento e das entradas de água. Quando é detetado alguma redução do arejamento limpam-se os tubos e ajusta-se o arejamento conforme necessário. É sempre importante reter que face à disposição e maneira como é efetuado o arejamento dos tanques qualquer ajuste neste arejamento vai ter influência nos restantes.

Se um tanque apresentar restos de comida e/ou qualquer sujidade aparente deve ser sifonado. Isto, face ao pouco desnível presente, apresenta desafios de baixa pressão e cuidados a ter para não entupir a mangueira. Para ajudar nesta situação utiliza-se um balde de forma a permitir aumentar o desnível e assim ferrar e desentupir a mangueira.

Ao sifonar os detritos ao invés de recolher com uma rede, impede-se que os depósitos de matéria orgânica nas camadas inferiores e em condições de anoxia se libertem para a água e assim previne-se e diminui o risco de degradar a qualidade da água. Deve-se ter o cuidado de sifonar lentamente prevenindo que os detritos fiquem em suspensão na coluna de água, diminuindo a visibilidade e dando tempo para que qualquer organismo consiga escapar. Todos estes fatores permitem reduzir o stress nos organismos e evitar/reduzir mortalidade.

1.2.2. Rotinas anuais

Uma vez por ano, é realizado um programa de limpezas e seleção de espécies para libertação que fazem parte do projeto de conservação de peixes endémicos das ribeiras portuguesas. Este programa consiste em movimentar os organismos do tanque original para um tanque desocupado para proceder à contagem do número de indivíduos, seleção dos mesmos para efeitos de repovoamento e limpeza do tanque original, do filtro de areia e da própria estrutura do tanque.

Este é um processo que carece de um planeamento rigoroso. As transferências entre tanques exigem uma preparação demorada e minuciosa. A seleção e libertação de espécies necessita de pedidos formais às entidades reguladoras e a coordenação de diferentes meios e recursos.

1.2.3. Observações

Para além das rotinas diárias existem alguns cuidados inerentes a estes organismos em particular. Estes indivíduos compreendem o esforço desenvolvido pelo Aquário ao longo de vários anos na conservação de populações endémicas das ribeiras portuguesas. Cada tanque contém uma espécie de uma determinada população. Cada população deve ser mantida no estado mais selvagem que é possível recriar nas condições disponíveis. De forma a cumprir estes objetivos, aplicam-se várias técnicas, desenvolvidas pelo Aquário Vasco da Gama ao longo da duração do projeto. A manutenção dos tanques deve ser feita o mais breve e levemente possível. Isto implica limpezas apenas quando muito necessário, e a exposição dos organismos a stress de movimentações o mínimo possível. As verificações matinais dos parâmetros e ambiente devem ser feitas o mais rapidamente possível e com o mínimo impacto. Embora as medições de oxigénio e temperatura, recolha de água e medição de caudal sejam sempre feitas no mesmo local à mesma hora, para assegurar consistência, a alimentação é dada sempre em locais diferentes e, de preferência, em quantidades diferentes de forma a estimular a procura de alimento, tal como no meio natural, e a competitividade entre os organismos. A alimentação é dada três vezes por semana sem horário definido e a quantidade é definida mediante a qualidade e temperatura da água, o apetite dos indivíduos, o número de indivíduos dentro de cada tanque e o tamanho dos mesmos.

1.3. Transferências

As transferências fazem parte das rotinas anuais, como já foi referido. Permitem efetuar uma limpeza a fundo dos tanques e fazer um levantamento do número de indivíduos que se encontram em cada tanque. O processo de transferência inicia-se sempre cedo e engloba várias tarefas.

Começa-se por encher recipientes com água do tanque onde se encontram os organismos, de forma a ter um meio semelhante ao de origem. Isto reduz o stress de mudança de meio e elimina a necessidade de fazer uma aclimatização. Os recipientes cheios com água do tanque são colocados de parte com arejamento, podendo então começar a captura dos peixes. O tanque é posto a vaziar e são retirados todos os materiais existentes como vasos com plantas, tijolos e troncos e os organismos capturados são transportados para os recipientes e contados. Durante a captura e contagem não se sabe ao certo qual o número final de indivíduos e rapidamente são atingidas densidades elevadas nos recipientes. Deve ser feita, assim, uma gestão dos mesmos para garantir que não há excesso de indivíduos contidos num volume tão pequeno, o que pode resultar em danos no corpo dos organismos, elevados níveis de stress ou mesmo a morte de indivíduos mais fracos.

Os organismos, quando contados, são separados por jovens ou adultos devido ao seu tamanho e, quando possível, pelo género. Nesta fase, imediatamente antes da desova, o género é facilmente distinguível pela forma dos organismos. Fêmeas adultas e maduras possuem uma zona abdominal extremamente distendida ao passo que os machos a apresentam plana.

Após a contagem, os indivíduos são lentamente libertados no tanque final.

Quando estas limpezas são efetuadas, são necessários vários cuidados na manutenção dos organismos e na transposição dos mesmos. A vegetação presente no tanque original deve acompanhar os organismos na sua viagem e deve-se garantir que não há trocas nem misturas de organismos de populações/espécies diferentes. A limpeza dos tanques é feita com recurso a esponjas, esfregões e vassouras. Qualquer material artificial presente no tanque (tubos PVC, Jaulas, etc.;) deve ser limpo e transferido para o mesmo tanque que os peixes.

1.4. Transportes

Os maiores desafios quando se fala em transporte de peixes vivos é, sem dúvida, a quantidade de fatores de stress que podem ser colocados no peixe (Harmon, 2009). O objetivo de qualquer transporte, para além da deslocação dos indivíduos, é fazer com que estes sofram o mínimo stress antes e durante o mesmo. Durante o período de estágio foram feitas duas libertações: de *I. almacai*, no rio Arade e de *A. occidentale*, na ribeira do Safarujó. Estas libertações exigem um planeamento

cuidado e uma preparação com atenção ao detalhe. Nas 24 horas que antecedem o transporte não é dada nenhuma alimentação para garantir que durante a viagem os organismos não têm alimento no trato intestinal. Isto evita o stress e a libertação de compostos azotados, alterando a qualidade da água, o que tem por consequência o aumento do stress dos peixes (Berka, 1986).

Os transportes iniciam-se o mais cedo possível, pois englobam várias etapas, muitas delas demoradas e que exigem bastante cuidado e atenção. O processo é em todo semelhante ao de transferências, apenas com mais algumas etapas. Imediatamente após a captura para os recipientes, os organismos são selecionados para libertação e estes são colocados num recipiente à parte para serem marcados. O processo de marcação consiste num corte longitudinal na barbatana dorsal dos indivíduos. Esta crescerá novamente, mostrando uma cicatriz permanente na zona do corte. Este é o método mais rápido para a marcação de um elevado número de indivíduos (Sousa-Santos et al., 2014). Os organismos são depois transferidos para o recipiente de transporte. Devido à localização dos tanques e aos acessos no local não é prático transportar água do tanque original para o recipiente de transporte pelo que é usada água da rede de Lisboa para o encher, ficando este com arejamento durante um período de tempo, geralmente 24h, para libertar o cloro dissolvido.

A temperatura em nenhum dos casos é controlada e está dependente das condições atmosféricas.

1.5. Protocolos

A metodologia utilizada no AVG durante a preparação, reprodução e manutenção assim como no transporte, embora já bem estabelecida, carecia de um protocolo/guia para estabelecer em concreto as técnicas utilizadas. Assim, foram feitos dois protocolos: um de produção e manutenção das espécies em estudo e outro sobre o transporte destes organismos respetivamente intitulados “Princípios Básicos para Produção e Manutenção de Peixes para Efeitos de Repovoamento - Espécies Endémicas das Ribeiras Portuguesas” e “Protocolo de Transporte de Peixe Vivo para Efeitos de Repovoamento”. Ambos estão presentes em Anexo e completam este relatório com descrições pormenorizadas das rotinas e tarefas extraordinárias.

1.6. Educação

As libertações representam uma excelente oportunidade de interagir com o público em geral, dando especial atenção aos mais novos. Espera-se que a introdução de conceitos de conservação e de defesa dos organismos suscite curiosidade e vontade de proteger o meio ambiente. Esta pode ser considerada uma estratégia de conservação a longo prazo. Embora não se possa desprezar de algum

modo o efeito que as libertações, ou que a divulgação das mesmas, tem na população adulta, este é um segmento da população que já tem ideias fixas sobre o assunto e comportamentos repetidos ao longo do largo espaço de tempo, pelo que mudar estes comportamentos é difícil e requer uma ação contínua. No entanto, a população jovem, especialmente entre os 5 e os 12 anos, está numa altura em que ainda tem um conhecimento limitado do mundo que a rodeia, é capaz de adquirir novos comportamentos, e assim modificar também o comportamento dos adultos que a rodeia.



Figura 1 - Observação e explicação dos tanques de reprodução e do processo. Foi feita uma demonstração da alimentação para que as crianças conseguissem ver os organismos e o alimento.



Figura 2 - Mostra de quatro amostras de água. Da esquerda para a direita - água do fundo do tanque com microalgas, duas amostras de água da ribeira do Safarujó e uma amostra da coluna de água do tanque. Foi explicada a importância da qualidade da água e os problemas que a poluição traz para estas espécies.

Tendo isto em conta, e para além da exposição dada pela imprensa, o Aquário Vasco da Gama, desenvolveu, com o apoio do MARE-ISPA e teve o financiamento da EUAC, união europeia dos conservadores de Aquários, um projeto com uma escola básica local, junto da ribeira do Safarujó, com o intuito de dar a conhecer a um grupo de crianças estas espécies ameaçadas, através de atividades no rio Safarujó e visitas aos tanques do projeto e participação num atelier sobre o projeto no AVG (Fig. 1), onde lhes foi possível observar os tanques de reprodução, os indivíduos e a alimentação dos mesmos e perceber o efeito da poluição na água e nos animais (Fig. 2).

No local de libertação foram organizados jogos, de forma a cativá-los e motivá-los a proteger aquele espaço. Foi-lhes criado no imaginário a imagem de uma tribo de pequenos seres, à qual foi dado o nome de “meninos do rio” que precisavam da ajuda na proteção daquele local.



Figura 3 - *A. occidentale* para libertação na ribeira do Safarujó. Os peixes eram retirados do recipiente de transporte para caixas de plástico branco para poderem ser observados pelas crianças.



Figura 4 - Desenho relativo ao rio e aos seus habitantes.

Aos meninos foi dada a responsabilidade de cuidar do rio e dos seres que lá vivem. As tarefas atribuídas aos meninos incluíram a propagação de mensagens, na comunidade, sobre a conservação do rio. Isto foi feito através de desenhos feitos no local (Fig. 4) e pela decoração de pedras do rio que foram colocadas em vários sítios da localidade onde residem as crianças. Durante as visitas à ribeira, os meninos colaboraram na apanha de lixo das margens do rio.

Durante as libertações, os meninos puderam ver de perto os peixes (Fig. 3;5) e receber uma breve explicação sobre estes organismos (Fig. 6), sobre o seu habitat e sobre a importância de preservar estes animais. Os peixes para libertação foram colocados aos pares em pequenos recipientes e levados até ao local de libertação, pelos meninos, sempre acompanhados por um adulto.



Figura 5 - Captura dos indivíduos para pequenos baldes de transporte. O transporte de curta distância foi feito pelos mais pequenos para os integrar no projeto.



Figura 6 - Mostra e explicação dos organismos às crianças com o objetivo de suscitar a curiosidade e o interesse pela proteção dos indivíduos e do meio envolvente.

2. Estágio

2.1. Rotinas

Diariamente e semanalmente existem rotinas que têm de ser cumpridas para manter organismos e garantir o bom funcionamento de todos os equipamentos. O trabalho num Aquário é um trabalho contínuo e sem fim, com infinitas possibilidades de melhoramento.

Estas iniciam-se com uma observação atenta dos indivíduos e equipamento de cada tanque. Isto permite rapidamente avaliar se existe algum problema ou detetar indícios de que possa ter havido alguma falha técnica durante a noite, permitindo atuar rapidamente e evitar danos maiores ou mesmo perda do organismo. Natação anormal, respiração acelerada e movimentos operculares rápidos são alguns dos indícios aos quais se deve dar especial atenção.

Nas próximas páginas é possível ler e conhecer as rotinas diárias efetuadas no Aquário Vasco da Gama, aqui separadas por zonas. Não estão aqui incluídas as rotinas dos tanques do Torreão visto estarem cobertas no Projeto de Conservação.

2.1.1. Manutenção dos aquários da galeria salgada tropical (GST)

A Galeria Salgada Tropical (GST) compreende um sistema de 5 aquários, 4 deles de 1150 litros, cada um em forma de semicírculo com fundo côncavo e o 5.º aquário (GST5) de 700 litros, retangular. Estes aquários mantêm espécies tropicais de água salgada com temperatura entre 26°C e 27°C. Cada aquário apresenta um sistema de recirculação semiaberto. Embora cada tanque possua um filtro mecânico e biológico tem sempre uma entrada mínima de água do sistema interno do aquário. O caudal desta é muito reduzido devido à grande diferença de temperaturas 26/27°C para 18-20°C da água do sistema.

A manutenção destes aquários consiste principalmente na limpeza dos vidros, recorrendo a um íman, e do areão de coral. Em certas ocasiões, procede-se a uma agitação do areão para libertar algum depósito que será depois retido no filtro. No GST3 é necessário proceder também à limpeza de uma bomba de agitação quando, por observação, se determina que tal é necessário. Por vezes deve também proceder-se ao desentupimento das tubagens do arejamento, recorrendo a um escovilhão de aço. Devido à natureza e filtração destes aquários, assim como à quantidade de biomassa presente, é necessária uma manutenção cuidada e repetida para evitar grandes variações no meio. É necessário ter um cuidado redobrado com espécies venenosas presentes nos tanques e/ou vorazes (*Gymnothorax*

favagineus e *Pterois volitans*). A cubicagem elevada e profundidade dos aquários proporciona um desafio maior na manutenção destes tanques face a outros aquários. Ao mesmo tempo, deve ter-se em atenção que os visitantes interagem diretamente com os tanques, pelo que não se deve condicionar o acesso nem a visibilidade dos mesmos durante o horário de exposição.

O sistema de suporte de vida destes aquários é feito principalmente em sistema fechado e com uma entrada mínima de água do circuito geral do AVG. A água do aquário sai por um *tropolein* de nível com uma rede que ajuda a reter alguma matéria em suspensão de grandes dimensões e impede que algum organismo fique preso, ou que seja levado para o sistema de filtração. A água é depois conduzida para a SUMP onde passa por uma malha fina e depois por esponja, sendo feita aqui a filtração mecânica. A água é depois forçada a passar por bio-bolas sendo depois puxada para o aquário por via de bombas elétricas junto de resistências que aquecem a água. Antes de entrar no aquário, a água proveniente da SUMP passa ainda por um filtro de UV entrando de seguida no aquário.

Para obter uma renovação constante, a água do circuito geral é introduzida num caudal muito reduzido. Esta está a uma temperatura muito inferior ($\pm 18^{\circ}\text{C}$) pelo que a sua adição tem de ser controlada e feita de uma forma lenta. O excedente de água é depois devolvido ao circuito geral por meio de um *tropolein* presente na SUMP.

2.1.2. Manutenção dos Aquários dos corais

Os aquários dos corais tal como esperado requerem cuidados muitos especiais devido à natureza frágil dos mesmos. Em qualquer aquário que contenha corais é necessário ter sempre em consideração o equilíbrio entre os parâmetros ambientais, as espécies que fazem desse meio o seu habitat e a manutenção. A manutenção apresenta os maiores desafios, pois não é possível aplicar os mesmos métodos de limpeza que se aplicam nos restantes aquários. A limpeza destes é feita com muito cuidado aquando da limpeza do vidro, com o uso de um íman para o aquário da exposição e com um esfregão no aquário de quarentena. O fundo é sifonado e as algas que se depositam sobre os aquários são cuidadosamente retiradas com recurso a uma escova, idealmente uma escova de dentes macia, ou pela provocação de agitação junto dos mesmos de forma a soltar a alga e por posterior aspiração. Qualquer alga incrustante presente no vidro é limpa usando uma escova mais abrasiva ou uma lâmina. É necessário tomar precauções quando se usa um material mais abrasivo, pois pode facilmente riscar o vidro.

A manutenção destes aquários passa também pela necessidade de se produzir e aplicar hidróxido de cálcio. O hidróxido de cálcio tem dois objetivos principais: primeiramente, serve de matéria prima para os corais se desenvolverem e poderem crescer; segundo, permite tamponar o meio impedindo que haja variações de pH bruscas, que danificam os corais podendo provocar o

branqueamento dos mesmos e conseqüentemente a morte destes. (lixiviamento dos corais). Esta mistura é preparada em garrafões com água de osmose pela adição de uma colher de gelado de hidróxido de cálcio em pó. Os garrafões são depois colocados junto dos aquários, sempre acima do nível da água do próprio aquário ou da SUMP e colocados a correr gota a gota. É importante reter que isto deve apenas ser aplicado ao fim da tarde, ou, preferencialmente, um pouco antes do fecho do aquário e de serem desligadas as luzes que simulam o fotoperíodo.

Preferencialmente, os hidróxidos são aplicados antes do término das atividades e no fim do período luminoso, pois é durante o período noturno que os corais, sendo fotossintéticos, produzem maior quantidade de dióxido carbono, devido ao processo de respiração. Tal como as plantas, durante o dia, os corais que possuem zooxantelas nos seus tecidos consomem dióxido de carbono e libertam oxigénio resultante do processo de fotossíntese a uma taxa superior à da respiração do organismo. Durante a noite, e na ausência de luz a taxa de respiração é superior à de fotossíntese resultando na libertação de CO₂ para o meio. Este aumento de CO₂ na água leva a que esta acidifique, uma condição que é desfavorável aos corais. A adição dos hidróxidos permite minimizar este efeito e assim melhorar as condições dos corais.

Em qualquer processo que se esteja a fazer nestes aquários, para além dos cuidados extremos que se deve ter para com os organismos, devemos também ter em consideração que os corais podem (ou não) provocar irritações na nossa pele, e que, nestes aquários, existem espécies venenosas ou predadoras com as quais é necessário ter atenção. Os vermes do fogo (*Hermodice carunculata*) presentes no aquário de corais da exposição são venenosos e deixam uma queimadura na pele, e é preciso ter sempre atenção a organismos predadores como a Moreia Zebra (*Gymnomuraena zebra*).

2.1.3. Manutenção de Aquários de água salgada fria (GS, GN, Cambalhão e TE)

A galeria Norte (GN), galeria Sul (GS), o Cambalhão e os tanques escuros (TE) constituem a maior parte dos aquários de água fria salgada do AVG. Nestes tanques é possível observar vários tipos de organismos desde esponjas, vermes e várias espécies de cnidários, até organismos de maior porte, dando especial atenção para os aquários de Peixe Porco (*Balistes capriscus*), Robalos (*Dicentrarchus labrax*) Douradas (*Sparus aurata*) e Corvina (*Argyrossomus regius*). O aquário tem também um aquário com tubarões Pata-roxa (*Scyliorhinus canicula*) e Pregado (*Psetta máxima*) no qual é comum ocorrer a reprodução dos tubarões. Os ovos são recolhidos diariamente e colocados num tanque na quarentena onde se irão desenvolver. Os juvenis que eclodem, servem como reserva da exposição e quando atingem um tamanho superior àquele permitido para o tanque onde se encontram são libertados no mar.

A manutenção destes aquários passa principalmente pela limpeza dos vidros, trabalho que tem de ser feito de forma regular para evitar que depósitos de alga se incrustem nos vidros, o que dificulta a sua limpeza e minimiza também a visão para dentro dos tanques.

Para além da limpeza dos vidros, é necessário limpar quaisquer restos de comida dos tanques. Face à natureza sedentária e predação por oportunidade de alguns dos organismos presentes, tem que se ter em atenção que os animais levam o seu tempo a perceber e a sair do esconderijo para se alimentarem. Em alguns dos aquários existem diferentes espécies que possuem hábitos alimentares diferentes, sendo necessário alimentar de forma a garantir que todos os organismos ingerem algum alimento. Animais bentónicos habituados a alimentarem-se do fundo requerem especial atenção em garantir que algum do alimento se deposita no fundo, e em quantidade suficiente para garantir a boa saúde dos mesmos.

O alimento dado consiste maioritariamente em mexilhão, previamente descongelado podendo este ser cortado em pedaços mais pequenos ou não, mediante o tamanho da boca dos indivíduos, lula inteira ou cortada, camarão e carapau filetado. Aquários com cnidários e/ou organismos de menor porte, são suplementados com artémia ou *Krill*. Os juvenis de pata roxa presentes na exposição são alimentados apenas com *Krill*.

2.1.4. Manutenção de aquários de quarentena Salgada tropical (QST)

A manutenção de aquários de quarentena Salgada tropical compreende os cuidados dados na manutenção dos aquários da galeria salgada tropical (GST) e dos aquários dos corais. No entanto, é necessário um cuidado superior nestes aquários visto que contêm uma reserva de espécies presentes nos aquários da exposição, e organismos que manifestaram de alguma forma a presença de doenças ou debilidade física e como tal requerem cuidados mais elevados e atenção regular. A alimentação destes organismos é mais controlada do que aquela fornecida nos aquários de exposição e muitas vezes suplementadas com vitaminas (Dupharal) e comprimidos de alho. Em situações de risco elevado é necessário proceder ao isolamento do organismo e fornecer tratamento adequado com recurso a antibiótico conforme recomendado pelo veterinário.

O aquário dos corais presente neste local é extremamente importante pois é neste local que é efetuada a fragmentação dos corais de forma a produzir um novo organismo. O crescimento é no entanto lento e cuidados extremos são necessários para manusear e criar os “frags” coralinos.

2.1.5. Trabalho de Laboratório/Análises

Diariamente, e ao longo de todo o período de estágio, são feitas medições de oxigênio e temperatura, assim como do caudal nos tanques do projeto. É usada uma sonda galvânica medidora de oxigênio dissolvido (HANNA HI9147), com termómetro e com compensação automática de altitude e salinidade (HANNA, 2018) para determinar o oxigênio e temperatura da água. Estas medições são sempre efetuadas entre as 9:30 AM e 10:00 AM, para assegurar consistência de resultados. As variações que ocorrem são assim o resultado das alterações do clima e do fotoperíodo. Estas medições permitem garantir que os peixes possuem boas condições para se manter e reproduzirem. Também garantem o bom funcionamento do equipamento e permitem detetar, com antecedência, se existe ou pode vir a existir algum problema no futuro.

O trabalho de laboratório consiste principalmente em análises físico-químicas à água dos tanques do torreão que contêm os peixes inseridos no projeto de conservação. Estes testes foram efetuados todas as quintas feiras durante o estágio. O trabalho inicia-se com a recolha de 500mL de água de cada tanque, junto à saída de água. O procedimento correto para esta recolha consiste em retirar alguma quantidade de água do tanque, fechar o frasco, agitar e descartar a amostra; depois, voltar a retirar um frasco cheio do mesmo tanque, garantindo que não há contaminantes que possam influenciar as análises.

Os valores médios obtidos por espécie estão presentes na tabela II.

É medida a amónia, nitritos, pH, dureza, potencial redox e, ocasionalmente, os níveis de nitratos. Os testes de nitritos e amónia são efetuados por espectrofotometria (WTW photolab 6600 UV-VIS series). Os nitritos são medidos pelo Método da Sulfanilamida, baseada na reação de Greiss, recorrendo a uma amostra de 50mL, de água de cada tanque, com a adição de 1mL de reagente 1 (solução de sulfanilamida) e 2mL de reagente 2 (dihidrocloreto de N-(1-naftil) etilenodiamina). Potencial redox e pH são determinados por uso do aparelho Metrohm Herisau 691 pH meter e Metrohm Herisau pH-Meter E516 titriskop. A determinação dos valores de amónia é feita pelo método do Azul de Indofenol e os resultados só são obtidos no dia seguinte devido a um tempo mínimo de reação de 6 horas, preferencialmente 24 horas. Prepara-se uma solução de 100mL com 3mL de reagente de amónia 1 (fenol+ nitroprussiato de sódio) e 3mL de reagente de amónia 2 (tricitrato de sódio+ hidróxido de sódio). A dureza é medida por meio de uma titulação, com 50mL + 1mL de solução tampão e uma pastilha de dureza. Os níveis de nitratos são medidos recorrendo ao método de Brucina.

Durante o estágio foi ainda possível realizar análises de outros tanques da exposição e manutenção do circuito geral de água salgada do Aquário Vasco da Gama. A calibração dos aparelhos, assim como a limpeza do material de trabalho, foram outros dos conhecimentos adquiridos nesta zona do Aquário. Foi também possível realizar análises de água recolhida à ribeira do Safarujó, por iniciativa própria, para ter uma ideia dos níveis de poluição presentes após as primeiras chuvas, níveis esses que se revelaram excessivos para a manutenção da vida (Fig. 7).



Figura 7 - Análises de Amónia e Nitritos à água da ribeira do Safarujó. Da esquerda para a direita: Amónia 1:1; Amónia 1:2; Amónia 1:4; Nitritos 1:1. Os valores observados de amónia e nitritos eram respetivamente de $\text{NH}_4 \approx 1,136\text{mg/L}$ e $\text{NO}_2^- = 0,075\text{mg/L}$. Amostra recolhida no dia 7 de Janeiro de 2018.

Tabela II - Valores médios por população/espécie no período de 18/09/2017 a 18/09/2018.

Parâmetros	<i>A. occidentale</i> (Safarujó)	<i>A. occidentale</i> (Sizandro)	<i>I. almacai</i> (Arade) 1º Stock	<i>I. almacai</i> (Arade) 2º Stock	<i>I. lusitanicum</i> (Sado)
Amónia (mg/L)	0,113	0,076	0,137	0,126	0,087
Nitritos (mg/L)	0,007	0,008	0,013	0,022	0,011
pH	7,9	7,8	7,6	7,7	7,6
Potencial redox (mV)	241	239	247	245	245
Oxigénio dissolvido (mg/L)	8,5	9,1	8,4	8,7	8,2
Temperatura (°C)	15,0	15,7	15,1	15,1	15,6
Caudal (L/min)	0,929	0,733	0,409	1,043	0,582
Dureza (°F)	11,6	11,4	12,0	11,3	11,5

2.1.6. Rotinas anuais

Houve, igualmente, a oportunidade de participar nas limpezas dos tanques exteriores, as quais são feitas anualmente, dado o tempo que implicam e o volume de trabalho associado. Também muito importante e determinante na escolha da altura para fazer estes trabalhos é garantir o bem-estar dos animais, porque a sua manipulação é potencialmente causadora de lesões principalmente nos mais pesados e pelo facto de em algumas alturas do ano os animais estão ainda mais sensíveis, como durante a época da reprodução e no inverno. Estes são tanques com um grande volume de água, com uma maior profundidade e com um grande número de indivíduos *Cyprinius carpio*, *Carassius regiu*, *Scardinius erythrophthalmus* e *Anguilla*. As carpas são um marco do AVG e do seu jardim. Pelo seu volume e quantidade de biomassa, este é um trabalho demorado, pesado podendo implicar alguns riscos. O trabalho de limpeza recorre a todos os funcionários do serviço de aquariologia e consiste em vazar os tanques por inteiro, capturar e transferir temporariamente para outro tanque e contar os indivíduos, limpar e voltar a encher com água limpa. O tamanho de cada indivíduo e o enorme número destes aliados a uma grande área a limpar, tornam este trabalho duro, e o piso escorregadio é propenso a acidentes.

2.2. Limpezas

A limpeza de qualquer tanque deve ser realizada recorrendo, sempre que possível, a material próprio e específico daquele tanque para evitar contaminações. As limpezas devem ser feitas de preferência fora dos dias de alimentação, pois isto é uma tarefa que, especialmente em aquários mais pequenos, cria um elevado nível de stress fisiológico nos animais. A ação de passar o material de limpeza no meio aquoso cria uma forte agitação que perturba os organismos que ali vivem - é preciso muito cuidado para não perturbar os animais que se encontram agarrados ao vidro (estrelas do mar, caracóis ou outros organismos) e deve evitar-se ao máximo que fique areia presa entre o vidro e a escova/esponja para evitar riscar o aquário.

Assim, é possível utilizar várias técnicas para minimizar a introdução de stress e deve-se minimizar o tempo que se passa a limpar aquários. Os materiais usados variam de aquário para aquário e são condicionados pelos organismos, superfície a ser limpa, acesso ao aquário, tamanho e limpeza a ser feita. O material mais simples é uma esponja de cozinha, tendo sempre o cuidado de se usar a parte macia para evitar riscar o vidro. Embora a parte mais rija não risque de imediato, acumula e retém partículas rijas que riscam vidro se usadas de forma contínua. Muitas vezes, quando o aquário é demasiado fundo ou existe algum organismo tóxico (*Hermodice carunculata*) pode-se usar uma vara de madeira ou PVC de forma a “estender” o nosso braço e, assim, chegar a sítios mais complicados.

Quando se mantêm aquários durante um largo período de tempo, especialmente se estes forem de água salgada, é um dado adquirido que se vão formar depósitos de sais ao longo da linha de água ou em zonas de salpicos. Mesmo com manutenção regular, ao longo do tempo vão ficando depósitos cada vez mais difíceis de retirar. Quando isto acontece, é passível de se aplicar vinagre, diretamente ou numa esponja ensopada, na zona afetada e limpar de seguida. É necessário um cuidado elevado caso o aquário contenha algum organismo, pois o vinagre, embora seja um ácido fraco não deixa de ser um ácido e como tal não deve entrar em contato com a epiderme dos animais.

Em certos casos, quando os aquários são demasiado grandes, é utilizada uma vara longa com uma escova na ponta. Por vezes, nem isto é suficiente, sendo necessário entrar dentro do tanque para limpar o vidro de depósitos de algas incrustantes. Nestas alturas, baixa-se o nível de água, para um ponto em que é possível entrar dentro do tanque usando apenas um par de galochas e é suficiente para que os organismos sejam capazes de nadar e sobreviver durante o curto espaço de tempo em que o aquário está em manutenção (Fig. 8). São utilizadas esponjas ou, em situações mais difíceis, um



Figura 8 - Redução do nível de um aquário de Linguados (*Solea*) para permitir a entrada e limpeza dos vidros do mesmo, com recurso a esponja e um raspador. É necessário um cuidado extremo para não pisar nenhum organismo. Os movimentos devem ser lentos.

raspador com uma lâmina extremamente afiada para limpar o vidro. Nesta altura, aproveita-se também para fazer uma renovação quase total do volume de água e uma limpeza a fundo aos filtros de areia por meio de um *backwash*.

Durante a vida de um aquário é necessário, por vezes, repor ou adicionar areia. Seja por aspiração da areia, para renovação, seja por introdução de maior quantidade, quando novas espécies entram no aquário, antes de se colocar areão é necessário proceder à sua limpeza. A areia é colocada em recipientes e é injetada água sobre pressão desde o fundo até à camada superior. Isto atua como um *backwash* manual libertando matéria orgânica para o meio, sendo depois despejada. A areia é considerada limpa quando a resultante do enxugamento é água limpa. Embora existam outros

métodos para garantir uma limpeza total do areão, não se pretende a esterilização completa do mesmo. Existem bactérias benéficas a manter, pelo que um simples “*backwash* manual” é suficiente. Este procedimento é utilizado para renovação e limpeza de um areão já existente, de uma nova camada de areão a ser utilizada ou para limpeza dos filtros do circuito geral da água salgada.

Na grande maioria dos tanques é possível aspirar restos de alimentos, detritos ou qualquer outra matéria indesejada nos aquários, recorrendo a um tubo e a ação da gravidade para sifonar a matéria. Quando isto não é possível, recorre-se a uma rede para capturar os detritos e os restantes resíduos são capturados pelo sistema de filtragem. Nos tanques de grandes animais como o tanque da tartaruga marinha e o tanque dos leões marinhos (agora vazios em virtude de novas leis), devido ao seu tamanho, recorre-se a uma máquina de alta pressão ou uma mangueira para manter os tanques limpos. A inexistência de animais nestes tanques permitiu que estes fossem vazados por inteiro e facilmente limpos.

2.3. Reparações

Na duração do estágio foi possível assistir e ajudar na reparação de alguns aquários e equipamentos. A reparação de um aquário envolve vários procedimentos começando pela transferência dos organismos presentes para a quarentena ou para outro aquário disponível no momento. Após esta transferência, o tanque é desmontado e os materiais limpos e guardados. Foi prestada assistência em aquários que perdiam água pela junção dos vidros, tendo sido necessário retirar o silicone que fazia a vedação da água utilizando lâminas e facas. Depois de tudo limpo e livre de silicone antigo, o aquário foi selado novamente com silicone novo e, após o tempo recomendado de secagem, foi colocado a encher para testar a existência de novas fugas. Quando confirmada a estanquicidade do aquário, este foi novamente vazado e pôde repor-se a decoração. Num dos aquários foi necessário, para além da substituição do vidro, refazer toda a decoração (Fig. 9). Esta é feita por várias etapas. Inicia-se com o estabelecimento do plano da decoração e da colocação de suportes para a decoração e para as bombas de circulação nas paredes do aquário. De seguida, é feita e aplicada espuma de poliuretano expandido nos suportes previamente instalados. Quando seco, este pode ser esculpido e pequenos retoques são dados com betume reforçado com fibra de vidro. Quando a decoração está completa, são dadas várias camadas de resina cimentosa *sika top seal*[®] e sobre a qual são ainda colocadas duas camadas de resina epóxica e areia de coral.



Figura 9 - Início da reconstrução da decoração, recorrendo a espuma de poliuretano expandido e massa de juntas. Após a aplicação do poliuretano, este é moldado e depois coberto com um impermeabilizante.

Antes de se utilizar o poliuretano deve aplicar-se resina epóxica com areia à superfície que vai ser decorada para garantir uma boa fixação.



Figura 10 - *Gymnothorax favagineus* presente num aquário igual ao que se encontra em recuperação. A decoração deste é feita do mesmo modo. Após um certo espaço de tempo algas e outros organismos cobrem esta rocha artificial conferindo um aspeto realista ao aquário.

Após esta impermeabilização deve observar-se um período de secagem, conforme as indicações do produto, e só depois se pode reencher o aquário e recolocar o sistema em funcionamento. No entanto a introdução de vida só deve ser feita após um período longo de funcionamento para garantir o estabelecimento do ciclo do azoto e garantir o bom funcionamento do aquário (Fig. 10)

Foi também possível desmontar e reparar um equipamento de osmose inversa para purificação da água, que, embora funcional, se encontrava com fugas e a precisar de pequenas reparações.

2.4. Equipamentos de filtração

Durante o período de estágio foi recorrente o contacto com vários equipamentos – filtros, equipamentos de análise, etc. - o que permitiu compreender a sua utilidade e os seus princípios de funcionamento.

A filtragem da água dos aquários é essencial. Um aquário é efetivamente um sistema fechado quando comparado com o oceano e, como tal, é necessário recorrer a diferentes equipamentos para

retirar as impurezas do meio. Para este propósito, os equipamentos podem ser classificados em três tipos: mecânicos, químicos e biológicos. De uma forma geral, podemos atribuir a remoção de partículas e matéria orgânica aos filtros mecânicos; a remoção de metais e toxinas aos filtros químicos; e a remoção de compostos azotados a filtros biológicos. Em alguns dos casos, um filtro pode efetuar mais do que um tipo de filtração devido à matéria que contém, mas é geralmente otimizado para uma só função.

A determinação do tipo e tamanho do filtro de um aquário está dependente de vários fatores tais como a espécie e o número de indivíduos, o volume do tanque e área disponível para colocar os filtros, se existe conexão com o circuito geral e se existem outros filtros que integrem o sistema de filtração desse aquário.

No AVG, a filtração mecânica é feita, maioritariamente, através de redes de diferentes micragens que removem os detritos maiores e constituem a primeira parte da filtração mecânica de qualquer tanque/aquário. De seguida, a água é forçada a passar por uma esponja que retira uma grande parte da matéria em suspensão, que é demasiado pequena para ficar retida nas redes. A densidade da espuma condiciona a eficiência da filtração nesta fase. Uma densidade mais elevada filtra mais depressa, mas fica colmatada rapidamente sendo necessário lavar com mais frequência.

A passagem por filtros de areia é mais utilizada por aquários de maior volume e consiste num cilindro de areia, com entrada e saída de água nas extremidades, sendo a água forçada a atravessar todo o areão ficando retidas as partículas de matéria orgânica e detritos entre os grãos de areia. A colmatção destes filtros, se não for detetada a tempo, pode levar a que as bombas ou as tubagens rebentem devido à crescente pressão necessária para fazer atravessar a água pelo material filtrante. A inversão do sentido da água dentro do filtro, ou *backwash*, consiste em efetuar o processo de filtração em reverso libertando os detritos do areão e descartada aquela água para o esgoto. Em certos aquários, é utilizado um filtro fechado contendo vários tipos de material filtrante de diferentes porosidades que garantem uma filtração mecânica e ainda filtração biológica pela adição de bio-bolas no seu interior.

Um escumador de proteínas é também utilizado para remover matéria orgânica articulada, criando uma coluna de bolhas de ar onde a matéria orgânica se liga, aumentando a tensão superficial na bolha e fazendo com que esta se eleve num copo que é posteriormente limpo.

A filtração biológica consiste na passagem da água por colónias de bactérias do ciclo do azoto, transformando os subprodutos da excreção dos organismos sob a forma de amónia em nitritos e, posteriormente, em nitratos. Os nitratos podem ser utilizados pelas plantas como um substrato para o crescimento. As trocas de água regulares impedem que este produto final do ciclo do azoto não exceda valores que são tóxicos para os animais.

A filtração química consiste na injeção de ozono, O_3 , uma molécula altamente reativa, que pela dissociação em O_2 e O e pelas ligações com as moléculas orgânicas as destrói. A toxicidade do O_3 , pelo seu enorme poder redutivo, leva a que sejam necessários cuidados especiais na utilização deste agente como meio de esterilização da água. No AVG era principalmente usado para limpar as tubagens desde o sistema de filtração do circuito geral de água salgada até às diferentes zonas. Outra forma de filtração química é a utilização de carvão ativado, utilizado principalmente para remoção de metais pesados e outros químicos da água.

3. Eventos

Durante o estágio foi possível participar e auxiliar em vários eventos. Estes serviram não só para adquirir novos conhecimentos na área do projeto, mas também para adquirir experiência noutras áreas.

O Aquário Vasco da Gama teve a honra e prazer de apresentar e promover uma sessão de palestras sobre cnidários: Encontros no Aquário Vasco da Gama - “2º Seminário: Estudos dos cnidários, as ferramentas disponíveis” no dia 15 de Novembro de 2017, cujo objetivo foi juntar os investigadores nacionais que estudam a biologia e a ecologia das medusas e cnidários ou usam métodos para o estudo dos organismos marinhos, que podem ser aplicados no estudo das medusas (Fig. 11). Também se procedeu a uma mostra gastronómica de vários pratos contendo medusas no âmbito do valor alimentar destas e do seu aproveitamento económico como um produto alimentar gourmet (Fig. 12).

Este evento contribuiu para adquirir novos conhecimentos sobre o tema bem como experiência na organização deste tipo de atividades.



Figura 11 – Palestra sobre cnidários.



Figura 12 – Mostra gastronómica de medusas como produto gourmet.

Com base nos princípios de conservação e ciência, o AVG providencia um espaço e recursos para a realização de estudos e experiências relacionadas com o ambiente aquático, tendo sido possível participar numa experiência que visa determinar o efeito da etapa de reprodução *ex-situ* na aquisição/transferência de bactérias multirresistentes a antibióticos e genes de resistência em boga-portuguesa (*Iberochondrostoma lusitanicum*), proveniente da ribeira do Sado.

Este trabalho, realizado pelo aluno de Doutoramento, Miguel Grilo, investigador no ISPA, em conjunto com a investigadora Carla Sousa-Santos e com o AVG, em curso entre 7 de Maio de 2018 e 4 de Junho de 2018, consistiu em montar dois sistemas numa área sujeita a condições

climatéricas semelhantes às existentes para os tanques utilizados no programa de reprodução *ex-situ* já estabelecido, sendo um dos tanques montado em condições o mais estéreis possível (TESTE) enquanto que o outro seria montado do modo mais normal e usado no AVG (CONTROLO). A manutenção e alimentação do aquário do controlo era feita pelos responsáveis da área de reserva e reprodução e o de teste pelo investigador, usando materiais esterilizados (Fig. 13).



Figura 13 - Preparação para captura dos indivíduos para observações. Aquário lado esquerdo - controlo. Aquário lado direito – teste.

Os organismos eram medidos e observados semanalmente e realizados esfregaços da zona abdominal, das barbatanas e da zona anal.

Espera-se perceber se melhores práticas de higiene relativamente simples como a desinfeção das mãos e do material e evitar o uso de material entre tanques podem diminuir ou evitar o aparecimento de bactérias multirresistentes e assim melhorar e avaliar se a intervenção humana contribui para introduzir, nos grupos de peixes para reprodução em cativeiro e posterior libertação, bactérias que não estão presentes nos rios de origem. Os resultados deste estudo ainda não são conhecidos na altura da elaboração deste relatório.

Por vezes é necessário renovar e introduzir novas espécies nos aquários, tendo sido possível assistir à descarga das mesmas realizada pela FlyingSharks, aprender e perceber os procedimentos desde a receção de peixe vivo até à introdução nos aquários finais. Todo o processo de separação, aclimatização, quarentena, transferência e introdução num aquário com espécies já presentes foi observado e, sempre que possível, foi prestado todo o auxílio necessário em qualquer fase do projeto (Fig. 14;15).



Figura 14 – Chegada e preparação para aclimatização.



Figura 15 – Organismos em aclimatização.

4. Conclusão

Estagiar no Aquário Vasco da Gama foi muito gratificante em termos de aquisição de conhecimentos e de experiência em aquariologia e um duplo privilégio: trabalhar nos “bastidores” do primeiro e mais antigo Aquário de Portugal que alberga uma coleção única de espécimes recolhidos pelo Rei D. Carlos; e, por outro lado, beneficiar da sábia orientação de uma equipa de especialistas que investe na investigação, na recuperação de espécies e na educação das futuras gerações em prol da preservação dos habitats marinhos e de água doce.

Ao longo do período de estágio, saliento como mais-valias para a minha experiência e aprendizagem a manutenção de aquários, o trabalho de laboratório e a participação no projeto de conservação de espécies endémicas das ribeiras portuguesas - *Iberochondrostoma lusitanicum*, *Iberochondrostoma almaçai* e *Achondrostoma occidentale*, conforme descrito no *corpus*.

Com efeito, foram adquiridas rotinas de observação, de manutenção dos aquários e de análise laboratorial em contexto real de trabalho. A possibilidade de trabalhar de perto com várias espécies dos mais variados ambientes permitiu expandir o conhecimento adquirido durante a licenciatura e primeiro ano de mestrado e aplicar os conhecimentos obtidos de uma forma extremamente prática. Paralelamente, considerando que os programas de conservação *ex-situ* são de grande importância e uma excelente ferramenta para evitar a extinção de espécies endémicas de peixe, os métodos utilizados no AVG provam que técnicas simples e baratas funcionam, ainda que não evitem a extinção de uma espécie a longo prazo se forem implementadas sem o melhoramento dos habitats naturais. A recuperação das ribeiras e cursos de água, juntamente com a educação e sensibilização junto da população, são também fundamentais para minimizar o risco de extinção das mesmas.

Em contexto real, trabalhar em equipa é fundamental para que tudo concorra com sucesso para o mesmo fim. A resolução de diversos e variados problemas em conjunto permitiu ganhar flexibilidade e capacidade de resolver as falhas no momento, recorrendo aos meios disponíveis no local.

Por último, participar nos eventos que tiveram lugar no AVG, foi extremamente enriquecedor, pois, para além da responsabilidade individual em contribuir para o seu sucesso, permitiu expandir e aplicar de forma mais prática os conhecimentos teóricos obtidos.

5. Bibliografia

Allan, J., & Flecker, A. (1993). Biodiversity Conservation in Running Waters. *BioScience*, 43(1), 32-43. doi:10.2307/1312104

Barnosky, A. D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G. O. U., Swartz, B., Quental, T. B., ... Ferrer, E. A. (2011). Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, 471, 51. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nature09678>

Bentsen HB, Olesen I (2002) Designing aquaculture mass selection programs to avoid high inbreeding rates. *Aquaculture* 204:349–359

Berka, R., The transport of live fish. A 1986 review. EIFAC Tech.Pap.,(48):52 p.

Clavero M, Germoso V, Levin N, Kark S (2010) Geographical linkages between threats and imperilment in freshwater fish in the mediterranean basin. *Divers Distrib* 16:744–754

Collares-Pereira MJ, Cowx I (2004) The role of catchment scale environmental management in freshwater fish conservation. *Fish Manag Ecol* 11:303–312

Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B. & Collen, B. (2014). Defaunation in the anthropocene. *Science*, 345, 401-406.

Faria PJ, van Oosterhout C, Cable J (2010) Optimal release strategies for captive-bred animals in reintroduction programs: experimental infections using the guppy as a model organism. *Biol Conserv* 143:35–41

Gil, F., Sousa-Santos, C., & Almada, V. (2010). A simple and inexpensive technique for the ex situ reproduction of critically endangered cyprinids - *achondrostoma occidentale* as a case study. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(4), 661–664. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00408.x>

Håkansson, J. (2004). Genetic aspects of ex situ conservation. *Linköping (SE): Department of Biology, IFM. Linköping University*.

HANNA Instruments (2018) - <https://hannainst.com/hi9147-portable-galvanic-dissolved-oxygen-meter.html>

Harmon, T. S. (2009), Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. *Reviews in Aquaculture*, 1: 58-66. doi:10.1111/j.1753-5131.2008.01003.x

Hoffmann, Michael & Hilton-Taylor, Craig & Angulo, Ariadne & Böhm, Monika & Brooks, Thomas & H M Butchart, Stuart & E Carpenter, Kent & Chanson, Janice & Collen, Ben & Cox, Neil & Darwall, William & Dulvy, Nicholas & Harrison, Lucy & Katariya, Vineet & M Pollock, Caroline & Quader, Suhel & Richman, Nadia & S L Rodrigues, Ana & Tognelli, Marcelo & N Stuart, Simon. (2010). The Impact of Conservation on the Status of the World's Vertebrates. *Science (New York, N.Y.)*. 330. 1503-9. 10.1126/science.1194442. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2008.09.007>.

J. Vörösmarty, C & B McIntyre, P & Gessner, Mark & Dudgeon, D & Proussevitch, Alexander & Green, Pamela & Glidden, Stanley & Bunn, Stuart & Sullivan, CA & Reidy Liermann, Catherine & Davies, Peter. (2010). Global Threats to Human Water Security and River Biodiversity. *Nature*. 468. 334. 10.1038/nature09549.

J.A. García-Charton, A. Pérez-Ruzafa, C. Marcos, J. Claudet, F. Badalamenti, L. Benedetti-Cecchi, J.M. Falcón, M. Milazzo, P.J. Schembri, B. Stobart, F. Vandeperre, A. Brito, R. Chemello, M. Dimech, P. Domenici, I. Guala, L. Le Diréach, E. Maggi, S. Planes, Effectiveness of European Atlanto-Mediterranean MPAs: Do they accomplish the expected effects on populations, communities and ecosystems?, *Journal for Nature Conservation*, Volume 16, Issue 4, 2008, Pages 193-221, ISSN 1617-1381,

Karen Higginbottom, Kelley Rann, Gianna Moscardo, Derrin Davis, Sue Muloin - STATUS ASSESSMENT OF WILDLIFE TOURISM IN AUSTRALIA: AN OVERVIEW

Loidi J. (2017) Introduction to the Iberian Peninsula, General Features: Geography, Geology, Name, Brief History, Land Use and Conservation. In: Loidi J. (eds) *The Vegetation of the Iberian Peninsula. Plant and Vegetation*, vol 12. Springer, Cham

Magin, C. D., Johnson, T. H., Groombridge, B., Jenkins, M., & Smith, H. (1994). Species extinctions, endangerment and captive breeding. In *Creative conservation* (pp. 3-31). Springer, Dordrecht.

Maitland PS, Morgan NC (2002) Conservation management of freshwater habitats—Lakes, rivers and wetlands. Kluwer Academic Publishers, Norwell

McGowan, P. J. K., Traylor-Holzer, K., & Leus, K. (2017). IUCN Guidelines for Determining When and How Ex Situ Management Should Be Used in Species Conservation. *Conservation Letters*, 10(3), 361–366. <https://doi.org/10.1111/conl.12285>

Ministry of Environmental Protection. The State of the Environment of China in 2008 http://english.mep.gov.cn/News_service/news_release/200906/t20090618_152932.htm (Ministry of Environmental Protection, The People's Republic of China, 2009).

PART II: STATUS ASSESSMENT 2001 - WILDLIFE TOURISM RESEARCH REPORT SERIES: NO. 1 Status Assessment of Wildlife Tourism in Australia Series

Pritchard, D.J., Fa, J.E., Oldfield, S. & Harrop, S.R. (2011). Bringing the captive closer to the wild: redefining the role of ex situ conservation. *Oryx*, 46, 18-23.

Raphael K. Didham, Jason M. Tylianakis, Melissa A. Hutchison, Robert M. Ewers, Neil J. Gemmill, Are invasive species the drivers of ecological change?, *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 20, Issue 9, 2005, Pages 470-474, ISSN 0169-5347, <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.07.006>. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169534705002272>)

Redford, K.H., Amato, G., Baillie, J. et al. (2011). What does it mean to successfully conserve a (vertebrate) species? *Bioscience*, 61, 39-48.

Redford, K.H., Jensen, D.B. & Breheny, J.J. (2012). Integrating the captive and the wild. *Science*, 338, 1157-1158.

Sousa-Santos, C., Gil, F., & Almada, V. C. (2014). Ex situ reproduction of Portuguese endangered cyprinids in the context of their conservation. *Ichthyological Research*, 61(2), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s10228-013-0383-6>

SWAIN, A. (1997). Ethiopia, the Sudan, and Egypt: The Nile River Dispute. *The Journal of Modern African Studies*, 35(4), 675-694.

Tittensor, D.P., Walpole, M., Hill, S.L.L. et al. (2014). A mid-term analysis of progress towards international biodiversity targets. *Science*, 346, 241-244

US-Environmental Protection Agency. The Quality of Our Nation's Waters. EPA-841-R-02-001 (US EPA, 2000).

6. ANEXOS

PRINCÍPIOS BÁSICOS PARA PRODUÇÃO E MANUTENÇÃO DE
PEIXES PARA EFEITOS DE REPOVOAMENTO - ESPÉCIES
ENDÉMICAS DAS RIBEIRAS PORTUGUESAS

RUI CALADO
FÁTIMA GIL
CARLA SOUSA SANTOS
TERESA BATISTA



Índice

Introdução:	3
Objetivos principais:	4
1. Reprodução em cativeiro no AVG	5
1.1. Local de reprodução:	5
1.1.1. Circuito e descrição dos tanques de reprodução:	6
1.1.2. Enriquecimento Ambiental:	8
1.2. Estabelecimento da geração inicial:	10
1.3. Manutenção dos exemplares:	12
1.4. Reprodução:	16
1.4.1. Preparação dos Tanques:	16
1.4.2. Observação de Reprodutores:	17
1.4.3. Observação de Larvas:	18
2. Doenças:	21
3. Boas Práticas:	22
3.1. Quarentena (Manual aplicável - Protocolo de Quarentena do AVG)	22
3.1.1. Entrada	22
3.1.2. Manipulação	22
3.1.3. Transporte	22
3.1.4. Alimentação	23
3.2. Local de reprodução	23
3.2.1. Entrada	24
3.2.2. Alimentação	24
3.2.3. Manipulações	24
4. Conclusões finais:	25
5. Referências	26

Introdução:

Portugal tem, em toda a sua massa terrestre, incluindo ilhas, 92 319Km², com 414km² de zonas fluviais, incluindo rios, ribeiras, barragens, pegos, açudes e outros cursos de água. Destes apenas os principais rios são navegáveis, sendo que, em alguns casos, apenas em alguns locais (IPMA). Estes cursos de água, além de servirem como local de estabelecimento de povoações desde os primeiros povos que habitam a Península Ibérica, servem também como um local propício para o desenvolvimento de atividades agrícolas e para o estabelecimento de indústrias. O aumento da população assim como necessidades produtivas cada vez maiores levam a que haja uma maior degradação das ribeiras por diversos fatores:

- A quantidade de água usada pelas povoações, campos agrícolas e indústrias faz com que, nos meses mais secos, a existência de água no leito das ribeiras seja nula ou quase nula. As espécies endémicas destes locais são forçadas a migrar ou desaparecem.

- A poluição, seja da água, seja das margens, ameaça os organismos, alterando as propriedades físico-químicas da água, podendo torná-las incompatíveis com a sobrevivência dos organismos presentes.

- A destruição do próprio habitat - margens, vegetação aquática, vegetação terrestre que protege as margens da erosão, assoreamento dos pegos - tornando a vivência das espécies ou a sua reprodução impossível.

O aumento da frequência e o prolongamento dos períodos de seca, aliados aos fatores anteriormente mencionados expõe as espécies fluviais a um cada vez maior risco de extinção.

A produção em cativeiro destas espécies pode representar o único meio de preservar a herança biológica deixada por anos de evolução nestes locais confinados. Muitas destas espécies têm a sua evolução condicionada pelo ambiente onde se encontram. A decisão de integrar estas espécies num projeto de conservação *ex-situ* segue as regras impostas pela IUCN (2014) e por McGowan et al. (2016) no uso de técnicas de conservação *ex-situ* para a conservação de espécies criticamente em perigo, e pelo Decreto-Lei n.º 242/2015. Com base nestes documentos e no conhecimento do estado das populações, estabeleceu-se que estas espécies, endémicas dos rios portugueses, necessitavam de medidas de conservação.

Objetivos principais:

1. Reproduzir e manter em cativeiro diferentes populações de espécies endémicas de peixes de sistemas fluviais com estatuto de conservação criticamente em perigo, podendo estes locais secar ou não em certas alturas do ano, tendo em conta os diversos fatores que condicionam estes organismos no meio natural.
2. Repovoamento dos rios de origem dos progenitores com exemplares reproduzidos e mantidos em cativeiro.

São apresentados os riscos, os problemas e as soluções desenvolvidas ao longo dos anos com quatro espécies endémicas das ribeiras portuguesas (*Iberochondrostoma almacai*, *Iberochondrostoma lusitanicum*, *Achondrostoma occidentale*, *Squalius pyrenaicus*) pelo Aquário Vasco da Gama (AVG), em parceria com o Instituto Universitário de Ciências Psicológicas, Sociais e da Vida, (ISPA), Quercus e Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, no âmbito do protocolo assinado entre essas entidades.

1. Reprodução em cativeiro no AVG

1.1. Local de reprodução:

Tal como em qualquer produção, é necessário assegurar certas condições para o bom desenvolvimento destes organismos fora do seu habitat natural. Deve-se ter ainda em consideração que estas espécies irão reproduzir-se, se tudo correr bem, neste local e que a próxima geração nunca terá as mesmas condições dos seus progenitores no meio selvagem. Isto significa que a seleção natural não vai atuar da mesma maneira, o que condicionará o comportamento destes organismos quando os mesmos forem colocados nas ribeiras. Existe também o risco de a seleção natural não ocorrer como no meio selvagem, condicionando a sobrevivência dos animais libertados. A maioria de programas de repovoamento tem uma taxa de sucesso baixa devido à mortalidade elevada dos indivíduos libertados, quando comparados com peixes de ambiente natural com a mesma idade (Godin, 1978; Nordeide et al., 1994; Phillipart, 1995; Olla et al., 1994, 1998; Hilborn, 1998; Brown and Laland, 2001).

Escolheu-se um conjunto de tanques, localizados ao ar livre na área do AVG designada por Torreão, por se encontrarem numa zona relativamente isolada. O facto de este ser um espaço inteiramente dedicado ao projeto minimiza qualquer perturbação causada pelo movimento de pessoas ou cargas, trazendo vantagens na manutenção dos próprios organismos e aproximando-se das condições existentes nas zonas onde estes indivíduos foram capturados. O espaço do Torreão é exterior pelo que se encontra exposto aos elementos, providenciando um ambiente menos controlado, mas mais semelhante ao de um rio. Permite igualar o fotoperíodo e ainda, quando sujeito a chuvas e ventos, permite a renovação natural da água e a exposição a alterações dos parâmetros da água tal como no habitat natural.

1.1.1. Circuito e descrição dos tanques de reprodução:

Tanques:

Construídos em cimento com isolamento em poliuretano e revestimento com resina epóxica. Existem 2 grupos de tanques (Fig.2).

Dimensões T1, T2, T3, T4, T5, T6 – 5,0 x 1,0 x 0,25 metros, com 1250L.

Dimensões T7, T8 e T9 - 5,0 x 1,95 x 0,32 metros, 3000L.

Entrada de água, fornecimento da EPAL, de um lado e saída pelo outro por meio de dois tubos-ladrão (*tropolein*), um de altura fixa (nível máximo de água no tanque) (Fig. 1 c)) e um de altura regulável (Fig.1 a), b)). O *tropolein* deve ser mantido sempre com uma rede de malha de 1 mm, para impedir que os indivíduos mais jovens passem acidentalmente para o esgoto. O arejamento é fornecido por intermédio de um compressor de ar.

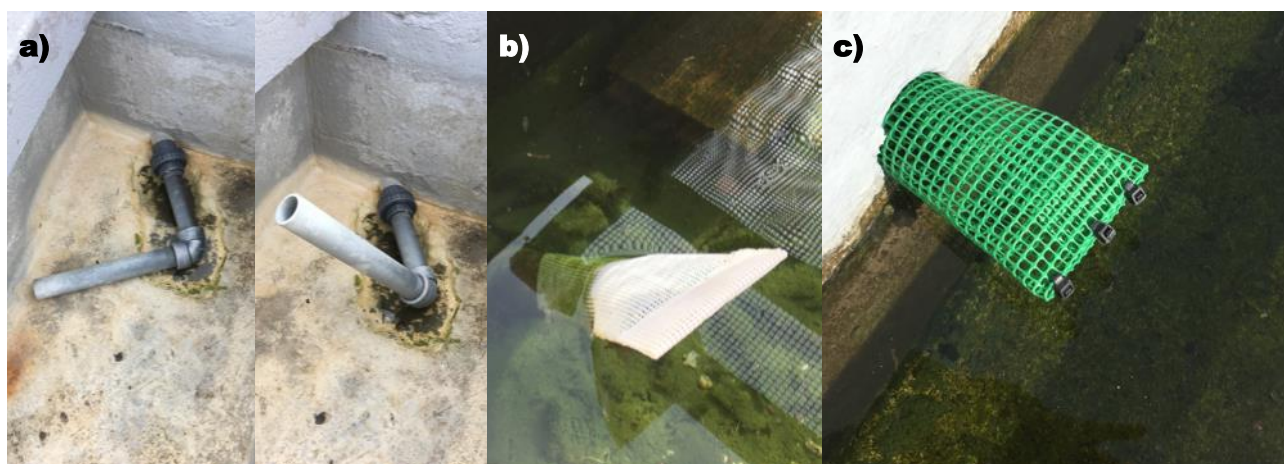


Figura 1 - Sistemas de controlo do nível dos tanques.

Circuito de água:

O circuito presente nos tanques de reprodução é aberto e visa permitir a renovação constante da água e a eliminação de gorduras e outras partículas que se encontrem à superfície da água, o que, além de contribuir para a limpeza do tanque, facilita as trocas gasosas. O nível pode ser ajustado para aumentar ou diminuir a altura da coluna de água, conforme a necessidade dos organismos e das plantas, e facilita a manutenção e captura dos indivíduos (Fig. 2).

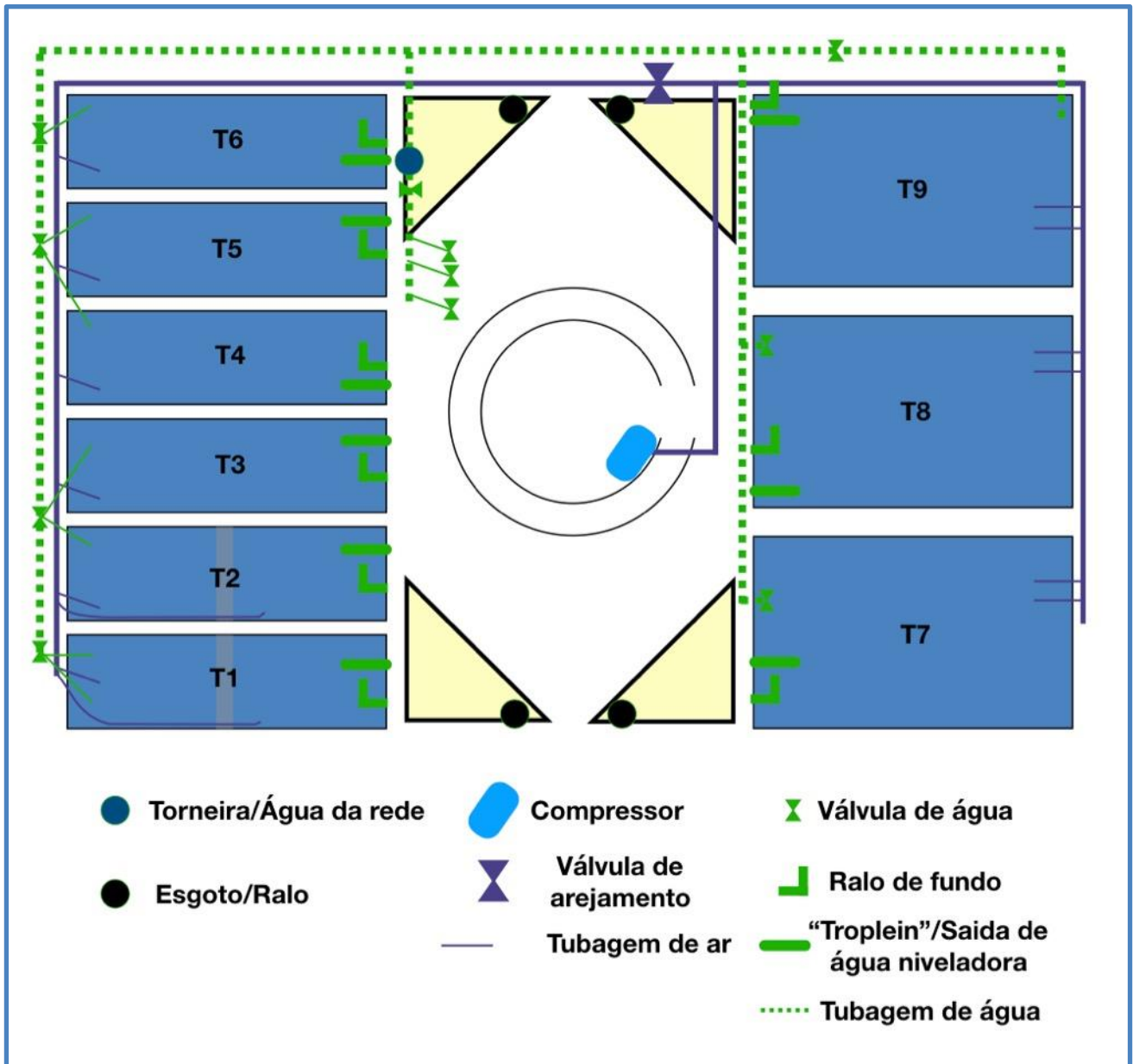


Figura 2 - Esquema dos tanques e respetivo equipamento de circulação da água e de arejamento.

As estratégias de manutenção dos peixes e condições de montagem dos tanques visam minimizar a seleção de alterações a nível do genoma e redução da diversidade genética, que podem ocorrer durante a reprodução e criação em cativeiro das espécies, sendo as utilizadas neste projeto:

- Tanques dimensionados à quantidade de animais que se procura capturar + reprodução.
- Arejamento contínuo e controlado.
- Circuito aberto (com caudal de renovação controlado e ajustado manualmente)
- Adicionar vegetação palustre e aquática para ensombramento, refúgio de larvas e juvenis e reprodução (substrato para os ovos).
 1. Vegetação encontrada nos rios (*Nasturtium officinale*).
 2. Vegetação exótica (*Typha latifolia*, *Cyperus alternifolius*, *Echinodorus sp.* e *Egeria densa*).
 3. As raízes das plantas atuam como substrato para os ovos.

1.1.2. Enriquecimento Ambiental

Ensombramento:

O ensombramento é feito recorrendo a placas de madeira e PVC. Para além de reduzirem a quantidade de radiação ao impedirem uma exposição direta dos raios solares sobre a água, as placas de ensombramento procuram replicar os troncos caídos e a vegetação densa, respondendo ao comportamento dos peixes na natureza.

Sobre toda a extensão do tanque existem molduras de madeira com rede que atuam como um meio de proteção contra a predação por aves que possam sobrevoar a zona. As redes impedem também que algum peixe possa saltar para fora do tanque e assim morrer (Fig. 3).

Refúgios:

Dentro dos tanques devem ser incluídos locais próprios de refúgio destes animais, de forma a permitir desenvolver a capacidade de procurar esconderijo dentro de tocas e buracos, de forma semelhante aos encontrados no meio natural. Podem ser utilizadas pedras provenientes dos próprios rios onde foram efetuadas capturas ou, de forma a facilitar a obtenção e limpeza dos mesmos, tijolos.

Dentro dos tanques, os tijolos possuem duas funções: permitem que os organismos encontrem neles um refúgio de predadores ou objetos/seres estranhos e, assim, ganhem a capacidade de reconhecer ameaças e responder da forma correta. Ao mesmo tempo, facilitam a captura de espécimes para eventuais análises que possam ser necessárias.

Após a reprodução é comum os juvenis não conseguirem competir pelo espaço e pela captura de alimento e serem predados pelos indivíduos adultos. As gaiolas de rede de 5mm (Fig.3) permitem que larvas e indivíduos juvenis possam entrar voluntariamente, ampliando o espaço de isolamento em relação aos indivíduos adultos, e aumentando, assim, a taxa de sobrevivência dos indivíduos, o que leva a um maior crescimento da população. A sobrevivência das larvas e juvenis tem um comportamento semelhante ao que teriam na natureza. Indivíduos mais lentos ou com qualquer deficiência são predados pelos adultos. As grades simulam o espaço criado pelas raízes e vegetação que crescem em pouca profundidade, junto das margens, espaço este inacessível aos adultos.



Figura 3 - Gaiolas de rede que servem de refúgio a juvenis. É possível observar ainda as redes de proteção.

Vegetação:

A vegetação deve ser incluída proporcionando diversas vantagens. Primeiramente e mais importante, permite simular de melhor maneira o habitat natural destas espécies. As raízes das plantas fornecem um local de refúgio (fig.4 **a**), tal como os tijolos que duplicam em áreas de maternidade. As plantas também fornecem proteção do clima, especialmente da radiação solar, proporcionando sombra sobre a água (fig.4 **b**). A vegetação envolvente protege a superfície do sol e do vento estabilizando a temperatura da água; permite, também, que as variações de temperatura da água sejam mais graduais.

A produção com baixa renovação de água, devido à presença de larvas e juvenis, torna inevitável o aparecimento de amónia e outros compostos azotados. A vegetação contribui para a redução destes compostos, atuando como um filtro biológico.

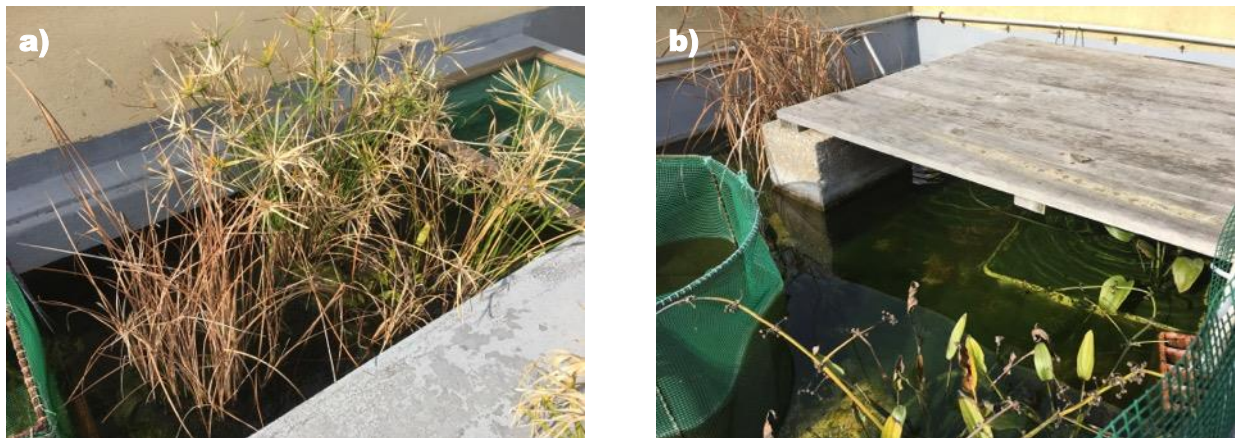


Figura 4 - Vegetação e local de sombra para refúgio dos indivíduos.

1.2. Estabelecimento da geração inicial:

O estabelecimento da primeira geração vai depender de diversos fatores, sendo os mais importantes (1) o número de indivíduos capturados e (2) o número de indivíduos que sobrevivem à quarentena. O número de animais capturados em cada população permitido pelo ICNF é de 30. Cada captura carece de pedido e autorização do Instituto de Conservação da Natureza e Florestas (ICNF). Esta fase inicial é a fase mais crítica, pois compreende uma adaptação a um meio diferente e a um espaço novo. As variações que ocorrem são, devido à natureza do sistema, mais rápidas e mais pronunciadas.

Durante esta fase são também problemáticas as lesões causadas pela manipulação na captura e no transporte e pelo facto de, muitas vezes, os peixes serem capturados em locais onde existem águas de esgoto muito contaminadas, devido a capturas em épocas de baixo caudal nas ribeiras.

Quarentena:

Assim que os peixes capturados chegam às instalações devem ser transferidos para a quarentena para permitir uma adaptação a novas condições e reduzir o *stress* da viagem. O isolamento permite a observação e tratamento dos novos exemplares e garante que não há contaminação dos tanques de destino ou de outros exemplares já aí presentes.

O procedimento de quarentena compreende várias fases e é descrito no Protocolo de Quarentena do AVG. Este protocolo é aplicável a todos os animais que dão entrada no Aquário tendo estes que passar pelas fases de receção, profilaxia, alimentação, vigilância e transferência.

A saída dos indivíduos da quarentena só pode ser feita mediante a autorização de um responsável superior e segundo os prazos estabelecidos pelo DGAV, sendo que para estes animais é requerido que permaneçam em condições de quarentena durante um prazo mínimo de 15 dias.

Transferência para os tanques:

É sempre aconselhável fazer uma habituação prévia ao meio. O tanque de destino deve ser preparado com antecedência, de acordo com o que foi dito anteriormente, num mínimo de 48 horas antes do povoamento para garantir a libertação do cloro da água da rede. Antes de se colocar os organismos devem ser tidas em conta as variações de temperatura do meio onde estes se encontram e do meio para onde irão. Podem ser aplicadas várias técnicas para minimizar perdas pelo choque térmico. Pode-se reduzir ou aumentar gradualmente a temperatura do tanque de origem até igualar a temperatura do tanque de destino; pode-se reduzi-la ou aumentá-la no recipiente de transporte (menor tempo e gasto de menos energia devido a um menor volume); pode-se igualá-la no tanque de origem durante a transferência e depois deixar que este estabilize. O procedimento adotado no AVG consiste em misturar lentamente as águas do tanque de destino e do recipiente de transporte até que se considere que ambas as águas são iguais. É necessário efetuar esta manobra lentamente para evitar variações bruscas.

1.3. Manutenção dos exemplares:

Diária e semanalmente é necessário proceder a verificações para assegurar a qualidade de vida dos organismos (Tabela I). Alguns dos pontos referidos na tabela seguinte asseguram a sobrevivência a curto prazo e afetam de forma direta a qualidade da água (retirar mortos, verificar o arejamento, etc.) enquanto que outros afetam os organismos de forma indireta. A concentração de O₂, amónia e nitritos, os valores de temperatura e do caudal de renovação da água têm um impacto conhecido na saúde dos peixes.

Tabela I - Rotinas na Manutenção dos exemplares.						
	2ªFeira	3ªFeira	4ªFeira	5ªFeira	6ªFeira	Fim-de-Semana
Manutenção	<ul style="list-style-type: none"> - Ver se existem mortos e retirar, registar e observar esfregaço de pele e brânquias à lupa. - Retirar restos de comida que sobrem. 					
Alimentação	Larva Mosquito + Artémia	-	Larva Mosquito + Artémia	-	Larva Mosquito + Artémia	Pode ser dada uma combinação de larva com papa.
Verificações	<ul style="list-style-type: none"> - Confirmar se o arejamento está a funcionar e se não há qualquer entupimento. - Confirmar se as entradas de água estão a correr. - Verificar e limpar as redes de proteção dos tubos-ladrão (<i>tropoleins</i>). - Verificar o comportamento e estado geral dos exemplares. 					
Sempre que necessário	<ul style="list-style-type: none"> - Excesso de depósito no fundo dos tanques (o lodo não é necessariamente sujidade, mas a sua acumulação pode provocar o aparecimento de zonas de anoxia) deve ser removido com sifão. Não apanhar com uma rede. - Substituir as tampas de rede. 					
Medições	O ₂ , Temperatura e Caudal	O ₂ , Temperatura e Caudal	O ₂ , Temperatura e Caudal	O ₂ , Temperatura Caudal Amónia Nitritos pH Dureza	O ₂ , Temperatura e Caudal	-

Assim, os resultados das medições destes parâmetros permitem-nos ajustar a quantidade de alimento de forma a garantir que os referidos parâmetros se mantêm dentro de valores compatíveis com o bem-estar dos peixes (O_2 mínimo de 5mg/l; amónia e nitritos preferencialmente inferiores a 0,1mg/l N sob a forma de amónia e nitritos; a temperaturas mais altas os resíduos de matéria orgânica degradam-se mais depressa transformando-se em amónia e nitritos; a redução do caudal de renovação provoca a acumulação dos compostos da oxidação dos resíduos orgânicos).

Alimentação:

A alimentação destes organismos deve ser simultaneamente uma alimentação o mais semelhante ao habitat selvagem e cuja composição seja suficientemente variada para corresponder às suas necessidades. O principal alimento a ser fornecido deve ser larva de mosquito vermelha (Chironomídeos), que se adquire congelada, porque corresponde a um alimento a que os peixes têm acesso na natureza e que reconhecem prontamente. Este pode ser misturado com Artémia (*Artemia salina*) para aumentar o conteúdo nutricional.

A “papa” consiste numa mistura de miolo de camarão, miolo de mexilhão, ervilhas e cenoura triturada e congelada e é fornecida de forma esporádica como suplemento alimentar. Pode ser dada exclusivamente como alimento principal ou dada em conjunto com o alimento regular. O alto teor de vegetais pretende simular os nutrientes provenientes das plantas de que estas espécies se alimentam no meio natural. Possui um valor nutricional elevado em colagénio, proteínas, vitamina B12, Molibdénio e Selénio (Dietwin, 2018) que fortalece a saúde dos indivíduos. O uso de mexilhão em grande quantidade, tem um efeito reparador dos tecidos devido a secreções destes bivalves (Jeon et al, 2017). Foi também observado que, quando era utilizada papa, a qualidade da água (amónia e nitritos) é superior quando comparada com a qualidade da água após larva + artémia. Tal facto pode ser devido a que a papa é preparada de antemão, com limpeza dos alimentos envolvidos e todos eles são próprios para consumo humano, o que pressupõe uma maior higiene dos mesmos quando comparados com larva e artémia, alimentos impróprios para consumo humano.

A regularidade com que é dada a alimentação permite que o crescimento dos indivíduos seja constante. Ao mesmo tempo, diminui a necessidade de competição, aumentando a sobrevivência dos mesmos. A quantidade de alimentação varia com:

- 1) o número de indivíduos que existem no tanque;
- 2) a temperatura da água, que tem influência direta sobre a quantidade de alimento que sobra.

O apetite tende a diminuir com a diminuição da temperatura. As observações diárias mostram que

nestas espécies existe uma diminuição acentuada do apetite quando a temperatura é inferior a $14^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$;

3) a quantidade de alimento que existe no tanque no dia seguinte. Excesso de alimento provoca aumento de compostos azotados degradando a qualidade da água. Nunca deve sobrar comida no fundo do tanque;

4) as análises mais recentes. Elevados níveis de amónia implicam que os organismos estiveram sujeitos a um *stress* elevado pelo que é aconselhável reduzir a quantidade de alimento fornecido, minimizando as variações que possam ocorrer no meio.

Deve-se prever a quantidade de alimento que deve ser descongelado/preparado tendo em conta a previsão climatérica para o dia seguinte. Quando há baixa de temperatura significativa pode-se optar por reduzir a quantidade e minimizar o desperdício e deterioração da água.

A alimentação deve ser dada preferencialmente sempre em locais diferentes para estimular a procura e captura da mesma.

Controlo dos parâmetros físico-químicos da água:

Nos tanques de reprodução tenta-se que os parâmetros físico-químicos da água sejam constantes e que sejam propícios à reprodução destes organismos.

Os peixes nos rios estão sujeitos a alterações bruscas, pelo aumento brusco do caudal quando chove, ou pela diminuição do caudal que os pode circunscrever a pegos com pouca água, no verão, altura em que a água tenderá a ficar com teores mais elevados de amónia e nitritos. Estes fatores são exacerbados com as descargas de esgotos nestes sistemas que deterioram ainda mais a qualidade da água. Mesmo sem a poluição dos esgotos são expectáveis alterações da qualidade da água, ao longo do ano, associadas à sucessão das estações.

Não é possível estipular quais os valores ideais a partir do meio natural, em parte por não haver estudos nesse sentido e porque as contaminações conhecidas inviabilizariam os resultados. No entanto é possível relacionar os valores médios observados no AVG com a ocorrência ou não de mortalidade. Não sabemos se estes são os valores ideais, mas podemos dizer se houve ou não mortalidade com estes valores e se a reprodução teve ou não sucesso.

Tabela II - Valores médios por população/espécie no período de 18/09/2017 a 18/09/2018.

Parâmetros	A. occidentale (Safarujo)	A. occidentale (Sizandro)	I. almacai (Arade) 1º Stock	I. almacai (Arade) 2º Stock	I. lusitanicum (Sado)
Amónia (mg/L)	0,113	0,076	0,137	0,126	0,087
Nitritos (mg/L)	0,007	0,008	0,013	0,022	0,011
pH	7,9	7,8	7,6	7,7	7,6
Potencial redox (mV)	241	239	247	245	245
Oxigénio dissolvido (mg/L)	8,5	9,1	8,4	8,7	8,2
Temperatura (°C)	15,0	15,7	15,1	15,1	15,6
Caudal (L/min)	0,929	0,733	0,409	1,043	0,582
Dureza (°F)	11,6	11,4	12,0	11,3	11,5

Estes valores (Tabela II) correspondem aos valores médios recolhidos nos tanques do Aquário Vasco da Gama e podem ser tomados como uma referência que garante o bem-estar e saúde dos organismos, visto que não há registos dos valores ideais para estas espécies. Podemos indicar os valores de compostos azotados que normalmente consideramos ótimos para peixes de água doce fria: Amónia <0,1mg/l N, nitritos<0,1mg/l N, nitratos<100mg/L N. Os níveis de amónia tendem a ser sempre superiores aos considerados ótimos devido à alimentação e à grande biomassa que tornam difícil a manutenção de baixos valores. É aceitável valores entre 0,1 e 0,2 para a amónia, sendo necessário tomar medidas assim que estes patamares são excedidos.

Estes valores estão de acordo com os valores de um rio não poluído (Rodrigues et al, 2008). Análises da água do rio Safarujo recolhida a 7 de janeiro de 2018 mostraram valores muito superiores de amónia, acima de 1,5 mg/L, colocando este habitat na categoria de rios poluídos (Rodrigues et al, 2008).

Valores de 8 mg/L é o valor normal do oxigénio do ar, enquanto na água é comum e aceitável esse valor ser inferior, embora durante o dia, em tanques com microalga, o teor de oxigénio tenda a ser superior.

O caudal de entrada deve variar conforme a biomassa, a capacidade natatória dos organismos e os parâmetros. Esta renovação é um contributo importante para estabilizar a qualidade da água e permite a limpeza à superfície da água. Ao ser um sistema aberto leva a que haja um consumo maior de água, sendo que a água que sai do tanque não é aproveitada.

Um sistema fechado ou mesmo semiaberto diminuiria os gastos de água, mas aumentava o custo e complexidade do projeto e reduzia as semelhanças com o meio natural de onde são originários os peixes. As variações dos parâmetros fornecem também uma aprendizagem e habituação a constantes variações do meio que podem ser encontradas no meio selvagem.

1.4. Reprodução:

1.4.1. Preparação dos Tanques:

Antes do início da época de reprodução deve-se proceder a rotinas anuais de limpeza, contagem dos indivíduos e seleção daqueles que serão posteriormente libertados. Deve ser elaborado um plano, utilizando tanques que foram previamente limpos para o efeito para permitir as mudanças dos organismos de um local para o outro.

Sempre que um tanque é vazado para limpeza, o seu povoamento é sujeito a um censo, determinando este o sucesso da reprodução. Tem que existir sempre um tanque já preparado para receber os peixes, porque os animais não podem voltar para o tanque de onde saíram. O uso de água da companhia, obriga a que os tanques sejam preparados previamente para libertar o cloro excessivo, característico da água da rede, podendo este ser prejudicial para os peixes.

Quando estas limpezas são efetuadas é necessário ter vários cuidados na manutenção dos organismos e na transferência dos mesmos. A vegetação presente no tanque original deve acompanhar os organismos na sua viagem. Deve-se garantir que não há trocas nem misturas de organismos de populações/espécies diferentes. Deve-se observar todos os exemplares durante a contagem e verificar se pertencem todos à espécie reproduzida nesse tanque e se estão em boas condições e sem parasitas visíveis. No caso de dúvidas ou de animais com parasitas, estes devem ser separados para um aquário de reserva.

A limpeza dos tanques é feita com recurso a esponjas, esfregões, vassouras e rodos. Qualquer material artificial presente no tanque (tubos PVC, Gaiolas e Tijolos) deve ser limpo e transferido para o mesmo tanque que os peixes. Num dos tanques encontra-se um sensor de luminosidade e temperatura. Este acompanha também a população durante a sua transferência.

Transferência dos organismos:

- Nos dias anteriores, preparar o tanque para o qual os organismos serão movidos. Isto envolve uma limpeza do mesmo, vazando o tanque até ao fim e deixando secar de um dia para o outro no mínimo.
- Nas 48h anteriores (24h mínimo), não fornecer qualquer tipo de alimentação aos organismos (para evitar a diminuição da qualidade da água, metabolismo mais ativo nos organismos, stress osmótico mais elevado).
- No dia da mudança, verificar logo de manhã cedo se as condições dentro do tanque de origem e de destino são propícias para efetuar o transporte dos organismos (Verificar nível de oxigénio e temperatura da água em ambos os tanques; observar o comportamento dos peixes ou qualquer outro sinal que possa indicar qualquer perturbação).
- Iniciar o processo baixando o nível de água no tanque. Isto facilita a remoção das plantas, dos refúgios artificiais e posteriormente a captura dos organismos.
- Retirar as plantas, verificar a presença de posturas nas raízes e/ou de peixes que possam ter ficado presos nas mesmas.
- Retirar os esconderijos (tijolos, redes, tubos, etc;) tendo o cuidado de verificar se não existe nenhum organismo no interior e efetuar limpeza dos mesmos.
- Retirar o tabuleiro com filtro de fundo de areia (se existente) e proceder à limpeza do mesmo.
- Retirar os organismos com a ajuda de um xalavar.
- Transferência para medições ou preparação para transporte.
- Devolver organismos ao novo habitat (novo tanque).

1.4.2. Observação de Reprodutores:

Durante a transferência é possível observar e medir os reprodutores. São feitas medições de comprimento à furca e pesagem dos indivíduos. Quando uma amostra é demasiado grande, não é viável fazer as medições a todos os indivíduos pelo que é apenas feita a uma amostra de 50 indivíduos. São efetuadas as contagens que avaliam o resultado da época de reprodução do ano anterior. Em espécies como *Iberochondrostoma almaçai* foi possível observar reproduções na ordem de 40X. Fatores como baixa predação dos progenitores, refúgios eficientes e *plâncton* abundante contribuem para o sucesso das larvas.

Durante esta época é fácil distinguir o sexo de cada indivíduo adulto. As fêmeas maduras apresentam a zona abdominal mais pronunciada contrariamente aos machos onde não há dilatação da barriga (Fig. 6). Os machos adultos apresentam tubérculos no topo da cabeça durante a época de reprodução.



Figura 6 - Macho (Esquerda) e Fêmea (Direita) de *Achondrostoma occidentale*. AVG 22 de Março de 2018
OLYMPUS TG5 25mm f8 ISO 800

Nesta fase é também muito evidente a coloração dos indivíduos adultos. Tanto *I. almaçai* e *I. lusitanicum* apresentam uma coloração mais escura na parte superior do corpo. Estas duas espécies são também, das três apresentadas, aquelas onde a distensão do corpo em fêmeas maduras se dá apenas na zona abdominal ao passo que em *A. occidentale* esta se estende também para a zona dorsal. *A. occidentale* apresenta uma coloração mais clara e uniforme em todo o corpo. (Fig. 9, 10 e 11).

1.4.3. Observação de Larvas:

Após as transferências e libertações é necessário observar cuidadosamente as zonas de maternidade (as grades de rede plástica, que nesta altura são procuradas pelas larvas para se refugiarem) para detetar e registar o aparecimento de larvas. O grande número de melanóforos tornam as larvas facilmente visíveis contra o fundo claro dos tanques e apresentam bastante mobilidade. O facto de não lhes ser oferecida nenhuma proteção extra, para além daquela dada pela gaiola de maternidade, providencia uma seleção natural pela seleção dos indivíduos capazes de se alimentar e entender que os indivíduos adultos não conseguem entrar naquele espaço, estimulando o instinto de procurar refúgios com características semelhantes quando libertados no meio natural.

Após a eclosão dos ovos, rapidamente é visível uma evolução do estado larvar. Rapidamente é visível a olho nu a cabeça e zona da barbatana caudal e a maior estrutura passível de observação nesta fase larvar, os olhos (Fig. 7 e 8).



Figura 7 - Metade anterior, vista dorsal de uma larva de *Iberochondrostoma almakai*. É possível observar que o tamanho da cabeça é desproporcional ao resto do corpo. É ainda possível observar a bexiga natatória e grande número de melanóforos puntiformes na zona dorsal, incluindo na cabeça, assim com pigmento amarelo na zona dorsal ao longo de todo o corpo. AVG 18 de maio de 2018.

(Olympus Tough TG5, Modo Microscópio 1.2X 100mm; F6.3 1/800, ISO 400)



Figura 8 - Vista lateral de larva de *Achondrostoma occidentale*. Observa-se a bexiga natatória grande número de melanóforos puntiformes na zona dorsal, incluindo na cabeça, assim com pigmento amarelo na zona dorsal ao longo de todo o corpo. Já é possível observar o aparecimento dos raios da barbatana caudal. AVG 18 de maio de 2018.

(Olympus Tough TG5, Modo Microscópio 1.2X 61mm; F5 1/1000, ISO 400)



Figura 9 - Fêmea (CT \approx 120mm) e larva (CT \approx 7mm) de *I. lusitanicum*. a) Fêmea adulta e madura com aproximadamente 115 mm de comprimento à furca. As fêmeas maduras são facilmente distinguíveis dos machos pela forma arredondada da zona abdominal. Em fêmeas não maduras o arredondamento é muito pouco acentuado e inexistente nos machos. b) É possível observar nas larvas a bexiga natatória e a pigmentação. Nesta fase as larvas já possuem forte capacidade natatória.

- a) Olympus Tough TG5, Modo Program 25mm; F2.8 1/100, ISO 100
- b) Olympus Tough TG5, Modo Microscópio 1.2X 30mm; F5.5 1/250, ISO 200)

Figura 10 - Fêmea (CT \approx 113mm) e larva (CT \approx 7mm) de *I. albaccai*. a) Fêmea adulta e madura. Animais desta espécie possuem a zona dorsal mais escura e a zona abdominal mais clara. b) É possível observar nas larvas a bexiga natatória e a pigmentação. Nesta fase as larvas já possuem forte capacidade natatória.

- a) Olympus OMD EM5 M.Zuiko 12-50mm, Modo Aperture, 86mm; F6.0 1/200, ISO 200
- b) Olympus Tough TG5, Modo Microscópio 1.2X 100mm; F6.3 1/200, ISO 400)

Figura 11 - Fêmea e larva (CT \approx 8,5mm) de *A. occidentale* a) Fêmea adulta e madura. Nesta espécie o arredondamento da zona abdominal é mais pronunciado e o mesmo acontece na zona dorsal. Embora mais claros possuem uma coloração mais alaranjada na zona basal das barbatanas. b) Nesta larva é possível observar o conteúdo estomacal e o intestino ainda cheio. A alimentação das larvas é constituído pelo zoo e fitoplancton presente no tanque.

- a) Olympus Tough TG5, Modo Program 25mm; F8 1/2000, ISO 800
- b) Olympus Tough TG5, Modo Microscópio 1.2X 57mm; F5 1/250, ISO 200)

2. Doenças:

As elevadas densidades, má qualidade da água ou mau manuseamento podem dar origem ao aparecimento de bactérias e agentes patogénicos responsáveis pelo aumento de mortalidade nos indivíduos. Por vezes, devido ao comportamento elusivo destas espécies, não é facilmente identificável se existe algum sintoma que possa indicar um problema iminente. No entanto, estas espécies são geralmente muito resilientes, resultante do impacto dos fatores ambientais no meio selvagem. Durante o trabalho observou-se em alguns indivíduos a presença de black-spots e nalguns casos pontos vermelhos de sangue nas barbatanas, especialmente a nível da barbatana caudal. A doença de “black-spot” (fig. 12b) é uma doença comum em peixes de água doce (Quist et al, 2007), não sendo associada à sua presença a mortalidade em peixes capturados para refundação das populações em cativeiro. É causada por trematodas, que formam cistos parasíticos no tegumento do hospedeiro, podendo espalhar-se por vezes até às barbatanas (Hangan et al, 2013).

Em alturas de manipulação existem sempre riscos devido à fragilidade própria dos organismos, sendo necessário ter sempre cuidados como o tempo de manipulação e o material utilizado. Muitas vezes é possível observar barbatanas com pontos de sangue ou escamas em falha (fig. 12a) resultantes da manipulação. Em casos extremos, a destruição de uma barbatana pode levar à entrada de infeções e morte do indivíduo.

Embora estas doenças não sejam, na maioria das vezes, diretamente responsáveis pela morte de uma população, podem ser uma via de debilitação do sistema imunitário dos indivíduos e um ponto de entrada de outras bactérias. Um bom período de quarentena, boa manutenção da qualidade de água e boas práticas de manipulação diminuem a probabilidade de aparecimento de doenças.

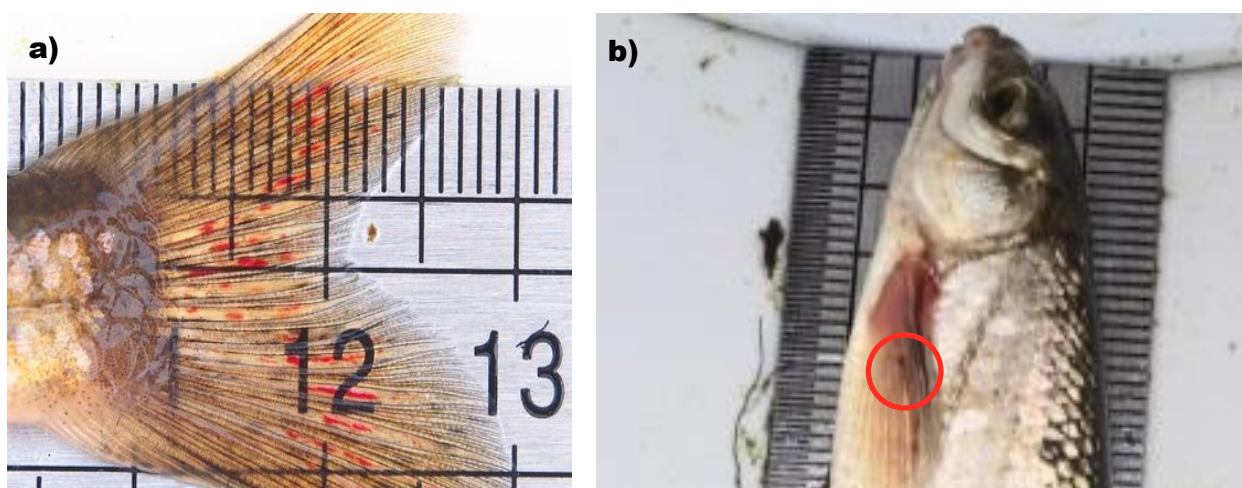


Figura 12 - a) Barbatana de *I. almacai* com pontos de sangue. b) black-spot na barbatana de *I. almacai*. não é claro se estas manchas específicas são o resultado da manipulação ou de um tipo específico de infeção bacteriana que apresenta este tipo de sintoma. Estes sintomas têm sido observados nesta espécie e população mesmo em peixes apanhados com choque elétrico no momento da captura.

3. Boas Práticas:

3.1. Quarentena (Manual aplicável - Protocolo de Quarentena do AVG)

3.1.1. Entrada

Apenas pessoal com treino e previamente aprovado pode entrar e interagir com os exemplares e respetivos sistemas de suporte de vida na quarentena.

Objetivo: Reduzir a entrada de agentes patogénicos e garantir o bem-estar animal nas instalações.

A responsabilidade de qualquer dano em organismos ou equipamento é da responsabilidade do técnico responsável pela área ou pelo técnico superior.

3.1.2. Manipulação

Apenas pessoal devidamente qualificado e usando equipamento limpo e desinfetado pode proceder a qualquer manuseio de organismos na quarentena.

Objetivo: Reduzir a transmissão de patógenos exteriores ou entre tanques aquários.

A responsabilidade de manipulações mal efetuadas, ou danos/doenças presentes nos organismos após intervenção são da responsabilidade do manipulador, do técnico responsável pela zona de quarentena e pelo técnico superior responsável.

3.1.3. Transporte

Apenas pessoal autorizado e devidamente desinfetado pode transportar/mover organismos dentro e fora da quarentena com a devida autorização.

Objetivo: Reduzir o movimento e o *stress* nos animais e reduzir o risco de contaminações em aquários próximos do transporte.

A responsabilidade recai sobre o técnico superior responsável. O equipamento usado para a captura deve ser esterilizado e dever-se-á ter o cuidado de usar exclusivamente para aquele transporte/manipulação. Os locais de onde e para onde o aquário é movido devem ser previamente preparados.

3.1.4. Alimentação

A alimentação deve ser fornecida por pessoal autorizado e com experiência.

Objetivo: Garantir a saúde dos organismos, a sua recuperação e o bem-estar animal.

A alimentação deve ser fornecida conforme o previamente estabelecido para aquele aquário/espécie e ajustada conforme as necessidades/acontecimentos que possam surgir. Deve ser preparada num ambiente limpo para minimizar o risco do aparecimento de bactérias nos tanques.

3.2. Local de reprodução

3.2.1. Entrada

As entradas para o local de reprodução devem ser feitas apenas por pessoas autorizadas, com o mínimo de barulho e o mais breves possível.

Objetivo: Reduzir o *stress* dos organismos, a entrada de patógenos e manter um ambiente o mais parecido com o habitat selvagem.

As condições existentes no meio onde estes animais são capturados devem ser reproduzidas neste local, pelo que o contacto com a espécie deve ser o mínimo essencial. A pessoa responsável pelo cuidado dos tanques deve fazer as suas tarefas com rapidez e eficiência de forma a perturbar o mínimo. A responsabilidade é do tratador responsável e este deve garantir a limpeza prévia de, pelo menos, todo o equipamento e/ou qualquer parte do corpo, suscetível de entrar em contacto com os organismos.

3.2.2. Alimentação

Deve ser preparada noutro local, por pessoas qualificadas e autorizadas, com equipamento limpo e próprio.

Objetivo: Reduzir a entrada de patógenos ou organismos estranhos nos tanques de reprodução.

A responsabilidade recai sobre o tratador responsável e sobre o técnico superior. A preparação prévia do alimento permite reduzir o tempo de contacto com os indivíduos e assim reduzir situações de *stress*. A preparação do alimento deve ser sempre feita recorrendo a instrumentos limpos e a dosagem ajustada conforme os parâmetros físico-químicos e a biomassa presente.

3.2.3. Manipulações

Feitas por pessoas autorizadas, com experiência e o com o mínimo de impacto para os restantes indivíduos.

Objetivo: Reduzir a transmissão de patógenos exteriores, entre tanques/aquários e evitar mistura de populações.

A manipulação destes indivíduos deve ser feita com cuidados redobrados para evitar mistura de organismos de diferentes populações e para minimizar contaminações nos indivíduos. O material usado deve ser único por tanque, devidamente esterilizado.

4. Conclusões finais:

A produção e manutenção destas espécies para efeitos de repovoamento, embora possam parecer fáceis numa primeira análise, possuem um sem número de obstáculos que foram superados através de procedimentos adequados e relativamente simples. O sucesso da reprodução é comprovado pela sucessão anual de novas gerações saudáveis, sendo as mortes registadas por lesões ou doença nulas ou muito raras, e pelo facto de este ser um projeto que conta já com vários anos de trabalho contínuo.

5. Referências

Brown, C. and Laland, K. (2001), Social learning and life skills training for hatchery reared fish. *Journal of Fish Biology*, 59: 471–493. doi:10.1111/j.1095-8649.2001.tb02354.x

Decreto Lei nº242/2015 Diário da República n.º 202/2015, Série I de 2015-10-15

Dietwin 2018 - tabela nutricional

Godin, J-G. J. 1978. Behaviour of juvenile pink salmon (*Onchorhynchus gorbuscha* Walbaum) toward novel prey: influence of ontogeny and experience. *Environmental Biology of Fishes*, 3: 261e266.

Hangan, Marius & Urdes, Laura & Diaconescu, Cristiana & Marin, Monica-Paula & Mocuta, Dorina. (2013). Research Study on the Frequency and Pathogenicity of the " Black Spot Disease " in the Finfish Inhabiting the Danube Delta Area.

Hilborn, R. 1998. The economic performance of marine stock enhancement projects. *Bulletin of Marine Sciences*, 62: 661e674.

IUCN/SSC (2014). Guidelines on the Use of Ex Situ Management for Species Conservation. Version 2.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission

Jeon EY, Choi B-H, Jung D, Hwang BH, Cha HJ, Natural healing-inspired collagen-targeting surgical protein glue for accelerated scarless skin regeneration, *Biomaterials* (2017), doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.04.041.

Nordeide, J. T., Fossa, J. H., Salvanes, A. G. V., and Smedstad, O. 1994. Testing if year-class strength of coastal cod (*Gadus morhua* L.) can be determined at the juvenile stage. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25(Supplement 1): 101e116.

McGowan, P. J., Traylor-Holzer, K. and Leus, K. (2017), IUCN Guidelines for Determining When and How Ex Situ Management Should Be Used in Species Conservation. *CONSERVATION LETTERS*, 10: 361-366. doi:[10.1111/conl.12285](https://doi.org/10.1111/conl.12285)

Salvanes, A. G. V., and Braithwaite, V. A. 2005. Exposure to variable spatial information in the early rearing environment generates asymmetries in aggressive and social interactions in cod. *Behavioural Ecology Social Biology*, doi:10.1007/S00265-005-0031-X.

Olla, B. L., Davis, M. W., and Ryer, C. H. 1994. Behavioural deficits in hatchery-reared fish: potential effects on survival following release. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25(Suppl. 1): 19e34.

Olla, B. L., Davis, M. W., and Ryer, C. H. 1998. Understanding how the hatchery environment represses or promotes the development of behavioural survival skills. *Bulletin of Marine Science*, 62: 531e550.

Phillipart, J. C. 1995. Is captive breeding an effective solution for the preservation of endemic species? *Biological Conservation*, 72: 281e295.

Quist MC, Bower MR, Hubert WA (2007) Infection by a black spot-causing species of *Uvulifer* and associated opercular alterations in fishes from a high-desert stream in Wyoming. *Dis Aquat Org* 78:129-136. <https://doi.org/10.3354/dao01875>

Rodrigues, R., Quadrado, F., Lopes, A. , 2008, A qualidade da água em Portugal, INAG. Geológica de Portugal; Revista Electrónica de Ciências da Terra, 5a Edição, Vol. 5.

PROTOCOLO DE TRANSPORTE DE PEIXE VIVO PARA EFEITOS DE REPOVOAMENTO

RUI CALADO
FÁTIMA GIL
CARLA SOUSA SANTOS
TERESA BATISTA



Índice

Introdução:	3
Objectivos principais:	4
1. Efectuar um transporte.	5
1.1. Processo de Captura nos tanques de reprodução:	5
1.1.1. Preparações prévias:	5
1.1.2 Captura:	5
1.1.3. Procedimento:	8
1.2. Acondicionamento para transporte:	9
1.2.1 Preparações prévias:	9
1.2.2. Cuidados:	9
1.3. Transporte	10
1.3.1. Preparações prévias:	10
1.3.2. Cuidados:	11
1.3.3. Considerações:	12
1.4. Libertação:	12
1.4.1. Pré-avalição do Local:	12
1.4.2. Preparação da libertação:	12
1.4.3. Libertação:	13
2. Manipulações:	15
2.1. Manipulação no processo de captura nos tanques de reprodução:	15
2.2. Manipulação no processo de marcação:	15
2.3. Manipulação no processo de libertação:	17
3. Boas Práticas:	59
3.1. Tanques de reprodução:	18
3.1.1. Acesso à área de reprodução:	18
3.1.2. Manipulação:	18
3.1.3. Transporte interno:	19
3.2. Transporte externo:	19
3.2.1. Acondicionamento de carga:	19
3.2.2. Autorizações e especializações:	19
3.3. Libertações:	20
3.3.1. Autorizações:	20
3.3.2. Libertação:	20
4. Conclusões Finais:	21
5. Referências:	22

Introdução:

Os maiores desafios quando se fala em transporte de peixes vivos é sem dúvida a quantidade de fatores de stress a que os peixes podem ser expostos (Harmon, 2009). Embora possa haver várias definições de stress a que melhor se enquadra no transporte de peixes vivos é a dada por Francis-Floyd (2002), em que o stress é definido como “a condição na qual o organismo não é capaz de manter o seu estado fisiológico devido a vários fatores que afetam o seu bem-estar”. Assim qualquer transporte deve colocar acima de qualquer prioridade o bem-estar dos animais e deve tomar todas as medidas possíveis para diminuir ou eliminar a maior quantidade de fatores de stress.

No entanto, qualquer movimentação exige alguma manipulação, e a indução destes fatores é inevitável e podem ocorrer rapidamente. Potenciais fatores de stress associados com o transporte de peixe vivo incluem densidades elevadas e inapropriadas (Piper et al, 1982), organismos confinados a um tanque (Davis & Parker, 1986), qualidade da água reduzida e/ou não favorável (Cech et al, 1996) e aclimatização a um novo ambiente mal efetuada ou inexistente (Brick & Cech, 2002). Para além dos fatores acima mencionados existem outros que estão diretamente relacionados com a pré-manipulação efetuada e fatores relacionados com a manipulação durante a libertação. Nesta última os efeitos são muitas vezes negligenciados pois não existem observações diretas sobre estes organismos em situações de repovoamento. Possivelmente alguma da mortalidade que possa ocorrer após libertação nos rios/oceanos pode não estar diretamente ligada a novas condições ou a predação no novo meio, mas sim a resultante de todos os fatores de stress obtidos durante todo o processo de transporte.

Existem diversas maneiras de minimizar o efeito destes fatores e é de notar que diferentes espécies e diferentes estados de desenvolvimento terão tolerâncias diferentes. Organismos de água salgada tropicais tendem a ser mais sensíveis que organismos de rios. Posto isto existem uma miríade de técnicas que devem ser utilizadas e que visam melhorar as condições durante o transporte e reduzir/eliminar a mortalidade durante a transferência.

Objetivos principais:

1. Avaliação e introdução de técnicas que visam minimizar fatores de stress nos organismos.
2. Redução do número de organismos mortos durante o transporte.
3. Aumento da probabilidade de sobrevivência e reprodução na natureza.

São apresentados os riscos, problemas, soluções e técnicas, desenvolvidas ao longo dos anos com quatro espécies endémicas das ribeiras portuguesas (*Iberochondrostoma almaiai*, *Iberochondrostoma lusitanicum*, *Achondrostoma occidentale*, *Squalius pyrenaicus*) pelo Aquário Vasco da Gama (AVG), em parceria com o Instituto Universitário de Ciências Psicológicas, Sociais e da Vida, (ISPA), Quercus e Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, no âmbito do protocolo assinado entre essas entidades.

1. Efetuar um transporte.

Falando de um modo geral, é possível distinguir quatro etapas fundamentais num transporte. Um transporte inicia-se pela captura dos animais no local de origem, pelo acondicionamento dos mesmos em locais próprios para o transporte, o transporte propriamente dito e toda a logística e burocracia que acompanha e finaliza com a libertação dos organismos no local final, podendo este ser o meio selvagem (rios, barragens, estuários, oceano) ou num tanque/aquário. A preparação de qualquer transporte inicia-se muito antes do mesmo ser realizado. É necessário preparar todo o equipamento de antemão, pedir as licenças necessárias às entidades reguladoras e sempre que possível, aquando das libertações no meio selvagem, efetuar uma avaliação do estado do local de libertação antes da libertação.

1.1. Processo de Captura nos tanques de reprodução:

1.1.1. Preparações prévias:

Antes de qualquer ação sobre os animais o equipamento a utilizar deve estar todo preparado e nos locais onde vão ser utilizados. Deve ser feita uma medição dos parâmetros de temperatura, oxigénio e pH e deve ser feita uma observação dos animais para garantir que não há nenhuma situação anormal que possa despoletar problemas durante todo o processo.

Para organismos a serem transportados estes não devem ser alimentados num mínimo de 24 horas antes de qualquer manipulação; se o trato digestivo não está totalmente limpo o tempo possível de transporte pode ser reduzido para metade, mantendo as mesmas condições (Pecha et al, 1983; Orlov et al, 1974 in Berka, 1986).

Todas as libertações são previamente planeadas, incluindo todas as limpezas e censos dos exemplares existentes em cada tanque, movimentações entre tanques, identificação dos grupos a libertar e refundação de populações.

Após a identificação dos grupos a libertar é feito um pedido de autorização para os intervenientes ao ICNF.

No fim de cada transporte deve ser sempre feito o registo das movimentações/libertações, assim como um relatório para entregar ao ICNF.

1.1.2 Captura:

Esta é provavelmente a etapa mais crítica. O processo de captura dos organismos introduz vários fatores de stress que podem contribuir para que ocorra mortalidade durante o transporte. A

redução do nível de água, o movimento frenético durante a captura e o constante instinto de fuga dos animais provoca um alto e constante nível de stress durante todo o processo. O uso repetido das redes (Fig. 1,2 e 3) de forma a capturar os peixes pode causar feridas ou aberturas na pele dos animais ou causar danos permanentes sob a forma de deformações, que podem diminuir a capacidade de sobrevivência no meio natural.



Figura 1 - Captura e limpeza de um tanque contendo Indivíduos juvenis e adultos de *Iberochondrostoma lusitanicum*.

AVG, 24 de Abril de 2018.



Figura 2 - Captura dos últimos animais de *Iberochondrostoma almaçai* de um tanque por meio de baldes e posterior passagem pela rede para impedir a perda de indivíduos.

AVG, 12 de Abril de 2018.



Figura 3 - Limpeza da camada de lodo que fica no fundo.

AVG, 17 de Abril de 2018

Durante as capturas nos tanques, a parte final é a mais crítica pois envolve o uso de pás para concentrar os restos de lodo e alga dentro de um balde, sendo este posteriormente despejado para uma rede de forma a capturar os últimos indivíduos do tanque (Fig. 2). Este processo pode ser bastante stressante para os peixes, tendo ainda o agravante de poder abrir feridas/cortes nos organismos que atuam como um local de entrada de patógenos devido á força com que estes entram na rede e com a restante mistura abrasiva de folhas, troncos, lodos e revestimento dos tanques que lhes cai em cima resultante da cascata formada pela ação de despejar o balde. A captura com a pá serve para tentar apanhar os indivíduos que se escondem e camuflam na camada de lodo que fica no fundo e que pode chegar a ter 1 a 2 centímetros de espessura (Fig. 3). É necessário ter bastante cuidado nesta fase pois os indivíduos podem ser esmagados ou sofrer lesões pelo arrastamento da pá pelo fundo.

A captura compreende 2 etapas: a captura dos indivíduos do tanque para recipientes e uma segunda captura dos recipientes para a marcação/medição/pesagem/contagem. Após os procedimentos científicos os animais são levados para um novo tanque previamente limpo para iniciar um novo ciclo de reprodução ou são colocados num novo recipiente com água limpa e arejamento para serem transportadas até ao local de libertação no meio selvagem. Durante uma libertação existem sempre 30 indivíduos juvenis que ficam no AVG e que são usados para refundar um novo grupo de reprodução ao qual se irão juntar 30 novos indivíduos selvagens capturados no rio.

O processo de marcação é mais complexo e envolve técnicas que serão expostas mais à frente. Garante que durante as capturas de indivíduos selvagens para refundar uma população não se introduz indivíduos previamente libertados e assim reduzir a diversidade genética.

1.1.3. Procedimento:

- Retirar água do tanque da origem para tanque/recipiente de acondicionamento provisório (permite manter os organismos na mesma água, reduzindo o stress dos mesmos).
- Vazar o tanque/aquário para um nível mínimo (facilitando a captura de modo a que esta seja rápida, reduzindo o tempo de exposição a este fator de stress, mas suficiente para que os animais ainda sejam capazes de nadar).
- A captura pode-se iniciar antes do tanque atingir a altura mínima de água, se as condições assim o permitirem (boa visibilidade, elevado número de espécimes, temperatura da água e bons níveis de oxigénio).
- Os animais capturados devem ser colocados em recipientes previamente preparados.
- Os recipientes devem estar com arejamento contínuo, mas não demasiado forte.

1.2. Acondicionamento para transporte

1.2.1 Preparações prévias:

Nesta fase do processo é necessário ter recipientes limpos nos quais são colocados arejadores de forma a oxigenar a água (Fig. 4). De preferência a água deve ser a mesma do local de origem dos organismos ou de preferência uma mistura desta água com água limpa, sendo que é preferível sempre o uso de água envelhecida, ou seja, que esteve durante pelo menos 24h com arejamento para libertar o cloro dissolvido, característico da água da companhia.



Figura 4 - a) Arejador; b) Recipientes provisórios com arejamento. O arejamento deve ser o suficiente para arejar os indivíduos mas insuficiente para causar demasiada agitação na superfície da água que possa provocar danos.

1.2.2. Cuidados:

Muitas vezes, e falando de organismos que se encontram num meio rico em microalgas e plantas aquáticas, os animais capturados trazem com eles uma miríade de detritos e outros organismos que ajudam a deteriorar a qualidade da água e dificultam não só a visão para dentro dos organismos como a recaptura dos mesmos e podem provocar danos na pele e outras estruturas. Raízes, gastrópodes, folhas mortas e algas, são alguns dos "contaminantes" que podem aparecer e que são indesejados (Fig. 5). Um cuidado prévio durante o transbordo de tanque-recipiente permite retirar uma grande parte destes resíduos indesejados. Neste transbordo os peixes são colocados em bidões quando são capturados, são contados e marcados, voltando para bidões idênticos e é nesta altura que se eliminam os detritos. Posteriormente os bidões onde são colocados após a contagem e marcação podem ser colocados no veículo de transporte. No caso do número de indivíduos ser superior a 100 (quatro bidões de 50L com 25 exemplares cada) ou ser desconhecido, os peixes são transferidos para um depósito de 1200L colocado no veículo de transporte, cheio de água e com arejamento de um dia para o outro de forma a libertar o cloro existente na água da rede.

Qualquer movimentação deste recipiente está a colocar um grande stress nos organismos e se existir detritos no fundo podem provocar ferimentos nos peixes que podem ser uma via de entrada de patógenos.



Figura 5 - Exemplo de um xalavar com alguns detritos. Gastrópodes, folhas e outros objetos num espaço tao pequeno causam ferimentos nos organismos.

1.3. Transporte

1.3.1. Preparações prévias

Consoante a quantidade de biomassa a transportar deve-se escolher o(s) tanque(s) mais apropriados a usar. Um tanque de maior capacidade para o transporte de todo o grupo de indivíduos a libertar (Fig. 6a) tem a vantagem de levar todos os organismos de uma só vez, mas muitas vezes a sua construção, volume e altura dificultam a posterior captura aquando da libertação. O maior volume de água que contem ajuda a manter os parâmetros da água mais estáveis, mas é uma maior massa de água em movimento o que leva a seja necessário veículos mais especializados e que na maior parte das vezes requerem um condutor com habilitações especiais para o conduzir. Tanques mais pequenos (Fig. 6b) são mais fáceis de manusear e de distribuir a carga pelo veículo, mais fáceis de descarregar e a captura dos indivíduos é feita de forma mais simples e com indução de menos stress nos

organismos. Transportes mais curtos são passíveis de ser feitos com tanques mais pequenos, no entanto em transportes mais longos são geralmente utilizados tanques maiores.



Figura 6 - a) Tanque de transporte com aproximadamente 1000L para transporte de 308 *I. almakai* para libertação no rio Arade. b) Quatro bidões para transporte de 100 *A. occidentale* (25/bidão) para libertação na ribeira do Safarujo.

Antes do início do transporte deve ser efetuada uma medição dos parâmetros da água básicos como oxigénio, temperatura e pH (e salinidade se aplicável). Se o transporte for de longa duração uma constante monitorização destes parâmetros é essencial e permite atuar rapidamente caso haja algum desvio dos valores normais.

1.3.2. Cuidados

Durante o transporte é necessário assegurar, para segurança dos animais e pessoas, que os tanques se encontram bem seguros ao veículo. Para transportes acima de meia hora de viagem é aconselhável que o(s) tanque(s) estejam completamente cheios. Isto evita que haja movimentação da água e dos próprios organismos dentro do(s) tanque(s) (Berka, 1986).

Deve-se verificar sempre que possível se o sistema de suporte de vida se encontra em correto funcionamento e se possível verificar o interior dos recipientes de transporte para monitorizar os indivíduos.

1.3.3. Considerações

- Transportes superiores a 30 minutos necessitam do recipiente completamente cheio.
- Arejamento constante.
- Temperaturas mais baixas permitem um aumento na biomassa. Piper et al (1982) reportou um aumento até 25% por cada 5°C que a temperatura descia, em peixe gato.
- Ter em conta a época do ano em que é feito o transporte.

1.4. Liberação:

1.4.1. Pré-avaliação do Local:

Antes de se efetuar um transporte é aconselhável fazer uma pré-avaliação do local de liberação. Quando se trata de ribeiras pequenas ou locais próximo de povoações, muitas vezes o caudal pode ser insuficiente ou o curso de água poder estar muito poluído para efetuar uma liberação. Dependendo da altura do ano pode-se encontrar o problema oposto. Como se libertam os animais no início da primavera, quando ainda há chuvas, o problema mais comum é a existência de torrentes de água que dificultam a liberação e o bem-estar dos peixes. Pelo contrário, em anos de grande seca com muito pouca chuva no inverno e primavera, quando os níveis de água são muito baixos, desiste-se da liberação pois os pegos vão ter pouca ou nenhuma água no verão e a sobrevivência dos libertados e das reproduções que ocorrerem na natureza também serão muito reduzidas. Quando possível é sempre preferível fazer uma avaliação para decidir se a liberação pode prosseguir ou não. Deve-se avaliar também os pontos de entrada com mais fácil acesso á beira-água e o local para paragem do transporte (Fig. 7).

1.4.2. Preparação da liberação:

Aquando da chegada ao local de liberação, o local deve ser inspecionado se ainda não o tinha sido feito previamente e decide-se qual o melhor local para efetuar a liberação. Isto dependerá da espécie, to tamanho dos indivíduos, da corrente no local, do substrato, proximidade com locais com movimento e outros objetos que possam impedir ou dificultar o sucesso da liberação. Cabe a quem liberta fazer um bom julgamento de todos os parâmetros e decidir em conformidade com os mesmos.



Figura 7 - a1,a2) Rio Safarujó em situação de seca salvo alguns locais mais fundos que retiveram água sendo que estes locais apresentavam água extremamente poluída. Não foi possível capturar nenhum peixe, tendo sido apenas encontradas duas rãs comuns. - **Safarujó, 26 de Outubro de 2017.**

b1,b2) Rio Safarujó no dia de libertação. O rio apresentava menos lixo nas margens, um caudal muito superior e não havia indícios de poluição (espuma nas margens e cheiro a resíduos). Foram aqui libertados 100 indivíduos de *A. occidentale*. - **Safarujó, 17 de Abril de 2018.**

No caso das espécies referidas no projeto de conservação do Aquário Vasco da Gama procura-se locais protegidos de corrente mais forte, proximidade de plantas onde as fêmeas ovadas possam libertar os seus ovos, de forma a que os ovos tenham onde se agarrar e que servirão também como um local de refúgio larvar.

1.4.3. Libertação:

A libertação deve ser feita com alguns cuidados em que se inclui uma adaptação à água do rio. Várias técnicas podem e devem ser utilizadas. Algumas espécies terão maior resistência a variações que outras pelo que este fator deve ser tido em consideração.

O transporte entre veículo e local deve ser feito com atenção ao caminho pois nem sempre este terá as melhores condições. A libertação dos indivíduos, dos bidões para o rio, deve ser feita de forma lenta e progressiva, permitindo que entre água do rio para os bidões, permitindo assim uma aclimatização ao meio. A saída dos indivíduos para o rio deve ser feita por eles mesmos. A primeira reação dos organismos é de se retraírem para o interior do recipiente. Este comportamento demonstra

caução em relação ao desconhecido, um comportamento desejável que aumenta as hipóteses de sobrevivência no meio selvagem (Fig. 8).

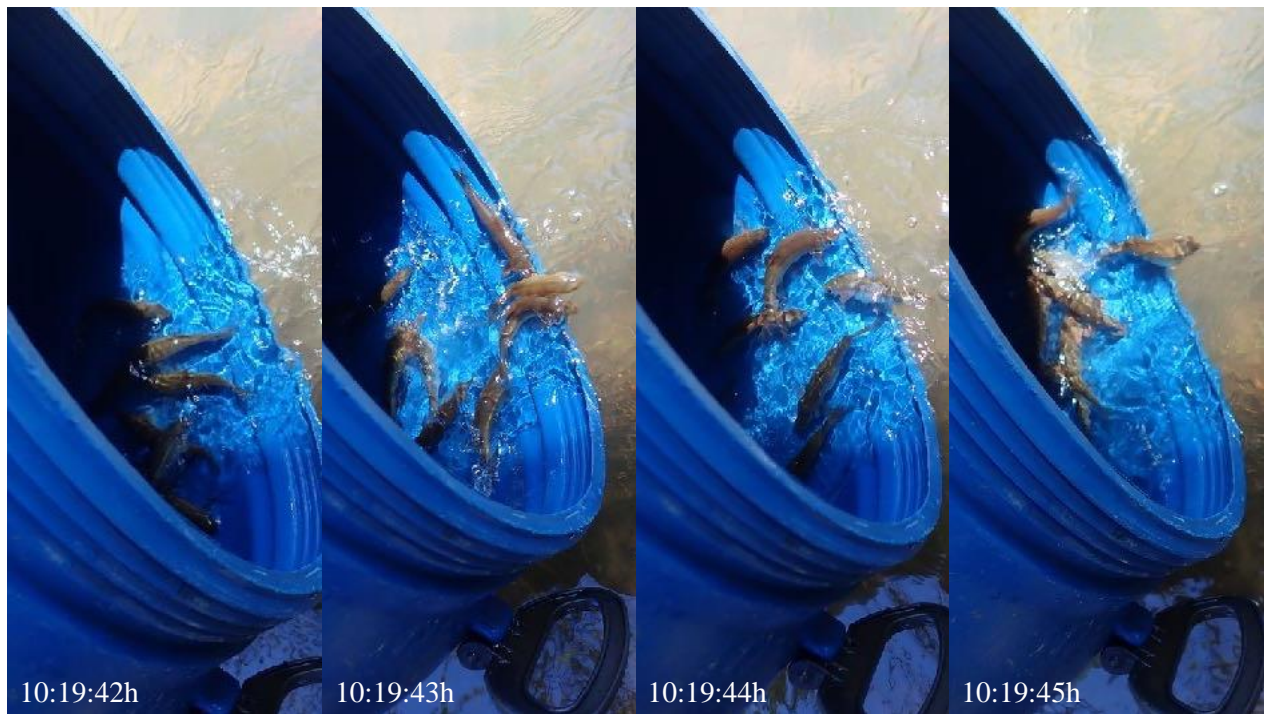


Figura 8 - Liberação lenta de *A. occidentale* na ribeira do Safarujo.

2. Manipulações:

Qualquer manipulação de um organismo é um potencial stressor e como tal deve ser evitada ao máximo. No entanto existem alturas em que é imperativo que estas manipulações ocorram. Nestas alturas é necessário tomar medidas para limitar as consequências da manipulação. Em quase todas as fases de um processo de transporte e libertação de organismos vivos existem potenciais stressores, mas a manipulação dos organismos é sem dúvida aquela que contribui mais para o aparecimento de potenciais problemas e que pode gerar maior taxa de mortalidade.

2.1. Manipulação no processo de captura nos tanques de reprodução:

Durante a captura os organismos são apanhados com recurso a xalavares, que são arrastados pelo fundo do tanque de forma a capturar os indivíduos. Ao arrastar as redes pelo fundo, juntamente com os peixes, podem ser apanhados pequenos gastrópodes, folhas, raízes e algas e por vezes areia ou outros objetos trazidos pelo vento que estão depositados no fundo. Toda esta matéria concentra-se no fundo da rede e pode ferir os animais. A limpeza das redes entre cada coleta é necessária para minimizar estes problemas. Após serem capturados os organismos devem ser transferidos rapidamente para os recipientes de transporte de forma a estarem o mínimo de tempo possível expostos ao ar.

O material de que é feito o xalavar é também muito importante. Este deve ser de materiais não abrasivos e sem nós para não provocar ruturas na derme dos organismos. A micragem das redes deve também ser suficiente para deixar passar facilmente a água e o lodo, mas impedir que os indivíduos consigam ficar presos na rede.

2.2. Manipulação no processo de marcação:

Aquando de uma libertação, os organismos a serem libertados passam por um processo de marcação. Existem vários métodos de “marcar” um organismo o que depende da espécie, do tamanho e do número de indivíduos a serem marcados. Existem principalmente dois propósitos desta marcação. Em primeiro lugar o sucesso de um trabalho de repovoamento pode ser medido pelo número de indivíduos marcados que sejam capturados em amostragens realizadas nos rios nos anos seguintes à libertação; em segundo lugar a marcação evita que sejam recapturados do meio selvagem indivíduos que já tenham nascido em cativeiro e assim minimiza o risco de consanguinidade (ver protocolo de produção e manutenção).

Existem vários processos para marcar indivíduos, desde marcadores genéticos a marcadores simples como o corte de uma barbatana. Devido a um grande volume de peixes, marcadores mais complexos não são realmente uma opção, para além de que se podem tornar rapidamente dispendiosos. Assim o método escolhido foi o de fazer um corte longitudinal na barbatana dorsal do indivíduo (Fig. 9). Esta barbatana é a menos utilizada na natação pelo que o seu corte parcial não um efeito significativo na natação dos indivíduos. A barbatana volta a crescer, mas deixará sempre uma marca que permite determinar se o indivíduo provém do Aquário Vasco da Gama ou não.



Figura 9 - Marcação através do corte da barbatana dorsal de *I. almacai* para libertação no rio Arade.
Dra. Carla Sousa-Santos - AVG 12 de Abril de 2018

Este processo é feito manualmente e individualmente. Embora na maior parte das vezes os raios das barbatanas sejam muito moles é uma incisão sem anestesia e que provoca dor e stress no organismo. O processo de marcação é também um passo extra durante o transbordo de um tanque para o local final. No recipiente onde se encontram os indivíduos para marcação é passível de se utilizar densidades altas para facilitar na captura dos organismos e assim acelerar o processo (Fig.10). No entanto esta é mais uma etapa durante a transferência dos organismos e mais um ponto onde se está a introduzir potenciais fatores de stress. Com esta manipulação está também a aumentar o tempo que os animais estão fora de um tanque ou local próprio de acondicionamento pelo que as probabilidades de sobrevivência diminuem um pouco. É possível diminuir o stress neste processo pela adição ou preparação de um recipiente com sedativo, ou arrefecer a água onde os organismos estão, de forma a reduzir o metabolismo e a atividade metabólica.

Embora seja um passo extra e um processo que é suscetível de induzir um maior stress nos animais, é uma maneira rápida e eficaz de determinar o sucesso do projeto e evitar recapturas de indivíduos, sendo fulcral e necessário.



Figura 10 - Acondicionamento dos indivíduos para marcação. As densidades elevadas facilitam a captura individualizada e aceleram o processo. No entanto há um maior risco de lesões na pele dos indivíduos.

Dra. Carla Sousa-Santos - AVG 12 de Abril de 2018

2.3. Manipulação no processo de libertação:

Na libertação a pouca manipulação que deve existir restringir-se-á captura do recipiente de transporte para o recipiente de libertação, caso não sejam os mesmos. Durante o transporte do local onde é deixado o veículo e o local de libertação junto ao rio deve-se levar os organismos nos recipientes para o efeito com o mínimo de agitação possível e assim evitar que estes sofram danos por toques entre eles e as paredes do recipiente.

3. Boas Práticas:

3.1. Tanques de reprodução:

3.1.1. Acesso à área de reprodução:

Apenas pessoal com formação e previamente aprovados podem entrar na área dos tanques de reprodução.

Objetivo: Reduzir a entrada de agentes patogénicos nas instalações e impedir comportamentos que possam por em risco a sobrevivência dos organismos e o bom funcionamento do sistema de suporte de vida.

A responsabilidade de qualquer dano em organismos ou equipamento é da responsabilidade do técnico responsável pela área ou do técnico superior.

3.1.2. Manipulação:

Apenas pessoal devidamente qualificado e usando equipamento limpo, adequado e desinfetado pode proceder a qualquer manuseio de organismos na área dos tanques de reprodução.

Objetivo: Reduzir a transmissão de agentes patogénicos exteriores.

A responsabilidade de manipulações mal efetuadas, ou danos/doenças presentes nos organismos após intervenção são da responsabilidade do manipulador, do técnico responsável pela zona de quarentena e do técnico superior responsável.

Apenas técnicos com formação devem proceder a mudanças de organismos entre tanques na área dos tanques de reprodução.

Objetivo: Impedir que espécies e populações diferentes se misturem inviabilizando o projeto.

A responsabilidade de manipulações mal efetuadas, ou danos/doenças presentes nos organismos após intervenção são da responsabilidade do manipulador, do técnico responsável pela zona de quarentena e pelo técnico superior responsável.

3.1.3. Transporte interno:

Apenas pessoal autorizado e devidamente desinfetado pode transportar/mover organismos dentro e fora da área de reprodução.

Objetivo: Reduzir o movimento e o *stress* nos animais e reduzir o risco de contaminações e de mistura de populações/espécies.

A responsabilidade recai sobre o técnico superior responsável. O equipamento usado para a captura deve ser esterilizado e dever-se-á ter o cuidado de usar exclusivamente para aquele transporte.

3.2. Transporte externo:

3.2.1. Acondicionamento de carga:

Apenas pessoal autorizado e com o devido treino pode assegurar o bom acondicionamento da carga no veículo.

Objetivo: Assegurar que a carga está segura assim como os passageiros e restantes utentes da estrada.

A responsabilidade de qualquer acidente na via pública recai sobre o condutor do veículo e pode ter consequências como coimas aplicadas à entidade responsável pelo transporte (Decreto-Lei n.º 144/2017, de 29 de novembro).

3.2.2. Autorizações e especializações:

Apenas pessoal autorizado e munido dos respetivos documentos pode efetuar o transporte de cargas cujo peso ultrapasse àquele permitido de um veículo ligeiro.

Objetivo: Assegurar o correto e seguro transporte da carga desde o local de origem até ao local de destino.

A responsabilidade de qualquer acidente na via pública recai sobre o condutor do veículo e pode ter consequências como coimas aplicadas á entidade responsável pelo transporte.

3.3. Libertações:

3.3.1. Autorizações:

Apenas pessoal previamente munido das autorizações e informações necessárias pode libertar espécies no meio selvagem.

Objetivos: Evitar a entrada de pessoas estranhas em locais não públicos e interditos, impedir que haja libertações em locais errados e destruição dos habitats destas espécies.

A responsabilidade recai sobre o técnico superior responsável.

3.3.2. Libertação:

Apenas pessoal qualificado e com a devida autorização pode efetuar a libertação dos organismos no meio selvagem.

Objetivos: Evitar que haja mortalidade devido a mau manuseamento e/ou erros no local de libertação ou técnica errada.

A responsabilidade recai sobre o técnico superior responsável. O local para libertação deve ser devidamente identificado assim como o equipamento a ser utilizado.

4. Conclusões Finais:

O transporte de peixe vivo é uma área não só em expansão, mas muito vasta e diversa. Compreende problemas técnicos e complexos relacionados com a engenharia de sistemas e tanques e problemas químicos relacionados com a qualidade da água. No entanto é possível efetuar transportes de uma maneira mais simples tendo sempre em conta todos os fatores que o envolvem. A preparação é chave para transporte bem sucedido assim como uma monitorização constante e redução de fatores de stress ao longo de todos os passos. A maioria das técnicas expostas estão associadas a transportes de curta duração, sendo que é nestes que é mais comum serem ignorados pontos chave de transporte de peixe vivo. Em última análise este protocolo foi elaborado para ser um guia prático dos processos que são feitos no Aquário Vasco da Gama durante o transporte de peixes vivos para repovoamento.

5. Referências:

Berka, R., The transport of live fish. A 1986 review. EIFAC Tech.Pap.,(48):52 p.

Brick ME, Cech JJ Jr (2002) Metabolic responses of juvenile striped bass to exercise and handling stress with various recovery environments. Transactions of the American Fisheries Society 131: 855–864.

Cech JJ, Bartholow SD, Young PS, Hopkins TE (1996) Striped bass exercise and handling stress in freshwater: physiological responses to recovery environment. Transactions of the American Fisheries Society 125: 308–320.

Davis KB, Parker NC (1986) Plasma corticosteroid stress response of fourteen species of warmwater fish to transportation. Transactions of American Fisheries Society 115: 495– 499.

Francis-Floyd R (2002) Stress – Its Role in Fish Disease. University of Florida IFAS Extension Circular 919, University of Florida, Gainesville

Harmon, T. S. (2009), Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. Reviews in Aquaculture, 1: 58-66.
doi:10.1111/j.1753-5131.2008.01003.x

Orlov, Yu I et al, 1974 Transportirovka zhivoi ryby v germeticheskikh emkostyakh. Spravochnoe posobie (Live fish transport in hermetically sealed containers. Information manual) Moskva, Izd. Pishchevaya Promyshlennost', 97 p.

Piper RG, McElwain IB, Orme LE, McCraren JP, Fowler LG, Leonard JR (1982) Fish Hatchery Management. American Fisheries Society, Bethesda, MD.

Pecha, O., R. Berka and J. Kouril, 1983 Preprava pludku v polyetylénových vacích (Fry transport in polyethylene bags) Ser.Metod.VURH Vodnany, (10):16 p.