



Acompanhamento de uma produção aquícola de Sparus aurata e Dicentrarchus labrax e ensaio experimental da prevalência e incidência parasitária de Caligus minimus em Dicentrarchus labrax

João André Barros Tabanez

2019



Acompanhamento de uma produção aquícola de Sparus aurata e Dicentrarchus labrax e ensaio experimental da prevalência e incidência parasitária de Caligus minimus em Dicentrarchus labrax

João André Barros Tabanez

Relatório de Estágio para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Estágio de Mestrado realizado sob a orientação da Doutora Clélia Afonso e supervisão do Mestre Luís Camarneiro

Agradecimentos

Chega ao fim a última fase da minha carreira académica. Em 2016 entrei no Mestrado em Aquacultura da Escola Superior de Tecnologia e Turismo do Mar com a convicção de que tinha feito a escolha correcta para o meu futuro profissional e saio hoje, em 2019, crente que não podia ter optado por uma opção mais adequada.

Foram dois anos e meio longos, vividos com muitos alegrias, vitórias pessoais e novas amizades, mas que foram também marcados por momentos de tristeza, solidão e de profunda reflexão. De nada guardo arrenpedimento, de todos os momentos retirei lições e ensinamentos e é da junção de todos eles que sai hoje uma pessoa diferente da que entrou, mais preparada para o futuro, mais capaz enquanto futuro profissional e melhor conhecedora dos contornos da vida.

Conheci novas pessoas com culturas e formas diferentes de perceber a vida e de todas elas guardo algo que levarei comigo para esta nova etapa que agora começa. Não obstante, porque a justiça e gratidão assim me o exige, há um conjunto de agradecimento que não poderia deixar de fazer.

Em primeiro lugar à Dra. Clélia Afonso, pelo apoio durante este longo e conturbado segundo ano, pela disponibilidade que manifestou para corresponder aos meus sempre pouco atempados pedidos de reunião e pela coragem com que aceitou orientar-me numa área fora da sua especialidade.

À empresa Nasharyba-Produção e Comércio de Peixe, Lda. e seus colaboradores, pela amabilidade com que me receberam durante o estágio e pela importante oportunidade de aprendizagem que me proporcionaram.

Ao meu supervisor de estágio Luís Camarneiro, pela partilha desinteressada de conhecimento, pela ajuda na integração no seio da empresa, pela flexibilidade e pela paciência para com as minhas circunstâncias variações de humor.

À Dra. Susana Mendes, pela importante colaboração nas componentes estatísticas deste relatório, pela disponibilidade e pela surpreendente prontidão com que sempre correspondeu aos meus pedidos de ajuda e esclarecimentos.

A todos eles, o meu muito obrigado.

Resumo

O presente relatório aborda o estágio desenvolvido na empresa Nasharyba- Produção e Comércio de Peixe, Lda. durante o segundo ano curricular do mestrado em aquacultura da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar do Instituto Politécnico de Leiria. Localizada numa zona de antigas salinas em Armazém de Lavos, a empresa opera num regime semi-intensivo, produzindo dourada (*Sparus aurata*) e robalo (*Dicentrarchus labrax*).

O estágio realizado dividiu-se em duas componentes principais: 1) Acompanhamento diário da produção e respectivas rotinas e 2) realização de um ensaio experimental com vista à determinação do padrão de variação mensal da incidência parasitária do copépode *Caligus minimus* em *Dicentrarchus labrax* e respectiva correlação com os parâmetros de qualidade da água (temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido).

Este estágio permitiu solidificar conhecimentos teóricos, desenvolver competências profissionais, elucidar-se sobre as oportunidades de emprego existentes no mercado e o estabelecer de contactos no sector.

Palavras-chave: Aquacultura; Semi-intensiva; Estuário; *Sparus aurata*; *Dicentrarchus labrax*; *Caligus minimus*.

Abstract

This report addresses the internship developed at Nasharyba-Produção e Comércio de Peixe, Lda during the second year of the master's degree in aquaculture at the Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar of the Instituto Politécnico de Leiria. Located in a zone of old salt mines in Armazém de Lavos, the company operates under a semi-intensive system, producing gilthead seabream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*).

The internship was divided into two main parts: 1) Daily monitoring of production and its routines; 2) Execution of an experimental research for evaluation of the monthly variation pattern of the parasitic incidence of *Caligus minimus* in *Dicentrarchus labrax* and its correlation with water quality parameters (temperature, salinity and dissolved oxygen).

This internship enabled the student to increase theoretical knowledge, develop professional skills, know the employment opportunities in the market and establish contacts in the sector.

Key-Words: Aquaculture; Semi-intensive; Estuary; *Sparus aurata*; *Dicentrarchus labrax*; *Caligus minimus*.

Índice

1-Introdução	1
2-Objectivos	2
3-Procedimentos e conceitos produtivos	5
3.1-Estruturas	5
3.2-Sistema de Produção.....	8
3.3-Espécies produzidas.....	8
3.3.1-Dourada (<i>Sparus aurata</i>)	8
3.3.2-Robalo (<i>Dicentrachus labrax</i>).....	10
3.3.3-Ciclos de vida do robalo e dourada	12
3.4-Rotinas Diárias	13
3.5- <i>Restocking</i>	15
3.6-Alimentação.....	17
3.7-Gestão qualidade da água	21
3.8-Registos diários.....	24
3.9-Mortalidades	24
3.10-Transferências de exemplares.....	25
3.11-Pesca, abate e processamento	26
3.12-Patologia	28
3.12.1-Procedimentos de actuação mediante ocorrência de surtos patológicos	28
3.12.2- Enfermidades e agentes patogénicos	35
3.12.2.1-Síndrome de inverno.....	36
3.12.2.2- <i>Lymphocystis</i>	41
3.12.2.3- <i>Caligus minimus</i>	45
3.12.2.3.1-Descrição geral	45
3.12.2.3.2-Taxonomia	45
3.12.2.3.3-Morfologia	45
3.12.2.3.4-Ciclo de vida.....	47
3.12.2.3.5-Medidas terapêuticas	50
3.12.2.4- <i>Diplectanum aequans</i>	50
3.12.2.4.1-Descrição geral	50
3.12.2.4.2-Taxonomia	50
3.12.2.4.3-Morfologia	51
3.12.2.4.4-Ciclo de vida.....	52
3.12.2.4.5-Medidas terapêuticas	55
3.12.2.5- <i>Amyloodinium ocellatum</i>	55
3.12.2.5.1-Descrição geral	55
3.12.2.5.2-Taxonomia	56
3.12.2.5.3- Morfologia e ciclo de vida.....	56
3.12.2.5.4-Medidas terapêuticas	59
4-Ensaio experimental	61
4.1-Introdução	61
4.2-Materiais e métodos.....	62

4.3-Análise de dados	63
4.4-Resultados.....	64
4.4.1-Varição sazonal da incidência parasitária	64
4.4.2-Varição dos parâmetros de qualidade da água.....	65
4.4.3-Efeito dos parâmetros de qualidade da água na variação do número de parasitas	67
4.5- Discussão dos resultados.	69
4.6-Conclusão	74
5-Conclusão do relatório de estágio.....	75
6-Referências Bibliografia	76
7-Referências figuras.	84
8-Anexos	87
8.1-Teste <i>Kruskal-Wallis</i>	87
8.2-Regressão linear múltipla	90
8.3-Áreas de intervenção de um aquacultor numa produção aquícola	93
8.4-Contexto sócio-económico	101
8.5-Formulação rações	103

Índice Figuras

Fig. 1. a) Planta das Pisciculturas do Torrão e Vale da Vinha. b) Imagem do Google Maps das Pisciculturas do Torrão e Vale da Vinha.	6
Fig. 2. a) Zona de saída de água dos tanques com a presença de alimentadores, rede de protecção contra aves, grades de rede e porta de madeira. b) Vala e greiros Piscicultura do Torrão e Vale da Vinha.	6
Fig. 3. a) Quadro de electricidade de um tanque e sonda de medição de temperatura e salinidade. b) Bitorões da vala de entrada da Piscicultura do Torrão.	7
Fig. 4. Ilustração da espécie <i>Sparus aurata</i>	10
Fig. 5. Ilustração da espécie <i>Dicentrarchus labrax</i>	12
Fig. 6. Camião de transporte de juvenis para povoamento.	16
Fig. 7. a) Nevoeiro ao romper do dia na exploração. b) Alimentação de um tanque.	19
Fig. 8. a) Grade de protecção com biofouling. b) Porta de entrada/saída de um tanque.	23
Fig. 9. a) Tubo de transferência de peixes. b) Descarregamento de peixes de uma tina para o tanque.	26
Fig. 10. a) Recolha do pescado das redes de pesca. b) Selecção do pescado pós pesca.	28
Fig. 11. Lista de químicos passíveis de utilização em tratamentos por imersão, banho curto e banho prolongado.	32
Fig. 12. Propriedades de um premix de elevada qualidade.	33
Fig. 13. Dourada afectada pela síndrome de inverno e com fígado amarelo e dilatado (setas).	37
Fig. 14. Cronologia das principais alterações fisiológicas verificáveis na dourada durante a exposição ao desafio térmico.	39
Fig. 15. Sugestão de medidas a adoptar ao longo dos meses do ano para fazer face ao desafio térmico num cultivo de dourada.	41
Fig. 16. a) Diferentes estadios de intensidade da <i>Lymphocystis</i> num exemplar juvenil de dourada. b) Micrografia electrónica de uma amostra semi-pura, corada negativamente, de linfócitos de dourada. Partículas LCDV-AS (L) e adicionais supostas partículas icosaédricas (setas).	42
Fig. 17. a) Fotografia de microscopia electrónica de macho adulto de <i>Caligus minimus</i> . b) Fotografia de microscopia electrónica de fêmea adulta de <i>Caligus minimus</i> . c) Fotografia de microscopia electrónica de macho pré-adulto de <i>Caligus minimus</i> . d) Vista geral da superfície dorsal de <i>Caligus minimus</i> . A-Cefalotórax; B) Apron; C- Complexo genital; D- Tagma posterior; 1- Zona cefálica; 2- Zona lateral; 3 -Zona torácica; 4- Tagma; 5- Primeira antena; 6-	

Lúnula; 7- Terceira perna; 8- Quarta perna; 9- Ovos imaturos; 10- Segmento genital; 11- Intestino; 12- Ovos maduros; 13- Ovos imaturos mortos.....	47
Fig. 18. a) Estádio náuplio I (A) e II (B) de <i>Caligus minimus</i> . b) Estádio copépode I(A), II(B), III(C) e IV (D) de <i>Caligus minimus</i>	48
Fig. 19. a) Pré-adulto fêmea (A) e macho (B) de <i>Caligus minimus</i> . b) Estadio Chalimus. Chalimus I (A), Chalimus II (B), Chalimus III (C) e Chalimus IV (D) de <i>Caligus minimus</i> ..	49
Fig. 20. a) Larva de <i>Diplectanum aequans</i> . Barra=25 µm. b) Esquamodisco, barras transversais e ganchos de <i>Diplectanum aequans</i> . BD: Barras Dorsais/laterais, BV: Barra Lateral, GD: Gancho Dorsal, GV: Gancho Ventral e ES: Esquamodismo.	52
Fig. 21. a) Região anterior de <i>Diplectanum aequans</i> . b) Dois exemplars de <i>Diplectanum aequans</i> num fragmento branquial de <i>Dicentrarchus labrax</i>	52
Fig. 22. a) Fotografia via microscopia de luz de um ovo tetrahédrico bem desenvolvido de <i>Diplectanum aequans</i> contendo um oncomiracidium (on). Apêndice (ap), olho anterior (ae) e olho posterior (op). b) Desenho esquemático de um ovo tetrahédrico bem desenvolvido de <i>Diplectanum aequans</i> com opérculo (op) e apêndice (ap) e com a vitellaria (vi) a preencher a maioria do espaço interno.	54
Fig. 23. a) Forogradia via microscopia de luz de um oscomiracidium de <i>Diplectanum aequans</i> com zonas ciliadas (acc: zona ciliada anterior; mcc: zona ciliada median; pcc: zona ciliada posterior) e dois pares de olhos pigmentados (ae: olhos anteriores; pe, olhos posteriores. ph: faringe; ha:hamulus; h, opisthaptor. b) Desenho Esquemático da anatomia de um oscomiracidium de <i>Diplectanum aequans</i> . Acc: células ciliadas anteriores; ae: olhos anteriores; g: célula glandular; h:haptor; ha:hamulus; mcc: célula ciliada mediana; pcc: célula ciliada posterior; pe: olhos posteriores; ph: faringe; I-VII: sete pares de persilhas.	55
Fig. 24. a) Diagrama de trofonte de <i>Amillodinium ocellatum</i> . b): A-Encapsulado e processo de preparação celular prévio à primeira divisão <i>A.ocellatum</i> (aumento 400 X); B- Encapsulado prematuro; C- Alargamento do encapsulado, escurecimento e estrangulamento do citoplasma; D- Início da 1ª divisão celular.....	57
Fig. 25. a) Divisões sucessivas de <i>A.ocellatum</i> dentro do encapsulado (aumento 400 x). A- 1ª divisão, dois tomitos; B- 2ª divisão, quatro tomitos; C- 3ª divisão, oito tomitos; D- 4ª divisão, dezasseis tomitos; E- 5ª divisão, trinta e dois; F- 6ª divisão, 64 tomitos. b) Imagem de dois hipotéticos dinosporos de <i>A.ocellatum</i> demonstrando o flagelo longitudinal (lf), pedúnculo (p), suturas (s) e flagelo transversal (tf) (aumento 3890 x).	58
Fig. 26. Variação mensal da média (barras) e desvio padrão (barras de erro) do número parasitas por amostra. Legenda: *- Diferenças significativas correspondentes aos meses de Março e Abril (<i>Games-Howell</i> ; p-value =0,005); Março e Agosto (<i>Games-Howell</i> ; p-value =0,001);	

Março e Setembro (*Games-Howell*; p-value =0,000). #- Diferenças significativas correspondentes aos meses Abril e Julho (*Games-Howell*; p-value =0,024); Abril e Agosto (*Games-Howell*; p-value =0,000) Abril e Setembro (*Games-Howell*; p-value =0,000). Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP65

Fig. 27. Variação mensal da média (linha) e desvio padrão (barras de erro) dos valores de temperatura. Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP.....66

Fig. 28. Variação mensal da média (linha) e desvio padrão (barras de erro) dos valores de salinidade. Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP.....66

Fig. 29. Variação mensal da média (linhas) e desvio padrão (barras de erro) dos valores de oxigénio dissolvido. Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP.67

Fig. 30. Análise das componentes principais dos valores de temperatura (temp), oxigénio dissolvido (O₂), salinidade (Sal) e número de parasitas por amostra (TP) para os meses de Março (Mar); Abril (Abr); Jun (Junho); Julho (Jul); Agosto (Ago) e Setembro (Set). Discriminação da percentagem da variabilidade dos dados explicada por cada autovector....69

1-Introdução

Este relatório refere-se às actividades de manejo observadas e desenvolvidas durante o estágio curricular do Mestrado em Aquacultura da Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, estabelecendo o enquadramento teórico destas atividades no âmbito do sector aquícola.

O estágio foi realizado na exploração de piscicultura de dourada (*Sparus aurata*) e robalo (*Dicentrarchus labrax*) da empresa Nasharyba Produção e Comércio de Peixe, Lda. Esta exploração aquícola enquadra-se nos modelos de uma produção semi-intensiva de engorda em esteiro, resultando as suas instalações do aproveitamento de antigas salinas. Similarmente às produções sob o mesmo regime produtivo, a exploração apresenta uma densidade de cultivo de aproximadamente 2kg/m³.

O relatório divide-se, essencialmente, em duas partes: procedimentos e conceitos produtivos de um regime semi-intensivo e realização de um ensaio experimental referente à incidência parasitária de *Caligus minimus* em *Dicentrarchus labrax*.

A primeira parte do relatório é composta pela descrição das rotinas diárias e procedimentos inerentes a uma exploração aquícola em regime semi-intensivo e por uma monografia constituída pelos procedimentos a adoptar mediante a ocorrência de um surto patológico e, complementarmente, por uma descrição dos principais agentes patogénicos característicos destes regimes produtivos e respectivos tratamentos.

Na segunda parte do relatório, é abordado um ensaio experimental realizado com o objetivo de analisar a distribuição mensal da parasitação do copépode *Caligus minimus* bem como a influência do oxigénio dissolvido, temperatura e salinidade da água no parasita.

2-Objectivos

Desde a sua génese, que o Instituto Politécnico adoptou como matriz identitário-educacional a disponibilização aos seus estudantes de instrumentos educativos que visassem a formação cultural e técnica de nível superior, o desenvolvimento da capacidade de inovação, a análise crítica, o domínio dos conhecimentos científicos de índole teórica e prática e as suas aplicações com vista ao exercício de actividades profissionais. O ensino politécnico surgia, desta feita, como uma alternativa aos estudantes que pretendiam seguir um percurso educacional mais prático e aplicado, em oposição com as formações universitárias mais vocacionadas para o ensino teórico. Foi por isso, sem surpresa, que desde a sua criação, os diferentes institutos politécnicos portugueses privilegiaram uma relação próxima com o sector empresarial nacional e multinacional, resultando daí inúmeros benefícios não só para as próprias instituições como para os seus estudantes. De entre estes, o estabelecimento de protocolos de estágio entre os institutos politécnicos e o sector profissional permitiu criar uma ferramenta muito importante para o término da formação educacional ao possibilitar aos estudantes uma fase de transição/aclimação entre o ensino e o ramo profissional. Posto isto, em conformidade com os estágios curriculares das restantes áreas educacionais, o objetivo principal que norteou este estágio foi a introdução do estudante no meio profissional, proporcionando, num contexto de menor responsabilidade e exigência, a aplicação do(as) conhecimento/qualificações adquirido(as), o incremento de *know-how* especializado e, não menos importante, o desenvolvimento de um conjunto de contactos que permitam ao estudante no término da sua formação, iniciar a sua carreira profissional.

Feita a necessária introdução, urge concretizar os objetivos e frutos recolhidos no decurso do mesmo. Durante o período em que decorreu o estágio foi permitido ao educando aplicar as suas qualificações para executar um conjunto de tarefa pilares no normal desenrolar de uma exploração animal.

Começando pela alimentação, o estagiário teve a oportunidade de compreender e aplicar os princípios que determinam se a mesma deve ocorrer, em que períodos deve ocorrer, em que quantidades e quais as técnicas mais adequadas para reduzir o stresse competitivo e suas resultantes. Para o efeito, o estagiário teve que desenvolver as suas capacidades de observação e interpretação do comportamento das duas espécies produzidas (*Sparus aurata* e *Dicentrarchus labrax*), durante a alimentação e nos intervalos entre a mesma, assim como de análise da influência sobre a alimentação dos diferentes factores produtivos (qualidade da água,

fase de produção, surtos patológicos, presença de ameaças externas e calendarização de procedimentos produtivos (*restocking*, triagem, abate, etc...)).

A alimentação reveste-se de particular importância, visto que, numa perspectiva global, os custos alimentares correspondem a uma percentagem significativa do orçamento corrente de uma produção piscícola. Ademais, a incorrecta alimentação (que por norma ocorre por excesso) pode contribuir para a deterioração da qualidade dos recursos hídricos suscitando, entre outros, aumento do stress, maior incidência de agentes patogénicos, redução do *Feed Conversion Ratio*(FCR) e aumento das taxas de mortalidade na exploração.

Num patamar de igual importância numa exploração piscícola, surge a gestão da qualidade da água. Neste ponto, o estágio permitiu ao educando a familiarização com as rotinas diárias de gestão de qualidade da água da exploração, que se focam prioritariamente na monitorização dos valores de oxigénio dissolvido (ppm e saturação), temperatura (°C) e salinidade (ppt). Ainda dentro das rotinas diárias, foi executado um conjunto diverso de tarefas que visam a redução de potenciais impactos negativos na qualidade da coluna de água. São exemplos, a recolha diária dos óbitos, gestão alimentar, manutenção e utilização de arejadores e identificação de blooms de microalgas. Noutra plano, o aluno foi também confrontado com a necessária gestão de risco associada à renovação de água em aquaculturas sediadas em antigas salinas, onde a conjugação de factores como a imperiosidade de renovação de água, a escassez de marés que o possibilitem e a ausência de valores ideais nos parâmetros de qualidade da água obrigam, não raras vezes, a uma gestão de risco. Desta feita, o contacto do estudante com estes constrangimentos, permitiu adquirir experiência nesta área, assim como qualificações que vão ao encontro da necessidade de determinar as janelas temporais apropriadas para a renovação, de mitigar as consequências e riscos associados à mesma e, quando necessário, a prolongar ao máximo o intervalo entre renovações de água sem comprometer consideravelmente o bem-estar da produção.

Num outro plano, no decorrer do estágio existiu também um contacto regular com um conjunto de procedimentos periódicos de particular relevo numa aquacultura. Destes, principiando pelo *restocking* de um tanque, etapa que principia o começo de um ciclo produtivo, o estudante contactou com o conjunto de medidas preventivas a adoptar durante e após o *restocking*, assim como com os períodos mais adequados para a sua realização, aspectos fulcrais para reduzir o grau de stress induzido e minimizar a taxa de mortalidade. O estudando contactou igualmente com transferências de peixes entre tanques. Este ponto permitiu o reconhecimento dos factores

(densidade, agentes patogénicos, deterioração da qualidade da água, etc...) que originam a necessidade de transferências, bem como, as medidas e técnicas a adoptar para reduzir o stress, danos e mortalidades associados ao procedimento. Por fim, o estágio proporcionou ainda o contacto com as últimas fases do ciclo produtivo. Nestas, foram aprofundados conhecimentos relativamente às medidas e técnicas usadas para o abate, embalagem e conservação de pescado. Neste ponto, é essencial conhecer os procedimentos que asseguram a correcta preservação das qualidades organolépticas e visuais (aspecto da carcaça), assim como a longevidade do produto. Igualmente, e considerando que os tanques são pescados faseadamente, foram adquiridos conhecimentos no referente às medidas e técnicas que desencadeiam menor grau de prejuízo nos exemplares não-pescados. Dentro dos procedimentos relativos ao final de ciclo, o educando contactou ainda com os processos relativos à limpeza final de tanques. A compreensão destes procedimentos é essencial para assegurar uma boa gestão da qualidade da água e, adicionalmente, a redução do risco de enfermidades no ciclo produtivo seguinte.

De igual modo, o estudante teve contacto com a ocorrência de alguns surtos de mortalidade significativos. Estas experiências foram fulcrais para a melhor compreensão das ameaças existentes ao normal desenvolvimento da produção, como podem ser prevenidas e, ainda, quais os procedimentos a adoptar mediante a ocorrência de um surto de mortalidade. De entre as ameaças principais, o estudante teve contacto com um conjunto considerável de patologias. Este aspecto foi particularmente relevante pois permitiu um primeiro contacto com muitas enfermidades da aquacultura, assim como aprofundar o conhecimento e sensibilização dos factores bióticos e abióticos que estão na sua génese. Ademais, o aparecimento de agentes patogénicos está, indissociavelmente, ligado à aplicação de medidas profiláticas e terapêuticas, tendo por isso o estagiário adquirido, também neste ponto, importante *know-how* para o seu percurso profissional.

Por fim, se um dos objectivos principais do estágio se prende com a aplicação e aprendizagem de *know-how*, não menos verdade é que o estágio deve permitir ao estudante identificar as suas lacunas teórica e práticas, incentivando o autodidatismo e o crescimento profissional e, não raras vezes, pessoal. Suplementarmente, deve também o estagiário indagar quais as subáreas em que, pelas suas aptidões, pode alcançar uma performance mais elevada e conseqüentemente mais útil ao sector, procedendo, desta feita, a uma especialização nas mesmas.

3-Procedimentos e conceitos produtivos

3.1-Estruturas

A exploração aquícola é constituída por duas sub-explorações independentes: a Piscicultura do Torrão e a Piscicultura do Vale da Vinha. A Piscicultura do Torrão apresenta doze tanques destinados à produção e, por sua vez, a Piscicultura do Vale da Vinha apresenta seis.

Cada um desses tanques apresenta dois greiros, um para a entrada e outro para a saída de água no tanque, sendo que cada um dos greiros possui uma porta de madeira para interromper a movimentação de água e uma grade de rede (com uma malha de 2 mm a 10 mm (consoante a fase produtiva)) com o fim de impedir a fuga dos peixes aquando de renovações de água (período em que as portas de madeira se encontram levantadas). Na maioria dos greiros, as portas encontram-se divididas em duas meias-portas independentes. Este sistema permite ao aquacultor renovar água nos tanques assegurando, sempre que necessário, um valor de coluna de água mínimo.

Adicionalmente, os tanques são ainda constituídos por dois alimentadores, uma rede de proteção contra aves predadoras (garças, gaivotas, corvos marinhos), um quadro eléctrico e um sistema automático de medição de oxigénio dissolvido e temperatura que se encontra conectado aos arejadores do tanque (dois a três em número), activando-os quando os valores de oxigénio dissolvido se encontram abaixo dos limites mínimos predefinidos.

Por fim, acrescentar que os tanques possuem uma profundidade média de 2,5 a 3 metros, sendo que, no referente à área, o tanque mais pequeno apresenta uma área aproximada de 5000 m² e o maior com uma área aproximada de 17000 m². De referir ainda que os tanques são compostos por um ladeamento de gravilha e um fundo de terra.



Fig. 1. a) Planta das Pisciculturas do Torrão e Vale da Vinha. b) Imagem do Google Maps das Pisciculturas do Torrão e Vale da Vinha.

A renovação de água nos tanques é assegurada pelas valas de entrada e saída. Para o efeito, a Piscicultura do Torrão possui uma vala de entrada e duas valas de saída, enquanto que a Piscicultura do Vale da Vinha apresenta uma vala de entrada e uma vala de saída. Cada vala possui saídas ou entradas para o estuário do Mondego, constituídas igualmente, salvo algumas exceções, por um sistema de meias-portas e em alguns casos por portas anti-retorno. Na vala de entrada da Piscicultura do Torrão existem ainda três bitorões que impedem a entrada de lixo na vala e conseqüentemente nos tanques da produção.

Em ambas as pisciculturas existe um reservatório de água. Este reservatório permite, como o próprio nome indica, criar uma reserva de água quando se perspectiva que o estuário apresenta ou apresentará, a breve trecho, água de qualidade inferior. Os reservatórios possuem ligações às valas de entrada e saída das pisciculturas respectivas, permitindo criar, ainda que temporariamente, um sistema de recirculação fechado quando desejado. Ademais, cada reservatório possui um sistema de bombagem destinado a acrescentar água às valas de entrada quando o nível das ultimas se encontra superior ao do reservatório.



Fig. 2. a) Zona de saída de água dos tanques com a presença de alimentadores, rede de protecção contra aves, grades de rede e porta de madeira. b) Vala e greiros Piscicultura do Torrão e Vale da Vinha.

Auxiliariamente a ambas as pisciculturas, a produção é constituída por um armazém composto por escritório, sala do gerador, sala de armazenamento, WC e vestuário, sala de processamento e uma arca de refrigeração. Além deste armazém, a produção é composta por um armazém com um segundo gerador, um armazém exclusivo para as rações e três de auxílio à logística da produção.

No referente à instalação eléctrica da exploração, esta é constituída por quatro níveis de segurança/autonomia. O primeiro nível, composto por dois quadros eléctricos principais, permite o funcionamento independente da Piscicultura do Torrão e do Vale da Vinha, salvaguardando-se, em caso de falha energética numa das piscicultura, o abastecimento eléctrico para a outra. Num segundo nível cada piscicultura possui um quadro para cada dois tanques de produção. Este nível permite que no interior de cada piscicultura, as falhas decorrentes num quadro isolado não comprometam o funcionamento dos tanques abastecidos pelos restantes quadros. Num terceiro nível cada um destes quadros possui dois quadros subjacentes que abastecem individualmente cada um dos tanques, o que, segundo o mesmo princípio, permite assegurar que as anomalias de um tanque não afectem o desempenho do outro. Por fim, temos um último nível que permite que, dentro de cada tanque, o funcionamento de cada arejador seja independente. Estes quatro níveis de segurança/autonomia permitem uma boa margem de segurança contra a ocorrência de danos no circuito eléctrico, permitindo restringir unicamente o problema à sua zona de origem. Não obstante, e ainda que o local da falha seja o factor determinante para a actuação dos diferentes níveis de segurança, a intensidade do dano é também um factor relevante, verificando-se que danos de grande intensidade (curtos circuitos elevados e aquecimento acentuado de equipamentos) podem desencadear a activação de um nível de segurança superior aquele que o local da falha faria prever. Para muitos destes casos a activação dos geradores permite resolver temporariamente o problema.



Fig. 3. a) Quadro de electricidade de um tanque e sonda de medição de temperatura e salinidade. b) Bitorões da vala de entrada da Piscicultura do Torrão.

3.2-Sistema de Produção

A exploração aquícola enquadra-se num modelo de produção semi-intensiva de engorda em esteiro, resultando as suas instalações do aproveitamento de antigas salinas. Similarmente às produções sob o mesmo regime produtivo, a exploração apresenta baixa densidade de cultivo (2kg/m^3) decorrente das restrições existentes na renovação da água e na incapacidade de um controlo integral dos valores dos diversos parâmetros de qualidade da água (temperatura, salinidade, *Potencial of Hydrogen* (pH), *Total Dissolved Solids* (TDS), *Total Suspended Solids* (TSS), *Total Organic Matter* (TOM) ...), cuja variação é grandemente influenciada pelo ambiente circundante. Adicionalmente, a impossibilidade de filtração e tratamento dos recursos hídricos (inviável financeiramente), acentua a exposição a agentes bióticos, principalmente patogénicos, bem como abióticos que reduzem o bem-estar animal e, por sua vez, originam a necessidade de reduzir as densidades de cultivo.

Nesta exploração, o início de ciclo começa com a aquisição de juvenis com pesos entre as 5 e 15 g e termina quando atingindo o peso comercial (cerca de 300-600 g nas espécies alvo da empresa). Por norma, os ciclos têm a duração de um ano a um ano meio. A alimentação é maioritariamente à base de alimento artificial (ração), sendo a mesma complementada pelo alimento natural presente nos tanques (microalgas, peixes de pequeno porte, crustáceos, poliquetas, etc...).

Num panorama nacional, constata-se que à data do ano de 2016, o regime semi-intensivo é responsável por 10,6% da produção piscícola nacional, totalizando 1199 toneladas (Instituto Nacional de Estatística/ Direcção Geral de Recursos Marinhos (INE/DGRM), <https://rea.apambiente.pt/content/produ%C3%A7%C3%A3o-em-aquicultura>).

3.3-Espécies produzidas

3.3.1-Dourada (*Sparus aurata*)

Com uma produção de 158 389 toneladas no ano de 2014, a dourada (*Sparus aurata*), é uma das espécies mais produzidas na aquacultura mundial e especialmente na europeia. A sua produção ocorre maioritariamente no Mediterrâneo, com a Grécia (49 %) como maior produtor para o ano de 2012. Seguem-se, países como a Turquia (15%), Espanha (14%) e Itália (6 %) como principais produtores mediterrânicos. Adicionalmente, produções consideráveis de

dourada são ainda encontradas em países com o a Croácia, Egípto, França, Marrocos, Portugal e Tunísia. Fora do Mar Mediterrâneo, encontramos, também, algumas produções no Mar Vermelho, Golfo Pérsico e Mar Árabe. Nestes, o maior produtor é Israel (3%) e Kuwait e Oman produtores menores (*Food and Agriculture Organization (FAO) FishStat*. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en). Em Portugal, no ano de 2012, a produção cifrava-se nas 895 toneladas (Espaço Aquicultura, <https://eaquicultura.pt/principais-especies-cultivadas-em-portugal/>).

Taxonomia Reino: Animalia; Filo: Chordata Classe: Actinopterygii Ordem: Perciformes Família: Sparidae Gênero: *Sparus* Espécie: *Sparus aurata* Linnaeus, 1758.

Segundo descrição de Ortega (2008), esta espécie apresenta uma estrutura corporal oval, o perfil da cabeça é regularmente curvado e convexo, apresentando uns olhos pequenos e uma boca ligeiramente baixa e oblíqua com a mandíbula superior ligeiramente mais larga do que a inferior. Apresenta uma coloração cinza prateada com uma mancha negra na procela da linha lateral e com uma banda dourada característica entre os olhos, daí o nome comum da espécie ser dourada.

É uma espécie marinha muito comum em zonas costeiras, presente em fundos rochosos e de algas, é principalmente carnívora, alimentando-se de moluscos, crustáceos e peixes, embora acessoriamente seja também herbívora. Os juvenis podem ser encontrados até cerca de 30 metros, contudo, os adultos são mais frequentes a profundidades de 100-150 metros de profundidade. É uma espécie considerada solitária, mas pode ser encontrada em pequenos cardumes principalmente na época reprodutiva onde se agrupam numerosos exemplares para a migração.

É um peixe euritermico, sobrevivendo a temperaturas desde os 5°C aos 33°C, contudo apresenta uma temperatura ótima de crescimento de 20-26°C, sendo que deixa de se alimentar a temperaturas inferiores a 12-13°C. Esta espécie é também eurihalina, suportando salinidades desde os 3 aos 70ppt, podendo ser encontrada tanto em zonas estuarinas como em lagunas costeiras.

É uma espécie hermafrodita protândrica, primeiramente matura como macho e posteriormente como fêmea. Durante o primeiro ano de vida, esta espécie é imatura, sendo que só alguns exemplares maturam nessa altura. A maioria dos exemplares matura como machos no 2º ano de vida. No 3º ano de vida, esta espécie sofre um processo de inversão sexual, neste 80% da

população existente matura em fêmeas e os restantes 20% interrompe o processo de inversão, permanecendo como machos. Os níveis desta percentagem variam também consoante outros fatores sociais. A época de desova natural estende-se desde Novembro até Abril sendo que em maternidades, com a manipulação da temperatura e do fotoperíodo, é possível a sua postura em todas as estações do ano.

A maior parte do consumo desta espécie deriva de aquaculturas, com uma percentagem considerável realizada em regime extensivo, principalmente no Mediterrâneo.

Apresenta também um bom preço de mercado e, para além disso é uma espécie com uma taxa de sobrevivência bastante elevada.

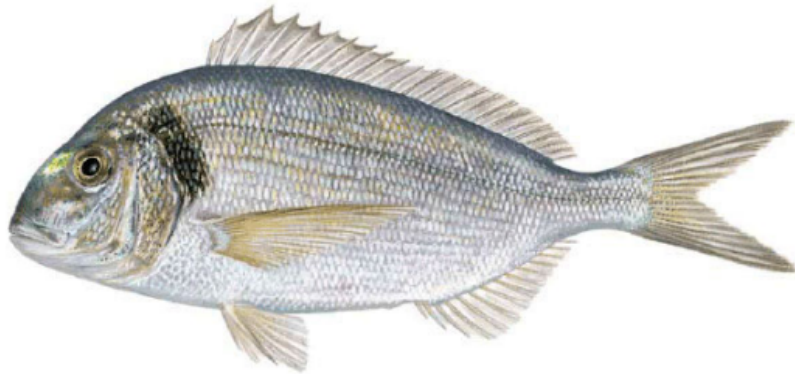


Fig. 4. Ilustração da espécie *Sparus aurata*.

3.3.2-Robalo (*Dicentrarchus labrax*)

Com uma produção de 156 449 toneladas no ano de 2014, o robalo (*Dicentrarchus labrax*), é uma das espécies mais produzidas na aquacultura mundial e, especialmente, europeia (FAO. Fishstat. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/en). Segundo dados da APROMAR Espanha, os maiores produtores de robalo em 2010 foram a Grécia, com 47 mil toneladas, a Turquia, com 35 mil toneladas e Espanha com 12 495 mil toneladas (Ortega, 2013). Já Portugal, à data de 2012, apresentava uma produção de 531 toneladas (Espaço Aquicultura, <https://eaquicultura.pt/principais-especies-cultivadas-em-portugal/>).

Taxonomia Reino: Animalia; Filo: Chordata Classe: Actinopterygii Ordem: Perciformes Família: Moronidae Gênero: *Dicentrarchus* Espécie: *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758.

Segundo descrição de Ortega (2013), esta espécie apresenta um corpo largo e vigoroso, coberto por escamas grandes. A cabeça é pontiaguda, a boca grande, terminal e ligeiramente protractil. As aberturas nasais são relativamente pequenas e mandíbula inferior exhibe alguma proeminência. Possui duas barbatanas dorsais, a primeira delas triangular com oito a nove raios espinhosos, enquanto que a segunda exhibe uma forma mais irregular e é composta por um raio duro e 11 a 12 moles. A barbatana anal apresenta raios espinhosos e a barbatana caudal é ligeiramente bifurcada. O pedúnculo caudal é grande e a linha lateral é completa, com 62 a 74 escamas. Exhibe uma cor chumbo acizentado, com a zona dorsal a assumir um tom mais escuro, ainda que as tonalidades da espécie possam variar em função da área de distribuição e dos fundos em que se encontra. Possui uma mancha negra difusa no ângulo superior do opérculo. Por fim a zona pré-opercular é caracterizada pela margem posterior dentada e o opérculo possui duas espinhas características.

O tamanho máximo que a espécie pode alcançar encontra-se na ordem dos 80 a 100 cm, ainda que seja mais comum o tamanho variar entre os 40 e 55 cm e um peso entre os 2 e 5 kg. Não apresenta dimorfismo sexual embora as fêmeas tenham uma cabeça mais larga e um corpo mais alto, enquanto que os machos crescem mais rápido e alcancem um tamanho superior.

É uma espécie de águas costeiras pouco profundas, que exhibe um comportamento gregário enquanto juvenil e agregário ou em parilha enquanto adulto. Podem ser encontradas em zonas perto da costa rochosa e em desembocaduras de rios e salinas, entrado nos estuários, e, por vezes, nos rios. É um animal muito voraz que se alimenta de pequenos peixes e invertebrados de todo o tipo.

A sua área de distribuição estende-se por todo o Mediterrâneo, pelo Mar Negro e pelo Oceano Atlântico. A espécie estende-se ainda no Norte pelas Ilhas Britânicas e Noruega, e no sul até às ilhas Canárias e Marrocos, chegando a alcançar as costas do Senegal. É uma espécie de grande plasticidade ecológica, eurihalina e euritêmica. Desta feita, a espécie é capaz de viver em águas doces (0.5 ppt) e suportar salinidades muito altas (> 60 ppt). Apesar de estas mudanças apenas poderem ocorrer de forma progressiva, tem vindo a ser demonstrado que são capazes de suportar alterações bruscas de salinidades na ordem dos 8 a 10 ppt. No referente à temperatura, são capazes de suportar temperaturas compreendidas entre os 3 a 30°C e o

intervalo reprodutivo óptimo situa-se entre os 12 e 17°C.

É uma espécie dióica e a sua determinação sexual ocorre por intermédio da temperatura (Vandeputte et al., 2007). No Mediterrâneo, os machos apenas alcançam a maturidade sexual a partir do segundo ano de vida, quando apresentam um peso superior as 300 a 400 g, enquanto que as fêmeas apenas se tornam maduras no terceiro a quarto ano de vida, quando possuem um tamanho superior a 500 a 600 gr. Por fim, apenas têm uma postura ao longo do ano, entre Fevereiro e Março, verificando-se uma maturação das gónadas sincronizada.

É um predador muito activo e oportunista, alimentando-se de todas as presas que encontra e apresentem um tamanho adequado. A maioria dos seus movimentos fora da época reprodutiva, estão envolvidos na procura de alimento, percorrendo ambientes costeiros e estuarinos. Por fim, verifica-se que, para temperaturas inferiores a 10 a 12 °C, a sua taxa de alimentação diminui consideravelmente pelo que, no Inverno, tende a abandonar as zonas costeiras e regressar a zonas de mar aberto.



Fig. 5. Ilustração da espécie *Dicentrarchus labrax*.

3.3.3-Ciclos de vida do robalo e dourada

O ciclo de vida do robalo e dourada divide-se em cinco fases principais (PISCES Educational Series (2004)).

Ovo: Os ovos de dourada e robalo apresentam ambos uma forma esférica, com um diâmetro ligeiramente inferior a um milímetro para as douradas e superior para os robalos. A eclosão começa aproximadamente 48h após a postura a 16-17°C para a dourada e 72h a 13-14°C para o robalo.

Pré-Larva: Os robalos e douradas recém eclodidos têm os olhos e boca fechados e dependem do saco vitelino para a sua nutrição. As barbatanas peitorais desenvolvem-se dois dias após a eclosão. Nos três a seis dias seguintes, consoante a temperatura da água, a pigmentação corporal aumenta, a boca abre e a maioria do saco vitelino já se encontra consumido.

Larva: Entre o dia dois e quatro os olhos tornam-se funcionais e são reconhecíveis pela sua cor escura. A boca está aberta e extensiva pigmentação corporal aparece. O começo da primeira alimentação é um período essencial uma vez que se a mesma não ocorrer apropriadamente irá ocorrer “*starvation*”. Entre o dia 15 e 35, as barbatanas caudais e anais aparecem e a bexiga natatória expande-se progressivamente até à sua fase final. Entre o dia 30 e 40 as barbatanas dorsais e ventrais começam a desenvolver-se

Juvenil: Após 40-50 dias, nas aquaculturas, o peixe deixa de se alimentar com alimento vivo e passa a alimentar-se de ração com calibres muito finos. Nos dias 70-80 as escamas começam a aparecer e ao 90º dia a definição da morfologia juvenil é evidente. Por norma, a transferência para as aquaculturas de engorda ocorre com tamanhos entre as duas e cinco gramas, podendo, no entanto, chegar até às 15 gramas.

Adulto: Ambas são espécies essencialmente carnívoras, alimentando-se maioritariamente de moluscos, camarões e vermes. Adicionalmente, o robalo alimenta-se igualmente de peixes.

3.4-Rotinas Diárias

Ainda que extraordinariamente diverso relativamente às espécies alvo e diferentes filosofias que o norteiam, o mundo das explorações animais tem como base comum entre todas elas a imperiosa necessidade de definição de um conjunto de tarefas diárias essenciais ao bem-estar animal. A aquacultura, como um dos ramos da exploração animal, partilha deste mesmo princípio, pelo que carece de ser feita uma descrição e análise aos procedimentos diários que norteiam a empresa alvo deste relatório de estágio.

Sem grande nota de surpresa ou destaque, as rotinas que principiam o começo do dia na exploração prendem-se com a recolha e análise dos valores dos parâmetros alvo de qualidade da água, nomeadamente oxigénio dissolvido (ppm e saturação), temperatura e salinidade, ainda que este último apenas assumia um carácter de obrigatoriedade diária quando os valores se encontram em intervalos críticos (salinidades inferiores a 20 ppt).

Averiguados os valores, procede-se à sua análise com a finalidade de estabelecer se os peixes

serão alimentados e, se sim, em que quantidades. Esta determinação, é fundamentada pela conciliação entre tabelas pré-existentes da relação alimentação-temperatura/oxigênio dissolvido e o factor empírico que desempenha um papel crucial na adaptação às especificidades próprias da produção. Por norma, a alimentação apresenta maioritariamente uma periodicidade de 24 horas ao longo do ano, no entanto, em determinadas circunstâncias, com o aumento da temperatura da água ($> 20^{\circ}\text{C}$), pode ser realizada duas vezes ao dia, com a segunda toma a ser fornecida ao final da tarde. Este incremento da frequência alimentar é devido ao aumento do metabolismo dos peixes.

Não descurando a medição do oxigênio dissolvido já referida, a recolha de dados deste parâmetro tende a ser repetida ao longo do dia com vista a assegurar se os níveis deste se encontram no intervalo óptimo. Caso o mesmo não se verifique, os arejadores existentes nos tanques devem ser imediatamente accionados até ser assegurado um valor mínimo, por norma nunca inferior a 4,5ppm, e desligados quando são atingidos valores adequados, visto ser um procedimento dispendioso energeticamente.

Concluído o levantamento de parâmetros e eventual alimentação, o foco da equipa de produção passa a centrar-se na recolha das fatalidades. Este procedimento deve ser o mais célere possível para minimizar a exposição a eventuais agentes patogénicos que possam estar na origem dos óbitos. Além disso, a recolha dos óbitos permite também limitar a formação de produtos de decomposição, como o CO_2 , amónia, sulfeto de hidrogénio, entre outros, contribuindo para a melhoria da qualidade hídrica dos tanques de produção.

Sempre que a logística operacional o permita, devem ser realizadas várias recolhas de óbitos ao longo do dia, procurando-se, desta feita, reduzir ao máximo o tempo de exposição. Este ponto último é de fundamental relevo durante a ocorrência de surtos patológicos onde as taxas de propagação são elevadas não só em termos absolutos (nº de infectados) como relativos (velocidade da propagação), podendo desencadear taxas de mortalidade bastante consideráveis ($> 50\%$) se não forem tomadas medidas adequadas em tempo útil. De realçar que, muito embora os riscos associados às mortalidades justifiquem principiar a ordem de trabalhos diária com a sua recolha, a morosidade, grandemente determinada pela área de extensão da produção, impediria a alimentação em tempo útil, pelo que a sua realização tende a ser adiada para uma fase posterior.

Por fim, para concluir os procedimentos diários da exploração, a equipa de técnicos deve observar e anotar se os alimentadores de cada tanque têm uma quantidade de ração adequada

às previsões de alimentação do dia seguinte, sendo que, em caso negativo, devem ser asseguradas essas quantidades. Este procedimento é de capital relevância visto que permite que a alimentação seja realizada o mais cedo possível no dia precedente, mais especificamente, no romper da madrugada, um dos intervalos temporais onde o peixe, por norma, apresenta maior voracidade. No períodos em que a alimentação ocorre duas vezes/dia, os alimentadores, consoante a logística, as condições meteorológicas e a metodologia, podem ser atestados com as quantidades necessárias às duas tomas diárias, privilegiando-se neste caso a rapidez procedimental, ou atestados apenas em função das quantidades necessárias à próxima, privilegiando-se a conservação da ração.

3.5-Restocking

Nas produções aquícolas nacionais, o ciclo de produção inicia-se, regra geral, com uma fase de pré-engorda ou de engorda. Este requer a aquisição de juvenis, com o fornecimento a ser maioritariamente assegurado por maternidades sediadas fora de Portugal, nomeadamente Espanha e França, o que obriga a um transporte de média/longa duração por rotas terrestres ou marítimas. Da deslocação podem resultar ameaças importantes ao stock, condicionante agravada pela vulnerabilidade da fase do ciclo de vida, pelo que devem ser adoptadas medidas que mitiguem esse risco.

No transporte por rota terrestre são usados camiões equipados com tanques de fibra de vidro com uma escotilha selável e uma válvula de descarga. O transporte requer ainda a utilização de sensores para monitorização constante dos valores de oxigénio dissolvido e temperatura. Neste tipo de transporte, os tanques funcionam num regime de sistema fechado e os níveis de amónia e dióxido de carbono tendem a representar algum grau de risco pelo que, na preparação da viagem, parâmetros como a densidade dos tanques, temperatura de água, duração do transporte devem ser analisados.

Nas rotas marítimas, o transporte ocorre por intermédio de um navio-tanque, podendo optar-se por um sistema aberto de fluxo unidireccional ou por um sistema fechado. Num sistema aberto de fluxo unidireccional, a manutenção dos níveis adequados de dióxido de carbono e *Total Ammonia Nitrogen* (TAN) configura-se mais exequível. No entanto, o grau de exposição deste sistema a factores externos é um risco para a bio-segurança pelo que, quando não verificadas as condições adequadas para a segurança do stock, se deve optar por um sistema fechado (referência nº24).



Fig. 6. Camião de transporte de juvenis para povoamento.

Durante o período de estágio foram realizadas, nos meses de Fevereiro, Março e Abril, três acções de *restocking* de juvenis de dourada e robalo, com peso entre as 10 e 15 g a um preço aproximado de 0,30 €/exemplar. O fornecimento foi assegurado por diferentes maternidades estrangeiras e o transporte ocorreu por rota terrestre. Com a escolha temporal destas acções, pretendeu-se iniciar o cultivo dos stocks num período do ano caracterizado por baixas temperaturas e águas mais doces, no qual se verifica uma redução significativa das principais ameaças e agentes patogénicos desta fase de cultivo. Por outro lado, o repovoamento neste período possibilita que a adaptação ambiental dos juvenis ocorra nos meses de menor crescimento, permitindo uma melhor rentabilização dos meses mais quentes, onde o metabolismo e crescimento dos cultivos é consideravelmente superior.

Noutro plano, é também importante lembrar que nas aquaculturas semi-intensivas, o controlo dos parâmetros da qualidade da água é diminuto, existindo, não raras vezes, uma diferença considerável nos valores dos parâmetros dos tanques do camião e da produção. Nesse sentido, para segurança da transferência dos exemplares para os tanques de produção, precedeu-se a uma incorporação gradual (processo com duração superior a uma hora) de água da exploração nos tanques do camião. Este processo permitiu reduzir os perigos de choque térmico e osmótico associados a uma mudança brusca dos exemplares.

Concluída esta operação, ainda que os riscos diminuam consideravelmente, não são negligenciáveis, sendo as primeiras semanas um período crítico para o sucesso da exploração e ao qual é essencial uma boa adaptação da cultura ao novo ambiente. Desta feita, é

extremamente importante a vigilância permanente do estado dos peixes e da interacção que desenvolvem entre si. Neste período, os exemplares começam a encardumar pelo que o produtor deve ter atenção ao seu desenvolvimento e actuar em conformidade, nomeadamente ao nível da alimentação.

De igual relevância para o sucesso da produção será a capacidade para antecipar e restringir o aparecimento e exposição a agentes patogénicos, assim como a infecção do stock. Deste modo, o produtor deve actuar ao nível preventivo procurando não induzir stresse nos animais, nomeadamente, evitando, ao máximo, o maneo da produção nesta fase e, igualmente, deve procurar assegurar que os parâmetros de qualidade da água se encontram sempre em valores adequados.

3.6-Alimentação

À semelhança da generalidade das produções piscícolas, a alimentação constitui a vertente mais importante de exploração uma vez que é a mesma que possibilita o crescimento dos exemplares para futuro abate e comercialização. Por norma, a alimentação na exploração ocorre apenas uma vez por dia, no decorrer das primeiras horas da madrugada. Não obstante, nos meses de maior temperatura, esta também se efectua no final da tarde para os tanques com peixes de calibres mais pequenos (< 100 g), fazendo face às elevadas actividades metabólicas dos calibres mais pequenos neste período.

Ainda que, como acima mencionado, a alimentação ocorra nas primeiras horas da madrugada, a recolha e análise dos valores dos parâmetros de água precede obrigatoriamente a mesma. Os valores de oxigénio dissolvido e temperatura assumem uma inegável importância para a decisão da ocorrência ou não de alimentação e para a determinação de como a mesma irá ocorrer e em que quantidades.

No referente aos valores de oxigénio dissolvido, a análise pode ser realizada com base nos valores de concentração (ppm) ou, alternativamente, recorrendo aos valores de saturação. Similarmente, a temperatura apresenta também um papel importante nesta equação, com especial foco na determinação da quantidade de ração a fornecer e em último caso determinar se é adequado proceder à alimentação dos exemplares. Conciliando estes dois parâmetros, resulta que a alimentação nesta exploração por norma ocorre para valores de oxigénio dissolvido superiores a 2,5-3 ppm ou a 40 % de saturação, conforme a unidade utilizada, e para o intervalo de temperatura entre os 13 e 25° C.

Complementarmente aos valores dos parâmetros da água, o clima, o contexto produtivo, o estado fisiológico dos exemplares e eventos extra-produtivos são também eles factores importantes na alimentação, não raras vezes, assumindo um papel restritivo. A exemplo, e considerando o estado fisiológico do peixe, a ocorrência de surtos patológicos tende a diminuir a apetência do peixe para a alimentação ou a reduzir o seu índice de aproveitamento, levando o produtor a cessar ou reduzir acentuadamente a alimentação durante estas fases. Ainda dentro da influência do estado fisiológico, a análise aos índices corporais do peixe (% massa gorda e muscular) tende igualmente a influenciar o produtor nas decisões alimentares.

Por outro lado, o contexto produtivo dos tanques apresenta também um papel relevante, considerando que eventos como transferências de peixes ou pesca para abate exigem dois a três dias prévios de jejum. Adicionalmente, estes factores exigem igual atenção do produtor nos dias posteriores dado que o stress desencadeado por estas actividades tende a ser inibidor da alimentação óptima dos peixes.

O clima evidencia-se, de igual modo, como um factor importante na alimentação. Considerando especialmente as produções em antigas salinas, particular destaque deve ser dado ao nevoeiro que, associado a quebras de oxigénio dissolvido repentinas, representa um factor restritivo da alimentação. Assim, esta deve ser imediatamente cessada aquando do seu surgimento e, complementarmente, iniciada uma ronda de supervisão ao estado e comportamentos dos peixes.

Por fim, o decorrer de eventos extra-produtivos pode igualmente desempenhar um papel influenciador da alimentação, ao aumentar o stress e, conseqüentemente, reduzir a apetência da produção para a alimentação. De entre alguns exemplos, podem destacar-se a ocorrência momentânea de obras, presença em massa de predadores, tráfego rodoviário acentuado, entre outros...

Mas, se inferir quando se deve proceder à alimentação e em que quantidades deve a mesma ocorrer se revela como um factor importante, não menos importante é saber adaptar o procedimento alimentar ao comportamento das espécies alvo, neste caso, dourada e robalo. É de particular interesse começar por sublinhar que as duas espécies apresentam comportamentos bastante antagónicos entre si, com a dourada a apresentar um comportamento alimentar mais agressivo, territorial e gregário enquanto por sua vez o robalo, predador de emboscada, apresenta um comportamento alimentar menos agressivo, menos territorial e, quando comparado com a dourada, menos social.

Mais pormenorizadamente, na dourada é possível verificar três comportamentos sociais no referente à relação com a quantidade de alimento fornecida por unidade de tempo. Quando a mesma apresenta valores baixos, a alimentação ocorre à superfície e a competição tende a ser bastante agressiva, hierarquizada e com as douradas a adoptar um comportamento mais estático. Nestes casos, é frequentemente observar os indivíduos dominantes a assumir uma procura agressiva da ração fornecida enquanto os restantes indivíduos aguardam pelo aparecimento de alimento próximo de si, apenas investindo quando os indivíduos dominantes não o fazem. Em contrapartida, quando o débito fornecido apresenta valores mais elevados, ainda que a alimentação continue a ocorrer superficialmente, verifica-se um nível de competição reduzido, com as douradas a evidenciarem uma movimentação circular dinâmica em redor do(s) ponto(s) com maior intensidade de alimento. Por último, quando a alimentação é fornecida em excesso por unidade de tempo, as douradas tendem a alimentar-se em zonas mais profundas do tanque, aguardando passivamente que o alimento afunde. Este comportamento é observável sobretudo nos exemplares mais jovens.

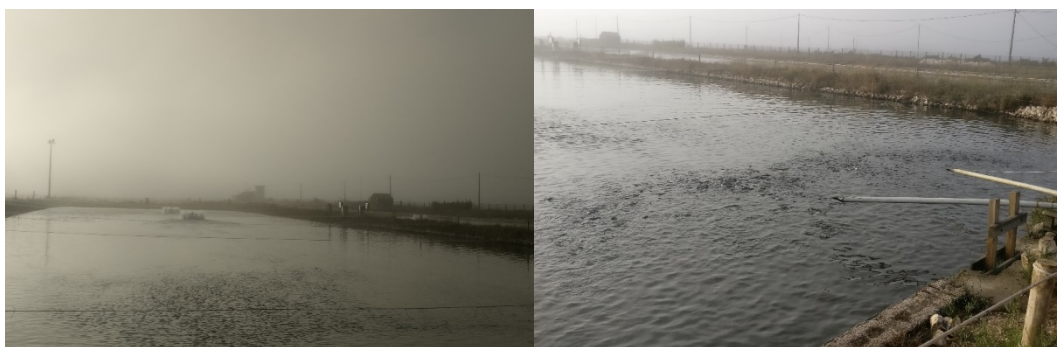


Fig. 7. a) Nevoeiro ao romper do dia na exploração. b) Alimentação de um tanque.

Por sua vez, o robalo apresenta um comportamento menos agressivo na disputa intra-espécie de alimento e submisso na disputa de alimento com a dourada. Assim, em tanques onde a percentagem de douradas é muito baixa e a disponibilidade de alimento é adequada ao número de indivíduos, tende a observar-se uma convivência pacífica, com robalos e douradas a alimentarem-se superficialmente e sem competição entre si, movimentando-se serenamente na zona de alimentação. Quando a percentagem de douradas começa a apresentar valores mais significativos, mesmo que inferiores as do robalo, estas tendem a assumir uma postura dominante na área de alimentação, alimentando-se superficialmente e nas zonas com maior intensidade de alimento, enquanto os exemplares de robalo tendem a afastar-se para zonas mais periféricas da zona de alimentação e no interior da coluna de água. Nestas circunstâncias, os robalos optam por apresentar um comportamento mais oportunista, aguardando que surja

alimento na zona, fazendo rápidas investidas à superfície, seguidas do retorno à coluna de água. Igualmente observável, ainda que em percentagens residuais, é a presença de robalos, por norma de calibres mais elevados, em zonas de alimentação dominadas por douradas, competindo com estas, ainda que pouco assumidamente, pelo alimento. Já quando o alimento é fornecido em excesso, à semelhança da dourada, o robalo tende a aguardar passivamente em zonas mais profundas do tanque.

Todos estes factores inerentes às espécies e ao seu cultivo devem ser tidos em consideração aquando da alimentação. Primeiramente, e no referente ao débito dos alimentadores, esta deve ser o suficiente para que permita uma alimentação com baixa competição intra e inter-espécie mas, por outro lado, não deve ser em quantidades excessivamente elevadas pois acentua o desperdício de recursos materiais e, por inerência, financeiros, sendo igualmente um factor de deterioração da qualidade da água dos tanques. O rigor na ração fornecida deve igualmente aumentar proporcionalmente com a percentagem de robalos no tanque uma vez que, contrariamente às douradas, estes não são capazes de se alimentar da ração existente no fundo dos tanques. De igual modo, a variância de calibres intra e inter-espécie, em grande parte desencadeada pela agressividade competitiva da dourada em relação ao robalo e à hierarquização no interior dos seus cardumes, exige uma atenção constante do produtor, sob risco de se observarem variações acentuadas nos calibres dos exemplares. Da heterogeneidade de calibres podem resultar prolongamentos de ciclos produtivos e constrangimentos consideráveis na pesca que, não raras vezes, culminam no aumento de despesas.

Assim, o produtor deve dedicar algum tempo à observação da alimentação dos peixes e, sempre que possível, proceder a uma alimentação manual nas zonas mais periféricas de alimentação, onde se costumam localizar os exemplares não dominantes (robalos e douradas de calibres inferiores), com vista à mitigação das variações de calibre no ciclo produtivo. Ainda dentro da variância de calibres, especial cuidado deve ser tido no momento da alteração de rações e seus calibres, sendo imperioso assegurar que todos os exemplares se alimentam e que a alimentação ocorre sem desencadear eventos stressantes nos peixes. Regra geral, o processo de alteração ocorre de forma gradual, com o produtor a aumentar progressivamente a percentagem do novo calibre ou ração a fornecer.

Igualmente importante, é a alimentação que principia o ciclo produtivo no pós-povoamento dos tanques. Nesta fase, os peixes ainda não estabeleceram relações sociais, características sobretudo da dourada, adoptando um comportamento alimentar maioritariamente singular ou em pequenos grupos. Assim, neste período, o papel do produtor na alimentação é

particularmente relevante, devendo esta ser efectuada por processos manuais e com elevado nível de rigor e atenção. Neste período, o aquacultor deve procurar progressivamente agrupar os exemplares em cardumes, reduzindo-os em número, mas aumentando-os em tamanho. Concluída esta etapa, o produtor deve em seguida procurar progressivamente alimentar os exemplares em exclusivo nas futuras zonas de alimentação (onde se encontram os alimentadores), assegurando-se que todos os exemplares reconhecem esses locais como zonas de alimento e, seguidamente, aprendem a associar estímulos visuais e auditivos (barulho dos alimentadores e queda dos *pellets* na superfície da água) aos períodos onde está a ocorrer fornecimento de alimento. Estas duas etapas mencionadas são de particularmente importância, uma vez que a sua incorrecta execução irá resultar em alimentações mais stressantes (com a consequente queda nos índices de *Feed Conversion Ratio* (FCR)) para os exemplares (ausência de hierarquização e consequentemente aumento da competitividade/agressividade entre exemplares) mas também na privação alimentar (quando considerando alimento artificial) de exemplares que não aprendam a reconhecer as zonas de alimentação ou a associar estímulos sensitivos a períodos de alimentação.

3.7-Gestão qualidade da água

Enquadrado num sistema de produção aberto, onde não ocorre recirculação de água, a gestão da qualidade hídrica desta produção é fortemente condicionada pelo período temporal entre renovações de água. Esta circunstância obriga a uma cuidadosa gestão diária que reduza ao máximo a degradação acentuada dos parâmetros de qualidade da água, sob risco de desencadear stresse na produção, surtos patológicos, blooms de microalgas e macroalgas, alterações na fauna bentónica microbiana e consequente aumento de produtos tóxicos (ex: ácido sulfídrico e metano) e, em último caso, mortalidades em massa.

A gestão diária, como vêm sendo mencionado ao longo deste relatório, requer do produtor um controlo rigoroso de um conjunto diverso de procedimentos e factores que envolvem o dia-a-dia da exploração. De facto, a gestão deste tipo de produção exige que o produtor adopte um papel de observação constante, procurando permanentemente inferir se as densidades de cultivo se encontram adequadas às características da espécie e do sistema produtivo, se a alimentação ocorre nas quantidades certas e com a qualidade adequada (visando reduzir a carga fecal), se os peixes mortos são retirados celeremente dos tanques e se os equipamentos (sondas e arejadores) estão em número adequado e operacionais. Este trabalho é essencial para evitar o acumular de matéria orgânica e a redução dos teores de oxigénio dissolvido nos tanques. Estes

dois factores, por norma, são os principais responsáveis no desencadear de eventos danosos na produção, de que são exemplos o aparecimento de blooms de microalgas e macroalgas, associados a quebras bruscas de oxigénio dissolvido durante a noite, a alteração das comunidades bentónicas microbianas com a passagem de espécies aeróbicas a anaeróbicas (produtoras de compostos tóxicos) e o aparecimento de surtos patológicos com as respectivas mortalidades e eventos stressantes associados.

À semelhança da generalidade das produções em esteiros, a renovação de água nesta produção ocorre com recurso a água proveniente do estuário, estando por isso limitada pela altura das marés. Assim, esta apenas se realiza quando se verifica um mínimo de três marés seguidas em que a preia-mar apresenta uma altura superior a 3,20 metros. Estes períodos temporais ocorrem maioritariamente durante os dias de lua cheia e lua nova, pelo que, considerando que o período temporal entre marés vivas é de aproximadamente duas semanas, por norma, este é o intervalo de tempo de renovação de água na produção. Tendo como referência os sistemas de recirculação de água em que a renovação de água é feita de forma diária, e apesar das densidades populacionais superiores destes, rapidamente se constata que um período de 14 dias é demasiado prolongado. Esta circunstância obriga o produtor a efectuar renovações com percentagens elevadas de água, quando comparadas com as dos sistemas de recirculação (10%/dia). Assim, na exploração Nasharyba, em cada maré de renovação, cerca de 50 % da água dos tanques é substituída. Para o efeito, as portas dos tanques são abertas cerca de duas horas antes da preia-mar, desencadeando a saída de água até atingir metade da altura do tanque. Este processo é facilitado pelo relevo dos tanques cujo fundo apresenta um ligeiro declive no sentido da saída, exponenciando o escoamento de água para o exterior. Com vista a garantir que não é perdida mais água que o desejado, os tanques estão ainda equipados com um sistema de meias portas que apenas permite a saída de água dos tanques até à altura da meia porta. Não obstante, esta redução significativa de água ainda constitui um risco para a produção, exigindo a presença atenta do produtor, pronto a interromper o processo caso a segurança da produção esteja comprometida. Complementarmente, apesar do procedimento ter como finalidade a saída de água dos tanques, tem que simultaneamente garantir que os peixes não fogem. Para o efeito, os greiros (entrada e saída) dos tanques são compostos por uma grade de protecção, cuja verificação anterior às renovações de água é essencial de modo a garantir que estas não possuem danos na rede e que o *fouling* não é impeditivo da normal circulação de água. Este último ponto é particularmente sensível já que a resistência à movimentação hídrica pode originar rupturas na rede e conseqüente fuga dos peixes. A lavagem das grades deve ser efectuada com a devida periodicidade de forma a reduzir este risco.



Fig. 8. a) Grade de protecção com biofouling. b) Porta de entrada/saída de um tanque.

Ainda que a altura das marés seja o factor principal na renovação de água, o produtor deve ainda ter em conta um conjunto de factores relevantes, não raras vezes restritivos, deste processo. Muito característica da região do baixo Mondego, a cultura de arroz encontra-se presente em grande escala nos campos a montante do estuário, influenciando significativamente a qualidade das suas águas. Por conseguinte, deve existir uma coordenação entre a renovação de água e a libertação de efluentes proveniente dos campos de arroz, especialmente quando estes contêm pesticidas, devendo o produtor não proceder a renovações de água no decorrer deste período. Com igual importância na qualidade da água do estuário, as descargas das barragens a montante do estuário são outro factor a ter em consideração. Normalmente associadas a períodos de chuva intensa, as descargas das barragens tendem a diminuir acentuadamente a salinidade do estuário inviabilizando por isso a renovação de água na produção. Assim, o produtor deve evitar renovar os tanques durante esses eventos. O aparecimento de blooms de microalgas, nomeadamente tóxicas, é outra das ocorrências, ainda que rara, restritiva da renovação de água nos tanques. Para o efeito, o produtor, no intervalo anterior à renovação dos tanques, deve consultar o site do Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA) (<https://www.ipma.pt/pt/bivalves/index.jsp>) para se informar quanto à existência de algum evento na zona que possa comprometer a segurança do processo. Por fim, apesar de as restrições à renovação de água resultarem por norma de ocorrências extraordinárias, o produtor deve sempre medir os parâmetros de qualidade da água do estuário anteriormente à renovação. Este processo é importante para despistar renovações com água cuja baixa qualidade (com os parâmetros fora dos valores óptimos e com características químicas ou físicas anormais) não tivesse *a priori* sido detectada.

Para fazer face às restrições de renovações de água e ao intervalo temporal existente entre estas, a exploração está equipada com dois reservatórios de água que permitem, por via de um sistema de bombagem de água, ir adicionando nova água ao sistema mediante as necessidades da produção. Não obstante, este método possui um elevado custo energético, conjuntamente com uma reduzida capacidade de acrescentar volumes significativos de água pelo que é uma opção que deve merecer alguma ponderação do produtor antes de ser utilizada.

3.8-Registos diários

Englobado no conjunto de rotinas diárias, os registos da produção são uma das tarefas mais importantes na gestão económico-productiva da exploração. Nas pisciculturas do Torrão e Vale da Vinha são recolhidos diariamente dados referentes aos parâmetros de oxigénio dissolvido e temperatura da água por tanque, aos óbitos por espécie e tanque, e às denominações, lotes e quantidade da ração fornecida. O levantamento dos lotes para cada unidade de ração ocorre por razões de biossegurança e para efeitos remuneratórios (possíveis indemnizações).

A recolha adequada dos dados permite ao aquacultor um maior autocontrolo de toda a cadeia produtiva e da exploração *per si*. De facto, a recolha de dados possibilita a execução de análises matemáticas de onde podem ser calculados os índices de conversão alimentar para diferentes variáveis (ex: tanques; lotes de peixe; maternidades; rações fornecidas; parâmetros de qualidade da água, etc ...), as taxas de crescimento (em função do tempo), as taxas de mortalidades, custos de produção, entre outros. Estes dados são igualmente fundamentais para a rastreabilidade do pescado, para as inspecções periódicas realizadas pelas entidades estatais (ex: Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), Direcção Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos (DGRM), Programa Operacional MAR2020, entre outros), para a elaboração do relatório de contas anual da produção, e para a contratualização de apólices de seguros aquícolas e respectivas indemnizações mediante ocorrência de sinistros abrangidos pelo seguro.

3.9-Mortalidades

Como anteriormente mencionado, a recolha das mortalidades é feita diariamente, procurando-se reduzir ao máximo a exposição dos peixes às carcaças dos óbitos. Regra geral, as carcaças começam por afundar nos tanques onde por acção de microorganismos iniciam seu

o processo de decomposição (Parmenter et al., 1991). Este processo desencadeia a produção de gás no interior da carcaça que, reduz a sua densidade, levando-a a flutuar até à superfície da coluna de água (Parmenter et al., 1991) após um período de algumas horas até um dia. Para a recolha das carcaças são utilizados camaroeiros que são partilhados pela totalidade dos tanques. Em caso de ocorrência de surtos patológicos são designados camaroeiros específicos para o(s) tanque(s) afectados não havendo lugar à partilha dos equipamentos de tanques infectados com os tanques não-infectados. Por fim, as carcaças dos óbitos são aglomeradas num espaço comum onde serão posteriormente encaminhadas para empresas especializadas no tratamento de resíduos provenientes de explorações animais. Para as explorações desta empresa este serviço é assegurado pela empresa SUMA - Serviços Urbanos e Meio Ambiente.

3.10-Transferências de exemplares

Ainda que seja um processo a evitar no regime de produção em esteiro, ocasionalmente surge a necessidade de realizar transferências de peixes entre tanques. Esta operação é particularmente agressiva para os peixes e pode causar um número significativo de mortes e ferimentos, pelo que deve ser executada apenas quando a sobrevivência dos peixes se encontre comprometida.

O processo consiste numa a várias pescas de cerco, com os exemplares a serem posteriormente transferidos directamente por um tubo para o destino final, quando a distância é curta, ou transferidos para uma tina com oxigenadores e posteriormente transportados para o novo tanque, quando a distância é superior.

Este processo exige do aquacultor alguma sensibilidade e experiência pois, se por um lado a obrigatoriedade de baixos níveis de mortes e lesões obriga a reduzir o número de peixes capturados por lance, por outro lado, os riscos de prolongamento do stresse obrigam o aquacultor a reduzir ao máximo o número de lances executados. Desta feita, a sensibilidade e experiência do produtor constituem factores importantes para a conciliação entre estes dois constrangimentos.



Fig. 9. a) Tubo de transferência de peixes. b) Descarregamento de peixes de uma tina para o tanque.

Noutro plano, e considerando o grau de exposição a stresse e lesões, é não só fundamental assegurar que os tanques alvo de transferência se encontram com condições sanitárias e parâmetros de qualidade da água adequados, como ainda que os tanques de origem apresentam um estado propício. Este ponto é importante já que os exemplares não capturados são igualmente expostos a níveis elevados de stresse e a sua vulnerabilidade a agentes patogénicos tende a aumentar. Para o efeito, o produtor deve procurar realizar estas operações após renovações de água e, complementarmente, evitar a alimentação dos peixes dois a três dias anteriores ao evento.

3.11-Pesca, abate e processamento

Terminado o ciclo produtivo, entramos na fase conclusiva de uma qualquer exploração animal: a comercialização do bem produzido e a obtenção de lucros provenientes dessa mesma operação. Para o efeito, o aquacultor necessita de recolher (pescar) a produção e disponibilizá-la aos seus clientes sob a forma acordada entre ambos (vivo ou pós abate, processado ou não processado).

Para a preparação adequada da jornada de pesca, importantes medidas preventivas devem ser levadas em consideração para assegurar a qualidade do produto aquícola. Destas, especial destaque vai para a aplicação de um jejum precedente de dois (Verão) a três (Inverno) dias, que visa assegurar a ausência de odores e sabores desagradáveis (associados à digestão), a ausência de operações de maneo significativas e, ainda a execução de qualquer outro evento susceptível de criar stresse na produção, sob risco de acelerar a deterioração pós-abate do pescado.

Nesta exploração, a generalidade dos dias de pesca realiza-se à segundas-feira, pelo que o jejum

é iniciado no sábado precedente na fase de verão ou sexta-feira durante o Inverno. Embora as duas possibilidades expostas sejam viáveis, as operações de pesca são geralmente escalonadas nos meses mais frios do ano (Setembro a Abril), obrigando a um jejum de três dias. Nos fundamentos desta decisão, encontram-se duas razões primordiais, a redução de exposição dos exemplares não abatidos a agentes patogénicos, normalmente menos relevantes nos meses frios, e o aproveitamento dos meses quentes para potencialização do tamanho corporal dos exemplares e respectiva valorização económica por Kg.

Concluído o jejum, procede-se à pesca segundo a técnica de cerco com rede de pesca. Este método configura-se como uma das opções válidas para aquaculturas de menor dimensão visto que não requer do produtor um grande volume de capital para a execução do mesmo. Não obstante, este método apresenta um conjunto de desvantagens das quais o produtor deve estar consciente, nomeadamente, a longevidade temporal da operação, factor que reduz a conservação da qualidade óptima do pescado (ao desencadear stress e respectiva redução das reservas lipídicas do peixe) e a indução de lesões que tanto interditam ou desvalorizam a venda do pescado como propiciam lesões/morte a muitos dos exemplares não abatidos ainda que, como anteriormente mencionado, a execução da pesca em meses mais frios tenda a mitigar o risco de mortalidade.

O peixe capturado é alvo de uma primeira selecção onde são escolhidos os exemplares que apresentam tamanho comercial e rejeitados os que não o apresentam e que, como tal, têm que ser devolvidos à produção para completarem o seu crescimento. Após esta selecção, os exemplares seleccionados são abatidos por choque térmico em tinas com água e gelo, assegurando-se, desta feita, o mínimo de sofrimento possível aos exemplares e as condições óptimas de preservação. O processo é posteriormente finalizado numa sala de embalagem onde decorre uma selecção final, de onde se excluem exemplares impróprios e se categorizam os restantes (200 a 300 g; 300 a 400 g; 400 a 600g e 600 a 800g), seguindo-se a preservação em caixas de esferovite, cobertos com uma película e gelo, formato no qual são disponibilizados ao cliente. Cada uma destas unidades apresenta um valor aproximado de 6 Kg de pescado. Com vista a assegurar as condições sanitárias adequadas para a próxima pesca, findado o processo, a sala de embalagem e respectivos equipamentos são alvo de limpeza e desinfeção.



Fig. 10. a) Recolha do pescado das redes de pesca. b) Selecção do pescado pós pesca.

Para concluir este tópico, é ainda de particular interesse destacar que a pesca integral de um tanque requer várias jornadas (dias) de pesca. Após esta etapa, é iniciada a preparação do(s) tanque(s) para acolher um novo stock. Para o efeito, os tanques são alvo de um vazio sanitário que permite a eliminação eficiente de agentes patogénicos e a reoxigenação do fundo do tanque. Todavia, este método requer um intervalo temporal nunca inferior a um mês, o que se revela, por vezes, uma condicionante impeditiva da sua execução em aquaculturas de menor dimensão onde a urgência de receitas é uma constante.

3.12-Patologia

3.12.1-Procedimentos de actuação mediante ocorrência de surtos patológicos

Ainda que idealmente o aparecimento de surtos patológicos deva ser um factor a mitigar/eliminar, a sua total erradicação de um sistema produtivo não vai além de uma mera utopia. De facto, em algum momento o produtor irá ser confrontado com a aparição de surtos patológicos em que, não raras vezes, a eficácia da resposta irá determinar a diferença entre uma produção capaz de gerar lucro e uma produção condenada à falência.

Em linhas gerais, a resposta a um surto patológico define-se em três linhas mestres:

1. Detecção do surto
2. Identificação dos agentes patogénicos
3. Medidas e tratamentos terapêuticos

A detecção do surto patológico principia a resposta, assumindo um papel primordial para o

sucesso dos tratamentos a serem adoptados. Esta deve ocorrer de forma precoce, permitindo ao produtor iniciar a implementação de tratamentos terapêuticos o mais atempadamente possível e com o mínimo de ocorrências de mortalidade. Ainda que uma identificação mais específica dos agentes patogénicos requeira a utilização de métodos e técnicas laboratoriais assim como de profissionais especializados para a execução das mesmas, a detecção não específica de surtos patológicos pode ser realizada no terreno e sem grandes conhecimentos científicos aprofundados. De uma forma abstracta, os principais sinais clínicos associáveis à ocorrência de um surto patológico são o jejum, natação errática, raspagem contra objectos, permanência excessiva junto aos fornecedores de oxigénio, letargia, permanência junto à superfície, escurecimento, úlceras e hemorragias (FAO. http://www.fao.org/fishery/static/FAO_Training/FAO_Training/General/x6709e/x6709e15.htm).

Detectada a presença de um surto patológico, o procedimento seguinte envolve a identificação dos factores causais, regra geral agentes patogénicos. Para o efeito, considerando a reduzida escala das aquaculturas nacionais, o produtor tende a recorrer a serviços laboratoriais externos para proceder à identificação dos agentes patogénicos. Não raras vezes, e considerando limitações financeiras das aquaculturas portuguesas, este serviço tende a ser fornecido de forma gratuita aos produtores pelas empresas que asseguram o fornecimento de ração, de que é exemplo a Skretting.

Especificando as ferramentas utilizadas para a identificação, estas incluem técnicas immunoassay e métodos de diagnóstico de DNA. Destas ferramentas, a mais utilizada corresponde à *enzyme-linked immunosorbent assays* (ELISA). Este método consiste na fixação do antígeno a analisar a um substrato sólido (regra geral, poços de uma microplaca), ao qual é adicionado numa segunda fase um anticorpo ligado a um marcador enzimático. Posteriormente, o substrato sólido é lavado e é analisada a presença do marcador enzimático. Mediante a presença do marcador enzimático confirma-se a presença do antígeno específico para o anticorpo utilizado (ThermoFisher, <https://www.thermofisher.com/us/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>). Ainda que menos comuns, as técnicas *fluorescent antibody tests* (FAT), *radioimmunoassay* (RIA), *in situ hybridization* (ISH), *dot blot hybridization* (DBH) and *polymerase chain reaction amplification techniques* (PCR) são igualmente utilizadas para a identificação de agentes patogénicos.

Estas técnicas moleculares (*immunoassays* e *nucleic-acid assays*) providenciam resultados

rápidos, com elevada sensibilidade e especificidade, a preços relativamente acessíveis, sendo igualmente válidos para infecções difíceis de detectar (ex: infecções sub-clínicas), fazendo uso de métodos histológicos *standart* e procedimentos de cultura de tecidos. Adicionalmente, estas ferramentas apresentam ainda a vantagem de permitirem a identificação de forma não letal (Subasinghe, 2009).

Identificados os agentes patogénicos promotores do surto patológico, o passo seguinte passa por determinar os tratamentos a adoptar para proceder à erradicação do surto. Muito embora esta fase apareça como a última do processo, será importante destacar que na sequência da detecção de um surto e durante o intervalo em que se sucede a identificação do agente, o produtor deve adoptar um conjunto de medidas destinadas à redução da propagação e das mortalidades. Assim, o produtor deve começar por avaliar todos os parâmetros da água o mais rapidamente possível, sendo que, sempre que exequível, se deve proceder à renovação de água quando os parâmetros não se encontram em valores aceitáveis. Esta fase é particularmente importante para mitigar ao máximo eventos stressantes na cultura, mas também para despistar eventuais falsos alarmes patológicos, por vezes confundidos com stress induzido por alterações bruscas de parâmetros da água.

Confirmando-se a existência de um surto e assegurados os procedimentos necessários para normalizar os parâmetros do meio, uma das primeiras medidas que o produtor deve adoptar é a recolha permanente dos óbitos existentes nos tanques afectados. Seguidamente o produtor deve ainda optar pela redução ao máximo de toda e qualquer actividade que envolva o manuseio dos tanques afectados e que possa induzir ocorrências stressantes. O aquacultor deve ainda analisar com detalhes as seguintes tomas alimentares, suspendendo-as caso verifique que os animais deixam de exibir um comportamento voraz durante a alimentação. Este passo é particularmente importante para evitar uma redução dos ratios de eficiência alimentar (ex: FCR) e, ainda, porque evita que a ração não consumida contribua para a degradação da qualidade da água.

Não obstante, como anteriormente mencionado, estas medidas constituem os passos generalistas a adoptar após a detecção de um surto. Naturalmente, com a identificação do agente patogénico, o produtor adquire uma maior margem para adoptar um conjunto de medidas mais específicas. Dentro das medidas mais utilizadas na produção aquícola, surgem os tratamentos químicos que podemos agrupar em três grupos principais de métodos de administração:

1. Banho
2. Administração oral
3. Injecção

Principiando pela administração por banho e com base em Ruth (1996), este tipo de tratamento é especialmente eficaz para tratar infecções parasíticas na pele e nas brânquias e pouco recomendado para o tratamento de infecções internas. Para este tipo de tratamento, deve ser prestada atenção redobrada à concentração do químico a ser utilizado, assim como à duração da exposição.

Dentro da administração via banho, existem três subtipos de tratamento. O primeiro, imersão, consiste, como o nome indica, na imersão num banho químico concentrado durante um período curto de tempo, normalmente inferior a um minuto. De realçar que exposições prolongadas a químicos concentrados, assim como administrações inapropriadas dos químicos, podem resultar na morte dos animais. Dado o risco associado a este método e o grau elevado de stresse que induz nos indivíduos, este tende a ser evitado pelos produtores. Como exceção à regra, surge a imersão dos exemplares de água salgada em água doce, ou o inverso, por alguns segundos. Esta técnica é especialmente eficaz para a remoção de alguns ectoparasitas aquícolas, nomeadamente branquiais (ex: *Caligus minimus*), que são bastante sensíveis a alterações bruscas de salinidade.

Num outro plano, a administração pode ocorrer ainda segundo um regime de um banho curto, onde o peixe é exposto a um tratamento químico de concentração moderada durante um período que pode variar entre meia hora a várias horas. Este é um excelente método para administrar diversas medicações quer em aquários, tanques ou em *race-ways*. A duração da exposição deve ser consoante o químico a utilizar, a sua concentração e as instalações do cultivo. Em muitos casos, o fluxo de água e a filtração são desligados para evitar a rápida diluição do químico e, ainda, o contacto do químico com as bactérias do bio-filtro. Não obstante, em caso destes últimos serem “desligados”, o produtor deve proceder a uma monitorização apertada da qualidade da água, sob risco de deterioração da qualidade da água.

Por último, a administração pode ser ainda executada por intermédio de um banho prolongado, sendo este o único método por banho aplicável em tanques de grande dimensão. Neste caso, pequenas concentrações de químicos são aplicadas e deixadas na água de forma permanente, onde irão eventualmente decompor-se ou desaparecer. Dada as baixas concentrações aplicadas,

este acaba por ser, não raras vezes, o método menos dispendioso e mais seguro de aplicar um banho químico. Ainda assim, este não deve ser aplicado em sistemas de volumes mais pequenos pois a interrupção da filtração e do fluxo de água por períodos extensos degrada exponencialmente a qualidade da água.

Para concluir, como já mencionado anteriormente, este método exige uma monitorização minuciosa do produtor, uma vez que a diferença entre uma concentração que resulte numa aplicação eficaz e uma concentração que resulte em óbito é frequentemente curta, com especial foco para o sulfato de cobre. Assim, caso sejam detectados sinais de stress durante o tratamento, este deve ser imediatamente interrompido e os peixes colocados em água limpa. Não obstante, quando o banho se realiza em tanques de grandes dimensões, a eliminação do químico não é realizável, pelo que os banhos prolongados exigem uma redobra extra do produtor, nomeadamente no cálculo das concentrações, que devem ser realizadas por duas pessoas de forma independente, diminuindo a probabilidade de ocorrência de erros de cálculo.

Chemical	Approved Species	Approved Use	Efficacy	Concentration/Duration		
				Dip	Short-Term Bath	Prolonged Bath
Copper Sulfate	None Specified	Algicide	External Parasites	500 mg/L	4 ml/L	Total Alkalinity divided by 100%
Formalin ²	Trout Salmon Catfish Largemouth Bass Bluegill	Parasiticide	External Parasites	400 mg/L	250 mg/L 30-60min.	15-25 mg/L
Potassium Permanganate	None Specified	Oxidizer Detoxifier	External Bacteria Fungus Parasites	1000 mg/L	20 mg/L 1 hour	2mg/L
Salt	None Specified	Osmoregulatory Enhancer	External Parasites	3% (30,000 mg/L) 1 min	1% (10,000 mg/L) 1 hour	.02% (200mg/L)

1. Schnick, R.A., Meyer, F.P., Gray, D.L., 1989. A Guide to Approved Chemicals in Fish Production and Fishery Resource Management. University of Arkansas Cooperative Extension Service. Little Rock, AR 27pp.
2. Approved products are: Formalin - F (Natchez Animal Supply Company, Natchez, MS) Paracide - F (Argent Chemical Laboratories, Redmond, WA)

Fig. 11. Lista de químicos passíveis de utilização em tratamentos por imersão, banho curto e banho prolongado.

Outro dos métodos usados recorrentemente pelos produtores é a administração por via oral, neste caso, a medicação é adicionada à ração. Neste tipo de administração, a medicação é frequentemente adquirida com a adição prévia na ração, quer em formato de pellets submergíveis ou flutuantes (Rodgers et al., 2009). Não obstante, e ainda que pouco frequente, a medicação pode igualmente ser misturada posteriormente pelo produtor.

A incorporação prévia do antibiótico na ração é normalmente realizada por via de uma pré-mistura (*premix*) em pó conjugada com um aglutinante como a gelatina (até 5%) ou um óleo

de peixe ou vegetal (Rodgers et al., 2009). No entanto, a medicação pode igualmente ser introduzida no final do processo de formação de pellets, após a granulação ou extrusão. Já para os casos em que a incorporação é realizada posteriormente na exploração, por norma, esta é efectuada numa misturadora de concreto, onde é colocada primeiramente a ração e ulteriormente é derramada a medicação, seguindo-se uma mistura meticulosa. É então adicionado um aglutinante, sendo que para o efeito são usados, regra geral, um óleo de peixe ou vegetal. Uma das mais importantes considerações a ter neste processo é que a medicação e a ração devem ser misturadas minuciosamente para uma distribuição e cobertura homogénea da droga nos pellets. Para o caso dos *premix*, uma mistura adequada deve assegurar todas as propriedades mencionadas na Fig. 11 (Daniel, 2009).

Parameter	Quality	Comments
Physical	Elegant product, free-flowing and dust free Good physical stability. No segregation during shipping / vibration Non-hygroscopic, non-electrostatic	Easy to measure; low exposure to workers
Chemical	Good stability of active ingredient in both premix and medicated feed Homogeneity of active ingredient in premix and medicated feed	Compatibility of drug with excipients in the premix and ingredients of the feed
Efficacy	Good bioavailability and general efficacy	
Environment	Environmentally friendly. Rapid degradation in aquatic systems, short half-life in water and sediments	Low impact on non-target organisms in aquatic environment
Economic	Economic to manufacture	

Fig. 12. Propriedades de um *premix* de elevada qualidade.

A dosagem requerida para um tratamento com ração medicada depende do antibiótico a utilizar e é normalmente expressa em gramas por 100 kg de peixe/dia. Para a determinação da dosagem exacta o produtor deve basear-se no número e peso médio dos peixes a tratar assim como na taxa alimentar diária. Já no referente à duração da aplicação do tratamento este deve ser determinado em função das especificidades da doença a tratar e as indicações do médico veterinário. Posteriormente ao tratamento, o produtor deve ter igualmente em atenção que os exemplares mantêm no organismo, por um período de tempo, os metabólicos do medicamento administrado pelo que não devem ser pescados para venda até que um determinado período de eliminação tenha decorrido. Adicionalmente, para a correcta conservação do medicamento, este deve ser armazenado em condições adequadas, nomeadamente num lugar fresco e seco, e separado das outras rações, para evitar deterioração da qualidade da ração e eficiência da droga (Rodgers et al., 2009).

Como grandes vantagens deste método, podemos destacar o seu preço reduzido, visto que

reduz o desperdício de medicamento quando comparado com outros métodos, a reduzida exposição do cultivo a stresse e a sua flexibilidade de aplicação, considerando que pode ser aplicado em todos os tipos de cultivo e em praticamente todas as fases do ciclo de vida dos diferentes cultivos (todas as que se alimentam de ração). No entanto, este método apresenta também um conjunto significativo de desvantagens de onde podemos incluir a desigualdade de exposição ao tratamento dos diferentes indivíduos do cultivo (os elementos dominantes alimentam-se em maior quantidade que os submissos), o reduzido apetite dos indivíduos doentes, a exposição do medicamento à digestão e a transformação em metabólicos inactivos que reduzem a eficiência do tratamento. Para fazer face a estas adversidades em muitas aquaculturas, os produtores realizam amostras no início do tratamento para verificar se a medicação está a ser incorporada pelos peixes e em que quantidades (Rodgers et al., 2009). Não obstante, os constrangimentos significativos associados a estas limitações fazem com que ao dia de hoje este método de aplicação seja preferencialmente visto como uma ferramenta preventiva para períodos em que a alimentação dos peixes não se encontra condicionada (Daniel, 2009). Noutro plano, este método de administração tem ainda como desvantagens a reduzida variedade de medicamentos disponíveis para tratamento por via oral e a menor eficiência destes em água salgada. Esta circunstância advém da formação de compostos com os catiões divalentes de cálcio e magnésio e deve ser tida em consideração, aquando da determinação da dosagem a aplicar no tratamento (Daniel, 2009 & Rodgers et al., 2009).

Por fim, o último método possível é a administração por injeção. Embora inicialmente este método tenha causado algumas reticências nos produtores uma vez que o manuseio e a injeção podem desencadear elevadas mortalidades, esta técnica tem vindo a ganhar popularidade no mundo aquícola com o aparecimento de anestésicos e o desenvolvimento de técnicas adequadas de manuseio que permitem, quando bem aplicadas, reduzir significativamente as taxas de mortalidade pós-injeção.

A aplicação pode ocorrer segundo duas técnicas principais de administração: intraperitoneal e intramuscular. Em ambos os casos, a agulha deve ter o diâmetro adequado para reduzir ao máximo eventuais lesões e deve ser aplicada num ângulo apropriado para evitar danificar os órgãos internos. As injeções intraperitoneais são o método de injeção mais utilizado. O local de aplicação é a base da barbatana pélvica ou o ânus e é administrada segundo um ângulo de 45^a com a superfície ventral, alinhando a agulha ao longo do eixo do corpo para evitar os órgãos internos (Bowker et al., 2014). Neste método, os peixes devem possuir um peso mínimo de 35 g e devem ser expostos a um período de jejum nas 24 h anteriores à administração. Injeções mal aplicadas podem resultar em adesão peritoneal, problemas na ovulação, mortalidades,

eficiência reduzida, efeitos colaterais e carcaças de reduzida qualidade (Sekkin et al., 2011). Por sua vez, as injeções intramusculares são tipicamente administradas na musculatura dorsal a uma profundidade de 0,5-1,0 cm com a agulha numa posição de 45° em relação ao lado do corpo onde é inserida a agulha (Bowker, 2014). Nesta técnica, os exemplares devem ter pelo menos 13 cm ou, em alternativa, um peso superior a 15 g e apenas se devem injectar pequenas quantidades (0,05/50 g de peixe). A injeção deve ser aplicada lentamente. Esta técnica apresenta como desvantagens a indução de danos na qualidade da carcaça e a potencial formação de abscessos estéreis (Noga, 2010). Para ambas as técnicas, o volume de injeção é calculado com base no peso do peixe a ser tratado, na dose recomendada e na concentração do químico (Sekkin et al., 2011).

$$\text{Volume requerido} = \frac{\text{dose recomendada (mg/kg)} \times \text{peso do peixe (kg)}}{\text{Concentração da solução (mg/ml)}}$$

Por último, no referente às vantagens maiores da administração por injeção, podemos destacar a acuidade das dosagens aplicadas nos exemplares, a garantia de aplicação a todos os elementos alvo e a maior duração da proteção fornecida pelo medicamento. Ao invés, como desvantagens principais, além das já abordadas anteriormente, a exigência laboral do processo e o elevado custo associados às mesmas, impedindo a sua aplicação em grande escala, com especial foco na realidade nacional. Desta feita, regra geral este método é apenas utilizado para peixes com elevado valor financeiro, como peixes ornamentais ou reprodutores (Sekkin et al., 2011).

3.12.2- Enfermidades e agentes patogénicos

Apesar da baixa densidade de cultivo associada ao regime adoptado pela exploração, verificou-se a ocorrência de diferentes surtos de agentes patogénicos durante o decorrer do período de estágio. Estes agentes, em conjunto com as quebras de oxigénio dissolvido, foram o principal foco de origem das mortalidades ocorridas, constituindo um factor importante na sustentabilidade financeira da empresa.

Neste âmbito, o desenvolvimento de planos profiláticos e medidas terapêuticas que permitam mitigar ao máximo o aparecimento destes agentes patogénicos e respectivos prejuízos é de

fundamental importância. Para o efeito, é esperado do produtor um conhecimento profundo dos agentes patogénicos característicos da exploração alvo, com a compreensão da morfologia, do ciclo de vida, das fases infestantes e locais de infecção preferenciais a se revelar fundamental para a correcta elaboração e aplicação de protocolos e medidas a implementar.

Com o presente tópico pretendeu-se, assim, destacar os agentes patogénicos que pela sua prevalência, incidência e impacto económico, assumiram maior relevância na exploração, durante o período de estágio, tendo exigido do educando o aprofundar dos seus conhecimentos para uma melhor execução das suas funções.

3.12.2.1-Síndrome de Inverno

O termo “Síndrome de Inverno” tem sido descrito como uma condição de etiologia desconhecida característica das épocas de temperaturas mais baixas e que não se encontra inicialmente associado a nenhum agente patogénico específico (Ibarz et al., 2010).

Esta síndrome apresenta uma maior incidência em regiões onde a temperatura da água decresce abaixo do 15°C durante períodos prolongados, tendo sido descrita pela primeira vez, em 1994, na Itália (Bovo et al., 1995) e ao longo das décadas subsequentes em diversos outros países como Espanha, Croácia, Portugal e Grécia (Bovo et al., 1995; Le Breton, 1996; Bilei et al., 1996; Doimi, 1996; Bossu et al., 1997; Galeotti et al., 1999; Tort et al., 1998a; Gallardo et al., 2003). Este problema parece ser específico da dourada, uma vez que espécies como o robalo (*Dicentrarchus labrax*) e a corvina (*Argyrosomus regius*), frequentemente produzidas nas mesmas instalações, não parecem ser afectadas. Por fim, esta síndrome apresenta uma maior incidência nos exemplares de dourada entre as 100g e 400g (Ibarz et al., 2010).

Actualmente, estão descritas duas fases deste síndrome. A primeira, usualmente mencionada como “first winter” (primeiro inverno), manifesta-se como uma mortalidade crónica (até 5% da produção) e ocorre de Dezembro até Fevereiro/Março, especialmente a temperaturas inferiores a 12°C. A segunda, nomeada “second winter” (segundo inverno) está, por norma, associada à presença de infecções por *Pseudomonas anguilliseptica*, manifestando-se na forma de surtos de mortalidade aguda, entre Março e Abril, quando as temperaturas se encontram entre os 15 e 17°C (Ibarz et al., 2010).

Os sintomas da Síndrome de Inverno são caracterizados pela letargia, ausência de reacção a estímulos externos e comportamento errático, com os indivíduos, regra geral, a isolar-se do

grupo e a nadarem lateralmente. Ocasionalmente, é possível observar um padrão externo de pigmentação nos juvenis, com escurecimento da pele e aparecimento de bandas verticais. Nas necropsias de exemplares afectados, as principais lesões observáveis são um fígado pálido e friável, algumas vezes hemorrágico, e um trato intestinal distendido e preenchido por um fluído claro, com conteúdo mucoso branco no lúmen. Adicionalmente, é também possível verificar que os principais órgãos afectados, para além do fígado e intestino, são o pâncreas, cérebro e músculo (Ibarz et al., 2010).



Fig. 13. Dourada afectada pela síndrome de inverno e com fígado amarelo e dilatado (setas).

Como já referido, o factor primário do desencadeamento desta patologia, designadamente da fase primária, é a diminuição da temperatura para valores inferiores a 12°C. Consequentemente à referida quebra térmica, manifestam-se três efeitos principais: stresse térmico agudo, jejum ou baixa alimentação e depressão metabólica. Embora o stresse térmico seja uma condição transitória (24-48 h), este desencadeia uma libertação de cortisol (Donaldson et al., 2008) que induz, conjuntamente com o jejum e a diminuição da capacidade de digestão e de absorção proteica (devida às alterações/degenerações no trato digestivo), a mobilização de reservas energéticas, resultando, por sua vez, numa mobilização lipídica aguda (Ibarz et al., 2010). Simultaneamente, da quebra térmica, resulta igualmente o comprometimento do equilíbrio iónico plasmático resultante da alteração do epitélio branquial (redução quer do número total de células de cloreto quer dos seus microvilli da membrana apical), a redução drástica da actividade Na^+/K^+ ATPase das brânquias, fígado e intestino nos primeiros dias de frio, assim como a redução da digestão proteica e absorção.

Das alterações no equilíbrio iónico e embora o organismo tenha tendência a reduzi-las, vão

desencadear-se importantes consequências já que os iões estão envolvidos em diversos processos metabólicos e funcionam igualmente como co-enzimas. Por fim, derivam também do jejum, alterações como a mobilização glicogenica hepática, a degeneração da membrana digestiva e a exportação de aminoácidos do músculo (Ibarz et al., 2010).

Da excessiva e rápida mobilização de lípidos para o fígado, resulta uma acumulação excedente destes no órgão, desencadeando o aparecimento do fígado pálido e friável (Ibarz et al., 2010). Com efeito, a acumulação lipídica hepática vai desencadear efeitos secundários no organismo, de que são exemplos a alteração da composição do plasma sanguíneo e da síntese de componentes imunitários (Ibarz et al., 2010).

Todas estas alterações fisiológicas levam os indivíduos a desenvolverem uma condição doentia. Destas alterações, destacam-se quatro efeitos principais no organismo e que, em conjunto, são responsáveis pelo estabelecimento da condição (Ibarz et al., 2010):

1) Imunodepressão. Esta surge como corolário da supressão da actividade do complemento do sêrum, da aglutinação dos eritrócitos, da actividade lisozímica, do número de linfócitos, da produção de radicais de oxigénio pelos macrófagos e, ainda, das respostas imunes não-específicas, como a actividade hemolítica, a produção de aniões superóxidos (O_2^-) e a “*respiratory burst*” extracelular,.

2) Colapso metabólico, resultante das falhas no fígado.

3) Disfunções digestivas que irão alterar a capacidade para recuperar a normal ingestão.

4) Degeneração muscular.

Da imunossupressão, resulta a exposição dos organismos a agentes patogénicos oportunistas, principalmente *Pseudomonas anguilliseptica*, mas também algumas *Aeromonas sp.*, enterobacterias não específicas e viroses, iniciando-se, desta feita, a fase secundária da Síndrome de Inverno. *Pseudomonas anguilliseptica*, originalmente descrita na enguia japonesa (Wakabayashi & Egusa, 1972), induz lesões no cérebro tais como a meningite e gliose no tectum óptico (Ibarz et al., 2010), distensão abdominal e petéquias hemorrágicas na pele e nos órgãos internos (Toranzo et al., 2005). Ademais, vários estudos recentes vieram comprovar que, além dos sintomas anteriormente referidos, as infecções causadas por esta bactéria têm um papel fundamental nos surtos agudos de mortalidade que ocorrem na segunda fase da síndrome (Ibarz et al., 2010).

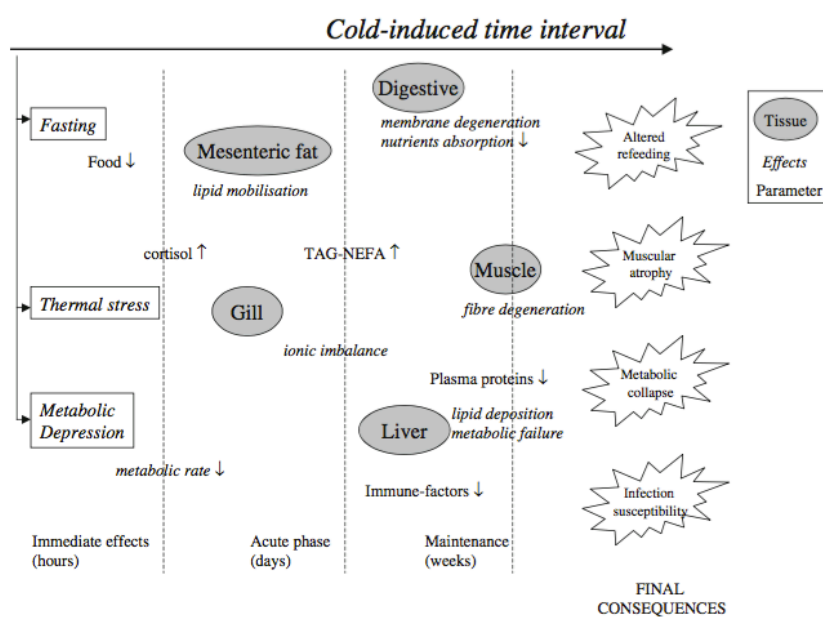


Fig. 14. Cronologia das principais alterações fisiológicas verificáveis na dourada durante a exposição ao desafio térmico.

Conhecidas as causas e sintomas associados à síndrome, será igualmente importante analisar quais as medidas a tomar para sua prevenção e, quando necessário, tratamento. Para o efeito, é de capital importância reconhecer e actuar sobre os factores bióticos e abióticos com relevância significativa durante o período de quebra de temperatura e que contribuem decisivamente para a imunodepressão e alterações metabólicas da produção. Estes factores, principalmente de stress, actuam conjuntamente com a quebra térmica e podem ser subdivididos em quatro grupos principais (Ibarz et al., 2010). 1) “Confinamento”. É um factor intrínseco da produção. Segundo estudos realizados por Sunyer & Tort (1995), Tort et al., (1996) e Rotllant et al., (2001) este actua como um factor stressante para as douradas, desencadeando alterações hormonais, nomeadamente a subida dos níveis de cortisol. Os efeitos deste factor dificilmente podem ser evitados dado que respostas comportamentais como a migração são impraticáveis, 2) Densidade de cultivo. É outro dos factores de stress relevantes, comprovando-se que elevadas densidades de cultivo em juvenis de dourada produzem uma situação de stress crónico que se reflecte num aumento do valor de cortisol em quatro vezes quando comparados com juvenis em densidades de cultivo baixos (Montero et al., 1999). Por conseguinte, aquando do povoamento do cultivo, a determinação das densidades de produção deve ter em consideração este período produtivo específico procurando evitar, ao máximo, picos de mortalidade elevados, 3) Maneio. Contribui para o aumento dos níveis de cortisol plasmático, abrasão das escamas e remoção da camada protectora de muco, além de poder também induzir uma

demanda metabólica curta mas intensa. Desta feita, todas as atividades de manejo da produção devem ser evitadas ao máximo e 4) Rações. Estas devem ser adequadas a este período específico do cultivo, compostas por matérias primas altamente digestíveis que aumentem a nutrição e o crescimento do peixe. Suplementarmente, será também importante adequar a técnica e o débito/taxa de alimentação à produção, procurando-se evitar competição e agressividade excessiva, factores que desencadeiam stresse no organismo. O intervalo temporal entre tomas alimentares é outro pormenore que deve também ser tido em conta aquando da escolha de uma estratégia alimentar (Ibarz et al., 2010).

No referente às rações existentes, estas podem ser categorizadas em três grupos distintos correspondentes aos diferentes períodos climáticos e fases da síndrome (Ibarz et al., 2010):

- 1) Pré-Frio: Quando as temperaturas começam a descer, os níveis da dieta devem ser ajustados em função da redução da temperatura e das necessidades energéticas da produção. Dietas ricas em energia devem ser evitadas e substituídas visto que resultam numa acumulação de depósitos lipídicos e subsequente atrofia do fígado. Assim, devem ser fornecidas dietas preventivas provisionadas com fontes altamente digestíveis, doses suplementares de vitaminas C e E, colina, inositol e, ainda, elementos como o selénio, que aumentam as respostas imunitárias dos indivíduos.
- 2) Frio: Durante o “período frio”, os objectivos de produção devem focar-se na manutenção do estado de saúde da produção ao invés do crescimento corporal. Nesta fase, é aconselhável que a dieta seja composta por produtos brutos e altamente digestíveis e por doses adequadas de diversas vitaminas e de macro e micronutrientes.
- 3) Pós-Frio: Período referente ao “segundo inverno”, onde ocorrem os grandes picos de mortalidade. Neste período, dois importantes factores devem ser considerados: efeitos do frio e o dano induzido pelo jejum prolongado. Assim, a alimentação deve ser reintroduzida de forma progressiva, independentemente das necessidades energéticas da produção. Isto significa que, embora o comportamento dos indivíduos sugira um aumento mais significativo da alimentação, o fornecimento de ração deve ser aumentado de forma gradual para assegurar uma recuperação interna adequada e prevenir possíveis falhas no processo digestivo.

Por fim, foram feitos alguns esforços iniciais no sentido de produzir vacinas contra alguns agentes patogénicos específicos como a *Pseudomonas anguilliseptica*. Não obstante, nenhuma obteve grande sucesso visto que além dos seus custos elevados, as mesmas enfrentaram ainda a adversidade de a síndrome não estar associada a um único agente patogénico (Ibarz et al.,

2010).

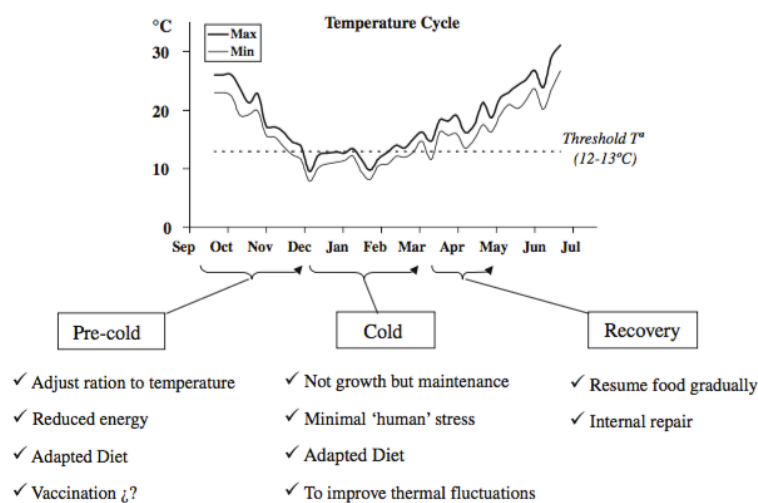


Fig. 15. Sugestão de medidas a adoptar ao longo dos meses do ano para fazer face ao desafio térmico num cultivo de dourada.

3.12.2.2-Lymphocystis

Considerada uma das infecções virais mais comuns no ramo da aquacultura, a *Lymphocystis* (LCD) é caracterizada pela hipertrofia das células fibroblásticas do tecido conjuntivo da derme do peixe afectado, proliferando-se, ocasionalmente, como um verdadeiro tumor epitelial (Borrego et al., 2017). Esta doença afecta uma enorme variedade de espécies de água doce, salobra ou salgada, tendo como principal hospedeiro nas produções aquícolas a dourada (*Sparus aurata*), com particular preponderância nos exemplares com peso entre as 2 a 10g (Patarnello et al., 2017). Foi reportada no século XIX (Wolf, 1988) tendo sido a sua etiologia demonstrada via microscopia electrónica por Walker em 1962 e o isolamento do vírus na linhagem celular BF-2 conseguido em 1962 por Wolf. Apesar desta doença raramente se demonstrar fatal, os peixes que evidenciem os sinais visíveis não podem ser comercializados, causando importantes perdas comerciais (Borrego et al., 2017). O agente etiológico é um vírus pertencente à família Iridoviridae, mais especificamente ao género *Lymphocystivirus* que inclui a espécie LCDV-1 (*Lymphocystis disease virus 1*), originalmente isolada do linguado europeu (*Platichthys flesus*) e da solha europeia (*Pleuronectes platessa*). Adicionalmente, outras três espécies foram isoladas deste género: LCDV-2, isolado da solha escura do mar norte (*Limanda limanda*) LCDV-C, isolada do linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*) e o LCDV-RF, isolado do peixe pedra preto *rockfish* (*Sebastes schlegelii*). O LCDV-1 e os restante vírus

relacionados são distinguidos pela especificidade do hospedeiro, pela histopatologia, pelo perfil proteico viral e pelas suas sequências virais (Borrego et al., 2017). Os *Lymphocystis disease virus* (LCDV) são grandes partículas virais icosaédricas que, dependendo da espécie hospedeira, podem variar em tamanho de 120 a 340nm de diâmetro (Borrego et al., 2017). O vírus consiste em uma cápsula bilaminar e um núcleo filamentososo, evidenciando uma simetria helicoidal (Borrego et al., 2017). O núcleo é envolto por uma estrutura membranosa que é claramente demonstrada em Borrego et al., 2017. Imagens obtidas por *Negative stain electron microscopy* (EM) de vírus em decomposição mostram que a camada exterior (composta por electrões lucentes) da capsula é composta por protuberâncias, possivelmente ligados à camada interior da capsula por uma franja de protrusões externas “fibril-like” com 2,5 nm de comprimento (Jancovich et al., 2012). Adicionalmente, o tratamento dos virões LCD com papaína antes da coloração relevou uma estrutura capsomérica em malha, presumivelmente porque a papaína remove a estrutura capsular externa (Samalecos, 1986).

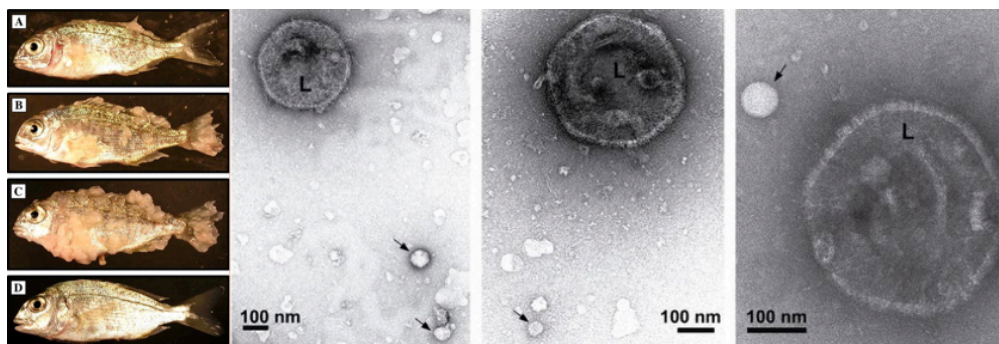


Fig. 16. a) Diferentes estadios de intensidade da *Lymphocystis* num exemplar juvenil de dourada. b) Micrografia electrónica de uma amostra semi-pura, corada negativamente, de linfócitos de dourada. Partículas LCDV-AS (L) e adicionais supostas partículas icosaédricas (setas).

Os viriões são lábeis quando expostos ao calor e podem ser inativados por éter, glicerol, 5-iododeoxiuridina e tratamento ultravioleta (Wolf, 1988; Iwamoto et al., 2002). Ciclos de congelação-descongelação a -20°C podem provocar uma diminuição da infectividade viral (Wolf, 1962). Em contraste, os virões demonstram estabilidade entre pH 6-9 e são resistentes a tratamento ultrasónico (Walker & Hill, 1980).

Relativamente à transmissão do vírus, esta ocorre através das brânquias e da pele do peixe por contacto directo ou por exposição a meios aquáticos infectados (Borrego et al., 2017). A traumatização da pele por via de maneo, parasitismo e comportamento agressivo ou acasalamento favorece a transmissão viral nos peixes (Borrego et al., 2017). Sheng et al., (2007) e Cano et al., (2009a) reportaram uma possível transmissão de LCDV por meio da

alimentação nas instalações aquícolas. Estes sugeriram ainda que os náuplios de artémia podem actuar como reservatórios de LCDV (Cano et al., 2009b). Posteriormente, estes autores demonstraram ainda dois mecanismos de transmissão LCDV para as larvas de dourada: transmissão vertical através dos ovos e transmissão horizontal via rotíferos LCDV positivos (Cano et al., 2013).

Nas instalações aquícolas, elevadas percentagens de populações de peixes podem ser afectadas pela LCD, evidenciando a facilidade com que a transmissão horizontal ocorre, chegando a atingir incidências até 70 % como foi descrito por Paperna et al., 1982; Sano 1988; Matsuoka 1995 e Xing et al., 2006. A prevalência de LCD é influenciada pela densidade do cultivo, manipulação humana, temperatura da água, condições reduzidas de oxigénio dissolvido, deficiências nutricionais e poluição química e biológica da água (Borrego et al., 2017). Hossain et al., (2009) demonstraram a importância da temperatura na persistência da LCDV nos tecidos da epiderme do linguado japonês, tendo ainda descoberto que as células linfocísticas aparecem na pele e barbatanas aproximadamente 35 dias depois de uma exposição a 20°C. Não obstante não tenham sido identificados sintomas clínicos nos peixes produzidos a 10 e 30°C, a presença de LCDV foi confirmada por PCR. Estes autores concluíram que, a temperaturas baixas, o LCDV é capaz de persistir por longos períodos na epiderme dos peixes, produzindo uma infecção subclínica.

As principais características da LCD são o aparecimento de pequenas lesões nodulares de cor creme nas brânquias e pele do peixe (Borrego et al., 2017). Cada nódulo consiste numa célula infectada com LCDV, de nome linfoquisto, com tamanho até 1mm de diâmetro (Borrego et al., 2017). Estas células hipertrofiadas podem ocorrer isoladamente ou agrupadas em cluster, assemelhando-se a um tumor. Estes agregados celulares exibem, por norma cor branca mas quando cobrem o tecido epitelial que é rico em cromatóforos, podem assumir uma cor acizentada ou escura (Borrego et al., 2017). Em peixes severamente infectados, os linfoquistos podem cobrir o corpo inteiro, espalhando-se das brânquias até às barbatanas (Borrego et al., 2017). Menos frequentemente, pode também ocorrer a infecção dos olhos, causando exoftalmia, e internamente dos mesentérios, peritoneu e vários outros órgãos internos (Borrego et al., 2017).

Apesar de raramente fatal, os exemplares infectados sofrem alguma mortalidade, que tende a ser causada pela anemia associada a esta doença (Borrego et al., 2017). Alguns indivíduos acabam igualmente por falecer como consequência de limitações na natação, respiração e alimentação que são severamente afectadas pelas grandes e pesadas partículas virais das células

infectadas (Borrego et al., 2017). Nas produções aquícolas, os surtos de LCD podem favorecer infecções bacterianas secundárias, canibalismo ou infestações parasitárias, contribuindo para o aumento das taxas de mortalidade (Borrego et al., 2017). Esta doença assume um carácter crónico que, dependendo do ambiente e hospedeiro, pode persistir por um período variável de tempo (Borrego et al., 2017). Assim, as lesões induzidas pela LCD podem ser evidentes durante um ano em peixes de águas frias, enquanto que nos peixes de água quente desaparecem após algumas semanas (Borrego et al., 2017).

Apesar de a evolução temporal do desenvolvimento e regressão da *Lymphocystis* ser ligeiramente diferente consoante a espécie do hospedeiro, quatro fases da doença podem ser identificadas (Borrego et al., 2017):

- 1) As células fibroblásticas infectadas interrompem a divisão e começam a aumentar de tamanho. Estas células apresentam citoplasma basofílico e núcleo e nucléolo proeminentes.
- 2) À medida que a célula alarga, torna-se evidente o cerco das inclusões citoplasmáticas por zonas claras “*halo-like*”. Por intermédio de microscopia electrónica confirma-se que estas áreas servem como fábricas virais (Spitzer et al., 1982).
- 3) Durante a maturação, tornam-se evidentes cápsulas hialinas que podem ser visualizadas por uma coloração hematoxilina-eosina. Nas dourada, a cápsula hialina é composta por sulfato- e carbóxilo-glicoproteínas.
- 4) Por último, a *Lymphocystis* atinge a fase degenerativa em que o núcleo e o nucléolo aparecem condensados e pouco definidos. As inclusões permanecem junto da periferia e a cápsula de hialina degenera. Células fagocíticas e macrófagos aparecem à volta dos linfoquistos, invadindo-os, por vezes. O colapso dos linfoquistos pode, por sua vez, causar uma infecção de novo nos fibroblastos adjacentes. Por fim, a disseminação do vírus parece só ocorrer após a lise dos linfoquistos.

Para terminar, dado à inexistência de vacinas e mecanismos de tratamento, a solução mais adequada para gerir esta doença é actuar ao nível da prevenção, mais especificamente com a realização periódica de medições de bio-segurança, o desenho de protocolos para exames do estado de saúde e a gestão dos potenciais factores stressantes (Patarnello et al., 2017). Adicionalmente, o aparecimento de métodos moleculares rápidos na detecção do vírus apresenta-se também como um importante contributo ao permitir às produções adquirir stocks não infectados.

3.12.2.3-Caligus minimus

3.12.2.3.1-Descrição geral

Pertencente à família Caligadae, a maior família da subclasse Copepoda, composta por mais de 450 espécies e 33 géneros, a espécie *Caligus minimus* encontra-se amplamente distribuída pelo Mar Mediterrânico, costas do Atlântico Este, águas britânicas e Mar do Norte, sendo um dos principais parasitas presentes nas explorações aquícolas mediterrânicas (nomeadamente França, Itália, Grécia e Turquia), com especial foco nas produções de perciformes, onde se inclui o robalo (*Dicentrarchus labrax*) (Tanrikul et al., 2012).

As principais lesões causadas por este parasita ocorrem na pele da região da cabeça, na cavidade bucal, no palato, na língua e na base dos arcos branquiais. O tegumento onde os parasitas se fixam tende a apresentar úlceras na epiderme e a derme inflama frequentemente como resultado da fixação e alimentação do parasita. A fixação do parasita ocorre por intermédio de um segundo par de antenas que se inserem no tecido da epiderme do hospedeiro, observando-se uma hiperplasia acentuada tanto nestas zonas como na periferia das úlceras. Adicionalmente, muitas células epidermais em redor da área danificada apresentam sinais de necrose, a que se junta uma degeneração vacuolar que tende a ocorrer nas células basais (Toksen et al., 2010).

3.12.2.3.2-Taxonomia

Reino: Animalia, Filo: Arthropoda, Subfilo: Crustacea, Classe: Hexanauploa, Subclasse: Copepoda, Infraclasse: Neocopepoda, Superordem: Podoplea, Ordem: Siphonostomatoida, Família: Caligidae, Género: *Caligus*, Espécie: *Caligus minimus*

3.12.2.3.3-Morfologia

Segundo descrição de Kabata (1979), Ho & Lin (2004), Tanrikul et al., (2012) e Özak (2006), similarmente aos membros da família Caligadae, esta espécie caracteriza-se por possuir um corpo plano, superfícies externas e adaptações para ser ladeado por sangue e muco das

células epiteliais dos seus hospedeiros (Tanrikul et al., 2012). Adicionalmente, estes parasitas definem-se como bentônicos, gregários e sedentários ainda que, muitas vezes, ao terem como hospedeiros peixes migratórios, acabem indirectamente por assumir um papel de parasitas migratórios. Este ponto último é de particular importância se considerarmos que o ambiente circundante é influenciador da riqueza corporal e bem-estar do hospedeiro, que por sua vez condiciona a vitalidade dos parasitas.

Morfologicamente, *C.minimus* divide-se em quatro zonas principais: cefalotórax, apron, complexo genital e tagma posterior. O cefalotórax subdivide-se nas zonas cefálica, laterais e torácica. Na zona cefálica destacam-se as lúnulas e as primeiras e segundas antenas que se situam na zona frontal da linha média dorsal. O segmento posterior do cefalotórax está unido ao apron que inclui o tagma e a terceira perna. Adicionalmente, o segmento da quarta perna conjuntamente com o segmento genital formam o complexo genital. Este é constituído pelo intestino e, nas fêmeas, igualmente pelo canal oviductular e ovos imaturos. Nos machos, o complexo genital é composto por uma glândula de sêmen em cada lado do segmento genital. A parte última de *C.minimus* é composta pelo tagma posterior que se subdivide num abdômen e num rami caudal. Por fim, nas fêmeas podemos ainda observar duas colunas de ovos maduros e imaturos. A coluna da esquerda é composta por 19 ovos e a da direita por 16 ovos. A forma dos ovos é cilíndrica ainda que alguns deles sejam planos.

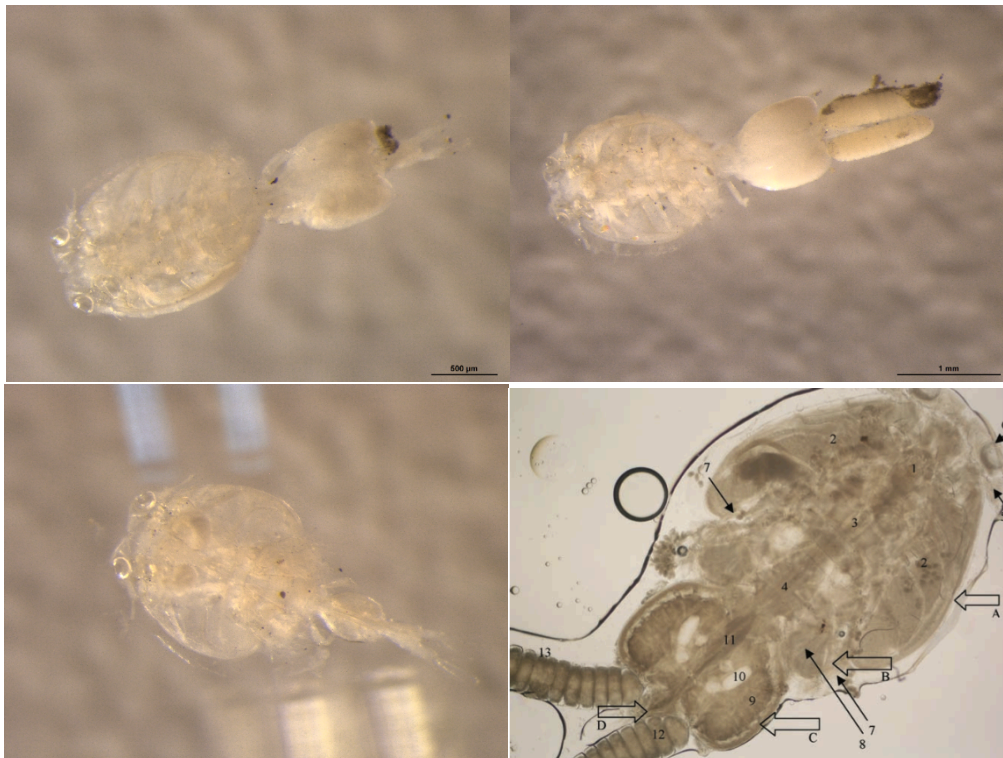


Fig. 17. a) Fotografia de microscopia electrónica de macho adulto de *Caligus minimus*. b) Fotografia de microscopia electrónica de fêmea adulta de *Caligus minimus*. c) Fotografia de microscopia electrónica de macho pré-adulto de *Caligus minimus*. d) Vista geral da superfície dorsal de *Caligus minimus*. A-Cefalotórax; B) Apron; C- Complexo genital; D- Tagma posterior; 1- Zona cefálica; 2- Zona lateral; 3 -Zona torácica; 4- Tagma; 5- Primeira antena; 6- Lúnula; 7- Terceira perna; 8- Quarta perna; 9- Ovos imaturos; 10- Segmento genital; 11- Intestino; 12- Ovos maduros; 13- Ovos imaturos mortos.

3.12.2.3.4-Ciclo de vida

Segundo Khoa et al., (2018) o ciclo de vida de *Caligus minimus* é constituído por nove estádios diferentes, o náuplio I e II, copépode, chalimus I a IV, pré-adulto e adulto.

O ciclo começa com os ovos presentes no saco de ovos das fêmeas. Nesta fase, os ovos são transparentes, adquirindo uma pigmentação castanha-negra após seis horas a 30°C. As fêmeas ovígeras vibram frequentemente o saco de ovos, começando a incubação de ovos na ponta distal do saco e procedendo proximalmente em sequência. Antes da eclosão, o ovo absorve água até inchar, mantendo-se assim até romper o saco de ovos. Os náuplios recém eclodidos sustentam os seus apêndices para fora, arrastam-se pela extremidade da cabeça, começam a nadar bruscamente, adquirindo o movimento tradicional de náuplio em alguns minutos. Segundo estudos concretizados por Khoa et al., (2018), o período temporal desde a postura até a eclosão é cerca de 13,5h-48h para 30°C e 20,4h-60h para 20°C.

A fase náuplio I apresenta uma forma elíptica e é fototáctica. Os náuplios recém eclodidos apresentam natação livre, usando para o efeito os seus três pares de apêndices. Passadas $1,88 \pm 0,74$ h a 30°C após eclosão, o náuplio I, por metamorfose, dá origem ao náuplio II. Este processo apresenta uma duração de aproximadamente $4,23 \pm 1,02$ h a 20°C . Ambos os estádios são fotossensíveis mas não apresentam adaptações morfológicas que permitam fixar-se a um hospedeiro. A fase náuplio II têm uma duração aproximada de $24,91 \pm 2,24$ h e $28,41 \pm 0,84$ h (a 30°C e 20°C , respectivamente), dando posteriormente origem à fase copépode.

Esta fase é muito mais activa que a fase náuplio, sendo esta circunstância em muito devida ao aparecimento de pernas birramosas. Esta fase apresenta capacidade para sobreviver dois a três dias sem hospedeiro. Não obstante, quando o mesmo se encontra disponível, o copépode tende a fixar-se de imediato no hospedeiro por intermédio da sua antena. Após se fixar no hospedeiro, o copépode expõe um grande órgão frontal localizado anteriormente aos olhos e entre as bases das antenas sob a cutícula do hospedeiro. Ao fim de $20,95 \pm 3,70$ h a 30°C , o copépode, por metamorfose, dá origem à primeira fase do chalimus, que se mantém fixa ao peixe através do seu filamento, prolongando-se o total da fase chalimus pelo período de $25,86 \pm 1,40$ h a 20°C .

O chalimus I fixa-se ao hospedeiro através de um longo filamento situado na sua cabeça. As antenas existentes na fase copépode como órgão principal de fixação desaparecem neste estadio. O novo órgão de fixação desenvolvido no chalimus I, permanece para todo o estadio chalimus, desaparecendo na fase pré-adulta. Uma vez que neste estadio se mantém permanentemente fixo ao hospedeiro, o chalimus apenas se pode mover e alimentar numa pequena área do corpo do peixe como consequência da limitação do tamanho do filamento fixador.

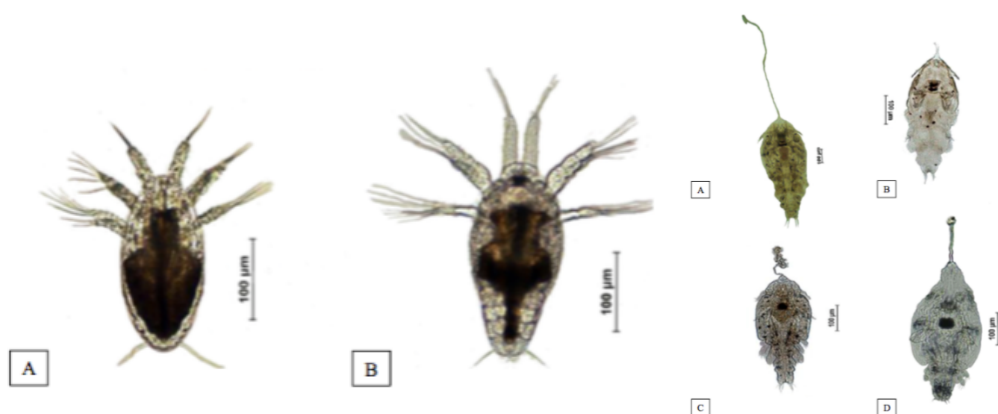


Fig. 18. a) Estádio náuplio I (A) e II (B) de *Caligus minimus*. b) Estádio Chalimus I(A), II(B), III(C) e IV (D) de *Caligus minimus*.

Dentro de $3,50 \pm 0,41$ h a 30°C e $7,57 \pm 0,93$ h a 20°C , o chalimus I passa a chalimus II e este por sua vez transforma-se no chalimus III ao fim de $4,62 \pm 0,96$ h a 30°C e $7,73 \pm 0,86$ h a 20°C , respectivamente. As três fases apresentam entre si diferenças no tamanho, segmentação e armadura das pernas. No entanto ambas possuem uma forma elíptica, um prossoma não segmentado e um metassoma pouco segmentado. O chalimus III vive aproximadamente $5,16 \pm 1,02$ h a 30°C e $8,02 \pm 1,32$ h a 20°C , transformando-se ao fim deste período no chalimus IV com o filamento frontal mais pequeno. A diferença em relação aos três estadios anteriores é a aquisição de uma forma típica dos caligid, com cefalotórax largo em forma de pires, com a fusão dos primeiros três somitos *pedigerous*. Adicionalmente, verifica-se também o aparecimento de uma furca e de brotos membranares. O chalimus IV desenvolve-se na fase pré-adulta ao fim de $7,66 \pm 1,31$ h a 30°C e $10,47 \pm 1,63$ h a 20°C . A larva pré-adulta fixa-se ao hospedeiro com um filamento frontal não-permanente. Não obstante, estas libertam-se do hospedeiro com facilidade movendo-se na superfície. Machos e fêmeas são já identificáveis, mas ainda diferem dos adultos.

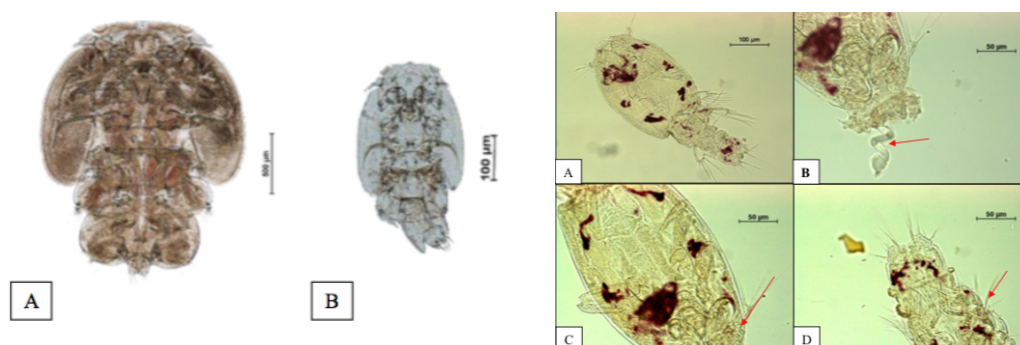


Fig. 19. a) Pré-adulto fêmea (A) e macho (B) de *Caligus minimus*. b) Estadio Chalimus. Chalimus I (A), Chalimus II (B), Chalimus III (C) e Chalimus IV (D) de *Caligus minimus*.

A passagem à fase adulta ocorre ao fim de $44,5 \pm 1,08$ h a 30°C e $65,70 \pm 3,12$ h a 20°C . O parasita nesta fase apresenta a sua morfologia completa e, apesar de continuar a desenvolver-se por via de pequenas metamorfoses, não se observam diferenças significativas entre adultos jovens e adultos mais velhos, com excepção feita de ligeiras diferenças na proporção do complexo genital no decorrer da maturação. Os machos atingem a maturidade simultaneamente à fêmea, mas libertam-se do hospedeiro mais cedo. Nos ensaios realizados por Khoa et al., (2018), foram encontrados machos mortos no fundo do copo de experimentação. Este fenómeno explica a quebra repentina dos machos que se acredita que morram no final do acasalamento. Nos ensaios realizados por Khoa et al., (2018), as fêmeas atingiram fecundidades com um pico de 51 ovos por saco de ovos.

3.12.2.3.5-Medidas terapeuticas

Para o tratamento do parasita *Caligus minimus* existe uma panóplia de soluções passíveis de serem utilizadas. Dentro destas, evidencia-se o tratamento por banho com recurso aos químicos triclorfon a 300 ppm por um período de 20 minutos (Pike, 1989); diclorvós numa dose de 1ppm por um período de uma hora e peróxido de hidrogénio a uma concentração de 1500 ppm por 20 minutos (Branson, 1996; Hodneland et al., 1993). Adicionalmente, o tratamento com banho de água doce apresenta também resultados positivos (Landsberg et al., 1991).

3.12.2.4-Diplectanum aequans

3.12.2.4.1-Descrição geral

Pertencente à família Diplectanidae, *Diplectanum aequans* é um parasita comum quer no robalo (*Dicentrarchus labrax*) selvagem quer no de cultivo, sendo considerado um dos principais agentes patogénicos desta espécie (Toksen et al., 2010). Este parasita afecta em especial as brânquias, favorecendo o aparecimento de infecções secundárias de fungos, bactérias ou vírus, desencadeando elevadas mortalidades nos cultivos alvo. O nível de infecção é bastante elevado, podendo existir milhares de parasitas por peixe. Ademais, quando sexualmente maturo, produz um elevado número de ovos que aumentam a população do parasita durante o inverno, obrigando, não raras vezes, à aplicação de tratamentos de controlo (Toksen et al., 2012).

As principais lesões causadas por este parasita são a hiperplasia do epitélio e células mucosas, com a resultante deformação e fusão das lamelas secundárias. Infecções intensas podem resultar em letargia, anorexia e asfíxia no hospedeiro (Toksen et al., 2010).

3.12.2.4.2-Taxonomia

Reino: Animalia, Filo: Platyhelminthes, Subfilo: Neodermata, Classe: Monogenea, Subclasse: Monophistocotylea, Ordem: Dactylogyridea, Família: Diplectanidae, Género: *Diplectanum*, Espécie: *Diplectanum aequans*

3.12.2.4.3-Morfologia

Segundo descrição de Duarte et al., (2000), os exemplares adultos deste ectoparasita branquial apresentam forma foliácea e o corpo coberto por escamas caducas cuja extremidade livre se dirige para a frente. Na extremidade anterior situam-se os três órgãos cefálicos e a boca, que se abre sobre uma linha média ventral. Na mesma zona, mas dorsalmente, existem ainda dois pares de manchas oculares, sendo as do par anterior mais pequenas que as do par posterior. Na porção posterior do corpo encontra-se uma pequena constrição que separa o haptor. O haptor é mais estreito que o corpo e possui dois esquamodiscos (Fig. 20.b) (um dorsal e outro ventral), três barras transversais e dois pares de ganchos – hamuli (estrutura típica dos artrópodes). Estes hamuli são constituídos por um gancho dorsal e um ventral de cada lado, localizados na extremidade externa de cada uma das barras laterais/dorsais e ainda por outros 14 pequenos ganchos laterais. O seu aparelho digestivo inicia-se com a boca, seguindo-se uma pré-faringe muito curta, uma faringe globosa e dois cecos intestinais que se estendem para cada lado do corpo. O esófago é praticamente inexistente.

O aparelho sexual masculino é constituído por um único testículo localizado no terço inferior do corpo. Do lado anterior esquerdo do testículo sai um canal deferente que se dirige anteriormente formando uma vesícula seminal muscular. Depois curva-se para trás, entrando no bolbo muscular do pénis. O pénis é longo, tubular e esclerificado. Já o aparelho feminino é formado por um ovário alongado que envolve o ceco intestinal direito, disposto obliquamente. O receptáculo seminal comunica com o exterior através de uma vagina muscular cuja abertura está do lado esquerdo do corpo, ao nível do ovário.

Esses indivíduos têm ciclo de vida monóxeno, com um único hospedeiro, contudo vão ocupando sucessivos nichos no próprio hospedeiro ao longo do seu ciclo de vida. As larvas mais jovens encontram-se no tegumento do peixe, especialmente na base dos filamentos brânquiais. Elas movem-se com relativa facilidade, uma vez que o haptor ainda não está completamente formado. À medida que se desenvolvem vão-se deslocando ao longo dos filamentos, encontrando-se os adultos fortemente fixos na extremidade através de ganchos (hamuli) e os dois esquamodiscos. A fecundação é cruzada e ocorre entre indivíduos próximos (no mesmo filamento branquial ou em filamentos adjacentes).

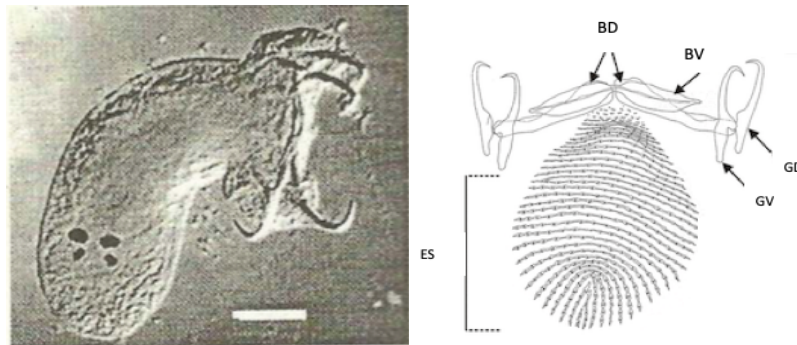


Fig. 20. a) Larva de *Diplectanum aequans*. Barra=25 µm. b) Esquamodisco, barras transversais e ganchos de *Diplectanum aequans*. BD: Barras Dorsais/laterais, BV: Barra Lateral, GD: Gancho Dorsal, GV: Gancho Ventral e ES: Esquamodismo.

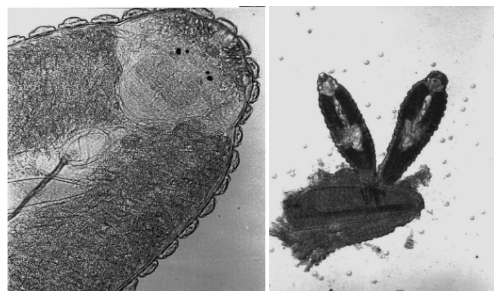


Fig. 21. a) Região anterior de *Diplectanum aequans*. b) Dois exemplares de *Diplectanum aequans* num fragmento branquial de *Dicentrarchus labrax*.

3.12.2.4.4-Ciclo de vida

Segundo Milner (2001) e ensaios realizados em Khidr et al., (2013) o ciclo de vida de *Diplectanum aequans* caracteriza-se pelas seguintes fases:

1) Ovo

Os ovos recentemente libertados de *Diplectanum aequans* apresentam uma tonalidade castanho amarelada, possuem opérculo e apresentam uma forma aproximadamente tetrahedrica com protuberâncias redondas em cada canto (Fig. 22.a). Os ovos medem 73,6µm de comprimento e 105,6µm de largura. O filamento mede 25,6µm de comprimento e está inserido num dos polos.

O opérculo não é visível nos ovos recém postos mas começa a ser observado nas fases mais tardias do desenvolvimento do ovo, no canto tetraédrico. Numerosos “vitellaria” preenchem a maioria do espaço interno do ovo (Fig. 22.b). A eclosão ocorre após a seis a sete dias a temperaturas de 20±2 °C. Um dos desenvolvimentos morfológicos com

maior destaque nesta fase é a formação de “*eyespot*s” que aparecem no dia quatro a 20 ± 2 °C

A eclosão dos ovos ocorre no sexto dia de incubação à temperatura 20 ± 2 °C, sobre luz natural. Alguns minutos antes da eclosão começam as contrações e relaxamento do oscomiracidia e ocorre ainda a libertação de secreções ao longo da sutura do opérculo, provenientes das células glandulares da cabeça mediana. Como resultado da rotação da cabeça dos oscomiracidia ao longo do opérculo e a contínua secreção produzida pelas células glandulares, surgem duas pequenas fendas laterais na sutura do opérculo. Consequentemente, o opérculo é aberto e os oscomiracidia saem do ovo pela sua zona anterior. Todo o processo de eclosão dura cerca de 10 a 15 minutos. Na maioria dos casos, a eclosão ocorre durante a manhã, uma a duas horas após o nascer do sol.

2) Oscomiracidia

Apresentam uma forma fusiforme ligeiramente comprimida dorso-ventralmente (Fig. 23.a e 23.b). Cada oncomiracidium apresenta 59 células ciliadas divididas em quatro zonas; uma anterior, duas médias e uma posterior (Fig. 23.a e 23.b). A zona anterior possui 27 células ciliadas, 10 delas na zona dorsal e 17 na zona ventral-lateral. As duas zonas médias estão localizadas ventro-lateralmente e consistem de 10 células ciliadas cada uma, enquanto que a zona posterior possui 12 células ciliadas, 10 dorsais e 2 ventrais.

A cabeça apresenta quatro olhos pigmentados (Fig. 23.a e 23.b). Cada olho consiste de uma célula pigmentada que se aparece como um “copo” contendo numerosos corpos de tonalidade castanha a preta e uma única lente semelhante a um cristalino (Fig. 23.a). As lentes dos olhos anteriores estão direccionadas póstero-lateralmente enquanto que as lentes dos olhos posteriores estão direccionadas antero-lateralmente. Os olhos posteriores parecem estar em contacto próximo entre si enquanto que os olhos anteriores estão mais separados (Fig. 23.b). A faringe muscular observa-se posteriormente aos olhos enquanto que a boca e o intestino não estão visíveis. (Fig. 23.a e 23.b). As células glandulares e os seus ductos são observáveis em cada região lateral da cabeça posteriormente à faringe (Fig. 23.b).

No terminal posterior foi observado um haptor sob a forma de um disco orientado

ventralmente e mede 32 μ m de comprimento e 38,4 μ m de largura. O haptor é equipado com sete pares de presilhas marginais. Cada presilha apresenta um *domus*. As presilhas estão localizadas ventralmente e distribuídas à volta do haptor circular. No centro do haptor encontram-se dois pares de hamuli bem desenvolvidos. Cada hamulus consiste de duas raízes e uma haste com um fim pontiagudo curvo (fig. 23.b).

No referente ao comportamento natatório dos oncomiracidia, este é principalmente de dois tipos: natação vertical na coluna de água e natação horizontal perto do fundo. Após emergir da casca do ovo, nada no meio da água perto dos lados da placa de ensaio por um período curto, movendo-se seguidamente para zonas superficiais da água através de um movimento ondulado. Após esta movimentação, os oscomiracidia podem continuar a apresentar um movimento espiral ou adoptar um movimento rodopiante horizontal e vertical até ao fundo da placa de ensaio onde se arrastam com a metade anterior do corpo por um período curto, nadando depois novamente para o meio da placa.

3) Fase parasitária

Esta fase ocorre posteriormente à fixação do oncomiracidium a um hospedeiro, sendo composta primeiramente pelo estágio juvenil, que dura cerca de 20 dias, em que o parasita termina o seu desenvolvimento morfológico. Neste estágio, o juvenil pode fecundar parasitas adultos, mas não consegue procriar. Após o término do desenvolvimento, o parasita entra no estágio adulto, que tem uma duração de 70 dias, e no qual se reproduz.

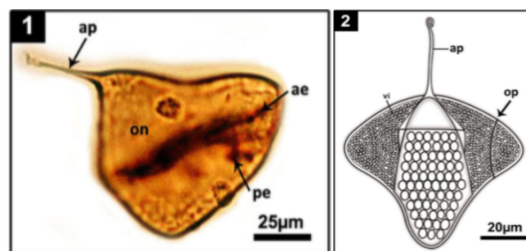


Fig. 22. a) Fotografia via microscopia de luz de um ovo tetrahédrico bem desenvolvido de *Diplectanum aequans* contendo um oncomiracidium (on). Apêndice (ap), olho anterior (ae) e olho posterior (op). b) Desenho esquemático de um ovo tetrahédrico bem desenvolvido de *Diplectanum aequans* com opérculo (op) e apêndice (ap) e com a vitellaria (vi) a preencher a maioria do espaço interno.

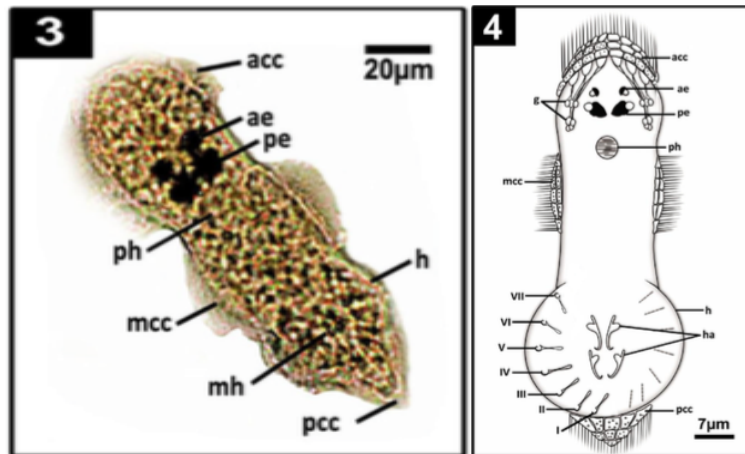


Fig. 23. a) Forogrãdia via microscopia de luz de um oscomiracidium de *Diplectanum aequans* com zonas ciliadas (acc: zona ciliada anterior; mcc: zona ciliada median; pcc: zona ciliada posterior) e dois pares de olhos pigmentados (ae: olhos anteriores; pe, olhos posteriores. ph: faringe; ha:hamulus; h, opisthaptor. b) Desenho Esquemático da anatomia de um oscomiracidium de *Diplectanum aequans*. Acc: células ciliadas anteriores; ae: olhos anteriores; g: célula glandular; h:haptor; ha:hamulus; mcc: célula ciliada mediana; pcc: célula ciliada posterior; pe: olhos posteriores; ph: faringe; I-VII: sete pares de persilhas.

3.12.2.4.5-Medidas terapeuticas

Para fazer face à infestação de *D.aequans* pode ser usado um banho de rafoxanida a 6 ppm por um período de 48 horas ou, em alternativa, um banho do organofosfato triclorfon com uma dose de 0,15 ppm por igual período de tempo (Toksen et al., 2010). Para este organofosfato, ensaios conduzidos por Toksen et al., (2012) apontam para a não indução de efeitos nefastos nos hospedeiros quando usadas doses iguais ou inferiores a 50 ppm. Tratamentos com recurso a formaldeído não se têm revelado muito eficazes contra este parasita (Toksen, 1999).

3.12.2.5-Amyloodinium ocellatum

3.12.2.5.1-Descrição geral

Pertencente à família Oodiniaceae, esta espécie é um parasita extracelular, sendo um dos principais parasitas patogénicos das águas salobras e marinhas. É parasita obrigatório ainda que apresente uma fase livre, necessitando de um hospedeiro piscícola tanto para a sua sobrevivência como para completar o seu ciclo de vida. Relativamente à sua especificidade, esta espécie possui uma vasta gama de possíveis hospedeiros, tendo sido detectados surtos em culturas de *red fish* (*Sciaenops ocellatus*), tainha-olhalvo (*Morone saxatilis*), robalo riscado (*Mugil cephalus*), robalo legítimo (*Dicentrarchus labrax*), pompano (*Trachinotus* sp.), seriola

(*Seriola dumerili*), dourada (*Sparus aurata*), peixe-palhaço (*Amphiprion* sp.) e tilapia (*Oreochromis mossambicus*) (Francis-Floyd, 2011).

Este agente patológico apresenta uma extensa distribuição geográfica com especial foco nas regiões temperadas e tropicais e é um dos poucos capazes de infectar tanto teleósteos como elasmobrânquios (Alvarez-Pellitero, 2008), tendo como local de infecção as brânquias e a pele dos hospedeiros, às quais se fixa por intermédio de uma estrutura “*rhizoid root-like*” que penetra profundamente no epitélio e causa lesões substanciais no local de fixação, por norma com aparência poeirenta ou aveludada, razão pela qual a doença atribuída a este parasita é conhecida por “*velvet disease*”.

Os principais sintomas associados a este parasita são a redução da alimentação, a raspagem do hospedeiro contra objectos, a “tosse” (inversão do sentido de passagem da água pelas brânquias), a perda de escamas na pele e acumulação de muco, a asfixia, o escurecimento da pele, a necrose da cauda, branquias pálidas e hemorrágicas e o aparecimento de extensas áreas necróticas nas brânquias (Toksen et al., 2010)..

Por fim, dada a sua reprodução acelerada, tende não só a desencadear doenças devastadoras como elevadas taxas de mortalidade (Francis-Floyd, 2011).

3.12.2.5.2-Taxonomia

Reino: Chromista; Subreino: Harosa; Infra Reino Alveolata; Filo: Myzozoa; Subfilo: Dinozoa; Infra Filo: Dinoflagellata; Classe: Dinophyceae; Ordem: Blastodinales; Família: Oodiniaceae; Género: *Amyloodium* Espécie: *Amyloodium ocellatum*.

3.12.2.5.3- Morfologia e ciclo de vida

Constituído por quatro diferentes estadios ao longo do seu ciclo de vida, a espécie *Amyloodium ocellatum* apresenta a morfologia típica dos dinoflagelados no decorrente da fase dispersiva (Zambrano, 2001).

A primeira etapa do ciclo de vida deste organismo é a fase parasitária, composta pelo trofonte. Este constitui o estadio vegetativo, também conhecido como o estadio imóvel de alimentação. Nesta fase, o trofonte pode apresentar uma forma esférica, ovoide ou elíptica com o seu tamanho a variar entre 55 a 264 µm (x = 100,2 µm) de comprimento e 33 a 176 µm (x = 61,2

µm) de largura. Possui uma coloração esbranquiçada ou dourada, é envolto por uma cobertura ou por uma cápsula pseudoquitinosa e no citoplasma apresenta um grande núcleo esférico numa posição central, com numerosos cromatóforos, grânulos de amido e vacúolos digestivos. Através de uma abertura polar emerge um órgão de fixação composto por um pedúnculo curto, provido de numerosos rizoides que usa como “raízes” para se fixar às células do hospedeiro e de um estomopódio, estrutura que está especializada na absorção de nutrientes. Adicionalmente, o trofante possui ainda um flagelo curto na base da abertura da cápsula e um estigma como órgão sensitivo. Os cloroplastos estão ausentes (Zambrano, 2001).

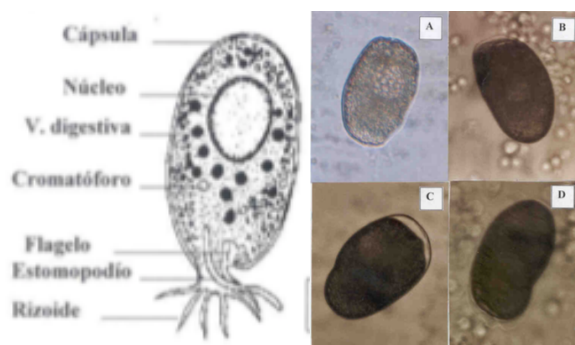


Fig. 24. a) Diagrama de trofante de *Amilodinium ocellatum*. b): A- Encapsulado e processo de preparação celular prévio à primeira divisão *A. ocellatum* (aumento 400 X); B- Encapsulado prematuro; C- Alargamento do encapsulado, escurecimento e estrangulamento do citoplasma; D- Início da 1ª divisão celular.

O trofante tem uma duração de 72 a 96 horas após o qual inicia o processo de absorção dos rizoides e estomopódio. Este processo de absorção ocorre com um intervalo não superior a 20 minutos após o desprendimento do trofante dos filamentos brânquiais do hospedeiro, dando origem ao estadiu seguinte denominado encapsulado, devido ao fecho total da sua cápsula (Zambrano, 2001).

Durante o estadiu encapsulado ocorrem numerosas e sucessivas divisões celulares, único modo de reprodução (fissão binária) que efectua o parasita. Anteriormente à primeira divisão do encapsulado e posteriormente ao fecho da cobertura, durante 20 a 25 minutos, a célula experimenta uma mudança de forma, passando de ovoide a alongada. Conjuntamente, o citoplasma do organismo fica mais escuro, denso e sofre um estrangulamento. Este processo de preparação constitui o passo prévio para que ocorra a 1ª divisão celular, formando-se duas células idênticas, tomitos, dentro do encapsulado. Cada tomito mede 15,4 a 19,4 µm de comprimento e 8,8 a 16,8 µm de largura. A 2ª divisão origina a formação de quatro tomitos, cada um com 26,4 - 28,6 µm de comprimento por 20,4 - 22,0 µm de largura. Na terceira divisão formam-se oito tomitos com 50,6 - 85,8 µm de comprimento por 28,6 - 50,6 µm de largura. Na

quarta divisão formam-se 16 tomitos com 50,6 - 85,8 μm de comprimento por 28,6 - 50,6 μm de largura. Na quinta divisão, 32 tomitos com 74,8 - 88,0 μm de comprimento por 48,4 - 63,8 μm de largura. Por fim na sexta divisão originam-se 64 tomitos com 89,4 - 92,4 μm de comprimento por 58,6 - 75,8 μm de largura (Zambrano, 2001).

No entanto, de acordo com Paperna (1984), o potencial de reprodução do tomito e o número de divisões anteriores à esporulação é variável, sendo determinado pelo tamanho do trofonte. Esta correlação pode ser estabelecida determinando o tempo que o trofonte demora a libertar-se das células branquiais do hospedeiro, o que representa a idade, e determinando igualmente o comprimento do mesmo. Desta forma, para os tomitos obtidos de um trofonte com uma média de 60 μm de comprimento com 72 a 96 horas de vida, após o desprendimento do hospedeiro, observam-se 5 a 6 divisões antes da esporulação. Esta, segundo o autor, representa a capacidade normal de divisão. Não obstante, Paperna (1984) aponta que sete divisões podem ser excepcionalmente obtidas para trofontes de maior tamanho (95 a 100 μm) e maior idade (96 a 120 horas), formando-se neste caso 128 tomitos (Zambrano, 2001).

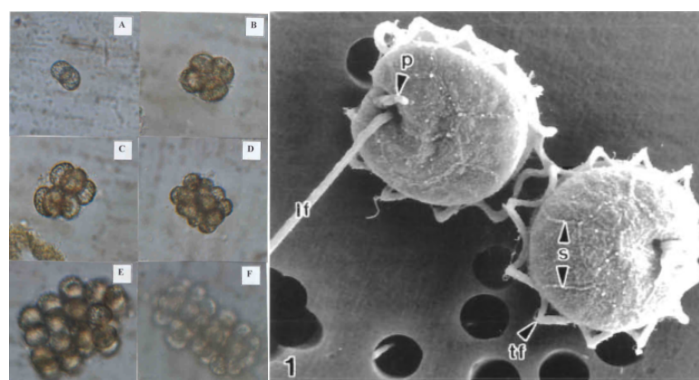


Fig. 25. a) Divisões sucessivas de *A. ocellatum* dentro do encapsulado (aumento 400 x). A- 1ª divisão, dois tomitos; B- 2ª divisão, quatro tomitos; C- 3ª divisão, oito tomitos; D- 4ª divisão, dezasseis tomitos; E- 5ª divisão, trinta e dois; F- 6ª divisão, 64 tomitos. b) Imagem de dois hipotéticos dinosporos de *A. ocellatum* demonstrando o flagelo longitudinal (lf), pedúnculo (p), suturas (s) e flagelo transversal (tf) (aumento 3890 x).

Uma vez terminada a última divisão celular, ocorre o rompimento da parede da cápsula e posterior libertação do parasita, iniciando-se, desta feita, a fase dispersiva ou dinospora. Esta fase constitui o estadió activo do parasita, o qual nada em busca de um hospedeiro e adopta a morfologia típica de um dinoflagelado. Este possui um comprimento de 4,5 a 5,0 μm e é caracterizado por ser atecado, com uma membrana lisa resistente e sem ornamentação. Apresenta dois flagelos, usados na natação, que emergem em sítios próximos entre si na região ventral, um transversal que se aloja no cíngulo e outro que emerge desde o sulco e se estende para trás da célula (Zambrano, 2001).

Nos ensaios realizados por Zambrano (2001), em que dinosporos foram colocados em aquários com peixes previamente desparasitados de *A.ocellatum*, confirmou-se uma nova infecção, ao serem observados nos filamentos branquiais, 36 horas após início da fissão binária, numerosos trofontes precoces. Passados quatro dias após a indução da infecção, pôde constatar-se a presença de trofontes já desenvolvidos e prontos para se libertarem do hospedeiro e iniciarem um novo ciclo reprodutivo.

3.12.2.5.4-Medidas terapêuticas

Não obstante a escolha do tratamento estar dependente do sistema de produção e espécie infectada, por norma o tratamento contra este parasita envolve a destruição dos dinosporos antes que estes se fixem ao peixe ou, alternativamente, a remoção ou destruição dos trofontes fixados ao hospedeiro, interrompendo desta forma o ciclo de vida. Dada o multi-faseamento do seu ciclo de vida, múltiplos tratamentos ou tratamentos prolongados (> 10 a 14 dias) são necessários para controlar um surto deste parasita.

Considerando que as condições ambientais influenciam a velocidade a que o parasita completa o seu ciclo de vida assim como o período temporal em que os dinosporos não são patogénicos, compreender o ciclo de vida e a sua interação com o ambiente é fundamental para a correcta aplicação do seu tratamento, nomeadamente para determinar o período indicado para a sua aplicação e a sua periodicidade.

Sobre condições ambientais óptimas, *A.ocellatum* completa o seu ciclo de vida em aproximadamente doze dias. Relativamente às diferentes fases do seu ciclo de vida, os trofontes permanecem fixos ao peixe entre dois a cinco dias a 24°C e os dinosporos permanecem livres entre três a seis dias a 20°C e 20-40 ppt. Considerando estes parâmetros, um tratamento químico deve ser aplicado diariamente.

De entre os diferentes tratamentos possíveis, destacam-se os seguintes quatro: formaldeído, peróxido de hidrogénio, sulfato de cobre e exposição a água doce (Francis-Floyd, 2011).

- 1) Formaldeído: Este tratamento foi comprovado como sendo eficaz contra dinosporos de *A.ocellatum*. Adicionalmente, concentrações mínimas de 26 mg/L, uma dose terapêutica comum, provocam a queda de trofontes do peixe infectado num espaço de

poucas horas (Paperna, 1984). Não obstante, considerando que os tomitos não são mortos com este tratamento, dinosporos infectantes irão emergir novamente num espaço de dias se os peixes não forem retirados do ambiente infectado.

- 2) Peróxido de hidrogénio 35%: Estudos experimentais têm vindo a comprovar a eficácia deste tratamento contra o parasita. Num desses estudos, exemplares de *Mugil cephalus* inseridos num sistema “*Flow-through seawater system*” foram expostos a um tratamento com 25mg/L de peróxido de hidrogénio durante trinta minutos, resultando numa redução da sua taxa de mortalidade de 200 a 1000/ dia para 10/dia, três dias após o tratamento. Não obstante, na maioria das produções aquícolas é aconselhada a repetição do tratamento para a erradicação do agente patogénico, assim como a remoção de tomitos após a conclusão do tratamento (Noga, 2010).
- 3) Sulfato de cobre: Este tratamento é tóxico para dinosporos e foi durante muitos anos um tratamento padrão até ser proibido pela FDA (*Food and Drug Administration*) para cultivos destinados à alimentação humana. Apesar deste químico ser bastante eficaz contra uma enorme variedade de agentes patogénicos, o intervalo entre as concentrações para destruir o parasita e matar o peixe é demasiado curto, pelo que é um tratamento que exige conhecimento e bastante rigor na sua aplicação. A concentração terapêutica óptima para a sua utilização encontra-se entre 0,15 a 0,2 mg/L para o ião cobre. A manutenção constante desta concentração assegura a presença contínua de uma dose letal para os dinosporos à medida que estes se vão desenvolvendo. Este tratamento deve ter a duração de pelo menos duas a três semanas para controlar o surto deste parasita. De notar que o ião cobre não permanece muito tempo em solução, pelo que a sua concentração deve ser medida pelo menos uma vez por dia, adicionando-se mais sulfato de cobre quando as concentrações são inferiores ao valor indicado. Por fim, considerando que o cobre é bastante tóxico para invertebrados, substâncias que contenham este composto não devem ser utilizadas em produções destes animais.
- 4) Exposição a água doce: Imersão repetida em água doce é outro dos tratamentos utilizados para a redução do número de dinosporos e trofontes. Não obstante, a não ser que os exemplares possam ser mantidos de forma constante num sistema de água doce, a doença não irá ser controlada uma vez que este parasita poderá completar o seu ciclo de vida em águas salobras/salgadas. Adicionalmente, diferentes estirpes de *Amyloodinium* com tolerância a água doce têm vindo a ser identificados.

Para a maioria dos parasitas que infectam peixes estenoalinos marinhos, a exposição a salinidades inferiores a 10 ppt é por norma suficiente para erradicar a doença, no entanto este tratamento apenas é eficaz com uma duração de duas a três semanas, pelo que a sua aplicabilidade nestes peixes é praticamente nula. No referente aos peixes euroalinos, apesar de a aplicabilidade deste tratamento não estar descartada de início, a sua eficácia parece ser bastante reduzida, estando, inclusivé, a ser abordada cientificamente a possibilidade de os trofontes resistentes à imersão recomeçarem novamente o seu ciclo de vida. Desta feita, dos tratamentos mencionados, este parece apresentar-se como o menos indicado para fazer face a este parasita (Francis-Floyd, 2011).

4-Ensaio experimental

4.1-Introdução

Pertencente à subclasse Copepoda, *Caligus minimus* é uma espécie parasitante de *Dicentrarchus labrax*, com distribuição pelo Mar Mediterrâneo, Mar Adriático, Mar Atlântico Nordeste e Mar do Norte (Margolis et al., 1965). Apresenta elevadas taxas de prevalência e incidência nas produções de *Dicentrarchus labrax*, provocando erosão e lesões na pele e brânquias do hospedeiro que comprometem o normal funcionamento da osmorregulação e, simultaneamente, facilitam infecções secundárias por fungos, viroses e bactérias que têm nas lesões um ponto de entrada e no stresse do hospedeiro, um fator limitante da actuação do sistema imunitário (Bondad-Reantaso et al., 2005). O conjunto destes efeitos provoca reduções acentuadas nas taxas de crescimento, fecundidade e sobrevivência do hospedeiro (Bondad-Reantaso et al., 2005), ameaçando a viabilidade financeira das produções, pelo que, sem surpresa, é um dos focos de preocupação dos produtores de robalo, tendo vindo por isso a receber atenção crescente por parte da comunidade científica. Ademais, a facilidade e simplicidade de meios e métodos necessários à sua recolha, conservação, identificação e contagem torna o estudo deste parasita acessível à generalidade dos investigadores.

Nesse seguimento e não obstante o desenvolvimento de outras temáticas igualmente relevantes, tem existido por parte da comunidade científica um particular interesse no estudo do padrão de variação sazonal da incidência e prevalência de *C.minimus* e no desenvolvimento de modelos que possibilitem determinar correlações existentes com os diferentes parâmetros físico-

químicos das produções aquícolas. Com o desenho destes modelos seria possível não só prever os períodos do ano mais críticos para a incidência deste parasita para diferentes regiões, como desenvolver medidas profiláticas mais adequadas com vista à prevenção e combate deste agente patogénico.

Assim, com o presente ensaio experimental, pretendeu-se contribuir para aprofundar os conhecimentos actuais referentes à variação sazonal da incidência parasitária de *Caligus minimus* e à influência dos diferentes parâmetros neste parasita.

Para o efeito, neste ensaio experimental, foram realizadas amostragens para a recolha e contagem de *Caligus minimus* em exemplares de *Dicentrarchus Labrax* da exploração alvo deste estágio, entre os meses de Março e Setembro. Em simultâneo foram registados os valores de salinidade, temperatura e oxigénio dissolvido dos tanques da produção referentes ao período do ensaio experimental. Concluído o ensaio, foram efectuadas análises estatísticas para avaliar o padrão de distribuição mensal do número de parasitas, bem como a sua correlação com os valores de temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido dos tanques de produção.

4.2-Materiais e métodos

O desenho experimental deste ensaio decorreu entre Março a Setembro de 2018. Em cada um dos meses foram realizadas amostragens de um dia (no mínimo) a três dias (no máximo). Em cada um dos dias de amostragem foram recolhidas entre três a quatro amostras. A dimensão de cada amostra foi de quatro robalos de tamanho comercial (200-400 g).

A recolha das amostras foi efectuada nos períodos de pesca da exploração, destinados a efeitos de venda ou transferência de exemplares para outros tanques. A pesca destes exemplares ocorreu com recurso à técnica de pesca de cerco. Excepcionalmente, para os últimos dois dias de amostragem, os exemplares foram capturados com uma cana de pesca, por impossibilidade de recorrer à técnica de pesca de cerco.

Após captura, os exemplares foram colocados em baldes com água doce e gelo, com vista ao seu abate por choque térmico e posterior desprendimento dos parasitas de *Caligus minimus*, ocorrência que se verifica mediante baixas salinidades. Em seguida, os robalos foram retirados dos baldes e observados para verificar se continham algum parasita fixado e, seguidamente, a água dos baldes foi filtrada por um crivo para recolher os parasitas que se libertaram do

hospedeiro. Após a recolha, os parasitas foram colocados num frasco de amostragem e conservados numa solução de etanol a 95% não desnaturado. Por último, os parasitas foram examinados à lupa binocular para a respectiva identificação e contagem do número total de exemplares.

Para a medição dos parâmetros de qualidade da água, foram utilizados oxímetros da marca B&G Sinergia (calibração diária) e sondas multiparamétricas da marca Desin Instruments (calibração semanal) para determinar os valores de temperatura e oxigénio dissolvido e um refractómetro manual (calibração diária) para os valores de salinidade. Os valores foram medidos a aproximadamente um metro de profundidade.

Para simplificação do procedimento experimental, foi apenas recolhido um registo por dia para cada parâmetro e as recolhas limitaram-se aos dias necessários para a realização do ensaio. Para a atribuição de um valor único para os parâmetros de cada amostra, efectuou-se uma média dos três registos de salinidade, oxigénio dissolvido e temperatura anteriores ao momento da amostragem, incluindo os respeitantes ao próprio dia.

4.3-Análise de dados

Com o objetivo de estudar o padrão de sazonalidade associado ao número de parasitas de *Caligus minimus*, foram analisados os pressupostos (nomeadamente, normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias) para a realização de uma análise de variância com um fator, tendo-se constatado que os mesmos não eram válidos para a base de dados deste ensaio. Desta feita, realizou-se o teste não-paramétrico de *Kruskal-Wallis*, seguido do teste de comparações múltiplas de *Games-Howell* (Zar, 2010). Adicionalmente, por forma a avaliar se a variabilidade dos parâmetros da água (nomeadamente temperatura, oxigénio dissolvido e salinidade) tem efeito explicativo na variação do número de parasitas, realizou-se uma análise de regressão linear múltipla (RLM), pelo método dos mínimos quadrados (Zar, 2010).

Todos os pressupostos inerentes à realização da análise foram devidamente validados. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos ao nível de significância de 5% (ou seja, sempre que $p\text{-value} < 0,05$). Sempre que aplicável, os valores são apresentados na forma média \pm desvio-padrão (DP) Todos os cálculos foram realizados com recurso ao software IBM SPSS Statistics 25. Por último, com o objetivo de conhecer o padrão de variação

da carga de parasitas em simultâneo com os parâmetros da água, durante o período em que decorreu o estudo, foi realizada uma análise de componentes principais (ACP). Este método tem como objetivo reduzir a dimensionalidade dos dados em análise, mas mantendo a maior informação neles contida (Veja *et al.*, 1998; Helena *et al.*, 2000). As componentes principais (CP) são calculadas por combinação linear de variáveis originais e representam adequadamente os dados originais (Bro & Smilde, 2014). As posições das variáveis originais no diagrama resultante da ACP representam de forma relevante as suas inter-relações. Neste sentido, sempre que as variáveis se observam em oposição, significa que se correlacionam de forma negativa. Por outro lado, sempre que as variáveis se posicionam com a mesma direção, a sua correlação é forte e positiva. Assim sendo, a representação gráfica dos objetos estudados evidencia-se como sendo muito útil para detetar possíveis associações, bem como padrões de comportamento relevantes entre as variáveis (ou seja, número de parasitas, temperatura, oxigénio dissolvido e salinidade) e os meses em análise. Todos os cálculos associados à ACP foram realizados com recurso ao software Canoco for Windows 4.5 (Ter Braak & Šmilauer, 2002).

4.4-Resultados

4.4.1-Variação sazonal da incidência parasitária

Os resultados obtidos pelo teste de *Kruskal-Wallis* evidenciaram a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os meses do ensaio experimental no número de parasitas (p -value= 0,000; Tab. 3, Anexo 1). Adicionalmente, foi ainda possível observar que as diferenças significativas corresponderam aos meses de Março e Abril (*Games-Howell*; p -value =0,005); Março e Agosto (*Games-Howell*; p -value =0,001); Março e Setembro (*Games-Howell*; p -value =0,000); Abril e Julho (*Games-Howell*; p -value =0,024); Abril e Agosto (*Games-Howell*; p -value =0,000) Abril e Setembro (*Games-Howell*; p -value =0,000) (Tab. 4, Anexo 1).

Foi ainda apurado que os valores mais díspares corresponderam aos meses de Abril (Primavera) e Agosto (Verão), apresentando o primeiro o valor médio mensal de parasitas mais baixo e o segundo o valor mais elevado (Fig. 26).

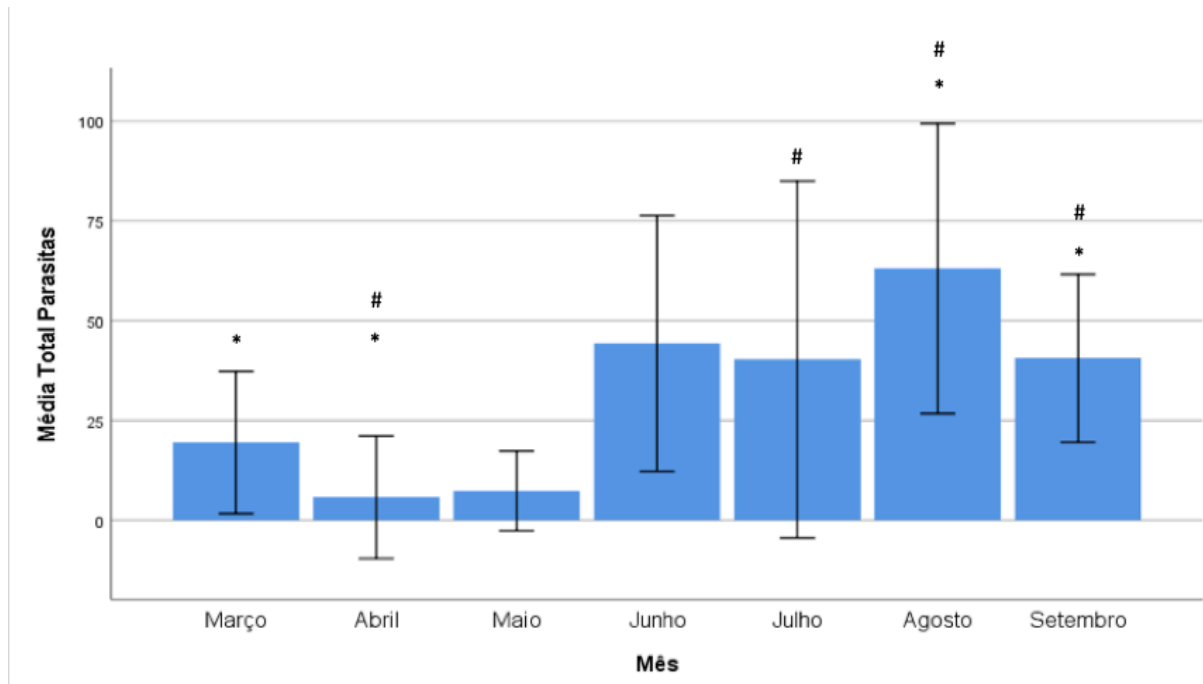


Fig. 26. Média mensal (barras) e desvio padrão (barras de erro) do número parasitas por amostra. Legenda: *- Diferenças significativas correspondentes aos meses de Março e Abril (*Games-Howell*; p-value =0,005); Março e Agosto (*Games-Howell*; p-value =0,001); Março e Setembro (*Games-Howell*; p-value =0,000). #- Diferenças significativas correspondentes aos meses Abril e Julho (*Games-Howell*; p-value =0,024); Abril e Agosto (*Games-Howell*; p-value =0,000) Abril e Setembro (*Games-Howell*; p-value =0,000). Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP.

4.4.2-Variacão dos parâmetros de qualidade da gua.

Os valores dos parâmetros de qualidade da água variaram no decorrer do ensaio experimental.

Para a temperatura (Fig. 27), o valor médio mínimo foi de 11,9°C (Março) e o valor médio máximo de 24,3°C (Junho). Para a salinidade (Fig. 28), verificou-se um valor médio mínimo de 16,3 ppt (Abril) e máximo de 35 ppt (Setembro). Por último, para o oxignio dissolvido (Fig. 29), o valor mínimo foi de 2,4 ppm (Setembro) e máximo de 7 ppm (Março e Abril).¹

¹ Os valores mencionados correspondem aos valores únicos de cada amostra, resultantes da média dos três valores medidos para cada um dos parâmetros de qualidade da gua.

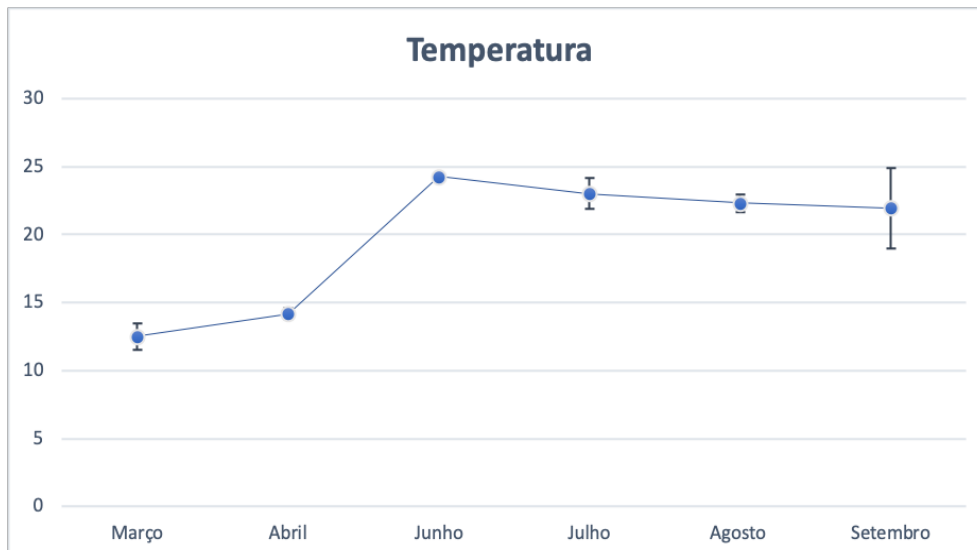


Fig. 27. Variação mensal da média (linha) e desvio padrão (barras de erro) dos valores de temperatura. Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP.

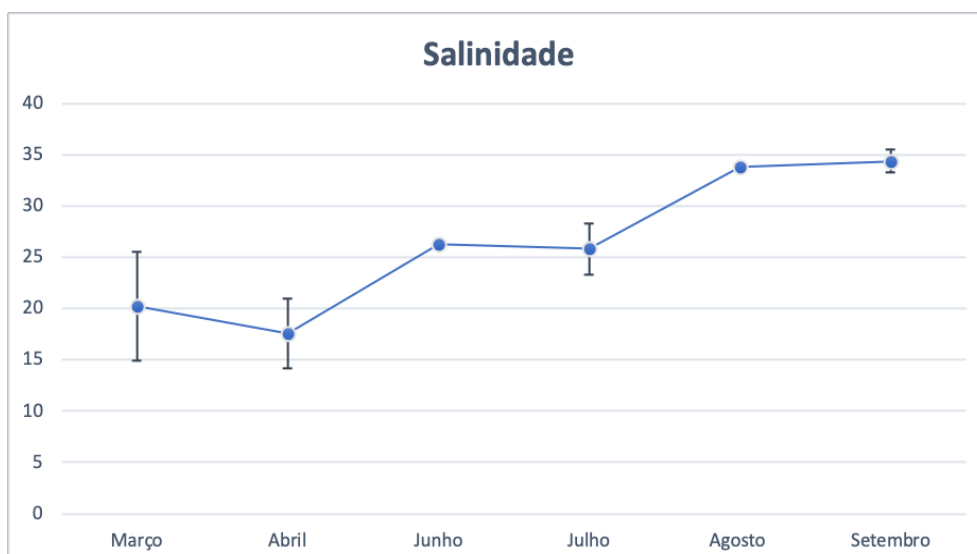


Fig. 28. Variação mensal da média (linha) e desvio padrão (barras de erro) dos valores de salinidade. Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP.

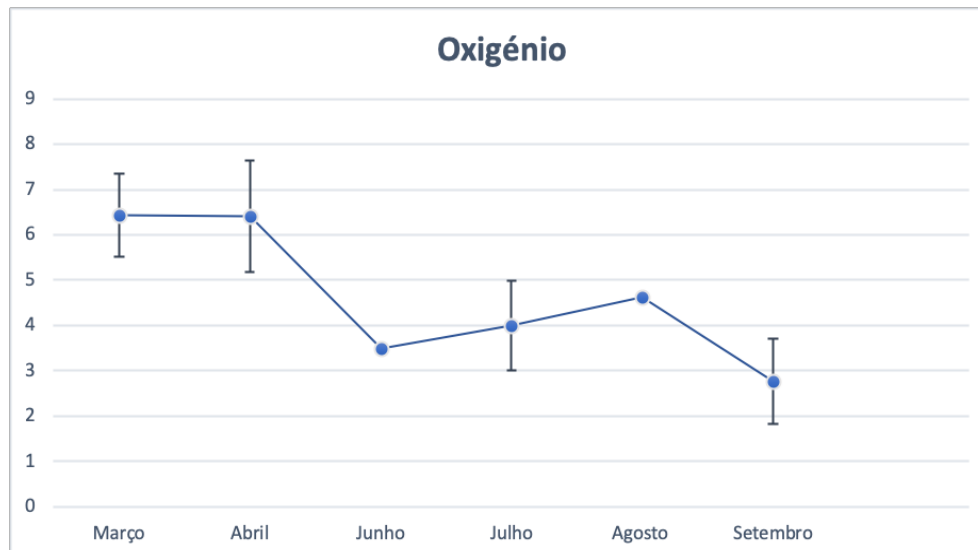


Fig. 29. Variação mensal da média (linhas) e desvio padrão (barras de erro) dos valores de oxigênio dissolvido. Os valores estão apresentados na forma média +/- 2DP.

4.4.3-Efeito dos parâmetros de qualidade da água na variação do número de parasitas

Os resultados obtidos pela RLM, permitiram observar três modelos estatisticamente significativos ($p\text{-value} < 0,05$)². A opção pelo modelo escolhido³ incidiu na integração dos três parâmetros de qualidade da água como preditores e foi realizada tendo por base a sua qualidade de ajustamento ($R^2 = 0,623$), assim como o seu poder explicativo ($r = 0,789$). Desta forma, foi possível concluir que 62,3 % da variabilidade que ocorre no número de parasitas é explicada pela variabilidade associada à salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido.

Adicionalmente, foi ainda observado que o modelo é estatisticamente significativo quando analisados individualmente cada um dos parâmetros da água, pelo que se confirma a influência significativa na incidência parasitária de *Caligus minimus* em *Dicentrarchus labrax* (Tab. 3, Anexo 2) de cada um dos parâmetros estudados. Por conseguinte, pela tendência obtida (Equação 1) foi possível constatar que a um aumento nos valores dos parâmetros da água correspondeu um aumento na incidência parasitária de *C.minimus*.

² Modelo 1 - Preditores: (Constante), Salinidade; $r = 0,712$; $R^2 = 50,6\%$; $p\text{-value} < 0,05$

Modelo 2 - Preditores: (Constante), Salinidade, Temperatura; $r = 0,745$; $R^2 = 55,6\%$; $p\text{-value} < 0,05$

Modelo 3 - Preditores: (Constante), Salinidade, Temperatura, Oxigênio dissolvido; $r = 0,789$; $R^2 = 62,3\%$; $p\text{-value} < 0,05$

³Modelo 3

$$Y_{\text{n}^\circ \text{ parasitas}} = -114,417 + 1,940X_{\text{Sal}} + 3,196X_{\text{Temp}} + 7,736X_{\text{O}_2} \quad (\text{Equação 1})$$

Complementarmente, através da realização de uma ACP foi observado o padrão multivariado da temperatura, salinidade, oxigénio dissolvido e total de parasitas (número de parasitas) para os meses em análise. Através dos resultados obtidos, observou-se que a primeira componente principal (CP1) explica 85,5 % da variabilidade total dos dados, enquanto a segunda (CP 2) explica 7,9 % (Fig. 30).

Desta feita, com base na CP 1, verificou-se que o total de parasitas está positivamente correlacionado com a temperatura e salinidade e negativamente correlacionado em relação ao oxigénio dissolvido. Por conseguinte, para este ensaio, a períodos (Junho a Setembro) de maior salinidade e temperatura, corresponderam períodos com maior número de parasitas. Por outro lado, a períodos de menor salinidade e temperatura (Março e Abril), corresponderam períodos com menor número de parasitas. Simultaneamente, depreende-se igualmente que, aos períodos (Março e Abril) com maior teor de O₂ corresponderam períodos com menos parasitas e, em sentido oposto, aos períodos (Junho a Setembro) com menor teor de O₂ corresponderam períodos com mais parasitas⁴.

⁴ Para as regressões lineares realizadas e para a ACP, as amostras do mês de Maio não foram incluídas uma vez que não foi possível determinar os valores dos parâmetros de salinidade, oxigénio dissolvido e temperatura.

Total Parasitas	TP
Temperatura	Temp
Oxigênio	O2
Salinidade	Sal

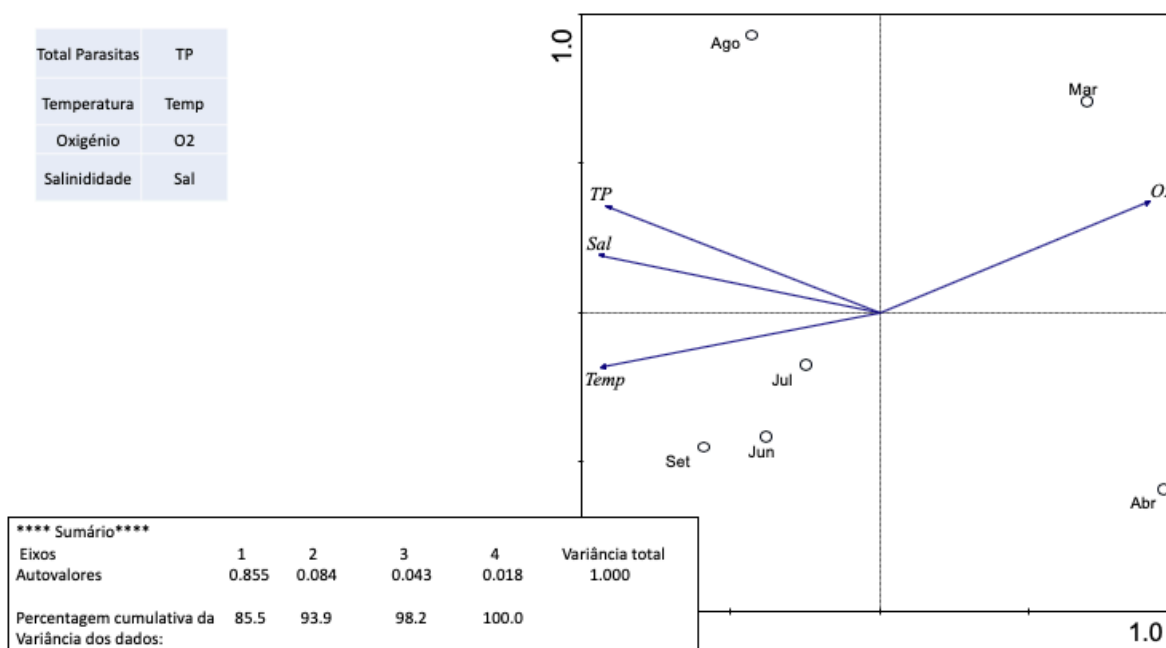


Fig. 30. Análise das componentes principais dos valores de temperatura (temp), oxigênio dissolvido (O₂), salinidade (Sal) e número de parasitas por amostra (TP) para os meses de Março (Mar); Abril (Abr); Jun (Junho); Julho (Jul); Agosto (Ago) e Setembro (Set). Discriminação da percentagem da variabilidade dos dados explicada por cada autovector.

4.5- Discussão dos resultados.

Concluídas as análises estatísticas, com vista à interpretação dos resultados e apuramento da sua congruência científica, procedeu-se à sua discussão com base na bibliografia científica existente.

Principiando pela distribuição mensal de *C.minimus* (Fig. 26), verificou-se a existência de variações sazonais na incidência de parasitas. Os valores mais elevados foram verificados para os meses de Verão (Junho (Primavera/Verão), Julho, Agosto e Setembro) e os mais baixos para os meses de Inverno e Primavera (Março, Abril e Maio). Estes resultados vão maioritariamente ao encontro das incidências de ectoparasitas verificadas para as latitudes norte, onde os maiores valores ocorrem, por norma, nos períodos de Verão e Primavera e os menores nos períodos de Inverno. Em contraste, surge o período de Primavera, no qual seria de esperar elevadas incidências parasitárias segundo Paperna (1980), circunstância que apenas se verificou no mês de Junho (Primavera/Verão) para este ensaio. Como possíveis explicações para os resultados observados neste período, surgem, para o mês de Abril, os baixos valores de salinidade ocorridos (os mais baixos do ensaio) e, para o mês de Maio, a sua reduzida base de dados

(apenas um dia de amostragem composto por quatro amostras) que pode ter resultado num valor impreciso para este mês.

Na origem da variação sazonal da incidência parasitária de *C. minimus* estiveram a temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido. A variação destes parâmetros de qualidade da água influenciou significativamente a incidência parasitária de *C. minimus*, com a acção conjunta destes a explicar 62,3% das variâncias observadas no total de parasitas.

Complementarmente, observou-se que os meses com maior número de parasitas (Junho, Julho, Agosto e Setembro) corresponderam a períodos de elevados valores de temperatura e salinidade e baixos teores de oxigénio dissolvido e que os períodos de menor número de parasitas (Março e Abril) corresponderam a períodos de baixos valores de temperatura e salinidade e elevados teores de oxigénio dissolvido (Fig. 30).

Da análise da influência da temperatura na incidência de parasitas, conclui-se que esta variável induziu flutuações significativas na incidência de parasitação de *C. minimus* no decorrer do ensaio experimental. Quando comparado com artigos científicos da área, este resultado parece ser coincidente com os obtidos em ensaios experimentais semelhantes (Khoa et al., 2018, Akif et al., 2015, Antonelli et al., 2016 e Vagianou et al., 2006). Complementarmente, como já observado na Equação 1, foi igualmente possível inferir que, no decorrer do presente ensaio experimental, a temperatura apresentou uma correlação positiva com o total de parasitas por amostra. Este resultado surge, novamente, no seguimento de observações obtidas por ensaios experimentais semelhantes onde, de igual forma, para intervalos de valores semelhantes, a um aumento de temperatura correspondeu um aumento da incidência parasitária, assim como, a uma descida de temperatura correspondeu uma descida da incidência parasitária (Akif et al., 2015 e Antonelli et al., 2016).

Em sentido inverso, surge o exposto em Ozak (2006) que aponta como intervalo de temperatura adequado 15-21 °C e segundo o qual não seria de esperar a correlação positiva verificada neste ensaio para valores superiores a 21°C, mas sim negativa. Não obstante, se tivermos em conta os resultados obtidos por Khoa et al., (2018), o ciclo de vida deste parasita parece realizar-se mais rapidamente a 30°C comparativamente a 20°C, pelo que é possível deduzir, ainda que com algum grau de incerteza que, até à temperatura de 30°C, *C. minimus* não só se encontra adaptado como possivelmente o seu desenvolvimento se correlaciona positivamente com a temperatura.

Desta feita, os resultados obtidos neste ensaio parecem ser coincidentes com a generalidade dos resultados obtidos em ensaios semelhantes e da bibliografia científica, fundamentando a correlação positiva verificada para a temperatura e, por inerência, as cargas parasitárias superiores dos meses mais quentes em comparação com as cargas parasitárias inferiores dos meses mais frios (Fig. 30). Na gênese da correlação parece estar, em parte, a diminuição do tempo necessário para *C. minimus* completar o seu ciclo de vida mediante um aumento de temperatura, multiplicando-se mais rapidamente (Khoa et al., 2018). Ademais, segundo Vagianou et al., (2006) a ocorrência de temperaturas elevadas parece igualmente contribuir para a fragilização do sistema imunitário do hospedeiro, facilitando a parasitação.

Similarmente à temperatura, também a salinidade influenciou significativamente o total de parasitas, apresentando uma correlação positiva com a carga parasitária neste ensaio experimental. Estes resultados vão apenas parcialmente ao encontro das referências bibliográficas já que, segundo o descrito por Paperna (1980) e Antonelli et al., (2016), embora a salinidade tenha influenciado a variância existente na incidência de parasitas nestes estudos, a um aumento de salinidade correspondeu uma diminuição da carga parasitária.

Não obstante, estes estudos ocorreram em zonas com salinidades díspares em relação às verificadas para este ensaio experimental. Mais concretamente, para os estudos realizados por Paperna (1980) na Lagoa de Bardawil, os intervalos de salinidade encontraram-se em valores entre os 43-70 ppt e para Antonelli et al., (2016), os ensaios ocorreram na costa do Mar Mediterrâneo que, regra geral, é um mar característico de massas de água com salinidades superiores a 37 ppt (Science learn, <https://www.sciencelearn.org.nz/resources/686-ocean-salinity>)

Esta circunstância acaba por ser de capital importância quando considerado o intervalo de salinidade (10-36 ppt) indicado por Ozak (2006) para o desenvolvimento do parasita. Tendo em consideração esse ponto, facilmente constatamos que para as salinidades destes locais, um aumento nos seus valores corresponde a um maior distanciamento em relação ao intervalo referenciado por Ozak (2006), advindo daí a explicação para a tendência verificada. Ademais, observou-se ainda em Antonelli et al., (2016) que o único local onde se registou a presença de *C. minimus* coincidiu com o local onde ocorreu uma mistura de massas de água provenientes do Mar Mediterrâneo e de cursos interiores dulcícolas, que permitiram uma redução do valor de salinidade do local. Assim, para estes ensaios, as relações observadas entre a salinidade e a incidência parasitária parecem ser resultantes da hipersalinidade dos seus locais de amostragem.

No entanto, para o local do ensaio experimental deste relatório, o intervalo de salinidades apresentou valores na ordem dos 14 a 35 ppt, logo dentro do intervalo de valores indicado pelo Ozak (2006), sendo essa a provável razão de se ter verificado uma relação distinta.

Por outro lado, quando comparados os valores de salinidade deste ensaio ao intervalo de referência apontado por Ozak (2006), estes valores parecem sugerir que, no decorrer do ensaio experimental, as salinidades registadas foram sempre favoráveis à parasitação e desenvolvimento de *C. minimus*. No entanto, uma vez que a salinidade apresentou uma correlação positiva com o total de parasitas e que inclusive, para o mês de Abril, onde ocorrem as salinidades mais baixas, a incidência parasitária de *C. minimus* foi residual, inversamente aos meses de Junho a Setembro (Fig.30), com salinidade mais elevadas, onde a incidência foi elevada, é possível que a actividade do parasita não se mantenha constante para este intervalo, com determinados valores de salinidade a serem mais favoráveis que outros. Porém, considerando que não foram encontrados artigos científicos que estabeleçam uma correlação entre a incidência de parasitação e a salinidade para os valores indicados por Ozak (2006), não foi possível apurar com fiabilidade se os resultados obtidos têm enquadramento científico.

Ainda assim, visto que para outros parasitas copépodes foi comprovada a correlação positiva da salinidade com a incidência de parasitas, no intervalo de valores de Ozak (2006), é possível que esta seja igualmente válida para *C. minimus*. A exemplo, para o copépode *Lepeophtheirus salmonis*, foi observado por Groner et al., (2016) que, dentro de um intervalo de valores característicos de um estuário, a salinidade teve um efeito considerável na dimensão populacional do parasita. Aparentemente, essa circunstância resultou da variação da mortalidade com a salinidade, com salinidades mais baixas a desencadarem taxas de mortalidade superiores relativamente a salinidades mais elevadas. Porém, convém destacar que a correlação negativa entre a salinidade e a taxa de mortalidade foi apenas específica para um intervalo de valores, uma vez que, após um determinado limite de salinidade, a taxa de mortalidade deixou de descer com o aumento da salinidade.

Desta feita, uma possível explicação para os resultados obtidos é que, à semelhança do verificado em Groner et al., (2016) para *Lepeophtheirus salmonis*, também este copépode, para um intervalo de valores tipicamente estuarinos, apresente taxas inferiores de mortalidade com a subida da salinidade, aumentando, por consequência, a sua incidência parasitária. Esta hipótese vai de encontro à correlação positiva obtida e ao padrão de variação mensal da carga parasitária observado para este ensaio experimental (Fig. 26 e 30), que indicam que os maiores

valores de parasitas se verificaram nos meses com maiores salinidades e que os menores valores de parasitas se verificaram nos meses com menores salinidades.

À semelhança de Groner et al., (2016) é, no entanto, igualmente possível que a correlação positiva entre a salinidade e a incidência de *C. minimus* apenas se verifique até um determinado limite de salinidade. Não obstante, a inexistência de amostras para o intervalo de salinidades de aproximadamente 27 a 33 ppt, (Fig.1, Anexo 2), tornou impossível apurar essa possibilidade para este ensaio, pelo que não se podem retirar conclusões quanto a esse ponto.

Apesar desta hipótese ter algum viabilidade para os resultados obtidos, será fundamental, para o melhor conhecimento da espécie, a realização de mais ensaios experimentais que avaliem a variação da incidência parasitária de *Caligus minimus* para o intervalo de salinidades indicado por Ozak (2006), uma vez que, embora esse intervalo de valores seja indicado como o favorável para a ocorrência do parasita, não é referido se e como o parasita é afectado mediante alterações de salinidade ocorridas nesse intervalo.

Por último, os resultados obtidos apontaram ainda no sentido de o oxigénio dissolvido ter influenciado significativamente o total de parasitas, apresentando uma correlação positiva com a variável dependente. Esta observação é sustentada por artigos científicos recentes que apontam o oxigénio dissolvido como um factor promotor do desenvolvimento do parasita. De facto, segundo Khoa et al., (2018), o oxigénio dissolvido é um elemento fundamental para a eclosão dos ovos de *Caligus minimus*, com o aumento do seu teor a contribuir positivamente para o aumento da taxa de eclosão. Desta feita, segundo este artigo, a correlação positiva verificada para este ensaio experimental entre o oxigénio dissolvido e a incidência parasitária parece apresentar congruência científica.

Não obstante, para o ensaio deste relatório, os valores mais baixos de parasitas foram observados no mês de Abril, associado a elevados teores de oxigénio dissolvido, em comparação com os elevados valores de parasitas observados no mês de Agosto, associado a baixos teores de oxigénio dissolvido (Fig 26 e 30). Esta circunstância, à primeira vista, parece ser contraditória do verificado pelos resultados obtidos nestes ensaios.

Porém, tendo em consideração que, segundo os resultados obtidos, as variâncias se explicam pela actuação conjunta dos três parâmetros, é possível que as alterações simultâneas da temperatura e salinidade tenham tido, para este ensaio, um efeito superior na carga parasitária quando em comparação com as alterações na concentração do oxigénio dissolvido. Segundo

esta hipótese, um aumento/descida da carga parasitária não seria assim resultante de uma descida/subida simultânea dos valores de oxigénio dissolvido, mas sim de uma subida/descida dos valores de salinidade e temperatura que sobreporia os efeitos desencadeados pelas alterações nos valores de oxigénio dissolvido. Noutro plano, considerando que a actuação conjunta dos parâmetros de qualidade da água avaliados apenas explica 62,3 % das variações observadas na incidência parasitária, é igualmente possível que outros factores abióticos e bióticos não contabilizados nos testes estatísticos realizados tenham tido influência nos resultados observados, sobrepondo a correlação positiva do oxigénio dissolvido com a incidência parasitária. Posto isto, apesar da aparente contradição, os resultados obtidos para este parâmetro parecem apresentar algum enquadramento científico.

Em resumo, parece confirmar-se que a variação sazonal na incidência parasitária de *C. minimus* verificada para este ensaio experimental se enquadra com a bibliografia científica da área e, igualmente, que a temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido tiveram isoladamente e conjuntamente uma influência significativa sobre a incidência parasitária de *C. minimus* sendo, por isso, determinantes na actividade e desenvolvimento do parasita.

4.6-Conclusão

A incidência parasitária do copépode *C.minimus* variou sazonalmente no decorrer do presente ensaio experimental, com os maiores valores a verificarem-se no mês de Agosto e os valores mais baixos no mês de Abril. Estas variações podem ser explicadas com base na actuação conjunta da temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido, parâmetros da água fundamentais para o desenvolvimento e actividade parasitária desta espécie. Para este estudo, no intervalo de valores característicos de um estuário, a temperatura, a salinidade e o oxigénio dissolvido apresentaram uma correlação positiva com a incidência parasitária.

Estes resultados vão, maioritariamente, de encontro ao verificado para outros estudos realizados e artigos científicos da área. Porém, a limitação de meios para a execução deste ensaio experimental obrigou a um conjunto de lacunas que retiram solidez aos dados obtidos.

Concretizando, no presente ensaio experimental, a recolha de amostras viu-se condicionada pela impossibilidade de analisar todos os meses do ano; pela impossibilidade de conseguir que todos os locais de amostragem tivessem uma densidade produtiva comum; pela diversidade do peso dos exemplares de *Dicentrarchus labrax* ser superior ao desejado; pela impossibilidade

de fazer corresponder os três registos diários anteriores ao momento da amostragem aos três dias efectivamente anteriores; pela selectividade inerente aos métodos de pesca utilizados e pela impossibilidade de avaliar a actuação isolada destes parâmetros. Adicionalmente, após a realização do ensaio experimental, verificou-se que a recolha dos valores de salinidade, oxigénio dissolvido e temperatura deveria ter ocorrido para diferentes profundidades dos tanques, com vista a fazer face à estratificação que tende a ocorrer neste modelo produtivo. Por último, considerando que, segundo a RLM, apenas 62,3% das variações verificadas na incidência parasitária deste ensaio foram explicadas à luz destes parâmetros, a realização de novos ensaios que avaliassem a influência de outros factores bióticos e abióticos, teria sido igualmente desejável para uma melhor compreensão das origens das variações verificadas na actividade parasitária de *C.minimus*.

Noutro plano, durante a realização deste ensaio constatou-se igualmente que, apesar de ter vindo a merecer uma atenção crescente da comunidade científica, o conhecimento existente à data sobre a biologia do parasita copépode *Caligus minimus*, a sua variação sazonal e a relação deste com os factores bióticos e abióticos é escasso face ao seu impacto económico nas explorações aquícolas. Assim, seria importante para o sector aquícola a intensificação dos estudos científicos nesta área, sugerindo-se os seguintes tópicos: 1) prevalência e incidência do parasita em função da condição corporal do hospedeiro, intensidade luminosa e teor de amónia; 2) influência dos parâmetros de qualidade da água nas diferentes fases do ciclo de vida; 3) actualização e disponibilização de guias de identificação das diferentes fases do ciclo de vida e género do parasita e 4) variação do ratio machos/fêmeas I) nas diferentes fases do ciclo de vida, II) mensal e sazonal e III) em função dos parâmetros de qualidade da água.

5-Conclusão do relatório de estágio

O estágio curricular desenvolvido no âmbito do 2º ano curricular do Mestrado em Aquacultura constituiu uma etapa de enorme importância para a formação profissional e académica do educando.

A possibilidade de integrar a tempo inteiro uma exploração aquícola permitiu ao educando a oportunidade de aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos durante a sua formação académica e, simultaneamente, familiarizar-se com o conjunto de procedimentos e rotinas diárias características de uma exploração piscícola em regime semi-intensivo. Ademais, esta experiência possibilitou ainda, ao estudante, identificar as suas lacunas teóricas na área, permitindo-lhe iniciar um processo de auto-aprendizagem que foi deveras importante para a

sua formação enquanto futuro profissional. O estágio foi igualmente importante para o estudante ter um melhor conhecimento das diferentes subáreas do sector, proporcionando-lhe uma maior lucidez para discernir em quais possui mais competências e potencial para a sua execução.

Noutro plano, a realização de um ensaio experimental permitiu ao educando desenvolver os seus conhecimentos na investigação científica, quer numa componente teórica quer prática. O ensaio experimental permitiu também um melhor acompanhamento da produção bem como aprofundar o conhecimento do copépode parasita *Caligus minimus*, um dos agentes patogénicos com maior presença nas explorações aquícolas nacionais, e respectiva relação com o meio circundante.

Por último, com o desenvolvimento deste estágio curricular, o estudante teve a possibilidade de se inteirar das principais limitações do sector aquícola nacional, do seu enquadramento socioeconómico no país, bem como de perceber as futuras oportunidades de crescimento no sector.

Exposto o anterior, o estudante considera que o estágio curricular foi um enorme passo para a sua formação académica e saúda o ensino politécnico por, permitir aos seus estudantes a realização de um estágio curricular no 2º ano do mestrado.

6-Referências Bibliografia

- 1) Akif, E. R., & Kayis, S. (2015). Intensity and prevalence of some crustacean fish parasites in Turkey and their molecular identification. *Turk J Zool*, 39, 1142-1150.
- 2) Alvarez-Pellitero, P. (2008). Diseases caused by flagellates. IN: Fish Diseases, Volume 1, Eiras J.C., H.Segner, T.Wahli, and B.G. Kapoor (eds). Science Publishers: Enfield, NH, pp. 421-515.
- 3) Antonelli, L., Foata, J., Quilichini, Y., & Marchand, B. (2016). Influence of season and site location on European cultured sea bass parasites in Corsican fish farms using indicator species analysis (IndVal). *Parasitology research*, 115(2), 561-568.
- 4) PISCES Educational Series (2004). Farming Sea Bass & Sea Bream. La Tene Maps & Aquatt.

- 5) Bauer, O.N. (1959). The ecology of parasites of freshwater fish and the biological basis for their control. vol. 35. *English translation Office Tech. Service*, 1967, No. 61-31056, 236 p.
- 6) Bilei, S., Bugattella, S., Di Giamberardino, F., Saccares. S. & Gennari, L. (1996). Studies on winter disease outbreaks in ongrowing sea bream. In: International workshop on "sea bass and sea bream culture: problems and prospects". European Aquaculture Society, pp 243–244.
- 7) Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P., Arthur, J. R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R. & Shariff, M. (2005). Disease and health management in Asian aquaculture. *Veterinary parasitology*, 132(3-4), 249-272.
- 8) Borrego, J. J., Valverde, E. J., Labella, A. M., & Castro, D. (2017). Lymphocystis disease virus: its importance in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 9(2), 179-193.
- 9) Bossu, T., Bilei S., Finaia, M. G., Gennari, L., Ricci, G. & Saccares, S. (1997) Winter disease outbreak in cultured sea bream (*Sparus aurata*) in Italy. Biochemical, histopathological and bacteriological observations. In: Eur Assoc Fish Pathol Congress, Edinburgh Abstract.
- 10) Bovo, G., Borghesan, F., Comuzzi, M., Ceschias, G., & Giorgetti, G. (1995) "Winter disease" in orati di allevamento: osservazioni preliminary. *Boll Soc Ital Patol Ittica* 17:2–11.
- 11) Bowker, J. D., Trushenski, J. T., Gaikowski, M. P., & Straus, D. L. (2014). Guide to using drugs, biologics, and other chemicals in aquaculture. *American Fisheries Society Fish Culture Section*.
- 12) Boyd, C. E. (1997). Practical aspects of chemistry in pond aquaculture. *The Progressive Fish-Culturist*, 59(2), 85-93.
- 13) Boyd, C. E. & Tucker, C.S. (1998). Pond Aquaculture Water Quality Management. Springer Special Priced Edition. Springer Science + Business Media, LCC. Índia. IBSN 978-81-8489-186-7. Página 9.
- 14) Branson, E. (1996). Aquaculture Sea Lice- Clinical Signs and Treatment, The Veterinary Annual, Thirty-Sixth Issue.
- 15) Bro, R. & Smilde, A.K., (2014). Principal component analysis. *Royal Society of Chemistry. Analytical Methods* 6: 2812-2831
- 16) Cano, I., Ferro, P., Alonso, M.C., Sarasquete, C., Garcia-Rosado, E., Borrego, J.J. (2009a). Application of in situ detection techniques to determine the systemic condition of lymphocystis disease virus infection in cultured gilt-head seabream, *Sparus aurata* L. *Journal of Fish Diseases* 32: 143–150.
- 17) Cano. I., Lopez-Jimena. B., Garcia-Rosado, E., Ortiz-Delgado, J.B.,

- Alonso, M.C., Borrego, J.J. (2009b). Detection and persistence of Lymphocystis disease virus (LCDV) in *Artemia* sp. *Aquaculture* 291: 230–236.
- 18) Cano, I., Valverde, E. J., Garcia-Rosado, E., Alonso, M. C., Lopez-Jimena, B., Ortiz-Delgado, J. B., & Castro, D. (2013). Transmission of lymphocystis disease virus to cultured gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae. *Journal of fish diseases*, 36(6), 569-576.
- 19) Daniel, P. (2009). Drugs and chemicals in aquafeeds: The problems and solutions. *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture*, 85-94.
- 20) Doimi, M. (1996). A new winter disease in sea bream (*Sparus aurata*): a preliminary report. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 16:17–18.
- 21) Donaldson, M.R., Cooke, S.J., Patterson, D.A., Macdonald, J.S. (2008) Cold shock and fish. *J Fish Biol* 73:1491–1530.
- 22) Duarte, N., Rosa N., Santos, M. J. & Rebelo, J. (2000). Estudo de ectoparasitas das brânquias de robalo (*Dicentrarchus labrax* L.) da Ria de Aveiro. *Revista Biol. (Lisboa)* 18: 59-68.
- 23) Espaço Aquicultura. <https://eaquicultura.pt/principais-especies-cultivadas-em-portugal/>. Consultado em 29/01/2019.
- 24) European Union. 2017. Welfare of farmed fish: Common practices during transport and at slaughter. Luxemburgo. ISBN 978-92-79-75336-7 doi:10.2875/172078. Página 82, 84 e 112.
- 25) FAO. Fishstat. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/en. Consultado em 02/02/2019.
- 26) FAO. Fishstat. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en). Consultado em 02/02/2019.
- 27) FAO. http://www.fao.org/fishery/static/FAO_Training/FAO_Training/General/x6709e/x6709e15.htm. Consultado em 21/12/2018
- 28) Francis-Floyd, R., & Floyd, M. R. (2011). *Amyloodinium ocellatum, an important parasite of cultured marine fish*. Southern Regional Aquaculture Center.
- 29) Francis-Floyd, R., (1996). Bath treatment for sick fish. Florida Cooperative Extension Service Fact Sheet VM78. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. (Printed January 1992, reprinted May 1993, April 1996.).
- 30) Galeotti, M., Contessi, B., Volpatti, L., Fusmani, L., Maltese, C., Multinetti, F., Borghesan, F., Gennari, L. & Bovo, G. (1999) “Winter disease” in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*):

- etiopathological and immunological aspects. In: European association of fish pathologists 9th international conference “diseases and fish and shellfish”.
- 31) Gallardo, M.A., Sala-Rabanal, M., Ibarz, A., Padrós, F., Blasco, J., Fernández, J. & Sánchez, J. (2003) Functional alterations associated with the ‘winter syndrome’ in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 223:15–27.
- 32) Groner, M. L., McEwan, G. F., Rees, E. E., Gettinby, G., & Revie, C. W. (2016). Quantifying the influence of salinity and temperature on the population dynamics of a marine ectoparasite. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 73(8), 1281-1291.
- 33) Helena, B., Pardo, R., Vega, M., Barrado, E. & Fernández, L., (2000). Temporal evolution of groundwater composition in an alluvial aquifer (Pisuerga River, Spain) by principal component analysis. *Water Research* 34: 807-816
- 34) Ho, J. S., & Lin, C. L. (2004). *Sea Lice of Taiwan: Copepoda, Siphonostomatoidea, Caligidae*. Sueichan Press.
- 35) Hodneland, K., Nylund, A., Nilsen, F. & Midttun, B. (1993). The effect of nuvon, azemetifos and hydrogen peroxide on salmon lice (*L. salmonis*), Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 13 (6), 203.
- 36) Hossain, M., Kim, S. R., Kitamura, S. I., Kim, D. W., Jung, S. J. & Nishizawa, T. (2009). Lymphocystis disease virus persists in the epi- dermal tissues of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Tem- minch & Schlegel), at low temperatures. *Journal of Fish Diseases* 32: 699–703.
- 37) Ibarz, A., Padrós, F., Gallardo, M. Á., Fernández-Borràs, J., Blasco, J., & Tort, L. (2010). Low-temperature challenges to gilthead sea bream culture: review of cold-induced alterations and ‘Winter Syndrome’. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20(4), 539-556.
- 38) INE/DGRM. <https://rea.apambiente.pt/content/produ%C3%A7%C3%A3o-em-aquicultura>. Consultado em 29/01/2019.
- 39) Iwamoto, R., Hasegawa, O., LaPatra, S. & Yoshimizu, M. (2002). Isolation and characterization of the Japanese flounder (*Par- alichthys olivaceus*) lymphocystis disease virus. *Journal of Aquatic Animal Health* 14: 114–123.
- 40) Jancovich, J.K., Chinchar, V.G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Williams, T. & Zhang, Q. Y. (2012) Family Iridoviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz E (eds) *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy*

- of Viruses, pp. 193–210. Elsevier Academic Press, San Diego.
- 41) Zar, H. J. (2010). *Biostatistical Analysis*, 5th Edition. Northern Illinois University, Pearson.
- 42) Kabata, Z. (1979). Parasitic copepoda of British fishes. *Ray Society, London*, 152, 1-468.
- 43) Khidr, A. A. A., Samak, O. A. A., Ashraf, E. S., & Marwa, M. (2013). Morphology and anatomy of egg and oncomiracidium of the monogenean gill parasite *Diplectanum aequanus*.
- 44) Khoa, T. N. D., Mazelan, S., Muda, S., & Shaharom-Harrison, F. (2018). The Life Cycle of *Caligus minimus* on Seabass (*Lates calcarifer*) from Floating Cage Culture. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 1-9.
- 45) Landsberg, G., Vermeer, G.K., Richards, S.A. & Perry, N. (1991). Control of the parasitic Copepod *Caligus elongatus* on Pond-Reared Red Drum. *J. Aquatic Animal Health* 3, 206-209.
- 46) Le Breton, A. (1996). An overview of the main infectious problems in cultured seabass *Dicentrarchus labrax* and seabream *Sparus aurata*: solutions? In: International workshop on “sea bass and sea bream culture: problems and prospects”. European Aquaculture Society, pp 67–86.
- 47) Margolis, L., Kabata, Z. & Parker, R.R. (1965). Catalogue and synopsis of *Caligus*. A genus of copepoda (Crustacena) parasitic on fishes. *Bull. Fish Res. Board Canada*, 1965 (192), 117 p.
- 48) Matsuoka, S. (1995). Occurrence of viral, parasitic and other non bacterial diseases in cultured marine finfish in Ehime Prefecture from 1961 to 1993. *Suisanzoshoku* 43: 535–541.
- 49) Milner, F. A., & Patton, C. A. (2001). Existence of solutions for a host–parasite model. *Journal of computational and applied mathematics*, 137(2), 331-361.
- 50) Montero, D., Izquierdo, M.S., Tort, L., Robaina, L. & Vergara, J. M. (1999) High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol Biochem* 20:53–60.
- 51) Noga, E. J. (2010). *Fish Disease Diagnose and Treatment*. Second ed. Iowa, USA: Wiley - Blackwell.
- 52) Ortega, A. (2008). Cultivo de dorada. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Madrid. M-56975-2008. Página 5-10.
- 53) Ortega, A. (2013). Cultivo de lubina. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Madrid. e-ISBN: 978-84.00.09589-5. Página 5-10.

- 54) Özak, A. A. (2006). Studies on the biology of parasitic Copepoda; *Caligus minimus*, Otto, 1821 on sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758). *Degree Diss., University of Çukurova, Turkey*.
- 55) Paperna, I., Sabnai, I. & Colorni, A., (1982). An outbreak of lymphocystis in *Sparus aurata* L. in the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Journal of Fish Diseases* 5: 433–437.
- 56) Paperna, I. (1980). Study of *Caligus minimus* (Otto, 1821), (Caligidae Copepoda) infections of the sea Bass *Dicentrarchus labrax* (L.) in Bardawil lagoon. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 55(6), 687-706.
- 57) Paperna, I. (1984). Reproduction cycle and tolerance to temperature and salinity of *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellida). *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 59:7-30.
- 58) Papoutsoglou, S., Costello, M. J., & Tziha, G. (1996). Environmental conditions at sea-cages, and ectoparasites on farmed European sea-bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), and gilt-head sea-bream, *Sparus aurata* L., at two farms in Greece. *Aquaculture Research*, 27(1), 25-34.
- 59) Parmenter, R. R., & Lamarra, V. A. (1991). Nutrient cycling in a freshwater marsh: the decomposition of fish and waterfowl carrion. *Limnology and Oceanography*, 36(5), 976-987.
- 60) Patarnello, P. & Vendramon, N. (2017). A practical approach to disease control and Health management. 5m publishing. Página 77-80.
- 61) Pike, A.W. (1989). Sea Lice- Major Pathogens of Farmed Atlantic Salmon, *Parasitology today*, 5 (9), 291-297.
- 62) Portal do estado do Ambiente em Portugal. Disponível em <https://rea.apambiente.pt/content/produ%C3%A7%C3%A3o-em-aquicultura>. Visto em 31/10/18
- 63) Rodgers, C. J., & Furones, M. D. (2009). Antimicrobial agents in aquaculture: practice, needs and issues. *Options Méditerranéennes*, 86, 41-59.
- 64) Rotllant, J., Balm, P. H. M., Pérez Sánchez, J., Wendelaar Bonga S.E. & Tort, L. (2001). Pituitary and interrenal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Teleostei) after handling and confinement stress. *Gen Comp Endocrinol* 121:333–342.
- 65) Samalecos, C. P. (1986) Analysis of the structure of fish lympho- cystis disease virions from skin tumours of *Pleuronectes*. *Archives of Virology* 91: 1–10.
- 66) Sano, T., (1988). Control of fish disease, and the use of drugs and vaccines in Japan. *Journal of Applied Ichthyology* 14: 131–137.

- 67) Science learn. Disponível em <https://www.sciencelearn.org.nz/resources/686-ocean-salinity>. Visto em 31/12/18.
- 68) Sekkin, S., & Kum, C. (2011). Antibacterial drugs in fish farms: application and its effects. In *Recent Advances in Fish Farms*. InTech.
- 69) Sheng, X.Z., Zhan, W. B., Xu, S. & Cheng S (2007) Histopathological observation of lymphocystis disease and lymphocystis disease virus (LCDV) detection in cultured diseased *Sebastes schlegeli*. *Journal of Ocean University of China* 6: 378–382.
- 70) Spitzer, R. H. , Koch, E. A. , Reid, R. B. & Downing, S. B. (1982). Metabolic- morphologic characteristics of the integument of teleost fish with mature lymphocystis nodules. *Cell and Tissue Research* 222: 339–357.
- 71) Subasinghe, R. (2009). Disease control in aquaculture and the responsible use of veterinary drugs and vaccines: the issues, prospects and challenges. In: Rogers C. (ed.), Basurco B. (ed.). *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture*. Zaragoza : CIHEAM. p. 5-11 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 86).
- 72) Sunyer, J.O. & Tort, L. (1995). Natural haemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by the alternative complement pathway. *Vet Immunol Immunopathol* 45:333–345.
- 73), T. T., & Percin, F. (2012). Ectoparasitic sea lice, *Caligus minimus* (Otto 1821, Copepoda: Caligidae) on Brawn wrasse, *Labrus merula* L., in Izmir Bay, Aegean Sea. *Italian Journal of Animal Science*, 11(2), e38.
- 74) Ter Braak, C. J. F. & Šmilauer, P. (2002). CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). Microcomputer Power.
- 75) Thermofisher. <https://www.thermofisher.com/us/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>. Consultado em 29/01/19
- 76) Toksen, E., Çağrgan, H., Tanrikul, T. & Saygı, H. (2006). The Effect of Emamectin Benzoate in the Control of *Lernanthropus kroyeri* (van Beneden, 1851) (Lernanthropidae) Infestations in Cultured Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)", *TUBĐTAK, Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 30, 405-409.
- 77) Toksen, E., Nemli, E., Koyuncu, E., & Cankurt, M. (2012). Effect of trichlorfon on *Diplectanum aequans* (Monogenea: Diplectanidae) infestations in cultured sea bass,

- Dicentrarchus labrax*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 32(3), 103.
- 78) Toksen, E., Tanrikul, T. T., Balta, F., & Koyuncu, E. (2010). Treatment Trials of Parasites of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) and Sea Bream (*Sparus aurata*) in Turkey.
- 79) Toksen, E. (1999). Metazoan gill parasites of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in Aegean Sea coast and their treatment. PhD Thesis, 10.7777.10000.000, Ege University, Institute of Science and Tecnology, Đzmir, Turkey.
- 80) Toranzo, A. E., Magarinos, B., & Romalde, J. L. (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246(1-4), 37-61.
- 81) Tort, L., Padrós, F., Rotllant, J. & Crespo, S. (1998) Winter syndrome in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. Immunological and histopathological features. *Fish Shellfish Immunol* 8:37–47.
- 82) Tort; L., Sunyer, J, O., Gómez, E. & Molinero, A. (1996). Crowding stress induces changes in serum haemolytic and agglutinating activity in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Vet Immunol Immunopathol* 51:179–188.
- 83) Vagianou, S., Athanassopoulou, F., Ragias, V., Di Cave, D., Leontides, L., & Golomazou, E. (2006). Prevalence and pathology of ectoparasites of Mediterranean Sea bream and sea bass reared under different environmental and aquaculture conditions.
- 84) Vandeputte, M., Dupont-Nivet, M., Chavanne, H., & Chatain, B. (2007). A polygenic hypothesis for sex determination in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Genetics*.
- 85) Veja, M., Pardo, R., Barrado, E. & Debán, L., (1998). Assessment of seasonal and polluting effects on the quality of river water by exploratory data analysis. *Water Research*, 32(12): 3581-3592
- 86) Walker, D.P. & Hill, B. J. (1980). Studies on the culture assay of infectivity and some in vitro properties of lymphocystis virus. *Journal of General Virology* 51: 385–395.
- 87) Walker, R. (1962). Fine structure of lymphocystis virus of fish. *Virology* 18: 503–505.
- 88) Wolf, K. (1962). Experimental propagation of lymphocystis disease of fishes. *Virology* 18: 249–256.
- 89) Wolf, K. (1988). *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. Cornell University Press, Ithaca.
- 90) Xing, J., Sheng, X., & Zhan, W. (2006). Lymphocystis disease and diagnostic methods in China. *Aquac Asia Mag XI*, 30-33.
- 91) Zambrano, J. L. F., Dezón, D. E., González, C. R. & Fermín, E. G. (2001)

Ciclo de vida de *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellata: Oodinidae).

7-Referências figuras.

Fig. 4- Med4fish. Disponível em [https://ec.europa.eu/fisheries/inseparable/en/medfish4ever#quicktabs-](https://ec.europa.eu/fisheries/inseparable/en/medfish4ever#quicktabs-medfish4ever=2)

medfish4ever=2. Visto a 31/10/2018

Fig. 5- Med4fish. Disponível em [https://ec.europa.eu/fisheries/inseparable/en/medfish4ever#quicktabs-](https://ec.europa.eu/fisheries/inseparable/en/medfish4ever#quicktabs-medfish4ever=2)

medfish4ever=2. Visto a 31/10/2018.

Fig. 11- Francis-Floyd, R. (1996). Bath treatment for sick fish. Florida Cooperative Extension Service Fact Sheet VM78. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. (Printed January 1992, reprinted May 1993, April 1996.).

Fig. 12- Daniel, P. (2009). Drugs and chemicals in aquafeeds: The problems and solutions. *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture*, 85-94.

Fig. 13- Birincioğlu, S. S., Aydoğan, A. & Avcı, H. (2013). Pathological Investigations of Winter-like Disease in Cultured Sea Breams (*Sparus aurata*). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2).

Fig. 14- Padrós, F., Gallardo, M. Á., Fernández-Borràs, J., Blasco, J., & Tort, L. (2010). Low-temperature challenges to gilthead sea bream culture: review of cold-

induced alterations and ‘Winter Syndrome’. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20(4), 539-556.

Fig. 15- Padrós, F., Gallardo, M. Á., Fernández-Borràs, J., Blasco, J., & Tort, L. (2010). Low-temperature challenges to gilthead sea bream culture: review of cold-induced alterations and ‘Winter Syndrome’. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 20(4), 539-556.

Fig. 16.a - Kvitt, H., Heinisch, G., & Diamant, A. (2008). Detection and phylogeny of Lymphocystivirus in sea bream *Sparus aurata* based on the DNA polymerase gene and major capsid protein sequences. *Aquaculture*, 275(1-4), 58-63.

Fig 16.b- López-Bueno, A., Mavian, C., Labella, A. M., Castro, D., Borrego, J. J., Alcamí, A., & Alejo, A. (2016). Concurrence of iridovirus, polyomavirus and a unique member of a new group of fish papillomaviruses in lymphocystis disease affected gilthead seabream. *Journal of virology*, JVI-01369.

Fig. 17.d- Tanrikul, T. T., & Percin, F. (2012). Ectoparasitic sea lice, *Caligus minimus* (Otto 1821, Copepoda: Caligidae) on Brawn wrasse, *Labrus merula* L., in

Izmir Bay, Aegean Sea. *Italian Journal of Animal Science*, 11(2), e38.

Fig. 18.a- Khoa, T. N. D., Mazelan, S., Muda, S., & Shaharom-Harrison, F. (2018). The Life Cycle of *Caligus minimus* on Seabass (*Lates calcarifer*) from Floating Cage Culture. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 1-9.

Fig. 18.b- Khoa, T. N. D., Mazelan, S., Muda, S., & Shaharom-Harrison, F. (2018). The Life Cycle of *Caligus minimus* on Seabass (*Lates calcarifer*) from Floating Cage Culture. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 1-9.

Fig. 19.a- Khoa, T. N. D., Mazelan, S., Muda, S., & Shaharom-Harrison, F. (2018). The Life Cycle of *Caligus minimus* on Seabass (*Lates calcarifer*) from Floating Cage Culture. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 1-9.

Fig. 19.b- Khoa, T. N. D., Mazelan, S., Muda, S., & Shaharom-Harrison, F. (2018). The Life Cycle of *Caligus minimus* on Seabass (*Lates calcarifer*) from Floating Cage Culture. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences*, 1-9.

Fig. 20.a- Duarte, N., Rosa N., Santos, M. J. & Rebelo, J. (2000). Estudo de ectoparasitas das brânquias de robalo (*Dicentrarchus labrax* L.) da Ria de Aveiro. *Revista Biol. (Lisboa)* 18: 59- 68.

Fig. 20.b- Duarte, N., Rosa N., Santos, M. J. & Rebelo, J. (2000). Estudo de ectoparasitas das brânquias de robalo

(*Dicentrarchus labrax* L.) da Ria de Aveiro. *Revista Biol. (Lisboa)* 18: 59- 68.

Fig. 21.a- Colorni, A., & Diamant, A. (2005). Hyperparasitism of trichodinid ciliates on monogenean gill flukes of two marine fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 65(2), 177-180.

Fig. 21.b- Colorni, A., & Diamant, A. (2005). Hyperparasitism of trichodinid ciliates on monogenean gill flukes of two marine fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, 65(2), 177-180.

Fig. 22.a- Khidr, A. A. A., Samak, O. A. A., Ashraf, E. S., & Marwa, M. Morphology and anatomy of egg and oncomiracidium of the monogenean gill parasite *Diplectanum aequanus*.

Fig. 22.b- Khidr, A. A. A., Samak, O. A. A., Ashraf, E. S., & Marwa, M. Morphology and anatomy of egg and oncomiracidium of the monogenean gill parasite *Diplectanum aequanus*.

Fig. 23.a- Khidr, A. A. A., Samak, O. A. A., Ashraf, E. S., & Marwa, M. Morphology and anatomy of egg and oncomiracidium of the monogenean gill parasite *Diplectanum aequanus*.

Fig. 23.b- Khidr, A. A. A., Samak, O. A. A., Ashraf, E. S., & Marwa, M. Morphology and anatomy of egg and oncomiracidium of the monogenean gill parasite *Diplectanum aequanus*.

Fig. 24.a- Zambrano, J. L. F., Dezón, D. E., González, C. R. & Fermín, E. G. (2001)

Ciclo de vida de *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellata: Oodinidae).
Fig. 24.b- Zambrano, J. L. F., Dezón, D. E., González, C. R. & Fermín, E. G. (2001)
Ciclo de vida de *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellata: Oodinidae).
Fig. 25.a- Zambrano, J. L. F., Dezón, D. E., González, C. R. & Fermín, E. G. (2001)
Ciclo de vida de *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) (Dinoflagellata: Oodinidae).

Fig. 25.b- Landsberg, J. H., Steidinger, K. A., Blakesley, B. A., & Zondervan, R. L. (1994). Scanning electron microscope study of dinospores of *Amyloodinium ocellatum*, a pathogenic dinoflagellate parasite of marine fish, and comments on its relationship to the Peridiniales. *Dis. Aquat. Org.*, 20, 23-32.

8-Anexos

8.1-Teste *Kruskal-Wallis*

Pressupostos para a realização de uma ANOVA:

- 1- Normalidade
- 2- Homogeneidade de variância

Tab. 1. Resultado dos testes de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk* para os valores da variável dependente (número de parasitas) dos diferentes meses do ensaio.

Testes de Normalidade							
Mês		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estatística	df	Sig.	Estatística	df	Sig.
Total Parasitas	Março	0,108	16	,200 [*]	0,980	16	0,964
	Abril	0,337	10	0,002	0,727	10	0,002
	Maio	0,310	4		0,833	4	0,177
	Junho	0,278	4		0,832	4	0,174
	Julho	0,226	8	,200 [*]	0,919	8	0,420
	Agosto	0,166	8	,200 [*]	0,969	8	0,890
	Setembro	0,157	11	,200 [*]	0,974	11	0,926
*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.							
a. Correlação de Significância de Lilliefors							

Os dados apresentam uma distribuição normal para todos os meses com exceção feita ao mês de Abril em que $p=0,002$. Desta feita, na sua totalidade, os dados não apresentam distribuição normal pelo que o pressuposto não se verifica.

Tab. 2. Resultado do teste de homogeneidade de variância para os valores da variável dependente (número de parasitas) do ensaio experimental.

Teste de Homogeneidade de Variância					
		Estatística de Levene	df1	df2	Sig.
Total Parasitas	Com base em média	3,467	6	54	0,006
	Com base em mediana	2,204	6	54	0,057
	Com base em mediana e com df ajustado	2,204	6	24,377	0,077
	Com base em média aparada	3,395	6	54	0,006

Para o teste de homogeneidade de variância foi obtido $p=0,006$ pelo que os dados não são homogêneos, não se cumprindo novamente o pressuposto.

Uma vez que os dois pressupostos para a realização de uma ANOVA não se verificaram, foi utilizado um teste não-paramétrico. Para o efeito, foi escolhido o teste *Kruskal-Wallis*, equivalente não paramétrico da ANOVA de 1 via.

Tab. 3. Resultado do teste *Kruskal-Wallis* realizado para a verificação da validade da H_0 “Distribuição de total de parasitas é a mesma entre categorias do Mês”.

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	A distribuição de Total Parasitas é a mesma entre as categorias de Mês.	Teste de Kruskal-Wallis de Amostras Independentes	,000	Rejeitar a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

Realizado o teste Kruskal-Wallis foi obtido um $p=0,000$ pelo que a hipótese nula é rejeitada. Assim, confirma-se que a distribuição do total de parasitas por amostra varia consoante o mês em que a recolha de amostras ocorreu.

Para determinar quais os meses mais díspares entre si, foi realizado um teste de comparações múltiplas.

Tab. 4. Teste de comparações múltiplas *Games-Howell* para a determinação de diferenças significativas entre meses nos valores da variável dependente (número de parasitas).

Variável dependente: Games-Howell (I) Mês	Total Parasitas	Diferença média (I-J)	Erro Erro	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Março	Abril	13,738 [*]	3,301	0,007	3,03	24,45
	Maio	12,188	3,348	0,058	-0,36	24,73
	Junho	-24,813	8,309	0,249	-69,78	20,16
	Julho	-20,813	8,223	0,260	-52,07	10,45

	Agosto	-43,563 [†]	6,807	0,002	-68,99	-18,14
	Setembro	-21,108 [†]	3,883	0,000	-33,85	-8,37
Abril	Março	-13,738 [†]	3,301	0,007	-24,45	-3,03
	Maio	-1,550	3,484	0,999	-14,55	11,45
	Junho	-38,550	8,365	0,077	-83,12	6,02
	Julho	-34,550 [†]	8,279	0,030	-65,84	-3,26
	Agosto	-57,300 [†]	6,875	0,000	-82,79	-31,81
	Setembro	-34,845 [†]	4,001	0,000	-48,05	-21,64
Maio	Março	-12,188	3,348	0,058	-24,73	0,36
	Abril	1,550	3,484	0,999	-11,45	14,55
	Junho	-37,000	8,384	0,088	-81,60	7,60
	Julho	-33,000 [†]	8,298	0,039	-64,41	-1,59
	Agosto	-55,750 [†]	6,898	0,000	-81,47	-30,03
	Setembro	-33,295 [†]	4,041	0,000	-47,54	-19,05
Junho	Março	24,813	8,309	0,249	-20,16	69,78
	Abril	38,550	8,365	0,077	-6,02	83,12
	Maio	37,000	8,384	0,088	-7,60	81,60
	Julho	4,000	11,256	1,000	-38,54	46,54
	Agosto	-18,750	10,267	0,572	-59,64	22,14
	Setembro	3,705	8,612	0,999	-39,30	46,71
Julho	Março	20,813	8,223	0,260	-10,45	52,07
	Abril	34,550 [†]	8,279	0,030	3,26	65,84
	Maio	33,000 [†]	8,298	0,039	1,59	64,41
	Junho	-4,000	11,256	1,000	-46,54	38,54
	Agosto	-22,750	10,198	0,341	-57,79	12,29
	Setembro	-0,295	8,528	1,000	-31,71	31,12
Agosto	Março	43,563 [†]	6,807	0,002	18,14	68,99
	Abril	57,300 [†]	6,875	0,000	31,81	82,79
	Maio	55,750 [†]	6,898	0,000	30,03	81,47
	Junho	18,750	10,267	0,572	-22,14	59,64
	Julho	22,750	10,198	0,341	-12,29	57,79
	Setembro	22,455	7,173	0,101	-3,33	48,24
Setembro	Março	21,108 [†]	3,883	0,000	8,37	33,85
	Abril	34,845 [†]	4,001	0,000	21,64	48,05
	Maio	33,295 [†]	4,041	0,000	19,05	47,54
	Junho	-3,705	8,612	0,999	-46,71	39,30
	Julho	0,295	8,528	1,000	-31,12	31,71
	Agosto	-22,455	7,173	0,101	-48,24	3,33

Como é possível verificar pelo valor da diferença média (I-J), os meses de Agosto e Abril são os que apresentam maiores diferenças entre si.

8.2-Regressão linear múltipla

Para determinar a relação entre as variáveis independentes (temperatura, salinidade e oxigênio dissolvido) e a variável dependente (total de parasitas), foi realizada uma regressão linear múltipla. Após executado o teste, foram obtidos três modelos explicativos da distribuição do número de parasitas.

Tab. 1. Resumo dos coeficientes de correlação linear para os três modelos estudados (a,b,c).

Modelo	R	R quadrado	R quadrado ajustado	Erro padrão da estimativa
1	,712 ^a	0,506	0,497	15,996
2	,745 ^b	0,556	0,539	15,316
3	,789 ^c	0,623	0,601	14,243
a. Preditores: (Constante), Salinidade				
b. Preditores: (Constante), Salinidade, Temperatura				
c. Preditores: (Constante), Salinidade, Temperatura, Oxigênio				

Tab. 2. Significância dos modelos da regressão linear múltipla.

Modelo		Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
1	Regressão	14435,015	1	14435,015	56,414	,000 ^b
	Resíduo	14073,126	55	255,875		
	Total	28508,140	56			
2	Regressão	15841,221	2	7920,610	33,766	,000 ^c
	Resíduo	12666,920	54	234,573		
	Total	28508,140	56			
3	Regressão	17755,809	3	5918,603	29,174	,000 ^d
	Resíduo	10752,331	53	202,874		
	Total	28508,140	56			
a. Variável Dependente: Total Parasitas						
b. Preditores: (Constante), Salinidade						
c. Preditores: (Constante), Salinidade, Temperatura						

d. Preditores: (Constante), Salinidade, Temperatura, Oxigênio

Observando a significância dos três modelos existentes, verificamos que todos são estatisticamente significativos ($p < 0,05$). Desta feita, considerando que o modelo 3 é o que apresenta um R (=0,789) e, por inerência, R^2 (=0,623) superior, então é sobre este que se deve incidir a interpretação. Como podemos verificar na tabela 1, este modelo explica 62,3% das variações no total de parasitas observadas pela actuação conjunta dos três parâmetros.

Tab. 3. Coeficientes dos modelos da regressão linear múltipla.

Modelo		Coeficientes não padronizados		Coeficientes padronizados	t	Sig.
		B	Erro Erro	Beta		
1	(Constante)	-27,981	8,246		-3,393	0,001
	Salinidade	2,336	0,311	0,712	7,511	0,000
2	(Constante)	-34,855	8,380		-4,159	0,000
	Salinidade	1,440	0,472	0,439	3,054	0,003
	Temperatura	1,629	0,665	0,352	2,448	0,018
3	(Constante)	-114,417	27,046		-4,230	0,000
	Salinidade	1,940	0,468	0,591	4,148	0,000
	Temperatura	3,196	0,802	0,690	3,985	0,000
	Oxigênio	7,736	2,518	0,533	3,072	0,003

Após observação da tabela 3 é ainda possível observar que o modelo 3 é individualmente significativo para todos os parâmetros em estudo. Ademais, por análise da tabela 3 é igualmente possível obter a equação para o modelo 3.

$$Yn^{\circ} \text{ parasitas} = -114,417 + 1,940(\text{Sal}) + 3,196(T^{\circ}) + 7,736 (O_2)$$

Por último, para concluir esta análise, foram realizadas regressões lineares para cada um dos parâmetros isoladamente.

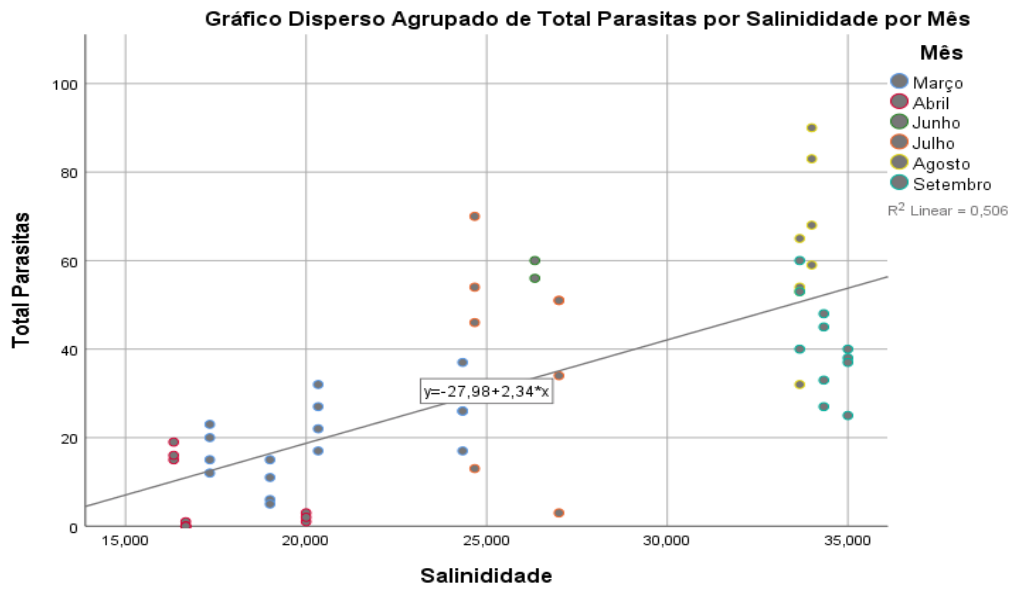


Fig. 1. Diagrama de dispersão da regressão linear do total parasitas por amostra explicado pelas variações na salinidade.

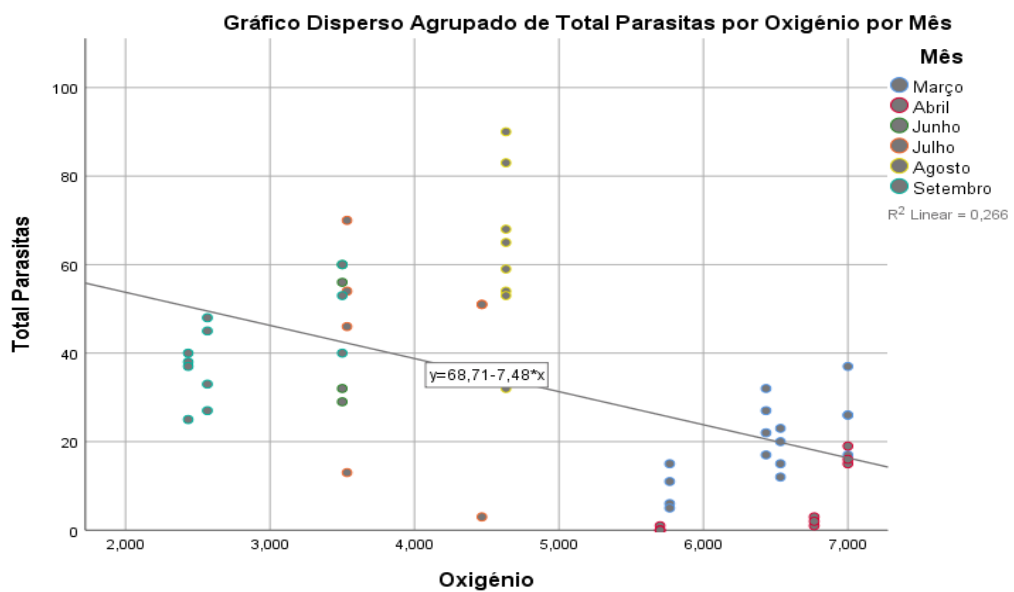


Fig. 2. Diagrama de dispersão da regressão linear do total parasitas por amostra explicado pelas variações no oxigênio dissolvido.

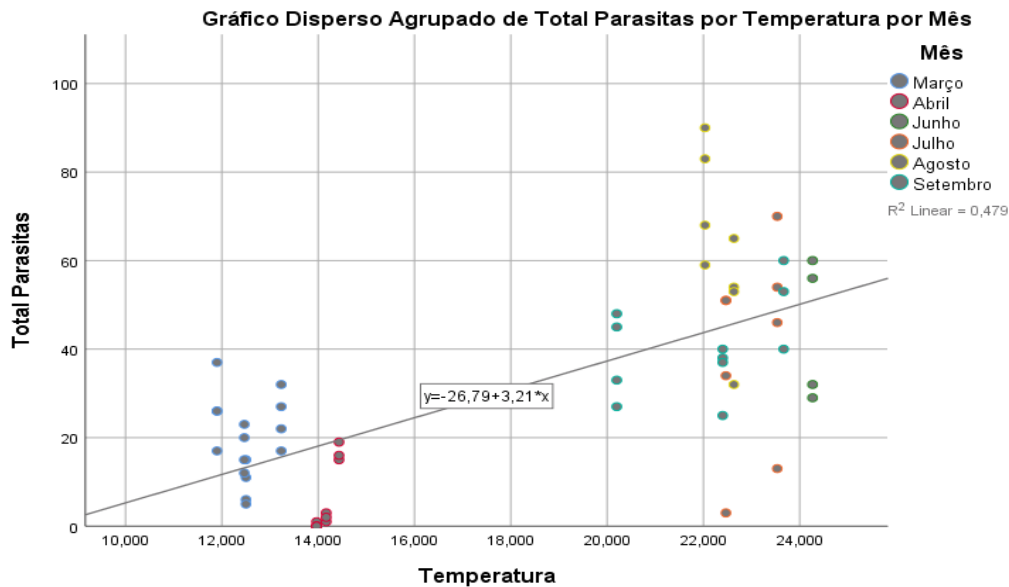


Fig. 3. Diagrama de dispersão da regressão linear do total parasitas por amostra explicado pelas variações na temperatura.

8.3-Áreas de intervenção de um aquacultor numa produção aquícola

Embora não raras vezes as áreas de intervenção de um profissional formado em aquacultura aparentemente se sobrepor às áreas de intervenção de um médico veterinário e vice-versa, um olhar mais cuidado permite-nos constatar que, embora existam linhas convergentes entre si, os seus pontos de actuação divergem com frequência numa produção aquícola. Desta feita, e partindo de um ponto de vista superficial, podemos categorizar as áreas de intervenção de um aquacultor em quatro tópicos: 1) Gestão e maneio da produção 2) Impacto Ambiental 3) Formação 4) Infraestruturas.

1)Gestão e maneio de produção

O aquacultor deve, *ab initio*, interiorizar que toda e qualquer produção é em última instância um ecossistema, sendo as interacções da cultura com o meio envolvente um factor determinante para o sucesso da produção. Depreende-se daqui que uma boa gestão do ecossistema produtivo constitui um pilar fundamental para a optimização da produção, devendo esta ser substanciada de forma permanente na elaboração e execução dos procedimentos correntes de uma exploração. Sem surpresa, esta gestão constitui um exercício extremamente exigente que obriga a uma formação adequada dos seus intervenientes dada a complexidade, ainda que variável mediante o regime de produção, inerente a um qualquer ecossistema, que se distribui

em vertentes como as comunidades microbianas, planctônicas, nectônicas, fotossintéticas, parasitárias, os organismos do pleuston e do neuston, cadeias tróficas, parâmetros físico-químicos da água e ciclos de nutrientes.

O início do processo de gestão ecossistêmica remete-nos em primeiro plano para a avaliação da densidade populacional mais adequada ao sistema de cultivo existente e às condições da piscicultura e do meio envolvente. Este tópico é especialmente importante numa produção, uma vez que a incorrecta determinação por excesso (erro mais comum) pode resultar na deterioração da qualidade dos recursos hídricos, na indução de stresse na produção, no aumento das taxas de mortalidade, na redução das taxas de conversão alimentar, no prolongar dos ciclos produtivos e na redução das valias financeiras. Por outro lado, a incorrecta determinação por escassez de densidade, ainda que sem efeitos tão impactantes, resulta no subaproveitamento das potencialidades da exploração, diminuindo a rentabilidade productiva e financeira das explorações. Considerando ainda que, com exceção feita a regimes extensivos, os regimes produtivos se caracterizam por altos *inputs* de energia (Boyd et al., 1998), este deve ser outro aspecto a ter em consideração ao abordar a relação do ecossistema com o cultivo. De entre estes, a alimentação é, sem surpresa, o input mais comum na produção. Neste, o aquacultor deve ter como primeiro ponto de foco a adequação das quantidades fornecidas às necessidades do cultivo, devendo ao máximo evitar a sobredosagem alimentar e consequente deterioração da qualidade da água, não raras vezes, associada ao aparecimento de agentes patogénicos, bactérias anaeróbicas e stresse da cultura. Neste ponto, o aquacultor deve suportar a sua decisão em variáveis como os parâmetros da qualidade da água, a fase de produção do cultivo, o comportamento intrínseco à espécie e momentâneo do cultivo (ex. presença de predadores, ruído sonoro, stresse, etc...) e ainda o seu estado fisiológico. A adequada interpretação das suas variáveis e a adaptação do regime alimentar às mesmas exige *know-how* prévio que um aquacultor deve adquirir durante a sua formação e experiências profissionais. Ademais, aquando da definição do regime alimentar, o aquacultor deve ter ainda em consideração os produtos constituintes e sua qualidade, procurando ao máximo reduzir a carga fecal resultante da alimentação, de onde derivam contrariedades em todos semelhantes às associadas à sobredosagem e que obrigam ainda o aquacultor a aumentar a carga alimentar, de forma a corresponder aos requisitos energéticos metabólicos e crescimento do cultivo. Assim, facilmente percebemos que uma errada alimentação desencadeia aumento de custos alimentares e deterioração dos recursos hídricos, o que obriga a adoptar medidas de mitigação e a custos adjacentes, prolongamento do ciclo produtivo, associado à redução e adiamento de

retorno financeiro, e ainda, muitas vezes, ao incremento no impacto ambiental ou, em alternativa, nos gastos para o evitar/mitigar.

Já no referente aos *inputs* por fertilização, estes surgem maioritariamente associada à produção em tanques, viveiros e esteiros. A fertilização é utilizada com o objetivo principal de eutrofizar o cultivo, estimulando o desenvolvimento de fitoplacton, macro e microalgas que suportem a alimentação da cultura, quer de forma directa quer de forma indirecta ao substanciarem o desenvolvimento dos níveis heterotróficos dos quais a espécie alvo se alimenta. Por último temos o input do aquecimento da água. Este deve considerar dois eixos principais, sendo o primeiro a temperatura óptima para o desenvolvimento da espécie e o segundo os efeitos do aumento da temperatura no ecossistema, nomeadamente na flora e fauna existente e na respectiva relação com o cultivo. Assim, estes dois pontos devem ser tidos em consideração aquando da determinação do valor de temperatura óptimo, que deve ser igualmente adaptado consoante variações nos factores abióticos e bióticos que o justifiquem, sendo essencial, mais uma vez, conhecimentos biológicos para a sua correcta interpretação.

Ainda que inegável a importância dos pontos últimos, não menos negligenciável é a imperiosidade de uma gestão rigorosa e constante dos valores dos parâmetros de qualidade da água. Estes, quando fora do intervalo de valores óptimos, além de proporcionarem o aparecimento de agentes patogénicos, como anteriormente abordado, representam ainda uma fonte considerável de stresse nos peixes que pode ter como fim último a morte do cultivo. Assim, o aquacultor deve, de forma permanente monitorizar estes parâmetros, actuando a montante para evitar a sua degradação e, ainda, a jusante quando as circunstâncias o exigem, o que, não raras vezes, implica uma gestão de risco, onde o *know-how* assume uma variante crítica nos resultados dessa mesma gestão. Desta feita, este ponto requer a presença de um profissional especializado que não só saiba inferir o efeito directo dos parâmetros nos peixes, como também, na dinâmica ecossistémica do cultivo, nomeadamente ao nível das comunidades de zooplacton, macro e microalgas, agentes patogénicos, e organismo bentónicos.

Mas se o manejo de produção obriga, por um lado, a um foco constante no meio envolvente para otimizar o cultivo, por outro também exige uma atenção permanente no manejo da espécie em si. Neste ponto, o aquacultor deve assegurar que: 1) o cultivo se encontra o mais homogéneo possível, evitando desencadear desvantagens competitivas demasiado acentuadas de onde, não raras vezes, resulta o canibalismo; 2) o estado fisiológico do peixe é o adequado e agindo, quando o mesmo não se verifica (lesões e patógenos); 3) são utilizados os

prodecimentos, técnicas e equipamentos adequados para as operações ordinárias e extraordinárias de manejo e que estas são executadas no período adequado; 4) o abate dos exemplares ocorre com o menor sofrimento e stresse possível garantindo a qualidade adequada para a sua comercialização; 5) as relações hierárquicas existentes no cardume se estabilizam, aspecto fundamental para a normalização do comportamento dos exemplares; e por fim 6) deve ainda garantir que as práticas da produção estão adaptadas às especificadas comportamentais gerais e momentâneas de cada espécie, reformulando-as quando as mesmas divergem do padrão adequado.

Ainda dentro desta esfera, o manejo de exemplares encaminha-nos igualmente para a necessidade de elaborar e aplicar um plano profilático para a produção. Ainda que dúbia a fronteira que separa a actuação de um veterinário e de aquacultor na profilaxia de uma exploração aquícola, esta ao ser fundamental para o sucesso de uma produção, obriga a que a sua gestão seja realizada por um profissional com conhecimentos na área, sendo fortemente aconselhável a presença de pelo menos um aquacultor/veterinário que possua as competências necessárias para assumir esta pasta.

Neste seguimento, o aquacultor deve elaborar um conjunto de medidas higieno-sanitárias que evitem a indução de stresse nos peixes, a introdução de agente patogénicos na produção e, caso esta ocorra, evitar a sua rápida propagação no interior de cada tanque e para outros tanques. Assim, o aquacultor deve elaborar regras a adoptar no interior das explorações que reduzam a introdução de agentes patogénicos por parte dos trabalhadores, visitantes, veículos e equipamentos e que impeçam/diminuam a sua propagação no interior da produção quando ocorre a sua introdução. De igual modo, devem ainda ser estabelecidas normas que assegurem que o manejo dos exemplares é feito da forma mais adequada possível, reduzindo o stresse e ferimentos, que são potenciais vectores de introdução de agente patogénicos.

No seguimento da elaboração do plano profilático, deve igualmente o aquacultor proceder a uma determinação das doenças mais comuns na(s) espécie(s) e sistema de cultivo alvo, elaborando planos sanitários específicos que mitiguem a sua introdução e dispersão no interior da mesma. Ademais, o aquacultor, em conjunto com o médico veterinário, deve estabelecer um conjunto de medidas terapêuticas específicas a adoptar mediante o aparecimento de agentes patogénicos no cultivo. Não obstante, e porque nem sempre a identificação do agente patogénico é imediata, deve, de igual modo, ser estabelecido um conjunto de medidas terapêuticas não especializadas que permitam um primeiro combate à doença até à sua

identificação. Neste sentido, e com vista à detecção o mais atempadamente possível de eventuais surtos patológicos, as explorações aquícolas, por intermédio do aquacultor, podem e devem, sempre que possível, com recurso a laboratório próprio ou externo, realizar análises de rotina à produção com vista à determinação do estado clínico dos diferentes tanques da produção. Por fim, o aquacultor deve ainda desenhar um plano que mitigue ao máximo as interações com a vida selvagem, nomeadamente com predadores selvagens, que representam um vector considerável de introdução de agentes patogénicos proveniente do meio natural ou de outras explorações, como também, de outros tanques da própria exploração.

Para findar a abordagem à gestão e manejo de uma produção, a recolha de dados e a sua análise é outro dos pontos onde a actuação de um profissional especializado se revela importante. Ainda que muitas vezes negligenciada, a análise e tratamento de dados assume um papel fulcral para a optimização das produções aquícolas. Quando devidamente interpretados, é possível estabelecer relações entre as variações nos índices de crescimento e as taxas de conversão alimentar, os meses, as estações do ano, os diferentes parâmetros da água, as rações fornecidas, a situação clínica da produção, entre outras. Mas não só aqui se limita a utilidade do tratamento de dados já que o aquacultor, ao proceder a uma correcta análise, pode ainda estabelecer relações entre as mais diversas ocorrências de uma exploração e os dados recolhidos para os mesmos períodos. De entre outros exemplos, podemos destacar a relação existente entre o aparecimento de surtos patológicos e a temperatura e salinidade da água (ex: síndrome de inverno na dourada), a voracidade da alimentação com a temperatura e teor de oxigénio dissolvido na água, a temperatura e a concentração de nutrientes com o aparecimento de microalgas e a variação do teor de oxigénio dissolvido mediante as diferentes horas, dias, meses e estações.

Todas estas relações acima referidas, quando correctamente interpretadas permitem ao aquacultor elaborar um planeamento produtivo mais adequado às características da exploração, do ecossistema e meio envolvente, do clima da zona e da própria espécie, possibilitando a optimização de factores produtivos como o índice de conversão alimentar, a taxa de mortalidade, a duração do ciclo produtivo e a margem de lucro. Ademais, o aquacultor deve ainda ser parte activa na elaboração de modelos de previsões produtivas que permitam, em função das variáveis introduzidas, simular os resultados a obter no final do ciclo produtivo, assim como determinar aproximadamente, com base nos dados recolhidos durante o ciclo produtivo, a situação momentânea da exploração.

2) Impactos Ambientais

Abordada a gestão e maneio da produção, desviemos o foco para os impactos ambientais associados à aquacultura.

Apesar da aquacultura representar uma ferramenta muito importante no combate à destruição dos stocks de peixe, à libertação elevada de compostos de metano, nitrogénio e carbono e à ineficiência de conversão proteica de outras explorações, o sector apresenta, todavia, um conjunto ainda significativo de impactos ambientais.

Como referido anteriormente, a aquacultura caracteriza-se, regra geral, pela introdução de *inputs* energéticos. Estes, quando incorrectamente aplicados, dão origem a efluentes com elevado teor de nutrientes. A sua libertação no ecossistema, sem um tratamento prévio adequado tem como potencial consequência a eutrofização de recursos hídricos já que não só incrementar a concentração de nutrientes como o fósforo, o carbono e o nitrogénio como alterar a proporção destes no meio. Desta disrupção, podem surgir blooms de microalgas, não raras vezes tóxicas, que tendem a originar zonas mortas nos ecossistemas como consequência do esgotamento de oxigénio dissolvido durante o período noturno. Da hipóxia e eutrofização do meio resulta frequentemente a alteração das comunidades microbianas bentónicas, desencadeando a substituição de bactérias aeróbicas por bactérias anaeróbicas produtoras de compostos tóxicos (Boyd , 1997).

Ademais, considerando que um ecossistema é sistema competitivo instável, a variação dos factores abióticos pode também alterar sobremodo as dinâmicas populacionais existentes, com as espécies anteriormente mais adaptadas a um ecossistema a tornarem-se menos competitivas. Este ponto representa uma ameaça considerável à integridade da biodiversidade de um ecossistema, destruindo, muitas vezes, patrimónios ambientais únicos no mundo e respectivas espécies autóctones.

Mas nem só a eutrofização constitui um perigo associado à libertação de efluentes. De facto, e considerando que o uso de tratamentos químicos, vacinas e antibióticos é uma realidade crescente no sector, também aqui encontramos um ponto crítico no impacto ambiental das explorações aquícolas. Efectivamente, a libertação de efluentes com resíduos destes compostos representa não só uma ameaça severa à integridade dos ecossistemas como também um perigo para a saúde pública, ao poluir cursos de água e recursos alimentares existentes. Por inerência,

a libertação de efluentes constitui, de igual modo, uma contrariedade significativa para as comunidades locais que têm nestes ecossistemas uma importante fonte de rendimento. Complementarmente, considerando as frequentes ocorrências de surtos patológicos nas explorações aquícolas, a libertação de efluentes tem também muitas vezes como consequência a introdução de parasitas, bactérias e vírus nos ecossistemas.

Adicionalmente, considerando que as explorações se inserem em ecossistemas pré-existent, a redução do impacto ambiental requer também a adaptação da gestão e instalações da exploração à fauna selvagem. Neste contexto, as interacções mortais e não mortais, com as populações de aves, lontras, raposas e outros predadores locais, o ruído sonoro produzido pelo normal funcionamento de uma exploração e a alteração/destruição de abrigos originada pela construção de infraestruturas, são aspectos fundamentais a ter em consideração na elaboração de planos de mitigação de impacto ambiental.

Posto isto, as valências de um profissional formado em aquacultura são prementes para a diminuição do impacto das explorações nos ecossistemas. Este assume um papel vital na racionalização dos *inputs* energéticos, na redução do aparecimento e libertação de agentes patogénico bem como na utilização de tratamentos químicos, substituindo-os sempre que possível por métodos mais naturais (exemplo da introdução de bodeões no controlo do piolho do salmão), na limitação das interacções com a fauna selvagem e na implementação de tratamentos físico-químicos necessários para a mitigação dos efeitos dos efluentes nos ecossistemas selvagens.

Abordados os dois pontos de actuação mais “mediáticos” de um aquacultor foquemos a nossa atenção para os outros pontos, que apesar de menos abordados, se revelam de alguma importância.

3) Formação

Primeiramente passemos a considerar a importância e responsabilidade que o aquacultor apresenta quando considerado o seu papel enquanto elemento formador do pessoal não especializado da exploração. De facto, por questões maioritariamente de ordem financeira, as explorações aquícolas acabam por ter no seu corpo profissional uma percentagem significativa de pessoal não especializado. Nesse sentido, depreende-se que estes não possuem os conhecimentos necessários para, *a priori*, executar a generalidade das tarefas de uma

exploração. Desta feita, o aquacultor assume-se como um elemento importante no processo formativo dos profissionais, devendo assegurar-se que aqueles interiorizam os conhecimentos e técnicas necessárias para o maneo dos animais, para determinar os valores dos diferentes parâmetros da água, para executar e interpretar a alimentação, para detectar eventuais surtos patológicos, para aplicar o plano profilático, para a limpeza e manutenção de equipamentos, para o abate e processamento adequado do pescado, entre outros.

Considerando que o trabalhador não especializado é geralmente responsável pela execução da maioria das tarefas “práticas” de uma exploração, o sucesso da sua formação é fundamental para a correcta aplicação das tarefas que lhe são destinadas, para a correcta interpretação das ocorrências do dia a dia da exploração e , ainda, para a passagem adequada de informação para os quadros superiores, onde se inclui o aquacultor. Em sentido contrário, a incorrecta formação dos profissionais pode desencadear um conjunto de problemas penosos para a exploração, onde podemos destacar exemplos como falhas na alimentação, por norma sobrealimentação, detecção e resposta tardia ao aparecimento de agentes patológicos, mortes por quebras de oxigénio dissolvido, deterioração da qualidade da água, contaminações de tanques, entre outros.

4)Infraestruturas

O último ponto de actuação do aquacultor relaciona-se com as infraestruturas da produção, nomeadamente o seu desenho e manutenção. Neste ponto, ainda que frequentemente não consultado, o aquacultor deve ter um papel activo no ajuste dos esboços aos requisitos, necessidades e condicionantes da exploração a construir. Sem negligenciar outros pontos igualmente relevantes o aquacultor deve contribuir para assegurar que o projecto não infringe a legislação aplicável aos sector, que apresenta o menor grau possível de impacto ambiental e paisagístico possível, que o escoamento de água residuais é efectuado o mais eficazmente possível, que a captação e circulação de água vão ao encontro das necessidades productivas da exploração, que os tanques se localizam adequadamente em relação aos ventos dominantes da zona e apresentam a menor percentagem possível de potenciais áreas mortas e que as instalações estão desenhadas de forma a assegurar todos os critérios de sanidade e biossegurança.

Além da participação no desenho das instalações, a participação do aquacultor é também importante para a sua adequada manutenção, assegurando a operacionalidade da exploração por o maior espaço de tempo.

8.4-Contexto sócio-económico

Durante a formação em aquacultura, o estudante ouve dizer recorrentemente que o sector aquícola tem tido e terá um papel importantíssimo na criação de riqueza, emprego, estabilidade social e redução da criminalidade na população em geral, com especial foco nas comunidades piscatórias. A imposição de cotas às espécies mais valorizadas e que servem de sustento financeiro a estas comunidades tem induzido um estado de indignação crescente que em muito tem contribuído para a instabilidade social. Ainda que o estudante se encontre familiarizado com esta conjuntura, na realidade muitas vezes não a percebe em virtude de não conviver com as pessoas, não conhecer efectivamente os seus problemas e não observar como o avanço da aquacultura tem contribuído para os mitigar. Assim, este tópico tem como finalidade esmiuçar porque, na opinião do estudando, a concretização de um estágio em formato empresarial se apresenta como decisivo para um melhor conhecimento da realidade do sector.

Durante o período de estágio, foram trabalhadores efetivos três jovens, todos eles com idade próxima à do estudando, assim como um antigo pescador da zona de Lavos. Num dos casos dos trabalhadores mais novos, este foi o seu primeiro emprego após concluir uma formação técnica e nos outros dois casos tratou-se de um emprego subsequente a um período de desemprego. Ademais, ainda que o primeiro não fosse proveniente de uma comunidade piscatória, essa realidade estava presente nos restantes. Complementarmente, no referente ao trabalhador mais velho, antigo pescador, o emprego veio permitir uma fonte de rendimento mais estável e segura, em oposição à imprevisibilidade financeira e aos riscos que os pescadores diariamente enfrentam no mar, riscos esses que, como é de conhecimento comum, culminaram na morte de 3 pescadores na Figueira da Foz após naufrágio de uma embarcação em Novembro de 2017.

Mas nem só na contratação efetiva a aquacultura tem contribuído para a redução da instabilidade financeira. O processo produtivo obriga muitas vezes as empresas a recorrerem à prestação de serviços individuais e coletivos, constituindo uma fonte de receitas extra para trabalhadores e empresas, o que resulta na criação indireta de emprego nestas entidades. Associadas à produção de peixe surgem também muitas actividades com ligação ao

processamento, restauração e distribuição de pescado o que, conseqüentemente, resulta novamente na criação indirecta de riqueza e emprego.

Substanciado, durante o período de estágio o autor assistiu à subcontratação de três empresas diferentes com vista à recuperação de algumas estruturas da empresa, assim como manutenções periódicas comuns a qualquer empresa. Destas três empresas, duas eram da zona e constituídas por profissionais locais. Suplementarmente, o recurso a prestação de serviços individuais viabilizou uma fonte de rendimento a um jovem estudante e a dois pescadores da zona.

De particular relevo para esta reflexão, será referir que sem estas fontes de rendimento que a aquacultura proporciona, e sem com isto querer o autor entrar em individualizações ou recorrer a casos concretos, muitos membros destas comunidades piscatórias acabam por ter na criminalidade a única forma de subsistência, onde se destaca primordialmente a pesca ilegal de meixão, lampreia, sável, enguias, entre outras espécies que se encontram actualmente em estado de ameaça considerável.

Mas o problema não engloba meramente a criminalidade não violenta, sendo também frequente nestas comunidades o aparecimento de rivalidades locais que desembocam em confrontos e, não raras vezes, homicídios. Naturalmente, a instigação destas culturas de ódio não é alheia ao período de crise que o país atravessa, onde o sustento das famílias se vê diariamente comprometido, especialmente nas comunidades piscatórias, onde as pescas são progressivamente asfixiadas pelas cotas. Neste seguimento, é sem surpresa que se desenvolve uma extrema competitividade entre comunidades pela obtenção da maior quantidade possível de recursos aquícolas e a percepção de todo aquele que compete pelo mesmo recurso como um inimigo e alvo a abater.

Posto isto, é facilmente compreensível que a criação de novos empregos e riqueza vem dar a estas populações novas perspectivas de estabilidade social e, por consequência, mitigar progressivamente as rivalidades locais. Por sua vez, o estabelecimento de paz social, contribui para o diálogo e colaboração entre comunidades, para uma pesca mais cuidada e responsável e, ainda, para reforçar o poder destas comunidades na esfera política e empresarial.

Toda esta conjugação de factores será determinante para que a medio/longo prazo se possam incrementar os níveis de formação das novas gerações, criar novas empresas, realizar obras públicas e obter apoios comunitários, que irão ser determinantes para que estas comunidades, à data marginalizadas, se possam desenvolver gradualmente e aspirar a

proporcionar aos seus membros condições de vida que, nos de hoje, infelizmente, são ainda uma realidade distante

8.5-Formulação rações

Na exploração piscícola alvo deste estágio a alimentação teve como fornecedor a empresa Skretting, tendo sido usadas as seguintes gamas de ração:

Mar-Perla Plus: Gama de rações específica para os períodos de pós-desmame e pré-engorda de alevins de peixes marinhos. O seu alto conteúdo de proteína, proveniente de origens marinhas, fazem desta gama a dieta ideal para o pós-desmame sob diversas condições de cultivo.

Ingredientes: Farinha de peixe, óleo de peixe, produtos e sub-produtos de cereais, produtos e sub-produtos de leguminosas, vitaminas e minerais.

Tab. 1. Perfil nutricional das rações da gama Mar Perla Plus.

Produto	Prot. Bruta	Gordura Bruta	Cinzas	Celulose	Fósforo Total
Perla Plus 3.0	57%	15%	8%	0,6%	1,5%
Perla Plus 2.0	57%	15%	11,2%	0,1%	1,7%
Perla MP-S	56%	15%	10%	0,25%	1,6%
Perla MP-M	56%	15%	8,7%	0,4%	1,3%
Perla MP-L	54%	15%	8,9%	1,6%	1,5%
Perla MP-T	51%	15%	9%	2,2%	1,3%

Tab. 2. Calibres das rações da gama Mar Perla Plus e tamanhos alvo para dourada e robalo.

Produto	Medida (µm)	Dourada (g)	Robalo (g)
Perla Plus 3.0	400-800	0,3-0,9	0,3-0,8
Perla Plus 2.0	700-1100	0,8-1,5	0,7-1,4
Perla MP-S	100-1100	0,8-1,5	0,7-1,4
Perla MP-M	1000-1300	1,5-4,5	1,4-4,0
Perla MP-L	1400-1700	4,0-10,0	3,5-9,0
Perla MP-T	1700-2000	9,0-18,0	8,0-18,0

Tab. 3. Percentagem da massa corporal média dos exemplares a fornecer em ração em função da temperatura.

Produto	12°	14°	16°	18°	20°	22°	24°
Perla Plus 3.0	1,8	2	2,8	3,4	4,6	5,2	5,8
Perla Plus 2.0	1,7	1,9	2,2	2,4	3,4	4,2	4,8
Perla MP-S	1,7	1,9	2,2	2,6	3,4	4,2	4,8
Perla MP-M	1,5	1,7	2	2,6	3,2	3,8	4,4
Perla MP-L	1,4	1,6	1,8	2,1	2,7	3,4	3,9
Perla MP-T	1,2	1,4	1,6	1,9	2,5	3,2	3,8

Optibream AE e Optibass: Gama de rações especificamente constituídas para os diferentes calibres de uma pré-engorda e engorda de dourada (Optibream AE) e robalo (Optibass). A formulação desta gama de dietas é baseada em matérias primas selecionadas segundo as necessidades específicas e a fisiologia digestiva da dourada e robalo. A formulação desta gama assegura ainda os requerimentos específicos da dieta, satisfazendo as necessidades de nutrientes digeríveis, aplicando o conceito MicroBalance™

Ingredientes: Farinha de peixe, óleo de peixe, óleos vegetais, produtos e sub-produtos de cereais, produtos e sub-produtos de leguminosas, vitaminas e minerais.

Tab. 4. Perfil nutritivo das rações da gama Optibream (dourada).

Produto	Prot. Bruta	Gordura Bruta	Cinzas	Celulose	Fósforo Total	Energia Digerível
D-2 Optibream AE 1P	48,5%	18%	4,7%	2,4%	0,9%	18,5 MJ/Kg
D-4 Optibream AE 2P	46%	19%	5,2%	3,1%	0,9%	18,0 MJ/Kg
D-6 Optibream AE 3P	44 %	20%	4,9%	3,2%	0,9%	18,0 MJ/Kg

Tab. 5. Perfil nutritivo das rações da gama Optibass (Robalo).

Produto	Prot. Bruta	Gordura Bruta	Cinzas	Celulose	Fósforo Total	Energia Digerível
L-2 Optibass 1P	48,5%	16%	5,6%	3,2%	1%	17,8 MJ/Kg
L-4 Optibass 2P	45,5%	20%	5,3%	3,3%	1%	18,2 MJ/Kg
L-6 Optibass 3P	41%	24%	5,2%	3,3%	0,9%	18,7 MJ/Kg
L-8 Optibass XL	39,5%	24%	5,2%	3,3%	0,9%	18,6 MJ/Kg
L-10 Optibass XXL	39,5%	24%	5,2%	3,3%	0,9%	18,6 MJ/Kg

Tab. 6. Calibres das rações da gama Optibream e tamanhos alvo para dourada.

Produto	Medida mm	Peso (g)
D-2 Optibream AE 1P	2,2	15-70
D-4 Optibream AE 2P	4	70-220
D-6 Optibream AE 3P	6	220-500

Tab. 7. Calibres das rações da gama Optibass e tamanhos alvo para robalo.

Produto	Medida mm	Peso (g)
L-2 Optibass 1P	2,2	15-60
L-4 Optibass 2P	4	60-200
L-6 Optibass 3P	6	220-450
L-8 Optibass XL	8	450-700
L-10 Optibass XXL	10	>100

Alterna: Gama de rações de alta energia para a alimentação de dourada (D-Alterna AE) e robalo (L-Alterna), desenhado pela Skretting para fazer face às exigências actuais e futuras para a sustentabilidade econômica e ambiental.

Esta gama reúne uma combinação equilibrada e eficaz de matérias primas de origem diversas que contribuam para reduzir o uso de produtos provenientes de pescado e simultaneamente assegurar os rendimentos óptimos das rações.

A combinação otimizada de um elevado nível energético juntamente com um elevado conteúdo de proteínas digestíveis, fazem de Alterna a dieta mais económica para a produção de dourada e robalo, maximizando o seu crescimento e diminuindo o índice de conversão alimentar (FCR).

Ingredientes: Farinha de peixe, azeite de peixe, azeites vegetais, produtos e sub-produtos de cereais, produtos e subprodutos de leguminosas, produtos e sub-produtos de oleoginosas, hemoglobina spray, farinha de pluma hidrolisada, farinha de galinha, vitaminas e minerais.

Tab. 8. Perfil nutritivo das rações da gama Alterna (dourada).

Produto	Prot. Bruta	Gordura Bruta	Cinzas	Celulose	Fósforo Total	Energia Digerível
D-4 Alterna AE 2P	45%	23%	8,2%	2,5%	1,5%	19,2 MJ/Kg
D-4 Alterna AE 3P	44%	24%	8,2%	3,0%	1,5%	18,7 MJ/Kg

Tab. 9. Perfil nutritivo das rações da gama Alterna (robalo).

Produto	Prot. Bruta	Gordura Bruta	Cinzas	Celulose	Fósforo Total	Energia Digerível
L-2 Alterna 1P	49%	16%	7,9%	3,0%	1,4%	17,6 MJ/Kg
L-4 Alterna 2P	46,5%	20%	8,1%	3,3%	1,4%	18,0 MJ/Kg
L-6 Alterna 3P	40,5%	24%	7,2%	3,3%	1,2%	18,7 MJ/Kg
L-8 Alterna XL	38%	24%	6,2%	3,3%	1,0%	18,4 MJ/Kg
L-10 Alterna XXL	38%	24%	6,2%	3,3%	1,0%	18,4 MJ/Kg

Tab. 10. Calibres das rações da gama Alterna e tamanhos alvo para dourada

Produto	Medida mm	Peso (g)
D-4 Alterna AE 2P	4	70-220
D-6 Alterna AE 3P	6	60-200

Tab. 11. Calibres das rações da gama Alterna e tamanhos alvo para robalo.

Produto	Medida mm	Peso (g)
L-2 Alterna 1P	2,2	15-60
L-4 Alterna 2P	4	60-200
L-6 Alterna 3P	6	200-450
L-8 Alterna XL	8	450-700

Protec: Gama de rações para robalo e dourada pensada especificamente para uma administração preventiva, protegendo os peixes contra situações adversas no cultivo. Protec fortalece o sistema imunitário, melhorando a saúde intestinal, aumentando a resistência celular dos peixes, suporta os processos de cicatrização e melhora a resistência frente a enfermidades virais.

Recomenda-se a administração de Protec como preventivo contra qualquer situação stressantes (manejo, transporte, classificações), para minimizar o impacto das enfermidades infecciosas, como preparação frente a condições ambientais desfavoráveis (temperaturas extremas- verão, inverno e variações bruscas) e para acelerar a recuperação de feridas externas.

Ingredientes: Farinha de pescado, azeite de pescado, azeite vegetal, produtos e sub-produtos cereais, produtos e sub-produtos de oleaginosas, produtos e sub-produtos de leguminosas, premix vitamínico e mineral, suplementação extra de vitaminas (C e E), leveduras e produtos similares.

Tab. 12. Perfil nutricional das rações da gama Protec (dourada).

Produto	Prot. Bruta	Gordura Bruta	Cinzas	Celulose	Fósforo Total	Energia Digerível
D-2 Protec	48%	16%	5,2%	2,8%	0,9%	17,7 MJ/Kg
D-4 Protec	46%	18%	5,3%	3,2%	0,9%	17,6 MJ/Kg
D-6 Protec	44 %	18%	5,2%	3,7%	0,9%	17,1 MJ/Kg

Produto	Prot. Bruta	Gordura Bruta	Cinzas	Celulose	Fósforo Total	Energia Digerível
L-2 Protec	48%	15%	5,7%	3,5%	1%	17,5 MJ/Kg
L-4 Protec	45%	19%	5,6%	3,4%	1%	17,8 MJ/Kg
L-6 Protec	40,5%	23%	5,7%	3,7%	1%	18,4 MJ/Kg
L-8 Protec	39%	23%	5,9%	3,7%	1%	18,3 MJ/Kg

Tab. 14. Calibres das rações da gama Protec e tamanhos alvo para dourada.

Produto	Medida mm	Peso (g)
D-2 Protec	2,2	15-70
D-4 Protec	4	70-220
D-6 Protec	6	220-500

Tab. 15. Calibres das rações da gama Protec e tamanhos alvo para robalo.

Produto	Medida mm	Peso (g)
L-2 Protec	2,2	15-60
L-4 Protec	4	60-200
L-6 Protec	6	200-450
L-8 Protec	8	>450

Tab. 16. Perfil vitamínico das rações da gama Protec.

Produto	Vitamina A	Vitamina D3	Vitamina C	Vit.E (α tocofererol)
Protec (D&L)	5.000 U.I	750 U.I	500 mg	250 mg