

Ria Formosa – POLIS LITORAL – Plano P6

Plano de valorização e gestão sustentável das actividades ligadas aos recursos da Ria

Qualidade Ambiental e Sustentabilidade dos Recursos Biológicos da Ria Formosa

QUASUS



RELATÓRIO FINAL

Carlos Vale, Domitília Matias, Florbela Soares, Maria João Botelho, Miguel Caetano, Ana Catarina Almeida, Maria de Lurdes Santos, Pedro Brito



Julho de 2013

ÍNDICE

Sumário.....	3
1. Introdução.....	3
2. Estratégia dos estudos e trabalhos realizados no âmbito do QUASUS.....	3
3. Indicadores fisiológicos de amêijoas em viveiros.....	4
3.1 Índice de condição.....	5
3.2 Ciclo reprodutivo e índice gonadal.....	5
3.3 Osmolaridade da hemolinfa.....	6
3.4 pH da hemolinfa.....	7
4. Teores de metais em amêijoas.....	8
5. Toxicidade de bivalves da Ria Formosa devido à presença de toxinas marinhas.....	10
5.1. Variações inter-anual.....	10
5.2. Padrões sazonais.....	14
5.3. Comparação com os dados de 2001-2011.....	14
5.4. Anúncio da interdição de comercialização de bivalves.....	14
6. Estatuto sanitário das zonas de produção da Ria Formosa.....	15
6.1. Níveis de E. coli em amêijoas dos viveiros.....	15
6.2. Efeito da temperatura, radiação solar e pluviosidade.....	16
6.3. Evolução do estado sanitário das amêijoas em viveiros.....	17
7. Medidas de acção para a melhoria e controlo da qualidade da água na Ria Formosa.....	18
8. Estimativa da Capacidade de Carga em Viveiros de Amêijoa.....	18
8.1 Condições dos ensaios: tipo substrato e densidade das amêijoas.....	18
8.2. Variação de parâmetros ambientais durante os ensaios.....	19
8.3. Variação de parâmetros biológicos durante os ensaios.....	19
8.4. Estimativa da melhor capacidade de carga.....	23
9. Possível Impacto do Recrutamento de Mexilhão na Produção de Bivalves na Ria Formosa.....	24
9.1 Considerações sobre o recrutamento do mexilhão na Ria.....	24
9.2. Possível relação entre o recrutamento anormal e as más práticas de produção.....	25
10. Valores Máximos Recomendáveis para Parâmetros Ambientais de Qualidade.....	26
10.1 Disponibilidade de nutrientes.....	26
10.3. Comparação com dados históricos.....	27
11. Sobrevivência de amêijoa-boua em viveiros.....	30
12. Factores explicativos para a mortalidade anormal da amêijoa-boua.....	31
12.1. Diminuição das reservas energéticas.....	31
12.2. Patologias.....	32
12.3. Conjugação de factores para a mortalidade anormal.....	32
12.4. Acções propostas para minorar a mortalidade.....	33
13. Realização de workshops.....	34
14. Fornecimento de elementos ao IMAR com vista à aplicação de modelos.....	34
15. Publicações técnicas, artigos científicos e comunicações de divulgação.....	34
15.1. Publicações técnicas.....	34
15.2. Artigos científicos.....	34
15.3. Comunicações orais.....	35
16. Acções de formação no âmbito do QUASUS.....	35
16.1. Estágios curriculares do 12º ano e licenciatura.....	35
16.2. Teses de mestrado.....	35
16.3. Cursos teórico-práticos.....	35
17. Conclusões e recomendações.....	35
Referências.....	38
Anexo I – Metodologias analíticas e de observação.....	40
1. Parâmetros ligados à qualidade da água.....	40
2. Parâmetros ligados à produção das amêijoas.....	41
3. Parâmetros ligados à qualidade das amêijoas.....	42
Anexo II – Lista de dados partilhados.....	44
Anexo III – Publicações técnicas, artigos científicos e comunicações de divulgação.....	45

Sumário

O projecto QUASUS visa contribuir para um melhor conhecimento das interacções entre a produção de amêijoas-boas *Ruditapes decussatus* na Ria Formosa e as alterações ambientais, quer causadas por fenómenos naturais, quer resultantes da acção do homem. No decurso do Projecto foram realizados diversos ensaios experimentais na Ria Formosa e a comparação dos resultados obtidos com dados históricos com o objectivo de avaliar possíveis efeitos da redução das pressões antropogénicas na qualidade deste ecossistema lagunar. O Relatório Final, aqui apresentado, incorpora os resultados mais relevantes já incluídos nos relatórios de progresso anteriores, novos dados obtidos na fase final do projecto, a comparação com os dados históricos existentes no IPIMAR, e uma descrição dos produtos fornecidos ao longo do projecto. São apresentados e discutidos os resultados de diversos aspectos relativos à qualidade e produção de amêijoas: (i) indicadores fisiológicos, (ii) distribuição de contaminantes pelos principais tecidos, (iii) toxicidade de bivalves por toxinas marinhas, (iv) mortalidade elevada de amêijoas, (v) capacidade de carga em viveiro-tipo de uma zona problemática, (vi) impacto do recrutamento de mexilhão na produção de amêijoas, (vii) problemática de valores máximos recomendáveis para parâmetros ambientais de qualidade, (viii) medidas de precaução para a comercialização de amêijoas em períodos de elevada precipitação e escorrências.

1. Introdução

A moluscicultura na Ria Formosa constitui uma das actividades de maior significado económico, no quadro da exploração dos recursos vivos naturais, devido às condições favoráveis do ecossistema para esta actividade. A principal produção é a de amêijoas boas (*Ruditapes decussatus*). Contudo, factores ambientais como a baixa renovação das águas nas zonas mais interiores, a natureza vasosa do sedimento, e a ocorrência de temperaturas elevadas no Verão podem contribuir para situações de stress nesta espécie. Torna-se, por isso, pertinente avaliar potenciais impactos na produção de amêijoas devido a alterações das condições ambientais. A interacção produção-ambiente constituiu o principal desafio do projecto QUASUS. No decurso do Projecto foram realizados diversos ensaios experimentais e a compilação de dados históricos com vista a avaliar possíveis efeitos da redução das pressões antropogénicas na qualidade deste ecossistema lagunar. Os resultados destes trabalhos foram reportados em três Relatórios de Progresso, com particular destaque para as observações em três viveiros de amêijoas seleccionados em áreas tipo da Ria Formosa. O Relatório Final incorpora os elementos mais relevantes dos relatórios anteriores, novos dados obtidos na fase final do projecto e uma súmula das conclusões e dos produtos fornecidos ao longo do projecto.

2. Estratégia dos estudos e trabalhos realizados no âmbito do QUASUS

Com vista a avaliar as diferenças de qualidade ambiental e de produção entre os viveiros de amêijoas na Ria Formosa foram realizados ensaios experimentais em três viveiros-tipo (tabela 1 e figura 1):

- (i) viveiro A, situado em Marchil perto da cidade de Faro, está sujeito à influência das pressões relacionadas com as actividades da cidade;
- (ii) viveiro B, localizado em Olhão-Marim, é influenciado pelas actividades na Estação de Piscicultura do IPMA;
- (iii) viveiro C, situado na zona da Fortaleza perto da Barra do Lavage, beneficia do elevado hidrodinamismo das águas e da entrada da água do mar na enchente.

Tabela 1. Datas de amostragens de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) nos viveiros A, B e C.

Viveiro	Datas de Amostragem									
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
A	24-Nov	04-Jan	07-Fev	22-Mar	5-Abr	3-Mai	2-Jun	3-Ago	12-Set	26-Out
B	25-Nov	05-Jan	07-Fev	23-Mar	5-Abr	3-Mai	2-Jun	3-Ago	14-Set	27-Out
C	25-Nov	05-Jan	09-Fev	23-Mar	5-Abr	4-Mai	1-Jun	2-Ago	12-Set	26-Out

Para além dos ensaios experimentais nestes viveiros, compararam-se os resultados obtidos com dados históricos sobre a qualidade da água na Ria Formosa e sobre os teores de contaminantes na parte edível das amêijoas. Examinou-se se a redução das pressões antropogénicas nas últimas décadas teve repercussões positivas na qualidade microbiológica das amêijoas, na contaminação química por metais e na disponibilidade de nutrientes na coluna de água. Foi, também, feita uma compilação dos dados plurianuais de toxicidade em bivalves da Ria Formosa por toxinas marinhas obtidos pelo IPMA no âmbito da sua missão.

Com base no conhecimento adquirido neste projecto e de outros estudos realizados na Ria Formosa e em outros sistemas lagunares, equacionaram-se quais as razões mais plausíveis para a mortalidade anormal das amêijoas que ocorre com alguma regularidade nos viveiros da Ria Formosa.

Os trabalhos realizados neste projecto seguiram metodologias de análise e observações in situ correntemente usadas nos laboratórios do IPMA. Estas metodologias têm sido validadas através de diversas publicações em revistas internacionais com arbitragem. O Anexo I (Metodologias analíticas e de observação) apresenta a descrição detalhada destas metodologias.

**Figura 1.** Localização dos viveiros-tipo (A, B e C).

3. Indicadores fisiológicos de amêijoas em viveiros

As alterações sazonais de alguns parâmetros ambientais e as características do local de cultivo influenciam o desenvolvimento das populações de bivalves. Qualquer factor, exógeno ou endógeno, que afecte os processos fisiológicos, pode condicionar a sobrevivência e o crescimento dos bivalves e, portanto, a produtividade do viveiro. O ciclo reprodutivo é um processo fisiológico energeticamente dispendioso, sendo referido que o crescimento somático decresce quando a energia é canalizada para a gónada (Bricelj & Shumway, 1991). O índice de condição permite uma apreciação geral sobre o estado fisiológico geral das populações de bivalves e é reconhecido como um útil biomarcador capaz de reflectir a capacidade dos bivalves em resistir a condições adversas e/ou stress antropogénico (Fernandez Castro & Vido de Mattio, 1990).

3.1 Índice de condição

A evolução anual do índice de condição das amêijoas cultivadas nos três viveiros encontra-se representada na figura 2. Apesar de não se registarem diferenças significativas entre viveiros, a evolução ao longo do período experimental foi ligeiramente diferente. As amêijoas cultivadas nos viveiros A (Faro) e B (Piscicultura) apresentam uma condição inferior, comparativamente com as amêijoas do viveiro C (Fortaleza) durante o Inverno, invertendo-se esta situação durante o período da Primavera. No período de Verão os valores do índice de condição mantiveram estáveis no viveiro da C, enquanto as amêijoas cultivadas no viveiro A apresentaram uma diminuição abrupta. Esta diminuição também foi verificada após o mês de Agosto nas amêijoas provenientes do viveiro B. Esta observação sugere que as amêijoas do viveiro C possuíram uma maior capacidade de armazenamento de reservas no período de Inverno o que lhes permitiu, no final do período reprodutivo (Outubro), não apresentarem níveis de depleção e debilidade fisiológica tão baixos como nos outros viveiros.

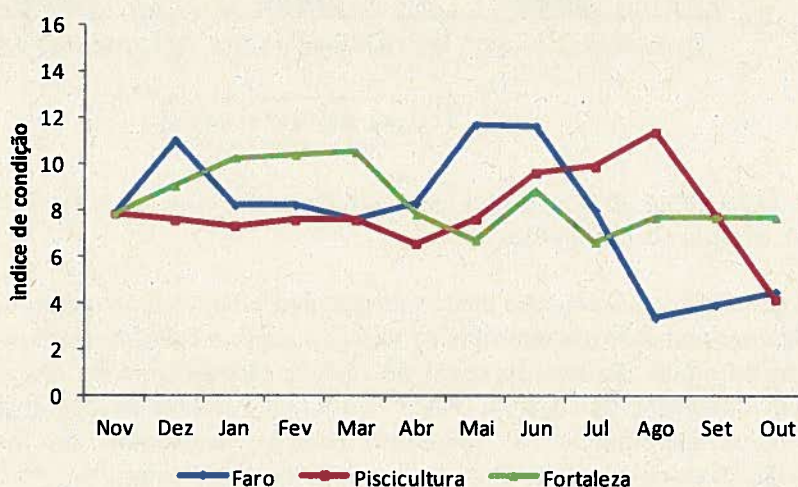


Figura 2. Evolução do índice de condição de amêijoas-boas nos três viveiros (A- Faro; B- Piscicultura; C - Fortaleza), ao longo dos ensaios experimentais.

3.2 Ciclo reprodutivo e índice gonadal

Pretendeu-se caracterizar o ciclo reprodutivo das amêijoas cultivadas nos 3 viveiros. A gametogénese foi caracterizada em 5 estados através de observações histológicas da gónada, de acordo com o desenvolvimento do estado gonadal: I – repouso sexual; II - início da gametogénese; III – gametogénese avançada; IV – postura; V- postura parcial; VI – fim da gametogénese (Delgado & Pérez-Camacho, 2005).

A amêijoas-boas apresenta os sexos separados e no decurso do período experimental não se detectou nenhum caso de hermafroditismo. O ciclo reprodutivo, nos 3 viveiros, foi caracterizado por um padrão sazonal, com ambos os sexos a apresentarem sincronismo no desenvolvimento gonadal (figura 3). A gametogénese iniciou-se em Janeiro nos três locais estudados. A postura, que teve início no mês de Maio nos viveiros A (Faro) e B (Piscicultura) e no mês de Junho no viveiro C (Fortaleza), intensificou-se durante o Verão. Durante este período, as amêijoas não apresentaram um desenvolvimento gonadal contínuo, ou seja após a postura não se seguiu um período de inactividade. Efectivamente foi observado que após a postura a gónada voltava a recuperar, evidenciando a existência de posturas parciais. Em Outubro a maioria dos indivíduos já tinha emitido e estavam num estado inactivo. O ciclo gametogénico dos indivíduos provenientes dos três locais não apresentou diferenças significativas.

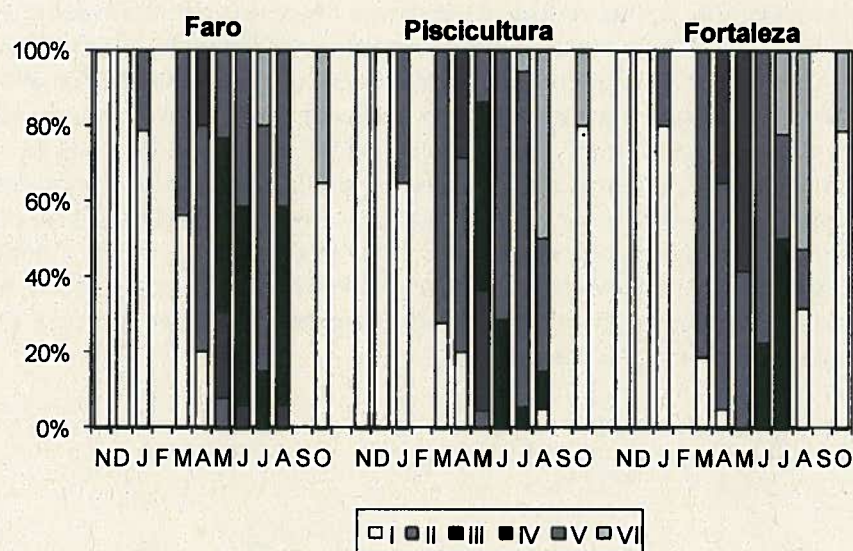


Figura 3. Evolução dos estados de maturação sexual nos três viveiros (A- Faro; B- Piscicultura; C - Fortaleza), ao longo dos ensaios experimentais.

O índice gonadal seguiu o mesmo padrão do desenvolvimento gametogénico. A recuperação da gónada nas amêijoas provenientes do viveiro A, após a primeira postura (Maio), não foi efectuada de modo tão intenso como nos outros locais (figura 4). No entanto, não se registaram diferenças significativas entre viveiros. A ausência de diferenças significativas entre viveiros, mostrou que as diferentes condições ambientais que lhes serviram de suporte não afectaram o desenvolvimento gonadal dos organismos.

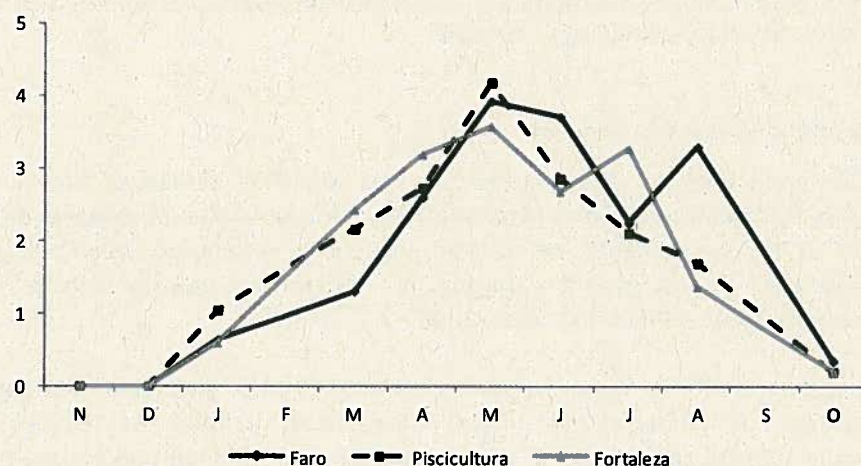


Figura 4. Evolução do índice gonadal nos três viveiros (A- Faro; B- Piscicultura; C - Fortaleza), ao longo dos ensaios experimentais.

3.3 Osmolaridade da hemolinfa

Os indicadores fisiológicos podem fornecer informação relevante sobre o estado dos bivalves, face aos parâmetros gerais de cultivo (zootécnicos e ambientais). As amêijoas são

osmorreguladores muito ativos que possuem dois sifões que lhe permitem efetuar facilmente trocas com o meio, para manutenção da sua osmolaridade. No estudo efetuado não se verificou relação entre a osmolaridade da hemolinfa e o local de cultivo. A variação observada ao longo do período de amostragem é inerente à fisiologia do organismo (figura 5). A osmolaridade dos organismos diminui com a redução de salinidade, como ocorre no Inverno, e está também associada com a infecção por *Perkinsus* spp. (Megan et al, 2009).

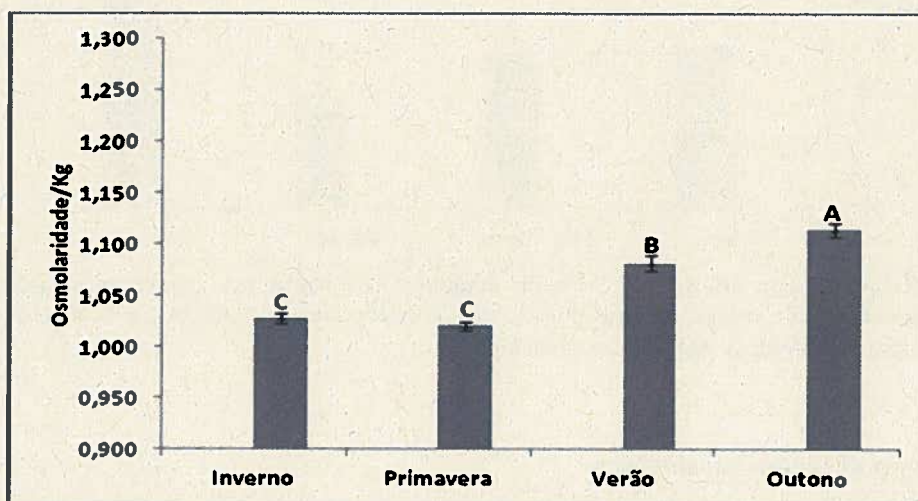


Figura 5. Variação da osmolaridade da hemolinfa de amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) nas diferentes estações do ano, correspondentes aos meses de amostragem dos ensaios; valores médios dos 3 viveiros; as letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

3.4 pH da hemolinfa

Os bivalves com patologias ou mantidos em más condições ambientais podem manifestar uma acidose metabólica, com uma redução no pH da hemolinfa. No estudo efectuado na Ria Formosa não se encontraram diferenças significativas entre os 3 locais estudados. Ao longo do ano podemos verificar que o Verão é a estação do ano em que os bivalves apresentam o pH mais baixo, o que seria de esperar dado os baixos níveis de oxigenação a que os bivalves estão sujeitos contribuindo para o aumento do CO_2 na hemolinfa e consequentemente maior quantidade de iões H^+ . Pelas razões opostas, com o aumento de teor de oxigénio em temperaturas mais baixas, registou-se um incremento no Outono (figura 6).

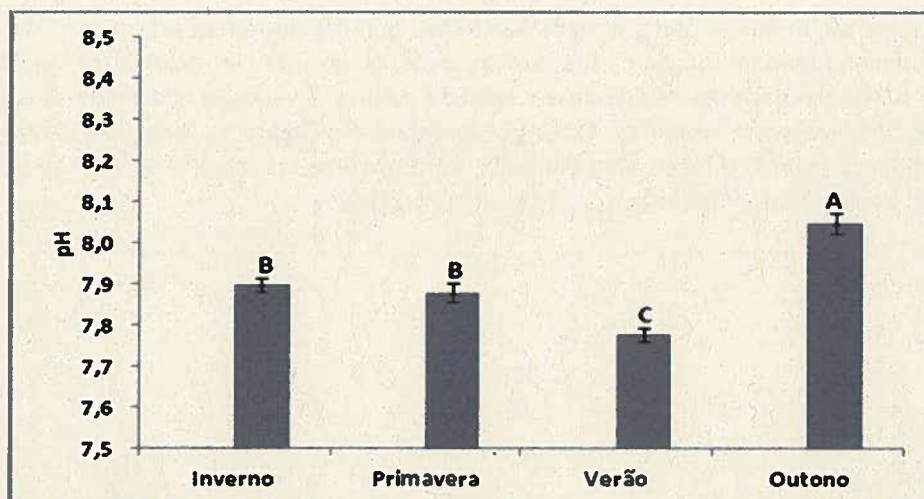


Figura 6. Variação do pH da hemolinfa de *Ruditapes decussatus* nas diferentes estações do ano, correspondentes aos meses de amostragem dos ensaios; valores médios dos 3 viveiros; as letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

4. Teores de metais em amêijoas

A presença de metais na parte edível dos bivalves reflecte quer a disponibilidade destes elementos no ambiente quer os processos metabólicos dos organismos. A disponibilidade dos metais em ambientes costeiros resulta de processos naturais, designadamente o transporte dos continentes para o oceano, assim como das actividades do Homem. Os bivalves podem assimilar estes elementos por filtração através da água, alimento e partículas em suspensão. A distribuição pelos tecidos reflecte a via de entrada dos metais ou mecanismos da sua retenção nos tecidos.

Nos meses de Novembro de 2010, Fevereiro, Maio, Julho e Agosto de 2011 foram recolhidos exemplares de amêijoas nos três viveiros dos ensaios (A, B e C). Prepararam-se três conjuntos de 10 indivíduos que foram dissecados e separados em hepatopâncreas (HP), brânquias (Br), manto+sifões (M+S) e parte restante (PR). De seguida foram preparadas amostras compostas de cada tecido, por local e data de amostragem com vista às determinações de Cobre, Zinco, Cádmio e Chumbo.

A figura 7 apresenta a variação dos níveis de Cobre e Zinco nos diferentes tecidos de amêijoas, ao longo dos meses de amostragem nos três viveiros. Os teores de Cobre no hepatopâncreas foram substancialmente mais elevados do que nos restantes tecidos analisados. Esta diferença foi observada nas amêijoas dos três viveiros, embora os valores no viveiro B superassem os registados nos restantes viveiros. Os teores de Zinco foram mais elevados no hepatopâncreas do que nos outros tecidos, a diferença entre tecidos não sendo, contudo, tão acentuada. O mesmo padrão observou-se nos três viveiros.

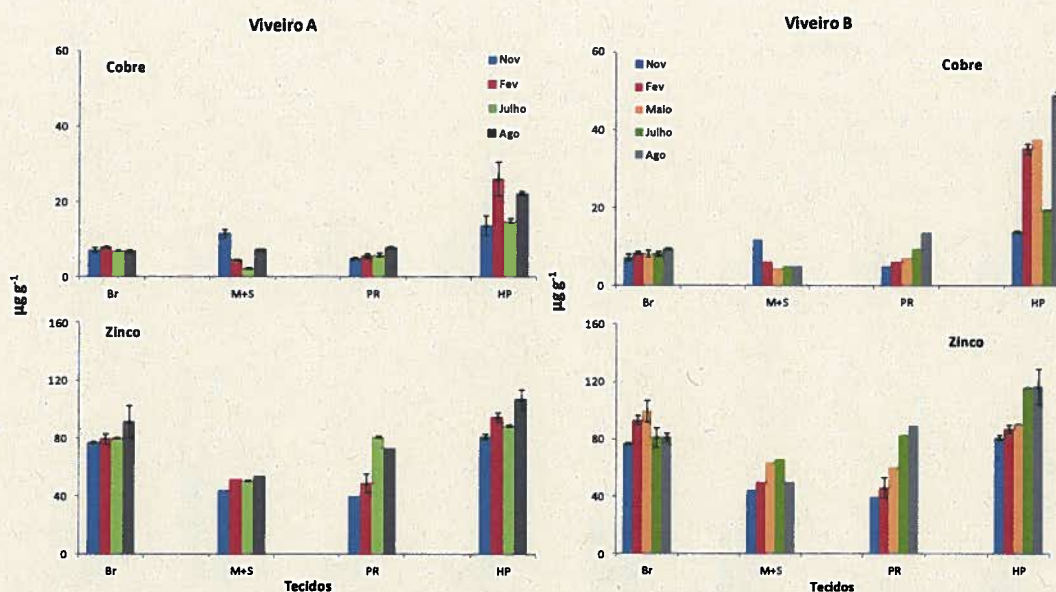


Figura 7. Variação dos níveis de Cobre e Zinco em tecidos de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) nos viveiros A e B (hepatopâncreas (HP), brânquias (Br), manto (M), sifões (S) e parte restante (PR)), nos meses de amostragem dos ensaios; valor médio ($\mu\text{g g}^{-1}$) \pm DP; três réplicas (n=10).

A figura 8 apresenta a variação dos níveis de Cádmio e Chumbo nos diferentes tecidos de amêijoas, ao longo dos meses de amostragem nos três viveiros. Os teores de Cádmio foram relativamente uniformes entre os tecidos analisados e entre os três viveiros. Apenas se observando incrementos pontuais. No caso do Chumbo, as concentrações no hepatopâncreas e na parte restante superaram os valores dos outros tecidos. Este padrão de repartição entre tecidos foi observado na maioria dos meses amostrados em amêijoas dos três viveiros. Os teores registados no viveiro B foram superiores aos dos viveiros A e C.

Estes resultados indicam que a diferença das concentrações de metais entre tecidos é mais acentuada do que a diferença entre os locais de amostragem. Esta observação está em concordância com a hipótese da mistura das águas da Ria imposta pela maré atenuar os efeitos das fontes localizadas dos contaminantes.

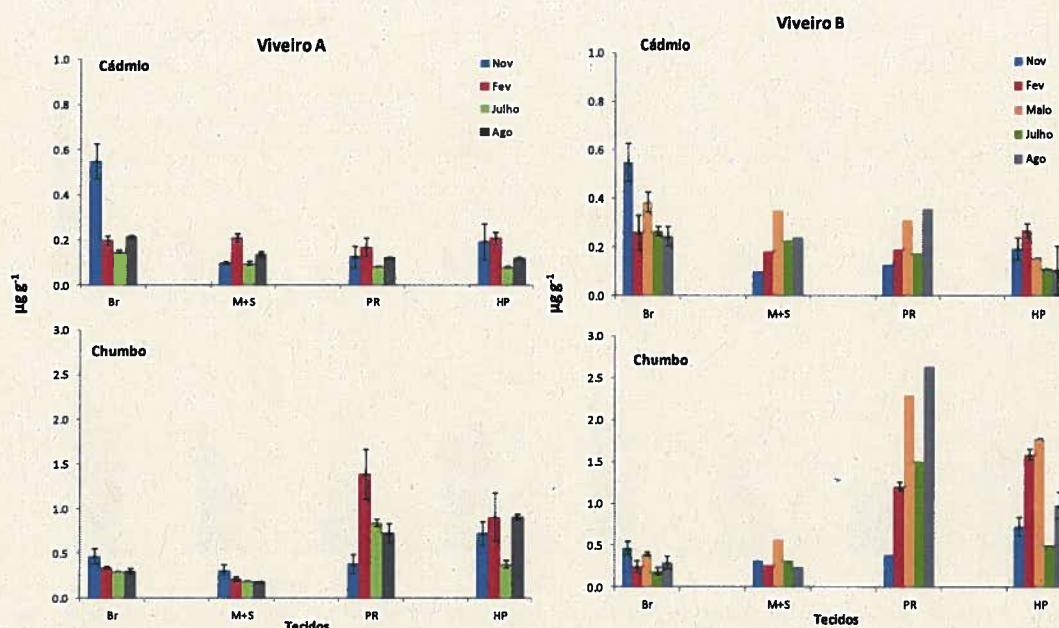


Figura 8. Variação dos níveis de Cádmio e Chumbo em tecidos de amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) nos viveiros A e B (hepatopâncreas (HP), brânquias (Br), manto (M), sifões (S) e parte restante (PR)), nos meses de amostragem dos ensaios; valor médio ($\mu\text{g g}^{-1}$) \pm DP; três réplicas (n=10).

5. Toxicidade de bivalves da Ria Formosa devido à presença de toxinas marinhas

A toxicidade em bivalves da Ria Formosa tem ocorrido devido à acumulação de toxinas marinhas produzidas por espécies fitoplantónicas tóxicas como *Dinophysis* spp. e *Gymnodinium catenatum* (Vale et al, 2008). Estas microalgas são produtoras de toxinas lipofílicas do grupo diarreico (diarrhetic shellfish poisoning - DSP) e toxinas paralisantes (paralytic shellfish poisoning - PSP), respectivamente. Os dados do programa nacional de monitorização de toxinas e algas tóxicas do IPMA mostram que na maioria dos anos são ultrapassados os limites máximos admissíveis para estes grupos de compostos, estabelecidos pela Comissão Europeia (EU 2004), permitindo desencadear acções de interdição de apanha e comercialização de bivalves da Ria Formosa. A ocorrência de toxinas DSP e PSP tem sido mais frequente, o que não se tem vindo a verificar para os compostos do grupo amnésico (amnesic shellfish poisoning - ASP), acumulados em moluscos bivalves devido à ocorrência de *blooms* de diatomáceas tóxicas do género *Pseudonitzschia* spp.

5.1. Variações inter-anual

5.1.1. Ano 2010

As figuras 9 e 10 apresentam os dados de toxicidade por toxinas marinhas em amêijoia e berbigão provenientes da Ria Formosa (zonas de produção de Faro e Olhão) no âmbito do programa nacional de monitorização de toxinas e algas tóxicas do IPMA (Anexo I - Metodologias analíticas e observações). A figura 9 refere os valores de toxicidade devido a DSP e a figura 10 devido a PSP. Os valores foram baixos com excepção de uma semana em Abril de 2010, em que foi atingido o limite regulamentar para DSP (160 μg ácido ocadáico equivalente por Kg tecido) (EU 2004). Em geral, os níveis de toxicidade por DSP, PSP e ASP detectados foram muito inferiores aos respectivos limites regulamentares (PSP - 800 μg saxitoxina equivalente por Kg tecido; ASP - 20 mg ácido domóico por Kg tecido) (EU 2004). Em concordância com estes resultados, a monitorização de espécies de fitoplâncton tóxico, em amostras de água colhidas

nas zonas de produção da Ria Formosa, não detectou a presença das espécies associadas às toxinas acima referidas. Não foi, por isso, necessário efectuar a intensificação de amostragens de água e de amêijoia-boia dos viveiros, como era previsto no planeamento das actividades.

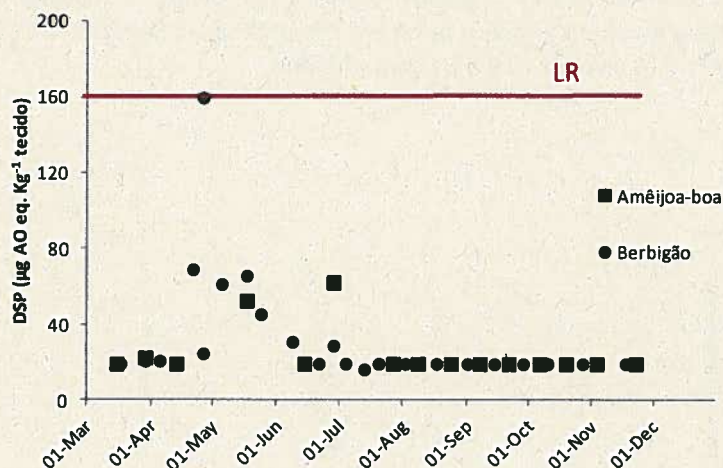


Figura 9. Níveis de DSP (diarrhetic shellfish poisoning) em amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) e berbigão (*Cerastoderma edulis*) recolhidos na Ria Formosa (zonas de produção Faro e Olhão) entre Março e Dezembro de 2010; LR (limite regulamentar)=160 µg ácido ocadáico (AO) equivalente por Kg tecido.

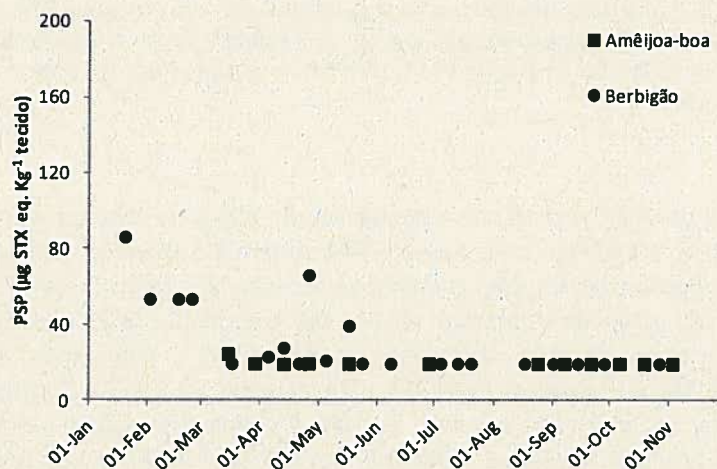


Figura 10. Níveis de PSP (paralytic shellfish poisoning) em amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) e berbigão (*Cerastoderma edulis*) recolhidos na Ria Formosa (zonas de produção Faro e Olhão) entre Janeiro e Novembro de 2010; limite regulamentar=800 µg saxitoxina equivalente por Kg tecido.

5.1.2. Ano 2011

No final de Março de 2011 registou-se a ocorrência de um *bloom* da espécie de dinoflagelados *Dinophysis acuminata* na zona costeira adjacente à Ria Formosa. Estas microalgas produtoras de toxinas DSP foram responsáveis por níveis de ácido ocadáico e de dinofisistoxinas superiores aos limites máximos admissíveis detectados em amêijoia-boia, berbigão e ostra de todas as zonas de produção da Ria Formosa. Houve, portanto, uma entrada de um elevado número de células desta alga no sistema lagunar. A figura 11, apresenta os dados de toxicidade por DSP em

amêijoia-boia, berbigão e ostra provenientes da Ria Formosa (zonas de produção de Faro e Olhão) obtidos também no âmbito do programa nacional de monitorização. O limite regulamentar para toxinas diarreicas foi ultrapassado em todas as espécies com excepção da ostra, tendo o berbigão atingido o valor mais elevado nas amostras analisadas durante o *bloom*. A ocorrência de toxinas nestas espécies de bivalves levou à interdição da apanha e comercialização para consumo humano durante três semanas com início em 1 de Abril de 2011. Esta interdição incluiu os viveiros A, B e C deste trabalho.

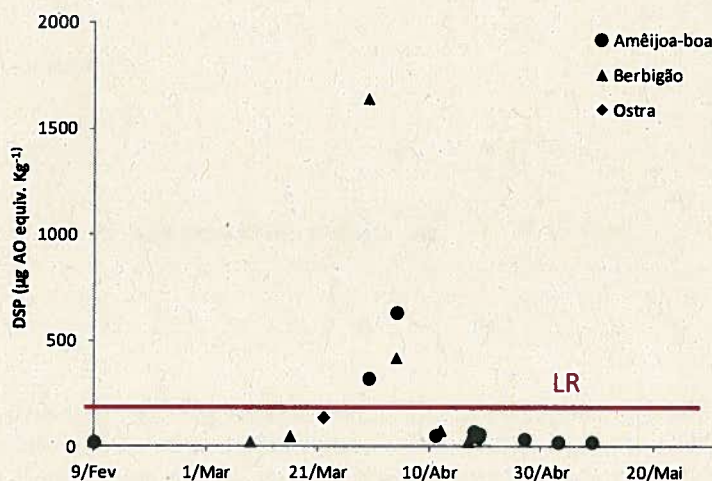


Figura 11. Níveis de DSP (diarrhetic shellfish poisoning) em amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*), berbigão (*Cerastoderme edule*) e ostra (*Crassostrea* spp., *Ostrea* spp.) colhidos na Ria Formosa (zonas de produção de Faro e Olhão) entre Fevereiro e Maio de 2011; LR (limite regulamentar) = 160 µg ácido ocadáico (AO) equivalente por Kg tecido.

5.1.3. Ano 2012

Entre Maio e Julho de 2012 registou-se a ocorrência de elevadas concentrações de células da espécie *Dinophysis acuminata* na zona costeira adjacente à Ria Formosa. Apesar de terem sido interditas espécies de bivalves da zona costeira, as espécies das zonas de produção de Olhão e Faro (Ria Formosa) não apresentaram níveis de toxicidade DSP superiores ao limite regulamentar. A mesma situação repetiu-se em Setembro e Novembro, não tendo sido decretadas interdições por toxinas diarreicas para as espécies da Ria Formosa. A figura 12 apresenta os dados de toxicidade por DSP em amêijoia-boia e berbigão provenientes da Ria Formosa (zonas de produção de Faro e Olhão) obtidos em 2012 no âmbito do programa nacional de monitorização. No início do mês de Agosto foi registada a ocorrência de um *bloom* de *Gymnodinium catenatum*, espécie de fitoplâncton produtor de toxinas PSP, na zona costeira adjacente a Ria Formosa. Após entrada destas microalgas para o sistema lagunar, os níveis de toxinas paralisantes ultrapassaram o limite regulamentar, estabelecido para estes compostos, em várias espécies de bivalves da Ria Formosa. Os níveis triplicaram e duplicaram o limite regulamentar, em amêijoia-boia e em berbigão, respectivamente. A ocorrência destes níveis teve como consequência a interdição de captura e comercialização de todas as espécies da Ria Formosa, durante 32 dias, incluindo os viveiros A, B e C dos ensaios experimentais descritos neste relatório. A figura 13 representa os níveis de PSP em amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) e em berbigão (*Cerastoderme edulis*) provenientes das zonas de produção Faro e Olhão entre Janeiro e Dezembro de 2012. Em contraste com anos anteriores, em Junho foram quantificados níveis de toxinas amnésicas (amnesic shellfish poisoning - ASP) em bivalves da Ria Formosa. Foi registada a ocorrência de um *bloom* de diatomáceas tóxicas do género *Pseudonitzschia* spp. na zona costeira, em simultâneo com a detecção de valores acima do limite regulamentar para

toxinas amnésicas em espécies da Ria Formosa (20 mg ácido domóico por Kg tecido). A figura 14 apresenta os níveis ASP em amêijoia-boia e berbigão, recolhidos nas zonas de produção de Faro, Olhão, Tavira e V. Real de S. António.

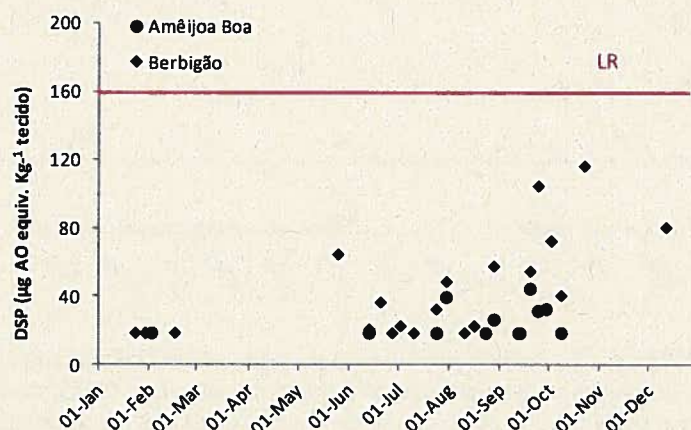


Figura 12. Níveis de DSP (diarrhetic shellfish poisoning) em amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) e berbigão (*Cerastoderme edulis*) recolhidos na Ria Formosa (zonas de produção Faro e Olhão) entre Janeiro e Dezembro de 2012; LR=limite regulamentar=160 µg ácido ocadáico (AO) equivalente por Kg tecido.

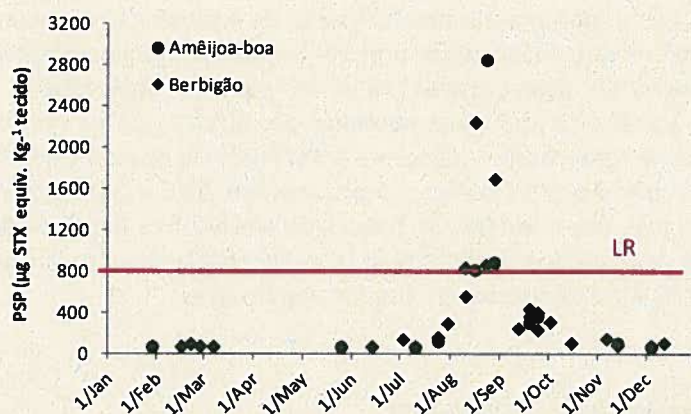


Figura 13. Níveis de PSP (paralytic shellfish poisoning) em amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) e berbigão (*Cerastoderme edulis*) recolhidos na Ria Formosa (zonas de produção Faro e Olhão) entre Janeiro e Dezembro de 2012; LR (limite regulamentar)=800 µg saxitoxina equivalente por Kg tecido.

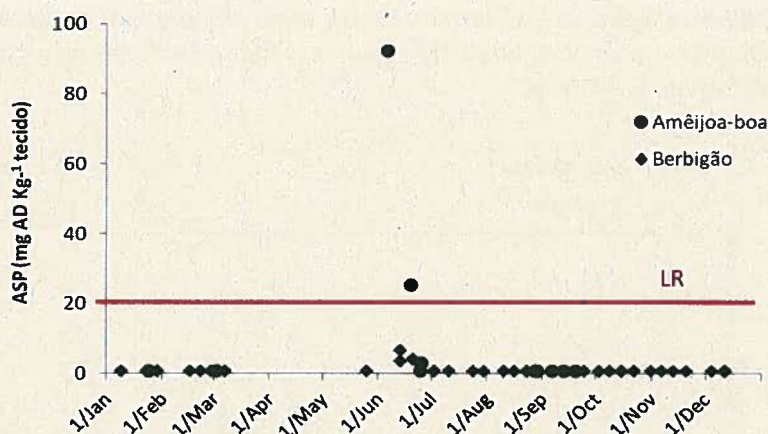


Figura 14. Níveis de ASP (amnesic shellfish poisoning) em amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) e berbigão (*Cerastoderme edulis*) recolhidos na Ria Formosa (zonas de produção Faro, Olhão, Tavira e Vila Real de S. António) entre Janeiro e Dezembro de 2012; LR (limite regulamentar)=20 mg ácido domóico (AD) por Kg tecido.

5.2. Padrões sazonais

Apesar da ocorrência de *blooms* de algas tóxicas ser um fenómeno natural e imprevisível, dependendo de vários fenómenos oceanográficos, é de referir que nos últimos 3 anos ocorreu um padrão sazonal (plano nacional de monitorização de toxinas e algas tóxicas). Ao longo do período a que se refere este relatório foi possível registar a mesma variabilidade sazonal na ocorrência de *blooms* de algas tóxicas na zona costeira adjacente à Ria Formosa e consequentemente a presença de toxinas marinhas nos bivalves da Ria Formosa. A ocorrência de toxinas diarreicas na zona costeira adjacente à Ria Formosa nos anos de 2010, 2011 e 2012 teve início em Abril ou Maio, e as toxinas paralisantes em 2010 e 2012 ocorreram a partir do mês de Julho. A duração dos episódios de toxicidade em bivalves depende da intensidade do *bloom*, da entrada e permanência de algas tóxicas no sistema lagunar, assim como das cinéticas de acumulação e eliminação de toxinas nas espécies de bivalves.

5.3. Comparação com os dados de 2001-2011

Os dados de 2012 foram comparados com os dados históricos do programa de monitorização do IPIMAR referentes ao período entre 2001 e 2011. Os tipos de toxicidade mais frequentemente detectados foram DSP e PSP (paralytic shellfish poisoning) (Vale et al, 2008).

Os períodos de interdição nesta década foram inferiores e com uma duração mais curta que em outras zonas de produção em Portugal. Na maioria dos anos, o limite regulamentar para toxinas diarreicas é apenas ligeiramente ultrapassado e por períodos muito curtos. A situação ocorrida em 2012 foi diferente, tendo sido a interdição na Ria Formosa mais prolongada do que em anos anteriores e ultrapassando os períodos de interdição observados em outras zonas de produção em Portugal. Em 2012 a toxicidade foi maioritariamente causada por PSP, tendo também sido necessário decretar a interdição da Ria Formosa por toxicidade ASP.

5.4. Anúncio da interdição de comercialização de bivalves

Presentemente o site <http://www.ipma.pt/pt/pescas/bivalves/index.jsp> publica o estado de interdição das zonas de produção e de apanha de bivalves na Ria Formosa e no litoral Algarvio.

Os períodos em que é decretada a interdição resultam da presença de toxinas marinhas em níveis que superam os valores regulamentares estabelecidos. A informação sobre a toxicidade dos bivalves neste site é actualizada regularmente de acordo com os dados do Programa Nacional de toxinas e algas tóxicas da responsabilidade do IPMA.

6. Estatuto sanitário das zonas de produção da Ria Formosa

O controlo da salubridade dos moluscos bivalves vivos é relevante, dado que os surtos de infecções e intoxicações causados pelo consumo de bivalves contaminados com microrganismos patogénicos bacterianos configuram um problema de saúde pública recorrente a nível mundial. A legislação em vigor atribui ao IPMA, enquanto Laboratório Nacional de Referência, competências no controlo da salubridade dos moluscos bivalves vivos, que consiste na delimitação e classificação periódica das zonas de produção. Esta classificação é efectuada em categorias ou estatuto sanitário, de acordo com os teores bacteriológicos encontrados (tabela 2). Desde 2005 a União Europeia recomenda que esta classificação se baseie no teor de *Escherichia coli* (*E. coli*). O estatuto sanitário indica o grau de contaminação fecal existente nas diferentes zonas de produção de bivalves, assim como determinar o tipo de tratamento necessário para a posterior comercialização. Actualmente a Ria Formosa está classificada como B, de acordo com os resultados obtidos no plano de amostragens efectuado às diferentes zonas de produção.

Tabela 2. Critérios microbiológicos para classificação das zonas de produção de moluscos bivalves vivos de acordo com o Regulamento (CE) Nº854 (EU 2004).

Classes	Níveis Permitidos (Teor de <i>E. coli</i> /100g)	Ações necessárias
A	≤ 230 <i>E. coli</i> /100g de carne e líquido intervalvar	Centro de Expedição e Consumo Directo
B	$230 < E. coli \leq 4600$ /100g de carne e líquido intervalvar em 90% das amostras	Depuração e depois cumprir os requisitos da Classe A
C	$4600 < E. coli \leq 46000$ /100g de carne e líquido intervalvar	Indústria transformadora ou permanecer pelo menos 2 meses em zona de transposição

6.1. Níveis de *E. coli* em amêijoas dos viveiros

Os dados obtidos de *E. coli* para as determinações efectuadas nos ensaios experimentais nos viveiros A, B e C (zonas de produção de Faro e Olhão) que decorreram entre Novembro de 2010 e Outubro de 2011 são apresentados na figura 15. Os níveis oscilam entre os valores das classes A e B, atingindo apenas uma amostra a classe C no Inverno. A figura 16 compara os valores médios dos teores de *E. coli* em amêijoas dos três viveiros durante este período anual de observações. Os valores no viveiro A são substancialmente superiores aos encontrados no viveiro C, enquanto o viveiro B encontra-se numa situação intermédia de contaminação microbiológica.

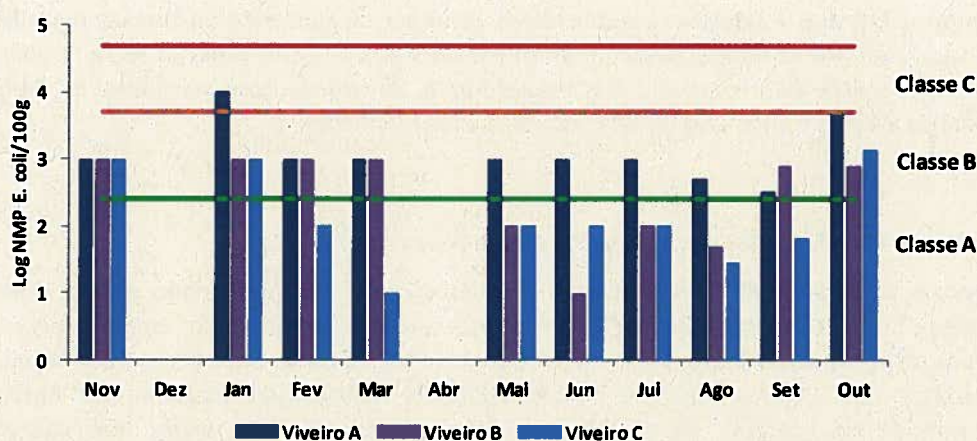


Figura 15. Teores de *Escherichia coli* em amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) colhidas nos viveiros A, B e C, entre Novembro de 2010 e Outubro de 2011.

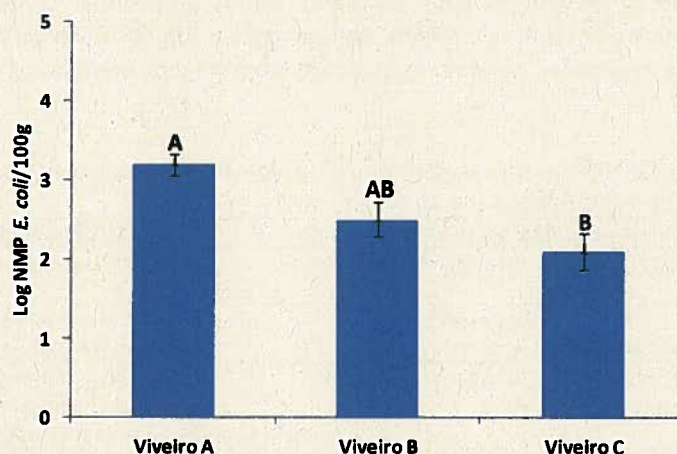


Figura 16. Teor médio de *Escherichia coli* em amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) colhidas nos viveiros A, B e C entre Novembro de 2010 e Outubro de 2011. As letras representam as diferenças significativas ($p < 0,05$).

6.2. Efeito da temperatura, radiação solar e pluviosidade

Com o aumento da temperatura da água no Verão, e presumivelmente da intensidade e duração da radiação solar, observou-se um decréscimo nos valores de *E. coli*. Apesar do aumento da população no período estival e, consequentemente do débito dos efluentes urbanos, registou-se uma diminuição nos teores de *E. coli* nas amêijoas. Estes dados sugerem que o efeito bactericida da radiação solar e da temperatura complementando o tratamento existente nas ETAR. No entanto, os teores de *E. coli* mais elevados foram observados nos meses de maior precipitação, especialmente nos viveiros mais próximos das cidades (viveiros A e B). Provavelmente estas variações dos teores resultam do efeito de fontes difusas, nomeadamente actividades agro-pecuárias, industriais, fossas, entre outras. Estas observações estão de acordo com dados anteriores que sugerem uma relação entre a contaminação microbiológica dos bivalves e os factores climáticos. Observaram-se níveis baixos de contaminação microbiana durante o período de seca extrema de 2004 e 2005, e níveis anormalmente elevados durante os meses de pluviosidade intensa (Almeida & Soares, 2012)

6.3. Evolução do estado sanitário das amêijoas em viveiros

Com base em dados históricos existentes no IPIMAR foi feita uma análise da evolução do estatuto sanitário das zonas de produção de bivalves de Faro e Olhão entre 1990 e 2012. A classificação da zona de produção de Faro e de Olhão variou ao longo duas décadas entre a classe A, B e C, tendo maioritariamente sido classificada como B (figuras 17 e 18). Pontualmente a zona de produção de Olhão atingiu a classificação C.

Os valores mais baixos de *E. coli* nos bivalves da Ria Formosa foram registados em 2004, parecendo existir uma tendência para a diminuição do seu teor nos últimos anos da década de 2000-2010 em todas as zonas de produção definidas. Em 2002, o tratamento de águas residuais já abrangia 83% da população do Algarve. Nos últimos anos têm sido construídas e remodeladas várias ETAR, nomeadamente as existentes em Castro Marim, Tavira, Olhão e Faro, muitas já incluindo tratamento secundário com desinfecção. Cachola & Campos (2006) verificaram também a diminuição da contaminação fecal nestes últimos anos em algumas zonas da Ria Formosa. Estes resultados apontam, portanto, para uma diminuição significativa da contaminação nos bivalves provenientes da região intermédia da laguna e das zonas mais próximas das barras ao longo da década de 2000, com a implementação e melhoramento das ETAR existentes no litoral algarvio. No entanto, para garantir a qualidade da água nas zonas de produção de bivalves na Ria Formosa é necessário uma redução das fontes de contaminação, tanto pontuais como difusas.

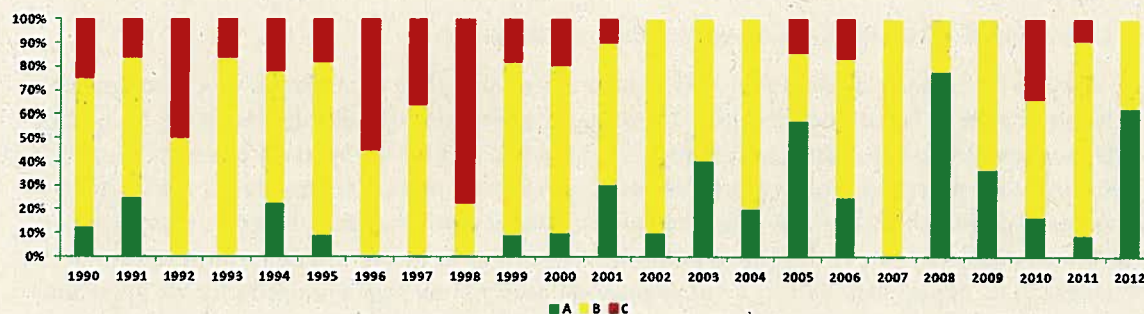


Figura 17. Evolução do estatuto sanitário (A, B e C) da zona de produção de Faro entre os anos 1990 e 2012. Os teores de *E. coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B >230 e <4600 NMP *E. coli*/100g, C ≥ 4600 NMP *E. coli*/100g.

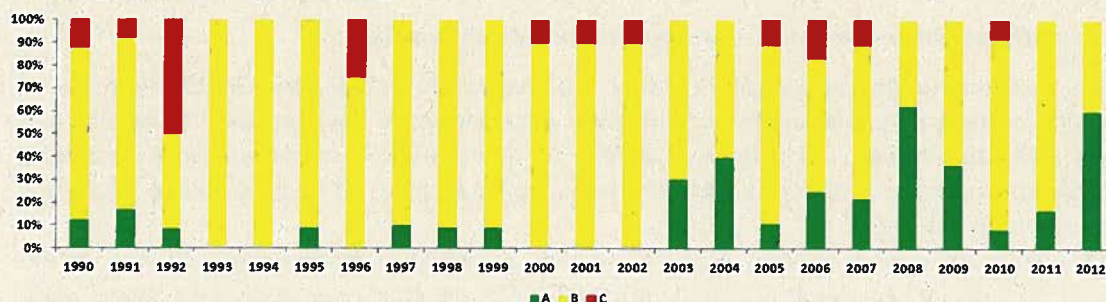


Figura 18. Evolução do estatuto sanitário (A, B e C) da zona de produção de Olhão entre os anos 1990 e 2012. Os teores de *E. coli* por classe são: A ≤ 230 NMP *E. coli*/100g, B >230 e <4600 NMP *E. coli*/100g, C ≥ 4600 NMP *E. coli*/100g.

7. Medidas de acção para a melhoria e controlo da qualidade da água na Ria Formosa

A contaminação fecal das águas conquícolas da Ria Formosa resulta de diversos factores. De forma a otimizar a produção/captura dos bivalves e garantir a sua qualidade como produto para consumo humano, torna-se necessário definir um conjunto de medidas para assegurar a protecção e melhoria constante da qualidade dessas águas. Foi, por isso, proposto um Programa de Acção e Medidas para a Melhoria e Controlo da Qualidade da Água na Ria Formosa (DR nº 181 de 20 de Setembro de 2012). Neste programa consta como medida de acção a desenvolver, sob responsabilidade do IPMA, a implementação de um programa de segurança para a interdição da apanha de bivalves para consumo humano em curtos períodos, coincidentes com chuvas torrenciais, em especial as primeiras chuvas após a época de estiagem.

As medidas de acção propostas são as seguintes:

- (i) Interdição da captura de amêijoas na Ria Formosa, por precaução, sempre que a pluviosidade for superior a 20 mm/dia;
- (ii) Após interdição, vigilância dos níveis de *E. coli* em amêijoas amostradas duas vezes por semana em viveiros perto da cidade de Faro (viveiro no Canal Ladrão), Olhão (Marim) e Tavira (Quatro Águas);
- (iii) Levantamento de interdição quando valores de *E. coli* forem inferiores a 46 000 NMP *E. coli*/100g (estatuto sanitário C).

8. Estimativa da Capacidade de Carga em Viveiros de Amêijoa

Os viveiros de amêijoa da Ria Formosa apresentam uma grande diversidade de características, nomeadamente a circulação da água, as cotas, a granulometria do sedimento e os efeitos antropogénicos recebidos do meio urbano circundante. Factores ambientais, tais como a menor renovação das águas nas zonas mais interiores, a natureza menos adequada do substrato e, a ocorrência de temperaturas elevadas parecem contribuir para situações de stress nesta espécie. Nestas condições as cargas de cultivo poderão ser superiores à capacidade de suporte do meio. A avaliação da capacidade de carga dos viveiros de amêijoa, ou seja o quantitativo de indivíduos por metro quadrado que não condicione a o rendimento da produção, em particular nas zonas mais problemáticas, é essencial para a manutenção da cultura e para a sustentabilidade desta actividade económica.

8.1 Condições dos ensaios: tipo substrato e densidade das amêijoas

Para a estimativa da capacidade de carga nos viveiros de amêijoa-boia da Ria Formosa foi testado o efeito da granulometria do substrato e da densidade das amêijoas. Os ensaios para esta estimativa foram realizados num viveiro de amêijoa-boia, considerado ambientalmente problemático devido à influência das actividades humanas, junto ao Canal de Olhão (figura 19), nas seguintes condições:

- (i) delimitação de três áreas com 18 m² com as seguintes percentagens da fracção fina (<63µm) na cama superficial (0-1 cm): 0.98-1.12% designada por mistura de calhau rolado e areia; 1.28-1.49% considerado substrato arenoso; e 2.50-2.89%, substrato vaso-arenoso;
- (ii) divisão de cada tipo de substrato em 3 sub-áreas de 6 m² e demarcação de 72 quadrículos com 50x50 cm;
- (iii) sementeira, em cada quadrícula, de juvenis de *Ruditapes decussatus*, provenientes de bancos naturais da Ria Formosa com as seguintes características: comprimento médio de 21.85±2,53 mm, peso médio de 2.19±0,74 g;
- (iv) colocação das sementes em cada substrato com a densidade de 160, 260 e 400 ind.m⁻²;

- (v) amostragem das amêijoas de modo aleatório simples sem reposição em dois quadrículos, mensalmente entre Maio a Outubro, durante a baixa-mar de marés vivas;
- (vi) amostragem de parâmetros ambientais (temperatura, salinidade, oxigénio dissolvido e matéria orgânica, clorofila *a* e feopigmentos no sedimento)
- (vii) registo do número total de indivíduos em cada quadrículo para avaliação da taxa de mortalidade;
- (viii) determinação dos parâmetros biométricos (comprimento, altura, espessura, peso), parâmetros bioquímicos (lípidos totais e glicogénio) e índice de condição nas amêijoas.



Figura 19. Localização do viveiro utilizado para a realização dos ensaios de estimativa de capacidade de carga.

8.2. Variação de parâmetros ambientais durante os ensaios

A medição da temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido foi realizada *in loco*, entre as 10h00 e 12h00, mensalmente entre Maio e Outubro. A temperatura da água e do sedimento superficial variou entre 22 e 27 °C.; a salinidade entre 35 em Outubro e 37 em Agosto; e o oxigénio entre 7.6 (Julho) e 14.1 mg L⁻¹ (Agosto).

A percentagem de matéria orgânica no sedimento superficial diminuiu de 3% em Maio para 1% em Junho, variando posteriormente entre 0.5 e 2.0 %. A percentagem de matéria orgânica no sedimento vaso-arenoso foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos valores dos substratos arenoso e arenoso + calhau. Não se registaram diferenças significativas entre densidades de amêijoa ($p > 0,05$).

A concentração de clorofila *a* no substrato vaso-arenoso ($8.35 \pm 2.35 \mu\text{g g}^{-1}$) foi superior à do substrato arenoso ($6.81 \pm 2.24 \mu\text{g g}^{-1}$) e arenoso + calhau rolado ($6.91 \pm 3.10 \mu\text{g g}^{-1}$). O factor densidade, por si só, não afectou a variação da clorofila *a* ($p > 0,05$). A concentração de feopigmentos no sedimento foi comparável para as três densidades de amêijoa testadas e significativamente mais elevada nos substratos vaso-arenoso e arenoso+calhau comparativamente ao substrato arenoso.

8.3. Variação de parâmetros biológicos durante os ensaios

8.3.1. Tamanho

Registou-se, de um modo geral, um aumento do comprimento e peso das amêijoas em todos os ensaios, sendo mais acentuado até ao mês de Agosto (figura 20 e tabela 3). Em cada um dos substratos testados, o crescimento das amêijoas foi semelhante para as três densidades e variou significativamente com o tipo de substrato ($p < 0,001$). No substrato vaso-arenoso, as amêijoas

apresentaram um comprimento significativamente superior comparativamente com as amêijoas cultivadas nos substratos arenoso e arenoso+calhau ($p<0,05$). Relativamente ao peso vivo, registou-se, a existência de diferenças significativas entre os três tipos de sedimentos ($p<0,05$), com o vaso-arenoso a apresentar os valores médios mais altos e o arenoso os valores médios mais baixos. No final dos ensaios, os índices globais de crescimento em peso (IcTp) mais baixos foram obtidos no substrato arenoso e os mais elevados foram registadas nos sedimentos vaso-arenoso e arenoso+calhau. No que se refere ao índice global de crescimento em comprimento, os valores, no final do ensaio, foram bastante similares entre densidades e substratos.

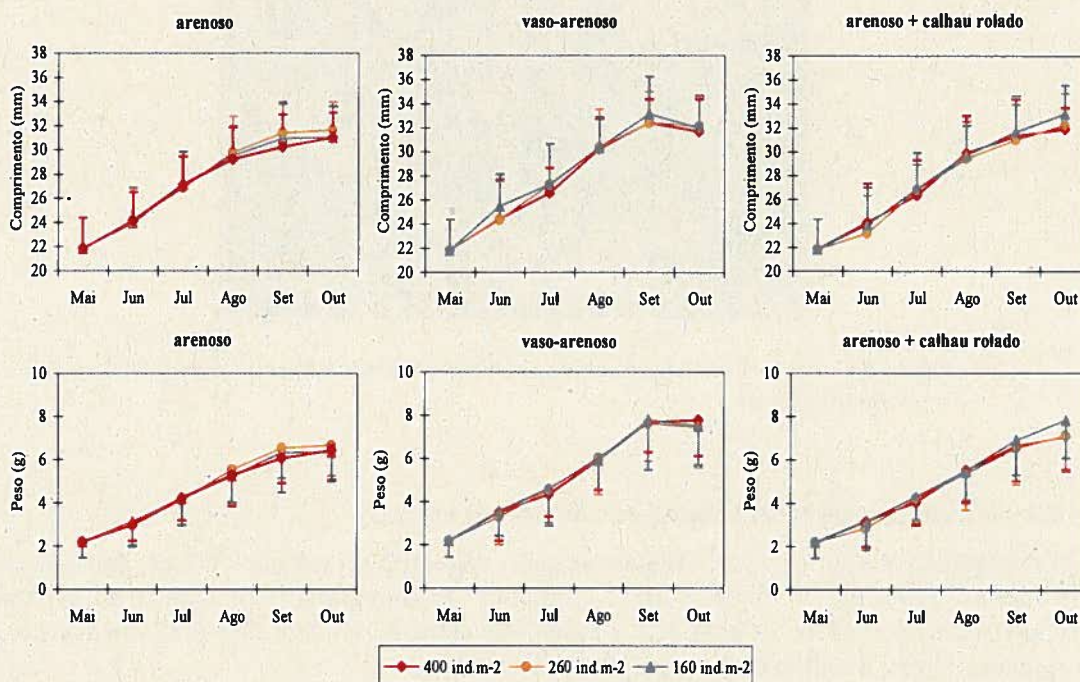


Figura 20. Crescimento médio mensal ($\pm \sigma$) em comprimento (mm) e peso (g) de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) cultivada em diferentes substratos com diferentes densidades.

Tabela 3. Índice global de crescimento em comprimento e peso de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) cultivadas em diferentes substratos com diferentes densidades.

Índice Global de Crescimento (IcT)									
Comprimento									
	Arenoso			Vaso-arenoso			Arenoso + Calhau rolado		
	DE	DM	DB	DE	DM	DB	DE	DM	DB
Junho	0,31	0,33	0,33	0,37	0,36	0,52	0,33	0,20	0,30
Julho	0,36	0,34	0,36	0,33	0,37	0,37	0,31	0,34	0,35
Agosto	0,33	0,34	0,32	0,36	0,37	0,36	0,35	0,33	0,34
Setembro	0,26	0,27	0,24	0,29	0,29	0,31	0,27	0,26	0,27
Outubro	0,21	0,22	0,21	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,25

Peso									
	Arenoso			Vaso-arenoso			Arenoso + Calhau rolado		
	DE	DM	DB	DE	DM	DB	DE	DM	DB
Junho	1,20	1,03	1,02	1,59	1,37	1,63	1,24	0,88	1,20
Julho	1,08	1,06	1,10	1,14	1,22	1,24	1,02	1,09	1,12
Agosto	0,97	1,03	0,98	1,11	1,13	1,11	1,03	1,00	1,02
Setembro	0,79	0,81	0,75	0,93	0,92	0,94	0,82	0,81	0,85
Outubro	0,65	0,67	0,65	0,77	0,74	0,75	0,71	0,72	0,77

DE = Densidade elevada

DM = Densidade média

DB = Densidade baixa

8.3.2. Índice de condição

Em todos os ensaios, a variação do índice de condição (IC) (figura 21) foi semelhante ($p>0,05$), variando entre 5.58 ± 2.93 e 16.76 ± 8.51 . O valor máximo foi observado no mês de Julho, em todas as situações testadas. Após este mês registou-se um decréscimo dos valores médios do IC, à excepção dos resultados obtidos para os indivíduos cultivados no substrato arenoso, na densidade mais elevada que, apresentaram um valor superior no último mês de amostragem.

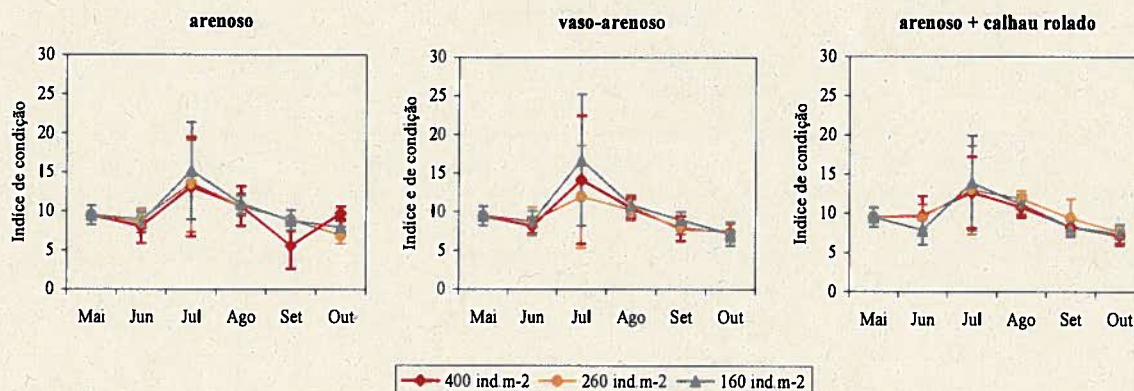


Figura 21. Valores mensais ($\pm\sigma$) do índice de condição em amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) cultivadas em substratos diferentes com diferentes densidades.

8.3.3. Conteúdo em matéria orgânica

Em todos os tipos de substratos e densidades, observou-se um incremento no conteúdo da matéria orgânica total nas amêijoas até Agosto/Setembro, com os valores máximos a variarem entre $0.27\pm 0,11$ e $0.34\pm 0,10$ mg (figura 22). Esta variação não apresentou diferenças

significativas com a densidade ($p>0,05$). Contudo, observaram-se diferenças significativas entre amêijoas do substrato vaso-arenoso e do substrato arenoso ($p<0,05$).

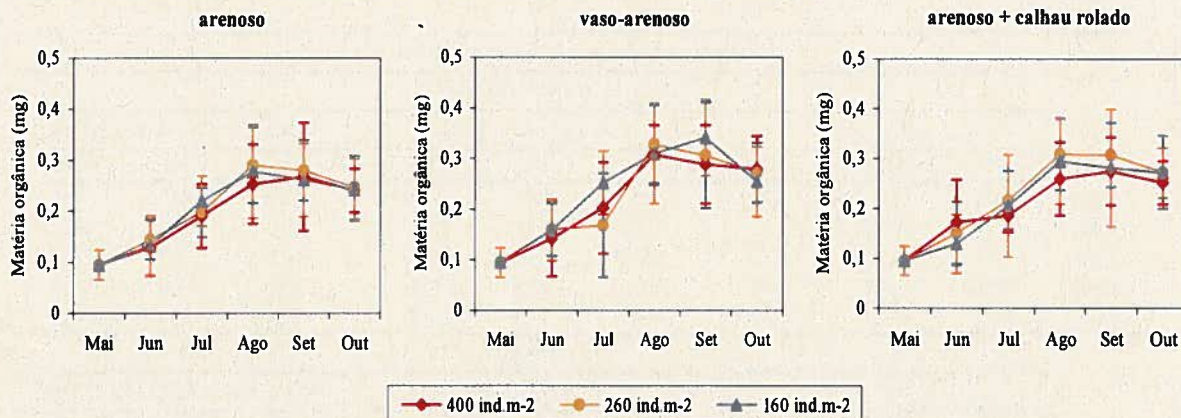


Figura 22. Valores médios mensais ($\pm\sigma$) do conteúdo em matéria orgânica (mg por indivíduo) em amêijoas-boas (*Ruditapes decussatus*) cultivadas em substratos diferentes, com diferentes densidades.

8.3.4. Lípidos e glicogénio

Os conteúdos em lípidos e glicogénio das amêijoas apresentaram uma tendência temporal, apesar da variação entre densidades e substratos (figura 23). Foi verificada a ocorrência de um pico de acumulação de reservas energéticas (lípidos e glicogénio) em Julho e Agosto seguido de um decréscimo no final deste período. Ao longo dos ensaios, foram observadas flutuações erráticas no conteúdo em lípidos, no entanto este constituinte foi significativamente inferior na densidade média das amêijoas ($p=0,01$) e no substrato arenoso+calhau ($p<0,01$). No que se refere, ao conteúdo em glicogénio, este apresentou um marcado decréscimo (90 a 99 %) no mês de Setembro, mais evidente na densidade elevada e média.

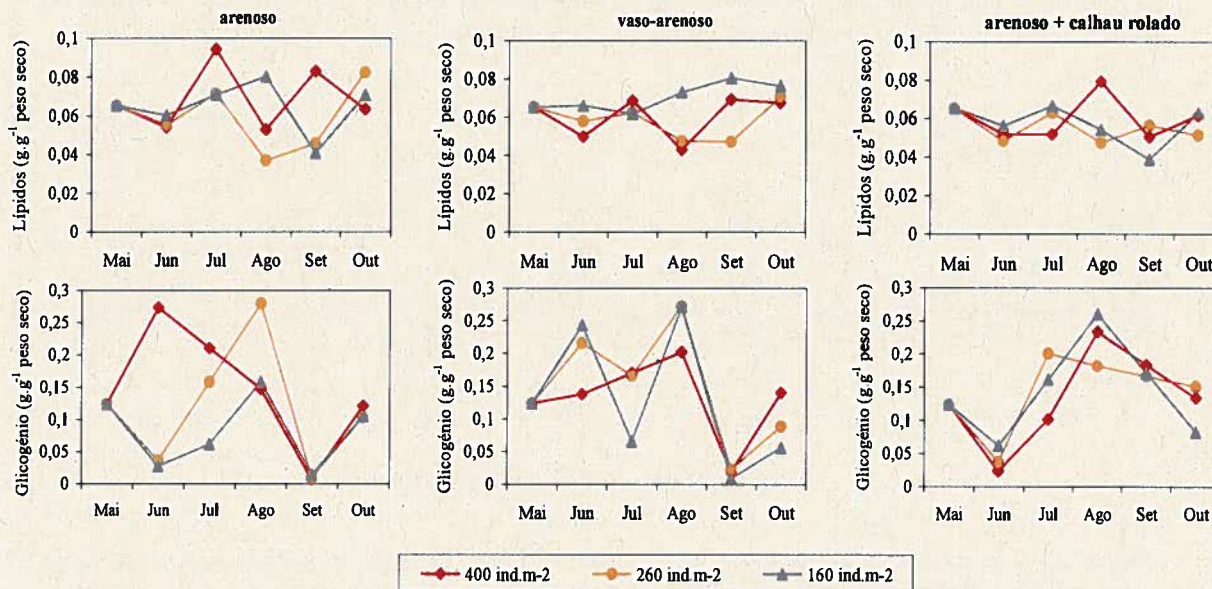


Figura 23. Variação mensal do conteúdo em lípidos totais (g g^{-1} peso seco) e glicogénio (g g^{-1} peso seco) em amêijoas-boas (*Ruditapes decussatus*) cultivadas em substratos diferentes com diferentes densidades.

8.3.5. Mortalidade de amêijoas

A taxa de mortalidade foi mais elevada na densidade mais elevada de amêijoas (30-36 %) do que nas densidades baixa (12%) e média (21%) (figura 24).

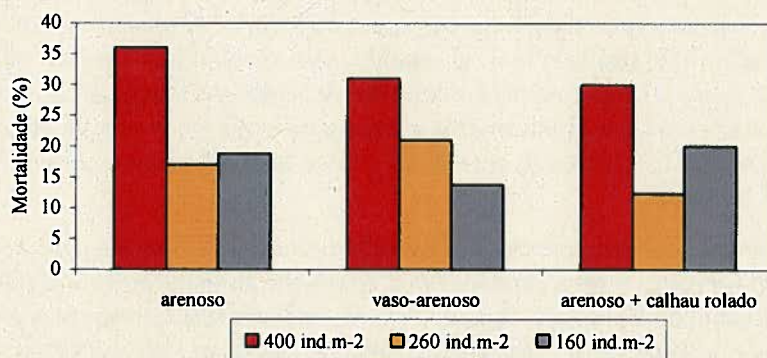


Figura 24. Valor final da taxa de mortalidade (%) de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) cultivadas em substratos diferentes, com diferentes densidades.

8.3.6. Rendimento da biomassa

A figura 25 mostra o rendimento, ou seja, a diferença entre a biomassa final e a biomassa inicial estimada para as diferentes densidades e substratos testados. Os rendimentos mais elevados foram observados no substrato calhau+areia, tendo sido detectadas diferenças significativas entre a densidade mais baixa e as outras duas densidades ($p < 0,05$).

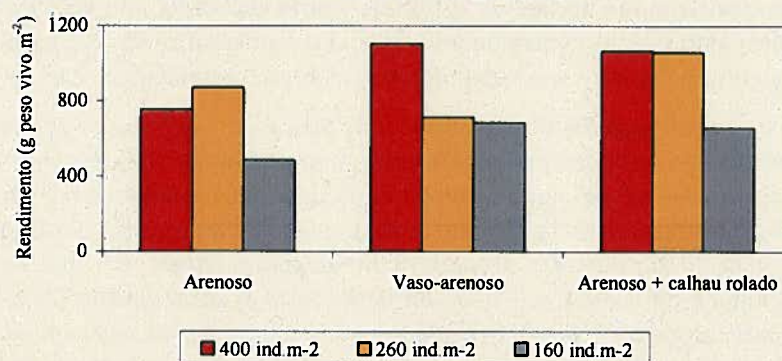


Figura 25. Rendimento (g peso vivo.m⁻²) obtido ao fim de seis meses de cultura de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) em função da densidade e do tipo de substrato.

8.4. Estimativa da melhor capacidade de carga

O crescimento dos bivalves varia de acordo com vários factores: área de cultivo, estação do ano, temperatura, quantidade e qualidade do alimento disponível, tamanho, idade, densidade populacional, tipo de substrato, salinidade, oxigénio dissolvido e fase da gametogénese (Martinez et al, 1997).

Os ensaios desenvolveram-se com valores de salinidade e oxigénio dissolvido dentro da gama de variação normal para a Ria Formosa (Falcão et al, 1992), embora a espécie *Ruditapes decussatus* seja tolerante a variações de salinidade e de oxigénio (Sobral & Widdows, 1997). De um modo geral, o crescimento das amêijoas foi essencialmente influenciado pelo tipo de substrato, sendo mais adequado natureza vaso-arenosa, arenoso+calhau e, por último, arenosa. Os valores mais elevados de clorofila *a* e matéria orgânica nos substratos vaso-arenoso e arenoso+calhau estão

de acordo com as maiores taxas de crescimento e conteúdo em matéria orgânica das amêijoas cultivadas nestes substratos. O efeito na nutrição e, conseqüentemente, no desenvolvimento da amêijoas-boas parece ser relevante.

De acordo com Gabbott (1976), os lípidos representam uma importante reserva de energia devido ao seu elevado valor calórico e são fundamentalmente usados em condições de stress crónico, enquanto as reservas em glicogénio são geralmente usadas nos processos de gametogénese quando não existe disponibilidade de lípidos. As amêijoas cultivadas no substrato vaso-arenoso e nas densidades intermédia e baixa apresentaram uma melhor condição biológica em termos bioquímicos, dado que apresentaram, no final do período experimental, os valores mais elevados de lípidos.

Em moluscicultura, os índices de condição também podem ser usados para avaliar a qualidade do produto no mercado e para caracterizar a actividade fisiológica dos indivíduos. Marin et al. (2003) consideram como produto de qualidade as amêijoas que apresentam um valor de índice de condição de 5. Quando se utiliza este valor de referência de índice de condição para a espécie em estudo (*Ruditapes decussatus*) verifica-se que esta condição foi observada em todo o período experimental. Tendo em conta este pressuposto pode-se considerar as amêijoas produzidas na Ria Formosa um produto de qualidade.

Numa cultura de bivalves, o factor que condiciona o desenvolvimento e mortalidade dos organismos é fundamentalmente a densidade de cultura. Uma densidade elevada leva a taxas de mortalidade maiores, uma vez que as amêijoas competem pelo espaço e pelo alimento. Efectivamente, os nossos resultados mostraram uma percentagem de mortalidade mais elevada, no final do período experimental, na cultura efectuada com a maior densidade (30 a 36%), independentemente do tipo de substrato. Como esperado, a mortalidade tem reflexos na biomassa das amêijoas e conseqüentemente no rendimento da produção. O rendimento mostrou uma tendência para subir quando se aumentou a densidade inicial de cultura.

Sumariamente, a conjugação dos resultados de todos os parâmetros analisados, evidenciam que: i) as densidades testadas não estabeleceram uma marcada influência no desenvolvimento de *Ruditapes decussatus*, pelo que se recomenda densidades iniciais entre 260 e 400 ind.m⁻² (≈ 500 a 1000 g), contudo deve ter-se em conta que o equilíbrio carga biótica-alimento varia de local para local; ii) o substrato arenoso é nitidamente aquele em que se deve utilizar as densidades iniciais de cultura próximas do limite inferior estabelecido (260 ind.m⁻²), uma vez que, foi o que suportou pior as densidades mais elevadas, ou seja aquele que apresentou rendimentos mais baixos; o substrato vaso-arenoso é aquele que suporta densidades próximas do limite superior estabelecido (400 ind.m⁻²) e o arenoso+calhau é o que suporta um valor intermédio.

9. Possível Impacto do Recrutamento de Mexilhão na Produção de Bivalves na Ria Formosa

9.1 Considerações sobre o recrutamento do mexilhão na Ria

Os mexilhões produzem normalmente gâmetas e desovam pela primeira vez quando têm cerca de um ano de idade. A gametogénese, a desova e o armazenamento de nutrientes fazem parte de um processo integral denominado ciclo reprodutivo. Este ciclo é resultado de um complexo balanço entre factores exógenos (ex: disponibilidade de alimento, temperatura, salinidade, duração da exposição ao ar, pH) e factores endógenos (reservas de nutrientes, ciclo hormonal e genótipo) (Seed, 1978). Deste modo, a interacção entre estes factores assegura a sincronização do desenvolvimento dos gâmetas dentro da população (Newell 1989). A pré-vitelogénese (i.e

formação de oógonias e espermatogónias) ocorre durante o Inverno até ao início da Primavera, quando a disponibilidade do alimento é menor. A energia utilizada para este acontecimento é suportada por reservas de glicogénio adquiridas durante o período de pós-desova (Thompson & Sciences, 1984). A vitelogénese (estado final da gametogénese, quando os espermátócitos e os oócitos estão formados), usualmente ocorre num período curto de algumas semanas no final da Primavera (Newell, 1989). A energia utilizada neste processo, tal como na pré-vitelogénese, é retirada das reservas de glicogénio ou de alimento ingerido. Os gâmetas estão então prontos para serem libertados. A quantidade de glicogénio armazenado durante o período de repouso pode, também, influenciar a fecundidade, a qualidade dos oócitos e o desenvolvimento larval (Fearman & Moltschaniwskyj, 2010).

A fecundação é externa, as fêmeas libertando milhares de ovos para a coluna de água que são fecundados pelos espermatozóides libertados simultaneamente pelos machos (Newell, 1989). A fase larvar planctónica, constitui a fase de maior mobilidade dos mexilhões, sendo também a fase de maior mortalidade. Nesta fase, podem sofrer até 99 % de mortalidade devido à falta de substratos adequados e suficientes no ambiente natural e à competição por espaço com competidores intra e inter-específicos. Contudo, quando as condições óptimas se conjugam os recrutamentos desta espécie são elevados.

Desde longa data que em condições ambientais normais, os recrutamentos desta espécie se encontram bastantes limitados na Ria Formosa, atendendo à inexistência de substratos adequados para a sua fixação. No entanto, em algumas épocas tem sido observado aumentos temporários do recrutamento de mexilhão na costa Algarvia e na Ria Formosa presumivelmente atribuídos a processos naturais.

9.2. Possível relação entre o recrutamento anormal e as más práticas de produção

Quando as condições óptimas para a reprodução e fixação se conjugam podem ocorrer recrutamentos anormais de mexilhão. De acordo com Associação de Moradores da Ilha da Culatra, no ano de 2012 ocorreu um recrutamento anormal de mexilhão na Ria Formosa, em especial nos viveiros de amêijoas. A referida Associação relaciona esta abundância com a presença de uma estrutura para a produção de mexilhão e ostra num dos extremos da Área Piloto de Produção Aquícola (APPA) na Armona.

A análise técnico-científica desta situação, com vista a esclarecer se o incremento da abundância de mexilhão é o resultado local da produção de mexilhão na APPA, ou de um fenómeno natural de vasta extensão, requer diversas acções, nomeadamente: (i) visitas a viveiros de amêijoas, (ii) mergulhos nas zonas subtidais da Ria, (iii) mergulhos na zona costeira próxima da APPA; (iv) determinação da distribuição espacial e abundância do mexilhão; (v) comparação com a extensão e intensidade da situação reportada pela Associação da Ria Formosa.

Sendo a presença de um substrato adequado o principal factor que potencia o aumento de recrutamento é natural que o incremento do número de viveiros de produção de ostras (mesas e sacos ostreícolas) favoreça o aumento da biomassa de mexilhão na Ria Formosa.

Tendo em conta, a possível implicação do aumento da massa desovante atribuída à produção na zona da APPA, recomenda-se que os produtores de bivalves da Ria Formosa afim de minimizarem a fixação, adoptem o mais rapidamente possível as boas práticas de produção, amplamente divulgadas, nomeadamente no que concerne: (i) à delimitação dos estabelecimentos das culturas marinhas, em que muitas vezes são utilizados materiais como

tijolos, ferros, e outros objectos estranhos ao meio e (ii) à minimização da utilização de calhau rolado, por potenciarem a disponibilização de substrato para a fixação.

10. Valores Máximos Recomendáveis para Parâmetros Ambientais de Qualidade

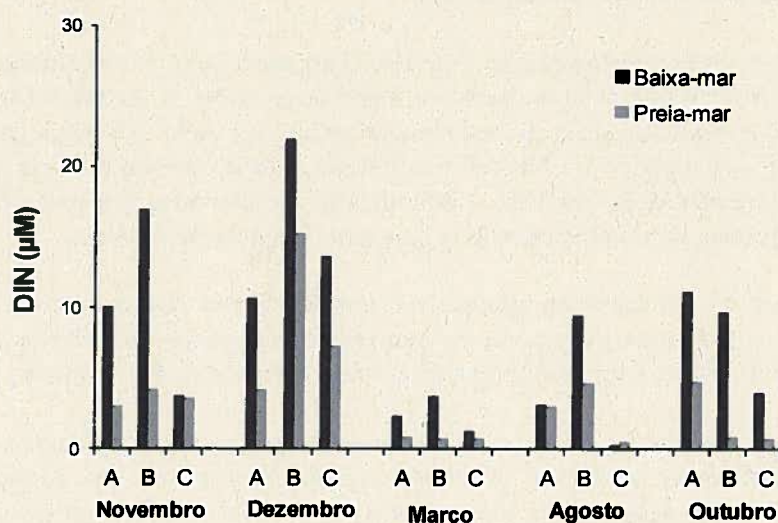
Em ambientes aquáticos sujeitos às pressões das actividades humanas é frequente optar pelo estabelecimento de valores máximos recomendáveis para diversos parâmetros físico-químicos ou biológicos. Ao definir a métrica para estas variáveis, pretende-se ter uma estimativa dos impactos causados pelas pressões numa zona confinada do ecossistema. Contudo, a dinâmica do sistema pode dificultar a obtenção de valores com intervalos de confiança aceitáveis.

10.1 Disponibilidade de nutrientes

As concentrações de nutrientes na coluna de água da Ria Formosa mostraram diferenças mais acentuadas entre as situações de baixa-mar e preia-mar, do que entre os três locais monitorizados nos três viveiros-tipo. Os valores de nitrato, nitrito, amónia, fosfato e sílica foram sempre mais elevados em baixa-mar do que em preia-mar. Estas diferenças são ilustradas na figura 26.

Para além do consumo pelos produtores, admite-se que a variabilidade da disponibilidade de nutrientes em intervalos tão curtos de tempo resulta principalmente do balanço entre a regeneração de nutrientes no sedimento e da escorrência através das zonas interditaes durante a vazante, que provocam um aumento das concentrações e a mistura da água da Ria com a água do mar trazida pela enchente, que tendem a diluir as concentrações existentes na água da Ria.

Em particular, o intervalo dos valores de nutrientes registado no viveiro B, influenciado pelas descargas da Estação de Piscicultura do IPMA, é comparável com o intervalo observado no viveiro C, na proximidade da barra de Olhão. Ou seja, os efeitos resultantes das actividades da Estação de Piscicultura tendem a ser reduzidos pela mistura das águas imposta pela maré. Nestas circunstâncias de uma elevada influência da mistura física das águas, o conceito de valor máximo recomendável tem pouco significado prático.



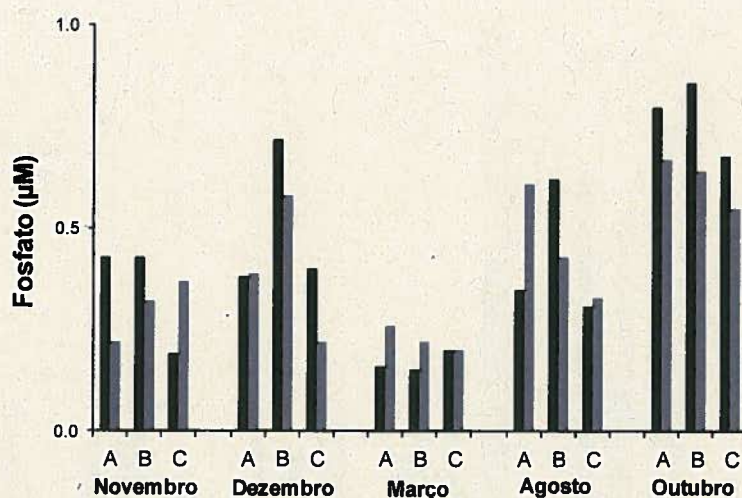


Figura 26. Concentrações de azoto inorgânico dissolvido (DIN)(μM) e fosfato (μM) em água superficial nos viveiros A, B e C; situação de baixa-mar e preia-mar.

10.3. Comparação com dados históricos

Nas décadas anteriores a Ria foi receptora de efluentes urbanos com tratamento preliminar, a par da rejeição de desperdícios provenientes de pequenas actividades industriais. Presentemente existe um tratamento mais eficaz dos efluentes urbanos e, consequentemente, as descargas de nutrientes e contaminantes são menores. Apesar de outras modificações puderem ter alterado as concentrações destes parâmetros, como a produção primária, o tipo de coberto vegetal, a produção de amêijoas, etc., foi considerado interessante comparar os dados obtidos nos ensaios realizados no âmbito deste projecto com dados históricos existentes no IPMA.

10.3.1. Razão DIN/P

Usaram-se dados de DIN (azoto inorgânico dissolvido) e P (fosfato) registados em 1986, 1992 e 2010 no viveiro C em situação de baixa e preia-mar (figura 27). Nos dois primeiros anos o padrão foi dominado pelas diferenças entre baixa-mar e preia-mar. Em 2010/2011 observou-se um incremento muito elevado em Novembro/Dezembro, para além das diferenças entre as duas situações de maré. Os dados do viveiro C, próximo na barra, indicam um défice de azoto, que é apenas superado no período das chuvas quando as fontes difusas são mais activas, como foi o caso observado de forma mais acentuada em 2010.

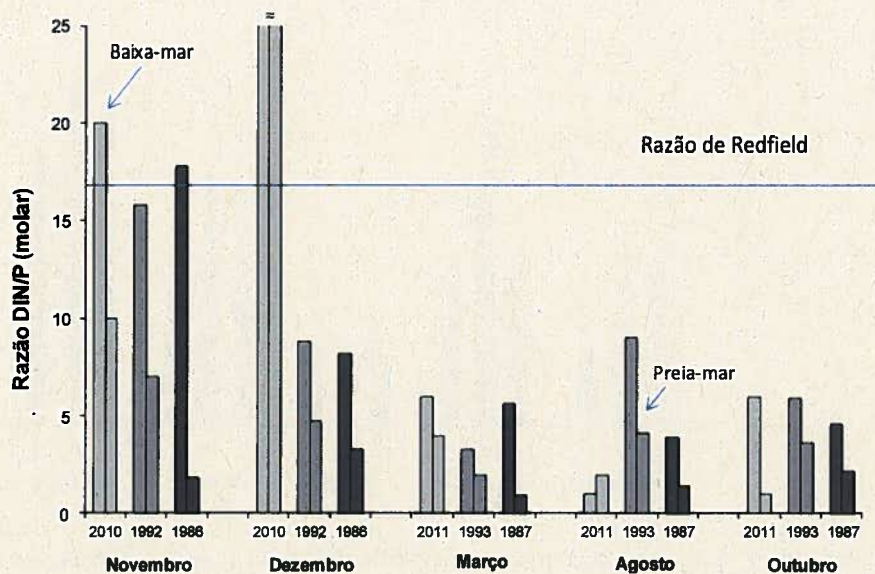


Figura 27. Razão molar de azoto inorgânico dissolvido (DIN) e fosfato em água superficial do viveiro C ; anos 2010/2011, 1992/1993 e 1986/1987; situação de baixa-mar e preia-mar.

10.3.2. Clorofila *a*

Nas mesmas condições foi também feita a comparação dos valores de clorofila *a* (figura 28). Apesar das alterações ocorridas na Ria Formosa nas últimas décadas, não se encontraram diferenças substanciais nos valores deste parâmetro indicador da produção fitoplanctónica entre as condições actuais e há 25 anos. Estas comparações podem ser interpretadas face à predominância dos processos naturais na Ria para a produção primária.

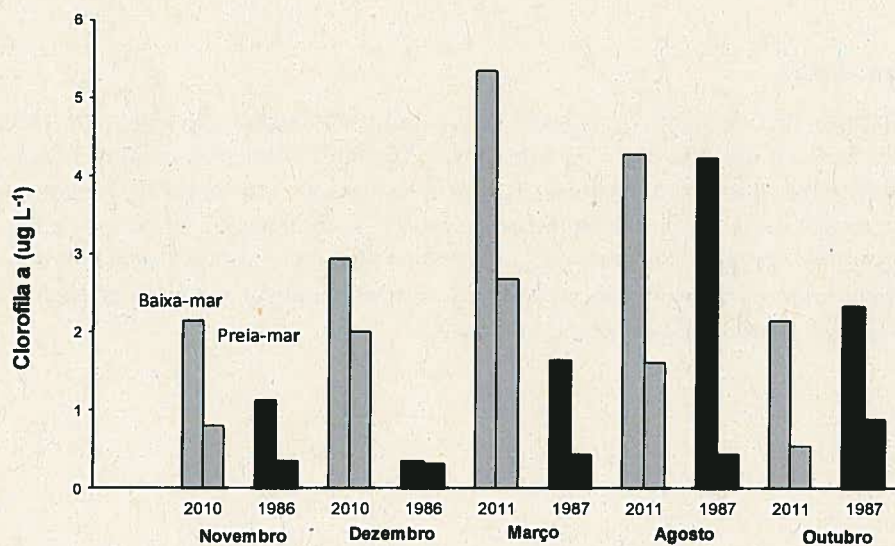


Figura 28. Níveis de clorofila *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) em água superficial no viveiro C; anos 2010/2011, 1992/1993 e 1986/1987; situação de baixa-mar e preia-mar.

10.3.3. Zinco e Cobre em amêijoas

As concentrações de zinco e cobre, na parte edível das amêijoas colhidas nos viveiros A, B e C, entre Novembro de 2010 e Outubro de 2011, foram baixos em comparação com valores registados em outros ambientes lagunares ou estuarinos (Raimundo et al, 2011). Os dados foram comparados com valores registados em amêijoas recolhidas nos mesmos locais em 1984 (figura 29). Apesar destes elementos serem essenciais para o metabolismo dos organismos, esta comparação mostra que, em 1984, a acumulação foi superior à actual. Aqueles valores devem estar relacionados com uma maior disponibilidade ambiental dos elementos existente no passado na Ria. Os valores actuais, mais baixos, são atribuídos a uma menor disponibilidade em resultado de uma redução da descarga de contaminantes químicos para a Ria. Vários factores podem ter contribuído para estas alterações, designadamente o tratamento mais eficaz dos efluentes urbanos, as alterações nos processos industriais incorporando preocupações ambientais e o eventual fecho de algumas actividades na zona. As diferenças entre os dois anos foram mais acentuadas no viveiro A provavelmente devido à proximidade da zona urbana/industrial da cidade de Faro.

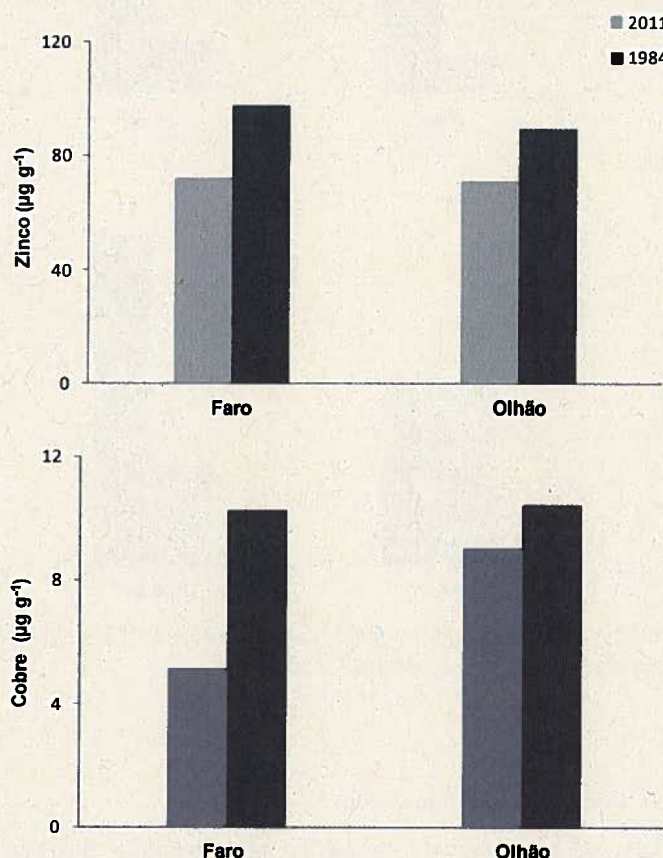


Figura 29. Níveis de zinco e cobre (µg por g tecido) na parte edível de amêijoas-boas (*Ruditapes decussatus*) colhidas nos viveiros A e B; anos de 1984 e 2011.

10.3.4. Chumbo e Cádmio em amêijoas

As concentrações de chumbo e cádmio, na parte edível das amêijoas colhidas nos viveiros A, B e C, entre Novembro de 2010 e Outubro de 2011, foram inferiores aos valores recomendados para o consumo humano (EU 2006). Estes dados foram também comparados com valores registados em amêijoas recolhidas nos mesmos locais em 1984 (figura 30). Esta comparação mostra que, em 1984, a acumulação foi superior à existente actualmente. Os valores devem

reflectir uma variação da disponibilidade ambiental destes elementos na Ria. Os valores actuais mais baixos são atribuídos a uma redução da descarga para a Ria. O tratamento mais eficaz dos efluentes urbanos, as alterações nos processos industriais incorporando preocupações ambientais, a eliminação da gasolina com aditivos de chumbo, e o eventual fecho de algumas actividades industriais na zona, são alguns dos factores que podem ter contribuído para estas alterações. As diferenças de chumbo entre os dois anos foram mais acentuadas no viveiro A, dada a sua proximidade da cidade de Faro.

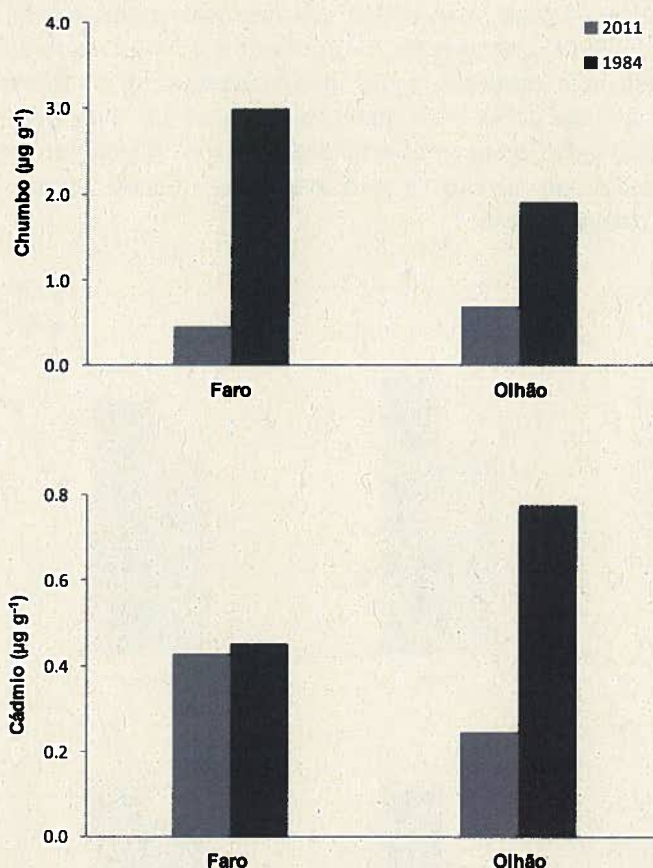


Figura 30. Níveis de chumbo e cádmio (μg por g tecido) na parte edível de amêijoia-boia (*Ruditapes decussatus*) colhidas nos viveiros A e B; anos de 1984 e 2011.

11. Sobrevivência de amêijoia-boia em viveiros

Com vista a examinar se os níveis de sobrevivência registada durante os ensaios foram invulgares, compararam-se os valores de 2011 com os observados em 1997 e 1987 no viveiro B (Marim) durante períodos anuais (figura 31). Esta figura permite evidenciar a existência de um decréscimo acentuado nos valores de sobrevivência em 2011 (máx. 40%) relativamente aos dois anos usados como comparação, que apresentam sobrevivências máximas de 80% (1987) e 50% (1997).

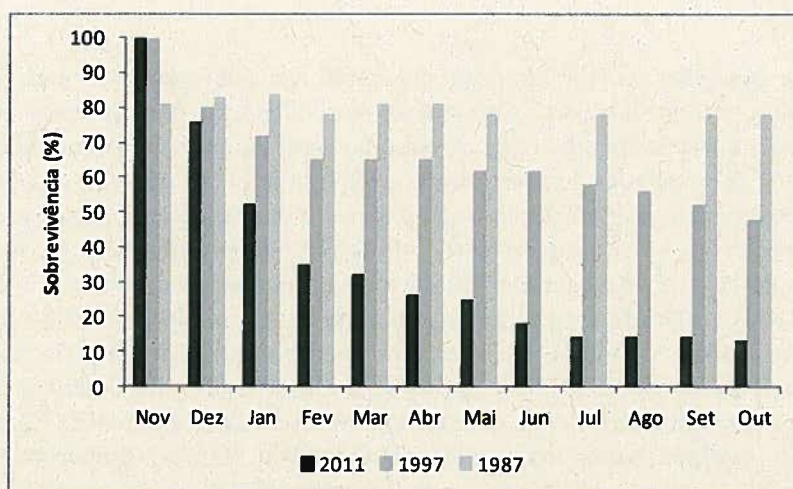


Figura 31. Comparação da percentagem de sobrevivência de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) em 2011, 1997, 1987 no viveiro B.

12. Factores explicativos para a mortalidade anormal da amêijoas-boa

Os episódios de mortalidade de amêijoas-boa na Ria Formosa são recorrentes, embora a intensidade seja variável de ano para ano, devido provavelmente à conjugação de diversos factores fisiológicos e ambientais.

12.1. Diminuição das reservas energéticas

O ciclo reprodutivo das amêijoas é caracterizado por um período de acumulação de reservas energéticas (glicogénio e lipídios) no Inverno utilizadas para o desenvolvimento dos gâmetas na Primavera. Durante o período de Verão ocorre a desova levando os organismos a uma debilidade fisiológica devido à diminuição das reservas energéticas. A figura 32 ilustra os períodos de desenvolvimento, desova e pós-desova nas amêijoas transplantadas para o viveiro C em estudo.

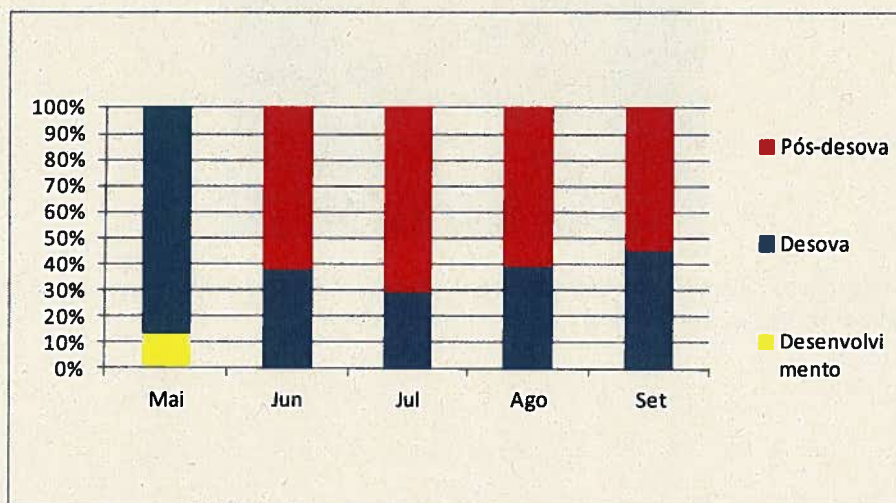


Figura 32. Percentagem de amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*) na fase de desova e pós-desova após transplantação para o viveiro C.

12.2. Patologias

A produção de amêijoas na Ria Formosa decresceu consideravelmente nas últimas duas décadas. Tem sido observado a partir dos anos 80 uma infestação crescente das amêijoas pelo protozoário parasita *Perkinsus atlanticus*. A infecção pelo parasita, que tem sido relacionada com os surtos de mortalidade, é caracterizada pela formação de nódulos nas brânquias das amêijoas, como se ilustra na figura 33, levando a uma diminuição da capacidade respiratória.. O estudo desenvolvido no âmbito do projecto “AMBIPERK - Efeito dos Factores Ambientais na Infestação pelo Parasita *Perkinsus atlanticus* da Amêijoa *Ruditapes decussatus*” (Universidade do Algarve/CCMAR e IPIMAR) aponta para que factores ambientais como temperatura, salinidade e ferro, podem influenciar a taxa de crescimento e/ou de virulência do parasita, assim como a resistência da amêijoa à infecção. Em particular, através de uma experiência laboratorial verificou-se um maior grau de infecção para temperaturas da água de 15 e 20 °C do que a 25°C (figura 34). Estes resultados sugerem que existem, no final do Inverno e Primavera, condições de temperatura, na Ria Formosa mais favoráveis para o desenvolvimento do parasita.

12.3. Conjugação de factores para a mortalidade anormal

No Verão de 2011 foi detectada uma mortalidade anormal e abrupta em diversos viveiros na Ria Formosa, incluindo o viveiro C na Fortaleza. Foi realizado no IPIMAR o rastreio do parasita *Perkinsus* spp., tendo sido registados níveis de infecção em que 70% das amêijoas se encontravam no nível 4-5, numa escala de 0 a 5. Estes resultados sugerem uma relação entre a mortalidade anormal e a presença deste parasita. Não é de excluir a conjugação de outros factores concorrentes para a mortalidade. Por exemplo, a menor oxigenação da água verificada durante o Verão, em particular nas marés mortas, leva a um dispêndio adicional de energia por parte do organismo através do aumento da taxa de filtração para a realização da respiração. Esta situação verifica-se num período de debilidade das amêijoas em termos fisiológicos devido ao esforço reprodutivo. Salienta-se que a mortalidade incidiu sobre a amêijoa-boia e não em outros organismos bentónicos de forma significativa. Este facto evidencia a apetência desta espécie para desenvolver níveis elevados de infestação por *Perkinsus* spp. perante a conjugação dos factores supra-mencionados.

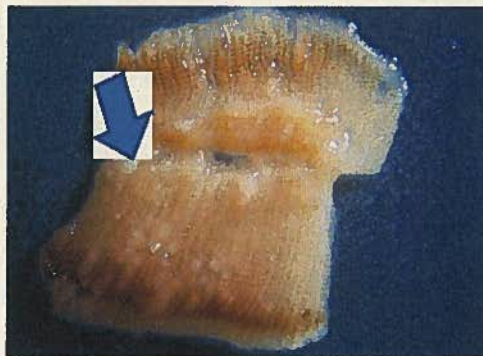


Figura 33. Fotografia de uma brânquia de amêijoa-boia (*Ruditapes decussatus*), onde se podem observar os nódulos do parasita *Perkinsus atlanticus*. (Projecto AMBIPERK).

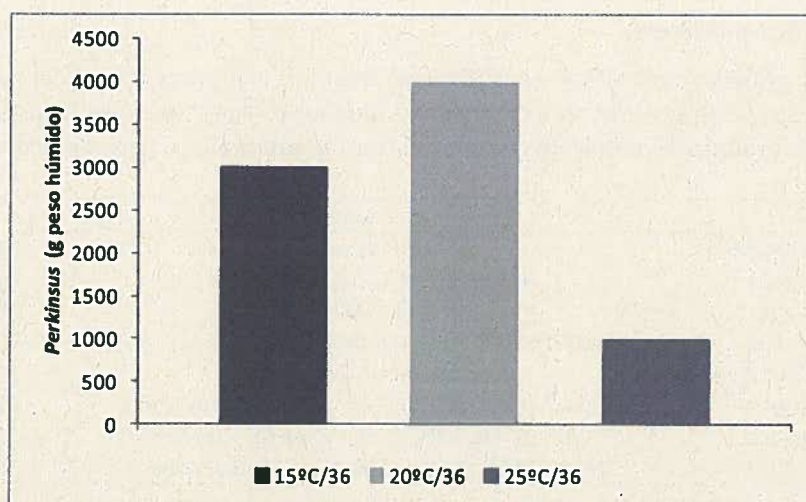


Figura 34. Efeito da temperatura no grau de infecção pelo parasita *Perkinsus atlanticus* em amêijoas-boa (*Ruditapes decussatus*).

12.4. Acções propostas para minorar a mortalidade

Com vista a minorar futuros episódios de mortalidade súbita de amêijoas em viveiros recomenda-se a implementação de um sistema de alerta, que deverá contemplar a monitorização da temperatura da água, do nível de infestação por *Perkinsus* e do estado de maturação dos bivalves. No caso de haver uma conjugação de debilidade fisiológica, elevada infestação, e temperatura elevada em períodos de maré morta, os viveiristas deverão ser alertados. As acções propostas para a Administração e os Viveiristas são apresentadas no seguinte esquema:



13. Realização de workshops

No decurso do projecto foram realizadas diversas reuniões conjuntas dos projectos QUASUS e FORWARD em forma de workshops, envolvendo entidades da Administração Regional e Central, organizações de produtores, sindicatos e especialistas nacionais e internacionais convidados.

Descrição	Entidades	Data
Apresentação EXPOMAR	IPIMAR, IMAR	29/04/2010
Reunião interna	IPIMAR, IMAR, Cooperativa RF	19/05/2010
Reunião interna	IPIMAR, IMAR, ARH	15/12/2010
Reunião plenária	IPIMAR, IMAR, ARH, Cooperativa RF, Convidados	20/01/2011
Workshop internacional	IPIMAR, IMAR, Convidados	21/02/2011
Reunião plenária	IPIMAR, IMAR, ARH, Cooperativa RF, Convidados	08/07/2011
Reunião plenária	IPIMAR, IMAR, ARH, Cooperativa RF, Convidados	13/12/2011
Reunião plenária	IPMA, IMAR, ARH, Cooperativa RF, Convidados	19/07/2012

14. Fornecimento de elementos ao IMAR com vista à aplicação de modelos

No âmbito deste projecto foram fornecidos à equipa do projecto FORWARD (IMAR) dados existentes no IPIMAR e resultados obtidos no decorrer do QUASUS, com vista a aplicação de modelos na Ria Formosa. A lista do tipo de dados partilhados é apresentada no Anexo II.

15. Publicações técnicas, artigos científicos e comunicações de divulgação

No decorrer do projecto foram elaboradas diversas publicações e artigos científicos, assim como a disseminação dos resultados obtidos através de comunicações orais em seminários. Apresenta-se seguidamente a lista destes documentos, cujas cópias são apresentadas no Anexo III.

15.1. Publicações técnicas

"Qualidade Microbiológica de Bivalves na Ria Formosa: 20 anos de resultados", F. Soares, A. Almeida, R. Cachola (2012), IPIMAR – Relatórios científicos e técnicos, serie digital. 54:47 pp.

"Microbiological monitoring of bivalve molluscs growing areas: a food safety and public health approach", F. Bettencourt, D. Matias, F. Soares (2012). Aquaculture Europe, 37, 11-15.

"Vigilância de toxinas marinas em bivalves" M.J. Botelho, C. Vale, S.M. Rodrigues (2011), Newsletter da Associação Portuguesa de Aquacultores.

"Boas Práticas na Produção de Amêijoas-boas", IPMA (pronto em Fevereiro 2013)

15.2. Artigos científicos

"Uptake and release of paralytic shellfish toxins by the clam *Ruditapes decussatus* exposed to *Gymnodinium catenatum* and subsequent depuration" (2012), M. J. Botelho, C. Vale, R. V. Grilo, J. Gomes Ferreira, *Marine Environmental Research* 77: 23-29.

"Microbiological monitoring of bivalves from the ria formosa lagoon (south coast of Portugal): a 20 years of sanitary survey" (2012), A.C. Almeida, F. Soares, *Marine Pollution Bulletin* 64:252–262.

"The impact of environment in the culture performance of the European clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758)", D. Matias, S. Joaquim, P. Sobral, A. Leitão. Submitted to *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.

"Microbiological monitoring of *Ruditapes decussatus* from Ria Formosa Lagoon (South of Portugal)", F. Bettencourt, C. Almeida, M.I. Santos, L. Pedroso and F. Soares. Submitted to *Management of Environmental Quality*.

15.3. Comunicações orais

"Quality e sustentability of biological resources of Ria Formosa lagoon", D. Matias, Workshop Grupo de Acção Costeira FARNET, 5 de Junho de 2012.

16. Acções de formação no âmbito do QUASUS

A execução do projecto proporcionou a formação de estudantes a diversos níveis e foram realizados cursos teórico-práticos.

16.1. Estágios curriculares do 12º ano e licenciatura

"Contaminação fecal em zonas de produção de bivalves da Ria Formosa", Pedro Castro, insere-se no ano zero do plano curricular curso de Especialização Tecnológica em Segurança Alimentar.

"Indicadores microbiológicos em bivalves", Carolina Silva, insere-se no 2º ano do plano curricular do curso Técnico-profissional de Técnico de Laboratório.

"Qualidade microbiológica de bivalves da ria formosa", Ana Daniela Fernandes, insere-se no 2º ano do plano curricular do Mestrado em Biologia Marinha.

16.2. Teses de mestrado

"Avaliação da qualidade bacteriológica dos bivalves produzidos na Ria Formosa". F. Bettencourt . Tese de mestrado em Segurança Alimentar e Saúde Pública. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. 134 pp.

"Comparison between classical and rapid methods for bacteria identification in shellfish samples". D. Jorquera. Tese de mestrado em Aquacultura e Pescas, Universidade do Algarve. 57 pp.

"Validation of alternative methods in a microbiological laboratory". Lucía García Pastor. Tese de mestrado em Aquacultura e Pescas, Universidade do Algarve. 59 pp.

16.3. Cursos teórico-práticos

"Boas práticas, prevenção e diagnóstico básico em aquacultura de moluscos bivalves." 14 e 15 de Junho, 2012.

"Diagnóstico de patologias em moluscos bivalves." 25 a 29 de Junho, 2012.

17. Conclusões e recomendações

Este trabalho, realizado sobre a problemática da relação entre a qualidade e produção de amêijoas (*Ruditapes decussatus*) em viveiros da Ria Formosa e a qualidade ambiental, aponta para as seguintes principais conclusões:

- A produção de amêijoas, em 470 hectares da Ria Formosa, constitui a maior quantidade de bivalves produzida em Portugal, envolvendo 1 600 licenças de exploração e cerca de 10 000 pessoas;
- Recomenda-se que a capacidade de carga dos viveiros da Ria seja entre 0.5 kg/m² para viveiros vaso-arenosos e 1 kg/m² para viveiros arenosos de elevado hidrodinamismo; no início do cultivo de amêijoas utiliza-se, correntemente, entre 0.35 kg/m² e 0.5 kg/m² de acordo com as condições ambientais de suporte do viveiro;
- Os principais constrangimentos à produção de amêijoas na Ria são a disponibilidade de semente, os picos de mortalidade, e as condições ambientais desfavoráveis;
- A disponibilidade de semente de amêijoas nos bancos naturais flutua anualmente; para superar o *deficit* existente em alguns anos equaciona-se, por isso, a possibilidade da criação de uma maternidade para bivalves na região;
- As questões ambientais, que interferem com a produção de amêijoas e o valor da sua comercialização, estão relacionadas principalmente com:
 - Contaminação fecal e o estatuto sanitário das zonas zona de produção; embora apresentando uma tendência para uma melhoria, devido ao tratamento dos efluentes, registam-se, contudo, aumentos bruscos de *E. coli* em amêijoas dos viveiros quando ocorre chuva mais intensa, em particular no Outono; este trabalho apresenta propostas medidas preventivas para a comercialização de amêijoas nestes períodos (*secção 12.4*);
 - Os teores de nutrientes na coluna de água variam consideravelmente ao longo dos ciclos semi-diurno e quinzenal das marés; a troca de mais de 50% do volume de água da Ria com o mar, entre a baixa-mar e a preia-mar, atenua diferenças sistemáticas da disponibilidade de nutrientes entre os viveiros da Ria; devido a esta elevada variabilidade em pequenas escalas de tempo a definição de valores máximos recomendáveis é imprecisa; contudo, recomenda-se que as concentrações, na Primavera e Verão, não ultrapassem 20 µM de azoto inorgânico dissolvido, 15 µM de silicatos e 0.9 µM de fosfatos.
 - Toxicidade pontual das amêijoas devido à ocorrência natural de *blooms* de algas tóxicas na zona costeira; o IPMA procede à vigilância deste tipo de toxicidade no âmbito da sua missão (*secção 5*);
 - Contaminação química, que reduziu nos últimos anos provavelmente devido à diminuição do número de indústrias e às melhores práticas ambientais (*secção 10.3.3 e 10.3.4*);
- Os picos de mortalidade das amêijoas tendem a ser mais acentuados em viveiros com más práticas de produção e em viveiros localizados nas áreas interiores da Ria, embora se registe também em viveiros localizados perto das barras (*secção 11*); os factores que contribuem para estas mortalidades abruptas, são os seguintes:
 - Decréscimo de lípidos e reservas energéticas nas amêijoas, causando maior debilidade fisiológica no Verão (*secção 12.1*);
 - Menor oxigenação das águas, em épocas de temperatura mais elevada e menor renovação das águas em marés mortas, levando ao aumento das taxas de filtração e respiração;
 - Infestação por *Perkissus atlanticus*, originando a presença de nódulos nas brânquias e o consequente decréscimo da taxa de respiração (*secção 12.3*);

- Com a vista a minorar a mortalidade abrupta das amêijoas na Ria Formosa este trabalho propõe medidas de prevenção, inseridas num Programa para Controlo da Qualidade da Água na Ria Formosa (*secção 12.4*):
 - Adopção de medidas preventivas a implementar pelos viveiristas e Administração;
 - Monitorização da temperatura das águas, estado de maturação, e infestação de amêijoas num viveiro de controlo com vista a constituir um sistema de alerta;
 - Acções rápidas dos viveiristas após o alerta.

Referências

- Almeida, C., Soares, F., 2012. Microbiological monitoring of bivalves from the Ria Formosa Lagoon (south coast of Portugal): A 20 years of sanitary survey. *Marine Pollution Bulletin*, 64, Issue 2, 252-262.
- Botelho M.J., Vale C., Mota A.M., Simões Gonçalves M.L.S. 2010a. Depuration kinetics of paralytic shellfish toxins in *Mytilus galloprovincialis* exposed to *Gymnodinium catenatum*: laboratory and field experiments. *Journal of Environmental Monitoring* 12, 2269–2275.
- Bricelj, V., Shumway, S., 1991. Physiology: energy acquisition and utilization. In: Shumway, S.E. (Eds.), *Scallops: biology, ecology and aquaculture*, 21. Elsevier, Amsterdam, 305–346.
- Cachola, R.A., Campos, C.J.A., 2006. Redefinição das zonas de produção de bivalves nos sistemas lagunares do Algarve no âmbito do programa de monitorização microbiológica. Relatórios Científicos e Técnicos, Série Digital, IPIMAR, Lisboa, 37p.
- Delgado M., Pérez-Camacho A., 2005. Histological study of the gonadal development of *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca Bivalvia) and its relationship with available food. *Scientia Marina* 69(1):87-97.
- Donovan, T.J., Gallacher, S., Andrews, N.J., Greenwood, M.H., Graham, J., Russell, J.E., Roberts, D., Lee, R., 1998. Modification of the standard method used in the United Kingdom for counting *Escherichia coli* in live bivalve mollusks. *Communicable Disease and Public Health* 1, 188-196.
- European Commission 2004. Regulation (EC) no. 853/2004 of the European Parliament of the Council of 29 April 2004. Off. J. Europe Communities L226, 22–82.
- European Commission 2006. Regulation (EC) no. 1881/2006 of the European Parliament of the Council of 19 December 2006. Off. J. Europe Communities L364, 5-24.
- Falcão M., Vale C., 2003. Nutrient dynamics in a coastal lagoon (Ria Formosa, Portugal: the importance of lagoon-sea water exchanges on the biological productivity. *Sciencias Marinas* 29, 49-58.
- Falcão, M., 1997. Dinâmica dos nutrientes na Ria Formosa: efeitos da interacção da laguna com as suas interfaces na reciclagem do azoto, fósforo e sílica. Tese de Doutoramento, Universidade do Algarve, Portugal, 223 p.
- Falcão, M., Pissara, J., Cavaco, H., 1992. Características químico-biológicas da Ria Formosa: Análise de um ciclo anual. *Boletim INIP*, 16, 5-21.
- Fearman, J., Moltschaniwskyj, N.A., 2010. Warmer temperatures reduce rates of gametogenesis in temperate mussels, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquaculture* 305, 20-25.
- Fernandez Castro. N., Vido De Mattio, N., 1987. Biochemical composition, condition index, and energy value of *Ostrea puelchana* (d'Orbigny): Relationships with reproductive cycle, J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 108, 113-126.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- Gabbott, P., 1976. Energy metabolism. In: Bayne BL (Eds.), *Marine mussels: their ecology and physiology*. International Biological Programme, 10. Cambridge University Press, London and New York, 293-355.
- Goulletquer, P., Wolowicz, M., Latala, A., Geairon, P., Huvet, A., Boudry, P., 1999. Comparative analysis of oxygen consumption rates between cupped oyster spat of *Crassostrea gigas* of French, Spanish and Taiwanese origins. *Aquat. Living Res.* 12, 271-277.
- Lawrence, J.F., Menard, C., Charbonneau, C.F., 1991. A study of ten toxins associated with paralytic shellfish poison using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of AOAC International* 74, 404-409. QUASUS - Terceiro Relatório de Progresso - Abril 2012

- Lorenzen, C., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* 12, 343-346.
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., Randall, R., 1951. Proteins measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 265-275.
- Marin, M., Moschino, V., Deppieri, M., Luccheta, L., 2003. Variations in gross biochemical composition, energy value and condition index of *T. philippinarum* from the lagoon of Venice. *Aquaculture* 219, 859-871.
- Marsh, J., Weinstein, D., 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J. Lip. Res.* 7, 574-576.
- Martínez, M., Cerviño, A., Coa, A., García, A., Martínez, D., Novoa, S., Ojea, J., Sebe, M.P., Casal, A., Fariña, J., Mosquera, P., Rodríguez, R., 1997. Preengorda de almeja fina (*Ruditapes decussatus*) en sistemas sobreelevados. *Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura Xunta de Galicia, Consellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura, España*, 407-412.
- Newell, R., 1989. Species Profiles: Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes and Invertebrates (North and Mid- Atlantic). *Biological Report*, 82, 11-102.
- Patterson, K., Nell, J., 1997. Effect of different growing techniques and substrate type on the growth and survival of the clams *Tapes dorsatus* (Lamarck) and *Katylsia rhytiphora* (Lamy). *Aquac. Res.* 28, 707-715.
- Quilliam, M.A., Xie, M., Hardstaff, W.R., 1995. Rapid extraction and cleanup for liquid chromatographic determination of domoic acid in unsalted seafood. *Journal of AOAC International* 78, 543-554.
- Raimundo, J., Pereira, P., Caetano, M., Cabrita, M.T., Vale, C., 2011. Decrease of Zn, Cd and Pb concentrations in marine fish species over a decade as response to reduction of anthropogenic inputs: the example of Tagus estuary. *Marine Pollution Bulletin* 62, 2854-2858.
- Rodrigues, A., Quintino, V., 1990. Análise do estado de qualidade do ambiente biosedimentar subtidal de estuário do Rio Sado. I - Sedimentos superficiais. 2ª Conferência Nacional do Ambiente, Lisboa 1, 191-206.
- Seed, R., 1976. Ecology. In Bayne B.L. (eds.), *Marine mussels: Their ecology and Physiology*, Cambridge University Press: 13-65.
- Seed, R., 1978. The systematics and evolution of *Mytilus galloprovincialis* Lamarck. In: Beardmore, J.A., Battaglia, B., (Eds). *The genetics, ecology, and evolution of marine organisms*. Plenum Press, New York, 447-466.
- Sobral, P., Widdows, J., 1997. Influence of hypoxia and anoxia on the physiological responses of the clam *Ruditapes decussatus* from southern Portugal. *Mar. Biol.* 127, 455-461.
- Thompson, R.J., Sciences, M., 1984. The reproductive cycle and physiological ecology of the mussel *Mytilus edulis* in a subarctic, non-estuarine environment. *Water*, 288, 277-288.
- Vale P., Botelho M.J., Rodrigues S.M., Gomes S.S., Sampayo M.A.M. 2008. Two decades of marine biotoxin monitoring in bivalves from Portugal (1986-2006): a review of exposure assessment. *Harmful Algae* 7, 11-25.
- Vale, P., Sampayo, M.A.M., 2002. Esterification of DSP toxins by Portuguese bivalves from the Northwest coast determined by LC-MS—a widespread phenomenon. *Toxicon* 40, 33-42.
- Viles, F., Silverman, Jr., 1949. Determination of starch and cellulose with anthrone. *Journ. Anal. Chem.* 21, 950-953.
- Walne, P., Mann, R., 1975. Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In: Barnes, H., (Eds.), *Proceedings of the 9th European Marine Biology Symposium*, H. Aberdeen University Press, Scotland, 587-607.

Anexo I – Metodologias analíticas e de observação

1. Parâmetros ligados à qualidade da água

Temperatura, salinidade, pH e oxigénio dissolvido. A temperatura, salinidade, pH e oxigénio dissolvido foram medidos *in situ* com uma sonda multiparamétrica.

Concentração de sólidos em suspensão. As amostras de água foram filtradas através de membranas de polycarbonato com porosidade de 0.45 μm e secas a 40 °C até peso constante. A concentração de matéria particulada em suspensão foi calculada como sendo a massa de partículas retidas na membrana por unidade de volume (mg L^{-1}).

Nutrientes. As amostras de água foram filtradas através de membranas Nuclepore (MSI) com 0.45 μm de porosidade e conservadas no frio. Os nutrientes dissolvidos foram determinados por colorimetria num autoanalisador TRAACS 2000: amónia, nitrito e nitrato, com limite de detecção de 0.001 mg L^{-1} e silicato e fosfato, com um limite de detecção de 0.003 mg L^{-1} . Os compostos de azoto foram oxidados em meio alcalino enquanto que os compostos de fósforo oxidados em meio ácido. Posteriormente procedeu-se à sua determinação por titulação colorimétrica no referido autoanalisador. Na determinação da amónia, os iões presentes na amostra reagem com fenol e hipoclorito em meio alcalino, seguindo a reacção de Berthelot. O citrato de trissódio e o EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) são adicionados à amostra para evitar a precipitação dos hidróxidos alcalinos, enquanto que o nitroprussido age como catalisador. O indofenol azul foi medido a 660 nm. Na determinação do nitrito, este composto reage com o sulfanilamido e o ácido N-(1-naftil)-etilenodiamino em meio ácido originando sal diazonium, colorido, que é medido a 550 nm. Na determinação do nitrato, os nitratos presentes na amostra foram reduzidos a nitrito numa coluna de cádmio, num meio tampão. Os nitritos formados reagem com o sulfanilamido e o ácido N-(1-naftil)-etilenodiamino em meio ácido originando sal diazonium, colorido, que é medido a 550 nm. Na determinação do fosfato, os iões ortofosfato reagem com o molibdato em meio ácido para formar fosfomolibdato e depois com o ácido ascórbico para formar molibedénio azul, cuja intensidade é medida a 880 nm ou 660 nm (Falcão e Vale, 2003).

Clorofila *a* na água. Após a colheita, as amostras de água foram filtradas através de filtros Whatman GF/F 45mm diâmetro e porosidade 0.7 μm , colocados os filtros em tubos de polipropileno, congelados de imediato e transportados para o laboratório. Posteriormente foram extraídos com acetona a 90 %, durante 24h no frio e centrifugadas a 3000 rpm, durante 10 min. A determinação da clorofila *a* foi realizada em espectrofotómetro antes e após acidificação dos extractos com HCl (0.5M) e as leituras efectuadas a 750 nm e 664 nm (Lorenzen, 1967).

Clorofila *a* e feopigmentos no sedimento. Estes pigmentos foram determinados pelo método fluorimétrico. Após a recolha do sedimento para os fracos, seguiu-se a respectiva pesagem e posterior acondicionamento no congelador. Para a extracção dos pigmentos fotossintéticos procedeu-se ao prévio descongelamento e à adição de um volume calculado de acetona a 90 %. As amostras foram colocadas no frigorífico, durante 24 horas, agitando-se duas vezes durante esse período. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos, procedendo-se seguidamente à leitura num fluorímetro (665nm e 750 nm) Lorenzen (1967). Para a correcção dos feopigmentos e após a dosagem da clorofila *a*, acidificou-se o extracto com

uma gota de ácido clorídrico a 1N, agitando-se por inversão e prosseguiu-se com a leitura, nos mesmos comprimentos de onda.

Matéria orgânica no sedimento. Procedeu-se à secagem do sedimento em estufa a 80 °C, durante 6 horas. Após a secagem, a amostra de sedimento foi moída com auxílio de um almofariz e foram retiradas 3 sub-amostras com cerca de 1 g de sedimento. Posteriormente, as sub-amostras foram incineradas em mufla a 450°C, até à obtenção de peso constante (o que ocorreu aproximadamente ao fim de 4 horas) e pesadas de novo para o cálculo da matéria orgânica total (Rodrigues & Quintino, 1990).

Fracção fina no sedimento. Após a secagem do sedimento em estufa, a 80 °C, durante 24 horas, este foi pesado e homogeneizado com um almofariz. Durante 10 minutos, cada amostra foi sujeita a uma crivagem, por um crivo de malha quadrada de 63 µm de lado, num agitador SBS Instruments S.A., a 220 rotações por minuto. De seguida pesaram-se as fracções (<63µm e >63µm), e determinou-se a percentagem de finos reportada ao peso total da amostra (Paterson & Nell, 1997; Gouilletquer et al, 1999).

2. Parâmetros ligadas à produção das amêijoas

Sobrevivência. Antes de se proceder à montagem do ensaio e atendendo que se pretendia efectuar uma cultura com uma densidade de juvenis de amêijoas de 1Kg.m⁻², foram retiradas cinco amostras de 1 kg do total de indivíduos existente para repovoar cada viveiro e quantificado o número médio de indivíduos existentes por Kg de juvenis. Em cada amostragem mensal seleccionou-se aleatoriamente 2 quadrículas de 1x1m e foi efectuada a recolha da totalidade dos juvenis existentes em cada quadrícula. A diferença entre o número de juvenis colocados no tempo 0 e em cada um dos tempos amostrados permitiu determinar a taxa de sobrevivência.

Crescimento. O crescimento em peso, comprimento (maior distância no sentido antero-posterior), altura (maior distância no sentido dorso-ventral, passando pelo umbo) e espessura (maior distância entre as duas valvas) foi quantificado em 50 indivíduos mensalmente, em cada viveiro.

Índice de condição e matéria orgânica. Os indivíduos foram previamente descongelados, levando a uma abertura das valvas e, com o auxílio de uma pinça e de um bisturi foi separada a parte edível da concha. A parte edível de cada indivíduo foi colocada em papel absorvente durante alguns minutos e seguidamente foi determinado o peso húmido da carne. O peso seco da carne, e respectiva concha, foi determinado após secagem em estufa a 80 °C, durante 24 horas. As cinzas da parte edível foram obtidas por incineração numa mufla a 450 °C, durante 24 horas. As pesagens foram efectuadas numa balança digital de precisão às 0.0001g. A matéria orgânica (g) foi calculada pela diferença entre o peso seco da carne e o peso das cinzas. O índice de condição é expresso pela seguinte fórmula (Walne & Man, 1975):

$$I.C. = (\text{peso seco da carne (g)} - \text{peso das cinzas (g)}) / \text{peso seco da concha (g)}$$

Lípidos. O teor lipídico foi determinado por extracção de cinco aliquotas de 5 mg do material homogeneizado com uma mistura de clorofórmio/metanol (2:1), durante 30 minutos, a 20 °C em que a fase metanol (subnadante) rapidamente extrai os lípidos dos tecidos (Floch et al., 1957). Após a extracção juntou-se 0,4 ml da solução de NaCl 0,7 % e aguardou-se 15 minutos

antes de se proceder à centrifugação a 3 000 rpm durante 5 minutos. Registou-se o volume da fase solvente (subnadante) e retirou-se 1 ml desta para concentração dos lípidos por evaporação do solvente em banho de água a 80 °C, durante 30 minutos. O total de lípidos foi quantificado através da adição de 2 ml de ácido sulfúrico concentrado ao estrato purificado, colocação na estufa a 200 °C durante 15 minutos, colocação em água fria durante 10 minutos, adição de 3 ml de água destilada e agitar no vortex e colocação em banho de água fria durante 10 minutos (Marsh & Weinstein, 1966). A absorvância das amostras foi lida por espectrofotometria a 375 nm. Foram usadas diferentes soluções de colesterol para estabelecer a curva padrão. A concentração total de lípidos da amostra foi quantificada através da curva padrão e o valor obtido foi multiplicado pelo volume registado da fase solvente.

Glicogénio. Para a determinação deste constituinte foi necessário proceder à secagem do homogeneizado dos tecidos durante 24 horas, a 80 °C. O material seco foi posteriormente reduzido a pó num almofariz. A cada amostra foram retiradas aliquotas de 0,5 a 1 mg do homogeneizado seco. A determinação do glicogénio consiste na digestão dos tecidos com KOH (33 %) a 100 °C, durante 15 minutos. O glicogénio foi posteriormente purificado, a baixas temperaturas (4 °C), através de precipitações com etanol 98 %. O precipitado é, então, condensado com antrona de modo a formar um composto de coloração verde e lido a 620 nm. Foram usadas diferentes soluções de glicogénio para estabelecer a curva padrão. A concentração do glicogénio da amostra foi quantificada através da curva padrão (Viles & Silverman, 1949).

Biomassa. A biomassa foi estimada mediante o produto do número de indivíduos colhidos em cada amostragem pelo seu peso vivo médio (g peso vivo.m⁻²).

Rendimento. O rendimento da produção foi estimado através da diferença entre a biomassa colocada no início de cada ensaio e a biomassa estimada no final de cada ensaio (g peso vivo.m⁻²)

Estados de maturação. Foram examinados histologicamente 10 indivíduos por sexo mensalmente. A massa visceral foi separada dos sífões e branquias e fixada em solução Davison durante 48 horas. Posteriormente o tecido foi transferido para álcool etílico a 70%. O tecido foi desidratado e embebido em parafina. Foram cortadas secções no micrótopo e coradas com hematoxilina-eosina. As preparações histológicas foram observadas ao microscópio e classificadas de acordo com o estado de maturação (Delgado & Pérez-Camacho, 2005).

Índice gonadal. O índice gonadal foi calculado através da fórmula Seed (1976):

$$IG = [(\sum \text{ind. Em cada estado} \times \text{cotação do estado de maturação}) / \text{nº total de ind. amostrados}]$$

Cotação dos estados de maturação: Repouso sexual (0); início da gametogénese (3); gametogénese avançada (4); postura (5); postura parcial (2); fim da gametogénese (1).

3. Parâmetros ligados à qualidade das amêijoas

E. coli e coliformes totais. A análise microbiológica dos bivalves é efectuada no dia da recolha das amostras. É utilizado o número suficiente de amêijoas até se atingirem as 80g de carne e líquido intervalvar. Utiliza-se a técnica da fermentação dos tubos múltiplos, com séries de cinco tubos pelo método do Número Mais Provável (NMP) (Donovan et al, 1998). Os ensaios são

realizados em duplicado. Para a prova presuntiva, semeiam-se 10 ml da suspensão-mãe em cada tubo de uma série de cinco tubos contendo o caldo de glutamato modificado com minerais (meio MMGB) em concentração dupla. Inocula-se 1 mL da suspensão-mãe nos cinco tubos contendo o meio MMGB em concentração simples e 1 mL das diluições 10-2, 10-3 e 10-4 noutras séries de cinco tubos com o mesmo meio. Os tubos são colocados numa estufa de incubação a 37°C durante 24h. Consideraram-se suspeitos (e positivos) os tubos que apresentaram turvação e alteração da cor lilás do meio para amarelo, indicando viragem do pH devido à produção de ácido. Os tubos com reacção positiva são sujeitos a prova de confirmação. Repicaram-se os tubos com ansas de 10µl para placas com meio Agar de triptona biliar x-glucoronídeo (TBX) e com meio Agar ChromoCult® Coliform (CHR). Incubam-se as placas com meio TBX na estufa de a 44°C e as com meio CHR a 36°C, durante 24h. Nas placas com meio TBX, o crescimento de colónias azuis/esverdeadas indica a presença de *E. coli*. Nas placas com meio CHR, o crescimento de colónias de cor vermelha ou rosadas indica a presença de bactérias coliformes e o crescimento de colónias de cor violeta escuro a presença de *E. coli*. Reportam-se as secções consideradas positivas aos tubos de MMGB e anota-se o número de tubos com reacção positiva. A partir da tabela do NMP lê-se o número de organismos presentes em 100g de amostra.

Toxinas marinhas. As determinações foram efectuadas por cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa (DSP), com detecção fluorimétrica (PSP) e com detecção por ultravioleta (ASP). Após a amostragem os moluscos bivalves foram dissecados e preparadas amostras compostas (n=30) com a totalidade dos tecidos. As metodologias utilizadas para a extracção das toxinas, determinação das concentrações dos diferentes compostos e conversão para valores de toxicidade encontram-se descritas em Vale e Sampayo (2002) para DSP, em Lawrence et al (1991) e Botelho et al (2010) para PSP e Quilliam et al (1995) para ASP. Os limites de detecção para os diferentes grupos de compostos foram os seguintes: 18 µg ácido ocadáico equiv. por Kg tecido; 19 µg saxitoxina equiv. por Kg tecido e 0.8 µg ácido domóico por g tecido.

Anexo II – Lista de dados partilhados

Foram partilhados os seguintes conjuntos de dados:

(i) Dados sobre os viveiros de amêijoa (*Ruditapes decussatus*) na Ria Formosa (localização – SIG); existem 1587 viveiros ocupando 47006778 m² da área intertidal da Ria; os viveiros estão distribuídos por 5 repartições marítimas em Vila Real de Santo António (12 viveiros, 21425 m²), Tavira (118 viveiros, 298071 m², Fuzeta (137 viveiros, 371901 m²), Olhão (1048 viveiros, 3535810 m²) e Faro (272 viveiros; 479570 m²).

(ii) Dados sobre práticas de cultura; através da consulta de diversos trabalhos e em conjugação com a Associação de Produtores, foi efectuada uma caracterização das práticas de cultura para as duas espécies predominantemente produzidas na Ria Formosa (ostra e amêijoa), nomeadamente, no que se refere a densidades de cultura, período de sementeira e período de captura, ciclo de produção.

(iii) Dados sobre as taxas de crescimento de amêijoas sujeitas a diferentes condições de cultura (substratos, densidades e localizações). Inventariação da produção de ostra (*Crassostrea gigas*) na Ria: atendendo que o licenciamento para a produção de moluscos bivalves não é dirigido a uma espécie em concreto efectuou-se um levantamento dos viveiros a produzir ostra através da Associação de Produtores e *in loco*; foi, ainda, necessário efectuar a actualização do SIG.

(iv) Dados sobre os fluxos de nutrientes do sedimento para a coluna de água em viveiros: o transporte de amónia, nitratos e fosfato entre o sedimento e a água foi estimado através de dois mecanismos: difusão molecular durante o período de imersão dos sedimentos e advecção induzida pela inundação da maré nas zonas intertidais; estes cálculos foram realizados em diferentes substratos.

(v) Dados de qualidade de água (T, sal, clorofila *a*) na Ria e zona costeira adjacente; foi recolhida informação sobre as variações sazonais destes parâmetros da qualidade de água em diversos locais da Ria Formosa.

(vi) Dados sobre práticas de piscicultura na Ria (espécies, pisciculturas): a piscicultura na Ria Formosa é praticada em regime semi-intensivo e extensivo; as espécies cultivadas são essencialmente o robalo (*Dicentrarchus labrax*) e a dourada (*Sparus aurata*), embora sejam produzidas outras espécies, nomeadamente o linguado (*Solea senegalensis*) e diferentes espécies de sargo; actualmente existem apenas 3 pisciculturas semi-intensivas activas na Ria Formosa; esta situação contrasta com a grande área licenciada de pisciculturas extensivas com produções muito baixas.

Anexo III – Publicações técnicas, artigos científicos e comunicações de divulgação

