 <p>Região Autónoma da Madeira Governo Regional</p> <p>Secretaria Regional de Mar e Pescas Direção Regional do Mar</p> <p>Direção de Serviços de Monitorização, Estudos e Investigação do Mar</p>	<h2>Protocolo de amostragem biológica de peixes</h2>	PT 01
		Página 1/6
		Edição: A de 11/10/2021 Revisão: 0 de 11/10/2021

Objetivo

O presente procedimento tem por objetivo uniformizar a metodologia de amostragem biológica em laboratório.

Âmbito

O procedimento foi desenhado com vista à sua aplicação a peixes.


Responsabilidade

A execução do presente procedimento é da responsabilidade do(s) técnico(s) amostrador(es) indicado(s) pelo coordenador de amostragem biológica.

Procedimento de amostragem


1. Identificar a espécie de acordo com os catálogos de identificação da FAO;
2. Colocar o espécime a amostrar na mesa de amostragem;
3. Medir o comprimento total individual com uma régua ao milímetro, considerando a medida desde a ponta do focinho até à extremidade da barbatana caudal;
4. Determinar o peso individual total utilizando uma balança digital com precisão de 0,01 g;
5. Dissecar o espécime com uma tesoura de dissecação e auxílio de uma pinça. Realizar uma incisão longitudinal desde o ânus até às barbatanas pélvicas;
6. Após a dissecação, proceder à remoção dos órgãos internos com o auxílio de uma tesoura e de uma pinça;
7. Remover as gónadas e colocar num tabuleiro para posterior pesagem, observação macroscópica do sexo e estado de maturação;
8. Remover o fígado e colocar num tabuleiro para posterior pesagem;

Elaborado por: Dr. Ricardo Sousa Data: 11/10/2021	Verificado por: Dr.ª Graça Faria Data: 11/10/2021	Aprovado por: Dr. João Delgado Data: 11/10/2021	Distribuição: Laboratório de Biologia Pesqueira da DRM
---	---	---	--

 <p>Região Autónoma da Madeira Governo Regional</p> <p>Secretaria Regional de Mar e Pescas Direção Regional do Mar</p> <p>Direção de Serviços de Monitorização, Estudos e Investigação do Mar</p>	<h2>Protocolo de amostragem biológica de peixes</h2>	PT 01
		Página 2/6
		Edição: A de 11/10/2021 Revisão: 0 de 11/10/2021

9. Remover o estômago considerando a zona entre o esófago e a zona imediatamente posterior ao esfíncter pilórico.
10. Pesar o estômago numa balança analítica de precisão (0.01 g) e conservar para posterior dissecação;
11. Remover os restantes órgãos internos;
12. Realizar a medição do peso eviscerado utilizando balanças digitais com precisão de 0,01 g;
13. Realizar a medição do peso individual do fígado e das gónadas de cada exemplar dissecado;
14. Descartar os fígados e conservar as gónadas em caso de necessidade de confirmação do sexo e/ou estado de maturação sexual através de procedimento histológico;
15. Remover os ótolitos sagitais com o auxílio de um bisturi ou faca, lavar, secar e armazenar em tubos eppendorf rotulados para posterior determinação da idade;
16. Prosseguir com a análise das gónadas e realizar a identificação do sexo e estado de maturação sexual. Determinar o estado de maturação sexual através de exame macroscópico das gónadas, usando a escala de maturação adaptada de Brown-Peterson et al., (2011) (em anexo), considerando 5 estados:
 - a. imaturo;
 - b. regeneração;
 - c. com capacidade de desova;
 - d. desova;
 - e. em regressão (reprodutivamente inativo).

<p>Elaborado por: Dr. Ricardo Sousa Data: 11/10/2021</p>	<p>Verificado por: Dr.ª Graça Faria Data: 11/10/2021</p>	<p>Aprovado por: Dr. João Delgado Data: 11/10/2021</p>	<p>Distribuição: Laboratório de Biologia Pesqueira da DRM</p>
--	--	--	---

 <p>Região Autónoma da Madeira Governo Regional</p> <p>Secretaria Regional de Mar e Pescas Direção Regional do Mar</p> <p>Direção de Serviços de Monitorização, Estudos e Investigação do Mar</p>	<p>Protocolo de amostragem biológica de peixes</p>	PT 01
		Página 3/6
		<p>Edição: A de 11/10/2021 Revisão: 0 de 11/10/2021</p>

Identificação das espécies de espada (*Aphanopus carbo* Lowe, 1839 e *Aphanopus intermedius* Parin, 1983)

1. Seguir o catálogo de identificação da FAO – volume 15;
2. Considerar o número de espinhos da barbatana dorsal, o número de raios da barbatana dorsal, os elementos da barbatana dorsal, o número de vértebras pré-caudais, caudais e total.


Análise dos conteúdos estomacais

1. Dissecar o estômago com o auxílio de uma tesoura e retirar todo o conteúdo estomacal;
2. Pesar o conteúdo estomacal e alocar um grau de enchimento de acordo com a quantidade de conteúdo presente em cada estômago (Cailliet, 1976) de acordo com a tabela seguinte:

Grau de enchimento	Estado
0	Vazio
1	1-25%
2	25-50%
3	50-75%
4	75-100%

3. Realizar a pesagem das paredes dos estômagos;
4. Proceder a identificação do conteúdo estomacal:
 - a. Realizar uma triagem por grupos taxonómicos, utilizando microscópio estereoscópico binocular e quantificar as presas presentes;

<p>Elaborado por: Dr. Ricardo Sousa Data: 11/10/2021</p>	<p>Verificado por: Dr.ª Graça Faria Data: 11/10/2021</p>	<p>Aprovado por: Dr. João Delgado Data: 11/10/2021</p>	<p>Distribuição: Laboratório de Biologia Pesqueira da DRM</p>
--	--	--	---


 <p>Região Autónoma da Madeira Governo Regional</p> <p>Secretaria Regional de Mar e Pescas Direção Regional do Mar</p> <p>Direção de Serviços de Monitorização, Estudos e Investigação do Mar</p>	<h2>Protocolo de amostragem biológica de peixes</h2>	PT 01
		Página 4/6
		Edição: A de 11/10/2021 Revisão: 0 de 11/10/2021

- b. Separar os itens identificativos, nomeadamente esqueleto, escamas, otólitos, carapaças e apêndices de crustáceos e bicos de cefalópodes;
- c. Colocar os itens identificativos em frascos devidamente rotulados, para posterior identificação até ao nível taxonómico mais baixo possível;
- d. Atribuir um grau de digestão de acordo com a escala adaptada por Cailliet (1976):

Grau de digestão	Estado
1	Item inteiro, não digerido
2	Item aparentemente intacto, digestão limitada
3	Item com digestão média, identificável de acordo com o nível taxonómico pretendido
4	Item muito digerido, dificilmente identificável
5	Item praticamente irreconhecível

5. Medir o comprimento da presa sempre que o estado de digestão o permita;
6. Etiquetar e congelar os itens alimentares não identificados para posterior identificação através de análises genéticas e /ou de isótopos estáveis (em caso de interesse);
7. Proceder à identificação dos itens alimentares até ao nível taxonómico mais baixo possível, utilizando manuais de identificação para o efeito [ex: Alvarez (1968); Holthuis et al. (1993); Whitehead et al. (1986)].


Elaborado por: Dr. Ricardo Sousa Data: 11/10/2021	Verificado por: Dr.ª Graça Faria Data: 11/10/2021	Aprovado por: Dr. João Delgado Data: 11/10/2021	Distribuição: Laboratório de Biologia Pesqueira da DRM
---	---	---	--

 <p>Região Autónoma da Madeira Governo Regional</p> <p>Secretaria Regional de Mar e Pescas Direção Regional do Mar</p> <p>Direção de Serviços de Monitorização, Estudos e Investigação do Mar</p>	<h2>Protocolo de amostragem biológica de peixes</h2>	PT 01
		Página 5/6
		Edição: A de 11/10/2021 Revisão: 0 de 11/10/2021

Leitura da idade

1. Prosseguir com a determinação da idade utilizando um microscópio estereoscópico binocular. Determinar a idade através da interpretação e contagem dos anéis de crescimento, assumidos como zonas de crescimento anual, seguindo as seguintes diretrizes:
2. Colocar o par de otólitos dentro de um recipiente de fundo escuro;
3. Imergir os otólitos numa solução de etanol e glicerol (proporção de 1:1), por forma a clarificar os mesmos;
4. Colocar o otólito na lupa e observar. Escolher uma ampliação que permita a visualização da estrutura do otólito na sua totalidade. As zonas opacas aparecem claras e as translúcidas escuras;
5. Proceder à interpretação e contagem dos anéis de crescimento anual (zona anual decrescimento = zona opaca + zona translúcida) e determinar o tipo de bordo (opaco ou translúcido);
6. Anotar o número de registo do exemplar, o número de zonas anuais de crescimento e o tipo de bordo;
7. A data de 1 de janeiro é convencionada como data de nascimento para os peixes do hemisfério norte. Considerando o padrão de deposição anual observado (zonas opacas +zonas translúcidas), atribuir a cada exemplar um grupo de idade com base no número de zonas de crescimento contadas, no tipo de bordo observado (por convenção lê-se as bandas translúcidas, não se contando a última se esta estiver no bordo), na data de nascimento adotada e na data de captura.

<p>Elaborado por: Dr. Ricardo Sousa Data: 11/10/2021</p>	<p>Verificado por: Dr.ª Graça Faria Data: 11/10/2021</p>	<p>Aprovado por: Dr. João Delgado Data: 11/10/2021</p>	<p>Distribuição: Laboratório de Biologia Pesqueira da DRM</p>
--	--	--	---

 <p>Região Autónoma da Madeira Governo Regional</p> <p>Secretaria Regional de Mar e Pescas Direção Regional do Mar</p> <p>Direção de Serviços de Monitorização, Estudos e Investigação do Mar</p>	<p>Protocolo de amostragem biológica de peixes</p>	PT 01
		Página 6/6
		Edição: A de 11/10/2021 Revisão: 0 de 11/10/2021

Bibliografia

- Alvarez, RZ (1968). Crustáceos Decápodes Ibeéricos; Consejo Superior de Investigaciones Científicas; Barcelona; pp 510.
- Brown-Peterson, NJ, Wyanski, DM, Saborido-Rey, F, Macewicz, BJ, Lowerre-Barbieri, SK (2011). A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*, 3, 52–70
- Cailliet, GM (1976). Several approaches to the feeding ecology of fishes. In: CA Simentad, SJ Lipovsky (Eds). *Fish food habits studies, 1st Pacific Northwest Technical Workshop*, Seattle, Washington, Sea Grant Publication, pp 1-13.
- Holthuis LB, Fransen CH, Smaldon G (1993). Coastal shrimps and prawns: keys and notes for the identification of the species. *The Linnean Society of London and the Estuarine and coastal Sciences Association*, pp 142.
- Nakamura I, Parin NV (1993). Snake mackerels and cutlassfishes of the world (Families Gempylidae and Trichiuridae). *An Annotated and Illustrated Catalogue of the Snake Mackerels, Snoeks, Escolars, Gemfishes, Sackfishes, Domine, Oilfish, Cutlassfishes, Scabbardfishes, Hairtails, and Frostfishes Known to Date*. FAO, Rome.
- Whitehead PJP, Bauchot ML, Hureau JC, Nielsen J, Tortonese E (1986). *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*; UNESCO; Paris; Vols I-III, pp 1473.

Elaborado por: Dr. Ricardo Sousa Data: 11/10/2021	Verificado por: Dr.ª Graça Faria Data: 11/10/2021	Aprovado por: Dr. João Delgado Data: 11/10/2021	Distribuição: Laboratório de Biologia Pesqueira da DRM
---	---	---	--