

Universidade do Algarve
Faculdade de Ciências do Mar e Ambiente

Manutenção de lagostins (*Nephrops norvegicus*)
vivos, a bordo de arrastões comerciais

Ângela V. Heleno Vicente

Mestrado em Biologia Marinha

Especialização em Pescas

2008

Universidade do Algarve
Faculdade de Ciências do Mar e Ambiente

Manutenção de lagostins (*Nephrops norvegicus*)
vivos, a bordo de arrastões comerciais

Ângela V. Heleno Vicente

Orientador: Professora Dra. Margarida Castro

Mestrado em Biologia Marinha

Especialização em Pescas

2008

Este trabalho é da exclusiva responsabilidade da autora

Ângela Heleno Vicente

Aos meus PAIS, por todo o esforço que fizeram ao longo destes anos... tenho total consciência que foi difícil, que foi duro, mas deixo aqui explícito o meu reconhecimento e o meu muito obrigado! Pelo incondicional apoio, pelo amor e carinho... Espero que de alguma forma vos possa retribuir todo esse esforço. Apesar de não o dizer muitas vezes, ADORO-VOS, mas eu sei que o sabem... às minhas PIRRALHAS, quero dizer, MANINHAS QUERIDAS (risos) Catarina e Inês, por me terem ocupado o meu quarto, o meu armário, etc. Brincadeirinha, eu sei que sempre me apoiaram, mesmo quando me iam buscar ao comboio e a primeira coisa que me perguntavam era "Então quando vais embora?" Ai estas irmãs mais novas de hoje em dia...

À famelga da geração mais longínqua, Avô Zé, Avó Bé e Avó Luz, obrigada por todos os miminhos e apoio e pelas peculiares despedidas com um simples "Até logo", mesmo sabendo que estaria a 300km e que só voltaria sabe-se lá quando...

A vocês dedico este trabalho...

Agradecimentos

Acabou! É o fim de um longo percurso. Acabaram-se as longas noites (e dias) no L20 e no L24 (sempre na companhia das nossas amigas formigas), acabaram as travessias pelos seguranças que tão bem guardam a nossa Universidade... hahaha

Para já, quero agradecer à professora Margarida Castro, que tão prontamente aceitou ser minha orientadora, não só pela sua preciosa ajuda neste trabalho como pelos seus sábios conselhos e ideias.

À Aida Campos por toda a ajuda durante o embarque e pelas bolachinhas que mantêm o estômago sossegadinho (risos).

Ao Pedro Guerreiro, pela disponibilidade mesmo quando estava cheio de trabalho e com tantas outras prioridades (não foi Vera?). Um sincero agradecimento!

Ao João Sendão, pela ajuda na montagem do sistema, que quando também tinha outras mil e quinhentas coisas a fazer, arranjou um tempinho para mim. Obrigada!

Ao Engenheiro Miguel Cunha, que me forneceu os meios necessários à concretização do trabalho prático.

Um muito obrigada à espectacular tripulação do "Calypso" que me acompanhou durante os dias de embarque. Sei que não é fácil conciliar um trabalho destes com a pesca do dia-a-dia. O meu sincero obrigado! Foi sem dúvida o trabalho de campo mais gratificante que alguma vez fiz e vocês ajudaram para que assim fosse... Ao Mestre Joaquim, pela infinita paciência para todas as minhas questões e curiosidades e por todas as histórias de experiências vividas, contadas na primeira pessoa. Ao Pedro, que mesmo só tendo estado dois dias, arranjou algum tempo para algumas conversas, para tirar dúvidas, clarificar ideias e dar alguns conselhos. Ao Jorge (Sardo), pelas longas conversas que ajudaram a passar o tempo e que também ajudaram a esclarecer algumas dúvidas. Obrigada também aos restantes membros da tripulação que até me

deixaram ajudar na triagem da pescaria que é o que mais gosto de fazer: Contra-Mestre João, Sr. Rui, Pedro e aos cozinheiros Sr. João e Sr. Francisco (estão realmente aprovados).

Este trabalho foi apoiado pelo projecto “Sobrevivência do lagostim (*Nephrops norvegicus*) que escapa através de sacos de redes de arrasto ou de dispositivos de redução de capturas acessórias”. PDCT/MAR/59366/2004, Fundação para a Ciência e a Tecnologia.


Os meus agradecimentos ficariam por aqui se não fossem as conversas com o pessoal sobre este “capítulo” da tese, mas sendo assim, achei que seria uma boa oportunidade de referir todos aqueles que, ao longo destes inesquecíveis cinco anos, estiveram ao meu lado em momentos bons e menos bons, que me ajudaram a crescer e quer directa ou indirectamente, acabaram por me ajudar a chegar aqui. Fica assim bem demonstrado o quanto todos os que irei referir foram importantes para mim e claro, que farão para sempre parte das minhas recordações mais queridas e dos quais vou sentir saudades. Por isso, aqui fica algo que é mais do que um simples agradecimento...

Obrigada também à restante família, que apesar de o contacto não ser muito, mostraram sempre que possível o seu apoio e incentivo – PL, Gavião, Torres Novas, Bocal, Torre dos Trotes.

Aos AMIGOS que “deixei” longe, e que confesso que às vezes deixei passar tempo demais sem notícias (sem nunca vos esquecer), mas que nunca se esqueceram nem deixaram de dar o seu apoio – PL, TQ.

E agora, dirijo-me aos novos AMIGOS que fiz e a outros que trouxe comigo e ficámos ainda mais AMIGOS (Loures terra de futuro):

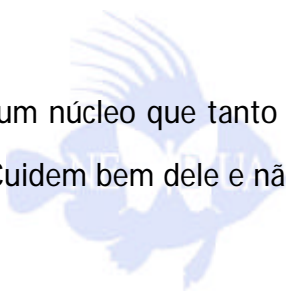
ANO FANTÁSTICO!!!! Chamem-me o que quiserem, mas somos sim! Não vou falar de cada um em particular, pois cada um de vocês sabe o que significa para mim, mais que não seja pela fita que me obrigaram a escrever (risos). São especiais! Cada um à sua maneira. É difícil escrever tudo o que sinto, o que penso e o quanto significam para mim, sem encher páginas e páginas, por isso apenas agradeço a todos por tudo o que me deram ao longo destes anos: a vossa amizade, o vosso carinho, o companheirismo, as surpresas, os sermões, as chamadas de atenção, as lágrimas de alegria e às vezes de tristeza (vem-me de repente à lembrança uma passagem de ano memorável e uma imitação fantástica da Pipa...), mas tudo faz parte deste sentimento especial que é a AMIZADE! Adoro-vos mesmo muito e estarão sempre aqui guardados num cantinho só vosso! Já tenho saudades... até da bicharada (Balack, Moa, Jeremias, Gigolô).

Tenho mesmo que referir a **MINHA MAIS LINDA AMIGA**, companheira de tantas aventuras e algumas desventuras (risos)...  és 5 e jamais te esquecerei nem que estejamos em pólos opostos. Adoro-te mesmo muito!

Deixo um grande beijinho ao **Fundão**, que apesar de não fazer propriamente parte do ano em questão, é como se fizesse e além disso, tem quase o curso de BMP. Obrigada pelas conversas, pela paciência, pela ajuda nos trabalhos, por nos dares na cabeça quando precisamos... és sem dúvida um grande amigo! (Vê lá se choras para não ser sempre eu lol)

Débora! Minha companheira de casa durante tanto tempo eheh obrigada por tudo! Pelas conversas, por ouvires os desabafos, por todos os momentos de risota, pelos horóscopos que dão certo lol és uma excelente **AMIGA!**

Aos nossos **ACADÉMICOS** que apesar de tudo, não me deixaram de parte. Estou certa de que parte do que nos tornou num ano tão especial, foi graças a vocês... também têm algo de especial!



NEBUA, um núcleo pelo qual tenho um grande carinho... um núcleo que tanto me ensinou e que deixa tantas recordações e tantas saudades! Cuidem bem dele e não o deixem sem vida...

Aos restantes BMP's, onde também encontrei bons colegas e amigos... também aqui tenho que deixar dois beijinhos especiais: à Manocas (hei, então e a minha bebida? lol); e ao Matthi as que mesmo não sendo BMP é sem dúvida um grande amigo!

Ao pessoal da AAUALG! Foram dois anos sem dúvida enriquecedores, mesmo que o primeiro não tenha sido tão activo:

Pedro Barros, um beijinho especial para ti! A culpa da minha dedicação ao associativismo é tua e da Vera eheheh! Obrigada pelo convite, pelo desafio, foi sem dúvida uma experiência única, um ARRASO como diz alguém que eu conheço! E tu também és único, uma excelente pessoa e para mim, um amigo para sempre! Também tenho que deixar outro beijinho especial a alguém também especial, que se tornou um grande amigo: ao Gonçalo, tu sabes porquê... Drt!

DG'08, MARCÁMOS?? Sem dúvida que sim! Adorei conhecer-vos e trabalhar convosco. Acreditem que vão fazer sempre parte das minhas recordações mais queridas. Fiz novas amizades e reforcei outras mais antigas. Não me vou referir a cada um, mas quero que saibam que gosto de TODOS, mesmo que seja de maneiras diferentes e eu sei que cada um o sabe perfeitamente. Se não sabe, devia... e se tiverem dúvidas perguntem eheh Um FREE HUG! Vão fazer-me falta!

DE & DD, tenho pena que esteja a acabar, pois sinto que só agora começo realmente a conhecer-vos e a perceber como tudo realmente funciona. Como diz o sábio ParriIha: "Quando deixam de gatinhar, têm que ir embora". É um orgulho poder dizer que tive o privilégio de trabalhar e aprender tanto convosco! Um beijo enorme para vocês, de quem também vou ter saudades!

E pronto, acabo aqui... espero não me esquecer de ninguém importante, mas se não referi não foi por mal. Só falta mesmo apresentar e espero que possam lá estar, porque todos são importantes e porque a vossa presença me vai transmitir calma e segurança...

Resumo

Cada vez mais, há uma preocupação por parte dos consumidores no que respeita à qualidade e frescura do pescado. O trabalho apresentado, resultou de uma manifestação de interesse de um armador do arrasto de crustáceos, em verificar se seria vantajoso apostar na instalação de um sistema a bordo, consistindo num contentor para criação de um ambiente frio e húmido através da aspersão de água do mar a cerca de 4°C, que permitisse manter vivo o lagostim.

A sobrevivência, grau de viveza e condição fisiológica foram analisados em grupos de cerca de 30 indivíduos em intervalos de 12 horas (até 72h), durante o tempo que permanecem dentro do contentor. Foram medidos parâmetros como a viveza (através de uma escala qualitativa), o grau de lesões e as concentrações de glucose e lactato na hemolinfa.

Verificou-se que o grau de lesão e o tempo de arrasto não influenciavam significativamente a sobrevivência dos indivíduos.

O sistema parece ser funcional, embora precise de alguns ajustes, como o controlo da temperatura. Provavelmente a sua funcionalidade irá até um máximo de 36/48 horas, pois a partir desta altura, mesmo que os lagostins estejam vivos, já não apresentam movimentos visíveis, por se encontrarem com a sua actividade metabólica reduzida, perdendo assim valor comercial.

Palavras-chave: *Nephrops norvegicus*, transporte, armazenamento, hemolinfa, lactato, glucose, stress.

Abstract

More and more, consumers are concerned with fish quality and freshness. This work resulted from a demonstration of interest from the crustacean trawling industry, to evaluate the effectiveness of a system, to be placed on board, capable of maintaining Norway lobsters alive. The prototype tested consisted in a container providing a humid and cold environment, through the use of spraying cold (4°C) sea water.

Groups of about 30 lobsters were kept in the container and observed after some time (from 0 to 72h with 12h intervals).

The survival, vitality status and physiological *stress* parameters were evaluated using as indicators qualitative vitality and damage scales and the concentrations of glucose and lactate in the haemolymph.

Individual survival it was not found to be affected by physical damage or haul duration.

The tested system seems to be functional, although some adjustments are needed with respect to temperature control. This system will be useful until a maximum of 36/48 hours. After this, live lobsters will show little signs of movement (due to low metabolic rates), losing market value.

Key-words: *Nephrops norvegicus*, transport, storage, haemolymph, lactate, glucose, *stress*.

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo.....	VI
Abstract.....	VII
Introdução.....	- 1 -
Objectivos.....	- 5 -
Metodologia.....	- 6 -
1. Procedimentos gerais.....	- 6 -
2. Indicadores de condição e <i>stress</i>	- 8 -
2.1. Escala de viveza.....	- 9 -
2.2. Lesões.....	- 9 -
2.3. Hemolinfa.....	- 10 -
3. Recolha dos indivíduos.....	- 10 -
4. Determinação da concentração de glucose na hemolinfa.....	- 11 -
5. Determinação da concentração de lactato na hemolinfa.....	- 12 -
6. Tratamento estatístico.....	- 12 -
Resultados.....	- 14 -
1. Estado de viveza e sobrevivência.....	- 14 -
2. Lesões.....	- 15 -
3. Hemolinfa.....	- 17 -
3.1. Glucose.....	- 17 -
3.2. Lactato.....	- 19 -
Discussão.....	- 22 -
1. Estado de viveza e sobrevivência.....	- 22 -
2. Condição fisiológica.....	- 23 -
3. Qualidade.....	- 26 -

Considerações finais.....	- 27 -
Referências bibliográficas.....	- 28 -

Introdução

Cada vez mais, há uma preocupação por parte dos consumidores no que respeita à qualidade e frescura do pescado. Um estudo recente, realizado por Barrento *et al.* (2008), mostra que os principais problemas que Portugal enfrenta em relação às infra-estruturas de manutenção (a bordo e em terra) são de natureza técnica, relacionados com a longa cadeia comercial, as condições de armazenamento e manuseamento, e a densidade dos animais, o que leva à perda de valor económico devido ao estado fisiológico dos indivíduos.

Assim sendo, o trabalho aqui apresentado resultou de uma manifestação de interesse de um armador do arrasto de crustáceos, em verificar se seria vantajoso apostar na instalação (a bordo) de um sistema que permitisse manter vivo o lagostim (*Nephrops norvegicus*), até à chegada à lota, permitindo a comercialização em vivo.

Esta espécie distribui-se desde a Islândia e Noroeste da Noruega, até ao Atlântico Sul e costa de Marrocos; é também encontrada na bacia Oeste e central do Mediterrâneo (Holthuis, 1991), entre os 10 e os 900m de profundidade. Em Portugal, concentra-se em maior abundância entre os 300 e 600m (Figueiredo, 1988), em fundos lodosos, onde escavam galerias para se abrigarem, com cerca de 20-30cm (Eriksson, 2006); são animais nocturnos (Holthuis, 1991) e alimentam-se sobretudo de decápodes e peixes, apesar de a sua alimentação ser bastante diversificada (Cristo, 1998).

A sua captura é feita essencialmente com recurso a redes de arrasto e por vezes com armadilhas (Holthuis, 1991). Na costa Sul de Portugal (Algarve), o lagostim é sobretudo pescado com arrasto, sendo uma das espécies alvo desta frota (Castro *et al.*, 2003), conjuntamente com a gamba (*Parapenaeus longirostris*) e o camarão vermelho (*Aristeus antennatus*).

É uma espécie de elevado valor comercial, sendo comercializada de diferentes modos: fresca, refrigerada e congelada (INE, 2008). Em 2007, o preço médio anual do lagostim descarregado foi de 23.82€/kg, de um total de 260 toneladas de lagostim descarregado fresco e de 55 toneladas de lagostim descarregado congelado. Também

referente às capturas realizadas para esta espécie, a captura nominal de arrasto costeiro no ano de 2007 foi de 198 toneladas, sendo 2 toneladas provenientes de águas não nacionais, neste caso de Espanha (INE, 2008).

Existem diferentes métodos de transportar o pescado vivo a bordo. Os crustáceos podem ser mantidos húmidos sendo envolvidos em algas, papel húmido e reduzindo ligeiramente a temperatura (Hui, 2006). Muitas vezes estes animais são colocados em tanques com circulação de água até serem vendidos. Também existem casos de transporte em tanques com temperatura controlada e circulação de ar (Hui, 2006).

Para que seja mantida a qualidade do pescado, é comum manter os animais acondicionados de modo a que o seu metabolismo seja baixo, com o objectivo de preservar as suas reservas nutricionais (Danford *et al.*, 1999). É do conhecimento da indústria da pesca que estas espécies podem sobreviver 2 ou 3 dias fora de água, desde que sejam mantidos a baixas temperaturas e com humidade. Estas condições mantêm a aparência fresca dos indivíduos (Danford *et al.*, 1999).

A temperatura e o tempo que decorre desde a captura até à comercialização, são parâmetros que influenciam a qualidade do pescado. A perda de qualidade começa logo após a morte, ou até mesmo antes, durante as operações de pesca. Por exemplo, existem falhas na qualidade originadas por danos físicos ou por *stress* provocado pelo modo de captura (Andersen, 1996). Barrento *et al.* (2008) consideram que manter a temperatura estável através da cadeia de comercialização é fundamental para prevenir a mortalidade que, nos crustáceos, é uma consequência directa do *stress* acumulado, dependendo da condição inicial (se está doente, se possui danos, etc.), das exigências fisiológicas, das condições de manuseamento e do modo de armazenamento.

A exposição aos factores que provocam *stress*, como variações na hipoxia (Bergmann *et al.*, 2001), variações na temperatura e salinidade (Keller *et al.*, 1994) e capturas por arrasto (Bergmann *et al.*, 2001), para além de afectarem a qualidade do pescado (Danford *et al.*, 1999), fazem com que aumente a hiperglicémia (Lorenzon *et al.*, 2004, 2005). A hiperglicémia, como resposta aos diversos tipos de *stress*, está bem

documentada nos crustáceos decápodes, havendo uma evidência que tal resposta é mediada pela libertação da hormona hiperglicémica dos crustáceos (CHH) (Chang *et al.*, 1999). Os crustáceos que estão sujeitos a *stress* libertam CHH, fazendo com que os níveis de concentração de glucose na hemolinfa aumentem (Spicer *et al.*, 1990; Webster, 1996).

Este aumento de glucose ocorre por mobilização de glicogénio intracelular, podendo esta ser libertada para o meio extracelular ou convertida em lactato (dentro das células) através do processo de glucólise (Verri *et al.*, 2001).

De acordo com Kuo & Yang (1999), uma elevada concentração de glucose pode resultar de uma reduzida utilização da mesma, ou da estimulação da gluconeogénese. Também a CHH actua como estimulante da gluconeogénese no músculo, inibindo a síntese de glicogénio (Keller & Orth, 1990 *in* Kuo & Yang, 1999).

O lactato é um produto da respiração anaeróbia, que rapidamente acaba com as reservas de energia, sendo assim um bom índice dos custos metabólicos durante a actividade aeróbia dos animais (Matsumasa & Murai, 2005). Um estudo feito com uma espécie de caranguejo mostrou que concentrações de lactato elevadas, indicam uma tentativa do animal ultrapassar o efeito provocado pelo *stress* (Albert & Ellington, 1985). No caso dos crustáceos, quando estão muito tempo em condições anaeróbias, há uma acumulação de lactato na hemolinfa (Morris, 1986).

As concentrações de lactato na hemolinfa de animais (da espécie de caranguejo *Chasmagnathus granulatus*), em condições normais de oxigénio, são usadas como substrato para produção de energia (Maciel *et al.*, 2008), convertidas em glucose (no hepatopâncreas), de modo a manter o equilíbrio ácido-base e o fornecimento de glucose (Oliveira *et al.*, 2008).

Foi observado que, em indivíduos da espécie *N. norvegicus*, longos períodos de exposição ao ar durante a triagem, podem causar hipoxia interna, o que resulta num aumento de lactato (Ridgway *et al.*, 2006a). Sabe-se que os crustáceos não possuem

um sistema eficiente para metabolizar lactato, pelo que a sua remoção da hemolinfa é relativamente demorada, podendo demorar mais de 24 horas (Ellington, 1983).

Os lagostins possuem um pigmento sanguíneo denominado hemocianina, que circula na hemolinfa e tem como função transportar o oxigénio. A concentração de hemocianina pode fornecer informação sobre a condição dos animais, desde que não existam falhas no suplemento de oxigénio e que não tenham ocorrido perdas recentes de hemolinfa (Eriksson, 2006). O trabalho realizado por Baden *et al.* (1990) mostrou que, em *N. norvegicus*, o catabolismo de hemocianina é um dos últimos recursos usados, depois de uma severa hipoxia. Estes autores referem ainda que o glicogénio é geralmente uma importante reserva de energia, utilizada mais rapidamente que a gordura.

Estudos realizados numa espécie da mesma família do lagostim, o lavagante (*Homarus gammarus*), mostraram que quando em repouso, a hemocianina não é necessária para transportar oxigénio. Mas, quando sujeitos a actividade forçada, os indivíduos com baixos níveis de hemocianina tendem a não regular correctamente a captação de oxigénio (Phillips *et al.*, 1980).

Uma melhor compreensão do mecanismo de *stress* e das modificações fisiológicas induzidas nos indivíduos pela captura, manuseamento, transporte e armazenamento podem conduzir a uma melhor prática comercial de processamento e conseqüente melhoria na sobrevivência e bem-estar dos animais (Lorenzon *et al.*, 2007), o que se traduz numa melhoria da qualidade e, logo, do seu valor comercial.

Objectivos

Este trabalho tem como objectivo avaliar a sobrevivência e condição (física e fisiológica) dos indivíduos da espécie *Nephrops norvegicus* (lagostim), capturados e manuseados a bordo em condições normais, e posteriormente mantidos num sistema climatizado com temperatura a cerca de 4°C e humidade elevada. Foi testada a eficiência deste sistema para manutenção de lagostins vivos durante um período de cerca de 3 dias (72 horas) que, em arrastões comerciais, coincidem geralmente com o tempo entre a captura e a primeira venda em lota.

Metodologia

1. Procedimentos gerais

Os indivíduos foram capturados por arrasto de fundo, na costa do Algarve, entre Sagres e Portimão (Figura 1), a profundidades entre os 334 e os 493 metros, e temperaturas entre os 12.7 e os 13.4°C. O trabalho decorreu a bordo da embarcação “Calypso”, da empresa Testas e Cunha, entre os dias 4 e 7 de Agosto de 2008 (Tabela 1). Na rede foi acoplado um sensor de temperatura e profundidade (VEMCO data logger – 8bit minilog TDR).



Figura 1 – Mapa da costa do Algarve. As elipses a vermelho, representam as zonas entre as quais se realizaram os arrastos. Fonte: www.rosatours-online.com

A pesca realizada decorreu de acordo com os procedimentos normais da embarcação, tendo os arrastos como espécie alvo a gamba, o lagostim ou ambos. Assim, a duração e localização dos arrastos, profundidade em que se realizaram, volume das capturas no saco e proporção de lagostins na captura, variaram de forma não controlada.

Foi construído um sistema de manutenção à escala experimental, utilizando um contentor isotérmico para sardinha, no qual foi instalado um sistema de aspersão de água do mar refrigerada (Figura 2). Dentro do contentor foram colocados 16 tabuleiros de plástico com fundo de malha de rede plástica, dispostos em 4 andares (4 tabuleiros por andar), por cima dos quais se colocaram tubos com aspersores, de modo a distribuir a água fria sobre toda a sua extensão.

Tabela 1 – Detalhes dos nove arrastos realizados. (1) – Tempo de espera, decorrido entre a chegada ao convés e o início da triagem; (2) – Tempo decorrido até os indivíduos serem colocados no contentor (tempo de espera + tempo de triagem); (3) – Classe 1 se o tempo fora de água foi inferior a 40 minutos, classe 2 se o tempo decorrido fora de água foi superior a 40 minutos.

ID DO ARRASTO	INÍCIO DO ARRASTO		VIRAGEM DA REDE		CHEGADA AO CONVÉS	TRIAGEM		PROF (m)	TEMP NO FUNDO (°C)	TEMPO DE ESPERA (1)	TEMPO DE TRIAGEM	TEMPO FORA DE ÁGUA(2)	CLASSE FORA DE ÁGUA(3)
	DIA	HORA	DIA	HORA		INÍCIO	FIM						
1	04-Ago	2:00	04-Ago	3:30	3:45	4:00	4:15	390	13.0	0:15	0:15	0:30	1
2	04-Ago	3:45	04-Ago	6:55	7:10	7:25	7:45	451	13.3	0:15	0:20	0:35	1
3	04-Ago	8:30	04-Ago	11:45	11:56	12:10	12:35	344	12.7	0:14	0:25	0:39	1
4	04-Ago	12:10	04-Ago	15:45	16:00	16:10	16:30	.	.	0:10	0:20	0:30	1
5	04-Ago	16:15	04-Ago	21:10	21:25	21:40	22:10	350	12.8	0:15	0:30	0:45	2
6	04-Ago	22:00	05-Ago	6:30	6:41	6:50	7:30	493	13.4	0:09	0:40	0:49	2
7	05-Ago	7:10	05-Ago	11:00	11:10	11:20	12:25	347	12.8	0:10	1:05	1:15	2
8	05-Ago	11:40	05-Ago	15:00	15:15	15:30	16:10	334	12.7	0:15	0:40	0:55	2
9	05-Ago	16:00	05-Ago	20:45	21:00	21:30	22:10	359	12.8	0:30	0:40	1:10	2

A água foi bombeada para o contentor a partir de um tanque existente na embarcação. Este tanque estava equipado com um termóstato que permitiu o controlo da temperatura da água. Idealmente, a água no tanque deveria estar a 4°C, de modo a baixar o metabolismo dos indivíduos colocados nos tabuleiros, o que se veio a verificar uma tarefa difícil, devido à dificuldade em equilibrar o fluxo de entrada e saída da água no tanque. Assim, a temperatura variou entre 3 e 14°C (valor médio = 7.5°C). A temperatura e a humidade no interior do contentor foram controladas e registadas por sensores (Thermochrom) colocados no seu interior (no centro e nos bordos).

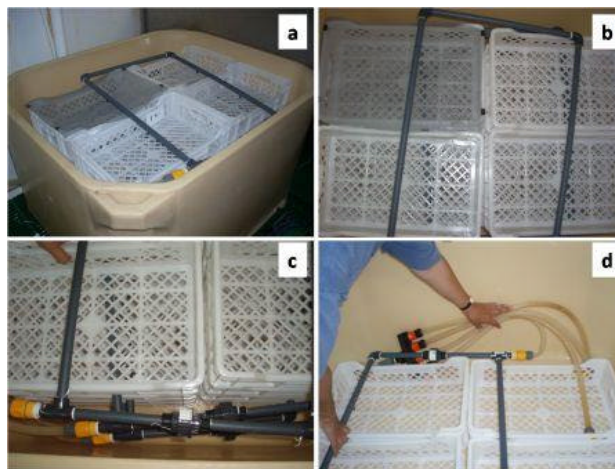


Figura 2 – Fotografia do sistema: a) Vista geral do contentor com os tabuleiros e os tubos onde estavam instalados os aspersores; (b) vista de topo do contentor; (c) vista detalhada das tubagens; (d) detalhe das ligações dos tubos às mangueiras de fornecimento de água (d). (Autor: Aida Campos).

2. Indicadores de condição e *stress*

Para cada indivíduo foi registado o sexo e o comprimento da carapaça (comprimento standard em milímetros, entre o bordo inferior esquerdo da cavidade ocular e o centro do bordo posterior da carapaça). A condição dos indivíduos foi avaliada por diferentes critérios: viveza, grau de danos e concentração na hemolinfa de dois indicadores de níveis de *stress*: glucose e lactato.

2.1. Escala de viveza

Foi utilizada uma escala de viveza com 3 níveis, dependendo do grau de movimento dos indivíduos: 0 – não apresentavam movimento, 1 - apresentavam algum movimento e 2 - apresentavam uma postura agressiva (Castro *et al.*, 2003).

2.2. Lesões

As lesões foram registadas e classificadas da seguinte forma: perda de apêndices (1L pinça do lado esquerdo, 1R pinça do lado direito e assim por diante até 5R, quinto pereiópode do lado direito), RT – rostro partido, AB – abdómen esmagado ou perfurado e CA – carapaça perfurada. Foram ainda registados outros danos e a condição de dureza da carapaça (indivíduos em pós muda).

Para avaliar as lesões, foi usado um índice baseado no “índice de danos” de Ridgway *et al.* (2006). Este índice apresenta três graus de lesão: L0 (sem lesões), L1 (pouco lesionados) e L2 (muito lesionados). A tabela 2 indica quais os tipos de lesão que contribuem para as diferentes categorias.

Tabela 2 – Índice usado para avaliar as lesões que os indivíduos da espécie *N. norvegicus* apresentavam ao chegar à zona de triagem, depois dos arrastos. Adaptado de Ridgway *et al.* (2006).

Graus de lesão	Lesões
Sem lesões (L0)	Os indivíduos não apresentam lesões visíveis.
Pouco lesionados (L1)	Os indivíduos apresentam alguma destas lesões, ou combinadas: <ul style="list-style-type: none"> - Perda de uma das pinças (1R, 1L) - Perda de um, dois ou três pereiópodes (2R, 2L, etc.)

Muito lesionados (L2)	Os indivíduos apresentam pelo menos uma das seguintes lesões: <ul style="list-style-type: none">- Perda das duas pinças (1R, 1L)- Perda de mais de três pereiópodes (2R, 2L, etc.)- Rostro partido (RT)- Abdómen esmagado ou perfurado (AB)- Carapaça perfurada (CA)
-----------------------	--

2.3. Hemolinfa

Aquando da avaliação da viveza, de cada indivíduo foi extraída hemolinfa (com auxílio de seringas de 1ml com agulhas finas (25Gx5/8")) da primeira articulação do último pereiópode. O volume de hemolinfa extraído (idealmente 0.3ml) foi registado e colocado em tubos de centrifuga "Eppendorf", já contendo 0.3ml de PCA 0.6M (ácido perclórico), que origina a precipitação das proteínas contidas na hemolinfa (Harris & Umstrand, 2004). As amostras foram imediatamente congeladas, para posterior análise em laboratório.

3. Recolha dos indivíduos

Foram realizados 9 arrastos, de diferentes durações, dos quais se foram retirando amostras de cerca de 30 indivíduos para cada um dos tempos de espera (de 0 a 72 horas com intervalos de 12 horas) de modo a que para cada hora existissem três grupos (replicados). A cada grupo foi atribuído um dado tempo e a amostragem foi feita apenas ao fim desse tempo. Optou-se por este delineamento, em alternativa a medições repartidas nos mesmos indivíduos, para não introduzir potenciais efeitos da própria amostragem (manuseamento, permanência fora do contentor e retirada de hemolinfa a animais emersos) nos indicadores de condição utilizados. Os grupos de indivíduos foram seleccionados com dois critérios: ao acaso (Grupo R), ou escolhidos de entre os de viveza 2 (grupo V2). Os indivíduos do grupo R foram observados passadas 0, 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas, depois da captura. Os indivíduos do grupo V2

foram observados passadas 12, 24 e 72 horas depois da captura, tendo apenas um conjunto em cada uma dessas horas.

4. Determinação da concentração de glucose na hemolinfa

Depois de descongeladas as amostras, estas foram centrifugadas durante 3min, a 4°C e a uma velocidade de 9300g.

A determinação de glucose foi efectuada no sobrenadante utilizando-se um conjunto de reagentes pré-preparados ("*kit*") para a determinação deste composto em humanos (SPINREACT, Ref. 1001190). Este método tem como princípio a oxidação da glucose em ácido glucónico através da enzima oxidase da glucose. O peróxido de hidrogénio formado é detectado por um aceitador (fenol-aminofenazona), na presença da peroxidase, formando assim um composto de quinona de cor rosada. A intensidade desta cor formada é proporcional à concentração de glucose presente na amostra.

O procedimento do *kit* foi adaptado para microplacas. Depois de efectuada a adaptação, verificou-se que bastariam 2.5µl de amostra, em vez do volume requerido no procedimento original (1ml).

Foi também preparada uma gama de padrões, em microtubos, a partir de uma solução *stock* de 20mM (36.04mg em 10ml, Glucose M=180.2g/mol) de forma a estabelecer uma recta de calibração da actividade enzimática (determinando os limites da zona linear "*plateau*" da curva cinética) e garantir que as amostras a medir continham quantidades de glucose suficiente para o nível de detecção do ensaio mas não excessivas de modo a saturar a capacidade da enzima.

As amostras de hemolinfa (2.5µl) foram incubadas à temperatura ambiente, durante 10 minutos, com 250µl do reagente preparado segundo o protocolo fornecido com o *kit*. De seguida foi efectuada a leitura das absorvâncias, com um filtro de 510nm.

Estas leituras foram confrontadas com os valores de absorvância obtidos na curva de padrões de concentração conhecida e o teor de glucose das amostras calculado

utilizando os parâmetros de declive e intersecção da recta de calibração. Estes valores foram posteriormente corrigidos para a diluição da hemolinfa em cada amostra.

5. Determinação da concentração de lactato na hemolinfa

Depois de descongeladas as amostras, estas foram centrifugadas durante 3min, a 4°C e a uma velocidade de 9300g.

Tal como para o doseamento da glucose, a concentração de lactato foi determinada usando um *kit* para doseamento em plasma sanguíneo humano (SPINREACT, Ref. 1001330). O método utilizado tem como princípio a oxidação do lactato, pela enzima oxidase do lactato, transformando-o em piruvato e peróxido de hidrogénio. Este, sob a influência da peroxidase em presença de 4-aminofenazona e 4-clorofenol forma um composto de quinona de cor rosa/avermelhado. A intensidade desta cor formada é proporcional à concentração de lactato presente na amostra.

Também este *kit* foi adaptado para microplacas, sendo o volume necessário de amostra igualmente de 2.5µl do sobrenadante.

Para construir uma recta de calibração foram preparados padrões, em microtubos a partir de uma solução *stock* de 15mM (16.82mg em 10ml, Lactato M=112.1g/mol). Tanto os padrões como as amostras foram posteriormente expostos aos reagentes do *kit*, incubadas à temperatura ambiente, durante 10 minutos, com 250µl do reagente preparado segundo as instruções fornecidas pelo fabricante. De seguida foi efectuada a leitura das absorvâncias, com um filtro de 510nm e as concentrações de lactato calculadas como descrito para a glucose.

6. Tratamento estatístico

Foram retirados os valores negativos de lactato e glucose, pois são indicativos de que as respectivas concentrações estão fora do limite inferior de detecção do ensaio, pelo que não puderam ser doseados com rigor. As concentrações foram depois transformadas com logaritmo de base 10 para homogeneizar as variâncias dos grupos.

A relação entre a concentração da glucose e do lactato foi avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman.

Na pesca por arrasto, cada lanço tem características específicas que se reflectem na condição dos indivíduos, como por exemplo a duração, volume da captura, entrada de pedras ou lama na rede, etc. Como estas condições não puderam ser controladas, e cada tempo de espera foi testado com grupos de indivíduos provenientes de arrastos diferentes, o arrasto foi considerado um factor na análise estatística.

Para analisar o efeito do tempo de espera (em contentor) nos níveis de glucose e lactato foi utilizado um modelo de ANOVA com dois factores, TEMPO DE ESPERA e ARRRASTO sendo o arrasto considerado hierarquicamente dentro dos diferentes tempos de espera.

As variáveis qualitativas (sobrevivência, escala de viveza ou danos) foram relacionadas através de testes de χ^2 . No caso da sobrevivência, considerou-se como indicador o número de indivíduos em estados de viveza 1 e 2.

A análise estatística foi feita recorrendo ao *software* SAS, versão 9.1.3 (SAS Institute, Inc., 2008). Para a realização de gráficos de caixa com bigodes e distribuição de frequências foi utilizado o *software* SPSS, versão 15 (SPSS Inc., 2003). Para a realização de testes χ^2 e alguns gráficos simples foi utilizado o Microsoft office EXCEL (2007).

Para todos os testes considerou-se o nível de significância estatística $\alpha=0.05$.

Resultados

Os lagostins capturados para este estudo foram provenientes de nove lanços de pesca, realizados entre os dias 4 e 7 de Agosto de 2008. Cada lanço foi realizado em condições particulares no que respeita à localização, duração, profundidade, etc, que se encontram detalhadas na tabela 1.

1. Estado de viveza e sobrevivência

Como referido na metodologia, para cada conjunto de cerca de 30 indivíduos colocados em cada um dos 16 tabuleiros existentes, foi registado o estado de viveza. A figura 3 mostra a percentagem média de indivíduos nos estados de viveza 1 e 2 em função do tempo de espera (em cima) e do lanço (em baixo).

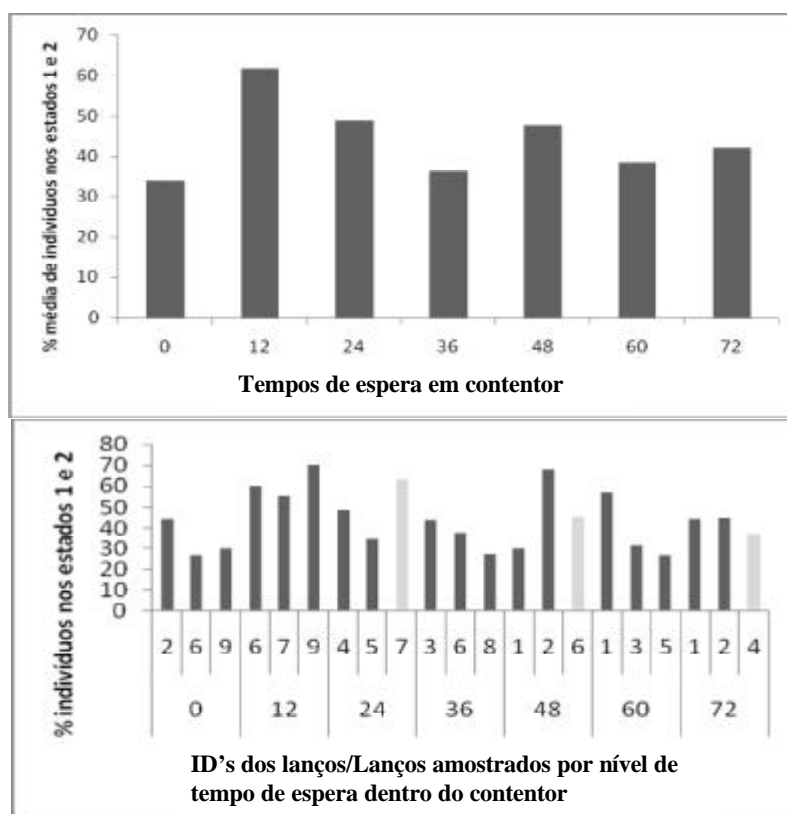


Figura 3 – Em cima: % média de indivíduos nos estados de viveza 1 e 2 presentes em cada tempo de espera. Em baixo: % indivíduos nos estados de viveza 1 e 2 por tempo e por lanço (ID's dos arrastos de 1 a 9). As barras escuras indicam grupos de indivíduos escolhidos aleatoriamente (grupo R), as barras claras indicam indivíduos que à chegada apresentavam viveza 2 (grupo V2).

A proporção de indivíduos nos estados 1 e 2 flutua entre os 35 e os 65% ao longo do tempo. Quando analisados os arrastos individuais, as flutuações são maiores, com valores entre os 30 e 70%. Ao longo do tempo não apresenta um padrão claro, o que se percebe melhor quando analisados arrastos individuais. As flutuações ocorrem mesmo dentro de cada arrasto. Por exemplo para o arrasto 2, a proporção de indivíduos nestes estados sobe das 0 para as 48 horas para voltar a descer às 72 e para o arrasto 1 esta proporção é mais elevada às 72 que às 48 horas. A selecção de indivíduos com maior vitalidade à chegada (grupo V2), não parece também ser importante, com proporções de indivíduos nos estados 1 e 2 apenas superiores no arrasto 7 às 24 horas enquanto às 48 e 72 horas os valores foram inferiores aos dos outros grupos com igual tempo de espera (figura 3).

A hipótese nula da independência entre o tempo de espera e o grau de viveza (grupos de viveza 0 e 1+2), testado através do teste de χ^2 não foi rejeitado ($p=0.095$), pelo que se comprova a independência entre estes dois factores.

A análise de dados feita posteriormente não considerou mais a distinção entre indivíduos do grupo R ou V2.

2. Lesões

Para verificar se o estado de viveza em que o indivíduo se encontra tem alguma relação com o grau de lesão, construiu-se o gráfico representado pela figura 4. O teste χ^2 indica que estes factores são independentes ($p=0.078$).

Na figura 5 apresenta-se a percentagem de indivíduos, classificados de acordo com o grau de lesão que apresentavam, encontrados nos diferentes arrastos efectuados. Neste caso, os arrastos estão identificados pela sua duração, de modo a verificar se este tempo tem algum tipo de influência no grau de lesão que os indivíduos possam apresentar.

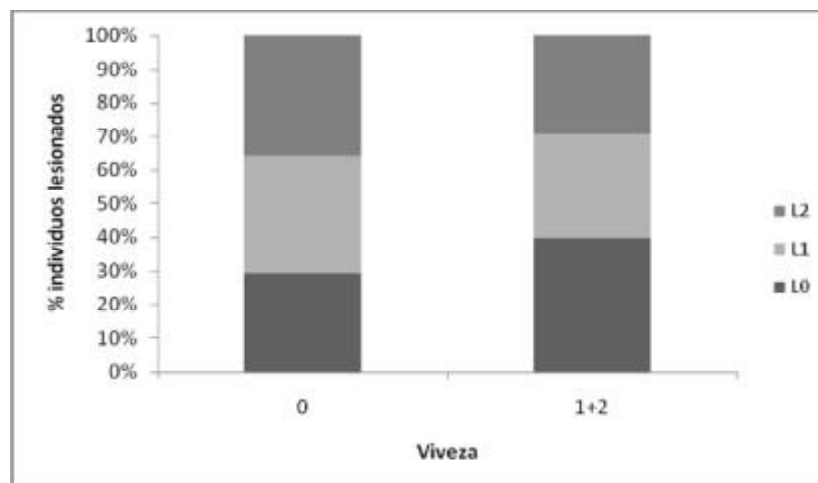


Figura 4 – Percentagem de indivíduos classificados em cada um dos graus de lesão (L0, L1 e L2), e grupo de viveza (viveza 0 e viveza 1+2).

Verifica-se que os arrastos que fizeram capturas com um maior número de indivíduos lesionados tiveram a duração de 230 e 510 minutos. Contudo, não se observam diferenças notórias na percentagem de indivíduos, de qualquer um dos graus de lesão, com a variação da duração dos arrastos (Figura 5). Para confirmar esta observação, efectuou-se um teste χ^2 que indica que a duração do arrasto e os níveis de danos são independentes ($p=0.21$).

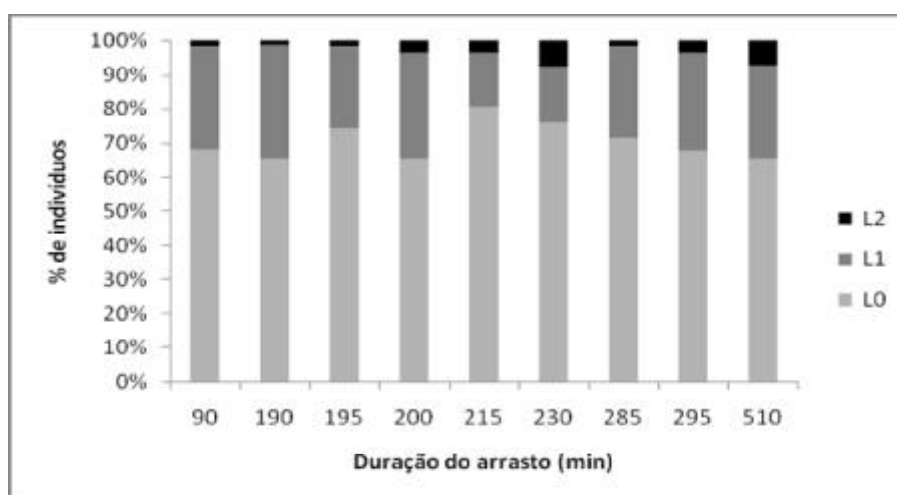


Figura 5 – Percentagem de indivíduos que, em cada um dos arrastos, se encontram muito lesionados (L2), pouco lesionados (L1) ou sem lesões (L0). No eixo horizontal encontram-se as diferentes durações, em minutos, dos nove arrastos realizados (mais detalhes na tabela 1).

3. Hemolinfa

A figura 6 mostra a relação entre a concentração de glucose e a concentração de lactato, que se encontram na hemolinfa dos indivíduos.

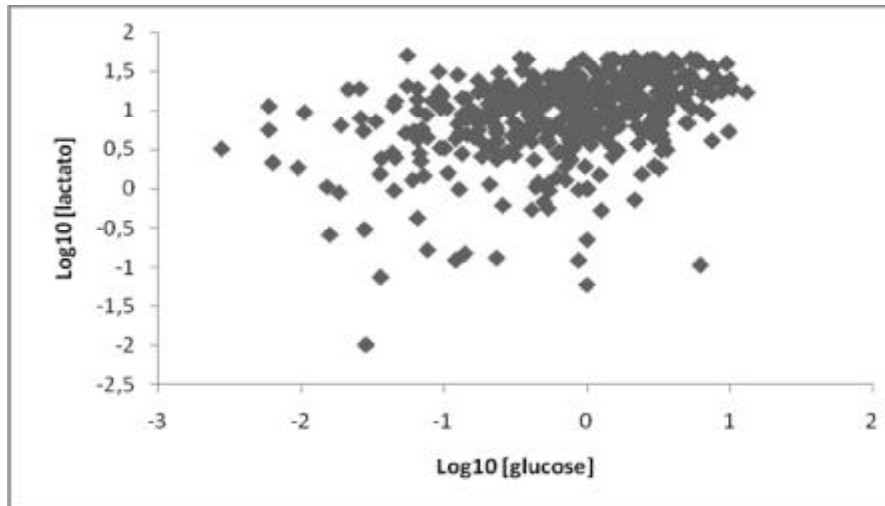


Figura 6 – Relação entre as concentrações de lactato e glucose presentes na hemolinfa (transformadas em logaritmo de base 10).

A correlação (que não inclui valores de glucose ou lactato inicialmente negativos) não é significativa ($n=232$; $p=0.30$). Verifica-se também que a amplitude dos valores de lactato é maior, com máximos uma ordem de magnitude superiores aos de glucose.

3.1. Glucose

A concentração de glucose na hemolinfa dos indivíduos de *N. norvegicus* varia consoante o número de horas passadas desde a captura, ou seja, do número de horas que estes se encontram nos tabuleiros (Figura 7).

Existe uma maior amplitude de valores da concentração de glucose ao fim de 36 e 48 horas. Esta concentração aumenta até às 36 horas (embora com uma pequena descida às 24 horas), diminuindo depois até às 72 horas. O valor máximo que a concentração de glucose atinge é de 13.1mM, ao fim de 36 horas. Valores mínimos observam-se na hora 0, ou seja, quando a hemolinfa é retirada logo após a triagem, sem que os indivíduos sejam sujeitos ao sistema em estudo (Figura 7).

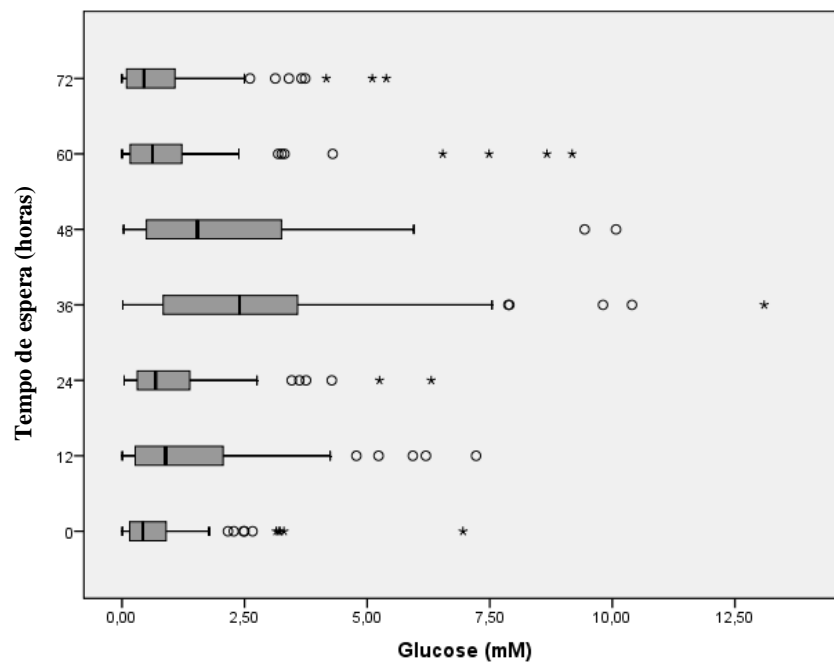


Figura 7 – Variação da concentração de glucose (mM) na hemolinfa de *N. Norvegicus*, nas diferentes horas amostradas. Os círculos representam os "outliers" e os asteriscos representam valores extremos.

A figura 8 mostra como variam os níveis de glucose, sendo estes apresentados em frequências (classes de amplitude igual a 0.25mM) para cada estado de viveza e tempo de espera. As frequências mais elevadas, para todos os estados de viveza, estão associadas a níveis de glucose mais baixos (entre 0 e 2.5mM). A amplitude dos valores de glucose é semelhante ao longo do tempo e entre estados de viveza, revelando uma aparente estabilidade. Note-se no entanto que os níveis de glucose são sempre muito baixos, o que dificulta a observação de tendências e padrões nas distribuições.

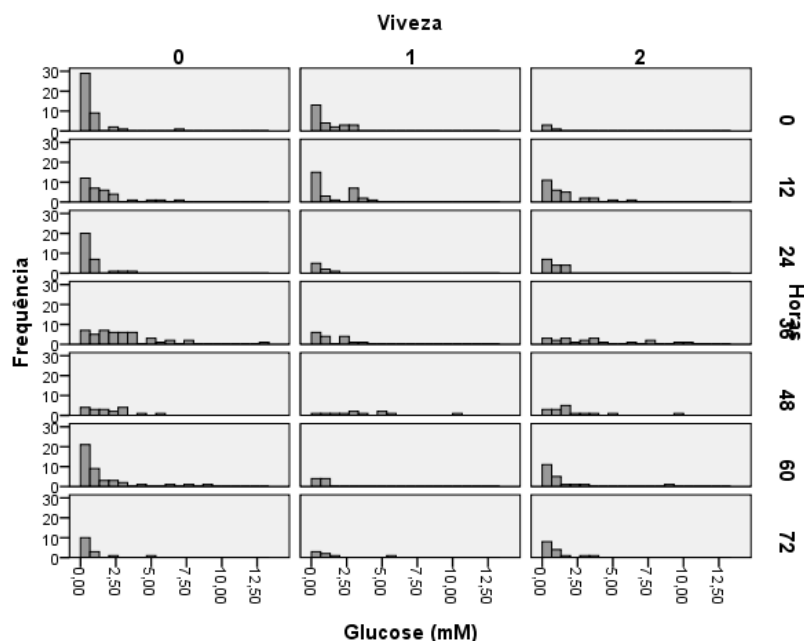


Figura 8 - Variação da concentração de glicose (mM) na hemolinfa, em cada um dos estados de viveza, ao longo dos diferentes tempos de espera.

Os resultados da ANOVA com hierarquia, modelo: $\text{glucose} = \text{tempo de espera} + \text{lanço}$ (tempo de espera), (Tabela 3) revelaram que tanto o tempo de espera como os lanços, são factores que afectam significativamente os níveis de glicose.

Tabela 3 – Análise de variância com hierarquia para a concentração de glicose (Log10)

RESPOSTA: LOG_GLUCOSE					
FONTE DE VARIAÇÃO	gl	SQ	MQ	F	pr>F
HORAS	6	31,18	5,20	5,15	<.0001
ARRASTO(HORAS)	14	26,22	1,87	1,86	0.0286
ERRO	551	556,21	1,01		

3.2. Lactato

Tal como acontece com a glicose, também a concentração de lactato presente na hemolinfa dos indivíduos varia com o tempo em contentor. Na figura 9 verifica-se que esta concentração tende a aumentar até às 48 horas, diminuindo um pouco às 60 horas e voltando a aumentar ao fim das 72 horas. Ao fim de 36 e 48 horas pode-se

observar uma maior variação dos valores de concentração. O pico máximo do valor da concentração de lactato ocorre após 36 horas (50.21mM). Os valores mais baixos verificam-se nos indivíduos que são analisados logo após a triagem (0 horas).

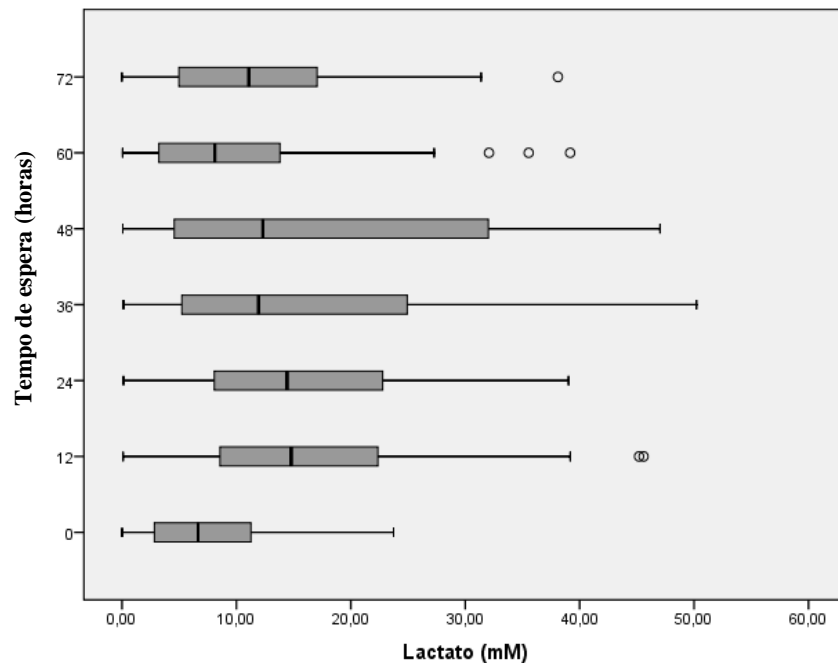


Figura 9 - Variação da concentração de lactato (mM) na hemolinfa de *N. Norvegicus*, nas diferentes horas amostradas. Os círculos representam os "outliers".

A figura 10 mostra como variam os níveis de lactato, sendo estes apresentados em frequências (classes de amplitude igual a 2.0mM) para cada estado de viveza e tempo de espera. Observa-se a existência de uma maior frequência de indivíduos no estado de viveza 0 com concentrações de lactato mais baixas. Com o decorrer das horas, essa frequência tende a diminuir e surgem alguns indivíduos com concentrações um pouco mais elevadas. Quando se analisa o estado de viveza 1, verifica-se que na hora 0 há uma maior frequência nas concentrações mais baixas. A partir das 12 horas, verifica-se que as frequências são menores e estão mais dispersas por concentrações mais elevadas. Nas restantes horas, a frequência deste estado de viveza é relativamente baixa, estando dispersa pelas diversas concentrações. Por fim, no estado de viveza 2, a frequência nas primeiras horas está homogeneamente distribuída pelas

concentrações. A partir das 48 horas, verifica-se uma tendência para existir maior frequência em concentrações mais baixas (Figura 10).

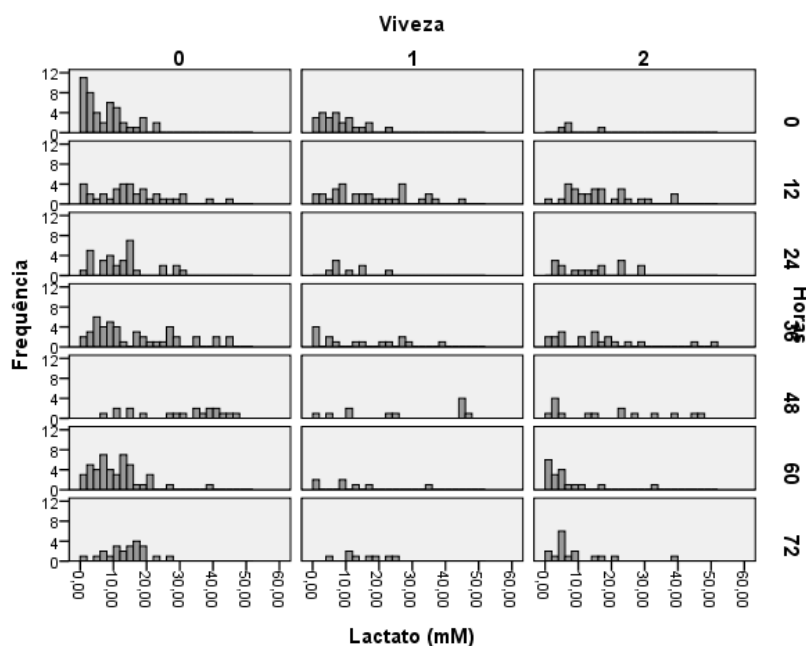


Figura 10 – Variação da concentração de lactato (mM) na hemolinfa, em cada um dos estados de viveza, ao longo dos diferentes tempos de espera.

Os resultados da ANOVA com hierarquia, modelo: lactato = tempo de espera + lanço (tempo de espera), (Tabela 4) revelaram que, tanto o tempo de espera como os lanços, afectam significativamente os níveis de lactato.

Tabela 4 – Análise de variância com hierarquia para a concentração de lactato (Log10).

RESPOSTA: LOG_LACTATO					
FONTES DE VARIACÃO	gl	SQ	MQ	F	pr>F
HORAS	6	61,79	10,30	6,91	<.0001
ARRASTO(HORAS)	14	51,85	3,70	2,48	0.0020
ERRO	551	821,3	1,50		

Discussão

A principal vantagem de armazenar os animais ainda vivos é que estes podem ser mantidos em condições óptimas. Permite também flexibilidade na comercialização, principalmente quando os pescadores estão isolados geograficamente dos maiores mercados. É necessário um bom método de armazenamento que mantenha o pescado nas melhores condições, de modo a atrair os melhores preços de mercado (Beard & McGregor, 2004).

1. Estado de viveza e sobrevivência

Para efeitos de avaliar a relação entre a sobrevivência e outros factores (tempo de espera em contentor, viveza à chegada ao convés e lesões), considerou-se como indicador de sobrevivência a proporção de indivíduos nos estados de viveza 1 e 2, ou seja, aqueles que exibem movimentos dos apêndices e/ou batimentos do abdómen. Estes valores subestimam a sobrevivência, uma vez que muitos indivíduos no estado 0 estão vivos e em boas condições (Castro *et al.*, 2003), mas do ponto de vista da qualidade aparente, para venda em lota, são estes indivíduos que são reconhecidos como vivos pelos compradores. Para responder à questão inicialmente proposta pelo armador que nos sugeriu o trabalho, interessado em vender lagostins vivos, é este indicador de sobrevivência que interessa avaliar. Os testes de independência realizados mostraram que as proporções de lagostins em estado 1+2 são independentes do tempo de espera (lanço), estado de viveza à chegada ao convés (V2) e dos danos infringidos durante a pesca.

A independência da proporção de lagostins activos relativamente ao tempo em contentor sugere que o sistema, pelo menos até às 72 horas, atinge os objectivos pretendidos, mantendo a qualidade aparente dos lagostins.

Dada a não existência de um padrão que indique diferenças entre os grupos R e V2, conclui-se que não valerá a pena escolher os animais que inicialmente se mostrem mais activos.

Seria de esperar que quanto maior o grau de lesão dos indivíduos, menor o seu estado de viveza. Tal não se verificou neste estudo, pois apesar de se observarem maiores percentagens de indivíduos lesionados que se apresentam no estado de viveza 0, estas diferenças não demonstram estatisticamente que estes dois factores estejam relacionados. Também Ridgway *et al.* (2006b) discutiram o efeito provocado pelas lesões, concluindo que apesar de ser uma boa ferramenta para acesso ao mercado, não deve ser considerado para contabilizar a mortalidade. A não relação entre o nível dos danos e a sobrevivência, pode ser um resultado decorrente da forma como foram seleccionados os lagostins para as amostras, após a triagem feita pela tripulação. Nesta situação, indivíduos muito danificados (por exemplo com a carapaça ou abdómen perfurados ou esmagados) teriam já sido rejeitados. Os lagostins do estudo com este tipo de lesões, obtiveram-nas certamente após a triagem, devido a mordeduras (com as pinças) dadas por outros indivíduos, uma vez que os lagostins não foram isolados nem as suas pinças presas com elásticos.

Os resultados de Chang *et al.* (2005) sugerem que arrastos de uma hora de duração são responsáveis por um aumento nas concentrações de glucose, mas não significativamente. Ridgway *et al.* (2006b) verifica que o aumento da duração dos arrastos não parece ser responsável por uma grande acumulação de lactato na hemolinfa, sugerindo então, que as condições em que os lagostins se encontram na rede tornem alguns movimentos restritos, ou que os próprios indivíduos cessem a luta para se libertarem. Os autores Wileman *et al.* (1999) verificaram que 20% da mortalidade ocorreu em indivíduos não danificados fisicamente.

2. Condição fisiológica

Neste trabalho não foi encontrada correlação entre as concentrações de lactato e glucose (figura 6). À primeira vista, seria de esperar que a relação entre o lactato e a glucose fosse inversa, uma vez que o lactato resulta da transformação da glucose. No entanto, os níveis de glucose e lactato medidos na hemolinfa podem não representar os níveis médios destes compostos em todo o animal, ou seja, podem ser bastante diferente das suas concentrações nos tecidos. Assim, se a glucose na hemolinfa estiver

a ser mobilizada dos tecidos e as condições tenham favorecido a formação de lactato, tanto a glucose como o lactato se encontrarão com valores altos. Spicer *et al.* (1990) referem que o aumento da concentração de glucose está relacionado com a mobilização das reservas de energia que são requeridas como fonte para o metabolismo anaeróbio, quando existe *stress* e a disponibilidade de oxigénio é baixa, o que resulta na produção de lactato. Webster (1996) encontrou uma relação positiva entre as concentrações de glucose e de lactato presentes na hemolinfa de crustáceos.

A concentração de glucose na hemolinfa dos lagostins analisados na hora 0, varia entre 0 e 6.96mM. Harris & Andrews (2005) mediram a concentração de glucose na hemolinfa de lagostins, depois de serem capturados com arrasto e de estarem no convés sujeitos ao ar, e encontraram valores de cerca de 0.80mM. No presente estudo, a média encontrada para a hora 0 (condições idênticas às do referido trabalho) foi de 0.79mM, apesar de os animais não se encontrarem em repouso imediatamente antes de lhes ser retirada a hemolinfa como aconteceu no trabalho de Harris & Andrews (2005). Neste trabalho, ao fim de 12 horas, os indivíduos apresentam uma concentração média de glucose de 1.41mM, valor idêntico ao que Schmidtt & Uglow (1997) reportam depois de 8 horas de exposição ao ar.

Em alguns crustáceos foi verificado que o *stress* leva a um aumento da utilização de glucose, com conseqüente diminuição da sua concentração (Taylor & Spicer, 1987; Schmidtt & Uglow, 1997, facto que pode explicar concentrações mais baixas logo após o arrasto (0 horas), bem como a diminuição ao fim de 60 horas, em que os lagostins podem estar a sofrer algum tipo de *stress* decorrente de uma emersão prolongada. Se o *stress* provoca aumento do uso de glucose, o facto de a sua concentração aumentar depois de os indivíduos estarem no contentor com baixas temperaturas (que baixam o seu metabolismo) poderá indicar uma recuperação da sua condição de *stress* fisiológico. A concentração da glucose pode também depender de outros factores como o estado nutricional e as mudas que os animais sofrem, tornando-a um indicador de *stress* menos sensível (Chang, 1995).

Nos decápodes, as necessidades energéticas das células são complementadas através do metabolismo anaeróbio, que é indicado por uma rápida acumulação de lactato. Então, o aumento da concentração de lactato na hemolinfa durante a exposição ao ar é indicador desse metabolismo anaeróbio, que resulta possivelmente da incapacidade de manter o fornecimento adequado de oxigénio nos tecidos (Spicer *et al.*, 1990; Ridgway *et al.*, 2006a). Na espécie *Homarus gammarus*, que pertence à família dos lagostins, o aumento dos níveis de lactato na hemolinfa faz com que a afinidade do oxigénio com a hemocianina também aumente (Morris *et al.*, 1986). Bergmann *et al.* (2001) reportam para a espécie de lagosta *Munida rugosa* um aumento de concentração de lactato que segue períodos de emersão, indicando uma mudança para o metabolismo anaeróbio, o que também tem sido encontrado para outros crustáceos (Huang & Chen, 2001).

Spicer *et al.*, (1990) simularam a actividade da pesca e verificaram que baixas concentrações de lactato verificadas logo após a captura poderiam ser devido ao facto dos lagostins possuírem a capacidade de contrariar o aumento das exigências do metabolismo aeróbio, relacionado com a actividade. Tal capacidade pode explicar as concentrações (neste estudo) terem sido mais baixas logo após a captura (0 horas). A temperatura do ar afecta significativamente a concentração de lactato no músculo (Ríos *et al.*, 2007). Visto terem existido flutuações na temperatura no interior do contentor (idealmente a 4°C), devido à dificuldade em equilibrar o fluxo de água no tanque de abastecimento, e sendo a temperatura um dos factores que podem provocar *stress* (Martin *et al.*, 1996), poderá ser uma razão para se verificarem concentrações de lactato relativamente elevadas, comparadas com as que autores como Schmitt & Uglow (1997) consideram concentrações de indivíduos em repouso (0.12mM). No presente estudo, ao fim de 12 horas a concentração média de lactato encontrada foi de 16.41mM. Ridgway *et al.* (2006a) encontraram concentrações de lactato de 13.58 e 15.64mM, depois dos lagostins se encontrarem 12 horas expostos a temperaturas de 10 e 15°C respectivamente, enquanto Speed *et al.* (2001) medem, para a espécie *Jasus edwardsii*, concentrações de lactato de cerca de 1mM ao fim de

12 horas, sujeitos a uma temperatura de 6°C. Harris & Andrews (2005b) ao fim de 24 horas verificaram uma concentração de 4mM, enquanto neste estudo se verificou, ao fim do mesmo tempo, uma concentração média de 15.63mM. Para espécies como a lagosta do Japão, baixas temperaturas prolongam o tempo de vida dos indivíduos durante o transporte em caixas (Huang & Chen, 2001). O excesso de lactato pode ser transferido do músculo para a hemolinfa, de modo a reduzir a acidose do tecido. Com o esforço contínuo, o lactato tende a acumular na hemolinfa (Chang *et al.*, 2005). Tal facto poderá explicar o contínuo aumento dos níveis de lactato até às 48 horas. Como mostra a figura 8, ainda existem bastantes indivíduos com graus de viveza 1 e 2 até às 48 horas, o que pode significar que fazem algum esforço físico.

3. Qualidade

O aumento da concentração de lactato resulta em acidose, que é reflectida em baixos valores de pH, observados em animais após o transporte. Animais em boa condição, têm capacidade de compensar e rapidamente alcançam valores semelhantes às condições normais (Fotedor *et al.*, 2006). Os resultados encontrados pelo mesmo autor sugerem que, embora os efeitos dos procedimentos pós captura pareçam ficar resolvidos depois de um curto tempo em repouso a baixas temperaturas, nenhum parâmetro pode fornecer uma indicação previsível do processo de adaptação. Os níveis de *stress* e a variabilidade de resposta individual podem influenciar a duração deste processo (Fotedor *et al.*, 2006).

Durante períodos de transporte, em que os crustáceos estão expostos ao ar, pode ocorrer acumulação de lactato no músculo, o que pode ter consequências directas na sua textura, afectando a qualidade do produto (Ocaño-Higuera *et al.*, 2001 *in* Ríos *et al.*, 2007). Um estudo efectuado por Stentiford & Neil (2000) apresentou resultados que reforçam a hipótese de que as condições de manuseamento logo após a captura são essenciais para determinar se as condições de degradação se desenvolvem ou regridem, o que tem consequências importantes tanto para o transporte de lagostins vivos, como para a sua qualidade.

Considerações finais

O sistema parece ser funcional, embora precise de alguns ajustes, como o controlo da temperatura.

Não existe vantagem em escolher os indivíduos que apresentam sinais de vitalidade mais elevada, embora seja importante retirar os indivíduos partidos ou esmagados, pois estes acabam por se decompor.

Se o objectivo for a venda em lota num curto espaço de tempo após o desembarque, caso em que interessa que os animais se possam mexer para demonstrar a sua vitalidade aos compradores, o sistema só mostrou ser eficiente até um máximo de 36/48 horas, pois mesmo que os lagostins estejam vivos após esse período, já não apresentam movimentos visíveis por terem actividade metabólica reduzida.

Em alguns resultados não foram considerados indivíduos no estado de viveza 0, mas alguns poderiam vir a recuperar. A sobrevivência foi assim subestimada, não só pela forma como foi calculada, mas também devido a outros factores:

- Períodos de temperaturas elevadas na água de aspersão do contentor;
- A não existência de especial cuidado no manuseamento dos lagostins aquando da chegada a bordo (o tempo de espera no porão antes da entrada no contentor e a triagem da captura);
- Por último, o facto de a experiência ter sido realizada em Agosto, quando as temperaturas do ar estão no seu máximo.

Referências bibliográficas

- Albert J, WR E (1985) Patterns of energy metabolism in the stone crab, *Menippe mercenaria*, during severe hypoxia and subsequent recovery. *Journal of Experimental Zoology* **234**, 175-183.
- Andersen E, Martin RE, Collette RL, Slavin JW (1996) Control of quality and safety hazards on vessels. Quality assurance on board fishing vessels. In: *Fish inspection, quality control, and HACCP: a global focus*, pp. 427-428. Technomic Publishing Company Inc., Arlington, Virginia, USA.
- Baden SP, Phil L, Rosenberg R (1990) Effects of oxygen depletion on the ecology, blood physiology and fishery of the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Marine Ecology Progress Series* **67**, 141-155.
- Barrento S, Marques A, Pedro S, Vaz-Pires P, Nunes ML (2008) The trade of live crustaceans in Portugal: space for technological improvements. *ICES Journal of Marine Science* **65**, 551-559.
- Beard T, McGregor D (2004) *Storage and care of live lobsters* Laboratory Leaflet, Lowstoft.
- Bergmann M, Taylor AC, Moore GP (2001) Physiological stress in decapod crustaceans (*Munida rugosa* and *Liocarcinus depurator*) discarded in the Clyde *Nephrops* fishery. *Journal of Experimental Biology and Ecology* **259**, 215-229.
- Castro M, Araújo A, Monteiro P, Madeira AM, Silvert W (2003) The efficacy of releasing caught *Nephrops* as a management measure. *Fisheries Research* **65**, 475-484.
- Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR (2007) *Biochemistry*, 4 edn.
- Chang ES (1995) Physiological and biochemical changes during the molt cycle in decapod crustaceans: an overview. *Journal of Experimental Biology and Ecology* **193**, 1-14.

- Chang ES, Chang SA, Keller R, Reddy PS, Snyder MJ, Spees JL (1999) Quantification of stress in lobsters: crustacean hyperglycemic hormone, stress proteins, and gene expression. *American Zoologist* **39**, 487-495.
- Cristo M (1998) Feeding ecology of *Nephrops norvegicus* (Decapoda: Nephropidae). *Journal of Natural History* **32**, 1493-1498.
- Danford AR, Uglow RF, Garland J (1999) Effect of long-haul international transport on lobster hemolymph constituents and nitrogen metabolism. In: *Marketing and shipping live aquatic products* (eds. Paust BC, Rice AA). University of Alaska Sea Grant College Program, Seattle.
- Ellington W (1983) The recovery from anaerobic metabolism in invertebrates. *Journal of Experimental Zoology* **228**, 431-444.
- Eriksson SP (2006) Differences in the condition of Norway lobsters (*Nephrops norvegicus* (L.)) from trawled and creeled. *Marine Biology Research* **2**, 52-58.
- Fotedar S, Evans L, Jones B (2006) Effect of holding duration on the immune system of western rock lobster, *Panulirus cygnus*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **143**, 479-487.
- Harris R, Ulmestrand M (2004) Discarding Norway lobster (*Nephrops norvegicus* L.) through low salinity layers e mortality and damage seen in simulation experiments. *ICES Journal of Marine Science* **61**, 127-139.
- Harris R, Andrews M (2005) Physiological changes in the Norway lobster *Nephrops norvegicus* (L.) escaping and discarded from commercial trawls on the West Coast of Scotland II. Disturbances in haemolymph respiratory gases, tissue metabolites and swimming performance after capture and during recovery. *Journal of Experimental Biology and Ecology* **320**, 195-210.
- Holthuis L (1991) *FAO species catalogue: marine lobsters of the world*, Rome, Italy.

- Huang C-Y, Chen j-C (2001) Effects of emersion on the haemlymph metabolites of the Japanese lobster, *Panulirus japonicus* (Decapoda, Palinuridea). *Crustaceana* **74**, 1041-1058.
- Hui YH (2006) *Handbook of food science, technology, and engineering*, 1 edn. CRC Press.
- INE IP (2008) *Estatísticas da pesca 2007*, Lisboa - Portugal.
- Keller R, Haylett B, Cooke I (1994) Neurosecretion of crustacean hyperglycemic hormone evoked by axonal stimulation or elevation of saline K⁺ concentration quantified by a sensitive immunoassay method. *Journal of Experimental Biology* **188**, 293-316.
- Kuo C, Yang Y (1999) Hyperglycemic responses to cold shock in the freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Comparative Physiology B* **169**, 49-54.
- Lorenzon S, Brezovec S, Ferrero EA (2004) Species-specific effects on hemolymph glucose control by serotonin, dopamine, and L-enkephalin and their inhibitors in *Squilla mantis* and *Astacus leptodactylus* (Crustacea). *Journal of Experimental Zoology* **301A**, 727-736.
- Lorenzon S, Edomi P, Giulianini PG, Mettullo R, Ferrero EA (2005) Role of biogenic amines and CHH in the crustacean hyperglycemic stress response. *The Journal of Experimental Biology* **208**, 3341-3347.
- Lorenzon S, Giulianini P, Martinis M, Ferrero E (2007) Stress effect of different temperatures and air exposure during transport on physiological profiles in the American lobster *Homarus americanus*. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **147**, 94-102.

- Maciel JES, Souza F, Valle S, Kucharski LC, Silva RSMd (2008) Lactate metabolism in the muscle of the crab *Chasmagnathus granulatus* during hypoxia and post-hypoxia recovery. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **151**, 61-65.
- Matsumasa M, Murai M (2005) Changes in blood glucose and lactate levels of male fiddler crabs: effects of aggression and claw waving. *Animal Behavior* **69**, 569-577.
- Morris S (1986) The regulation of haemocyanin oxygen affinity during emersion of the crayfish *Austropotamobius pallipes* 1. An in vitro investigation of the interactive effects of calcium and L-lactate on oxygen affinity. *Journal of Experimental Biology* **121**, 315-326.
- Oliveira GT, Eichler P, Rossi IC, Silva RSd (2004) Hepatopancreas gluconeogenesis during anoxia and post-anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. *Journal of Experimental Zoology A* **301**, 240-248.
- Phillips BF, Cobb JS, George R (1980) General biology. In: *The biology and management of lobsters* (ed. Press A), pp. 2-84. Academic Press, INC, New York.
- Ridgway I, Taylor A, Atkinson R, Chang ES, Neil DM (2006b) Impact of capture method and trawl duration on the health status of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus*. *Journal of Experimental Biology and Ecology* **339**, 135-147.
- Ridgway I, Taylor A, Atkinson R, Stentiford GD, Chang ES, Chang SA, Neil DM (2006a) Morbidity and mortality in Norway lobsters, *Nephrops norvegicus*: physiological, immunological and pathological effects of aerial exposure. *Journal of Experimental Biology and Ecology* **328**, 251-264.
- Ríos EM, Jiménez SG, Higuera VO, Yáñez FC, Aguilar RP (2007) Efecto de la emersión a corto plazo a dos temperaturas de exposición aérea sobre parámetros de calidad en cola de langosta espinosa (*Panulirus interruptus*). *Ciencias Marinas* **33**, 73-82.

- SAS Institute Inc. 2008. SAS/STAT 9.2 User's Guide, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 7857pp.
- Schmitt A, Uglow R (1997) Haemolymph constituent levels and ammonia efflux rates of *Nephrops norvegicus* during emersion. *Marine Biology* **127**, 403-410.
- Speed S, Baldwin J, Wong R, Wells R (2001) Metabolic characteristics of muscles in the spiny lobster, *Jasus edwardsii*, and responses to emersion during simulated live transport. *Comparative Biochemistry and Physiology B* **128**, 435-444.
- Spicer J, Hill A, Taylor A, Strang R (1990) Effect of aerial exposure on concentrations of selected metabolites in blood of the Norwegian lobster *Nephrops norvegicus* (Crustacea: Nephropidae). *Marine Biology* **105**, 129-135.
- SPSS, Inc, 2003. SPSS Base 12.0 User's Guide. Chicago, IL, USA, 677pp.
- Stentiford GD, Neil DM (2000) A rapid onset, post-capture muscle necrosis in the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.), from the West coast of Scotland. *Journal of Fish Diseases* **23**, 251-263.
- Taylor A, Spicer J (1987) Metabolic responses of the prawns *Palaemon elegans* and *P. serratus* (Crustacea: Decapoda) to acute hypoxia and anoxia. *Marine Biology* **95**, 521-530.
- Verri T, Mandal A, Zilli L, Bossa D, Mandal P, Ingrosso L, Zonno V, Vilella S, Ahearn G, Storelli C (2001) D-Glucose transport in decapod crustacean hepatopancreas. *Comparative Biochemistry and Physiology A* **130**, 585-606.
- Webster S (1996) Measurement of crustacean hyperglycemic hormone levels in the edible crab *Cancer pagurus* during emersion stress. *Journal of Experimental Biology* **199**, 1579-1585.
- Wileman D, Sangster G, Breen M, Ulmestrand M, Soldal A, Harris R (1999) Roundfish and *Nephrops* survival after escape from commercial fishing gear. Final report to the EC (FAIR-CT95-0753). Brussels.