

MSc

2.º
CICLO

FCUP
2015

U. PORTO

Análise da sobrevivência e reprodução de *Perinereis
aibuhitensis* (Grube, 1878) no Estuário do Douro, Portugal

Diana Vanessa
Teixeira Moura Fernandes

FC



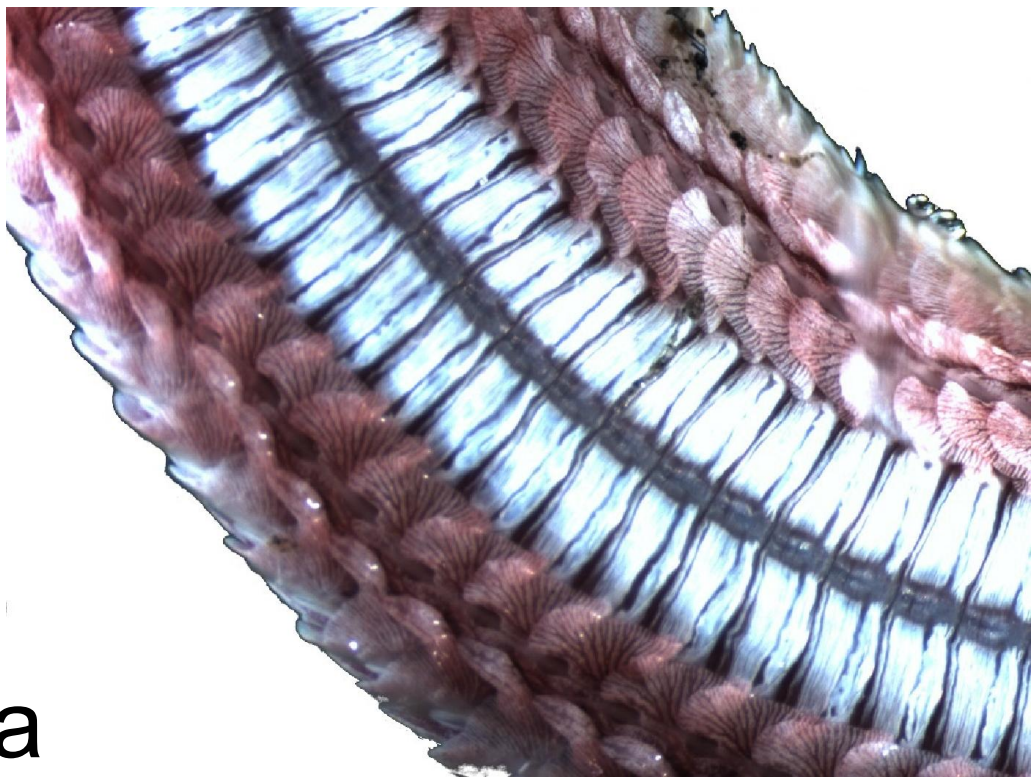
Análise da sobrevivência e reprodução de *Perinereis aibuhitensis* (Grube, 1878) no Estuário do Douro, Portugal

Diana Vanessa Teixeira Moura Fernandes

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto em
Ecologia, Ambiente e Território

2015





Análise da sobrevivência e reprodução de *Perinereis aibuhitensis* (Grube, 1878) no Estuário do Douro, Portugal

Diana Vanessa Teixeira Moura Fernandes

Mestrado em Ecologia, Ambiente e Território

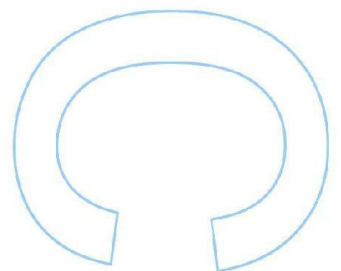
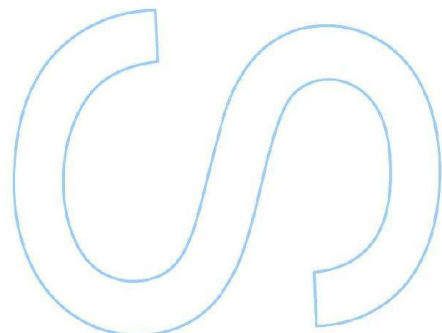
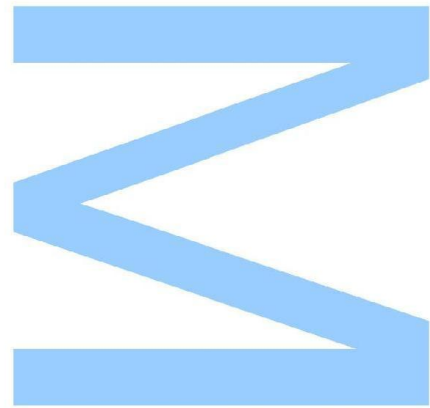
Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
2015

Orientador

Paulo Talhadas dos Santos, Professor auxiliar,
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador

Pedro Fidalgo e Costa, Investigador
colaborador do MARE, Faculdade de
Ciências da Universidade de Lisboa

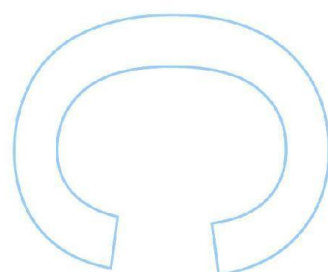
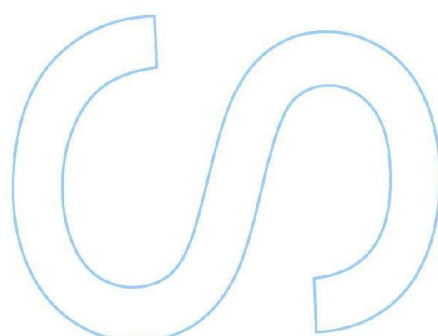
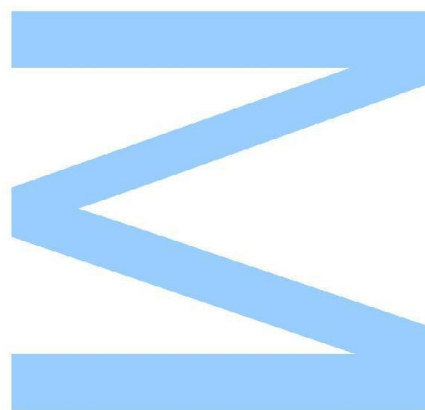




Todas as correções determinadas
pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Agradecimentos

Existem muitas pessoas a quem quero agradecer pois sem elas não conseguiria completar esta fase académica.

Ao meu orientador Prof. Doutor Paulo Talhadas dos Santos a quem agradeço toda a disponibilidade e dedicação. O planeamento do projeto, o acompanhamento e apoio que me deu durante todo o trabalho de campo e laboratorial e a paciência com que me guiou ao longo deste projeto foram incondicionais e imprescindíveis.

Ao meu coorientador Prof. Doutor Pedro Fidalgo e Costa que mesmo estando a cerca de 300 km de distância conseguiu vir cá para me guiar melhor nas experiências e sempre esclareceu as minhas dúvidas e fez sugestões de melhoramento.

Ao Prof. Doutor Nuno Formigo pela ajuda dada no tratamento estatístico e pela paciência em relação às minhas dúvidas na escrita.

Ao Senhor Engenheiro Manuel Cunha, diretor geral da Douro Marina, pela autorização e disponibilidade para a colocação da primeira experiência de campo ao abrigo das instalações da Douro Marina.

A todos os funcionários da Douro Marina por toda a simpatia com que me receberam durante sete meses e por toda a ajuda e disponibilidade.

Ao Dr. Nuno Gomes de Oliveira, diretor do Parque Biológico de Gaia, pela autorização e disponibilidade para a colocação da segunda experiência de campo na Reserva Natural Local do Estuário do Douro.

Ao Senhor Hugo Rato, funcionário do Parque Biológico de Gaia pela simpatia, ajuda e disponibilidade durante toda a experiência na Reserva Natural Local do Estuário do Douro.

À Prof. Doutora Maria da Natividade Vieira e à Dr.^a Mónica Maia Mendes pela cedência dos aquários indispensáveis à experiência de laboratório.

À Prof. Doutora Sara Antunes pela ajuda na análise granulométrica dos sedimentos.

À técnica Maria Helena Sousa pela ajuda com as preparações definitivas para o estudo histológico.

Sumário

Os anelídeos poliquetas são seres com elevada importância ecológica em ambientes estuarinos e costeiros, tanto pela sua elevada diversidade e abundância como pelo papel que têm nas cadeias tróficas, e ainda por serem estruturantes do sistema bentónico. Algumas espécies são intensamente exploradas para serem utilizadas como isco na pesca lúdica. Portugal, com uma extensa linha de costa apresenta uma atividade muito forte ligada a esta pesca. Os anelídeos usados como isco nesta atividade, para além de serem apanhados no nosso país são também frequentemente importados de outros países como, por exemplo, a China.

Estes animais chegam e são utilizados na sua forma viva em Portugal. O uso destes animais como isco implica uma libertação ativa (despejo de restos e escape dos anzóis) que acarreta um perigo de invasão biológica.

No âmbito deste trabalho, a espécie identificada como *Perinereis aibuhitensis*, anelídeo asiático importado do Oriente para pesca lúdica, foi estudada sob as condições ambientais oferecidas pelo Estuário do Douro no sentido de verificar a sua possível sobrevivência e eventual reprodução. Nesse intuito foram feitas duas experiências distintas, tendo uma decorrido no campo e outra em laboratório. Assim sendo, para a primeira, exemplares de *Perinereis aibuhitensis* foram colocados em caixas no Estuário do Douro em dois locais distintos do sistema para verificar a sua sobrevivência; para a segunda, exemplares de *Perinereis aibuhitensis* foram colocados em aquários sob diferentes condições ambientais verificáveis no Estuário do Douro.

A experiência de campo mostra-nos que existe uma taxa de sobrevivência muito baixa de *Perinereis aibuhitensis* no Estuário do Douro o que leva a crer que a probabilidade de estabelecimento de uma população e invasão do ecossistema é também muito remota. A experiência de laboratório apresentou resultados que mostram a possibilidade de reprodução. O ambiente controlado no aquário que proporcionou as condições necessárias à reprodução de *Perinereis aibuhitensis* evidenciam que, apesar de baixa, a possibilidade de estabelecimento da espécie e invasão do ecossistema não é nula.

Palavras-chave: Espécie exótica, Invasão biológica, *Perinereis aibuhitensis*, Sobrevivência, Reprodução, Estuário do Douro, Pesca lúdica.

Summary

The polychaete annelids have high ecological importance in estuarine and coastal environments, both for its high biodiversity and abundance and for its role in food chains, and also for their structuring role of the benthic system. Some species are heavily exploited to be used as bait in recreational fishing. Portugal, with an extensive coast line has a very strong activity related to this fishery. Annelids used as bait in this activity, besides being collected in our country, are also often imported from other countries, for example, China.

Thousands of annelids are imported from Asia in order to be sold as fishing bait. These animals arrive in Portugal alive inside marketable boxes. Plenty of sport anglers leads to a high demand of these exotic organisms and their subsequent release into the river. This active release (dump remains and escape of the hooks) causes a danger of biological invasion.

In this work, the species identified as *Perinereis aibuhitensis*, an asian annelid imported from the East to recreational fishing, was studied under the environmental conditions offered by the Douro estuary in order to verify their possible survival and eventual reproduction. To that end two separate experiments were made, one *in situ* and one *in locus*. Thus, for the first, specimens of *Perinereis aibuhitensis* were placed in boxes in two different places of the Douro system to verify its survival; for the second, specimens of *Perinereis aibuhitensis* were placed in tanks under different environmental conditions verifiable in different locations of the Douro estuary.

The experience on the field shows us that there is a very low survival rate of *Perinereis aibuhitensis* in the Douro estuary which leads us to believe that the probability of establishment of a population and ecosystem invasion is also very remote.

The laboratory experiments presented results that show the possibility of reproduction. The controlled environment in the aquarium which provided the conditions for the reproduction of *Perinereis aibuhitensis* implies that, although it is low, the possibility of establishing the species and invasion of the ecosystem is not null.

Key words: Exotic species, Biological invasion, *Perinereis aibuhitensis*, Survival, Reproduction, Douro estuary, Recreational fishing.

Índice

1- INTRODUÇÃO	1
1.1- Pesca lúdica em Portugal	Erro! Marcador não definido.
1.1.1- <u>Legislação portuguesa sobre a pesca lúdica</u>	2
1.1.2- <u>Iscos de pesca</u>	3
1.1.3- <u>Iscos de pesca naturais</u>	3
1.2- Importações de isco vivo.....	4
1.3- Invasões biológicas	6
1.4- Anelídeos poliquetas	8
1.5- <i>Perinereis aibuhitensis</i> (Grube 1878)	9
1.5.1- <u>Reprodução de <i>Pereinereis aibuhitensis</i> (Grube 1878)</u>	10
1.6- Objetivo	11
2- METODOLOGIA.....	12
2.1- Área de estudo.....	12
2.2- Material e métodos.....	13
2.2.1- <u>Procedimentos com exemplares de <i>Perinereis aibuhitensis</i></u>	14
2.2.2- <u>Estudo histológico</u>	15
2.2.3- <u>Sobrevivência de <i>P. aibuhitensis</i> no Estuário do Douro</u>	15
2.2.4- <u>Reprodução de <i>P. aibuhitensis</i></u>	16
2.2.5- <u>Análise numérica e estatística</u>	18
2.2.5.1- <u>Análise numérica e estatística da sobrevivência de <i>P. aibuhitensis</i></u>	19
2.2.5.2- <u>Análise numérica e estatística da reprodução de <i>P. aibuhitensis</i></u>	19
3- RESULTADOS.....	20
3.1- Experiência de campo	20
3.1.1- <u>Sobrevivência de <i>Perinereis aibuhitensis</i></u>	20
3.1.2- <u>Parâmetros das experiências de campo</u>	24
3.1.2.1- <u>Sobrevivência e redução do número de indivíduos de <i>P aibuhitensis</i> a 50%</u>	25
3.1.2.2- <u>Influência dos parâmetros temperatura e salinidade na sobrevivência de <i>P. aibuhitensis</i></u>	28
3.1.2.3- <u>Influência do peso inicial na sobrevivência de <i>P. aibuhitensis</i></u>	31
3.1.2.4- <u>Influência das algas na sobrevivência de <i>P. aibuhitensis</i></u>	32
3.2- Experiência de laboratório	34
3.2.1- <u>Sobrevivência de <i>P. aibuhitensis</i> nos aquários</u>	36

3.2.2- Reprodução de <i>P. aibuhitensis</i> nos aquários	38
4- DISCUSSÃO DE RESULTADOS	41
4.1- A espécie <i>Perinereis aibuhitensis</i>	41
4.2- Sobrevivência de <i>Perinereis aibuhitensis</i>	41
4.3- Sobrevivência de <i>Perinereis aibuhitensis</i>	43
5- CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

Lista de figuras

FIG. 1 – NÚMERO DE ESPÉCIES EXÓTICAS MARINHAS E DE ÁGUA SALOBRA NÃO INDÍGENAS INCLUÍDOS NOS DIFERENTES GRUPOS TAXONÓMICOS AGRUPADOS PELO FILO QUE FORAM REGISTRADOS EXCLUSIVAMENTE DENTRO DE PORTUGAL CONTINENTAL, AÇORES E MADEIRA (MODIFICADO DE CHAINHO <i>ET AL.</i> , 2015)	5
FIG. 2 – A – <i>PERINEREIS AIBUHITENSIS</i> ; B – VISTA VENTRAL DA REGIÃO FRONTAL DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ; C – PROBOSCIS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ; D – VISTA DORSAL DA REGIÃO FRONTAL DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ; E – REGIÃO POSTERIOR DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> . (MODIFICADO DE TIAN <i>ET AL.</i> , 2014)	9
FIG. 3 – LOCALIZAÇÃO DO ESTUÁRIO DO DOURO. A – DOURO MARINA; B – RESERVA NATURAL LOCAL DO ESTUÁRIO DO DOURO (RNLED)	13
FIG. 4 – ESQUEMA ILUSTRATIVO DA ANATOMIA EXTERNA DE NEREIDAE. 37. – EXTREMIDADES ANTERIOR E POSTERIOR DE UM EXEMPLAR DA FAMÍLIA NEREIDAE (<i>PERINEREIS</i>) COM PROBOSCIS DISTENDIDO. 38 E 39. – VISTAS DORSAL E VENTRAL DO PROBOSCIS DA FAMÍLIA NEREIDAE, ONDE OS NÚMEROS ROMANOS INDICAM AS DAS ÁREAS DO PROBOSCIS (MODIFICADO DE KNOX, 1951).	14
FIG. 5 – ESQUEMA ILUSTRATIVO DOS PARÁPODES DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> . (A) PARÁPODE 3; (B) PARÁPODE 10; (C) PARÁPODE 50; (D) PARÁPODE 100 (MODIFICADO DE HUTCHINGS <i>ET AL.</i> , 1991)	14
FIG. 6 – A – CAIXA DE REDE NYLON (MALHA: 140µM); B- CAIXA DE REDE METÁLICA (MALHA 0.6MM) COM AS CAIXAS DE REDE NYLON.	15
FIG. 7 – MONTAGEM DOS AQUÁRIOS COM SISTEMA DE OXIGENAÇÃO E CIRCULAÇÃO DE ÁGUA).	17
FIG. 8 – SOBREVIVÊNCIA DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ENTRE SETEMBRO DE 2014 E MARÇO DE 2015 NO LOCAL A (DOURO MARINA, GAIA) NO ESTUÁRIO DO DOURO.....	21
FIG. 9 – SOBREVIVÊNCIA DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ENTRE ABRIL DE 2015 E JUNHO DE 2015 NO LOCAL B (RESERVA NATURAL LOCAL DO ESTUÁRIO DO DOURO, GAIA) NO ESTUÁRIO DO DOURO.	23
FIG. 10 – BOX AND WHISKER PLOT DA SOBREVIVÊNCIA TOTAL DOS INDIVÍDUOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ENTRE OS LOCAIS A (DOURO MARINA, GAIA) E B (RESERVA NATURAL LOCAL DO ESTUÁRIO DO DOURO, GAIA).	25
FIG. 11 – BOX AND WHISKER PLOT DO TEMPO DECORRIDO ATÉ REDUÇÃO DO NÚMERO DE INDIVÍDUOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> A 50% ENTRE OS LOCAIS A (DOURO MARINA, GAIA) E B (RESERVA NATURAL LOCAL DO ESTUÁRIO DO DOURO, GAIA).	26
FIG. 12 – BOX AND WHISKER PLOT RELATIVO AO TEMPO DE SOBREVIVÊNCIA DOS INDIVÍDUOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ENTRE OS DIFERENTES CONJUNTOS DE RÉPLICAS	26
FIG. 13 – BOX AND WHISKER PLOT DO TEMPO MÉDIO DE REDUÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DO NÚMERO DE INDIVÍDUOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> A 50% ENTRE CADA CONJUNTO DE RÉPLICAS.	27
FIG. 14 – BOX AND WHISKER PLOT REFERENTE À TEMPERATURA MÉDIA DA ÁGUA VERIFICADA AO LONGO DA EXPERIÊNCIA PARA O LOCAL A (DOURO MARINA, GAIA) E PARA O LOCAL B (RESERVA NATURAL LOCAL DO ESTUÁRIO DO DOURO, GAIA). ..	28
FIG. 15 – BOX AND WHISKER PLOT RELATIVO À TEMPERATURA MÉDIA DA ÁGUA A QUE CADA CONJUNTO DE RÉPLICAS ESTEVE SUJEITO	29
FIG. 16 – BOX AND WHISKER PLOT REFERENTE À SALINIDADE MÉDIA DA ÁGUA VERIFICADA AO LONGO DA EXPERIÊNCIA PARA O LOCAL A (DOURO MARINA, GAIA) E PARA O LOCAL B (RESERVA NATURAL LOCAL DO ESTUÁRIO DO DOURO, GAIA).	29
FIG. 17 – BOX AND WHISKER PLOT RELATIVO À SALINIDADE MÉDIA DA ÁGUA A QUE CADA CONJUNTO DE RÉPLICAS ESTEVE SUJEITO	30

FIG. 18 – BOX AND WHISKER PLOT DA VARIÁVEL PESO MÉDIO INICIAL DOS INDIVÍDUOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> UTILIZADOS NOS DOIS LOCAIS DA EXPERIÊNCIA.....	31
FIG. 19 – BOX AND WHISKER PLOT RELATIVO AO PESO INICIAL DOS INDIVÍDUOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> UTILIZADOS EM CADA CONJUNTO DE RÉPLICAS.....	31
FIG. 20 – BOX AND WHISKER PLOT DO TEMPO MÉDIO DE SOBREVIVÊNCIA TOTAL DOS INDIVÍDUOS DE <i>PERINEREIS AIBUHITENSIS</i> ENTRE CAIXAS COM ALGAS (<i>FUCUS SP.</i>) (1) E SEM ALGAS (0).....	32
FIG. 21 – BOX AND WHISKER PLOT RELATIVO AO TEMPO MÉDIO DECORRIDO ATÉ REDUÇÃO DO NÚMERO DE INDIVÍDUOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> A 50% ENTRE CAIXAS COM ALGAS (<i>FUCUS SP.</i>) (1) E SEM ALGAS (0).....	33
FIG. 22 – TEMPERATURA E SALINIDADE MANTIDOS NO AQUÁRIO A AO LONGO DA EXPERIÊNCIA NO LABORATÓRIO.....	34
FIG. 23 – TEMPERATURA E SALINIDADE MANTIDOS NO AQUÁRIO B AO LONGO DA EXPERIÊNCIA DE LABORATÓRIO.....	34
FIG. 24 – TEMPERATURA E SALINIDADE MANTIDOS NO AQUÁRIO C AO LONGO DA EXPERIÊNCIA DE LABORATÓRIO.....	35
FIG. 25 – TEMPERATURA E SALINIDADE MANTIDOS NO AQUÁRIO D AO LONGO DA EXPERIÊNCIA DE LABORATÓRIO.....	35
FIG. 26 – TEMPERATURA E SALINIDADE MANTIDOS NO AQUÁRIO E AO LONGO DA EXPERIÊNCIA DE LABORATÓRIO.....	36
FIG. 27 – SOBREVIVÊNCIA DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> ENTRE JANEIRO DE 2015 E JULHO DE 2015 NOS AQUÁRIOS.....	37
FIG. 28 – DIÂMETRO MÉDIO E DESVIO PADRÃO DOS OÓCITOS DAS FÊMEAS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> DE CADA AQUÁRIO.....	38
FIG. 29 – LARVA TROCÓFORA DE <i>PERINEREIS AIBUHITENSIS</i> ENCONTRADA NA ÁGUA NO AQUÁRIO E.....	39
FIG. 30 – JUVENIS DESENVOLVIDOS NO AQUÁRIO E (ADULTOS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> (AZUL) JUVENIS DE <i>P. AIBUHITENSIS</i> (VERMELHO))......	40
FIG. 31 – A – VISTA DORSAL DA PARTE ANTERIOR DE <i>PERINEREIS LINEA</i> ; B – VISTA VENTRAL DA PARTE ANTERIOR DE <i>PERINEREIS LINEA</i> ; C – VISTA DORSAL DA PARTE ANTERIOR DE <i>PERINEREIS AIBUHITENSIS</i> ; D – VISTA VENTRAL DA PARTE ANTERIOR DE <i>PERINEREIS AIBUHITENSIS</i> (MODIFICADO DE ÁRIAS ET AL, 2013)......	41

Lista de tabelas

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO GRANULOMÉTRICA DO SEDIMENTO UTILIZADO NOS AQUÁRIOS.	17
TABELA 2 – CORRESPONDÊNCIAS ENTRE AS CAIXAS E O CONJUNTO DE RÉPLICAS A QUE PERTENCE.	24
TABELA 3 – PARÂMETROS MÉDIOS DE TEMPERATURA E SALINIDADE A QUE CADA RÉPLICA ESTEVE SUJEITA.	27
TABELA 4 – VALORES DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE OS PARÂMETROS DA EXPERIÊNCIA DE CAMPO.	30
TABELA 5 – VALORES DO COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE OS PARÂMETROS DA EXPERIÊNCIA DE CAMPO.	32

1- Introdução

Desde os primórdios da evolução do Homem que a pesca e a caça sempre fizeram parte das atividades humanas. O estilo de vida nómada adotado pelos primeiros Humanos do planeta era uma forma de vida sustentável. No entanto a evolução do Homem levou à descoberta de novos modos de subsistência que tornaram possível a existência de aglomerados humanos com uma grande densidade populacional. Desde o Paleolítico inferior, há algumas centenas de milhares de anos, as populações que se estabeleciam em zonas costeiras tiravam partido dos recursos alimentares mais próximos de si (Tavares da Silva & Soares, 1997), exercendo assim uma forte atividade piscatória. A intensificação desta atividade foi verificada a partir do Mesolítico, há cerca de 7500 anos, no âmbito de uma estratégia de diversificação de modos de subsistência, em resposta ao abandono do estilo de vida nómada e da procura de recursos alimentares de maior rendimento, como a caça grossa (Tavares da Silva & Soares, 1997).

A pesca era uma atividade que, em tempos era exercida como uma necessidade para satisfazer as necessidades da população, hoje, depois de uma grande evolução industrial neste setor, divide-se entre uma atividade industrial com fins comerciais alimentares e a uma prática de entretenimento.

Atualmente, as zonas litorais continuam a ser frequentemente utilizadas pelo Homem para a prática da pesca, embora a sua utilização seja para fins essencialmente lúdicos, envolvendo ou não a captura de organismos (Thompson *et al*, 2002).

Neste contexto, as zonas abrigadas como estuários ou lagoas costeiras, são muito exploradas e, nelas, as atividades de pesca podem ter um maior impacto ambiental. Com efeito, foi estimado que os estuários possuem um valor global por unidade de área muito superior ao das zonas costeiras no que respeita ao potencial para utilização recreativa (cerca de cinco vezes mais), (Costanza, 1997).

Uma das principais e mais recentes ameaças provocadas pela pesca lúdica é a introdução de espécies exóticas importadas e usadas como isco vivo nesta atividade acarretando uma potencial invasão do ecossistema (Haska *et al.*, 2012).

1.1- Pesca lúdica em Portugal

Portugal é um país que em tempos dependia em grande parte da pesca como um dos principais meios de subsistência, principalmente para as populações costeiras que dependiam quase exclusivamente da pesca e das atividades ligadas ao mar.

Esta dependência foi enfraquecida pela industrialização que se verificou no século passado que permitiu a pesca em quantidade e o fornecimento de alimentos para todas as regiões do país através da complexa rede rodoviária e de superfícies comerciais.

A pesca é uma parte integrante do património social e cultural português, como se poderia esperar num país com uma longa história e tradição ligada ao mar e uma Zona Económica Exclusiva (ZEE) de 1,7 milhões de km², no valor de quase 50% da União Europeia (UE) ZEE (Leitão *et al.*, 2014). Este país usufrui de características geográficas que promovem a execução desta prática, uma vez que possui uma extensa linha de costa, sob influência do Oceano Atlântico e do mar Mediterrâneo, e uma complexa rede hidrográfica. Esta propensão é ainda enaltecida pela longa história de ligação ao mar que está enraizada na cultura portuguesa. É, assim, um país onde a atividade de pesca lúdica atrai muitos praticantes (Canteiro, 2014).

1.1.1- Legislação portuguesa sobre a pesca lúdica

De acordo com a Portaria n.º 184/2013 de 16 de maio e a Portaria n.º 14/2014 de 23 de janeiro, em Portugal, o exercício desta atividade está sujeita a licenciamento por parte da Direção-geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos (DGRM).

Dita assim a DGRM, que a obrigatoriedade de obtenção de licença não se aplica a pescadores cuja atividade se limite à apanha manual, sem a utilização de utensílios de captura; pescadores menores de 16 se acompanhados por outro pescador detentor de licença; pescadores não residentes em Portugal, inscritos em competições internacionais de pesca desportiva.

A atividade de pesca lúdica está ainda sujeita ao cumprimento das leis a ela impostas.

Ao abrigo do artigo 2º do Decreto-Lei n.º 101/2013 de 25 de julho, em Portugal, “entende -se por pesca lúdica a captura de espécies marinhas, vegetais ou animais, sem fins comerciais ou científicos, através de uma das seguintes formas de exercício:

- a) Pesca de lazer, cuja prática visa a mera recreação;
- b) Pesca desportiva, cuja prática visa a obtenção de marcas desportivas em competição organizada;
- c) Pesca turística, exercida nos termos do Regulamento da Atividade Marítimo -Turística, aprovado pelo Decreto -Lei n.º 21/2002, de 31 de janeiro, alterado pelos Decretos -Lei n.ºs 178/2002, de 31 de julho, 269/2003, de 28 de outubro, 289/2007, 17 de agosto, e 108/2009,

de 15 de maio, bem como do regime jurídico da atividade das empresas de animação turística e dos operadores marítimo-turísticos, aprovado pelo Decreto-Lei n.º 108/2009, de 15 de maio, alterado pelo Decreto –Lei n.º 95/2013, de 19 de julho.” (em artigo 2º do Decreto-Lei n.º 101/2013 de 25 de julho).

1.1.2- Iscos de pesca

Esta atividade tem como objetivo a captura através da atração dos peixes por um ou mais iscos que podem ser artificiais, naturais ou preparados:

- Os iscos de pesca artificiais (ou amostras) são imitações dos elementos naturais da alimentação dos peixes (como pequenos peixes), ou apenas objetos para suscitar o instinto agressivo, a curiosidade ou, apenas, a fome dos animais (Wilson, 1997).
- Os iscos naturais são elementos inteiros ou fragmentados que fazem parte da dieta dos peixes, pelo que, por inerência, são atrativos para ele (Wilson, 1997).
- Os iscos preparados não fazem parte da alimentação natural dos peixes (tal como o pão e o queijo), mas funcionam como fator atrativo pelo odor e sabor. De acordo com Wilson (1997), têm a vantagem da eficácia comprovada.

1.1.3- Iscos de pesca naturais

O sucesso de captura de peixe na atividade de pesca é baseado numa das mais fundamentais atividades da vida animal - a procura e captura de alimento (Lokkeborg, 1994). O olfato e a visão são os dois sentidos preponderantes na procura de alimento pelos peixes. Os iscos artificiais são atrativos para o peixe através da perceção de movimento, da coloração do isco usado, ou até por uma combinação de ambos (Lokkeborg, 1994). Os iscos preparados atraem a atenção do peixe tirando partido do seu odor chamativo. No entanto, os iscos naturais possuem todas as anteriores características, uma vez que são indivíduos predados que fazem parte da dieta dos peixes e que podem ser utilizados inteiros ou fragmentados, pelo que, por inerência, são atrativos para ele (Wilson, 1997).

Assim, a utilização de isco vivo é uma forma eficaz de atração do peixe para o anzol e apesar da existência de uma grande diversidade de iscos disponíveis no mercado (naturais, artificiais e preparados), é verificado que a maioria dos pescadores prefere os iscos naturais (Canteiro, 2014).

Estes iscos naturais usados pelos pescadores são na sua maioria poliquetas e alguns dos pescadores recreativos optam por recolher o seu isco nas próprias margens do local de pesca (Canteiro, 2014).

Em Portugal, a legislação para regular a exploração de iscos teve origem em 2000.

Existem vários tipos de exploração destes iscos, no entanto as diferenças entre pescadores que recolhem iscos estritamente para seu "uso próprio" e aqueles que recolhem para vender para outros estão mal definidas (Fidalgo e Costa *et al.*, 2006). Segundo a legislação portuguesa os coletores de iscos têm apenas permissão para capturar com uma licença pessoal e só é permitido que façam essa captura usando as mãos ou com equipamento restrito previsto no artigo 2º, alínea r da Portaria nº 14 de 2014. Nesta legislação consta também um limite máximo de captura de moluscos e anelídeos (0.5kg por praticante) para utilização própria, mas a falta de supervisão e políticas de aplicação da legislação, nem todas as espécies têm efetivamente uma taxa de captura dentro dos valores legislados, pelo que a captura sustentável dos recursos intertidais nem sempre se verifica. Esta exploração indefinida contribui assim para uma economia em paralelo que entra em conflito com uma atividade sustentável (Fidalgo e Costa *et al.*, 2006).

A captura em massa de isco para fins comerciais é considerada uma prática não-sustentável para o ambiente (Pires *et al.*, 2012). O facto de serem retirados indivíduos de populações indígenas pode ter consequências para a diversidade biológica e/ou o bom funcionamento dos ecossistemas, como depleção de recursos naturais ou modificações morfológicas ou ecológicas dos habitats, independentemente de essa retirada atingir ou não níveis suscetíveis de ameaçar as espécies de extinção ou do desaparecimento local, pelo que é necessário manter um equilíbrio entre os interesses da manutenção da atividade de pesca e os interesses de sustentabilidade ambiental. (Comissão das Comunidades Europeias, 2001).

Enquanto alguns pescadores optam pela recolha nas margens do local de pesca, a maioria dos praticantes adquire o isco em lojas da especialidade. Estas lojas comercializam vários tipos de iscos, sendo que os iscos vivos são os mais procurados pela sua eficácia.

1.2- Importações de isco vivo

As importações de iscos e de espécies de aquário revelam que são importadas legalmente 125 espécies cujos habitats naturais são em ambientes salobros e marinhos, incluindo duas espécies de Porifera, trinta e nove de Cnidaria, trinta e seis de Annelida, vinte e três de Mollusca, vinte e uma de Echinodermata e quatro de Chordata (Chainho *et al.*, 2015) (Fig.1).

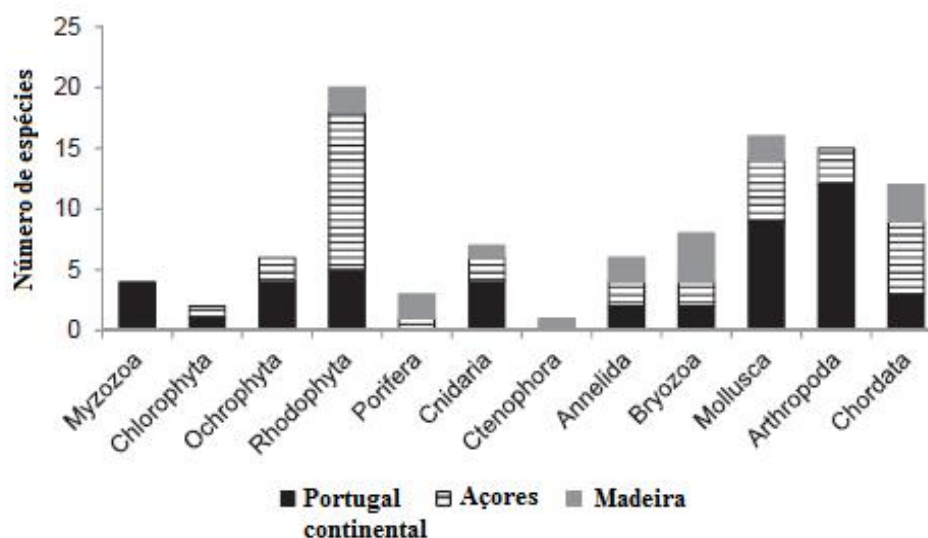


Fig. 1 – Número de espécies exóticas marinhas e de água salobra não indígenas incluídos nos diferentes grupos taxonómicos agrupados pelo Filo que foram registrados exclusivamente dentro de Portugal Continental, Açores e Madeira (modificado de Chainho *et al.*, 2015).

Apenas dois anelídeos foram importados para o comércio isco vivo, sendo todos os outros espécies de aquário. (Chainho *et al.*, 2015).

A crescente intensidade da prática da pesca lúdica implica também uma crescente demanda de isco.

No entanto, a recolha de poliquetas nativos não tem sido suficiente para responder à constante procura no mercado para a pesca lúdica (Nesto *et al.*, 2012) e a falta de aquacultura de espécies poliquetas nativas levou Portugal a optar pela importação destes animais para comércio nacional.

Entre 2002 e 2003 foram importados poliquetas da Ásia e Estados Unidos da América tendo chegado ao aeroporto de Lisboa 29,595,218 exemplares sendo que 12,728,379 (todos provenientes da China) foram distribuídos pelas lojas do país destinadas ao comércio de materiais para prática da pesca e os restantes 16,866,839 foram encaminhados para Espanha (Fidalgo e Costa *et al.*, 2006). Tendo em conta que estes seres vivos são cada vez mais os escolhidos pelos pescadores lúdicos e pelos comerciantes pelo elevado tempo que estes animais permanecem vivos e pela sua fácil manutenção é previsível que estes números tenham aumentado e permaneçam em crescente importação.

Com a utilização de espécies exóticas que são utilizadas vivas advém o risco de invasão de ecossistemas costeiros, e portanto estas introduções de espécies não-nativas são possíveis ameaças à estabilidade dos ecossistemas estuarinos-lagunares e marinhos.

1.3- Invasões biológicas

A biodiversidade como património natural constitui um fator importante de afirmação de uma identidade própria no contexto da diversidade europeia e mundial, a par do património histórico e cultural a ela ligados.

A introdução ativa de espécies exóticas é considerada como um dos mecanismos responsáveis pela alteração global da biosfera. Esta ação humana origina modificações profundas na estrutura e no funcionamento dos ecossistemas, uma redução da biodiversidade e a extinção de espécies endémicas (Huenneke, 1997). Os problemas relacionados com a invasão de espécies, não têm um interesse meramente académico, mas revestem-se de uma grande importância para a sociedade humana (Shigesada & Kawasaki, 1997). A Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB) identifica a conservação da natureza, da vida selvagem e dos recursos genéticos como uma área prioritária.

A Península Ibérica pela sua posição geográfica intermédia entre a Europa e a África e pela sua complexa e dinâmica história geológica (Le Pichon & Sibuet, 1971) constitui um palco privilegiado para o aparecimento e manutenção de uma biodiversidade muito significativa (Lobo *et al.*, 2006, Cunha *et al.*, 2011). As cadeias montanhosas que isolam a Península Ibérica do resto do continente impedem a circulação de muitas espécies. Assim, esta região funcionou como um foco importante de diversificação e especiação constituindo uma importante área de endemismos a nível europeu (Hewitt, 1999). Portugal, em consequência da sua localização geográfica e propriedades geofísicas (Grimaud *et al.*, 1982), detém uma grande diversidade biológica, incluindo um elevado número de endemismos e de espécies-reliquia (Lobo *et al.*, 2006).

Os rios são ecossistemas que proporcionam um ambiente mais restrito e particular (Strayer & Dudgeon, 2010). Ao longo da linha de água são verificadas diferentes condições ambientais que têm influência direta nas espécies que se encontram em cada local. Junto à foz o rio alarga, as margens são mais planas e a velocidade da corrente é mais lenta, depositando-se restos de animais, plantas e outros materiais transportados pelo rio tornando assim cada estuário um ambiente único. O fundo é coberto por lama espessa e a água apresenta-se turva e rica em alimentos. A mistura de água doce do rio com a água salgada do mar cria água salobra. Perante estas condições, espécies diferentes se adaptam a este tipo de ecossistema (Burlakova *et al.*, 2011).

Os ecossistemas estuarinos podem ser vistos como únicos. Os fatores abióticos são estruturadores da composição e abundância dos componentes bióticos (Chapman & Wang, 2001). É bem conhecido que os estuários e lagoas costeiras são submetidos a grandes variações de salinidade devido ao impacto das marés e às alterações sazonais (Carregosa *et*

al., 2014). As baixas e subidas das marés e as descargas de água doce dos rios podem alterar rápida e drasticamente a salinidade destes sistemas aquáticos (Mucha *et al.*, 2005). No estuário do Douro, as variações de salinidade vão desde 0 a 35 PSU e ocorrem não apenas sazonalmente, mas também dentro de um ciclo tidal (Vieira & Bordalo, 2000). Estas pequenas alterações no ambiente do ecossistema fazem dele um ecossistema suscetível de ser invadido por espécies exóticas competitivas adaptadas a estas alterações diárias. Esta suscetibilidade em conjunto com as atividades humanas torna estes ecossistemas especialmente vulneráveis e merecedores de proteção ao nível da sua biossegurança. Os estuários são áreas sob grandes pressões antropogénicas e sujeitas a diversos usos que, por vezes, podem ser conflitantes entre si, que podem modificar significativamente esses ecossistemas (Nichols *et al.*, 1986). De facto, nos ecossistemas estuarinos e marinhos, existem vários exemplos de espécies introduzidas e dos danos (biológicos e socioeconómicos) causados por eles. Por exemplo, o caranguejo chinês *Eriocheir sinensis* que está agora presente em grande parte do Noroeste da Europa desde o Estuário do Tejo em Portugal até ao norte da Alemanha e a Escócia oriental onde já começou a causar danos económicos, fazendo buracos nas paredes de prevenção de inundação, e danos biológicos, alterando a estrutura das comunidades locais (Elliott, 2003).

A pesca é uma atividade que coloca os ecossistemas estuarinos e marinhos em constante perigo de invasão. A importação de espécies não indígenas, que são comercializadas vivas, pode aumentar o risco de introdução acidental na natureza. Isto é especialmente preocupante para os poliquetas que são fortemente explorados e utilizados como isco vivo na pesca (Arias *et al.*, 2013). Algumas espécies de poliquetas usadas como iscos vivos demonstraram ser potencialmente invasivas.

De acordo com Arias (2013) o poliqueta coreano exótico, identificado como *Perinereis linea* (Treadwell, 1936) foi relatado no Mar Menor (Lagoa de água salgada com valores ecológicos únicos, SE Península Ibérica, junto do Mar Mediterrâneo). Este caso apresenta a primeira evidência dos perigos da importação de iscos de pesca vivos para a biossegurança, uma vez que *P. linea* constitui o primeiro registo de uma população reprodutivamente ativa fora da sua área de distribuição natural (Arias *et al.*, 2013).

As espécies invasoras podem ameaçar as espécies nativas através de relações de predação, herbivoria, competição, transmissão de doenças e hibridação, e eles podem alterar o funcionamento dos ecossistemas, afetando a saúde humana e podendo resultar em grandes perdas económicas (Tassin & Kull, 2015).

Além dos impactos económicos outro impacto significativo da introdução de espécies exóticas está associado com o facto de estas espécies poderem ser vetores para a introdução de

parasitas no ecossistema. Parasitas não-nativos introduzidos em conjunto com as espécies invasoras podem ter grandes impactos sobre o ecossistema invadido, incluindo um risco para a saúde pública, risco de extinção de espécies protegidas que possam ser afetadas pelo novo parasita e mortes em massa das comunidades nativas (Taraschewski, 2006).

Perinereis aibuhitensis (Grube, 1878) é a espécie importada por Portugal para ser comercializada como isco vivo nas lojas da especialidade. É um dos iscos preferenciais dos comerciantes e dos pescadores uma vez que os indivíduos sobrevivem largas semanas em caixas de venda apenas com a humidade da pasta de papel nelas contida.

1.4- Anelídeos poliquetas

Os anelídeos incluem animais com diferentes formas de vida: terrestres e aquáticos (dulçaquícolas e marinhos), Subclasse Hirudinoidea e Ordem Branchiobdellida.

Este Filo inclui os invertebrados dominantes do mar profundo.

Anelídeos de água doce podem ser encontrados em todos os tipos de ambientes aquáticos e semiaquáticos, tal como lagos, lagoas, pequenas linhas de água, rios, águas subterrâneas, solos húmidos, e outros habitats húmidos (Verdonschot, 2015). Os anelídeos terrestres e marinhos, são importantes decompositores da matéria orgânica e, como tal, desempenham um importante papel no ciclo da matéria do ecossistema. Além do seu papel de decompositores, os anelídeos são uma importante fonte de alimento para outros invertebrados e vertebrados, tal como os peixes.

O Filo Annelida divide-se na Classe Polychaeta e na Classe Clitellata (Brusca & Brusca, 2003). Os anelídeos poliquetas (Classe Polychaeta) são muito conhecidos entre a comunidade de pescadores, que os utilizam como iscos, e de alguns empresários, cuja atividade se baseia na cultura de certas espécies. No entanto, a grande diversidade deste grupo é-lhes provavelmente pouco conhecida.

Estes anelídeos são extremamente importantes na avaliação do estado de sanidade do Mar, Estuários e Lagoas Costeiras, não só pela sua abundância e importância ecológica nestes ecossistemas, mas também pelas suas respostas aos diferentes níveis de poluição (Warwick, 1993; Pagola-Carte *et al.*, 2002).

Os anelídeos poliquetas (Classe Polychaeta) constituem o maior grupo incluído nos Anelídeos. As cerca de 10.000 espécies (Brusca & Brusca, 2003) apresentam uma grande diversidade de formas e estilos de vida.

A família Nereididae (Blainville, 1818) é provavelmente a mais conhecida da classe Polychaeta que possui 44 géneros com uma estimativa sobrestimada de 677 espécies (Read & Fauchald, 2012). Esta é uma família cuja importância é verificada pela sua elevada

diversidade e abundância em praticamente todos os ambientes bentónicos marinhos que vão desde as zonas supralitorais até às planícies abissais.

Um dos mais diversos géneros na família Nereididae é o género *Perinereis* (Kinberg, 1865). Este género engloba cerca de 74 espécies (Read & Fauchald, 2012).

1.5- *Perinereis aibuhitensis* (Grube 1878)

Perinereis aibuhitensis (Fig. 2) é uma espécie que pertence à família Nereididae. Coloniza estuários e ambientes de fundo raso e suave nas zonas temperadas e tropicais do Noroeste do Pacífico (Sun & Yang, 2004 em Liu *et al.*, 2012). Perto das costas da Península de Shandong, na China, esta espécie é facilmente encontrada nos habitats estuarinos do sudoeste do Rio Amarelo e nas zonas intertidais de fundos siltosos na área intertidal ao redor da zona costeira do Mar Amarelo (Choi & Lee, 1997). *P. aibuhitensis* é uma espécie comercialmente importante, dado que pode ser utilizada em aquacultura e pesca lúdica uma vez que é um alimento de alta qualidade (Liu *et al.*, 2012). Esta espécie tem sido cultivada no norte da China e exportada para vários países, Portugal incluído. A sua elevada tolerância ao stress levou *P. aibuhitensis* a ser proposta espécie-alvo para o biomonitorização da poluição (Sun & Zhou, 2006 em Liu *et al.*, 2012).

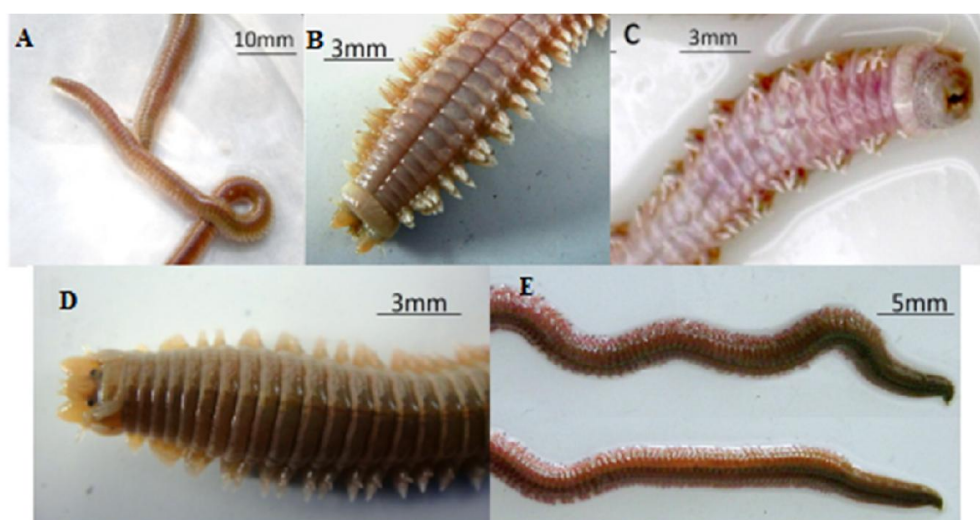


Fig. 2 – A – *Perinereis aibuhitensis*; B – Vista ventral da região frontal de *P. aibuhitensis*; C – Proboscis de *P. aibuhitensis*; D – Vista dorsal da região frontal de *P. aibuhitensis*; E – Região posterior de *P. aibuhitensis*. (Modificado de Tian *et al.*, 2014).

1.5.1- Reprodução de *Perinereis aibuhitensis* (Grube 1878)

As populações selvagens de *Perinereis aibuhitensis* têm vindo a diminuir nos últimos anos devido à sua sobre-exploração (Liu *et al.*, 2014).

Os anelídeos poliquetas da família Nereididae exibem uma ampla gama de formas reprodutivas, incluindo fecundação externa, viviparidade e hermafroditismo (Clark, 1961). A maioria das espécies desta família passa por significativas alterações morfológicas e fisiológicas quando atingem a maturidade sexual. Estas alterações adaptam os indivíduos reprodutores para uma breve forma de vida pelágica de modo a aumentar a probabilidade de encontros entre os indivíduos sexualmente maduros (Clark, 1961; Schottler, 1989; Fischer, 1999 em Chatelain *et al.*, 2008).

Esta metamorfose de um indivíduo imaturo bentónico num indivíduo reprodutor pelágico é conhecida como epitoquia.

A epitoquia também envolve alterações consideráveis no metabolismo dos anelídeos. Os poliquetas da família Nereididae na forma epítoca sobrevivem inteiramente das suas reservas corporais durante a metamorfose e a lise dos tecidos fornece material para a formação e crescimento dos gâmetas (Clark, 1961; Golding & Yuwono, 1994 em Chatelain *et al.*, 2008).

Ao longo das costas da China, a desova de *P. aibuhitensis* ocorre entre abril e outubro (Sun & Yang, 2004 em Liu *et al.*, 2012). Durante este período a forma reprodutiva de *P. aibuhitensis*, a forma epítoca, emerge e liberta os gâmetas na coluna de água.

Os ovos e as larvas têm uma fase planctónica de duração de aproximadamente 20 dias antes de atingirem a fase bentónica (Jiang & Zheng, 2002 em Liu *et al.*, 2005). O intervalo de temperatura e salinidade ideais para a eclosão dos ovos são respetivamente 23°C-28°C e 18-34 PSU (Zheng *et al.*, 2000 em Liu *et al.*, 2012).

Os ovos e as larvas possuem uma quantidade de vitelo sendo, por isso, rapidamente atacados por protozoários ciliados que se alimentam das suas reservas de vitelo (Arias *et al.*, 2013).

Muitas vezes, estes ciliados e outros organismos, tal como algas, bactérias e formas de resistência de vários grupos taxonómicos contidos na pasta de papel que suporta os anelídeos nas caixas de isco, são descartados juntamente com a embalagem na água por pescadores recreativos depois de usar o isco. Qualquer espécie incluída na caixa pode então ser introduzida acidentalmente, constituindo um importante risco para a saúde dos ecossistemas (Haska *et al.*, 2012).

1.6- Objetivo

O presente estudo aborda a sobrevivência e possível reprodução de *Perinereis aibuhitensis* no Estuário do Douro, espécie de anelídeo exótico importado e correntemente utilizado como isco de pesca. Este estudo é importante para contribuir para a avaliação do impacto ambiental que esta espécie possa ter no ecossistema do Estuário do Douro.

Ao abordar estas questões, o presente estudo pode fornecer um conhecimento importante sobre uma espécie exótica ativamente introduzida no Estuário do Douro que abrirá chão para futuras investigações sobre o impacto desta espécie nas espécies autóctones e qual a sua função ecológica neste ecossistema.

Neste sentido, o presente estudo tem como objetivos:

- Avaliar a taxa de sobrevivência de *Perinereis aibuhitensis* no Estuário do Douro;
- Avaliar a sobrevivência, desenvolvimento e hipótese de reprodução em condições controladas.

2- Metodologia

2.1- Área de estudo

O Rio Douro é o segundo maior rio presente na Península Ibérica. Nasce no Norte de Espanha a 2080 metros de altitude nos picos da Serra de Urbião (Sierra de Urbión,) na província de Sória, tendo a sua Foz em Portugal entre as cidades do Porto e de Vila Nova de Gaia onde desagua no oceano Atlântico. A sua bacia ocupa cerca de 98000 km², correspondentes a cerca de 17% do território da Península Ibérica (Carvalho *et al.*, 2013). Ao longo do seu leito, este rio atravessa áreas de conservação como o Parque Natural do Douro Internacional (PNDI) e a Reserva Natural Local do Estuário do Douro (RNLED).

A grande pressão antropogénica verificada ao longo de grande parte do leito do Rio Douro tem um especial destaque junto da sua foz. A pressão de construção nas zonas de costa é um fator que implica graves alterações nos ecossistemas estuarinos. O Rio Douro tem uma especial importância na economia regional, não só pela pesca lúdica que se verifica como uma intensa atividade praticada no estuário, mas também pela sua grande atração turística – As caves e as vinhas de produção do vinho do Porto. As caves são localizadas nas margens do Estuário do Douro pelo que este ecossistema está sobre constante pressão antropogénica causada pelos turistas que frequentemente optam pela visita aos Rabelos – antigas embarcações de transporte do vinho do Porto – ou até mesmo em pequenos cruzeiros que percorrem grande extensão do rio tendo o local de embarque/desembarque no Estuário do Douro.

A parte final do Estuário do Douro, incluindo o Cabedelo e a Baía de S. Paio, a zona que resta do sapal e o areal intertidal, representa um elevado valor paisagístico e natural e condições muito favoráveis para o abrigo e nidificação de muitas aves, algumas das quais são indivíduos de espécies sujeitas a conservação prioritária, nos termos da Diretiva Aves (79/409/CEE). Assim sendo a criação da RNLED teve como efeito o aumento da importância da conservação da biodiversidade.

Este estudo teve lugar no Estuário do rio Douro, onde foi verificada uma intensa atividade de pesca lúdica. A experiência decorreu entre setembro de 2014 e junho de 2015 nas margens da cidade de Vila Nova de Gaia, na Douro Marina (Fig. 3 – Local A) e na Reserva Natural Local do Estuário do Douro (Fig. 3 – Local B).

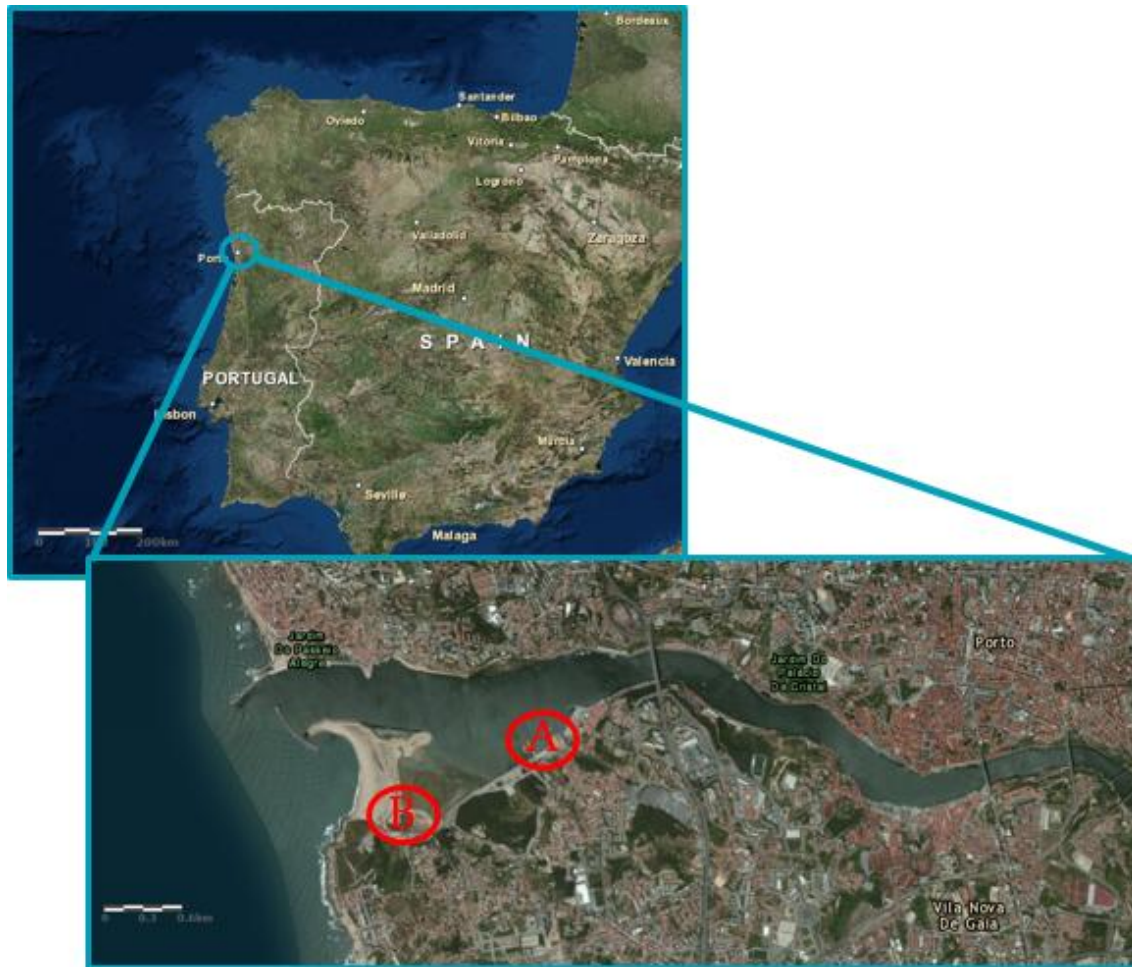


Fig. 3 – Localização do Estuário do Douro. A – Douro Marina; B – Reserva Natural Local do Estuário do Douro (RNLED).

2.2- Material e métodos

Para avaliar a sobrevivência e reprodução da espécie exótica *Perinereis aibuhitensis* foram realizadas duas experiências distintas: de campo e de laboratório.

A experiência de campo com objetivo de avaliar a sobrevivência foi, dividida em duas partes de forma a testar diferentes locais do Estuário que fornecem condições ambientais distintas. Os locais onde a experiência de campo decorreu encontram-se assinalados na figura 3. Entre setembro de 2014 e março de 2015 a experiência decorreu no local A (Douro Marina) e entre março de 2015 e junho de 2015 a experiência foi feita no local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro).

A experiência laboratorial decorreu no laboratório de análises físico-químicas e biológicas do Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto e decorreu entre janeiro de 2015 e julho de 2015.

2.2.1- Procedimentos com exemplares de *Perinereis aibuhitensis*

Exemplares comumente comercializados como “Coreana” foram adquiridos numa loja de pesca junto às margens do Rio Douro. Recorrendo à chave de identificação de poliquetas de Knox (Knox, 1951) o género da Coreana foi identificado como *Perinereis*. Com recurso à chave de identificação de espécies pertencentes ao género *Perinereis* de Hutchings (Hutchings *et al*, 1991) os exemplares foram observados ao microscópio ótico e à lupa binocular e a espécie foi identificada como *Perinereis aibuhitensis*. Nesta chave de identificação de Hutchings, *P. aibuhitensis* é caracterizada por apresentar a área VI com duas barras (Fig. 4 (38)) e por uma redução do notopódio nos parápodes posteriores (Fig. 5 – (d)).

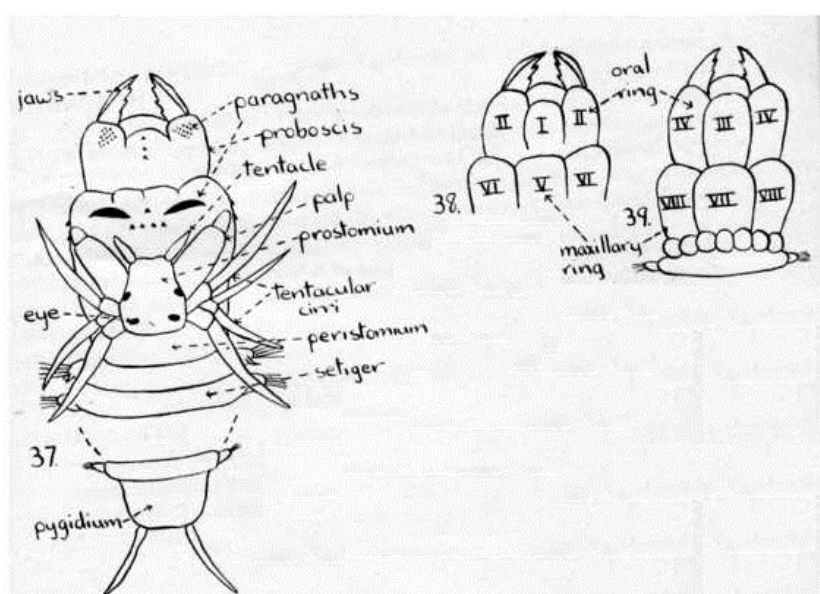


Fig. 4 – Esquema ilustrativo da anatomia externa de Nereidae. 37. – extremidades anterior e posterior de um exemplar da família Nereidae (*Perinereis*) com proboscis distendido. 38 e 39. – Vistas dorsal e ventral do proboscis da família Nereidae, onde os números romanos indicam as das áreas do proboscis (modificado de Knox, 1951).

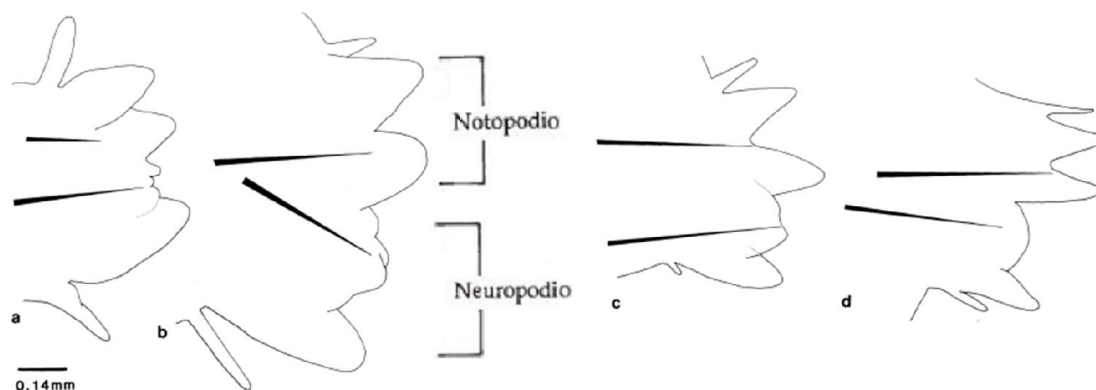


Fig. 5 – Esquema ilustrativo dos parápodes de *P. aibuhitensis*. (a) parápode 3; (b) parápode 10; (c) parápode 50; (d) parápode 100 (modificado de Hutchings *et al*, 1991).

2.2.2- Estudo histológico

Para averiguar a existência de gâmetas no líquido celomático, alguns dos indivíduos foram mantidos em formol neutralizado a 4%. Após um período mínimo de 5 dias, os indivíduos foram submetidos a procedimento histológico padronizado (desidratação, inclusão em parafina, corte, coloração com azul de toluidina e montagem) (Ramos, 1999)

2.2.3- Sobrevivência de *P. aibuhitensis* no Estuário do Douro

Para avaliar a sobrevivência de *P. aibuhitensis* no ecossistema estuarino do Rio Douro foi realizada uma experiência de campo que decorreu entre setembro de 2014 e junho de 2015 com o objetivo de avaliar a sobrevivência desta espécie exótica.

A experiência foi feita em dois locais distintos do estuário. Para a experiência foram feitas cinco caixas de rede *nylon* com malha de (140 μ m) com abertura por fecho *éclair*. Para proteção do hidrodinamismo e predadores de grande porte e para facilidade de monitorização, as cinco caixas de *nylon* foram ainda colocadas numa caixa de rede metálica com malha (0.6 cm) (Fig. 6).



Fig. 6 – A – Caixa de rede *nylon* (malha: 140 μ m); B- Caixa de rede metálica (malha 0.6mm) com as caixas de rede *nylon*.

Em cada uma das caixas de rede *nylon* foram colocados dez exemplares da espécie, adquiridos em lojas de pesca. Cada indivíduo foi previamente pesado e para cada caixa foi calculado um peso médio.

Introduziram-se ainda algas do género *Fucus sp.* em algumas das caixas para avaliar o seu efeito na sobrevivência.

A primeira experiência decorreu entre setembro de 2014 e março de 2015 com a colocação de um total de vinte caixas no Estuário do Douro ao abrigo das instalações da Douro Marina a uma profundidade que variou entre três e sete metros, em função da maré. As caixas foram monitorizadas e o número de indivíduos sobreviventes em cada réplica foi então verificado a cada sete dias.

Num período inicial a temperatura e a salinidade foram medidas a cada sete dias utilizando uma sonda YSI Model 85. Para obtenção de um perfil contínuo das alterações de salinidade e temperaturas locais foi colocada uma sonda DstCTD programada para fazer medições desses dois fatores em intervalos de uma hora.

No sentido de avaliar a sobrevivência num local onde o hidrodinamismo fosse menor, a experiência foi posteriormente mobilizada para a Reserva Natural Local do Estuário do Douro. Neste local a sonda DstCTD manteve-se a medir a temperatura e salinidade a cada hora e entre março de 2015 e junho de 2015 foram colocadas dez caixas no total.

2.2.4- Reprodução de *P. aibuhitensis*

Para avaliar a capacidade reprodutora de *P. aibuhitensis*, exemplares foram comprados no mercado de isco vivo e trazidos para o laboratório.

Os exemplares foram mantidos vivos em condições controladas de laboratório em cinco aquários (41 x 20 x 22 cm). Devido à dificuldade em diferenciar o sexo de cada indivíduo baseado em características externas, vinte adultos de *P. aibuhitensis* foram colocados em cada aquário para garantir a presença de machos e fêmeas.

Durante a experiência os parâmetros de salinidade e temperatura dos aquários foram mantidos estáveis com trocas de água do aquário por água fresca do estuário a fim de evitar a acumulação de metabolitos. Foram registadas semanalmente as medições do pH da água de cada um dos aquários, no entanto, por avaria do medidor de pH, estes valores não foram considerados nos resultados.

Foi recolhido sedimento da margem do Estuário do Douro e da lagoa da RNLED com os parâmetros de granulometria indicados na Tabela 1. O sedimento recolhido na margem do Estuário do Douro foi colocado em estufa a 60°C por um período de 48h com vista a matar outros possíveis organismos vivos (crustáceos, moluscos e outros anelídeos).

Tabela 1 – Composição granulométrica do sedimento utilizado nos aquários.

	Sedimento Margem	Sedimento Lagoa RNLED
Matéria Orgânica	1,55%	11,10%
Cascalho fino (>2mm)	14,97%	
Areia muito grossa (>1mm)	10,66%	
Areia grossa (>500µm)	15,47%	
Areia média (>250µm)	27,06%	
Areia fina (>100µm)	19,08%	
Areia muito fina (>50µm)	9,11%	
Silte + Argila (<50µm)	2,09%	88,90%

Os cinco aquários foram designados A, B, C, D e E. Nos aquários A, B, C, D e E foram colocados 3.5 kg de sedimento arenoso seco, perfazendo cerca de 5 centímetros de altura em cada aquário enquanto no aquário E foram colocados 5 kg de forma a perfazer os mesmos 5 centímetros de altura sedimentar. Em cada um dos cinco aquários foi instalada uma bomba BOYU Silent Air Pump SA-600 ligada a uma pedra difusora inserida num tubo de 6 centímetros de forma a garantir aeração e circulação de água constante (Fig. 7).

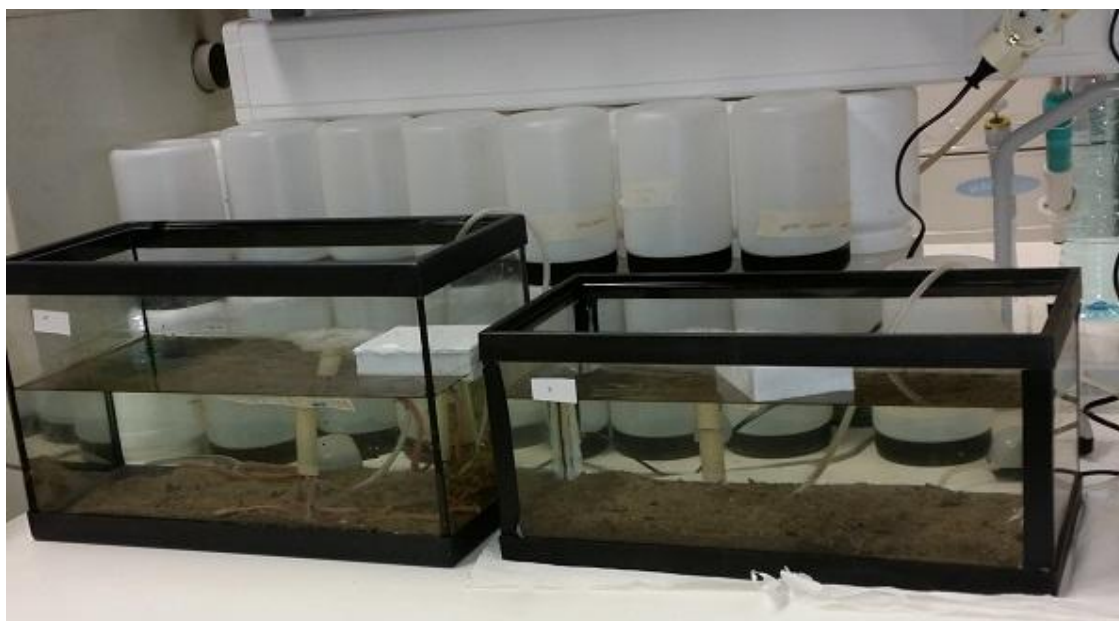


Fig. 7 – Montagem dos aquários com sistema de oxigenação e circulação de água.

Os aquários foram mantidos com um fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de obscuridade. Para os aquários A, C, D e E foi utilizada uma fina cobertura plástica reduzindo a luminosidade a fim de simular o efeito da turvação da água rica em algas e partículas suspensas do Estuário.

Os indivíduos de *P. aibuhitensis* nos aquários A, B e C foram alimentados duas vezes por semana com o máximo de 5 gramas de ração granulada para peixes (30% de proteína) enquanto os indivíduos nos aquários D e E foram alimentados duas vezes por semana com o máximo de 0.5 gramas de flocos Tubivit (46% de proteína; @Topical).

Para avaliar a existência de gâmetas nos indivíduos ao longo da experiência, periodicamente um indivíduo de cada aquário era retirado para ser sujeito a punção. Este procedimento consiste em perfurar o tecido entre os parápodes com o objetivo de retirar algum líquido celómico para observação. A fim de manter cada exemplar o mais imóvel possível, este era colocado numa caixa de Petri, com um pouco de água do aquário a que pertencia, durante meia hora em cima de um acumulador de gelo de modo a baixar o metabolismo e não ficar tão ativo (Olive & Garwood, 1981). Mantendo a caixa de Petri com uma temperatura baixa usando o acumulador de gelo, foi feita uma punção junto dos parápodes com o auxílio de uma agulha esterilizada. Com uma pipeta de Pasteur o conteúdo celómico libertado para a água ao redor do indivíduo era recolhido e colocado numa lâmina escavada. A preparação era observada ao microscópio ótico e os oócitos medidos usando o programa Leica Application Suit (LAS) Version 3.7.0 [Build:681]. Este procedimento foi repetido a cada duas semanas de forma a monitorizar o desenvolvimento oocitário dos exemplares utilizados na experiência.

Para cada indivíduo do sexo feminino, o tamanho médio dos oócitos foi calculado através da medição do diâmetro dos oócitos, num mínimo de dez oócitos por fêmea. Todas as medições foram realizadas em oócitos frescos.

Para averiguar eventuais reproduções, a água de cada aquário foi também monitorizada. Periodicamente a água dos vários aquários era recolhida em diferentes locais dentro de cada aquário com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. A água era então colocada numa lâmina escavada e observada ao microscópio ótico para averiguar a existência de larvas de *P. aibuhitensis*.

2.2.5- Análise numérica e estatística

Os diferentes dados obtidos com as duas experiências distintas foram tratados de forma separada a seguir detalhada.

2.2.5.1- Análise numérica e estatística da sobrevivência de *P. aibuhitensis*

Com recurso ao programa Microsoft Excel 2013 foi traçado o gráfico correspondente às taxas de sobrevivência dos exemplares em cada caixa da experiência de campo em função do tempo.

Através da observação destes mesmos gráficos, foi extrapolado um valor correspondente ao número de dias decorridos até que a população que cada réplica necessitou para atingir os 50% de mortalidade.

Com o Microsoft Excel 2013 foram ainda calculadas, para cada réplica, as médias dos pesos iniciais dos indivíduos em cada caixa e a salinidade e temperatura médias da água para o total de duração de cada réplica nos dois locais da experiência. Com os registos das medições feitas pelas sondas YSI85 e DstCTD foi ainda calculada a variância dos parâmetros Temperatura e Salinidade da água para cada uma das réplicas. Com estes valores foram traçados gráficos “Box and Whiskers” no programa Microsoft Excel 2013 com extensão XLStatistics.

2.2.5.2- Análise numérica e estatística da reprodução de *P. aibuhitensis*

As medições dos oócitos efetuadas com o programa Leica Application Suit (LAS) Version 3.7.0 [Build:681] foram submetidas a análise pelo programa Microsoft Excel 2013 com o qual foram calculados a média e o desvio padrão dos diâmetros dos oócitos de cada fêmea e posteriormente feita uma análise ANOVA para determinar se existem variações significativas no tamanho dos oócitos.

3- Resultados

3.1- Experiência de campo

3.1.1- Sobrevivência de *Perinereis aibuhitensis*

Desde Setembro de 2014 a Abril de 2015, as diferentes caixas com *Perinereis aibuhitensis* foram monitorizadas no local A (Douro Marina, Gaia) e o perfil de sobrevivência foi traçado para cada réplica tendo-se obtido um máximo de 70 dias de sobrevivência numa das réplicas. A média do tempo decorrido entre a colocação das réplicas no estuário e a ocorrência de uma sobrevivência de 0% foi de $25 \pm 13,32$ dias (Fig. 8).

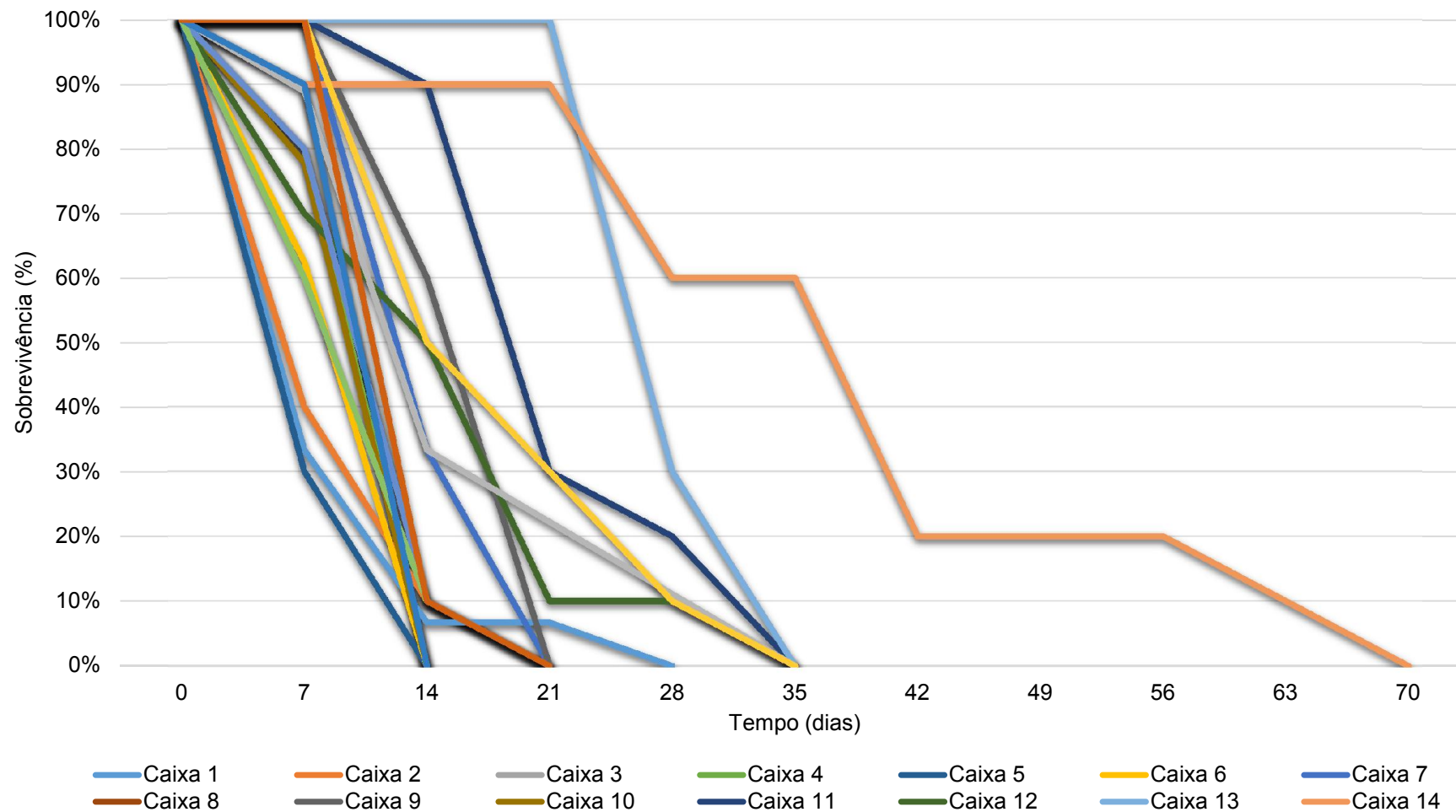


Fig. 8 – Sobrevivência de *P. aibuhitensis* entre setembro de 2014 e março de 2015 no local A (Douro Marina, Gaia) no Estuário do Douro.

Desde abril de 2015 a junho de 2015, as diferentes caixas com *P. aibuhitensis* foram monitorizadas no local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro) e o perfil de sobrevivência foi traçado para cada réplica tendo-se obtido um máximo de 42 dias de sobrevivência. A média do tempo decorrido entre a colocação das réplicas no estuário e a ocorrência de uma sobrevivência de 0% foi de $31 \pm 12,43$ dias (Fig. 9).

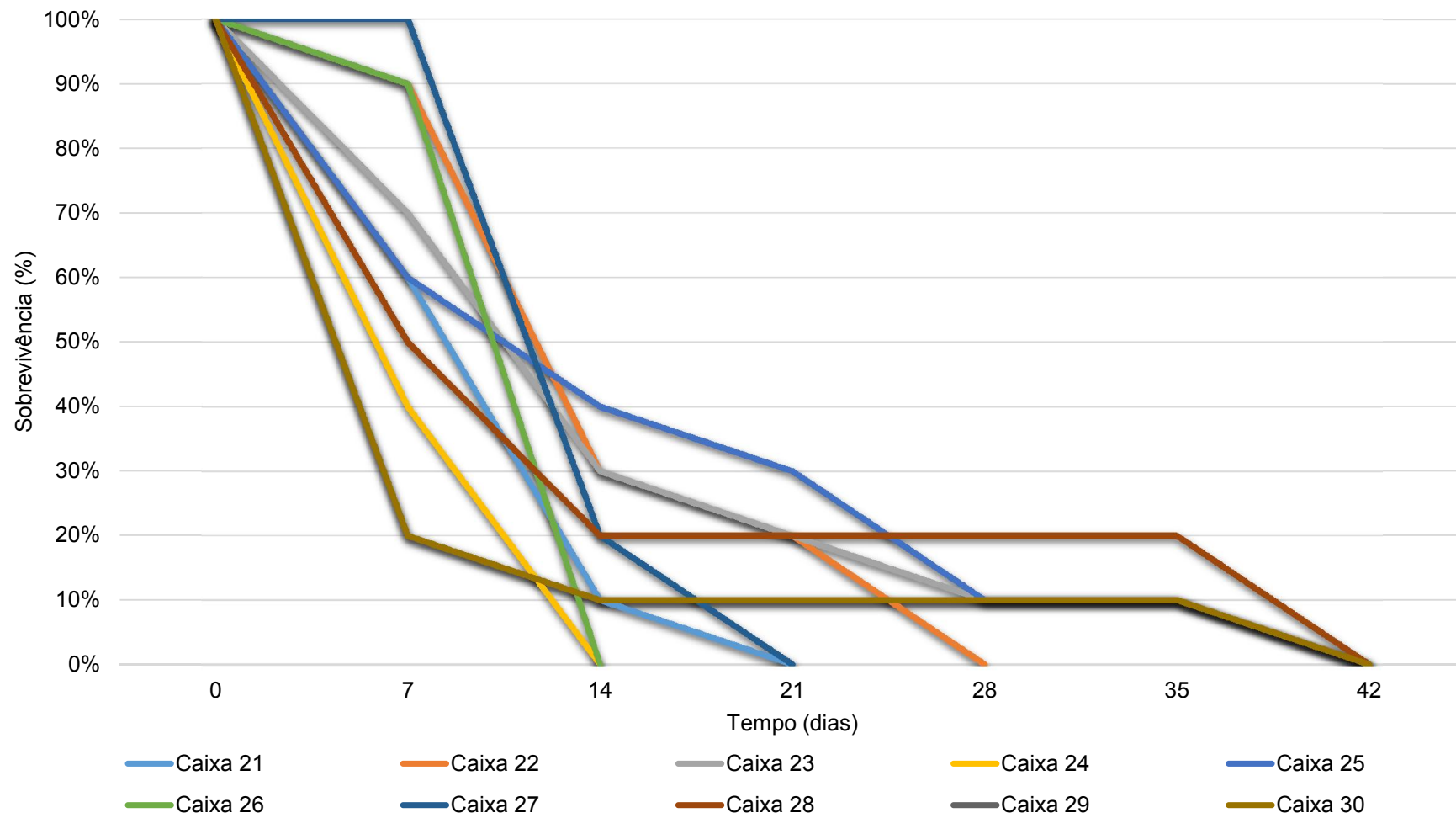


Fig. 9 – Sobrevivência de *P. aibuhitensis* entre abril de 2015 e junho de 2015 no local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro, Gaia) no Estuário do Douro.

3.1.2- Parâmetros das experiências de campo

Para análise estatística dos parâmetros da experiência, as diversas caixas com as mesmas datas de início de experiência, e portanto, sujeitas aos mesmos parâmetros de salinidade e temperatura, foram consideradas réplicas (Tabela 2).

Tabela 2 – Correspondências entre as caixas e o conjunto de réplicas a que pertence

Caixa	Réplicas	Caixa	Réplicas
Caixa 1	Ar1	Caixa 17	Ar7
Caixa 2		Caixa 18	
Caixa 3		Caixa 19	Ar8
Caixa 4	Ar2	Caixa 20	
Caixa 5		Caixa 21	Br1
Caixa 6		Caixa 22	
Caixa 7	Ar3	Caixa 23	
Caixa 8		Caixa 24	
Caixa 9		Caixa 25	
Caixa 10	Ar4	Caixa 26	Br2
Caixa 11		Caixa 27	
Caixa 12	Ar5	Caixa 28	Br3
Caixa 13		Caixa 29	
Caixa 14		Caixa 30	
Caixa 15	Ar6		
Caixa 16			

3.1.2.1- Sobrevivência e redução do número de indivíduos de *P. aibuhitensis* a

50%

Como referido anteriormente a média do tempo decorrido até registo de 0% de sobrevivência foi de $25 \pm 13,32$ dias no local A e de $31 \pm 12,43$ dias no local B. (Fig. 10). O teste ANOVA mostra que a sobrevivência dos vários conjuntos de réplicas para cada local não é significativamente diferente entre os locais A e B para um nível de significância de 5% ($p=0.2704$).

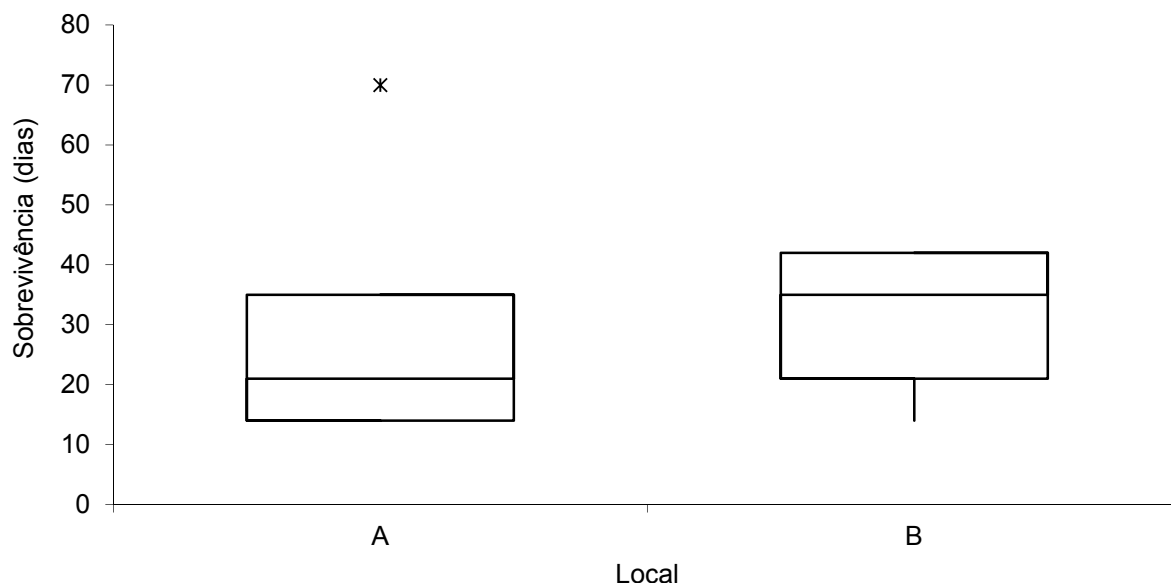


Fig. 10 – Box and whisker plot da sobrevivência total dos indivíduos de *P. aibuhitensis* entre os locais A (Douro Marina, Gaia) e B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro, Gaia).

O número médio de dias necessário para que, em cada local, o número de indivíduos de *P. aibuhitensis* fosse reduzido a 50% foi de 12.66 ± 7.45 dias no local A e 8.47 ± 2.79 dias no local B (Fig. 11).

A média de sobrevivência total dos indivíduos de *P. aibuhitensis* das várias réplicas não se mostra significativamente diferente entre locais, no entanto o tempo necessário para que os conjuntos de réplicas em cada local reduzam o número de indivíduos a 50% é significativamente diferente entre os dois locais para um nível de significância de 5% ($p=0.0354$).

Verifica-se também que apesar de o local B ter uma média de sobrevivência superior (Fig. 10), nesse local, o tempo necessário para que os seus conjuntos de réplicas reduzam o número de indivíduos a 50% é inferior (Fig. 11).

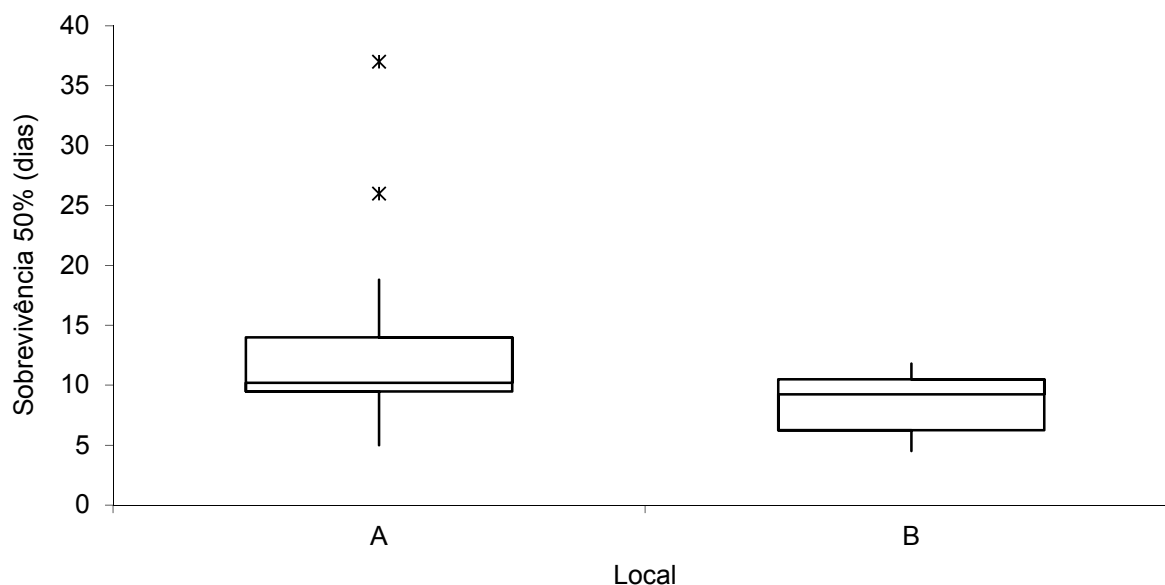


Fig. 11 – Box and whisker plot do tempo decorrido até redução do número de indivíduos de *P. aibuhitensis* a 50% entre os locais A (Douro Marina, Gaia) e B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro, Gaia).

Para os vários conjuntos de réplicas o teste ANOVA permite verificar que a sobrevivência total é significativamente diferente entre os conjuntos de réplicas para uma significância de 5% ($p=0.0119$) (Fig. 12).

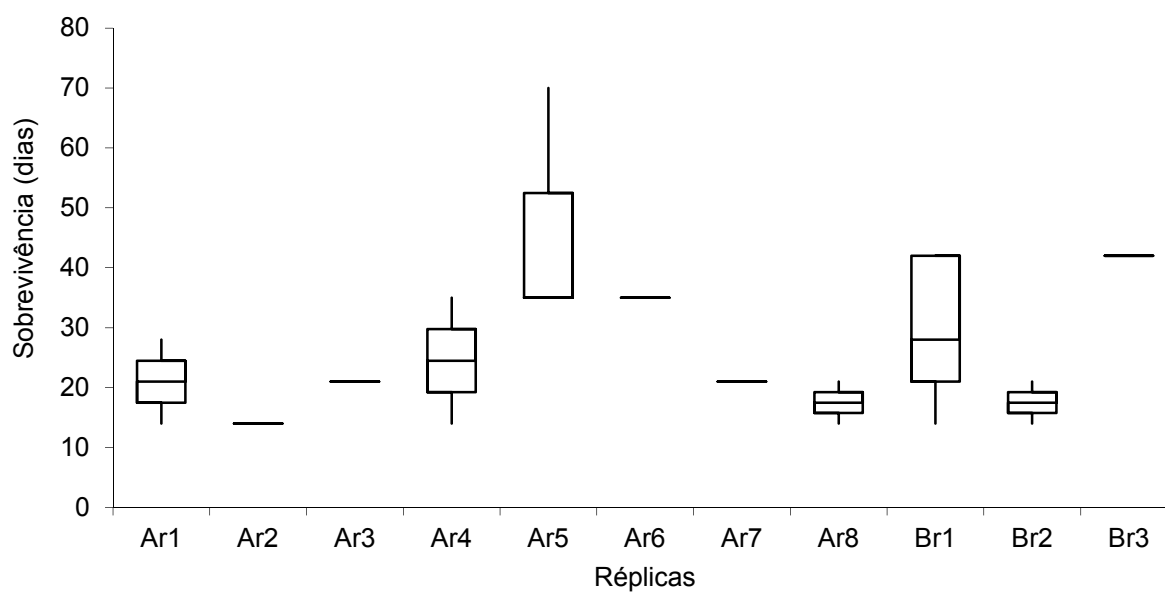


Fig. 12 – Box and whisker plot relativo ao tempo de sobrevivência dos indivíduos de *P. aibuhitensis* entre os diferentes conjuntos de réplicas.

Os conjuntos de réplicas Ar5, Ar6, Br1 e Br3 com os parâmetros de temperatura e salinidades médias da água descritos na tabela 3 apresentam-se com sobrevivência mais elevada, não se encontrando nenhum padrão ou tendência.

Tabela 3 – Parâmetros médios de temperatura e salinidade a que cada réplica esteve sujeita (Ar1 a Br3 ver tabela 2).

Réplicas	Temperatura média	Salinidade média
Ar1	18.2933	10.32
Ar2	18.1	22.7
Ar3	16.13	18.4
Ar4	14.25	17
Ar5	12.0733	13.9367
Ar6	10.64	14.46
Ar7	9.69	8.45
Ar8	10.565	11.525
Br1	18.32	5.218
Br2	19.61	8.465
Br3	22.17	12.56

O teste ANOVA mostra que o tempo decorrido até que o número de indivíduos em cada réplica se reduz a 50% é também significativamente diferente entre as várias réplicas para um nível de significância de 5% ($p=0.0028$) (Fig. 13).

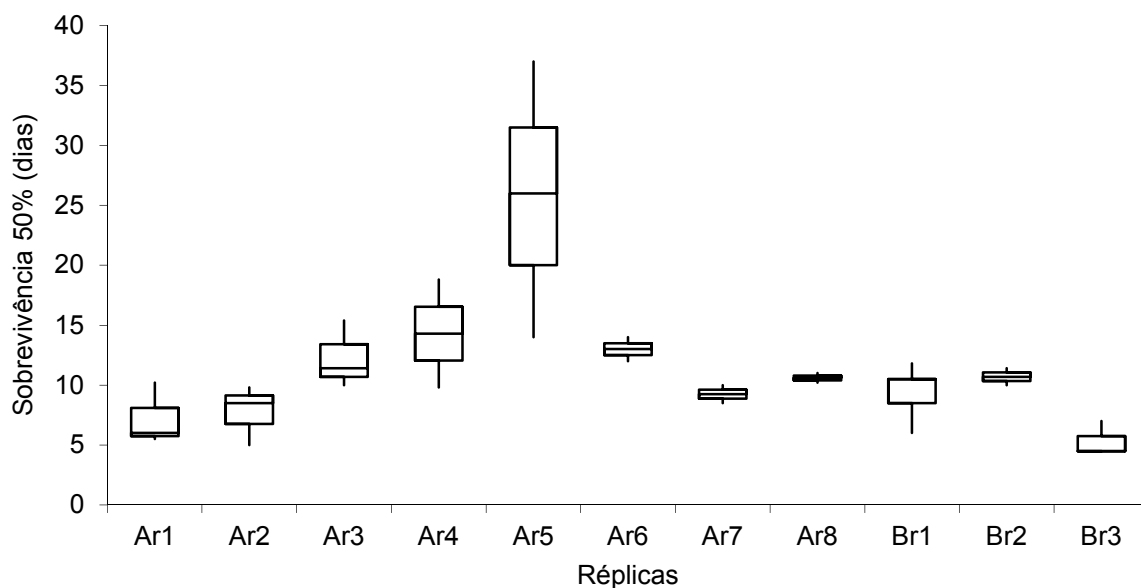


Fig. 13 – Box and whisker plot do tempo médio de redução da sobrevivência do número de indivíduos de *P. aibuhitensis* a 50% entre cada conjunto de réplicas.

O conjunto de réplicas Ar5 destaca-se pelo claro número elevado de dias que decorreram para que a sobrevivência do número de indivíduos fosse reduzida a 50%, tendo-se observado, para as condições ambientais a que este conjunto de réplicas esteve submetido, um valor baixo de temperatura dentro do intervalo de variação verificado e um elevado valor de salinidade dentro do intervalo de variação verificado (Tabela 3).

3.1.2.2- Influência dos parâmetros temperatura e salinidade na sobrevivência de *P. aibuhitensis*

A temperatura da água do Estuário do Douro em cada um dos locais da experiência foi monitorizada e analisada no sentido de avaliar a sua influência na sobrevivência de *P. aibuhitensis*.

A temperatura média da água do Estuário do Douro registada para o local A foi de $11.0 \pm 1,7^{\circ}\text{C}$, enquanto para o local B foi registada uma temperatura média da água de $19.3 \pm 3,8^{\circ}\text{C}$ (Fig. 14).

O teste ANOVA permite afirmar que a temperatura média verificada durante a duração de toda a experiência em cada um dos dois locais é significativamente diferente entre o local A e o local B para um nível de significância de 5% ($P < 0.0000$).

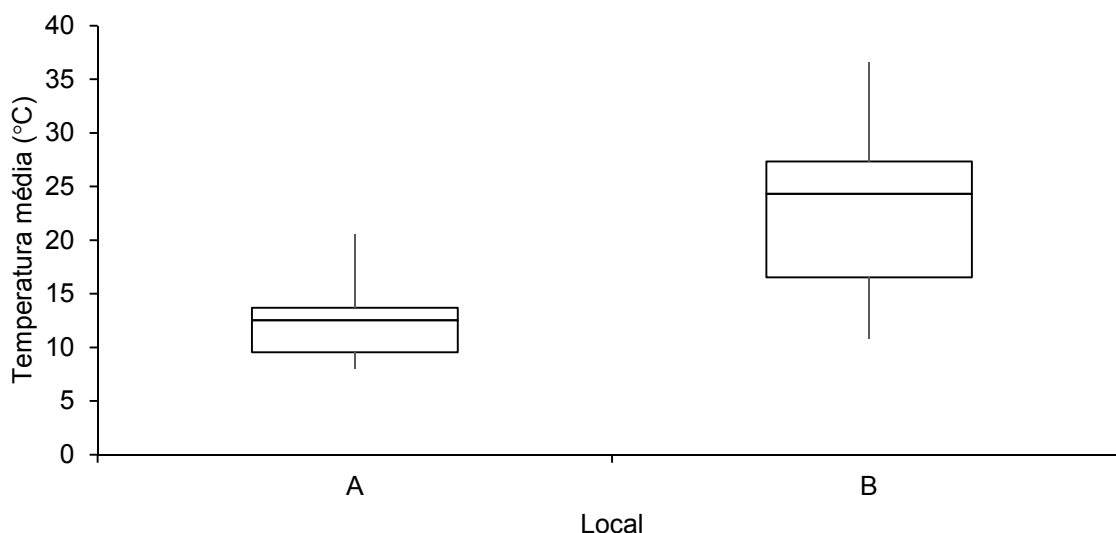


Fig. 14 – Box and whisker plot referente à temperatura média da água verificada ao longo da experiência para o local A (Douro Marina, Gaia) e para o local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro, Gaia).

Para o mesmo nível de significância (5%) verificam-se também diferenças significativas na temperatura a que as várias réplicas estiveram sujeitas ($p=8.2\text{E-}19$) (Fig. 15).

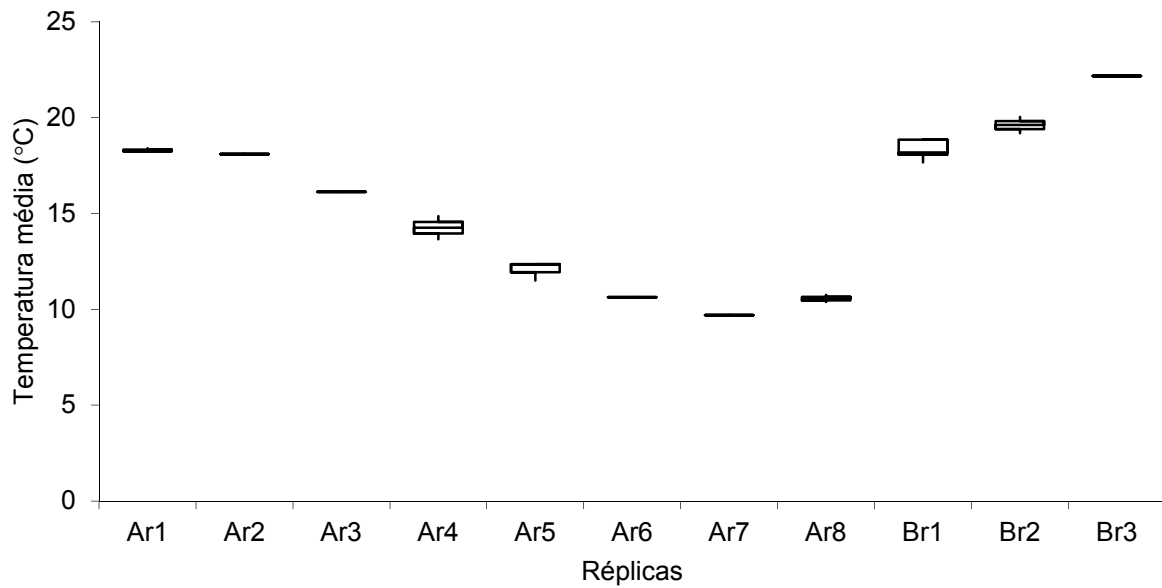


Fig. 15 – Box and whisker plot relativo à temperatura média da água a que cada conjunto de réplicas esteve sujeito.

Outro fator monitorizado e analisado no sentido de avaliar a sua influência na sobrevivência de *P. aibuhitensis* foi a salinidade da água.

As médias totais de salinidade registadas foram de 12.9 ± 12.0 PSU para o local A e de $6,8 \pm 6.6$ PSU para o local B (Fig. 16). Com o teste ANOVA foi possível verificar que existem diferenças significativas entre a salinidade média verificada durante a duração de toda a experiência em cada um dos dois locais para um nível de significância de 5% ($p=9,4E-71$).

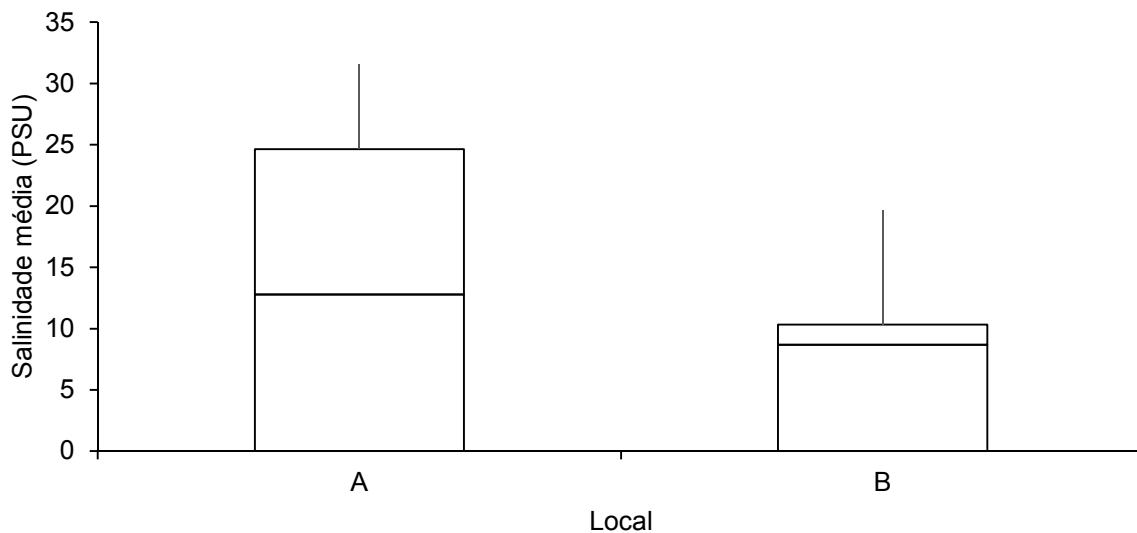


Fig. 16 – Box and whisker plot referente à salinidade média da água verificada ao longo da experiência para o local A (Douro Marina, Gaia) e para o local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro, Gaia).

Existem também diferenças significativas entre a salinidade das várias réplicas para um nível de significância de 5% ($p=1.2E-08$) (Fig. 17).

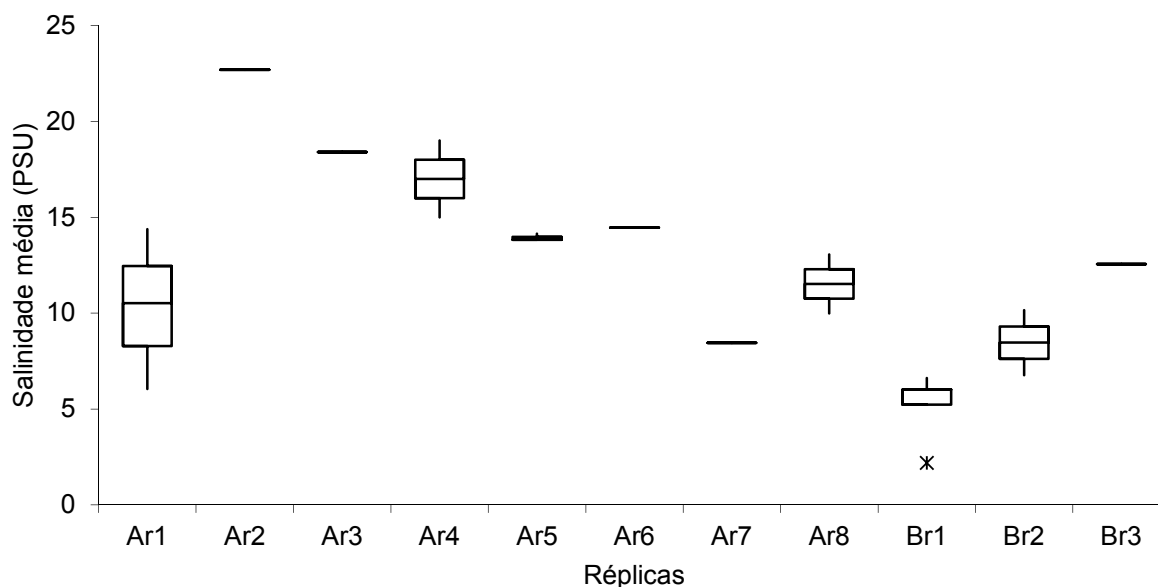


Fig. 17 – Box and whisker plot relativo à salinidade média da água a que cada conjunto de réplicas esteve sujeito.

A análise da correlação dos parâmetros temperatura e salinidade da água com a sobrevivência e tempo decorrido até redução do número de indivíduos de *P. aibuhitensis* a 50% está descrita na tabela 4, mostrando que, no geral, a correlação entre os parâmetros é muito baixa, não se detetando influência dessas variáveis na sobrevivência.

Tabela 4 – Valores do coeficiente de correlação de Pearson entre os parâmetros da experiência de campo.

	Sobrevivência total (dias)	Sobrevivência 50% (dias)	Temperatura média total	Salinidade média total
Sobrevivência total (dias)	-	-	-	-
Sobrevivência 50% (dias)	0,544281	-	-	-
Temperatura média total	-0,01658	-0,48717	-	-
Salinidade média total	-0,10768	0,099966	-0,08121	-

3.1.2.3- Influência do peso inicial na sobrevivência de *P. aibuhitensis*

O peso médio inicial dos indivíduos de *P. aibuhitensis* colocados no local A foi de $1,93 \pm 0g$, enquanto no local B foi de $1,94 \pm 0g$ (Fig. 18). Este parâmetro não mostra diferenças significativas entre o local A e B, para um nível de significância de 5% ($p= 0.9337$).

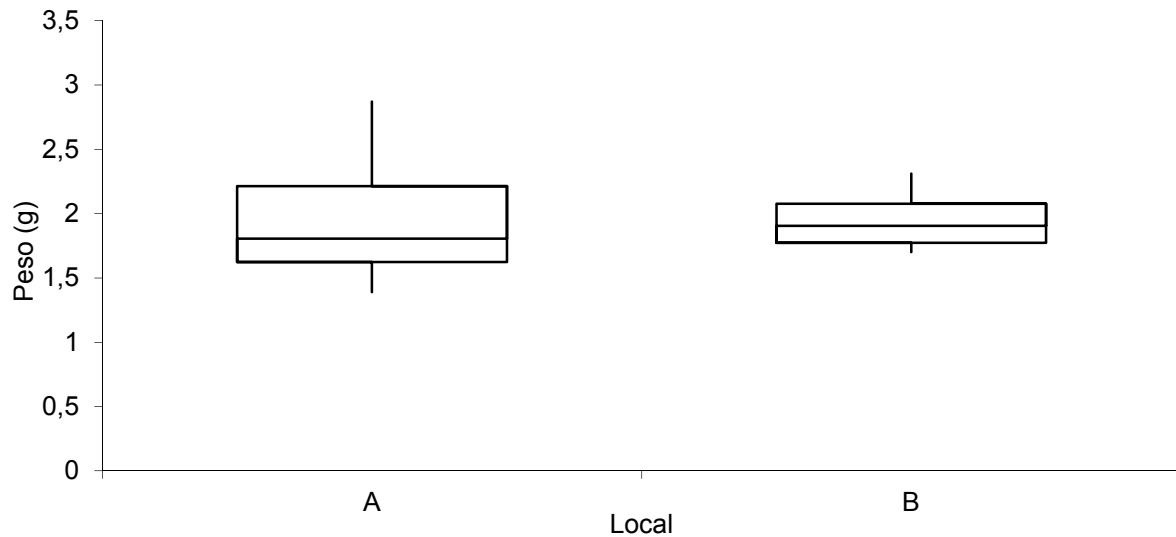


Fig. 18 – Box and whisker plot da variável peso médio inicial dos indivíduos de *P. aibuhitensis* utilizados nos dois locais da experiência.

Apesar de na sua totalidade o peso médio inicial de *P. aibuhitensis* nos conjuntos de réplicas não ser significativamente diferente entre os locais A e B da experiência de campo, este parâmetro é significativamente diferente entre as várias réplicas para 5% de nível de significância ($p=0.0001$) (Fig. 19).

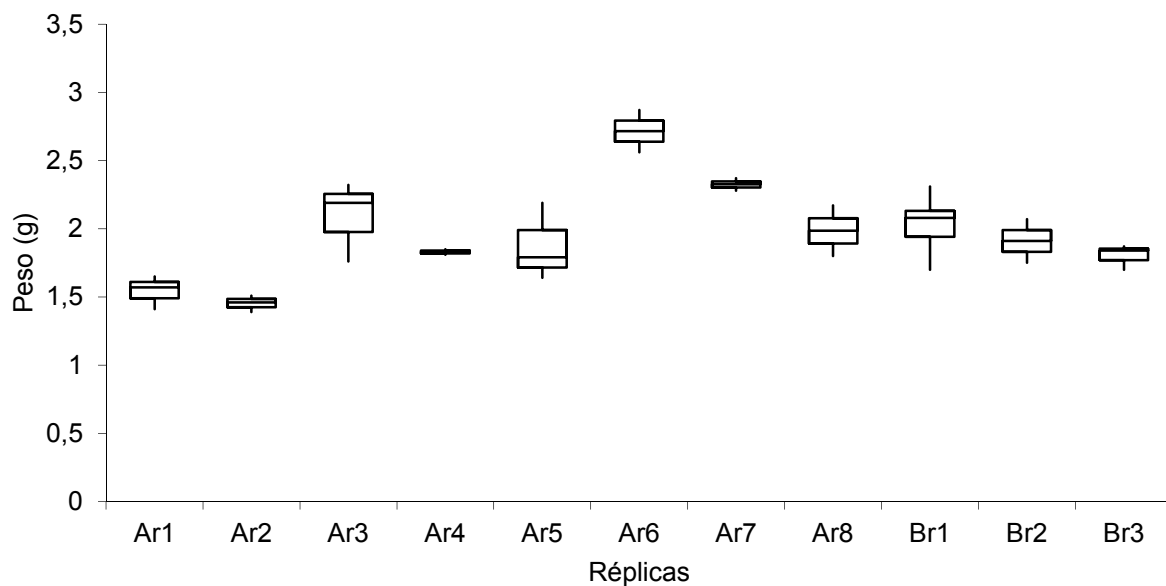


Fig. 19 – Box and whisker plot relativo ao peso inicial dos indivíduos de *P. aibuhitensis* utilizados em cada conjunto de réplicas.

A análise da correlação do peso médio inicial dos indivíduos de *P. aibuhitensis* utilizados na experiência com a sobrevivência e tempo decorrido até redução do número de indivíduos de *P. aibuhitensis* a 50% está descrita na tabela 5, mostrando que, no geral, a correlação entre os parâmetros é muito baixa, não se detetando influência dessa variável na sobrevivência.

Tabela 5 – Valores do coeficiente de correlação de Pearson entre os parâmetros da experiência de campo.

	Peso (g)
Sobrevivência total (dias)	0,177616
Sobrevivência 50% (dias)	0,102915

3.1.2.4- Influência das algas na sobrevivência de *P. aibuhitensis*

Fez-se a introdução de algas (*Fucus sp.*) em algumas das caixas no sentido de avaliar a sua influência na sobrevivência de *P. aibuhitensis*.

Nas caixas onde foram introduzidas algas (*Fucus sp.*) a média da sobrevivência foi de 34.0 ± 14.3 dias enquanto nas caixas onde não foram introduzidas algas a média de sobrevivência foi de 21.0 ± 9.0 dias.

A sobrevivência dos indivíduos de *P. aibuhitensis* nas caixas com algas é significativamente maior em relação à sobrevivência nas caixas que não tiveram acréscimo de algas para um nível de significância de 5% ($p=0.0129$) (Fig. 20).

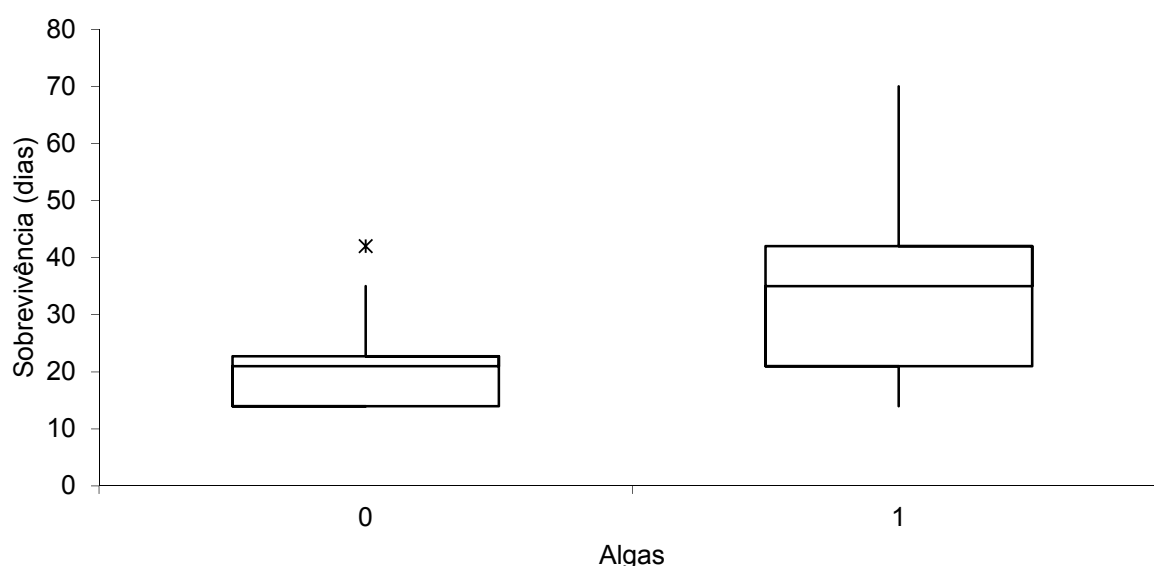


Fig. 20 – Box and whisker plot do tempo médio de sobrevivência total dos indivíduos de *Perinereis aibuhitensis* entre caixas com algas (*Fucus sp.*) (1) e sem algas (0).

Nas caixas onde foram introduzidas algas (*Fucus sp.*) a média do tempo decorrido até que o número de indivíduos de *P. aibuhitensis* se reduza a 50% foi de 10.8 ± 8.0 dias enquanto nas caixas onde não foram introduzidas algas a média de sobrevivência foi de 10.4 ± 5.0 dias (Fig. 21).

Como verificado acima a presença de algas influencia o tempo total de sobrevivência de *Perinereis aibuhitensis*. Contudo, o tempo decorrido até se atingir o valor de 50% sobrevivência mostrou-se um parâmetro não influenciado pela presença ou ausência de algas, pois os resultados do teste ANOVA mostram que não existem diferenças significativas no tempo decorrido até que as caixas com algas e sem algas reduzam o número de indivíduos a 50% para um nível de significância de 5% ($p=0.4539$).

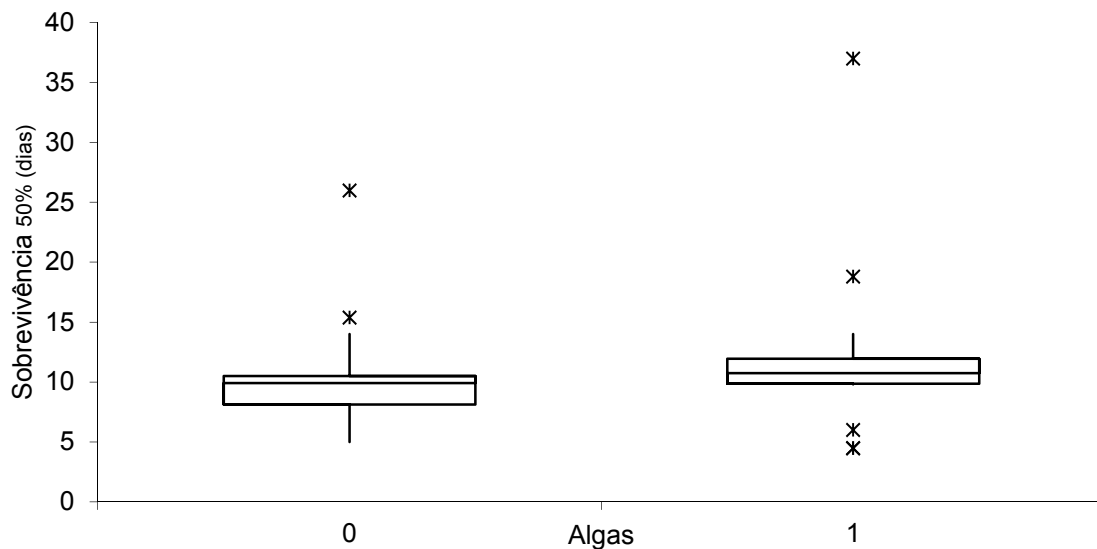


Fig. 21 – Box and whisker plot relativo ao tempo médio decorrido até redução do número de indivíduos de *P. aibuhitensis* a 50% entre caixas com algas (*Fucus sp.*) (1) e sem algas (0).

3.2- Experiência de laboratório

Em laboratório foram reproduzidos parâmetros do Estuário do Douro em cinco diferentes aquários com vista a avaliar a sobrevivência e uma eventual reprodução. Os parâmetros de cada um dos aquários (A, B, C, D e E) estão descritos nas figuras 22, 23, 24, 25 e 26. Ao fim de 126 dias de experiência, a salinidade do aquário A foi aumentada para induzir choque salino nos indivíduos (Fig. 22).

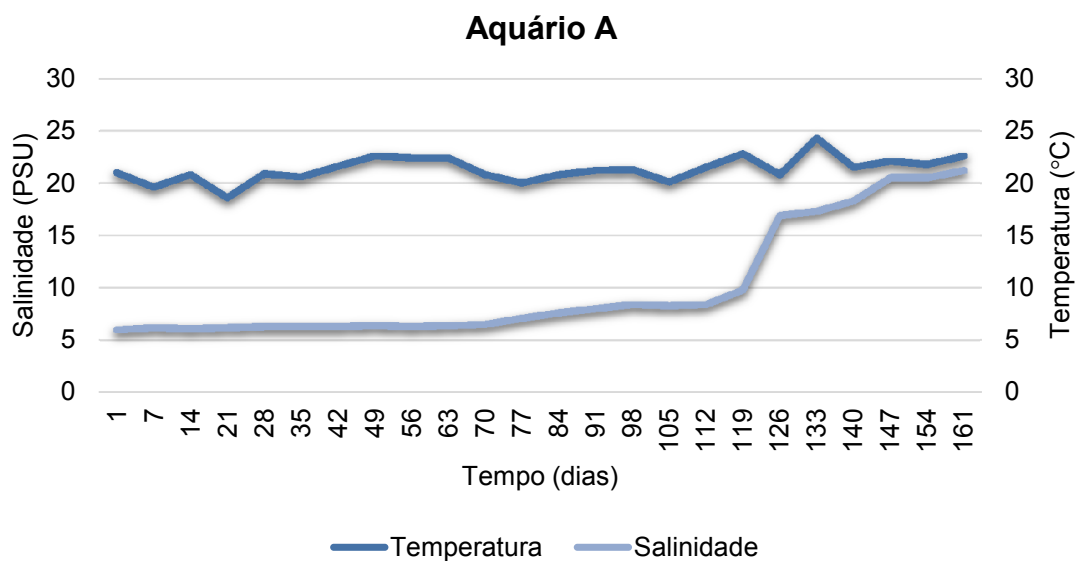


Fig. 22 – Temperatura e salinidade mantidos no Aquário A ao longo da experiência no laboratório.

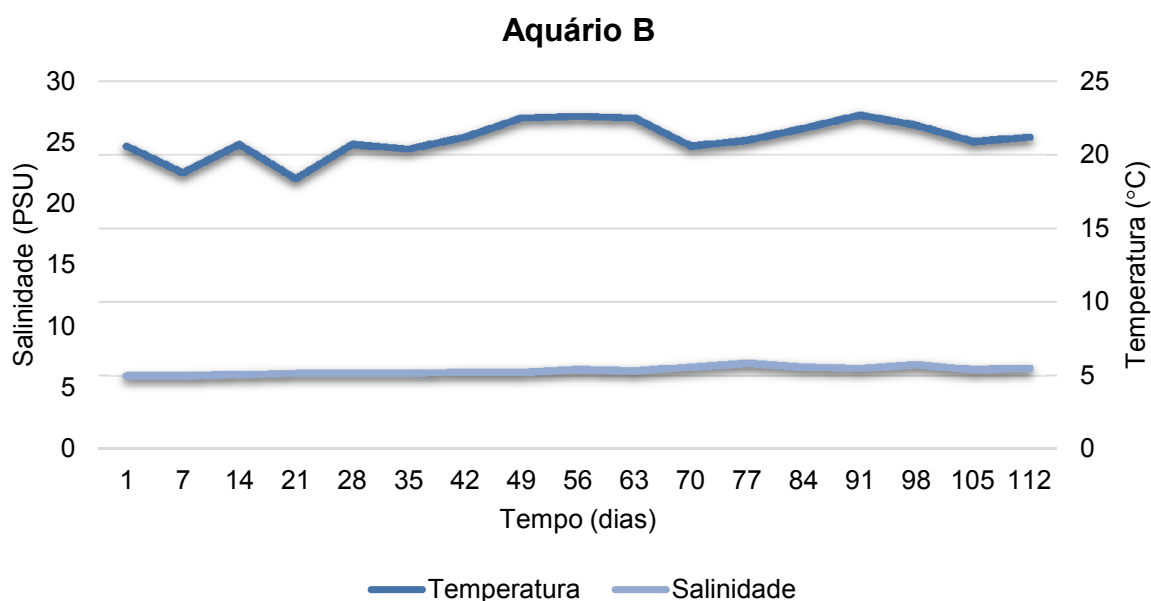


Fig. 23 – Temperatura e salinidade mantidos no Aquário B ao longo da experiência de laboratório.

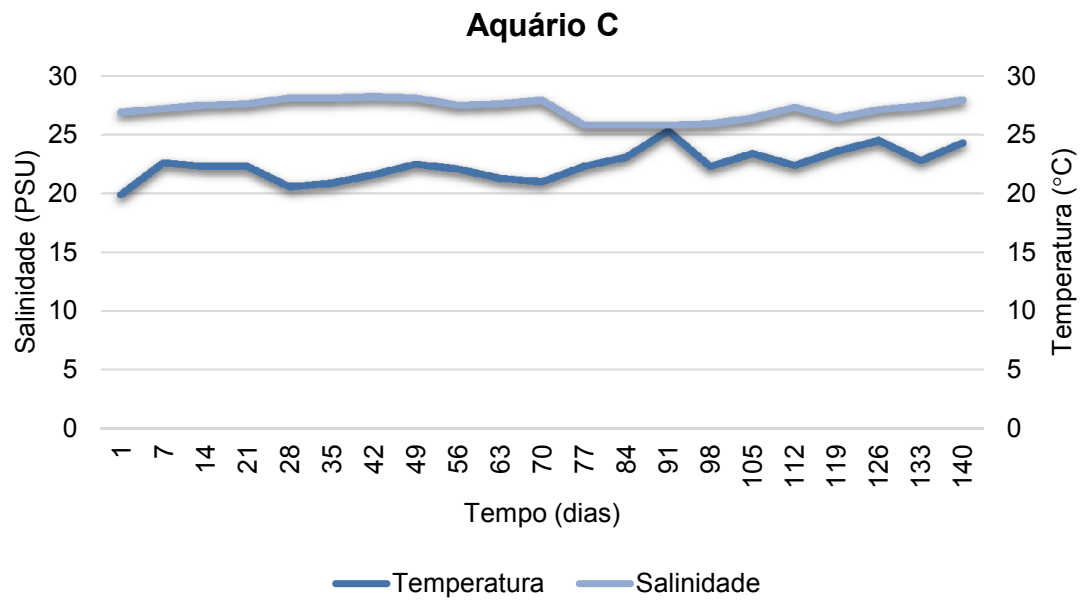


Fig. 24 – Temperatura e salinidade mantidos no Aquário C ao longo da experiência de laboratório.

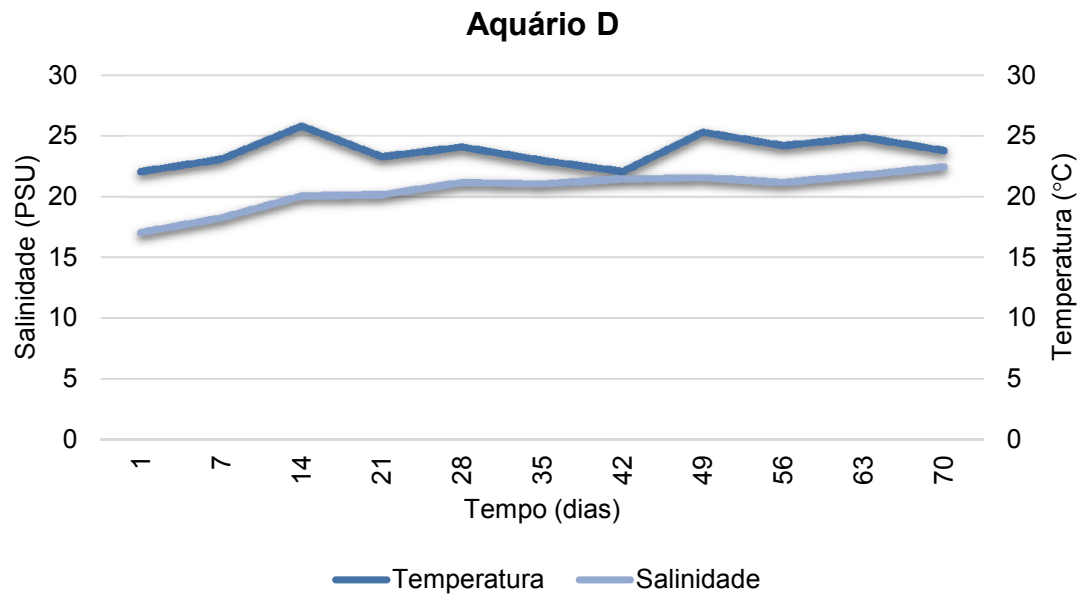


Fig. 25 – Temperatura e salinidade mantidos no Aquário D ao longo da experiência de laboratório.

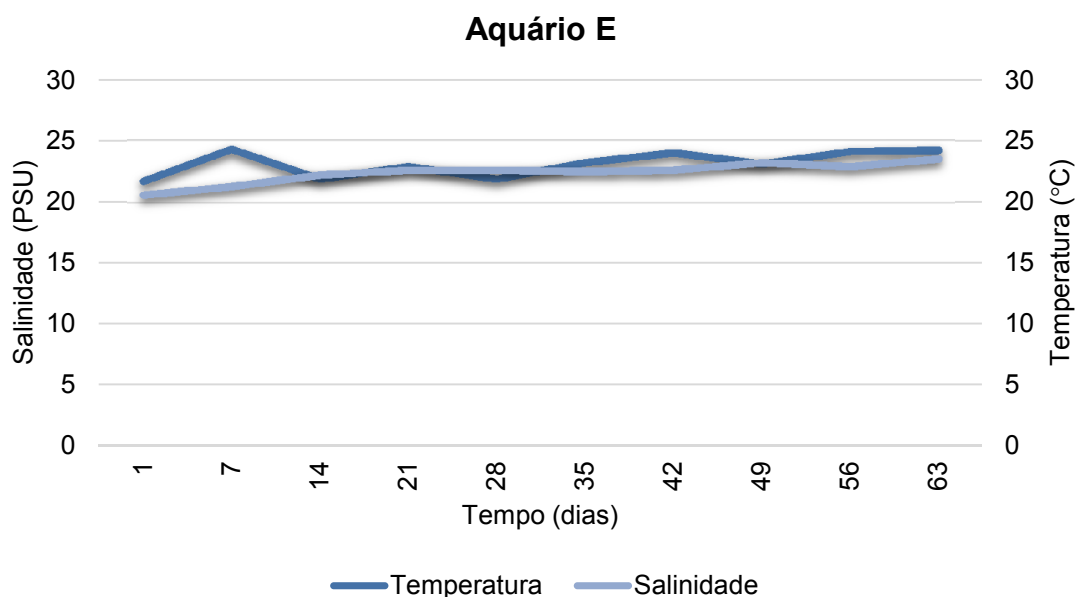


Fig. 26 – Temperatura e salinidade mantidos no Aquário E ao longo da experiência de laboratório.

As variações dos parâmetros que se mantiveram nos diferentes aquários situam-se dentro da gama de variação natural do Estuário cuja salinidade varia desde os 0 aos 35 PSU (Vieira & Bordalo, 2000) e o intervalo de temperatura se situa entre os 7.2 e os 25.4°C (Azevedo *et al.*, 2008).

3.2.1- Sobrevivência de *P. aibuhitensis* nos aquários

A sobrevivência dos indivíduos de *P. aibuhitensis* em condições controladas no laboratório apresenta-se claramente superior à sobrevivência registada na experiência de campo (Fig. 27).

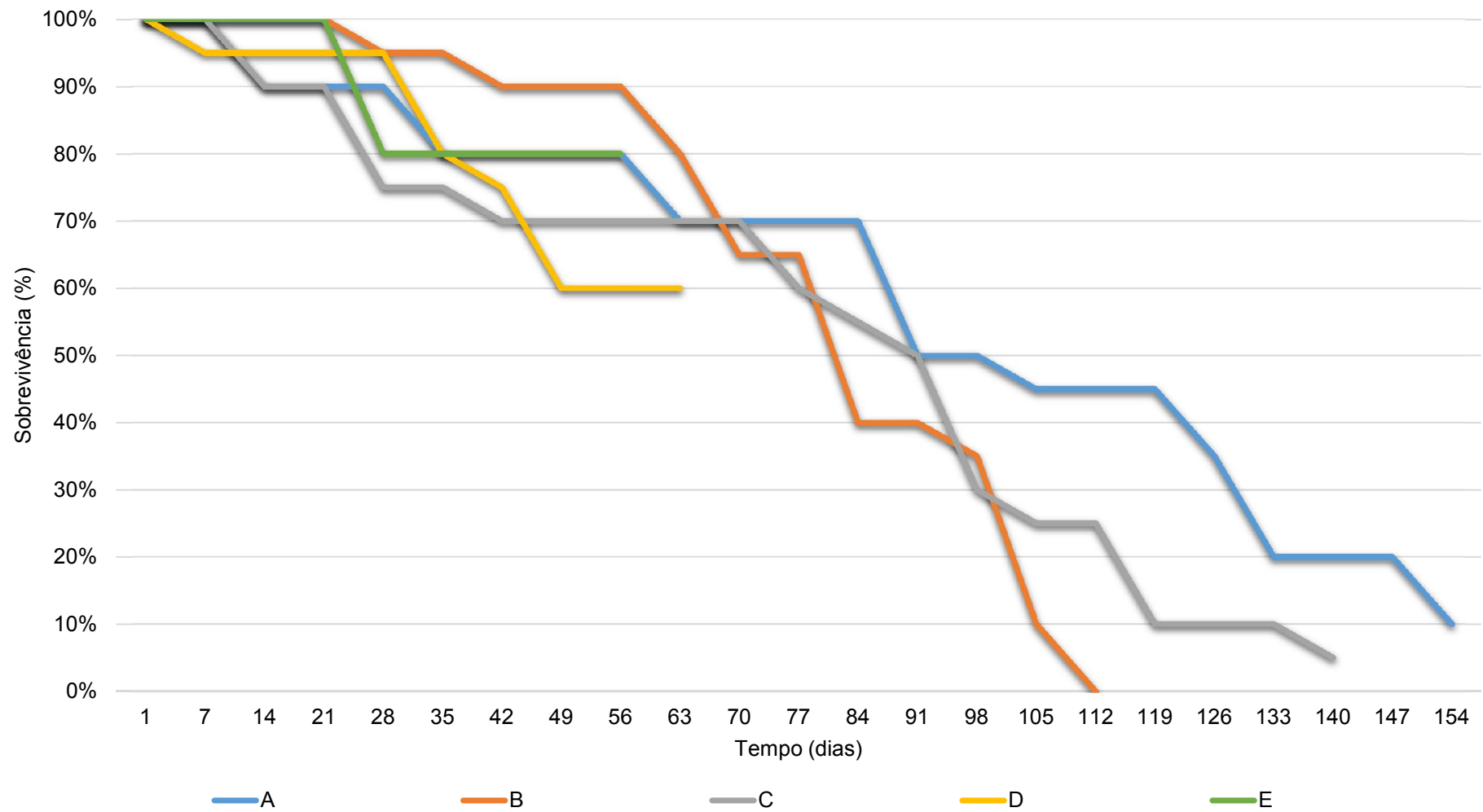


Fig. 27 – Sobrevivência de *P. aibuhitensis* entre janeiro de 2015 e julho de 2015 nos aquários.

3.2.2- Reprodução de *P. aibuhitensis* nos aquários

Durante o período de duração da experiência de laboratório, os oócitos de *P. aibuhitensis* foram medidos em diferentes indivíduos dos diferentes aquários.

Na figura 28 é possível observar o tamanho médio dos oócitos de cada fêmea nos diferentes aquários tendo este parâmetro variado entre 243,921 μ m e 55,084 μ m. O teste ANOVA mostra que existem diferenças significativas nos diâmetros dos oócitos entre as fêmeas dos aquários para um nível de significância de 5% ($p < 0.0000$).

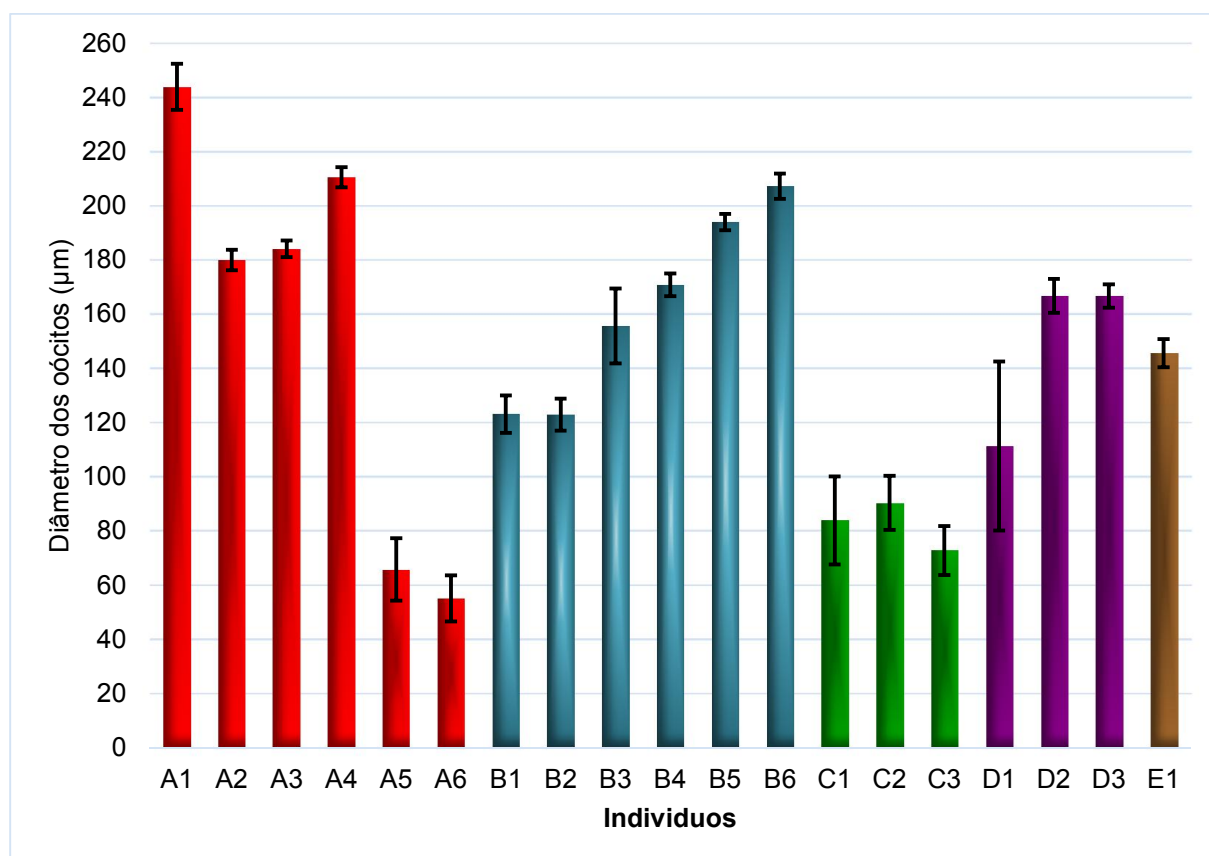


Fig. 28 – Diâmetro médio e desvio padrão dos oócitos das fêmeas de *P. aibuhitensis* de cada aquário.

Na figura 28 observa-se uma diferença no diâmetro dos oócitos de diferentes indivíduos provenientes de diferentes aquários. Acresce que B6 e D3 são oócitos retirados de indivíduos em forma epitoca.

Após as observações da água foram encontradas larvas trocóforas (Fig. 28) apenas no aquário E onde posteriormente foram observados juvenis ativos (Fig. 29). O que distingue o aquário E dos restantes é como descrito na metodologia a presença de sedimento com grão $< 50\mu$ m constituído por 88.9% de argila e silte e 11.1% de matéria orgânica.

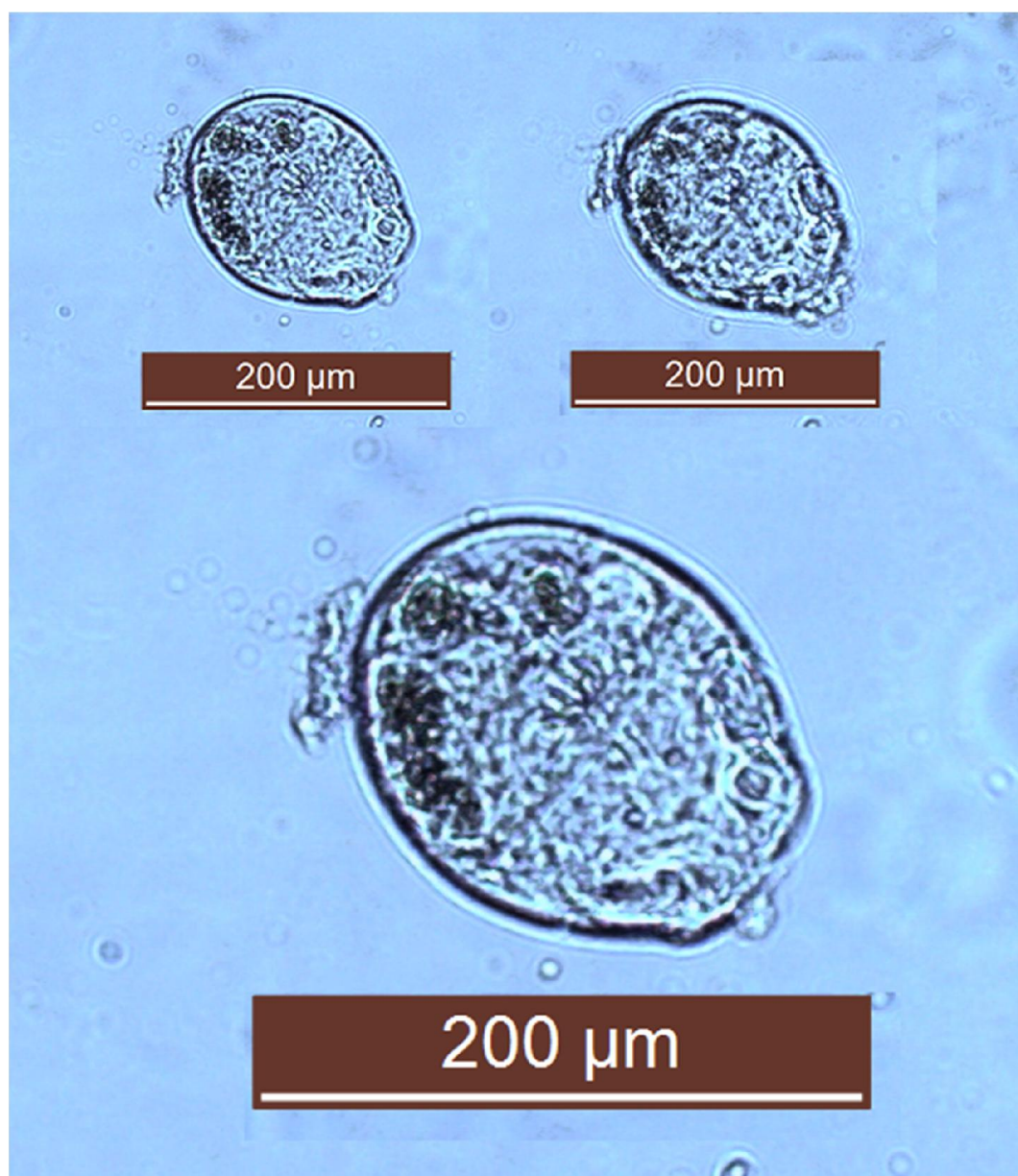


Fig. 29 – Larva trocófora de *P. aibuhitensis* encontrada na água no aquário E.

Após 14 dias da verificação de existência de larvas no aquário E foram observados vários juvenis desenvolvidos a consumir ativamente a ração fornecida (Fig. 30).

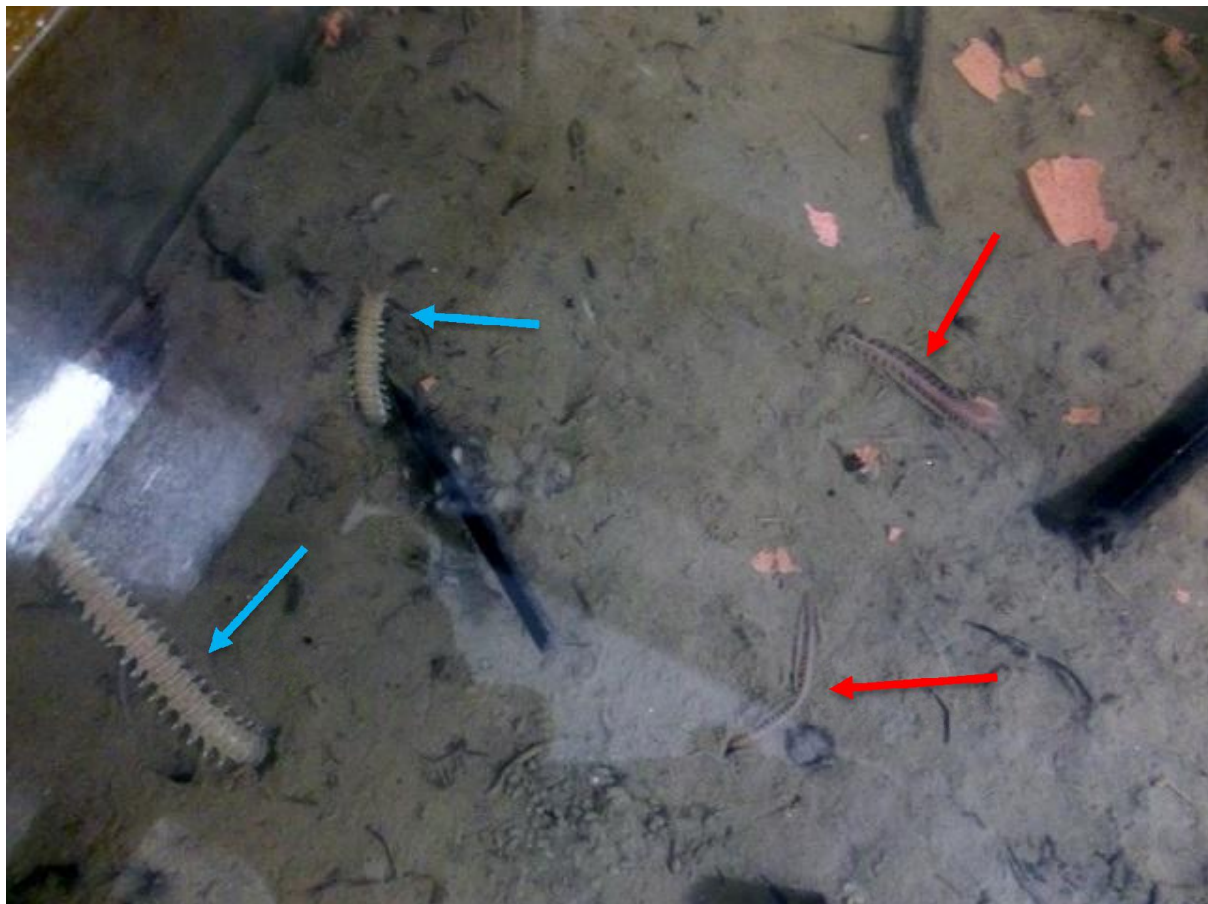


Fig. 30 – Juvenis desenvolvidos no aquário E ( Adultos de *P. aibuhitensis*;  Juvenis de *P. aibuhitensis*).

4. Discussão de resultados

4.1 - A espécie *Perinereis aibuhitensis*

A espécie *Perinereis aibuhitensis* é uma espécie-alvo de vários estudos, no entanto, poucos são os estudos disponibilizados em inglês. Esta falta de artigos e informações traduzidas sobre a ecologia desta espécie levaram-nos a comparar e extrapolar essas mesmas informações de outras espécies do mesmo género.

Dúvidas surgiram aquando desta procura por informações. Alguns outros estudos indicam ser *Perinereis linea* a espécie importada e comercializada em Portugal. Assim sendo, com o auxílio do estudo de Árias (Arias *et al*, 2013) que compara as duas espécies foi possível estabelecer que a nossa espécie de estudo era de facto *Perinereis aibuhitensis* (Fig. 31).

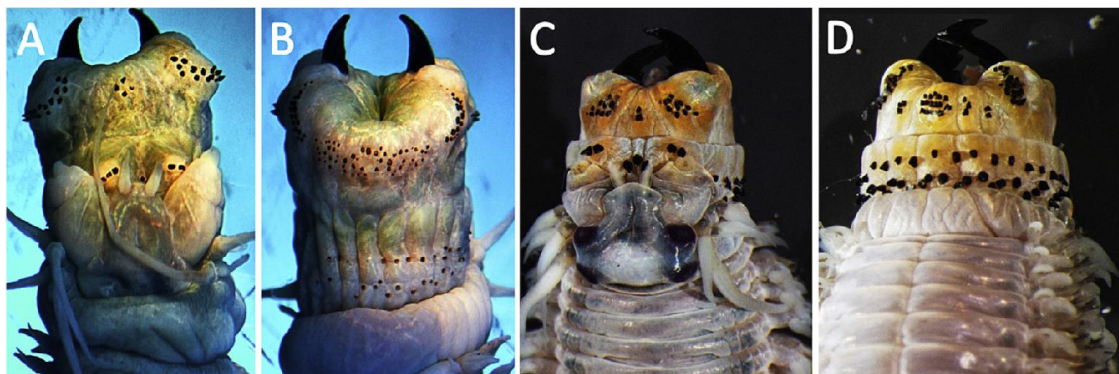


Fig. 31 – A – vista dorsal da parte anterior de *Perinereis linea*; B – vista ventral da parte anterior de *Perinereis linea*; C – vista dorsal da parte anterior de *Perinereis aibuhitensis*; D – vista ventral da parte anterior de *Perinereis aibuhitensis* (modificado de Árias *et al*, 2013).

4.2 - Sobrevivência de *Perinereis aibuhitensis*

A experiência de campo, com o objetivo primordial de avaliar a sobrevivência de exemplares de *Perinereis aibuhitensis*, teve como resultado uma taxa de sobrevivência muito baixa. Não foi possível comparar o resultado por nós obtido com outros trabalhos por não ter sido encontrada informação a esse respeito. Choi & Lee, 1971, relataram sobrevivências instantâneas entre 0,7 e 0,8 para coortes mantidas em condições ótimas, portanto muito diferentes daquelas que verificamos no estuário e nos aquários.

Os fatores peso, temperatura e salinidade da água foram analisados para verificar a influência que cada um exerceu sobre a baixa sobrevivência, mostrando não serem fatores

determinantes na sobrevivência desta espécie no Estuário do Douro, já a presença/ausência de algas mostrou-se condicionante da sobrevivência de *Perinereis aibuhitensis*.

A média de tempo necessário até o desaparecimento de todos os indivíduos de *Perinereis aibuhitensis* não apresenta diferenças entre os locais A (Douro Marina) e B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro) da experiência de campo. No entanto o tempo decorrido até que se registasse uma redução de 50% no número de indivíduos de *Perinereis aibuhitensis* foi mais baixo no local B quando comparado ao local A. As diferentes condições ambientais nos dois locais seriam suficientes para induzir diferentes mortalidades nos indivíduos de *Perinereis aibuhitensis*.

A temperatura da água nos dois locais é significativamente diferente. O registo contínuo da temperatura da água durante toda a experiência permite observar claramente uma curva característica da descida de temperatura da água a que as réplicas do local A (Douro Marina) estiveram sujeitas, mostrando temperaturas típicas dos meses de outono/inverno. Diferencia-se ainda uma subida de temperatura da água nas réplicas colocadas no local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro), com temperaturas de primavera/verão (Fig. 15). Apesar de as medições de temperatura da água do local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro) terem sido registadas entre março e junho, portanto, primavera, as temperaturas tão elevadas devem-se à sua localização mais salvaguardada dos efeitos da maré e do hidrodinamismo.

A salinidade da água difere significativamente entre ambos locais e que apresenta elevada variabilidade entre as diferentes réplicas. O registo das medições contínuas da salinidade da água a que a experiência de campo esteve sujeita mostra variações de salinidade que apresentam uma clara variabilidade, com tendência decrescente no local A (Douro Marina) devido à sazonalidade. As chuvas e aberturas das barragens explicam esta tendência decrescente. A colocação no local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro) em período primaveril explica a tendência crescente da salinidade a que as réplicas estiveram sujeitas (Fig. 17).

O peso inicial é, em média, semelhante entre as réplicas utilizadas no local A (Douro Marina) e no local B (Reserva Natural Local do Estuário do Douro), no entanto este fator varia entre as diferentes réplicas, apresentando uma baixa correlação com a sobrevivência e tempo de redução dos indivíduos de *Perinereis aibuhitensis* a 50%.

A elevada variabilidade interna nos dados pode ter condicionado a análise e apresentar como não significativa alguma relação que afinal poderá existir.

No caso da presença/ausência de algas (*Fucus sp.*), o diferencial de mortalidade verificado poderá ser devido: à existência de biofilme nas algas, contribuindo assim para um aumento

da quantidade de alimento, e/ou a proteção que as algas conferem em relação ao elevado hidrodinamismo no local A (Douro Marina).

Os fatores peso, presença/ausência de algas, temperatura e salinidade da água foram analisados para verificar a influência que cada um desses fatores exerceu sobre a baixa sobrevivência desta espécie no Estuário do Douro, apresentando, de um modo geral, correlações muito baixas com a sobrevivência, mostrando que cada fator, por si só, não é determinante na sobrevivência desta espécie no Estuário do Douro. Não foi efetuada uma análise multivariada que poderia ter revelado que a combinação de dois ou mais fatores podem influenciar a sobrevivência desta espécie. Esta análise não foi efetuada devido a inconsistência nos dados de base, o que poderia ter sido, eventualmente, evitado se tivéssemos duplicado ou triplicado as réplicas.

Os dados obtidos com a experiência de campo mostram-nos que existe uma taxa de sobrevivência muito baixa de *Perinereis aibuhitensis* no Estuário do Douro o que leva a crer que a probabilidade de estabelecimento de uma população e invasão do ecossistema é também muito baixa. Esta conclusão é, de certa forma, suportada pelo estudo de Martins (Martins *et al.*, 2013) que, em recentes observações da biodiversidade das zonas costeiras portuguesas, incluindo a zona costeira do Porto, não detetou a espécie *Perinereis aibuhitensis*. A Reserva Natural Local do Estuário do Douro teve também um levantamento das espécies passíveis de serem utilizadas como isco. Este estudo de Carvalho (Carvalho *et al.*, 2013) também não detetou a presença de *Perinereis aibuhitensis*.

4.3 - Reprodução de *Perinereis aibuhitensis*

A experiência de laboratório, com o objetivo primordial de avaliar a existência de reprodução de *Perinereis aibuhitensis* em condições controladas com os parâmetros de salinidade e temperatura da água dentro do intervalo registado do Estuário do Douro, teve como resultado a observação de larvas trocóforas e posteriormente juvenis de *Perinereis aibuhitensis*.

Os parâmetros de temperatura, salinidade e luminosidade foram mantidos estáveis nos aquários B, C, D e E. No aquário A a salinidade foi aumentada aos 126 dias de experiência de forma a induzir um choque salino nos indivíduos com o intuito de verificar se este choque induziria uma maturação gamética e/ou libertação dos gâmetas para a água. Verificou-se uma grande variabilidade no diâmetro dos oócitos entre fêmeas, mas o choque salino não desencadeou uma libertação de gâmetas para a água. As fêmeas do aquário A cujos óvulos foram medidos após o aumento de salinidade mostraram óvulos com diâmetro menor.

Não foram encontrados gâmetas na água aquando das observações da mesma, no entanto foram observadas larvas trocóforas apenas no aquário E. Após 14 dias dessa observação foram detetados, no mesmo aquário, juvenis de *Perinereis aibuhitensis* a consumir o alimento fornecido. Pela taxa de crescimento dada por Choi & Lee, 1997, os primeiros juvenis observados teriam no máximo 13 dias de idade. Existe um intervalo de tempo entre o seu nascimento e a colocação do sedimento no aquário que sugere que estes indivíduos não tenham sido transportados com o sedimento, mas sim serem provenientes da reprodução dos adultos do aquário. A idade dos juvenis tem concordância com o tempo decorrido entre o aparecimento de larvas trocóforas e a deteção dos juvenis

5. Conclusão

Este estudo teve dois objetivos, o primeiro foi avaliar a taxa de sobrevivência de *Perinereis aibuhitensis* no Estuário do Douro, o segundo foi verificar se o seu desenvolvimento poderia resultar em reprodução.

Em relação ao primeiro objetivo, podemos observar que, em condições reais do Estuário do Douro (experiência de campo), a taxa de sobrevivência desta espécie se mostra muito baixa e os fatores analisados para explicar esta mortalidade elevada apresentam grande variabilidade e baixas correlações com a reduzida taxa de sobrevivência, não podendo assim este facto ser atribuído a nenhum dos fatores avaliados.

Este facto permite concluir que existe uma probabilidade baixa de instalação da espécie e invasão do ecossistema estuarino do Douro.

No entanto, com o segundo objetivo foi possível concluir que sob condições controladas, *Perinereis aibuhitensis* é capaz de se reproduzir. Assim sendo, a probabilidade de invasão, apesar de baixa, encontra-se longe de ser nula.

Referências bibliográficas

- Arias, A., Richter, A., Anadón, N., Glasby, C. J., (2013). Revealing polychaetes invasion patterns: Identification, reproduction and potential risks of the Korean ragworm, *Perinereis lineata* (Treadwell), in the Western Mediterranean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 131: 117-128.
- Azevedo, I. C., Duarte, P. M., Bordalo, A. A., (2008). Understanding spatial and temporal dynamics of key environmental characteristics in a mesotidal Atlantic estuary (Douro, NW Portugal). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76: 620-633.
- Brusca, R.C. & Brusca, G.J., (2003). Invertebrates, Sinauer Associates, Inc; 936p.
- Burlakova, L. E., Karatayev, A. Y., Karatayev, V. A., May, M. E., Bennett, D. L., Cook, M. J., (2011). Endemic species: Contribution to community uniqueness, effect of habitat alteration, and conservation priorities. *Biological Conservation*, 144: 155-165.
- Canteiro, V. (2014). Caracterização de duas populações de pescadores desportivos – algumas considerações ecológicas. Tese de dissertação do mestrado em Ecologia Ambiente e Território pela Universidade do Porto; 43p.
- Carregosa, V., Velez, C., Soares, A. M. V. M., Figueira, E., Freitas, R., (2014). Physiological and biochemical responses of three Veneridae clams exposed to salinity changes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 177-178: 1-9.
- Carvalho, A. N., Vaz, A. S. L., Sérgio, T. I. B., Santos, P. J. T., (2013). Sustainability of bait fishing harvesting in estuarine ecosystems – Case study in the Local Natural Reserve of Douro Estuary, Portugal. *Journal of Integrated Coastal Zone Management*, 13(2): 157-168.
- Chainho, P., Fernandes, A., Amorim, A., Ávila, S. P., Canning-Clode, J., Castro, J. J., Costa, A. C., Costa, J. L., Cruz, T., Gollasch, S., Grazziotin-Soares, C., Melo, R., Micael, J., Parente, M. I., Semedo, J., Silva, T., Sobral, D., Sousa, M., Torres, P., Veloso, V., Costa, M. J., (2015). Non-indigenous species in Portuguese coastal areas, coastal lagoons, estuaries and islands. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 1-13. (Article in press).
- Clark, R.B., (1961). The origin and formation of the heteronereis. *Biol. Rev.*, 36, 199-236.
- Chapman, P. M., Wang, F., (2001). Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 3-22.
- Chatelain, E.H., Breton, S., Lemieux, H., Blier, P.U., (2008). Epitoky in *Nereis (Neanthes) virens* (Polychaeta: Nereididae): A story about sex and death. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 149 Part B: 202–208.

- Choi, J., Lee, J., (1997). Secondary production of a nereid species, *Perinereis aibuhitensis* in the intertidal mudflat of the west coast of Korea. *Bulletin of Marine Science*, 60(2): 517-528.
- Comissão das Comunidades Europeias, (2001). Livro verde sobre o futuro da política comum da pesca COM (2001). Comissão das Comunidades Europeias, Bruxelas, 135.
- Costanza, R., d'Arge, R., Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R. V., Paruelo, J., Raskin, R. G., Sutton, P., Belt, M. V. D., (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253-260.
- Cunha, R. L., Verdú, J. R., Lobo, J. M., Zardoyaa, R., (2011). Ancient origin of endemic Iberian earth-boring dung beetles (Geotrupidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59 (3), 578-586.
- Decreto-Lei nº101/2013 de 25 de julho. Diário da Republica, 1ª série – Nº 142. Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Lisboa, Portugal. Consultado em 18 de dezembro de 2014 em: http://www.dgrm.min-agricultura.pt/xportal/xmain?xpid=dgrm&xpgid=genericPageV2&conteudoDetalhe_v2=170131
- Elliott, M., (2003). Biological pollutants and biological pollution – an increasing cause for concern. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 275-280
- Fidalgo e Costa, P., Gil, J., Passos, A.M., Pereira, P., Melo, P., Batista, F., Cancela da Fonseca, L., (2006). The market features of imported non-indigenous polychaetes in Portugal and consequent ecological concerns. *Scientia Marina* 70S3, 287-292.
- Grimaud, S., Boillot, G., Collette, B. J., Mauffret, A., Miles, P. R., Roberts, D. B., (1982). Western extension of the Iberian–European plate-boundary during early Cenozoic (Pyrenean) convergence. A new model. *Marine Geology*, 45: 63-77.
- Haska, C. L., Yarish, C., Kraemer, G., Blaschik, N., Whitlatch, R., Zhang, H., Lin, S., (2012). Bait worm packaging as a potential vector of invasive species. *Biol. Invasions*, 14: 481-493.
- Hewitt, G. M., (1999). Postglacial re-colonisation of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68: 87-112
- Huenneke, L. F., (1997). Outlook for plant invasions: interactions with other agents of global change; 95-103p em: Luken, J. O. & Thieret, J. W. Assessment and Management of Plant Invasions. Springer-Verlag, New York, Inc; 324p.
- Hutchings, P. A., Reid, A., Wilson, R. S., (1991). *Perinereis* (Polychaeta, Nereididae) from Australia, with redescrptions of six additional species. *Records of the Australian Museum*, 43(3), 241-274.

- Knox, G. A., (1951). A Guide to the Families and Genera of New Zealand Polychaetes. *In Tuatara* 4(2): 64-85.
- Le Pichon, X., Sibuet, J. C., (1971). Western extension of boundary between European and Iberian plates during the Pyrenean orogeny. *Earth and Planetary Science Letters*, 12: 83-88.
- Leitão, F., Baptista, V., Zeller, D., Erzini, K., (2014). Reconstructed catches and trends for mainland Portugal fisheries between 1938 and 2009: implications for sustainability, domestic fish supply and imports. *Fisheries Research*, 155: 33-50.
- Liu, F., Guo, Q., Shi, H., Lv, F., Yu, Y., Lv, L., Huang, J., Wang, A., Liang, H. (2014). Genetic diversity analysis of *Perinereis aibuhitensis* based on ISSR and SRAP markers of Chinese coast populations. *Biochemical Systematics and Ecology*, 57: 262-269.
- Liu, H.J., Liu M., Ge, S.S., Wang, Q.X., Yu, D.D., Guan, S.G., (2012). Population structuring and historical demography of a common clam worm *Perinereis aibuhitensis* near the coasts of Shandong Peninsula. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44: 70-78.
- Lobo, J. M., Verdú, J. R., Numa, C., (2006). Environmental and geographical factors affecting the Iberian distribution of flightless *Jekelius* species (Coleoptera: Geotrupidae). *Diversity & Distributions*, 12: 179-188.
- Lokkeborg, S. 1994. Fish behaviour and longlining, In A. Ferno & S. Olsen (eds.). Marine fish behavior Related to Capture and Abundance Estimation. *Fishing News Books*: 9-27.
- Martins, R., Quintino, V., Rodrigues, A. M., (2013). Diversity and spatial distribution patterns of the soft-bottom macrofauna communities on the Portuguese continental shelf. *Journal of Sea Research*, 83: 173–186
- Mucha, A. P., Vasconcelos, M. T. S. D., Bordalo, A. A., (2005). Spatial and seasonal variations of the macrobenthic community and metal contamination in the Douro estuary (Portugal). *Marine Environmental Research*, 60: 531-550.
- Nesto, N., Simonini, R., Prevedelli, D., Da Ros, L., (2012). Effects of diet and density on growth, survival and gametogenesis of *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776) (Nereididae, Polychaeta). *Aquaculture*: 362–363
- Nichols, F.H., Cloern, J.E., Luoma, S.N., Peterson, D.H., (1986). The modification of an estuary. *Science*, 231: 567-573.
- Olive, P.J.W. & Garwood, P.R. (1981). Gametogenic cycle and population structure of *Nereis diversicolor* and *Nereis pelagica* from Northeast England. *Journal of Marine Biology Association*, 61: 193-213.

- Pagola-Carte, S., Urkiaga-Alberdi, J., Bustamante, M., Saiz-Salinas, J. I., (2002). Concordance degrees in macrozoobenthic monitoring programmes using different sampling methods and taxonomic resolution levels. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 63-70.
- Pires, A., Quintino, V., Gentil, F., Freitas, R., Rodrigues, A. M., (2012). Reproductive biology of a brooding *Diopatra* species: *Diopatra marocensis* (Paxton et al., 1995). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 110: 85-92.
- Portaria nº 14/2014 de 23 de janeiro. *Diário da República*, 1ª série - Nº 16. Presidência do Conselho de Ministros e Ministérios das Finanças, da Defesa Nacional, da Economia, do Ambiente, Ordenamento do Território e Energia e da Agricultura e do Mar. Lisboa, Portugal. Consultado em 18 de dezembro de 2014 em: http://www.dgrm.min-agricultura.pt/xportal/xmain?xpid=dgrm&xpgid=genericPageV2&conteudoDetalhe_v2=170183
- Portaria nº 184/2013 de 16 de maio. *Diário da República*, 1ª série - Nº 94. Ministérios das Finanças e da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Lisboa, Portugal. Consultado em 18 de dezembro de 2014 em: http://www.dgrm.min-agricultura.pt/xportal/xmain?xpid=dgrm&xpgid=genericPageV2&conteudoDetalhe_v2=170183
- Read, G., Fauchald, K., (2012). Nereididae. In: Read, G., Fauchald, K., (2012). World Polychaeta database. Consultado em 15 de janeiro de 2015 em: World Register of Marine Species at <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=22496>.
- Shigesada, N., Kawasaki, K., (1997). Biological Invasions: Theory and Practice (Oxford Series in Ecology and Evolution). Oxford University Press; 224p.
- Strayer, D. L., Dudgeon, D., (2010). Freshwater biodiversity conservation: recent progress and future challenges. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(1): 344-358.
- Taraschewski, H., (2006). Host and parasites as aliens. *Journal of Helminthology*, 80(2): 99-128.
- Tassin, J., Kull, C. A., (2015). Facing the broader dimensions of biological invasions. *Land Use Policy*, 42: 165-169.
- Tavares da Silva, C., Soares, J., (1997). Economias costeiras na Pré-História do sudoeste português. O concheiro de Montes de Baixo. *Setúbal Arqueológica*, 11-12: 69-108.
- Thompson, R. C., Crowe, T. P., Hawkins, S. J. (2002). Rocky intertidal communities: past environmental changes, present status and predictions for the next 25 years. *Environmental Conservation*, 29(2): 168-191.

- Thompson, R.C., Roberts, M. F., Norton, T. A., Hawkins, S. J., (2000). Feast or famine for intertidal grazing molluscs: a mis-match between seasonal variations in grazing intensity and the abundance of microbial resources. *Hydrobiologia*, 440: 357-367.
- Tian, Y., Liu, H., Wang, Q., Zhou, J., Tang, X., (2014). Acute and chronic toxic effects of Pb²⁺ on polychaete *Perinereis aibuhitensis*: morphological changes and responses of the antioxidant system. *Journal of Environmental Sciences*, 26: 1681-1688.
- Verdonschot, P. F. M., (2015). Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates (Fourth Edition): Chapter 20 – Introduction to Annelida and the Class Polychaeta. *Ecology and General Biology*: 509-528.
- Vieira, M. E. C., Bordalo, A. A. (2000). The Douro estuary (Portugal): a mesotidal salt wedge. *Oceanologica Acta*, 23: 585–594.
- Warwick, R. M., (1993). Environmental impact studies on marine communities: pragmatical considerations. *Australian Journal of Ecology*, 18: 63-80.
- Wilson, J., (1997). Enciclopédia da pesca. Centralivros, Ida; 288p.