

Crescimento e sobrevivência do percebe *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790) em condições laboratoriais



**Ana Lúcia Torres Diogo**

2018





Crescimento e sobrevivência do percebe *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790) em condições laboratoriais

**Ana Lúcia Torres Diogo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Professora Doutora  
Teresa Cruz e coorientação da Professora Doutora Ana Pombo

2018

iii



Título: Crescimento e sobrevivência do percebe *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790) em condições laboratoriais

Copyright © Ana Lúcia Torres Diogo

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2018

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## **Agradecimentos**

Agradeço,

À Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, e a todos os docentes, e à Universidade de Évora por todo o apoio e conhecimento que me proporcionaram ao longo de todo este percurso.

À professora Ana Pombo por me ter orientado, por me ter dado o prazer de conhecer o CIEMAR e me ter colocado no melhor caminho possível.

À Teresa Cruz, que foi incansável e que me mostrou ser das melhores pessoas que eu conheço, tanto a nível profissional como pessoal.

A toda as pessoas do CIEMAR, que me fizeram sentir em casa, me motivaram e sempre ajudaram em tudo. Por todos os bons momentos que me proporcionaram e dos quais nunca me vou esquecer.

À Mariana Matias, Mariana Lopes, Ana Paula, Carolina, Joana, Anaísa, Sara e Natasha por todo o apoio, amizade e cumplicidade durante uma vida inteira.

Ao Henrique, Eliana, e a toda a minha família académica, pelos melhores anos da minha vida.

Ao Hugo, que sempre se disponibilizou para me ajudar.

Por fim, mas não menos importante, a toda a minha família. Um grande agradecimento ao meu irmão, à minha prima, à minha tia, à minha avó e ao meu avô, e em especial à minha mãe pela luta constante para que eu seja feliz e siga os meus sonhos.

“Dream it. Believe it. Achieve it.”

## Resumo

O percebe *Pollicipes pollicipes* é um crustáceo cirrípede que habita o intertidal rochoso, em zonas expostas a hidrodinamismo forte, e é um importante recurso económico em Portugal e Espanha. Apesar de ser uma espécie altamente valorizada como alimento, e intensamente explorada devido aos elevados preços de mercado, o desenvolvimento de atividades associadas ao seu cultivo é limitado. Como tal, o presente trabalho foi dividido em duas experiências, com uma duração de 2 meses cada uma. A primeira experiência teve como principais objetivos perceber o efeito da densidade do alimento (2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) e das condições hidrodinâmicas (baixa, média e elevada turbulência) no crescimento e sobrevivência do percebe, em condições laboratoriais, com a utilização de um novo substrato artificial, o “barticle”. Este substrato foi originalmente colocado na zona intertidal do Cabo de Sines onde os percebes são abundantes, tendo aí ocorrido fixação larvar e metamorfose em juvenil. Por sua vez, na segunda experiência os fatores estudados foram o tipo de alimento (artémia e ração) e a frequência de alimentação (diariamente, de 2 em 2 dias e de 3 em 3 dias). Após a recolha dos indivíduos fixos nos “barticles” no seu habitat, os organismos foram submetidos a uma imersão em calceína, que permite a marcação das placas do *capitulum*, e com a qual se pode medir o incremento mensal de RC (distância máxima entre as placas *rostrum-carina*), assumindo um crescimento linear durante a experiência. Para além do incremento mensal de RC, outras variáveis foram também estudadas, tais como o número inicial e final de percebes por “barticle” e a média do comprimento do RC por “barticle”. Para todos os tratamentos, em geral, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos do número inicial e final de percebes por “barticle”, o que reflete bons índices de sobrevivência em todos os tratamentos. Excecionalmente, houve uma maior mortalidade associada à densidade do alimento, apenas em percebes de “barticles” implantados em 2017, o que sugere a presença de indivíduos de tamanho mais reduzido e, provavelmente, com menor capacidade de se alimentarem de artémia. Relativamente a RC, as condições hidrodinâmicas foram o único fator a influenciar esta variável, obtendo-se valores mais elevados nos tratamentos onde o fluxo era contínuo e elevado (25 cm.s<sup>-1</sup>). Por sua vez, as condições hidrodinâmicas, o tipo de alimento e a frequência de alimentação apresentaram efeitos no incremento mensal de RC em *P. pollicipes*, mostrando que esta variável assume valores mais elevados quando existe elevada turbulência e quando os organismos são alimentados diariamente com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos neste estudo, evidenciam e reforçam que a artémia corresponde às necessidades nutricionais de *P. pollicipes* e um elevado hidrodinamismo é essencial para o seu acondicionamento em cativeiro.

**Palavras-chave:** *Pollicipes pollicipes*, condições laboratoriais, “barticle”, crescimento, sobrevivência, condições hidrodinâmicas, alimentação

## Abstract

The stalked barnacle *Pollicipes pollicipes* is a cirriped crustacean that inhabits the intertidal rocky shore of very exposed areas, and it is an important economic resource in Portugal and Spain. Despite being a highly valued species as food, and intensely exploited due to high market prices, the development of activities associated with its cultivation is limited. As such, the present work was divided in two experiments, with a duration of 2 months each. The first experiment had as main objectives to understand the effect of food density (2 and 7 nauplii.ml<sup>-1</sup>), and hydrodynamic conditions (low, medium and high turbulence) on the growth and survival of these barnacles under laboratory conditions, with the use of a new artificial substrate, the "barticle". The "barticle" was originally deployed in the intertidal of Cabo de Sines where this species is abundant, and settlement and recruitment of *P. pollicipes* has occurred on the "barticles". In the second experiment, the factors studied were the type of food (*Artemia* and inert food) and the feeding frequency (daily, every 2 days and every 3 days). After the barnacles were collected on "barticles" in their natural habitat, the individuals were immersed in calcein, which allows the marking of the plates of the capitulum, and the measurement of the monthly increment of RC (maximum distance between the rostrum-carina plates), assuming a linear growth during the experiment. In addition to the monthly increment of RC, other variables were also studied, such as the initial and final number of barnacles in each "barticle" and the mean RC length per "barticle". No statistically significant differences were observed among treatments for the initial and the final number of barnacles, which reflects good survival rates. Exceptionally, there was a higher mortality associated with food density, only in barnacles from "barticles" deployed in 2017, which suggests the presence of individuals of smaller size and probably with less capacity to feed with *Artemia*. Regarding RC, hydrodynamic conditions were the only factor influencing this variable, obtaining higher values in the treatments where the flow was continuous and high (25 cm.s<sup>-1</sup>). On the other hand, hydrodynamic conditions, food type and feeding frequency had an effect on the monthly increase of RC in *P. pollicipes*, showing that this variable reaches higher values when there is high turbulence and when the organisms are fed daily with 2 nauplii.ml<sup>-1</sup>. The results obtained in this study evidences and reinforces that *Artemia* corresponds to the nutritional needs of *P. pollicipes* and a high hydrodynamism is essential for its conditioning.

**Keywords:** *Pollicipes pollicipes*, laboratorial conditions, survival, hydrodynamic conditions, feeding

## Índice

1 - Introdução.....	16
1.1 - Distribuição geográfica e habitat .....	16
1.2 - Taxonomia e morfologia .....	17
1.3 - Reprodução, recrutamento e crescimento .....	18
1.4 - Hábitos e comportamentos alimentares .....	21
1.5 - Pesca e Conservação de <i>P. pollicipes</i> .....	22
1.6 - Aquicultura.....	24
1.6.1 – Acondicionamento de reprodutores, reprodução e cultivo larvar .....	25
1.6.2 – Engorda .....	26
1.6.3 - Substrato artificial, “barticle” .....	30
1.7 - Objetivos .....	30
2 - Materiais e Métodos.....	31
2.1 - Obtenção de percebes .....	31
2.2 - Variáveis dependentes.....	31
2.3 - Sistema de cultivo .....	32
2.4 - Experiência 1 – Efeito da densidade do alimento e das condições hidrodinâmicas.....	34
2.4.1 - Análise de dados .....	34
2.5 - Experiência 2 – Efeito do tipo de alimento e da frequência de alimentação .....	35
2.5.1 - Análise de dados .....	35
3 - Resultados.....	36
3.1 - Experiência 1 – Efeito da densidade do alimento e das condições hidrodinâmicas.....	36
3.1.1 - Número inicial e final de percebes por barticle .....	36
3.1.2 - Comprimento máximo entre as placas <i>rostrum</i> e <i>carina</i> (RC).....	38
3.1.3 - Incremento mensal de RC .....	39
3.2 - Experiência 2 – Efeito do tipo de alimento e da frequência de alimentação .....	41
3.2.1 - Número inicial e final de percebes por barticle .....	41
3.2.2 - Comprimento máximo entre as placas <i>rostrum</i> e <i>carina</i> (RC).....	44
3.2.3 - Incremento mensal de RC .....	46
4 - Discussão.....	48
5 - Conclusão .....	51
6 - Referências Bibliográficas .....	53



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição das espécies do género <i>Pollicipes</i> .....	16
Figura 2 - Morfologia externa de um percebe da espécie <i>P. pollicipes</i> (adaptado de Molares, 1994 em Cruz <i>et al.</i> , 2015). .....	17
Figura 3 - Morfologia interna de um percebe da espécie <i>P. pollicipes</i> (adaptado de Molares, 1994 em Cruz <i>et al.</i> , 2015). .....	18
Figura 4 - Ciclo de vida de <i>P. pollicipes</i> . Adaptado de desenho de Telma Costa .....	19
Figura 5 - Implantação do barticle na rocha ( <i>em Universidade de Évora (2917)</i> ).....	30
Figura 6 - Local de implantação dos "barticles" no Cabo de Sines, assinalado com "●" .....	31
Figura 7 - Juvenil de <i>P. pollicipes</i> marcado com calceína (A); placa <i>scutum</i> marcada, setas mostram as variáveis medidas ( <i>sc_i</i> , comprimento inicial do scutum: <i>sc_f</i> , comprimento final do scutum) (B).....	32
Figura 8 - Constituição de uma parte do sistema. ....	33
Figura 9 - Constituição do filtro.....	33
Figura 10 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=10.....	37
Figura 11 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=12 .....	37
Figura 12 - Comprimento máximo de RC (mm) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=10 (2016); n=12 (2017). .....	39
Figura 13 - Incremento mensal de RC dos percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=6 (2016); n=6 (2017).....	40
Figura 14 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados diariamente. n=10.....	41
Figura 15 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados diariamente. n=14.....	41
Figura 16 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> , 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados de dois em dois dias. n=10.....	42

Figura 17 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> , 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados de dois em dois dias. n=14.....	42
Figura 18 - Número inicial (a) e final (a) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml <sup>-1</sup> . n=10 .....	43
Figura 19 - Número inicial (a) e final (a) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml <sup>-1</sup> . n=14 .....	43
Figura 20 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração. n=10 .....	43
Figura 21 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração. n=14 .....	44
Figura 22 - Média de RC (mm) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados todos os dias. n=10 (2016); n=14 (2017).....	44
Figura 23 - Média de RC (mm) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> , 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados de dois em dois dias. n=10 (2016); n=14 (2017).....	45
Figura 24 - Média do comprimento RC (mm) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml <sup>-1</sup> . n=10 (2016); n=14 (2017). .....	45
Figura 25 - Média do comprimento RC (mm) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração. n=10 (2016); n=14 (2017). .....	46
Figura 26 - Incremento mensal de RC (mm.mês <sup>-1</sup> ) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados todos os dias. n=6 (2016); n=6 (2017). .....	46
Figura 27 - Incremento mensal de RC (mm.mês <sup>-1</sup> ) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml <sup>-1</sup> , 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados de dois em dois dias. n=6 (2016); n=6 (2017).....	47

Figura 28 - Incremento mensal de RC ( $\text{mm.mês}^{-1}$ ) de percebes por “barticle” (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios. $\text{ml}^{-1}$ . n=6 (2016); n=6 (2017). ..... 47

Figura 29 - Incremento mensal de RC ( $\text{mm.mês}^{-1}$ ) de percebes por “barticle” (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração. n=6 (2016); n=6 (2017). ..... 48

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Tratamentos e respectivas abreviaturas utilizadas na primeira experiência em cada um dos fatores testados (condições hidrodinâmicas - baixa, média e elevada; e densidade do alimento - 2 e 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ) .....	34
Tabela 2 - Tratamentos e respectivas abreviaturas utilizadas na segunda experiência em cada um dos fatores testados (frequência de alimentação - todos os dias, de 2 em 2 dias e de 3 em 3 dias; e tipo de alimento - 2 e 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> e ração) .....	35
Tabela 3 - Resultado da ANOVA do número inicial de percebes por “barticle”, implantados em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=10. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.817). Legenda: g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados.....	36
Tabela 4 - Resultado da ANOVA do número final de percebes por “barticle”, implantado em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=10. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.546). Legenda: g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados.....	36
Tabela 5 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK do número inicial de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=12. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.011). Legenda: 7 n/ml - 7 náuplios.ml <sup>-1</sup> ; 2 n/ml - 2 náuplios.ml <sup>-1</sup> ; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05).....	38
Tabela 6 - Resultado da ANOVA do número final de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=12. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.024). Legenda: g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados.....	38
Tabela 7 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK da média do comprimento máximo de RC (mm) de percebes por “barticle”, implantado em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=10. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.536). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05). .....	39
Tabela 8 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK da média do comprimento máximo de RC (mm) de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=12. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.989). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05). .....	39
Tabela 9 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK do incremento mensal de RC de percebes por “barticle”, implantado em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=6. Análise efetuada com transformação dos dados por raiz quadrada (Teste de Levene: P=0.065). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa	

turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05). ..... 40

Tabela 10 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK do incremento mensal de RC de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=6. Análise efetuada com transformação dos dados por raiz quadrada (Teste de Levene: P=0.081). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05). ..... 40

# 1 - Introdução

## 1.1 - Distribuição geográfica e habitat

Os percebes são crustáceos cirrípedes, nomeadamente do género *Pollicipes* em que existem quatro espécies descritas, *Pollicipes polymerus* (distribuído do sul do Alasca ao sul da Baixa Califórnia), *Pollicipes elegans* (da Baixa Califórnia ao Peru), *Pollicipes pollicipes* (distribuído na Europa Ocidental e nas costas norte africanas do Atlântico leste, da Bretanha (França) ao Senegal) e *Pollicipes caboverdensis* (espécie recém-descrita (2010) e endémica de Cabo Verde) (Barnes, 1996; Fernandes *et al.*, 2010) (figura 1).

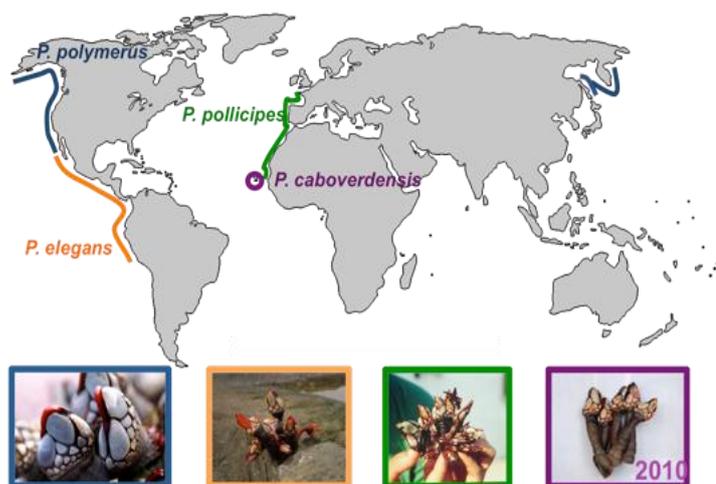


Figura 1 - Distribuição das espécies do género *Pollicipes*

*P. pollicipes* (Gmelin, 1790) é um cirrípede pedunculado sésil, e é uma espécie essencialmente intertidal, apresentando níveis de abundância elevados em zonas rochosas, tais como paredes verticais, frestas e grutas, sujeitas a condições hidrodinâmicas elevadas. A sua presença em frestas parece estar associada ao facto destes locais conferirem uma maior proteção aos seus pedúnculos (Barnes, 1996). O hidrodinamismo parece ser um fator com elevada relevância na distribuição e abundância dos percebes, uma vez que foram observados valores mais elevados de percentagem de cobertura e de biomassa em locais com maior hidrodinamismo, que poderão estar associados a uma maior disponibilidade de alimento nestes locais (Borja *et al.*, 2006a). O método de alimentação captorial utilizado por estes organismos depende de estimulação mecânica exógena, como as ondas, na medida em que a extensão dos cirros e a sua reação a estímulos dependem do fluxo de água (Barnes, 1996). No entanto, fatores como o fornecimento das larvas planctónicas e os processos de fixação larvar, a mortalidade precoce após o assentamento, a competição, a predação e as condições ambientais foram também descritos como determinantes na distribuição e abundância de organismos sésseis intertidais (Grosberg, 1982; Caffey, 1985; Connel, 1985; Underwood e Fairweather, 1989; Fairweather, 1991; Minchinton e Scheibling, 1991; Grosberg e Levitan, 1992; Mateus *et al.*, 2017). Na zona intertidal, compartilham o seu habitat com moluscos, algas e outros organismos incrustantes, podendo existir competição interespecífica por espaço e alimento (Cruz, 2000). Nos locais onde esta espécie é mais abundante, a temperatura da água varia entre 9 e 25°C, apresentando uma média entre 10 a 16°C de novembro a abril e 14 a 24°C de maio a outubro (Franco, 2014).

## 1.2 - Taxonomia e morfologia

*P. pollicipes* (Gmelin, 1790), conhecido como percebe, pertence ao filo Crustacea, subfilo Maxillopoda, classe Thecostraca, subclasse Cirripedia, superordem Thoracica, ordem Pedunculata e super família Scalpelloidea (Cruz, 2000). Em qualquer cirrípede pedunculado é possível distinguir duas partes bem diferenciadas, o *capitulum* e o pedúnculo (figura 2). O *capitulum* é formado por uma série de placas calcárias: a placa *carina*, um par de placas *scutum* e um par de placas *tergum*, designadas como placas principais; e as placas secundárias, que apresentam diferentes tamanhos e podem ser pares (ex.: *lateral*, *rostrolatus* e *carinolatus*) ou ímpares (ex.: *rostrum*, *subcarina* e *subrostrum*) (figura 2). O número de placas secundárias varia em cada espécie do gênero *Pollicipes*, bem como de indivíduo para indivíduo, e pode aumentar com a idade (Darwin, 1851).

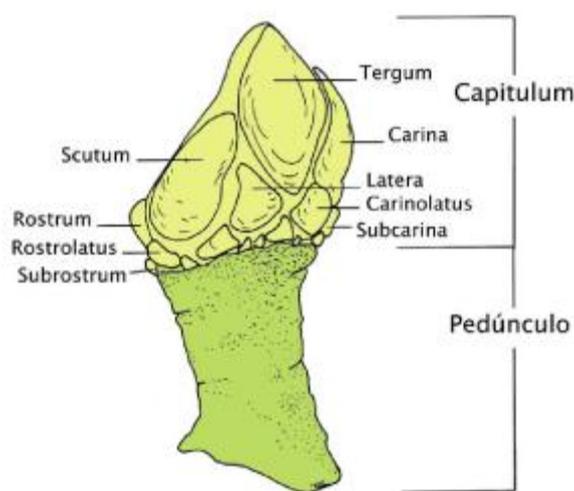


Figura 2 - Morfologia externa de um percebe da espécie *P. pollicipes* (adaptado de Molares, 1994 em Cruz *et al.*, 2015).

Na cavidade encerrada pelo *capitulum* (cavidade do manto) está alojado o corpo do percebe, constituído por prosoma, tórax e abdômen vestigial. O prosoma é composto pelo cone oral (formado pelas partes da cabeça, incluindo os apêndices bucais, aos quais estão associadas diversos grupos de glândulas salivares), pelo esófago, pelo estômago e pelo primeiro par de apêndices torácicos (ou primeiro par de cirros, que tem como função transferir o alimento para a boca) (Anderson, 1993). Os restantes cinco pares de apêndices torácicos têm como função capturar os alimentos e ventilar a cavidade do manto. Por sua vez, os apêndices caudais, o ânus e o pênis constituem o abdômen vestigial (Anderson, 1993). As estruturas que mais facilmente se distinguem no *capitulum* são, portanto, os apêndices torácicos (cirros), o cone oral (constituído pela boca e pelos apêndices bucais), o tubo digestivo (esófago, estômago, intestino e o ânus), uma vesícula seminal par, os apêndices filamentosos (onde se encontram os testículos), os apêndices caudais e o pênis (Cruz *et al.*, 2015) (figura 3). O interior do pedúnculo, parte comestível, é constituído por camadas de tecido muscular e, centralmente a esses músculos podem-se observar as glândulas produtoras do cimento (ligadas por ductos à extremidade basal do pedúnculo) e o ovário (ligado a um oviduto par que abre na cavidade do manto) (Barnes, 1996; Cruz *et al.*, 2015) (figura 3). No momento da fixação no substrato rochoso, a glândula do cimento secreta um cimento que solidifica, contribuindo para uma forte adesão do animal ao substrato.

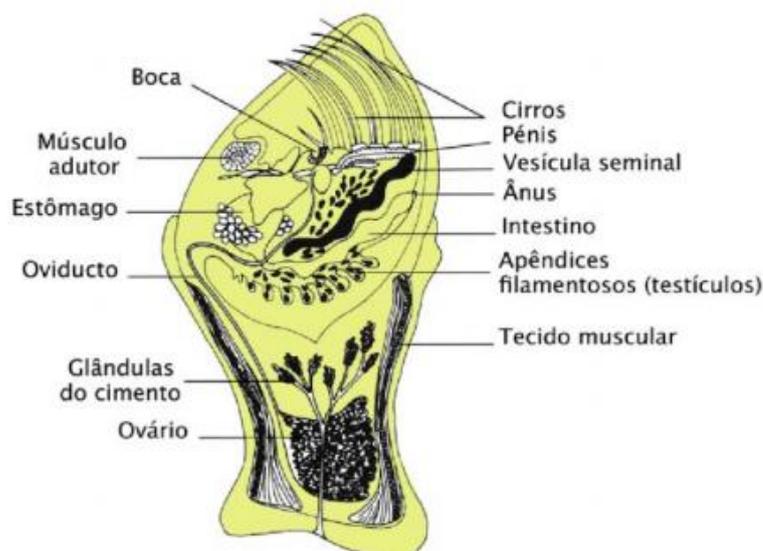


Figura 3 - Morfologia interna de um percebe da espécie *P. pollicipes* (adaptado de Molares, 1994 em Cruz *et al.*, 2015).

Os cirrípedes pedunculados não apresentam nenhum órgão especializado para a respiração e, deste modo, as trocas gasosas são efetuadas através dos cirros, da superfície corporal e do revestimento da cavidade do manto, e podem também ocorrer através da parede do pedúnculo (Petersen *et al.*, 1974; Barnes, 1996). A sua presença em áreas costeiras rochosas fortemente batidas pelas ondas poderá estar associada a uma maior quantidade de oxigênio dissolvido da água (Barnes, 1996).

### 1.3 - Reprodução, recrutamento e crescimento

*P. pollicipes* pode ser considerada uma espécie hermafrodita simultânea, com uma ligeira tendência protândrica (Cruz, 2000). Relativamente à gametogénese em *P. pollicipes*, ocorre de janeiro a setembro, e a reabsorção gonadal ou repouso é observada de Outubro a Dezembro. Na gónada masculina, a fração volumétrica do gâmeta foi máxima em Março (Molares *et al.*, 1994). Os espermatozóides são continuamente armazenados nas vesículas seminais durante um período de vários meses, o que sugere que um número suficiente de indivíduos tem espermatozóides maduros em todas as épocas do ano (Molares *et al.*, 1994). A duração da época reprodutiva parece pois depender unicamente do estado de desenvolvimento da gónada feminina (Molares *et al.*, 1994).

A fecundação é sobretudo cruzada, sendo que o “macho” deposita os espermatozóides na cavidade do manto da “fêmea”, sob forma de uma massa gelatinosa, permanecendo inativos e, posteriormente, as massas de ovócitos ficam envolvidas pela massa de espermatozóides, que se vai ativando, e penetrando de modo a fertilizar os óvulos (Barnes e Barnes, 1977; Walley *et al.*, 1971; Anderson, 1993; Cruz *et al.*, 2015). Os ovos fertilizados são incubados e desenvolvem-se na cavidade do manto até eclodirem sob forma de larva *nauplius* I (figura 4), que é considerado o primeiro de seis estados larvares *nauplius*, geralmente planctónicos e planctotróficos (alimentam-se). Esta fase larvar é influenciada por diversos fatores, tais como correntes, ventos e afloramento costeiro (Pineda, 2000). Após estes estados, segue-se o último estado, *cypris*, que é lecitotrófico (figura 4). Este último estado tem, então, como funções selecionar e fixar-se a um substrato, e fornecer a base do desenvolvimento para a metamorfose que transforma a larva *cypris* num juvenil (Cruz *et al.*, 2015). As larvas assentam cerca de um mês após a eclosão, sendo esta fixação muito intensa

no pedúnculo dos percebes, o que faz com que estes animais se distribuam tipicamente em aglomerados (Cruz, 2000). Investigações mostraram que as larvas dos cirrípedes selecionam locais adequados em relação à profundidade, iluminação, perfil e textura da superfície, à presença de conspecíficos e à velocidade de correntes na superfície do substrato (Pomerat e Reiner, 1942; Gregg, 1945; Pyefinch, 1948; Barnes *et al.*, 1951; Knight-Jones, 1953; Crisp, 1955). Imediatamente após o assentamento larvar, a larva *cypris* sofre uma metamorfose em juvenil (figura 4), onde fatores como a predação e competição, bem como a temperatura, ciclos de maré, condições hidrodinâmicas, dessecação e disponibilidade de alimento poderão desempenhar um papel importante na sobrevivência dos indivíduos (Gaines e Roughgarden, 1985; Minchinton e Scheibling, 1991; Thomason *et al.*, 1998). Segundo Connel (1985), a fixação larvar (assentamento) verifica-se quando a larva *cypris* se fixa ao substrato de forma permanente e o recrutamento é uma estimativa dos juvenis fixos recentemente e que sobreviveram durante um determinado período após a fixação larvar.

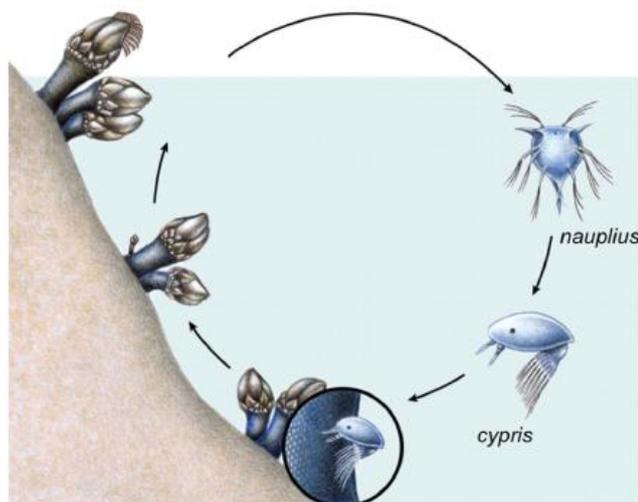


Figura 4 - Ciclo de vida de *P. pollicipes*. Adaptado de desenho de Telma Costa

Na costa portuguesa, o período reprodutivo inicia-se em abril/março e prolonga-se até setembro, sendo o principal pico reprodutivo durante o verão, provavelmente devido a fatores ambientais mais favoráveis, como a temperatura do ar e do mar, eventos de *upwelling* e disponibilidade de alimento associados (Cardoso e Yule, 1995; Cruz e Hawkins, 1998; Cruz e Araujo, 1999; Cruz, 2000). O tamanho mínimo de maturação sexual masculina é de 10 mm de distância máxima entre as placas *rostrum* e *carina* (RC), e de 12,5 mm no caso da maturação sexual feminina (Cruz, 2000). Relativamente ao período de recrutamento no sudoeste de Portugal, é mais intenso entre julho e dezembro, com um máximo entre agosto e outubro (Cruz, 2000; Cruz *et al.*, 2010).

Relativamente ao crescimento de *P. pollicipes*, é descrito da seguinte forma (Barnes, 1996): assim que uma larva *cypris* se fixa ao substrato, surgem cinco placas principais – a *carina*, as duas placas *scutum* e as duas placas *tergum*; inicialmente, estas placas são quitinosas, não contendo carbonato de cálcio; quando já são visíveis depósitos calcários nas margens externas das placas principais, surge a primeira placa secundária, o *rostrum*; após o aparecimento desta placa, as seguintes placas secundárias surgem por ordem cronológica – *latera superiores*, *carinolatus*, *rostrolatus* e as primeiras placas duma linha inferior de placas laterais, restantes placas *laterais* desta linha inferior e *subcarina*. Gradualmente, as outras

placas secundárias são adicionadas a partir da zona de crescimento (zona estreita entre o *capitulum* e o pedúnculo (Chaffee e Lewis 1988)), sendo as mais jovens as mais próximas desta zona. Todas as placas secundárias, ao contrário das principais e tal como as escamas do pedúnculo, são logo estruturas calcárias (Anderson, 1994). As escamas do pedúnculo apenas aparecem após a *subcarina* estar desenvolvida, sendo as escamas novas produzidas na zona de crescimento (Chaffee e Lewis, 1988). Existe portanto o crescimento peduncular, realizado por produção de exosqueleto na zona de crescimento, e também crescimento no *capitulum*, mais concretamente nas placas primárias (*scuta*, *terga* e *carina*) (Anderson, 1994; Barnes, 1996; Cruz, 2000; Jacinto *et al.*, 2015).

A variável mais utilizada para estudos de crescimento em *Pollicipes* é a distância máxima entre as placas *rostrum* e *carina* (RC) (Phillips, 2005; Cruz *et al.*, 2010) e os principais fatores que parecem afetar o seu crescimento são o tempo de imersão, a disponibilidade de alimento, a luminosidade, a temperatura da água e a densidade populacional (Barnes, 1996). Com base em estudos feitos na costa sudoeste de Portugal, as taxas de crescimento variam também com o tamanho dos indivíduos e a estação do ano. Segundo Cruz (2000), indivíduos com RC inferior a 10 mm cresceram em média 0.47 mm RC por mês, no inverno, primavera e verão, enquanto indivíduos com RC superior a 10 mm cresceram 0.11 mm RC por mês no verão e 0.47 mm RC por mês no inverno e na primavera). Existe, portanto, uma taxa de crescimento mais elevada durante o primeiro ano de vida, e a uma diminuição acentuada do crescimento após o primeiro ano (Cruz, 2000). Segundo a mesma autora, os organismos podem atingir um tamanho comercial adulto ( $\geq 20$  mm RC) um ano após o assentamento. Cruz *et al.* (2010) estimaram um crescimento médio de 1.3 mm RC por mês durante o primeiro ano e relataram também que organismos presentes no nível inferior da zona intertidal alcançaram um tamanho máximo maior, sugerindo que o nível intertidal também apresente efeito na taxa de crescimento de *P. pollicipes*. Alguns estudos de crescimento desta espécie baseiam-se em análises da estrutura de tamanho dos indivíduos e em estimativas de taxas de crescimento de alguns indivíduos marcados no campo (Page, 1986, Phillips, 2005, Cruz *et al.*, 2010). Estas técnicas de marcação incluem o mapeamento de indivíduos relativamente a marcas feitas em substratos adjacentes, ou o uso de marcas nas placas do capítulo de indivíduos de tamanho adequado, contudo, são técnicas difíceis de aplicar e manter em áreas muito expostas.

Contudo, já foi verificado que o uso de marcação química como técnica de marcação pode fornecer novos conhecimentos sobre a variação da taxa de crescimento de *P. pollicipes*, uma vez que a marcação pode ser feita individual e simultaneamente num grande número de indivíduos, de diferentes habitats e com idade variável, e com relativa facilidade e segurança (Jacinto *et al.*, 2015). A imersão de um organismo numa solução de calceína permite que este fluorocromio se ligue ao cálcio e se incorpore em estruturas calcificadas, deixando uma marca fluorescente que é visível sob microscopia de epifluorescência, e tem sido utilizada com sucesso em estudos ecológicos de várias espécies marinhas (Moran, 2000). A marcação química em percebes foi primeiramente descrita por Helms (2004), onde a marca fluorescente visível nas placas de carbonato do *capitulum* foi usada para distinguir antigos recrutas (indivíduos marcados) dos novos (não marcados) e também para estimar as taxas de crescimento em *P. polymerus*, medindo o incremento marginal das placas capitulares após o tratamento com calceína. Jacinto *et al.* (2015) adaptaram a metodologia de marcação de calceína proposta por Helms (2004) para marcar vários percebes juvenis e adultos e estimar a variação da taxa de crescimento com o nível vertical entre-marés e o tamanho dos indivíduos de *P. pollicipes* no sudoeste de Portugal. No estudo de Jacinto *et al.*, (2015) este método de marcação apresentou uma taxa de sucesso de 94%, tanto em juvenis como adultos, sendo que as marcas de calceína foram observadas com sucesso sob epifluorescência, particularmente

em indivíduos de menores dimensões por um período de aproximadamente 2.5 meses. Foi observado que a taxa de crescimento de *P. pollicipes* diminuiu com o aumento do tamanho dos indivíduos (como em Cruz, 1993; Cruz, 2000, Cruz *et al.* 2010), ou seja, as taxas médias de crescimento foram maiores nos juvenis mais pequenos (1.1 mm por mês em juvenis de 5 mm RC) e gradualmente diminuíram com o aumento do seu tamanho (0.5 e <0.25 mm por mês em adultos de 12.5 e  $\geq 18$  mm de RC, respetivamente). Deste modo, foi sugerido que a maioria dos indivíduos atinge a maturidade ( $RC \geq 12.5$  mm; Cruz e Araújo, 1999) dentro de um ano.

Ao contrário do que foi relatado por Cruz *et al.*, (2010), Jacinto *et al.* (2015) não observaram uma maior taxa de crescimento em indivíduos presentes no nível inferior da zona intertidal, sugerindo que o estudo pode não ter tido a duração suficiente para fornecer essa variação. Embora a maioria das variações na taxa de crescimento pareça estar relacionada com o tamanho dos percebes, foram também observadas variações nas taxas de crescimento entre indivíduos de tamanhos semelhantes (Jacinto *et al.*, 2015), particularmente em juvenis. Fenómenos como a densidade do agregado, a posição dentro do agregado e o microhabitat podem estar associados a estes padrões de crescimento, tal como foi observado por Helms (2004), que investigou o crescimento juvenil em *P. polymerus* e comparou taxas de crescimento em agregados de diferentes tamanhos e consoante a sua posição dentro do agregado. Nesse estudo, as taxas de crescimento foram maiores em indivíduos localizados periféricamente e em agregados menores, possivelmente devido à competição intraespecífica por espaço e alimento dentro do agregado.

É também geralmente assumido que a temperatura pode aumentar as taxas de crescimento, uma vez que o batimento dos cirros, que representa a taxa potencial de recolha de alimentos, foi demonstrado por vários autores como sendo fortemente dependente da temperatura (Southward, 1955; Southward, 1957). Do mesmo modo, organismos sésseis, como os percebes, geralmente atingem um maior crescimento quando se encontram em zonas expostas a ondas, uma vez que podem receber maiores quantidades de alimento (Moore, 1934). Existe, assim, uma grande variabilidade na forma e tamanho dos indivíduos de uma mesma espécie de cirrípede, mesmo com idade semelhante, devido à ação de fatores ambientais como o alimento, a temperatura e a qualidade da água, e ao efeito da erosão no esqueleto externo (Darwin, 1854 em Cruz 2000).

#### 1.4 - Hábitos e comportamentos alimentares

*P. pollicipes* é um organismo filtrador e, tal como em outras espécies do género *Pollicipes*, o seu conteúdo estomacal é maioritariamente composto por detritos, diatomáceas e apêndices de artrópodes (Barnes *et al.*, 1959). Em *P. pollicipes* foi também observada a presença de larvas de cirrípedes em elevada quantidade no seu tubo digestivo (Norton, 1996). É de notar, então, que o método de captura destes organismos é, em grande parte, não seletivo, visto que o seu conteúdo estomacal reflete o material disponível na água circundante, tanto em termos de material particulado como fitoplâncton e partículas maiores (Norton, 1996). As diferenças mais relevantes estão associadas ao tamanho do percebe, sendo que indivíduos maiores apresentam geralmente uma maior proporção de partículas grandes nos conteúdos intestinais em comparação com indivíduos pequenos, refletindo a incapacidade destes de capturar e ingerir presas grandes (Norton, 1996). Uma das vantagens da morfologia dos seus cirros é que a captura e a ingestão destes organismos envolvem diferentes cirros, podendo ocorrer simultaneamente. Contudo, as taxas de alimentação dependem de muitos outros fatores, como por exemplo, da temperatura e do tamanho do indivíduo, bem como da abundância, tamanho e qualidade do alimento (Norton, 1996).

*P. pollicipes* é considerada uma espécie omnívora, mas de acordo com a morfologia e atividade dos seus cirros, o seu conteúdo intestinal e as taxas de alimentação, é uma espécie bem adaptada a uma dieta animal (Norton, 1996). Também Anderson e Southward (1987) mostraram a incapacidade dos cirrípedes de se moverem para alcançarem o alimento, tornando-os dependentes das ondas e das correntes para se alimentarem. O movimento dos cirros é considerada a manifestação mais óbvia da atividade alimentar destes organismos (Norton, 1996). Os cirros podem ser divididos em duas classes, consoante a sua função na alimentação: captorial ou maxilípede (auxiliar na alimentação), sendo que os captoriais são mais longos (Crisp e Southward, 1961; Anderson, 1981; Anderson e Southward, 1987). Para além disso, a ação do aparelho bucal, do cone oral e da coordenação entre essas estruturas e os maxilípedes também contribui para uma alimentação bem-sucedida (Crisp e Southward, 1961; Anderson, 1981; Anderson e Southward, 1987). A atividade mais comum para *Pollicipes* de todos os tamanhos, em condições de fluxo moderado a alto, é a extensão dos cirros, com a introdução de pelo menos um cirro na boca para transportar e ingerir alimentos capturados. A extensão e retração dos cirros, ou também chamado de batimento dos cirros, foi observado tanto em juvenis como em adultos, e apenas em condições de fluxo nulo ou muito baixo ( $<14 \text{ cm.s}^{-1}$ ), sendo que a partir de valores  $>8 \text{ cm.s}^{-1}$  as taxas de batimento são muito baixas (Norton, 1996). Não existem evidências de que o batimento dos cirros seja apenas para alimentação, e tudo sugere que a atividade rítmica dos cirros tem uma função respiratória, sendo que o batimento, em condições de baixo fluxo, gera uma corrente que permite que as trocas gasosas ocorram sobre os cirros, prosoma e superfície do manto (Norton, 1996). Segundo Lewis (1981), para *P. polymerus* existe uma mudança na estratégia de alimentação, de juvenis para adultos, ou seja, os juvenis apresentam batimento dos cirros e à medida que vão crescendo, até chegarem à fase adulta, esse batimento cessa e passam a apresentar uma extensão completa dos cirros, contrariamente ao sugerido por Norton (1996) para *P. pollicipes*, em que não existe esta mudança.

A atividade dos cirros de *Pollicipes* sp. parece estar relacionada tanto com a alimentação como com a respiração, podendo variar entre cirros retraídos com um capítulo aberto, extensão rítmica dos cirros, para extensão prolongada acompanhada pelo movimento de cirros em curvatura que transportam alimento para os aparelhos bucais (Norton, 1996). Sabe-se que a qualidade do alimento e o fluxo hídrico influenciam a resposta alimentar em *P. pollicipes* (Barnes & Reese, 1959; Norton, 1996; Cribeiro, 2007), embora os efeitos das taxas de fluxo, temperatura, quantidade e qualidade nas taxas de ingestão e comportamento alimentar permaneçam pouco investigados.

## 1.5 - Pesca e Conservação de *P. pollicipes*

*P. pollicipes* pode ser considerado o mais importante recurso económico intertidal em Espanha e Portugal (Molares e Freire, 2003; Sousa *et al.*, 2013), sendo que o seu valor comercial pode variar de 20 a 200 euros por quilo em restaurantes. A gestão da pesca de *P. pollicipes* pode ser dividida em sistemas de co-gestão em prática na Galiza (Molares e Freire, 2003) e nas Astúrias (Rivera *et al.*, 2014), e em sistemas centralizados pelo Estado ou região, como no País Basco (Borja *et al.*, 2006b) e em Portugal (Sousa *et al.*, 2013). Na Galiza e nas Astúrias, os pescadores e as autoridades regionais participam nos processos de gestão e recolha de dados (co-gestão) e existem dados oficiais e representativos sobre esta pescaria (Macho *et al.*, 2013; Molares e Freire, 2003; Rivera *et al.*, 2014). Ao contrário, em Portugal, a maior parte das capturas é vendida diretamente a intermediários ou ao consumidor final, sem regulamentação, não havendo, portanto, estimativa da pressão real sobre este recurso.

Os regulamentos específicos sobre a pesca de *P. pollicipes*, em Portugal, são diferentes ao longo da costa e têm mudado frequentemente (Sousa *et al.*, 2013; Cruz *et al.*, 2015). Podem ser identificadas quatro regiões com regulamentações diferentes: a “Reserva Natural das Berlengas” (RNB), o “Parque Marinho Prof. Luiz Saldanha” (PMLS), o “Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina”, PNSACV (incluindo o Cabo de Sines), e o resto da costa, onde é aplicada uma regulamentação nacional (Sousa *et al.*, 2013). A RNB é o local onde a apanha recreativa de *P. pollicipes* não é permitida e onde a regulamentação para a captura profissional de percebes começou em Portugal (1989, modificada em 2000 e 2011), incluindo encerramentos espaciais e temporais, um número limitado de licenças de apanha, tamanho e limites de saco e relatórios de captura nos diários de bordo (Jacinto *et al.*, 2010; Jacinto *et al.*, 2011). No PMLS, a captura de percebes é proibida desde 2005. No PNSACV, a apanha profissional está sujeita a regulamentações específicas desde 2006 (modificadas em 2008 e 2011), enquanto a pesca recreativa tem regulamentações específicas desde 2009 (alterada em 2011), ambos incluindo encerramento espacial e temporal e tamanho e limites de saco (Sousa *et al.*, 2013). Na restante da costa, foi implementada uma legislação geral para a exploração profissional (desde 2000, alterada em 2006 e 2010) e uma para a pesca recreativa (desde 2006, alterada em 2009 e 2014), e ambas incluem limites de tamanho e encerramentos temporais (Sousa *et al.*, 2013).

Na RNB, observou-se que a biomassa média de *P. pollicipes* nos níveis superiores da zona intertidal onde esta espécie é abundante aumentou ligeiramente de 2006 a 2011 (5.6 kg.m<sup>-2</sup> para 6.3 kg.m<sup>-2</sup>), ao contrário do que aconteceu nos níveis inferiores, em que a biomassa média apresentou um decréscimo, no mesmo intervalo de tempo (1.6 kg/m<sup>-2</sup> para 0.7 kg/m<sup>-2</sup>) (Cruz *et al.*, 2015). No mesmo estudo, foi também possível observar que apenas nos níveis inferiores do intertidal se observou uma diminuição na abundância de percebes grandes, em 2011. Na região Centro, com base em inquéritos a pescadores profissionais, a grande maioria dos pescadores desta região considerou que a quantidade de percebes diminuiu de 2009 a 2013 e que os percebes se tornaram menores durante este período. Comparando os valores de biomassa e tamanho obtidos em 2011 entre o Centro e a RNB foi observado que a biomassa nos níveis superior e inferior foi menor na região Centro (2.4 kg.m<sup>-2</sup> e 1.2 kg.m<sup>-2</sup>, respetivamente) do que na RNB (6.3 kg.m<sup>-2</sup> e 1.6 kg.m<sup>-2</sup>, respetivamente) e a frequência de indivíduos maiores (RC > 20 mm) foi mais baixa na região Centro, em ambos os níveis (Sousa *et al.*, 2013; Cruz *et al.*, 2015). Relativamente ao PNSACV, a maioria dos apanhadores considerou que a quantidade de percebes não se alterou nos cinco anos anteriores, quando inquiridos em 2002 e em 2013. Contudo, em relação ao tamanho dos percebes, a grande maioria dos apanhadores relatou que o tamanho do percebe se tornou menor nos cinco anos anteriores a 2002, e referiram também que entre 2009 e 2013 os percebes eram similares em tamanho. Comparando os valores de biomassa e tamanho obtidos entre o PNSACV e a RNB observou-se que a biomassa nos níveis superiores e inferiores foi menor no PNSACV (2,6 kg/m<sup>2</sup> e 0,7 kg/m<sup>2</sup>, respetivamente) do que na RNB (6.3 kg.m<sup>-2</sup> e 1.6 kg.m<sup>-2</sup>, respetivamente) e a frequência de indivíduos maiores (RC > 20 mm) foi mais baixa no PNSACV, em ambos os níveis (Sousa *et al.*, 2013; Cruz *et al.*, 2015).

Com base em Cruz *et al.* (2015), foi sugerida uma tendência geral negativa do estado da pesca e da conservação deste recurso em todas as regiões, usando diferentes métodos, com exceção de uma tendência estável observada no PNSACV (decidida com base em inquéritos). Relativamente à gestão desta pesca, foi considerada uma prática de gestão fraca no Centro e no PNSACV, e uma gestão aceitável foi inferida para a RNB (Cruz *et al.*, 2015). O facto de a região Centro não fazer parte de uma área marinha protegida, da inexistência de licenças específicas para a exploração de percebes, e a proximidade de grandes cidades (como

Lisboa e Cascais) poderá explicar o estado pior do recurso nesta região. Em oposição, os valores mais positivos relatados para a RNB estão provavelmente relacionados por ser uma área marinha protegida, onde a apanha recreativa não é permitida, por ter sido a primeira área a estipular regras de gestão para a exploração de *P. pollicipes* em Portugal e, para além disso, uma vez que se trata de um grupo de ilhas, as costas rochosas são mais inacessíveis (Cruz *et al.*, 2015). O preço de primeira venda de *P. pollicipes* sofreu uma diminuição entre 2009 e 2013, segundo os apanhadores profissionais, devido à exploração excessiva e à crise económica que afetou Portugal. Perante tais resultados relativos à gestão e pesca de *P. pollicipes* em Portugal, Cruz *et al.* (2015) concluíram que existe exploração excessiva, vigilância insuficiente e falta de associação e união entre os pescadores.

Na Galiza, a implementação de um sistema de co-gestão antes dos anos 90 inverteu a sobreexploração de *P. pollicipes* (Molares e Freire, 2003), na medida em que as associações de pesca e a administração das pescas partilham a gestão deste recurso com base nos direitos de uso territorial da pesca (TURFs) e em “Barefoot Fisheries Advisors” (BFAs) (Molares e Freire, 2003). Os BFAs foram considerados um fator chave na gestão da pesca, ajudando a fornecer dados de boa qualidade e atuam como um elo essencial entre as diferentes partes interessadas (pescadores, gerentes e cientistas) (Macho *et al.*, 2013). Estas boas práticas dos sistemas de co-gestão devem ser importadas e adaptadas para Portugal, onde duas regiões poderiam atuar como regiões piloto, para testar essa mudança, o PNSACV e a RNB, uma vez que nestas regiões existe recetividade a esta mudança (Cruz *et al.*, 2015).

## 1.6 - Aquacultura

Apesar da importância comercial de várias espécies de cirrípedes, o desenvolvimento de atividades associadas à aquacultura é limitado a poucas espécies (López *et al.*, 2010). A crescente preocupação com o esgotamento dos *stocks* naturais e as consequentes medidas de proteção (por exemplo, Borja *et al.*, 2006a, 2006b; Castro, 2004; Jacinto *et al.*, 2010) aumentaram o interesse no potencial de *P. pollicipes* para a aquacultura, contudo, o conhecimento atual sobre o potencial da aquacultura, as condições exigidas e a viabilidade de produção é limitado. Poucos estudos abordaram questões-chave relativas ao acondicionamento de reprodutores (Cribeiro, 2007; Franco *et al.*, 2015), desenvolvimento larvar sob condições de cultivo (Molares *et al.*, 1994a, 1994b; Kugele & Yule, 1996; Franco *et al.*, 2017), assentamento larvar laboratorial e recrutamento na natureza (Kugele e Yule, 1996; Cruz, 2000; Cruz *et al.*, 2010) ou crescimento juvenil (Cribeiro, 2007; Franco, 2014). As condições de cultivo de *P. pollicipes*, usadas na maioria dos casos, foram principalmente extrapoladas das condições na natureza. Consequentemente, as condições ambientais ótimas de cultivo permanecem desconhecidas (Franco, 2014). Como observado por Barnes (1996), no entanto, na natureza, fatores como luz, temperatura e alimento são considerados entre os fatores dominantes que afetam o ciclo biológico. Os desafios de produção abrangem todo o ciclo de vida desta espécie e vão desde o acondicionamento de reprodutores, à eclosão e assentamento de larvas, bem como ao crescimento juvenil (Franco, 2014). Contudo, o principal entrave ao cultivo de *P. pollicipes* é, sem dúvida, o assentamento larvar (Molares *et al.*, 1994a, 1994b; Kugele & Yule, 1996; Cribeiro 2007; Franco *et al.*, 2015, 2017), principalmente devido ao facto de o assentamento ser especialmente intenso em adultos conspecíficos (Molares *et al.*, 1994a; Cruz *et al.*, 2010). Enquanto alguns dos fatores que determinam a seleção do local de assentamento são bem conhecidos para algumas espécies de cirrípedes (Clare, 2011), os sinais necessários para estimular o assentamento de espécies como *P. pollicipes* em substratos artificiais não são bem compreendidos (Franco, 2014). Apesar das atuais barreiras ao cultivo de *P. pollicipes*, esta é uma espécie promissora para a aquacultura e o sucesso traria benefícios económicos, sociais e ecológicos.

A craca gigante “picoroco” (*Austromegabalanus psittacus*) é única espécie de cirrípede em que os estudos avançaram de cultivos experimentais até aos semi-industriais, na costa chilena (López *et al.*, 2012). Relativamente a esta espécie, tem sido demonstrado que os níveis de recolha de larvas e juvenis da natureza permitem o desenvolvimento de cultivos comerciais, assim como as taxas de crescimento registadas permitem que indivíduos de tamanho comercial sejam obtidos num curto período de tempo (López *et al.*, 2010).

### 1.6.1 – Acondicionamento de reprodutores, reprodução e cultivo larvar

O controlo da reprodução de *P. pollicipes* é essencial para uma aquacultura comercial sustentável, garantindo o fornecimento de larvas e reduzindo a dependência dos ciclos reprodutivos naturais (Franco *et al.*, 2017). A reprodução e a eclosão larvar podem ser alcançadas em cativeiro (Molares *et al.*, 1994a; Kugele e Yule, 1996; Franco *et al.*, 2017) no entanto, a eclosão larvar foi escassa e a recolha de larvas esporádica. Para além disso, poucos estudos de *P. pollicipes* em condições laboratoriais estabeleceram controlos rigorosos de temperatura ou monitorizaram a condição reprodutiva e a qualidade larvar desta espécie (por exemplo, Kugele e Yule, 1996; Franco *et al.*, 2015, 2017).

Molares *et al.* (1994a) descreveram o desenvolvimento larvar de *P. pollicipes* em condições laboratoriais e analisaram as diferenças morfológicas das diferentes fases larvares desta espécie. Este estudo foi baseado no desenvolvimento das lamelas de ovos retiradas de percebes adultos. Com base em Molares *et al.* (1994) foi possível observar que: o período de incubação variou de 1 a 25 dias, dependendo do grau de maturação inicial das lamelas de ovos; a duração do primeiro estado larvar (náuplios I) durou entre 2 a 24 horas e não foi observada atividade de alimentação neste estado, em contraste, como o que foi observado nos estados larvares seguintes, onde foi notada uma paragem frequente na natação para se alimentarem. O primeiro estado *cypris* foi observado 23 dias após a eclosão, e 28.3% das larvas atingiram este estado no dia 28 (Molares *et al.*, 1994). A larva *cypris* não exibiu atividade de alimentação e os seus movimentos eram mais rápidos do que os observados nos náuplios, contudo o assentamento não foi alcançado (Molares *et al.*, 1994).

Franco *et al.* (2015) investigaram o efeito da temperatura no acondicionamento de reprodutores de *P. pollicipes*, bem como o seu desenvolvimento reprodutivo, referindo índices de fecundidade, de desenvolvimento de lamelas de ovos, padrões de eclosão de larvas, número total de náuplios eclodidos, tamanho e sobrevivência dos percebes. Para além disso, esta autora procurou estabelecer um protocolo de acondicionamento de reprodutores viável para esta espécie e monitorizar fatores como o crescimento e a sobrevivência de adultos, devido à sua relevância para a avaliação da aptidão reprodutiva. Para tal, os indivíduos foram colocados numa rede (1 cm<sup>2</sup>/malha quadrada), suspensos a metade da altura da coluna de água dos aquários e distribuídos por três sistemas de recirculação com condições turbulentas. Os regimes de temperatura utilizados foram: a manutenção de uma temperatura constante de 16°C (do dia 1 ao dia 28); aumento de 16°C (no dia 1) para 24°C (no dia 28), com flutuações diárias de ± 1°C; e aumento da temperatura de 16°C (no dia 1) para 24°C (no dia 28) sem flutuações. Os organismos foram também sujeitos a condições simuladas de ciclo de maré durante 3h, deixando os percebes expostos ao ar. A alimentação diária incluiu *Artemia sp.* (4% do peso seco por dia), duas horas antes do início da exposição ao ar. Nos tratamentos onde os indivíduos foram sujeitos a um aumento da temperatura, foram observados picos de eclosão, quando a temperatura de aproximava de 20°C, indicando que essa temperatura podia ser relevante para acionar a reprodução. Os reprodutores mantidos com variações diárias de temperatura mostraram resultados ligeiramente melhores em termos de índice de desenvolvimento da lamela, maturação da lamela e tempo entre os picos de eclosão. Em geral, é aceite que para *P. pollicipes*, o aumento da temperatura desencadeia a reprodução, e isso é

corroborado pelos resultados de Franco *et al.* (2015). No entanto, não foram observadas diferenças significativas entre o número total de larvas eclodidas. Além disso, a análise do tamanho dos náuplios e a sobrevivência não revelaram diferenças entre as larvas extraídas das lamelas e eclodidas, validando ambos os protocolos.

Uma tentativa de estabelecer as condições ótimas de temperatura, dieta, fotoperíodo e salinidade para a criação de larvas de *P. pollicipes* até ao estado *ciprys* foi também elaborada por Franco *et al.* (2017). Para tal, as larvas foram sujeitas a uma variedade de temperaturas (11, 15, 20, 22 e 24° C), diferentes monodietas e dietas mistas (*Isochrysis galbana*; *Tetraselmis suecica*; *Skeletonema marinoi*; *I. galbana* e *S. marinoi*; *I. galbana* e *T. suecica*, e *T. suecica* e *S. marinoi*), diferentes fotoperíodos (24:0, 16:8, 8:16 e 0:24 L:D) e uma gama de salinidades (20, 30 e 40), seguindo o seu crescimento, sobrevivência e qualidade até ao estado *ciprys*. Através desse estudo foi possível observar que o crescimento e a sobrevivência melhorados podem ser obtidos com temperaturas entre 15 e 20°C, uma alimentação diária com *T. suecica* e *S. marinoi* ou *I. galbana* e *S. marinoi* e um fotoperíodo de 24:0 L:D. O uso de temperaturas acima de 20°C aumentou significativamente a mortalidade e reduziu o número de *ciprys*, enquanto a temperatura mais baixa (11°C) prolongou o período de crescimento, o que levou a uma maior mortalidade. As larvas alimentadas com uma monodieta de *S. marinoi* e dietas mistas contendo essa espécie apresentaram a maior percentagem de larvas de alta qualidade e sobrevivência até ao estado *ciprys*. Nenhum efeito foi observado em relação à salinidade, sugerindo que as larvas de *P. pollicipes* toleram uma ampla gama de salinidades.

A literatura sugere que o tempo de desenvolvimento mínimo para *P. pollicipes* desde a eclosão até ao estado *ciprys* é de 23-28 dias a 20°C (Molares *et al.*, 1994a), 11–24 dias a 15–24°C (Kugele e Yule, 1996) e, 10-15 dias a 11-24°C e 15-16 dias a 20°C (Franco *et al.*, 2017). É interessante notar que durante o pico da estação reprodutiva de *P. pollicipes* na natureza (Junho a Agosto) a temperatura normalmente aproxima-se de 20°C concordando com os resultados atuais para melhor desempenho larvar (Franco *et al.*, 2017). A diferença no tempo de desenvolvimento entre os estudos pode ser provavelmente devida a diferenças consideráveis na quantidade e qualidade da alimentação (Franco *et al.*, 2017). As necessidades alimentares e nutricionais são de elevada importância para o sucesso do cultivo larvar de vários cirrípedes (Moyses, 1963; Lewis, 1975), contudo, são escassos os estudos referentes à alimentação em *P. pollicipes* (Franco *et al.*, 2017). A otimização da dieta de larvas de *P. pollicipes* é essencial para fechar o ciclo de vida desta espécie em condições laboratoriais, já que o assentamento pode ser comprometido (Franco *et al.*, 2017).

Apesar da tentativa de acondicionamento de reprodutores e consequente reprodução e cultivo larvar (Molares *et al.*, 1994b; Kugele e Yule, 1996; Franco *et al.*, 2015; Franco *et al.*, 2017), as condições ótimas ainda não foram identificadas. O assentamento larvar, no entanto, continua a ser, de longe, o entrave mais significativo (Franco, 2014).

### 1.6.2 – Engorda

Existem alguns estudos feitos relativamente à engorda de *P. pollicipes*, incidindo sobretudo no estudo do comportamento alimentar, nas condições hidrodinâmicas e no ciclo de maré, bem como no seu efeito no crescimento e sobrevivência dos percebes (Norton, 1996; Cribeiro, 2007; Franco, 2014).

No estudo de Cribeiro (2007), os percebes foram recolhidos removendo parte da rocha onde os mesmos se encontravam e transportados para aquários, de circuito fechado, a uma temperatura de 15°C, pH de 7.9 e níveis de oxigénio entre 90-100%. Os percebes foram alimentados três vezes por semana com diferentes dietas: peixe, pota, lula, mexilhões, artémia

viva, artémia congelada, e com uma ração comercial para dourada. Para manter um ambiente turbulento foi utilizada uma técnica de tanques autosifonantes, havendo descargas de turbulência a cada 5 minutos que, com a utilização de uma bomba de recirculação, permitiu alcançar um forte hidrodinamismo. Cribeiro (2007) observou que após desconectar as bombas de fluxo todos os percebes adultos (>15 mm RC) cessaram a sua atividade, fechando o *capitulum* e, ocasionalmente, sem estímulos externos, realizaram movimentos lentos de extensão e contração dos cirros, nunca alcançando extensão total. Por outro lado, os juvenis (<15 mm RC) apresentaram uma atividade constante, sem qualquer estímulo externo, mantendo uma extensão completa dos cirros durante a maior parte do tempo. Relativamente ao alimento, Cribeiro (2007) observou uma maior apreciação por artémia viva, a artémia congelada foi também aceite, mas em menor grau. Experiências com ração comercial para dourada ou com pedaços de peixe, cefalópodes e mexilhões mostraram uma baixa aceitação por parte dos percebes e foi também observada alguma rejeição dos alimentos, o que confirma a capacidade de discriminar o alimento antes da sua ingestão. Em relação à mortalidade, mesmo sob condições desfavoráveis, como por exemplo com alimentos inertes e baixa turbulência, não foi registada mortalidade acentuada. Contudo, Cribeiro (2007) observou que indivíduos mais distantes da turbulência apresentaram maior mortalidade, talvez porque o movimento da água não era suficiente para a respiração, ou pelo baixo fornecimento de alimento.

Por sua vez, Norton (1996) observou que adultos *P. pollicipes* (11.9 mm RC) foram capazes de ingerir presas de *Artemia salina* até 6.64 mm de comprimento, enquanto juvenis (5.5 – 6.6 mm RC) ingeriram presas de até 3.9 mm. Observações como estas devem ser consideradas ao alimentar populações mistas de *P. pollicipes*, a fim de fornecer uma variedade de tamanhos de presas. Para *P. pollicipes*, Norton (1996) observou que, embora as células de algas (*R. reticulata*, *S. costatum* ou *B. plicatillis*) sejam frequentemente ingeridas, elas são insuficientes para manter a massa corporal. Foi também observado que o batimento dos cirros ocorreu apenas em águas estáticas e que em taxas de fluxo acima de  $14 \text{ cm.s}^{-1}$ , os indivíduos mudaram o seu comportamento para extensão prolongada dos cirros, com o batimento mais relacionado à respiração. A mesma autora avaliou a frequência de batimento a temperaturas entre 16 e 24°C e identificou um aumento à medida que a temperatura foi aumentada. Esta resposta foi presumivelmente relacionada à respiração, uma vez que nenhum alimento foi fornecido.

Franco (2014) observou as diferenças de comportamento entre percebes acondicionados (mantidos em aquários durante 6 meses, anteriormente à experiência) e não acondicionados (mantidos apenas por 24-48 horas), relativamente a várias condições hidrodinâmicas às quais foram sujeitos (3, 6, 12, 23, 32, 64  $\text{cm.s}^{-1}$ ). O comportamento alimentar dos indivíduos foi analisado, no entanto, isso foi feito observando cada indivíduo agrupado singularmente, analisando a taxa de captura, as taxas de rejeição e ingestão e as classes comportamentais. A taxa de captura foi calculada contando o número de vezes, num minuto, que os cirros de cada percebe se enrolaram para a abertura bucal. Desta forma, relatou que indivíduos não acondicionados alimentaram-se menos ativamente em contacto com fluxos de água mais baixos, ao contrário do que foi observado em indivíduos acondicionados, que se alimentaram ativamente nessas condições. Isso sugere que os percebes são capazes de alterar a sua resposta à hidrodinâmica durante o acondicionamento ao cativeiro. Contudo, é necessário que haja um fluxo mínimo para estimular a alimentação.

Franco (2014) testou também o comportamento dos percebes relativamente ao tipo de alimento (náuplios vivos de *Artemia* sp. (25  $\text{ind.ml}^{-1}$ ); náuplios congelados de *Artemia* sp.

(25 ind.ml<sup>-1</sup>); *Brachionus plicatillis* (25 ind.ml<sup>-1</sup>); copepodites de *Tisbe battagliai* (25 ind.ml<sup>-1</sup>); *Tetraselmis chuii* ( $\geq 1000 \mu\text{gC.l}^{-1}$ ); *I. galbana* ( $\geq 1000 \mu\text{gC.l}^{-1}$ ); *Daphnia* sp. seca por congelação e pellet). Foi então observado um comportamento captorial em contacto com presas vivas, como *Artemia* sp., *B. plicatillis* e *T. battagliai*. *Artemia* sp. viva ( $508 \pm 22 \mu\text{m}$  de comprimento) promoveu uma maior resposta alimentar em *P. pollicipes*, sendo muito consumida, provavelmente devido ao seu tamanho relativamente grande comparado aos náuplios de *B. plicatillis* e *T. battagliai*. Comparando as taxas de ingestão de náuplios de *Artemia* sp. vivos e congelados, Franco (2014) observou que estas diferiram acentuadamente, o que pode ser consequência da menor biodisponibilidade de artémia congelada, não se dispersando uniformemente na coluna de água e sedimentando, apesar do movimento da água. Por sua vez, as dietas inertes não estimularam a alimentação em *P. pollicipes* e não foram consumidas, que está de acordo com Cribeiro (2007) que relatou que *P. pollicipes* não se alimentava de dietas inertes, rejeitando principalmente peixe, cefalópodes, mexilhões, pellets de alimento para robalo e *Artemia* sp. congelada. Foi também sugerido por Franco (2014) que existe um número máximo de presas capturadas por hora que os juvenis são capazes de ingerir, na medida em que não foram observadas diferenças no comportamento nem no crescimento dos percebes, utilizando três densidades diferentes de *Artemia* sp. (7, 12 e 25 náuplios.ml<sup>-1</sup>), o que leva a crer que não era limitante, e poderia ser considerada em excesso nalguns casos.

Para além disso, foi observado que o aumento da temperatura aumenta significativamente as taxas de ingestão, dentro das três temperaturas testadas por Franco (2014) (11, 15 e 20°C), o que pode ser devido a um aumento na atividade e no metabolismo. Contudo, um maior consumo não quer necessariamente refletir maiores taxas de crescimento e sobrevivência. A mesma autora sugere então que o crescimento de *P. pollicipes* é maior em torno de 15°C a 20°C, enquanto o crescimento é comprometido a 11°C, mas sem efeito na sobrevivência. Temperaturas acima de 15°C não favorecem necessariamente o crescimento, pois a energia pode ser transferida para a reprodução, o que pode afetar o metabolismo.

O efeito do aumento da quantidade de alimentos no comportamento alimentar dos percebes foi também investigado por Franco (2014), através da administração de quantidades crescentes de náuplios de *Artemia* sp., até a saturação ser atingida (5 náuplios.ml<sup>-1</sup> a 0 min; 10 náuplios.ml<sup>-1</sup> a 20 min; 15 náuplios.ml<sup>-1</sup> aos 40 min; 25 náuplios.ml<sup>-1</sup> aos 60 min; e 35 náuplios.ml<sup>-1</sup> a 80 min, até que não era adicionada mais comida). O consumo máximo de alimento atingiu 33,60 J.ind<sup>-1</sup>, ao longo de 240 min, embora uma assíntota tenha sido atingida aos 120 min a 27 J.ind<sup>-1</sup>, indicando o início da saturação. Isto sugere que foram consumidas aproximadamente 6 artémias por minuto; um valor significativamente abaixo do que foi relatado durante a observação dos movimentos de captura. Tais resultados foram obtidos ao longo de 4 horas de observação, o que leva a crer que a alimentação poderia ser maior caso fosse dado um período de descanso seguido de realimentação (Franco, 2014).

De forma a investigar diferentes condições de alimentação, Franco (2014) utilizou também outros tratamentos: alimentação diária com náuplios de *Artemia* sp.; alimentação de dois em dois dias com náuplios de *Artemia* sp.; alimentação a cada 3 dias com náuplios de *Artemia* sp.; alimentação diária com microalgas *Tetraselmis chuii*; alimentação diária com dieta mista de *Artemia* sp. e *T. chuii*; e alimentação a cada 3 dias com uma dieta mista de copepodites de *Tisbe battagliai* e microalga *T. chuii*. Através destes tratamentos, pôde concluir que *Artemia* sp. administrada diariamente levou a maiores taxas de crescimento e sobrevivência, com um melhoramento no crescimento com a frequência de alimentação, mas sem melhora quando se utilizam dietas mistas com microalgas. Simulando as condições do ciclo de maré a mesma autora observou, por sua vez, que o maior crescimento foi observado

em percebes mantidos sem ciclo de maré, presumivelmente através do aumento das oportunidades de alimentação e crescimento, mas não foram observadas diferenças na sobrevivência. Por outro lado, o fotoperíodo não apresentou efeitos no crescimento.

Indivíduos menores (entre 0 e 5 mm RC) apresentaram um maior crescimento ( $1.14 \pm 0.20$  mm RC.mês<sup>-1</sup>) do que indivíduos maiores (entre 5-20 mm RC; 0.34 a 0.61 mm RC.mês<sup>-1</sup>) em todas as experiências (Franco, 2014). O crescimento médio e a taxa de mortalidade máximos foram de  $0.81 \pm 0.11$  mm RC.mês<sup>-1</sup> e de 1.37%.mês<sup>-1</sup>, para percebes mantidos no escuro, sem influência das marés e alimentados diariamente com náuplios de *Artemia* sp, contudo, caso sejam considerados apenas juvenis com  $\leq 10$  mm RC, estes valores aumentam consideravelmente. Foi também observado por Franco (2014) que indivíduos, maioritariamente os não acondicionados, realizaram uma maior taxa de batimentos dos cirros, o que pode estar relacionado à baixa hidrodinâmica sentida nos tanques, em relação ao habitat selvagem. Os percebes exibiram também alterações na morfologia em comparação com indivíduos selvagens (por exemplo, placas capitulares rosa, descalcificação de placas e deformação da placa), contudo, com a transferência destes indivíduos para a natureza, durante 6 meses estas alterações foram reversíveis (Franco, 2014). O período estimado de crescimento dos juvenis até ao tamanho comercial é de 18 a 24 meses em condições laboratoriais, seguido por um período de crescimento na natureza de aproximadamente 6 meses (Franco, 2014).

Resumindo, existe ainda a necessidade de realizar estudos para verificar a relação entre a aceitabilidade dos alimentos e as taxas de crescimento e sobrevivência, bem como para perceber as quantidades de alimento que podem ser usadas, a duração e a frequência de alimentação. As taxas de crescimento do percebe variam de acordo com a eficiência de captura do alimento, o conteúdo energético dos alimentos, bem como com a capacidade de digerir e assimilar os componentes nutricionais, e a artémia parece preencher todos estes requisitos. É aconselhável utilizar fluxos elevados (entre 23 e 32 m.s<sup>-1</sup>) no cultivo de *P. pollicipes*, em condições laboratoriais, que pode ser diminuído ligeiramente, a velocidades não inferiores a 6 m.s<sup>-1</sup>, sem comprometer o comportamento alimentar. É também importante notar que o fluxo exagerado (por exemplo, 62 cm.s<sup>-1</sup>) tem um efeito inibidor no comportamento alimentar, uma vez que os indivíduos têm dificuldade em manter a rede de cirros aberta e enrolar os cirros quando são encontradas presas. Além disso, em correntes excessivas de água, observou-se frequentemente que os alimentos se perdiam tanto nos cirros quanto no interior do cone oral, dificultando a eficiência alimentar. O uso de dietas alternativas deve ser investigado para melhorar o perfil nutricional e assegurar a disponibilidade adequada do tamanho de partícula, qualquer que seja o tamanho do percebe.

Apesar da aparente tolerância de *P. pollicipes* à má qualidade da água, outros fatores potencialmente cruciais como pH, dureza da água, oxigénio dissolvido, amónia, nitritos e nitratos não foram testados e forneceriam informações úteis sobre a adequação dos sistemas de criação. Da mesma forma, as condições ambientais ótimas permanecem desconhecidas, principalmente devido à alta tolerância dessa espécie a uma série de condições (Franco, 2014). Além dos principais fatores de monitorização da produção, como crescimento e sobrevivência, outros fatores relevantes como morfologia externa, sabor e perfil nutricional, também devem ser considerados, pois são dependentes de espécies, nutrição e condições ambientais durante o acondicionamento. Portanto, fatores ambientais que possam induzir alterações na aparência e morfologia externa de *P. pollicipes* devem ser investigados, como pode ser observado no caso do “percebe mijão”, que não possui valor de mercado, devido ao seu alongamento do pedúnculo e alto teor de água (Cruz, 1993; Cribeiro, 2007). Além disso, o uso de dietas

adequadas é essencial para o desenvolvimento e a pigmentação (por exemplo, Barnes e Reese, 1960; Cruz, 2000; Cribeiro, 2007). Mais estudos são necessários para determinar as taxas máximas de crescimento e as condições necessárias para alcançá-los, com foco nos sistemas e protocolos, imperativo para maximizar a sobrevivência e alcançar adultos de alta qualidade.

### 1.6.3 - Substrato artificial, “barticle”

Apesar de todas estas informações sobre o efeito de alguns fatores ambientais no crescimento e na sobrevivência de *P. pollicipes* em condições laboratoriais, as tentativas de indução da fixação de larvas em diferentes tipos de substrato não têm tido muito sucesso (Lewis, 1975, e Kugele e Yule 1996), sendo a utilização do substrato rochoso, retirado da natureza, uma técnica insustentável. Existe, portanto, a necessidade de garantir o assentamento num substrato artificial, que poderia ter implicações positivas importantes para o cultivo comercial e para a conservação desta espécie. Para resolver este problema, foi recentemente desenvolvido um substrato artificial, o “barticle”, que permite a fixação de larvas *cypris* e a metamorfose e crescimento para o estado juvenil/adulto (Cruz *et al.*, 2016; Pedido de patente em curso, ver Universidade de Évora, 2017). O “barticle” é um substrato artificial constituído por uma bucha de *nylon* com estrias longitudinais de 8 mm e um parafuso de inox de 40 mm (Cruz *et al.*, 2016; Pedido de patente em curso, ver Universidade de Évora, 2017). Através deste substrato foi possível verificar a fixação larvar e o recrutamento em zonas onde o percebe é abundante, bem como um elevado crescimento e sobrevivência quando os “barticles” com percebes fixos são transplantados para placas de PVC e colocados numa plataforma flutuante. Para a sua implantação no habitat natural, é feito um buraco na rocha, onde será colocado e, mais tarde, será recolhido com percebes, com uma idade máxima conhecida (Fig. 4). Estes “barticles” são facilmente transplantados para outras condições e podem ser usados em laboratório e o habitat natural não é tão afetado.

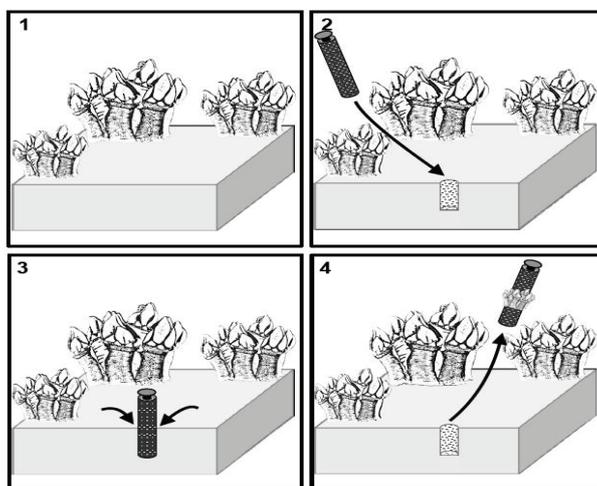


Figura 5 - Implantação do barticle na rocha (em Universidade de Évora (2917))

## 1.7 - Objetivos

Como foi anteriormente mencionado, apesar do valor económico de *P. pollicipes* e do elevado interesse na aquacultura desta espécie, as informações sobre o seu cultivo ainda são limitadas. Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo geral o estudo do crescimento e da sobrevivência do percebe, em condições laboratoriais, através da utilização pioneira de um novo substrato, o “barticle”, que permite transferir juvenis e adultos com idade máxima conhecida do terreno para condições laboratoriais.

Foram realizadas duas experiências com os objetivos específicos seguintes: estudar o efeito da densidade de alimento (2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) e das condições hidrodinâmicas (baixo, médio e elevado fluxo) na sobrevivência e crescimento do percebe; e estudar o efeito do tipo de alimento (artémia e ração) e da frequência de alimentação (todos os dias, de dois em dois dias e de três em três dias) no crescimento e sobrevivência do percebe.

## 2 - Materiais e Métodos

### 2.1 - Obtenção de percebes

De modo a iniciar as experiências, foram recolhidos percebes selvagens fixos em “barticles” que foram implantados no nível médio intertidal de um local do Cabo de Sines (Fig. 5), Portugal (37° 57'53"N, 8° 52'56"W) em que os percebes são abundantes. Os “barticles” usados nas experiências foram colocados no terreno em julho de 2016 e em julho de 2017, tendo sido recolhidos e transportados para as instalações de cultivo (CIEMAR, Sines) no início de cada experiência. Para a primeira experiência, iniciada a 5 de dezembro de 2017, foram recolhidos 130 barticles (72 de 2016 e 60 de 2017) em que cada barticle apresentava uma média de  $5 \pm 6.9$  percebes (plantados em 2017) e de  $24 \pm 22.3$  percebes (plantados em 2016). Na segunda experiência, iniciada em 3 de maio de 2018, foram recolhidos 145 barticles (80 de 2016 e 65 de 2017), com uma média de  $3 \pm 3.1$  e  $23 \pm 28.2$  percebes, respetivamente. Cada experiência teve uma duração aproximada de 2 meses, tendo a primeira sido terminada em 7 de fevereiro de 2018, e a segunda em 26 de junho de 2018. Os “barticles” foram depois processados laboratorialmente (ver secção seguinte), tendo no final sido martelados em placas de PVC (largura de 20 cm, comprimento de 42 cm e espessura de 1 cm), que foram posteriormente colocadas nos aquários de 35 L, sendo colocada uma placa em cada aquário (ver secção 2.3). O número de “barticles” de 2016 e de 2017 que foram colocados em cada placa variou consoante a experiência e está referido nas secções 2.4 e 2.5.



Figura 6 - Local de implantação dos "barticles" no Cabo de Sines, assinalado com "•"

### 2.2 - Variáveis dependentes

Após a recolha dos “barticles” do meio natural, os mesmos foram distribuídos aleatoriamente por tabuleiros, para contagens dos em cada “barticle” no início de cada

experiência (dezembro de 2017 e maio de 2018) (daqui em diante esta variável será designada como número inicial) e registos da distância máxima entre as placas *rostrum* e *carina* (RC) (ver figura 2; Cruz, 1993) do maior indivíduo de cada “barticle”. Estas contagens e medições foram feitas com auxílio de uma lupa binocular. Esta última variável não foi analisada estatisticamente, tendo sido recolhida para permitir detetar eventuais erros na identificação dos “barticles” usados em cada um dos tratamentos experimentais.

Para obter a taxa de crescimento mensal, adicionalmente, no início de cada experiência, os “barticles” foram imersos, durante cerca de 22 horas, numa solução com um marcador químico, a calceína (Jacinto et al., 2015), que deixa uma marca visível nas placas de carbonato de cálcio do *capitulum* (figura 7). As placas *scutum* foram observadas e fotografadas, no final de cada experiência, sob um microscópio de dissecação epifluorescente (Leica M165FC com uma fonte de luz UV e filtro GFP3) equipado com câmara digital (Leica DF 295) conectada a um computador. Sempre que foram identificadas marcas de calceína, as seguintes variáveis foram medidas com um *software* de análise digital de imagens (Leica Application Suite v3.8): o comprimento máximo da placa (*sc\_f*) e o comprimento máximo da placa no momento da marcação (*sc\_i*) (figura 7). A diferença de comprimentos é então transformada no incremento mensal de RC, assumindo crescimento linear durante o tempo da experiência.

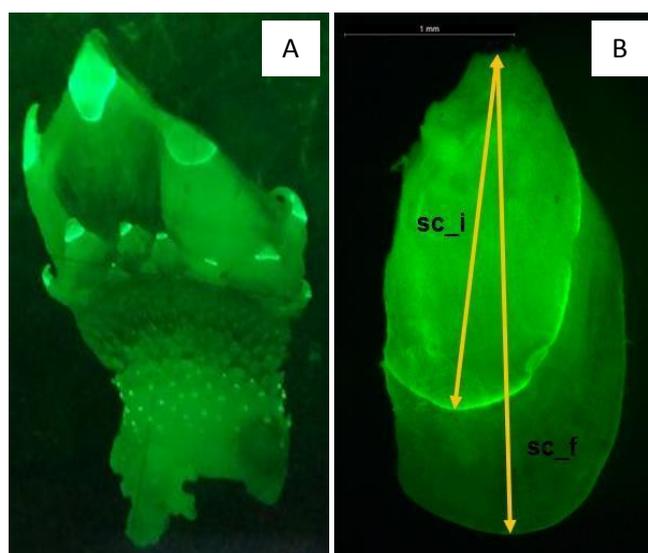


Figura 7 - Juvenil de *P. pollicipes* marcado com calceína (A); placa *scutum* marcada, setas mostram as variáveis medidas (*sc\_i*, comprimento inicial do scutum; *sc\_f*, comprimento final do scutum) (B)

No final de cada experiência (fevereiro e junho de 2018), para além da medição do incremento mensal de RC, foi também medido o número de percebes final por “barticle”, bem como a média de RC dos percebes fixos em cada “barticle”. Estas variáveis foram medidas utilizando uma lupa binocular.

### 2.3 - Sistema de cultivo

O sistema geral de cultivo é composto por quatro sistemas de recirculação (RAS), com um total de doze aquários. Cada sistema consiste em três aquários de 35 L e um filtro de ~117 L, equipado com um refrigerador (Fernando Ribeiro, Lda), filtração mecânica (filtros de lã e esponja), filtração biológica (bio-bolas), escumador (Bubble Magus G7) e luz ultra-violeta. Cada aquário foi equipado com uma pedra de arejamento situada na parte inferior e, para um arejamento contínuo moderado, as pedras foram ajustadas a uma taxa similar para todos os

aquários. A água salgada utilizada nos sistemas foi previamente esterilizada com luz UV e filtrada (filtros de 5, 10 e 20 micras), e a sua qualidade foi monitorizada através do registo diário da temperatura ( $\sim 17.0^{\circ}\text{C}$ ), salinidade ( $\sim 37.0$ ), oxigénio ( $\sim 90\%$ ), pH ( $\sim 8.0$ ), através da utilização do medidor multiparamétrico portátil (WTW Multi 3320). Diariamente foram também recolhidas amostras de água para a determinação da concentração de amónia e nitritos de cada sistema, utilizando o método fotométrico API diariamente e Hanna HI 3826 e 3873 (Hanna Instruments Inc.) semanalmente. Os indivíduos foram sujeitos a um fotoperíodo de 8:16 L/D, e foram distribuídos, aleatoriamente, dois aquários para cada tratamento (ver secções seguintes). Para que todos os “barticles” estivessem sujeitos ao mesmo grau de hidrodinamismo, as placas sofreram uma rotação e inversão diárias.



**Figura 8 - Constituição de uma parte do sistema.**



**Figura 9 - Constituição do filtro.**

## 2.4 - Experiência 1 – Efeito da densidade do alimento e das condições hidrodinâmicas

Nesta experiência foram considerados dois fatores ortogonais entre si: densidade do alimento e condições hidrodinâmicas (tabela 1). Relativamente ao fator densidade do alimento foram considerados dois tratamentos: 2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> de *Artemia* tendo sido utilizados “*Micro Artemia cysts*” da empresa *Ocean Nutrition*. O tratamento de 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> foi baseado nos estudos de Franco (2014), em que esta densidade de *Artemia* foi a densidade mais baixa utilizada, pelo que foi testada uma densidade mais reduzida (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>) do que a utilizada em estudos anteriores. Quanto às condições hidrodinâmicas foram considerados três tratamentos denominados como B, M e E, correspondentes a baixa turbulência (sem utilização de bomba para aumentar a turbulência da água), turbulência média (onde a bomba (Sun Sun Jvp-202 12000 L/h) foi ligada apenas durante o período de alimentação) e elevada turbulência (onde a bomba do mesmo modelo foi mantida ligada durante toda a experiência), respetivamente.

**Tabela 1 - Tratamentos e respetivas abreviaturas utilizadas na primeira experiência em cada um dos fatores testados (condições hidrodinâmicas - baixa, média e elevada; e densidade do alimento - 2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>)**

Condições Hidrodinâmicas	Densidade do Alimento	
	2 náuplios.ml <sup>-1</sup>	7 náuplios.ml <sup>-1</sup>
Baixa turbulência	2B	7B
Elevada turbulência durante o período de alimentação (Média turbulência)	2M	7M
Elevada turbulência durante toda a experiência	2E	7E

O número de “barticles” de 2016 e de 2017 que foram colocados em cada placa foi de 5 e 6, respetivamente. Em cada tratamento foram usados dois aquários/duas placas, tendo a escolha de cada aquário do sistema de cultivo sido feita de forma aleatória do conjunto dos doze aquários.

### 2.4.1 - Análise de dados

Todas as variáveis dependentes foram analisadas através de análise de variância (ANOVA), segundo Underwood (1997), ao fator densidade (fixo e ortogonal) com dois níveis (2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) e ao fator hidrodinamismo (fixo e ortogonal) com três níveis (baixa, média e alta turbulência) a partir do programa IBM SPSS Statistics for Windows, versão 22 (IBM Corporation, Armonk, Nova York, EUA). Para cada variável, foram feitas duas ANOVA, uma para os “barticles” implantados em 2016, e outra para os “barticles” implantados em 2017. No caso da variável número inicial de percebes, o efeito destes fatores é testado na alocação dos barticles/percebes a cada um dos tratamentos, antes da sua aplicação, esperando-se que em relação a esta variável, não sejam detetadas diferenças significativas entre os vários tratamentos de cada fator. O pressuposto da homogeneidade das variâncias foi verificado através do teste de Levene, e os dados foram transformados quando necessário. Sempre que apropriado, foram realizados testes de comparação múltipla de médias de Student-Newman-Keuls (SNK), com base em Underwood (1997). Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (DP) e com um nível de significância de  $p < 0,05$ .

## 2.5 - Experiência 2 – Efeito do tipo de alimento e da frequência de alimentação

Nesta experiência, foram considerados dois fatores: tipo de alimento e frequência da alimentação (tabela 2). Relativamente ao fator tipo de alimento foram considerados três tratamentos, em que dois correspondem ao tipo e densidade de alimento utilizados na experiência 1 (2A e 7A relativos a 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>, respetivamente) e o terceiro tratamento correspondente a ração (R) (*Zebrafeed 200-400 by Sparos*), da qual foi fornecida 1g por aquário. Relativamente ao fator frequência de alimentação, foram considerados três tratamentos, em que 1d, 2d e 3d foram as designações utilizadas para corresponder aos tratamentos de percebes alimentados todos os dias, aos tratamentos de percebes alimentados de dois em dois dias, e aos tratamentos de percebes alimentados de três em três dias, respetivamente. Estes dois fatores não são completamente ortogonais entre si, pois não foram testadas todas as combinações (ver tabela 2), por limitação do número de aquários. O tratamento 2A1d é o único idêntico à experiência 1, o que também permite comparar os valores de um mesmo tratamento nas duas experiências. O tratamento R foi testado em conjunto com os três tratamentos de frequência de alimentação, enquanto o tratamento 2A foi testada em conjunto com dois tratamentos de frequência de alimentação (1d e 2d), e o tratamento 7A foi apenas testado em conjunto com a frequência de alimentação de 2d. No final, foram assim testados seis tratamentos.

**Tabela 2 - Tratamentos e respetivas abreviaturas utilizadas na segunda experiência em cada um dos fatores testados (frequência de alimentação - todos os dias, de 2 em 2 dias e de 3 em 3 dias; e tipo de alimento - 2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> e ração)**

Frequência de alimentação	Alimento		
	2 náuplios.ml <sup>-1</sup>	7 náuplios.ml <sup>-1</sup>	Ração
<b>Todos os dias</b>	2A1d	-	R1d
<b>De 2 em 2 dias</b>	2A2d	7A2d	R2d
<b>De 3 em 3 dias</b>	-	-	R3d

O número de “barticles” de 2016 e de 2017 que foram colocados em cada placa foi de 5 e 7, respetivamente. Em cada tratamento foram usados dois aquários/duas placas, tendo a escolha de cada aquário do sistema de cultivo sido feita de forma aleatória do conjunto dos doze aquários.

### 2.5.1 - Análise de dados

Todas as variáveis dependentes foram analisadas através de uma análise de variância (ANOVA), segundo Underwood (1997), a partir do programa IBM SPSS Statistics for Windows, versão 22 (IBM Corporation, Armonk, Nova York, EUA). O pressuposto da homogeneidade das variâncias foi verificado através do teste de Levene, e os dados foram transformados quando necessário. Sempre que apropriado, foram realizados testes de comparação múltipla de médias de Student-Newman-Keuls (SNK), com base em Underwood (1997). Os resultados são expressos como média ± desvio padrão (DP) e com um nível de significância de  $p < 0,05$ . Para cada variável dependente e para cada data de implantação dos “barticles” no terreno (2016 e 2017), foram feitas as seguintes análises de variância:

- ao fator tipo de alimento com dois tratamentos (2A e R), considerando a frequência de alimentação de 1 dia;
- ao fator tipo de alimento com três tratamentos (2A, 7A e R), considerando a frequência de alimentação de 2 dias;

- ao fator frequência de alimentação com dois tratamentos (1d e 2d), considerando o tipo de alimentação de 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>;
- ao fator frequência de alimentação com três tratamentos (1d, 2d e 3d), considerando o tipo de alimentação de ração.

No caso da variável número inicial de percebes por “barticle”, o efeito de cada um destes fatores é testado na alocação dos barticles/percebes a cada um dos tratamentos, antes da sua aplicação, esperando-se que em relação a esta variável, não sejam detetadas diferenças estatisticamente significativas entre os vários tratamentos de cada fator. 3 - Resultados

### 3.1 - Experiência 1 – Efeito da densidade do alimento e das condições hidrodinâmicas

#### 3.1.1 - Número inicial e final de percebes por “barticle”

Relativamente ao número inicial e final de percebes por “barticle” (n=10 – “barticles” implantados em 2016; n=12 – “barticles” implantados em 2017), espera-se que não existam diferenças entre tratamentos de cada fator e na respetiva interação no número inicial de percebes, e que, conseqüentemente, as diferenças no número final de percebes sejam interpretadas como variação na sobrevivência. Verifica-se, então, através das tabelas 3 e 4 e da figura 8 que, para “barticles” implantados em 2016, não houve diferenças estatisticamente significativas no número inicial e no número final de percebes, pelo que a sobrevivência foi semelhante entre tratamentos de cada fator e não existiram interações significativas. Por outro lado, o valor médio do número inicial de percebes por “barticle” implantado em 2016 é de aproximadamente 25, enquanto o valor médio do número final é de aproximadamente 31, pelo que se constata que a sobrevivência foi elevada.

**Tabela 3 - Resultado da ANOVA do número inicial de percebes por “barticle”, implantados em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=10. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.817). Legenda: g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados.**

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	286.141	0.559	0.458
Hi	2	114.513	0.224	0.800
De X Hi	2	683.867	1.336	0.272
Residual	53	511.893		
Total	59			

**Tabela 4 - Resultado da ANOVA do número final de percebes por “barticle”, implantado em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=10. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.546). Legenda: g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados.**

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	2.300	0.003	0.958
Hi	2	269.174	0.324	0.724
De X Hi	2	788.524	0.950	0.393
Residual	54	830.003		
Total	60			

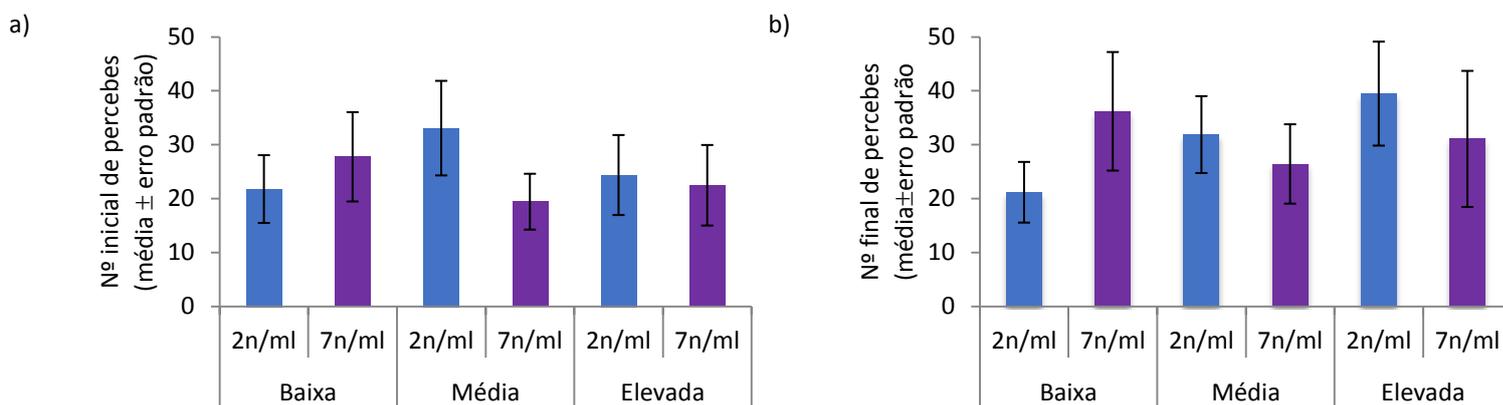


Figura 10 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=10

Por outro lado, para “barticles” implantados em 2017 (fig. 11), foram observadas diferenças estatisticamente significativas no número inicial de percebes relativamente ao fator densidade de alimento, não tendo sido observadas diferenças entre as condições hidrodinâmicas testadas, nem interação entre fatores. Nos tratamentos onde foram fornecidos 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>, o número de percebes inicial da amostra foi sempre superior quando comparado com os tratamentos onde foram fornecidos 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> (tabela 5), indicando que houve algum enviesamento inicial em colocar “barticles” com mais percebes nos tratamentos de 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>. Contudo, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no número final de percebes por “barticle” (tabela 6), o que poderá indicar uma menor sobrevivência dos percebes no tratamento de maior densidade de alimento. Quanto ao valor médio do número inicial de percebes foi, relativamente ao tratamento de 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, de 4 e no tratamento de 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> de 8, enquanto o número final foi de 2 e 5 respetivamente.

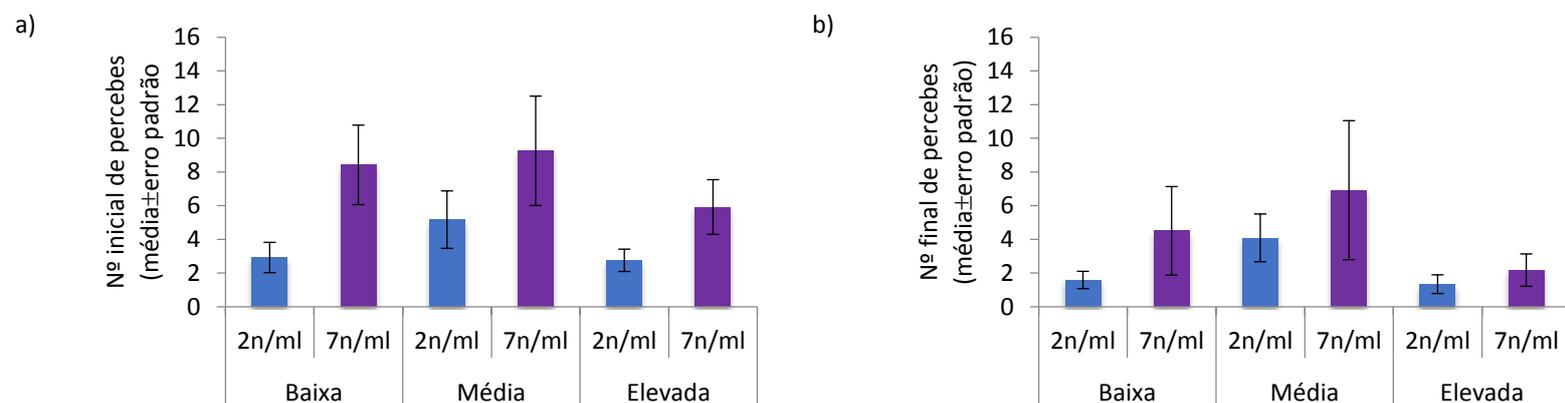


Figura 11 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=12

Tabela 5 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK do número inicial de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=12. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.011). Legenda: 7 n/ml - 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>; 2 n/ml - 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05).

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	378.529	7.994	0.006
Hi	2	24.212	0.511	0.602
De X Hi	2	1.546	0.033	0.968
Residual	56	47.354		
Total	62			

SNK	De	7 n/ml>2 n/ml	9.12>4.19	Valores médios por tratamento
-----	----	---------------	-----------	-------------------------------

Tabela 6 - Resultado da ANOVA do número final de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=12. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.024). Legenda: g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados.

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	249.491	3.340	0.075
Hi	2	111.510	1.493	0.238
De X Hi	2	6.693	0.090	0.914
Residual	38	74.707		
Total	44			

Através destes resultados é possível observar que não houve efeitos das condições hidrodinâmicas na sobrevivência de *P. pollicipes*. Em relação à densidade do alimento, não houve diferenças significativas na sobrevivência relativa aos “barticles” implantados em 2016, mas nos “barticles” implantados em 2017, os resultados parecem indicar uma menor sobrevivência dos percebes sujeitos a uma maior densidade de alimento.

### 3.1.2 - Comprimento máximo entre as placas *rostrum* e *carina* (RC)

Relativamente a RC, através da figura 12 e das tabelas 7 e 8, é de notar que os indivíduos sujeitos a uma elevada turbulência (bomba de fluxo ligada durante toda a experiência) apresentaram um maior tamanho, tanto em “barticles” implantados em 2016, como em 2017. Na verdade, os percebes sujeitos a elevada turbulência e oriundos de “barticles” implantados em 2016 e em 2017 apresentaram respetivamente um RC médio cerca de 1.4 e 1.5 vezes superior aos das restantes condições hidrodinâmicas testadas. Quanto à densidade de alimento, não foram registadas diferenças estatisticamente significativas em RC entre duas densidades de alimento utilizadas (2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>). RC é então afetado pelas condições hidrodinâmicas, mas não pela densidade de alimento.

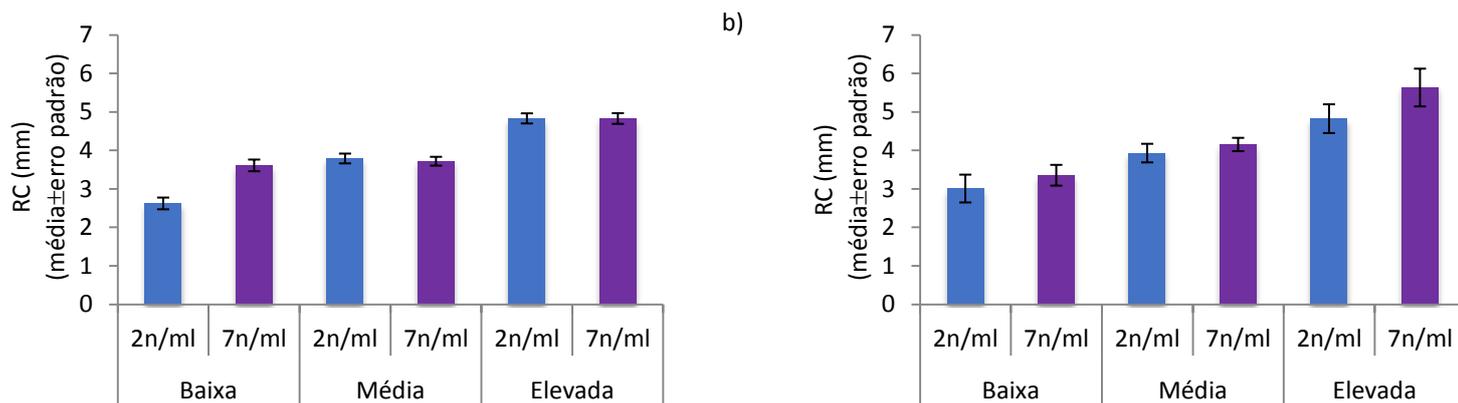


Figura 12 - Comprimento máximo de RC (mm) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=10 (2016); n=12 (2017).

Tabela 7 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK da média do comprimento máximo de RC (mm) de percebes por “barticle”, implantado em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=10. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.536). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05).

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	0.460	0.654	0.422
Hi	2	13.192	18.776	0.000
De X Hi	2	0.399	0.568	0.570
Residual	54	0.703		
Total	60			

SNK	Hi	E>M=B	4.61>3.49=2.99	Valores médios por tratamento
-----	----	-------	----------------	-------------------------------

Tabela 8 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK da média do comprimento máximo de RC (mm) de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=12. Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste de Levene: P=0.989). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05).

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	1.332	1.481	0.231
Hi	2	15.316	17.027	0.000
De X Hi	2	0.409	0.455	0.638
Residual	38	0.899		
Total	44			

SNK	Hi	E>M=B	5.12>3.62=3.16	Valores médios por tratamento
-----	----	-------	----------------	-------------------------------

### 3.1.3 - Incremento mensal de RC

Tal como relativamente a RC, a taxa de crescimento mensal medida através do incremento de RC apresentou também valores significativamente mais elevados nos tratamentos com elevadas condições hidrodinâmicas, tanto para “barticles” de 2016, como de 2017, do que nas restantes condições hidrodinâmicas (tabelas 9 e 10 e figura 13). Na verdade, o incremento mensal de RC em percebes sujeitos a elevadas condições hidrodinâmicas foi cerca de 1.7 (para “barticles” implantados em 2016) e 2.4 (para “barticles” implantados em

2017) vezes superior ao observado nas restantes condições hidrodinâmicas. Por sua vez, as diferenças nos valores de crescimento entre densidades de alimento (2 e 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) não foram estatisticamente significativas para os dois anos, bem como não foi observada uma interação significativa entre fatores.

**Tabela 9 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK do incremento mensal de RC de percebes por “barticle”, implantado em 2016, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=6. Análise efetuada com transformação dos dados por raiz quadrada (Teste de Levene: P=0.065). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05).**

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	0.046	0.514	0.478
Hi	2	1.105	12.393	0.000
De X Hi	2	0.179	2.005	0.150
Residual	34	0.089		
Total	40			

SNK	Hi	E>M=B	1.28>0.79=0,73	Valores médios por tratamento
-----	----	-------	----------------	-------------------------------

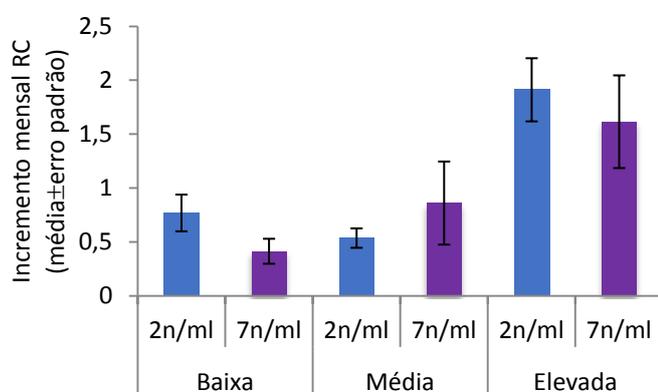
**Tabela 10 - Resultado da ANOVA e dos testes SNK do incremento mensal de RC de percebes por “barticle”, implantado em 2017, em relação aos fatores: densidade do alimento (De); condições hidrodinâmicas (Hi). n=6. Análise efetuada com transformação dos dados por raiz quadrada (Teste de Levene: P=0.081). Legenda: E – Elevada turbulência; M – Média turbulência (elevada turbulência apenas durante o período de alimentação); B – Baixa turbulência; g.l - graus de liberdade; M.Q. – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa (P<0.05).**

Origem da variação	g.l.	M.Q.	F	P
De	1	0.028	0.232	0.634
Hi	2	4.502	36.762	0.000
De X Hi	2	0.034	0.278	0.759
Residual	30	0.122		
Total	36			

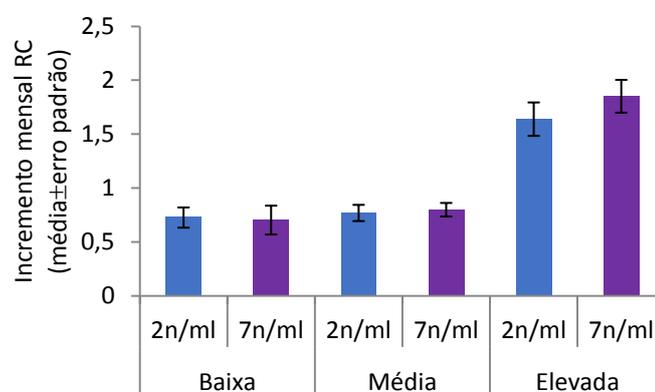
  

SNK	Hi	E>M=B	1.81>0.79=0.72	Valores médios por tratamento
-----	----	-------	----------------	-------------------------------

a)



b)



**Figura 13 - Incremento mensal de RC dos percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator concentração de alimento (2 ou 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>) e condições hidrodinâmicas (baixa, média ou elevada turbulência). n=6 (2016); n=6 (2017)**

## 3.2 - Experiência 2 – Efeito do tipo de alimento e da frequência de alimentação

### 3.2.1 - Número inicial e final de percebes por barticle

Em relação ao número inicial de percebes por “barticle”, nos tratamentos onde o alimento foi fornecido diariamente (2 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (ANOVA,  $F_{1,19}=0.055$ ,  $P=0.817$  - “barticles” implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,18}=0.064$ ,  $P=0.803$  - “barticles” implantados em 2017) entre 2 náuplios e ração, tal como se observa nas figuras 14 e 15. Por sua vez, o número final de percebes por “barticle” também não foi afetado por estes tratamentos (ANOVA,  $F_{1,19}=0.263$ ,  $P=0.614$  - “barticles” implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,20}=0.020$ ,  $P=0.888$  - “barticles” implantados em 2017), o que sugere que a sobrevivência nos tratamentos 2A e R são semelhantes quando os percebes são alimentados diariamente.

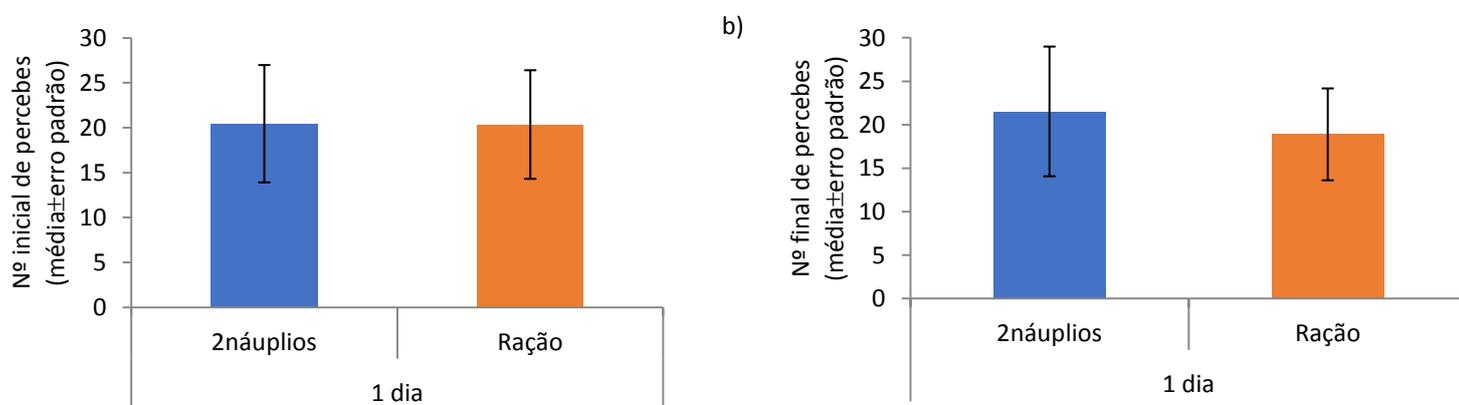


Figura 14 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados diariamente. n=10

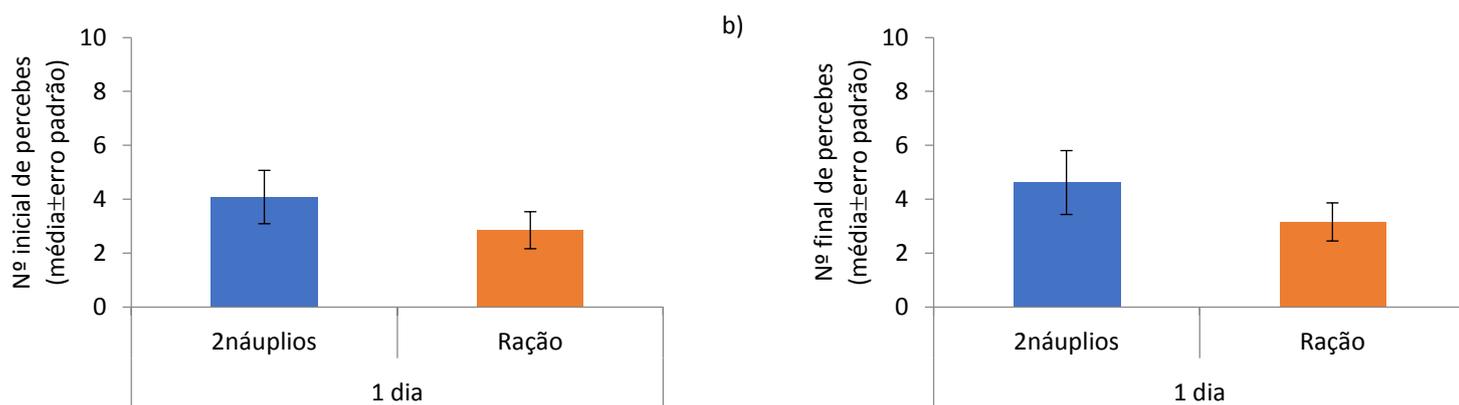
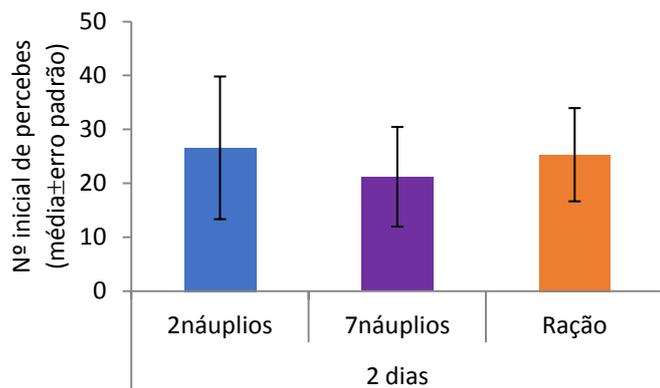


Figura 15 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados diariamente. n=14

Do mesmo modo, nos tratamentos onde o alimento foi fornecido de dois em dois dias (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração), também não se verificaram diferenças estatisticamente significativas no número inicial de percebes por “barticle” (ANOVA,  $F_{2,29}=0.106$ ,  $P=0.900$  - “barticles” implantados em 2016 (figura 14); ANOVA,  $F_{2,35}=0.049$ ,  $P=0.953$  - “barticles” implantados em 2017), bem como no número final (ANOVA,  $F_{2,29}=0.037$ ,

P=0.963 - “barticles” implantados em 2016; ANOVA,  $F_{2,32}=0.507$ ,  $P=0.607$  - “barticles” implantados em 2017) entre os três tipos de alimento (figura 16 e 17).

a)



b)

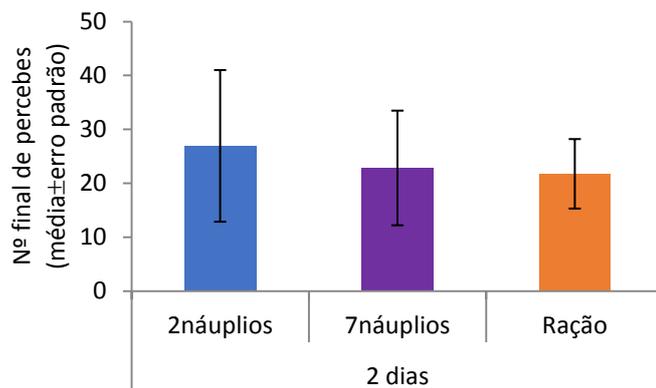
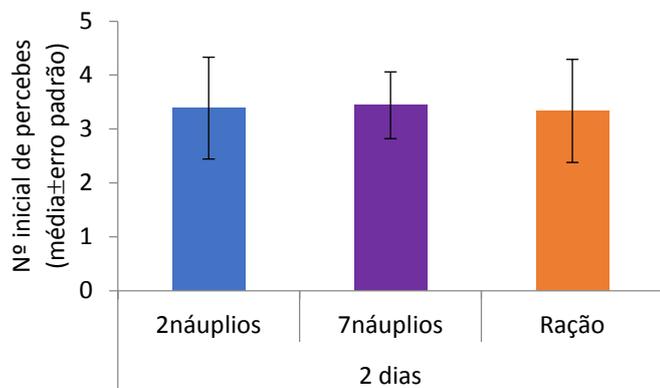


Figura 16 - Número inicial (a) e final (b) de perches por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os perches foram alimentados de dois em dois dias. n=10

a)



b)

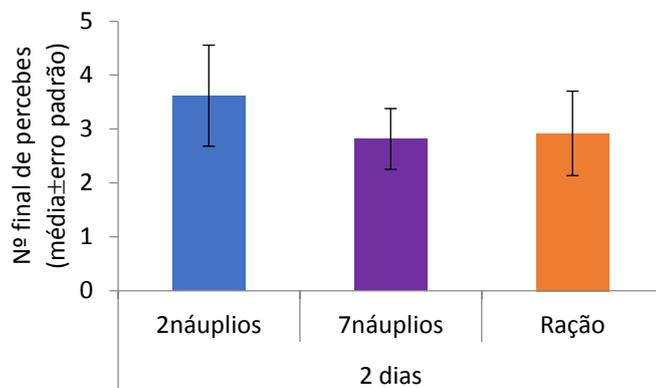


Figura 17 - Número inicial (a) e final (b) de perches por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os perches foram alimentados de dois em dois dias. n=14

Nos tratamentos onde foram fornecidos 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no número inicial (ANOVA,  $F_{1,19}=0.069$ ,  $P=0.795$  - “barticles” implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,21}=0.165$ ,  $P=0.689$  - “barticles” implantados em 2017) ou final (ANOVA,  $F_{1,19}=53.943$ ,  $P=0.849$  - “barticles” implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,21}=0.061$ ,  $P=0.807$  - “barticles” implantados em 2017) de perches por “barticle” quando alimentados todos os dias, ou de dois em dois dias (figura 18 e 19).

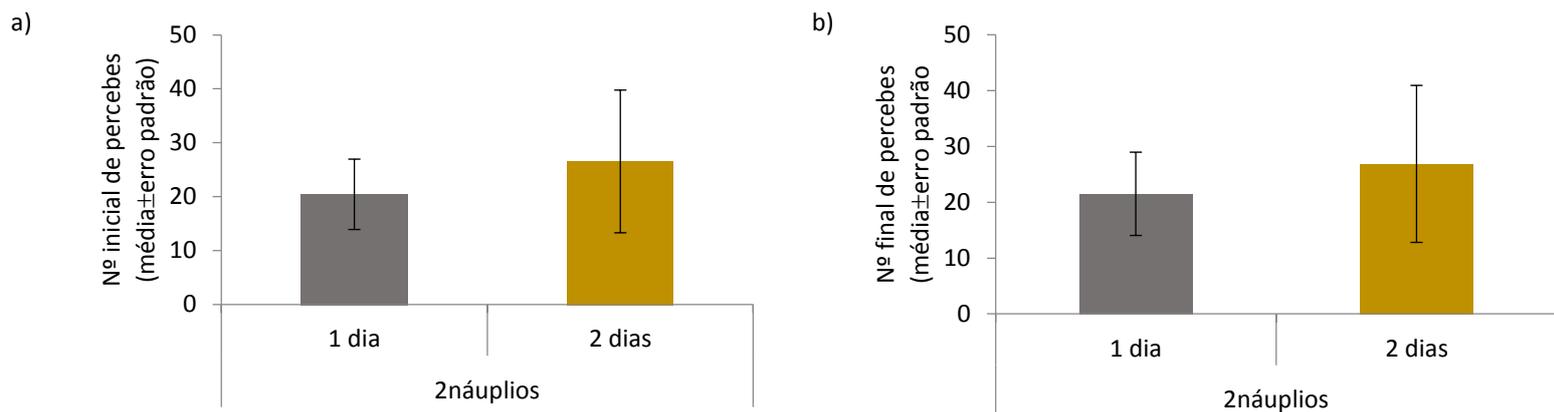


Figura 18 - Número inicial (a) e final (a) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>. n=10

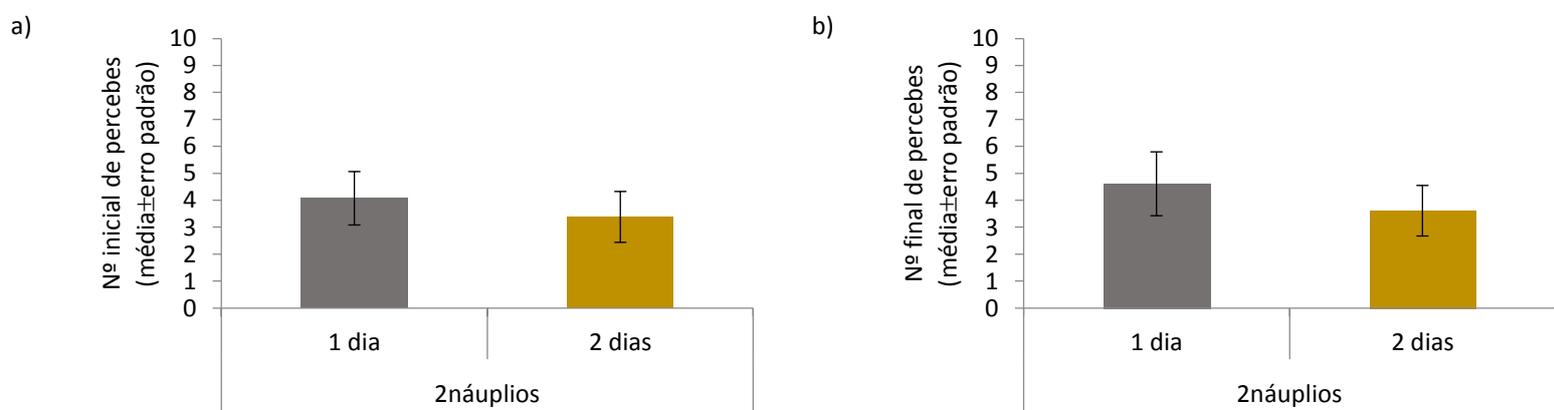


Figura 19 - Número inicial (a) e final (a) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>. n=14

Tal como se pode observar nas figuras 20 e 21, também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para os tratamentos alimentados com ração todos os dias, de dois em dois dias ou de três em três dias, tanto para o número inicial de percebes por “barticle” (ANOVA,  $F_{2,28}=0.263$ ,  $P=0.771$  - “barticles” implantados em 2016; ANOVA,  $F_{2,28}=0.173$ ,  $P=0.842$  - “barticles” implantados em 2017), como para o número final (ANOVA,  $F_{2,29}=0.088$ ,  $P=0.916$  - “barticles” implantados em 2016; ANOVA,  $F_{2,28}=0.134$ ,  $P=0.875$  - “barticles” implantados em 2017).

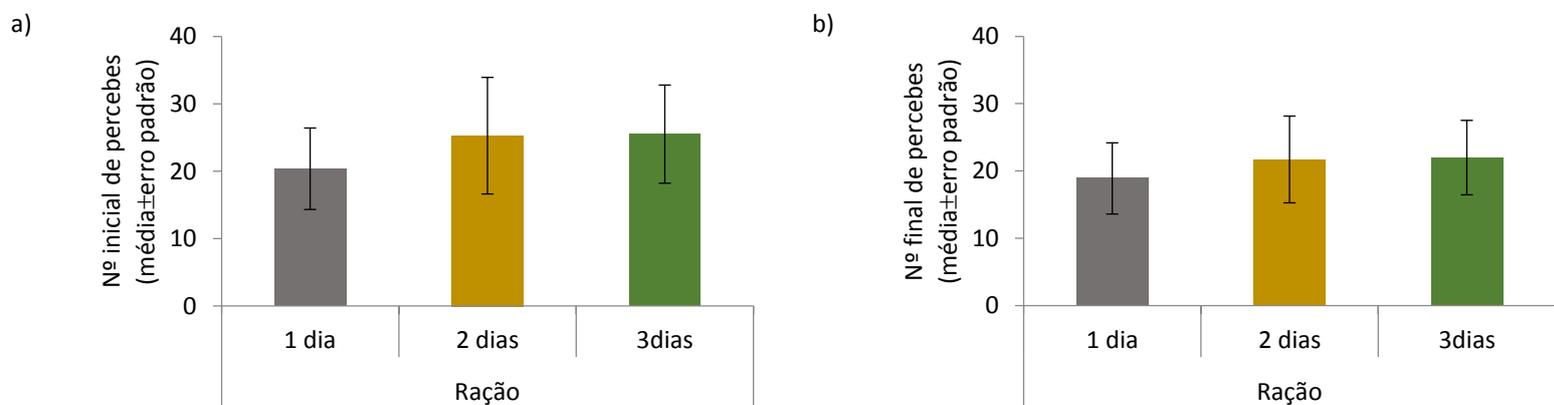


Figura 20 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por “barticle” (média ± erro padrão), implantados em 2016, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração. n=10

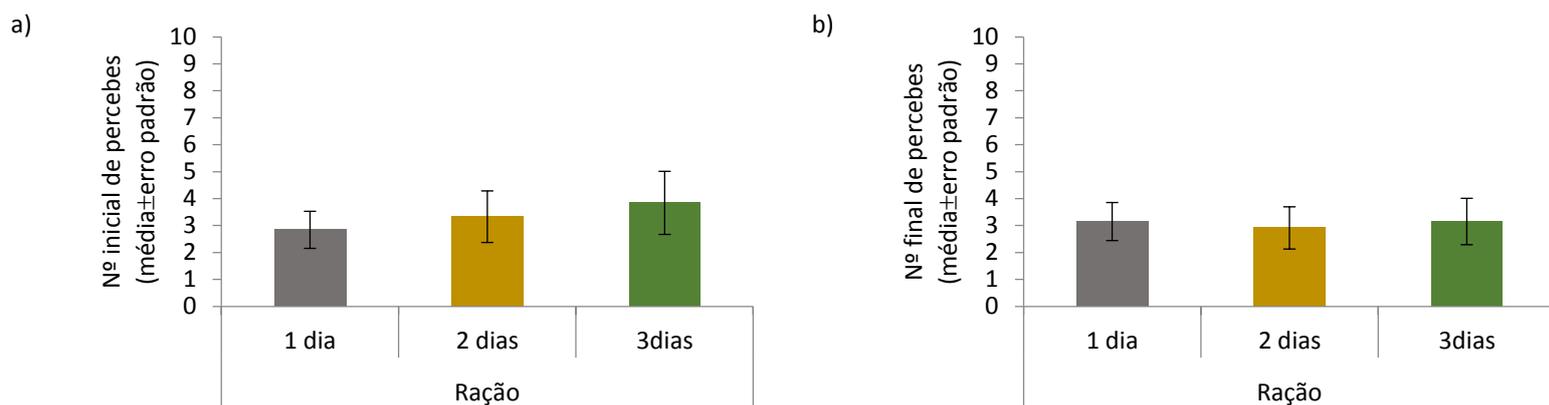


Figura 21 - Número inicial (a) e final (b) de percebes por "barticle" (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2017, relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração. n=14

Através destes resultados relativos ao número inicial e final de percebes por "barticle", é possível afirmar que a sobrevivência não foi afetada pelo tipo de alimento, nem pela frequência de alimentação.

### 3.2.2 - Comprimento máximo entre as placas rostrum e carina (RC)

Relativamente a RC, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tipos de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou com ração) nos percebes alimentados todos os dias (ANOVA,  $F_{1,19}=2.066$ ,  $P=0.167$  – "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,20}=2.435$ ,  $P=0.134$  – "barticles" implantados em 2017) (figura 22), bem como entre os tipos de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou com ração) nos percebes alimentados de dois em dois dias (ANOVA,  $F_{2,29}=3.210$ ,  $P=0.055$  – "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{2,32}=1.010$ ,  $P=0.376$  – "barticles" implantados em 2017) (figura 23).

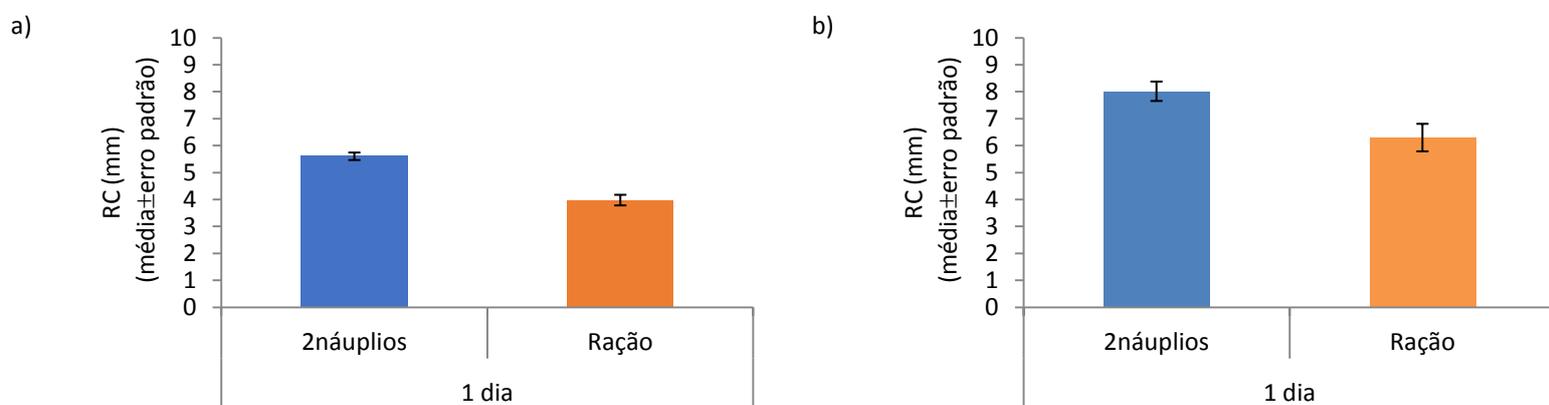


Figura 22 - Média de RC (mm) de percebes por "barticle" (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados todos os dias. n=10 (2016); n=14 (2017)

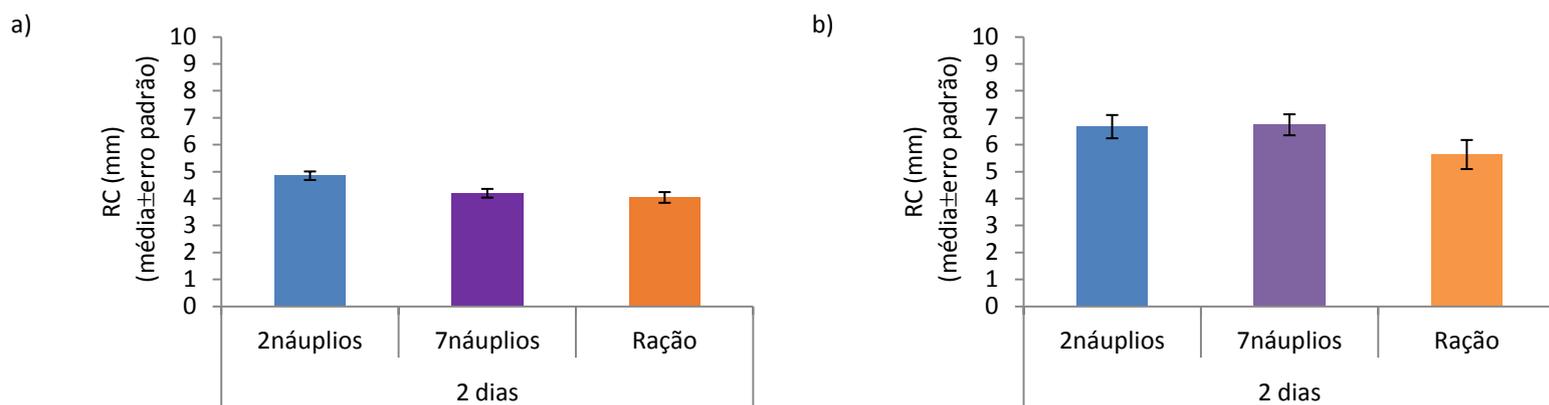


Figura 23 - Média de RC (mm) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados de dois em dois dias. n=10 (2016); n=14 (2017)

Relativamente às diferenças entre as frequências de alimentação, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre percebes alimentados todos os dias ou de dois em dois dias (figura 24) quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> (ANOVA,  $F_{1,19}=0.000$ ,  $P=0.985$  – "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,21}=2.383$ ,  $P=0.138$  – "barticles" implantados em 2017) bem como entre percebes alimentados todos os dias, de dois em dois dias ou de três em três dias (figura 25) quando os percebes foram alimentados com ração (ANOVA,  $F_{2,28}=1.739$ ,  $P=0.194$  – "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{2,28}=0.129$ ,  $P=0.879$  – "barticles" implantados em 2017).

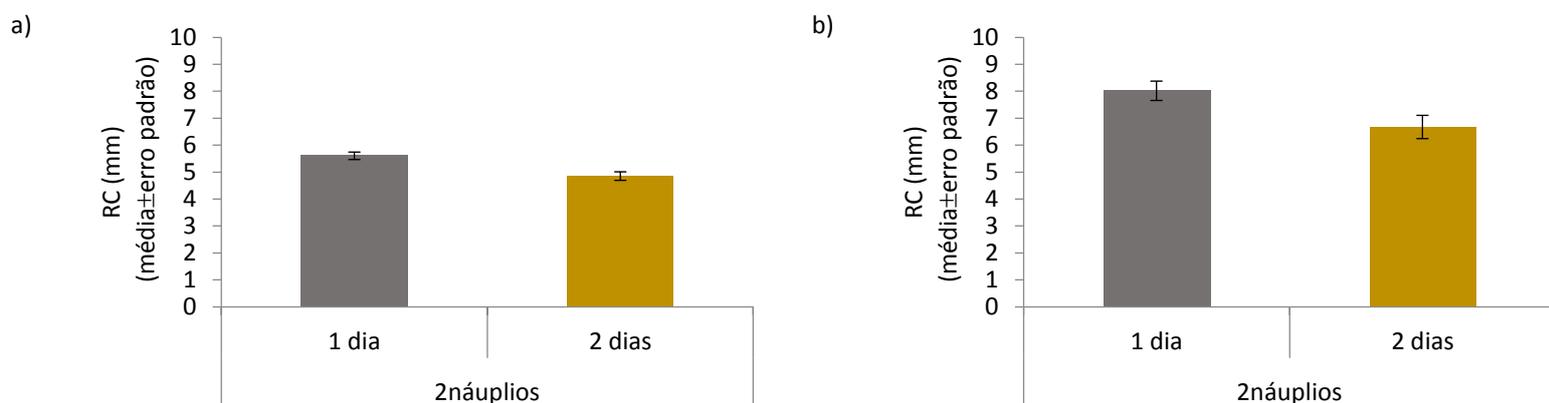


Figura 24 - Média do comprimento RC (mm) de percebes por "barticle" (média ± erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>. n=10 (2016); n=14 (2017).

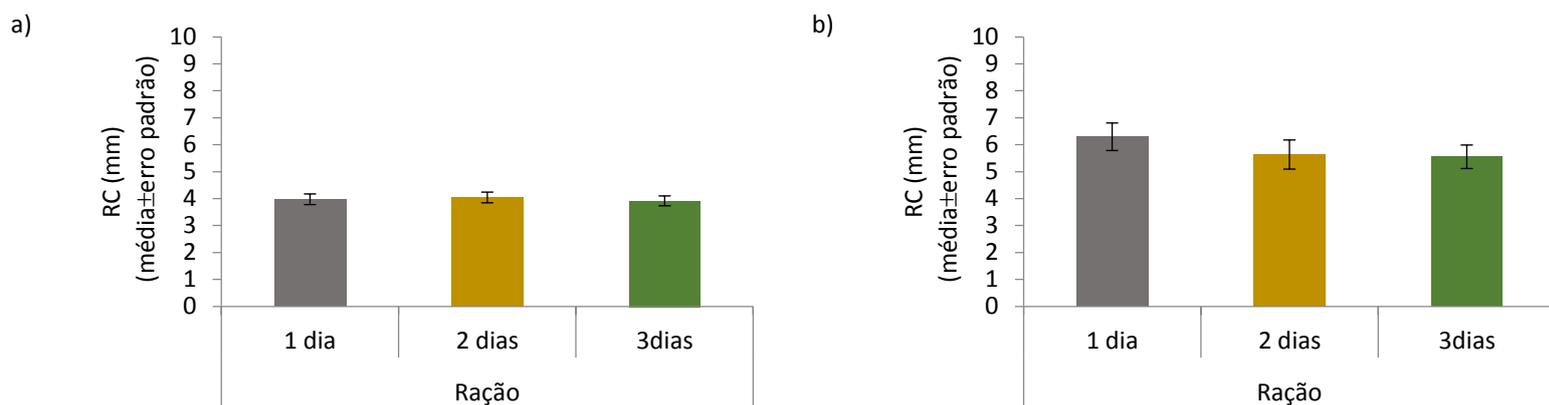


Figura 25 - Média do comprimento RC (mm) de percebes por "barticle" (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração. n=10 (2016); n=14 (2017).

Assim, relativamente ao comprimento máximo entre as placas *rostrum* e *carina* (RC) observou-se que não foi detetado um efeito do tipo de alimento e da frequência de alimentação.

### 3.2.3 - Incremento mensal de RC

No que diz respeito ao incremento mensal de RC, foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o tratamento de 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> e o tratamento de ração quando o alimento foi fornecido diariamente (ANOVA,  $F_{1,10}=27.666$ ,  $P=0.000$  - "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,10}=12.232$ ,  $P=0.006$  - "barticles" implantados em 2017) (figura 26), sendo que, comparativamente com os valores obtidos nos tratamentos alimentados com ração, os indivíduos alimentados com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> obtiveram valores cerca de três vezes superiores. Contrariamente, nos percebes alimentados de dois em dois dias não houve diferenças estatisticamente significativas no incremento mensal de RC, consoante o tipo de alimento utilizado (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) (ANOVA,  $F_{2,15}=2.049$ ,  $P=0.163$  - "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{2,15}=0.523$ ,  $P=0.603$  - "barticles" implantados em 2017) tal como se pode observar na figura 27.

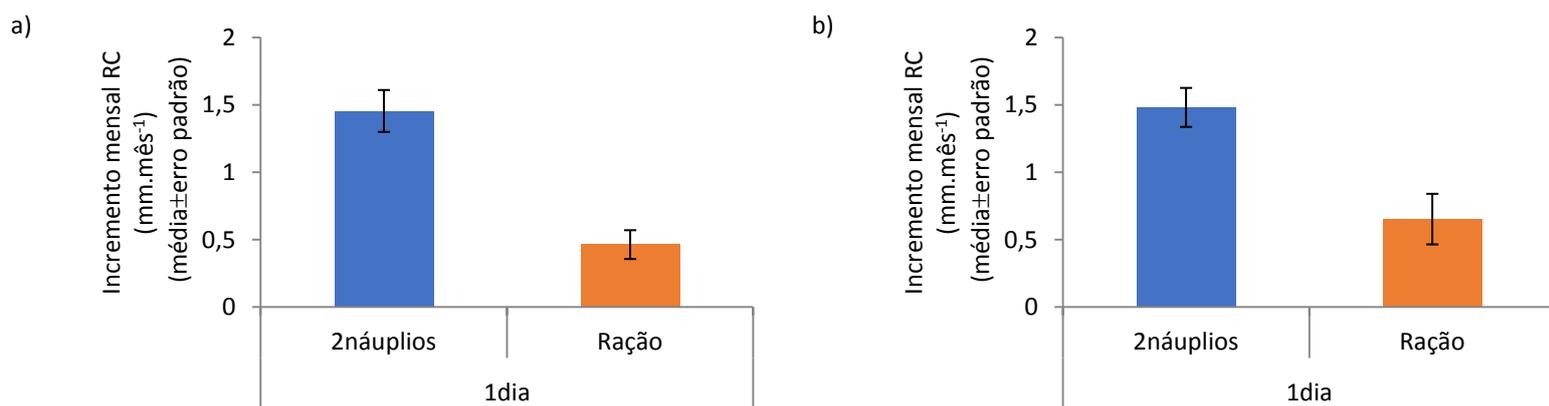


Figura 26 - Incremento mensal de RC (mm.mês<sup>-1</sup>) de percebes por "barticle" (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados todos os dias. n=6 (2016); n=6 (2017).

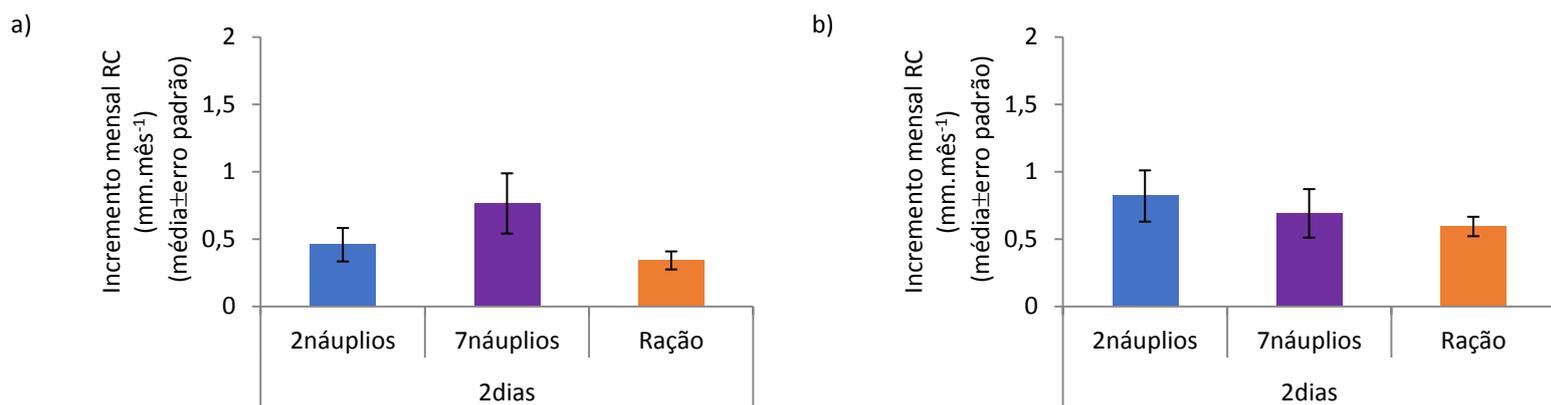


Figura 27 - Incremento mensal de RC (mm.mês<sup>-1</sup>) de percebes por "barticle" (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator tipo de alimento (2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, 7 náuplios.ml<sup>-1</sup> ou ração) e quando os percebes foram alimentados de dois em dois dias. n=6 (2016); n=6 (2017).

Comparando a frequência de alimentação, obtiveram-se diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos de alimentação diária e de dois em dois dias quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> (ANOVA,  $F_{1,10}=25.058$ ,  $P=0.001$  - "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{1,10}=7.644$ ,  $P=0.020$  - "barticles" implantados em 2017), sendo que os valores mais elevados de incremento mensal de RC foram encontrados nos tratamentos alimentados todos os dias (figura 28).

No caso dos percebes alimentados com ração (figura 29), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no incremento mensal entre os tratamentos de alimentação diária, de dois em dois dias ou de três em três dias (ANOVA,  $F_{2,15}=0.483$ ,  $P=0.626$  - "barticles" implantados em 2016; ANOVA,  $F_{2,15}=3.018$ ,  $P=0.079$  - "barticles" implantados em 2017).

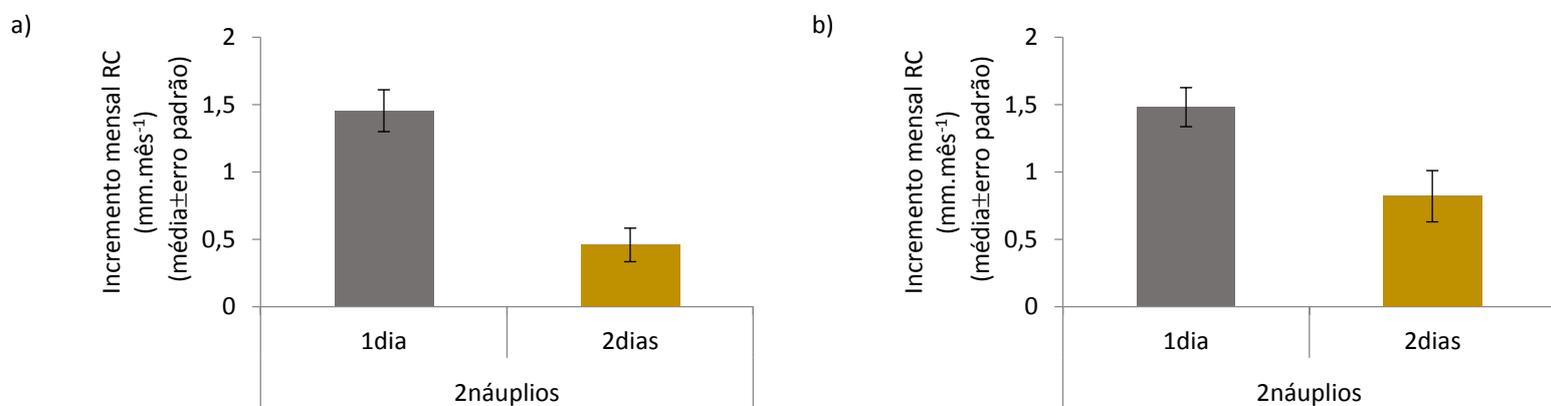


Figura 28 - Incremento mensal de RC (mm.mês<sup>-1</sup>) de percebes por "barticle" (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias ou de 2 em 2 dias) e quando os percebes foram alimentados com 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>. n=6 (2016); n=6 (2017).

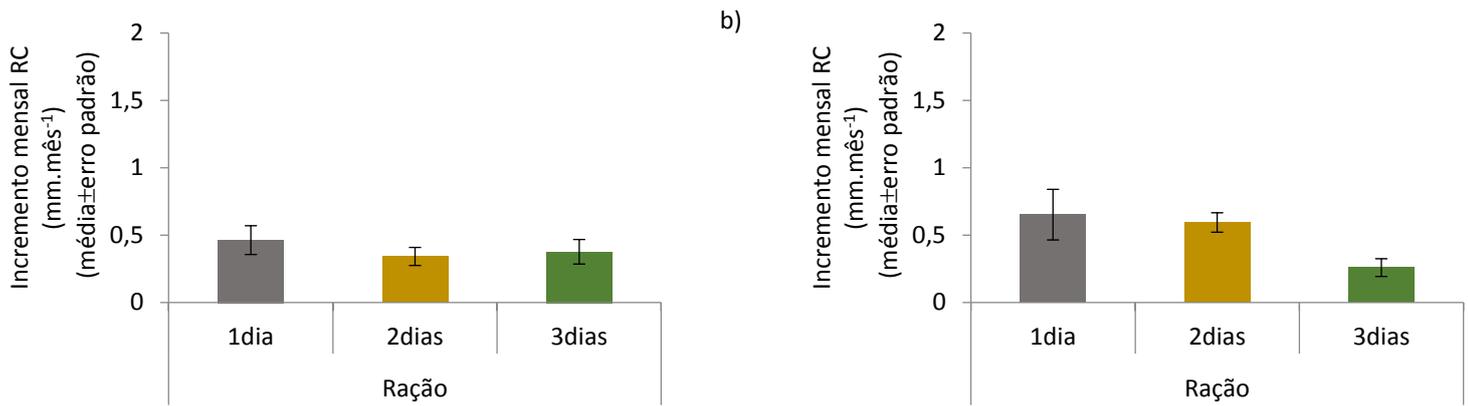


Figura 29 - Incremento mensal de RC ( $\text{mm.mês}^{-1}$ ) de percebes por “barticle” (média  $\pm$  erro padrão), implantados em 2016 (a) e em 2017 (b), relativamente ao fator frequência de alimentação (todos os dias, de 2 em 2 dias ou de três em três dias) e quando os percebes foram alimentados com ração.  $n=6$  (2016);  $n=6$  (2017).

No caso do incremento mensal de RC, o tipo de alimento e a frequência de alimentação afetaram o crescimento. Quando alimentados todos os dias, os organismos apresentaram um maior crescimento quando foi fornecida artémia ( $2 \text{ náuplios.ml}^{-1}$ ), comparativamente com os tratamentos onde foi fornecida ração. E, relativamente à frequência de alimentação, em percebes alimentados com artémia ( $2 \text{ náuplios.ml}^{-1}$ ), o crescimento foi menor no tratamento de dois em dois dias do que na alimentação diária.

#### 4 - Discussão

O presente trabalho permitiu adquirir novas perspetivas para a aquacultura de *P. pollicipes*, mais propriamente, perceber o efeito da densidade de alimento, das condições hidrodinâmicas, do tipo de alimento e da frequência de alimentação no crescimento e sobrevivência desta espécie, em condições laboratoriais, através da utilização de um novo substrato artificial, o “barticle”. Este substrato foi originalmente colocado na zona intertidal do Cabo de Sines onde os percebes são abundantes, tendo aí ocorrido fixação larvar e metamorfose em juvenil.

O efeito da densidade do alimento no crescimento e sobrevivência de *P. pollicipes* foi testado utilizando náuplios de artémia que, com base noutros estudos, levaram às melhores taxas de crescimento, quando comparadas com outro tipo de alimento, como por exemplo, microalgas e rotíferos (Norton, 1996; Franco 2014). Norton (1996), ao manter *P. pollicipes* em condições laboratoriais e com alimentação com *Artemia* sp., observou taxas máximas de crescimento de  $0,930 \text{ mm RC.mês}^{-1}$  para juvenis e  $0,509 \text{ mm RC.mês}^{-1}$  para adultos, e Franco (2014) relatou um crescimento médio de  $0,81 \pm 0,06 \text{ mm RC.mês}^{-1}$ . O crescimento observado no presente estudo foi ligeiramente superior ao relatado anteriormente, apresentando valores médios de  $1,022 \pm 0,25 \text{ mm RC.mês}^{-1}$  para percebes de “barticles” implantados em 2016, e  $1,083 \pm 0,11 \text{ mm RC.mês}^{-1}$  para percebes de “barticles” implantados em 2017. Relativamente às densidades utilizadas,  $7 \text{ náuplios.ml}^{-1}$  foi a densidade mais baixa utilizada para percebes, até então (Franco, 2014) e, como tal, os resultados obtidos para tal densidade levaram-nos a testar uma densidade ainda mais baixa ( $2 \text{ náuplios.ml}^{-1}$ ), que seria economicamente mais viável. As diferenças no crescimento e na sobrevivência não foram estatisticamente significativas entre estas duas densidades, o que indica que ainda não foi alcançado o requisito mínimo de densidade de presas, continuando as taxas de filtração a ser independentes da densidade de presas. Estes resultados são positivos, na medida em que a utilização de uma densidade mais baixa de alimento implica um menor custo de produção. No entanto, foi

observada alguma mortalidade em percebes de “barticles” implantados em 2017, o que sugere que os percebes tinham um tamanho mais reduzido e provavelmente não se conseguiram alimentar com tanta eficácia.

É também essencial perceber se as condições hidrodinâmicas apresentam efeitos no crescimento e na sobrevivência de *P. pollicipes*, sendo uma das condições que apresenta igualmente custos elevados de produção, na medida em que é necessário gerar turbulência dentro dos aquários, com recurso, por exemplo, a bombas de fluxo. Através deste estudo, foi possível observar um maior crescimento ( $1.764 \pm 0.36$  mm RC.mês<sup>-1</sup> para percebes de “barticles” implantados em 2016, e  $1.746 \pm 0.15$  mm RC.mês<sup>-1</sup>, em 2017) nos tratamentos onde estavam sujeitos a uma turbulência elevada e constante (~25 cm/s). Segundo Norton (1996), em *P. pollicipes* existe uma relação entre o batimento dos cirros e a taxa de fluxo, que está relacionado com as trocas gasosas, assumindo-se que os cirros são usados para trocas respiratórias. Segundo este autor, em condições hidrodinâmicas baixas, o batimento causa uma troca de água na cavidade do manto que circunda os cirros, para melhorar a eficiência das trocas gasosas. Por outro lado, este autor sugere que em condições hidrodinâmicas elevadas, a extensão dos cirros aumenta os gradientes de concentração de oxigénio ao redor dos cirros, tornando desnecessário o batimento dos cirros, havendo menos gasto de energia para a respiração. Apesar de no presente estudo não ter sido observada a atividade dos cirros, se a relação descrita por Norton (1996) existir, esta relação poderá explicar o facto de o crescimento ter sido inferior nos tratamentos sem bombas de fluxo, ou com as bombas apenas ligadas durante o período de alimentação, na medida em que poderá ter havido uma maior alocação da energia para a respiração, sendo menor a canalizada para o crescimento. Em *P. pollicipes*, o batimento dos cirros cessa e a sua extensão assume o controlo em fluxos acima de  $14 \text{ cm.s}^{-1}$  (Norton, 1996), e no presente estudo foi utilizado um fluxo de  $25 \text{ cm.s}^{-1}$  utilizando as bombas de fluxo. No tratamento sem turbulência, o fluxo poderia estar a níveis abaixo de  $14 \text{ cm.s}^{-1}$ , o que poderá justificar o menor crescimento nesse tratamento. Para além disso, condições mais turbulentas poderão também fazer com que o alimento fique mais acessível, não existindo a necessidade de produzir a sua própria corrente de alimentação, que implica um maior gasto de energia (Franco, 2014). Através dos resultados obtidos por Norton (1996), Cribeiro (2007), Franco (2014) e através dos presentes, é possível afirmar que um sistema de cultivo de percebe deve fornecer um elevado fluxo, sendo este fator um requisito para a alimentação e, conseqüentemente, para um rápido crescimento. Apesar de ser necessário um fluxo mínimo para estimular a alimentação (Norton, 1996), é possível observar que *P. pollicipes* apresenta atividade mesmo em baixos fluxos, o que sugere que estes organismos não são estritamente dependentes das condições altamente hidrodinâmicas para sobreviver, e são capazes de se ajustar a fluxos mais lentos. Cribeiro (2007) observou alguma mortalidade relacionada com as condições hidrodinâmicas, observando que, devido à sua exposição nas rochas, os indivíduos mais distantes da zona mais turbulente apresentaram uma maior mortalidade, o que é justificado por questões respiratórias, devido ao movimento da água, ou pela insuficiência na quantidade de alimento. Os indivíduos de tamanhos menores são mais suscetíveis a estes fatores na medida em que se encontram na parte interna de agregados densos (Cribeiro, 2007). Os elevados valores de sobrevivência relatados no presente trabalho, relativamente às condições hidrodinâmicas, podem ser explicados pela semelhança no fluxo recebido por todos os indivíduos devido à rotação diária nas placas, e pelo fornecimento de um sistema onde os organismos são capazes de efetuar trocas respiratórias e obter alimento com facilidade.

É de enorme importância minimizar os custos da alimentação em aquicultura, e promover novas dietas para o desenvolvimento do cultivo desta espécie, o que nos levou a querer investigar o efeito de uma dieta inerte no crescimento e sobrevivência de *P. pollicipes*. Contudo, ainda não existem dietas inertes que possam alcançar uma produção equivalente à de alimentos vivos, o que tem sido um impedimento para o progresso da aquicultura (D'Abramo, 2002). A dieta inerte deve estar numa forma tão aceitável para o animal quanto sua dieta natural, o que inclui o seu estado físico (geralmente existe preferência por sólidos, como *pellets* ou partículas suspensas), bem como o sabor. É considerado necessário um elevado nível de proteína (até 50% do alimento total) para o crescimento de crustáceos e, embora as proporções ideais variem para diferentes crustáceos, a proteína é usada como uma importante fonte de energia (Mantel, 2012). Dos poucos carboidratos que já foram testados, o amido fornece melhor sobrevivência e crescimento do que a glicose quando adicionado a dietas artificiais (Mantel, 2012). Deste modo, a ração utilizada neste estudo foi escolhida com base na sua composição: 63% proteína, 14% lípidos, 1.8% fibra e 12% cinzas, sendo composta por farinha de lula, glúten de trigo, farinha de peixe, concentrado de proteína de peixe, farinha de *krill*, concentrado de proteína de ervilha, amido, lecitina, óleo de *krill*, óleo de peixe. Para além da sua constituição, foi também tido em conta o tamanho das partículas, para que apresentasse um tamanho idêntico ao da artémia (200 – 400  $\mu\text{m}$ ). Contudo, observou-se que os náuplios de artémia continuam a promover um crescimento mais rápido em *P. pollicipes*, com valores médios de crescimento de  $0.861 \pm 0.18 \text{ mm RC.mês}^{-1}$  para percebes de “barticles” implantados em 2016 e  $0.922 \pm 0.18 \text{ mm RC.mês}^{-1}$  para percebes de “barticles” implantados em 2017, comparativamente com os valores obtidos nos tratamentos onde foi fornecida ração ( $0.394 \pm 0.09 \text{ mm RC.mês}^{-1}$  e  $0.502 \pm 0.11 \text{ mm RC.mês}^{-1}$ , respetivamente). Segundo Cribeiro (2007), os percebes têm a capacidade de discriminar o alimento antes da sua ingestão, na medida em que podem capturar o alimento mas, de seguida, rejeitá-lo, o que parece ser a principal causa para os baixos valores de crescimento obtidos nos tratamentos onde foi fornecida ração. A ração utilizada aparenta não ser a ideal para *P. pollicipes*, provavelmente devido à sua textura que, através de algumas observações feitas neste estudo (observações pessoais não realizadas de forma sistemática), parece aderir aos cirros dos percebes, o que dificultará a ingestão do alimento. Apesar da extensa pesquisa, as exigências nutricionais de organismos filtradores ainda não foram bem compreendidas. Na natureza, a sua dieta consiste em diversas espécies de fitoplâncton e zooplâncton, de vários tamanhos e composições e, por essa razão, as técnicas de alimentação utilizadas em laboratório ainda dependem de alimentos vivos (Villamar e Langdon, 1993).

Relativamente ao tratamento controlo (fornecimento diário de 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> e sujeitos a uma elevada e constante turbulência), obteve-se um maior crescimento na primeira experiência ( $1.912 \pm 0.29$  e  $1.640 \pm 0.15 \text{ mm RC.mês}^{-1}$ ), comparativamente com a segunda ( $1.455 \pm 0.16$  e  $1.481 \pm 0.14 \text{ mm RC.mês}^{-1}$ ), tanto para percebes de “barticles” implantados em 2016, como para “barticles” implantados em 2017, respetivamente. As condições de cultivo foram idênticas entre as duas experiências, contudo, na segunda experiência os organismos estiveram, por vezes, expostos a temperaturas mais elevadas, devido à incapacidade dos refrigeradores de atingir os 17°C, para o qual estavam programados. Deste modo, o aumento da temperatura pode ter tido influência no crescimento, desviando a energia para outro processo metabólico. Com base na frequência de alimentação, ainda relativo ao fornecimento de artémia, é de notar que as melhores taxas de crescimento foram observadas quando os organismos estavam sujeitos a uma alimentação diária, tanto para os tratamentos onde foram fornecidos 2 náuplios.ml<sup>-1</sup>, como para aqueles onde foram fornecidos 7 náuplios.ml<sup>-1</sup>. Os dados

obtidos no presente trabalho estão de acordo com Franco (2014), onde também se observou um maior crescimento dos percebes quando sujeitos a uma alimentação diária com artémia.

Com base nos dados relativos às taxas de crescimento de *P. pollicipes*, (Cruz, 2000) estimou taxas anuais de crescimento juvenil de 5.46 mm RC, com valores variando de 0.5 a 13.3 mm RC por ano, e crescimento mensal de 0.17 a 0.66 mm RC (Cruz, 1993). Cruz *et al.* (2010) relataram também que durante o primeiro ano de vida o crescimento foi de 1.3 mm de RC por mês, com média de 15.7 mm de RC no primeiro ano. Neste estudo não foi feita uma separação dos indivíduos entre classes de tamanho, como se observa em alguns estudos de crescimento de *P. pollicipes* (por exemplo, Cruz, 2000; Franco, 2014), o que pode ser relevante para estudos futuros, uma vez que organismos mais jovens apresentam taxas de crescimento maiores. No entanto, foi estimada uma taxa de crescimento de 1.62 mm RC por mês, mantendo os organismos com uma alimentação diária de 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> e com elevada turbulência, o que resultará em 19.4 mm RC num ano. Segundo Cruz (2000), o tamanho comercial ocorre acima de 15 mm RC, com indivíduos acima de 19 mm RC tendo um valor comercial elevado. Mantendo os indivíduos nas condições em que os presentes foram mantidos, o período estimado de crescimento dos juvenis até ao tamanho comercial é de cerca de 10 meses em cultura. Uma vez que o desenvolvimento embrionário e larvar em laboratório dura cerca de 1.5 a 2 meses (Molares *et al.*, 1994; Kugele e Yule, 1996), e com os dados obtidos no presente estudo, é possível sugerir que o crescimento desta espécie até obter um bom tamanho comercial pode ser obtido em 12 meses, em condições laboratoriais. Na natureza, entre Junho e Outubro observa-se uma taxa de crescimento inferior (Cruz, 2000), devido à mudança na alocação de recursos para a reprodução, em vez de crescimento, o que em aquacultura pode ser controlado, através da manipulação da temperatura.

## 5 - Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que, durante os dois meses experimentais, todos os fatores testados promoveram crescimento, sem mortalidade acentuada. As dietas foram aceites pelos percebes, contudo, o fornecimento diário de artémia mostrou ser o caminho com mais sucesso, em termos de crescimento, o que enfatiza que o uso de artémia é essencial no acondicionamento de *P. pollicipes*. Para além disso, uma vez que ainda não foi encontrada uma densidade de alimento limitante, os custos de produção podem vir a ser ainda menores, e recomenda-se que em estudos futuros se investigue o efeito de uma densidade inferior a 2 náuplios.ml<sup>-1</sup> no crescimento e sobrevivência de *P. pollicipes*. O fornecimento diário de alimento é também necessário para que esta espécie obtenha bons valores de crescimento, e seria interessante avaliar se o crescimento não seria mais elevado caso os organismos fossem alimentados mais do que uma vez por dia. Relativamente ao uso de uma dieta inerte, é ainda necessário aprofundar o estudo do perfil nutricional necessário, bem como da sua textura. Para além da importância da alimentação, as condições hidrodinâmicas foram observadas como sendo um fator condicionante no crescimento desta espécie, recomendando-se a utilização de bombas de fluxo durante todo o processo de engorda dos percebes, que mostrou ser essencial para um crescimento mais rápido dos percebes. Em estudos futuros seria também aconselhável investigar o perfil nutricional dos percebes após o condicionamento sob estes fatores, bem como testes de análise sensorial, visto que existem percebes com menor valor comercial denominados “percebe mijão” que são caracterizados por serem mais finos e longos e não são tão aceitáveis pelo consumidor. A utilização do novo substrato, o “barticle”, em condições laboratoriais mostrou resultados positivos, no âmbito em que foi possível recolher indivíduos do meio selvagem para aquários sem danificar o meio

ambiente, e os organismos mostraram uma boa aceitação do mesmo sob estas condições a que foram sujeitos. Este trabalho constitui um importante passo na aquacultura de *P. pollicipes* e um pré-requisito para futuros trabalhos de condicionamento e otimização de práticas que maximizem a produção e minimizem os seus custos.

## 6 - Referências Bibliográficas

- Anderson, D. T. (1981). Cirral activity and feeding in the barnacle *Balanus perforatus* Bruguiere (Balanidae), with comments on the evolution of feeding mechanisms in thoracican cirripedes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 291(1053), 411-449.
- Anderson, D. T., & Southward, A. J. (1987). Cirral activity of barnacles. *Barnacle biology*, 135-174.
- Anderson, D. T. (1993). *Barnacles: structure, function, development and evolution*. Springer Science & Business Media.
- Barnes, H., Crisp, D. J., & Powell, H. T. (1951). Observations on the orientation of some species of barnacles. *The Journal of Animal Ecology*, 227-241.
- Barnes, H., & Reese, E. S. (1959). Feeding in the pedunculate cirripede *Pollicipes polymerus* JB Sowerby. In *Proceedings of the Zoological Society of London* (Vol. 132, No. 4, pp. 569-584). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Barnes, H., & Reese, E. S. (1960). The behaviour of the stalked intertidal barnacle *Pollicipes polymerus* JB Sowerby, with special reference to its ecology and distribution. *The Journal of Animal Ecology*, 169-185.
- Barnes, H., & Barnes, M. (1977). Studies on the reproduction of cirripedes. I. Introduction: copulation, release of oocytes, and formation of the egg lamellae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 27(3), 195-218.
- Barnes, M. (1996). Pedunculate cirripedes of the genus *Pollicipes*. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*.
- Borja, Á., Liria, P., Muxika, I., & Bald, J. (2006a). Relationships between wave exposure and biomass of the goose barnacle (*Pollicipes pollicipes*, Gmelin, 1790) in the Gaztelugatxe Marine Reserve (Basque Country, northern Spain). *ICES Journal of Marine Science*, 63(4), 626-636.
- Borja, Á., Muxika, I., & Bald, J. (2006b). Protection of the goose barnacle *Pollicipes pollicipes*, Gmelin, 1790 population: the Gaztelugatxe Marine Reserve (Basque country, northern Spain). *Scientia Marina*, 70(2), 235-242.
- Caffey, H. M. (1985). Spatial and temporal variation in settlement and recruitment of intertidal barnacles. *Ecological Monographs*, 55(3), 313-332.
- Cardoso, A. C., & Yule, A. B. (1995). Aspects of the reproductive biology of *Pollicipes pollicipes* (Cirripedia; Lepadomorpha) from the southwest coast of Portugal. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 29(3-4), 391-396.
- Chaffee, J., & Lewis, C. A. (1988). Pedunculate barnacle stalk growth. *Journal of experimental marine Biology and Ecology*, 124(3), 145-162.
- Castro, J. (2004). Predação humana no litoral rochoso alentejano: caracterização, impacto ecológico e conservação. In *Departamento de Biologia*. Évora (Portugal): Universidade de Évora, pp. 348.
- Clare, A. S. (2010). Toward a characterization of the chemical cue to barnacle gregariousness. In *Chemical communication in crustaceans* (pp. 431-450). Springer, New York, NY.

- Connell, J. H. (1985). The consequences of variation in initial settlement vs. post-settlement mortality in rocky intertidal communities. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 93(1-2), 11-45.
- Cribeiro, A. P. (2007). Explotacion del percebe, *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1789), na costa do Ortegal. influencia dos factores abioticos, estudo en condicions experimentais da estrutura poboacional. Departamento de Biologia Animal. Santiago de Compostela, Spain: Universidade de Santiago de Compostela, 64.
- Crisp, D. J. (1955). The behaviour of barnacle cyprids in relation to water movement over a surface. *Journal of Experimental Biology*, 32(3), 569-590.
- Crisp, D. J., & Southward, A. J. (1961). Different types of cirral activity of barnacles. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 243(705), 271-307.
- Cruz, T. (1993). Growth of *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790)(Cirripedia, Lepadomorpha) on the SW coast of Portugal. *Crustaceana*, 65(2), 151-158.
- Cruz, T., & Hawkins, S. J. (1998). Reproductive cycle of *Pollicipes pollicipes* at Cabo de Sines, south-west coast of Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 78(2), 483-496.
- Cruz, T., & Araújo, J. (1999). Reproductive patterns of *Pollicipes pollicipes* (Cirripedia: Scalpellomorpha) on the southwestern coast of Portugal. *Journal of Crustacean Biology*, 19(2), 260-267.
- Cruz, T. P. G. (2000). Biologia e ecologia do percebe *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790), no litoral sudoeste português.
- Cruz, T., Castro, J. J., & Hawkins, S. J. (2010). Recruitment, growth and population size structure of *Pollicipes pollicipes* in SW Portugal. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 392(1-2), 200-209.
- Cruz, T., Fernandes, J. N., Van Syoc, R. J., & Newman, W. A. (2015) Ordens Lepadiformes, Scalpelliformes, Verruciformes e Balaniformes.
- Cruz, T., Jacinto, D., Sousa, A., Penteado, N., Silva, T., Fernandes, J. N. & Castro, J., 2016a. PERCEBES- Gestão, Ecologia e Conservação do Percebe em Portugal. Relatório final do projeto piloto 31-03-05-FEP-11. Universidade de Évora, Laboratório de Ciências do Mar e MARE – Centro de Ciências do Mar e do Ambiente.
- D'Abramo, L. R. (2002). Challenges in developing successful formulated feed for culture of larval fish and crustaceans. *Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, 3, 143-151.
- Darwin, C., 1851. A monograph of the cirripedia. I. The Lepadidae. Ray Society
- Fairweather, P. G. (1991). Implications of 'supply-side' ecology for environmental assessment and management. *Trends in ecology & evolution*, 6(2), 60-63.
- Fernandes JN, Cruz T, Van Syoc R (2010). *Pollicipes caboverdensis* sp. nov. (Crustacea: Cirripedia: Scalpelliformes), an intertidal barnacle from the Cape Verde Islands. *Zootaxa*. **2557**: 29-38.
- Franco, S. C. (2014). Aquaculture of stalked barnacles (*Pollicipes pollicipes*).

- Franco, S. C., Aldred, N., Sykes, A. V., Cruz, T., & Clare, A. S. (2015). The effects of rearing temperature on reproductive conditioning of stalked barnacles (*Pollicipes pollicipes*). *Aquaculture*, 448, 410-417.
- Franco, S. C., Aldred, N., Cruz, T., & Clare, A. S. (2017). Effects of culture conditions on larval growth and survival of stalked barnacles (*Pollicipes pollicipes*). *Aquaculture Research*, 48(6), 2920-2933.
- Gaines, S., & Roughgarden, J. (1985). Larval settlement rate: a leading determinant of structure in an ecological community of the marine intertidal zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(11), 3707-3711.
- Gregg, J. H. (1945). Background illumination as a factor in the attachment of barnacle cyprids. *The Biological Bulletin*, 88(1), 44-49.
- Grosberg, R. K. (1982). Intertidal zonation of barnacles: the influence of planktonic zonation of larvae on vertical distribution of adults. *Ecology*, 63(4), 894-899.
- Grosberg, R. K., & Levitan, D. R. (1992). For adults only? Supply-side ecology and the history of larval biology. *Trends in ecology & evolution*, 7(4), 130-133.
- Helms, A., 2004. Living on the edge: Juvenile recruitment and growth of the gooseneck barnacle *Pollicipes polymerus*. Universidade de Oregon, Dissertação de Douturamento.
- Jacinto, D., Cruz, T., Silva, T., & Castro, J. J. (2010). Stalked barnacle (*Pollicipes pollicipes*) harvesting in the Berlengas Nature Reserve, Portugal: temporal variation and validation of logbook data. *ICES Journal of Marine Science*, 67(1), 19-25.
- Jacinto, D., Penteado, N., Pereira, D., Sousa, A., & Cruz, T. (2015). Growth rate variation of the stalked barnacle *Pollicipes pollicipes* (Crustacea: Cirripedia) using calcein as a chemical marker. *Scientia Marina*, 79(1), 117-123.
- Knight-Jones, E. W. (1953). Laboratory experiments on gregariousness during setting in *Balanus balanoides* and other barnacles. *Journal of Experimental Biology*, 30(4), 584-598.
- Kugele, M. e Yule, A.B. (1996). The larval morphology of *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790) (Cirripedia; Lepadomorpha) with notes on cypris settlement. *Scientia Marina*, 60, 469-480
- Lewis, C. A. (1975). Development of the gooseneck barnacle *Pollicipes polymerus* (Cirripedia: Lepadomorpha): fertilization through settlement. *Marine Biology*, 32(2), 141-153.
- Lewis, C. A. (1981). Juvenile to adult shift in feeding strategies in the pedunculate barnacle *Pollicipes polymerus* (Sowerby)(Cirripedia, Lepadomorpha). *Crustaceana*, 41(1), 14-20.
- López, D.A., López, B.A., Pham, C.K., Isidro, E.J. & De Girolamo, M. (2010). Barnacle culture: background, potential and challenges. *Aquaculture Research* 41: e367-e375.
- López, D. A., López, B. A., Pham, C. K., & Isidro, E. J. (2012). Potency of barnacle in aquaculture industry. In *Aquaculture*. InTech.
- Macho, G., Naya, I., Freire, J., Villasante, S., & Molares, J. (2013). The key role of the Barefoot Fisheries Advisors in the co-managed TURF System of Galicia (NW Spain). *Ambio*, 42(8), 1057-1069.
- Mantel, L. (Ed.). (2012). *Internal anatomy and physiological regulation*. Elsevier.

- Mateus, D. J. R. (2017). Variabilidade espacial e temporal do recrutamento de *Pollicipes pollicipes* na região de Sines
- Minchinton, T. E., & Scheibling, R. E. (1991). The influence of larval supply and settlement on the population structure of barnacles. *Ecology*, 72(5), 1867-1879.
- Molares, J., Tilves, F., & Pascual, C. (1994a). Larval development of the pedunculate barnacle *Pollicipes cornucopia* (Cirripedia: Scalpellomorpha) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 120(2), 261-264.
- Molares J, Tilves F, Quintana R, Rodríguez S, Pascual C (1994b). Gametogenesis of *Pollicipes cornucopia* (Cirripedia: Scalpellomorpha) in north-west Spain. *Marine Biology*. 120: 553-560.
- Molares, J., & Freire, J. (2003). Development and perspectives for community-based management of the goose barnacle (*Pollicipes pollicipes*) fisheries in Galicia (NW Spain). *Fisheries Research*, 65(1-3), 485-492.
- Moore, H. B. (1934). The biology of *Balanus balanoides*. I. Growth rate and its relation to size, season and tidal level. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 19(2), 851-868.
- Moran, A. (2000). Calcein as a marker in experimental studies newly-hatched gastropods. *Marine Biology*, 137, 893-898.
- Moyse, J. (1963). A comparison of the value of various flagellates and diatoms as food for barnacle larvae. *ICES Journal of Marine Science*, 28(2), 175-187.
- Norton, R. J. (1996). Feeding and energetic relationships of *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790)(Cirripedia: Lepadomorpha)(Doctoral dissertation, University of Wales, Bangor).
- Petersen, J. A., Fyhn, H. J., & Johansen, K. (1974). Eco-physiological studies of an intertidal crustacean, *Pollicipes polymerus* (Cirripedia, Lepadomorpha): aquatic and aerial respiration. *Journal of experimental biology*, 61(2), 309-320.
- Phillips, N. E. (2005). Growth of filter-feeding benthic invertebrates from a region with variable upwelling intensity. *Marine Ecology Progress Series*, 295, 79-89.
- Pineda, J. (2000). Linking larval settlement to larval transport: assumptions, potentials, and pitfalls. *Oceanography of the eastern Pacific*, 1(2000), 84-105.
- Pomerat, C. M., & Reiner, E. R. (1942). The influence of surface angle and of light on the attachment of barnacles and other sedentary organisms. *The Biological Bulletin*, 82(1), 14-25.
- Pyefinch, K. A. (1948). Notes on the biology of cirripedes. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 27(2), 464-503.
- Rivera, A., Gelcich, S., García-Florez, L., Alcázar, J. L., & Acuña, J. L. (2014). Co-management in Europe: Insights from the gooseneck barnacle fishery in Asturias, Spain. *Marine Policy*, 50, 300-308.
- Sousa, A., Jacinto, D., Penteadó, N., Martins, P., Fernandes, J., Silva, T., ... & Cruz, T. (2013). Patterns of distribution and abundance of the stalked barnacle (*Pollicipes pollicipes*) in the central and southwest coast of continental Portugal. *Journal of sea research*, 83, 187-194.

Southward, A. J. (1955). On the behaviour of barnacles: I. The relation of cirral and other activities to temperature. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 34(3), 403-422.

Southward, A. J. (1957). On the behaviour of barnacles III. Further observations on the influence of temperature and age on cirral activity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 36(2), 323-334.

Thomason, J. C., Hills, J. M., Clare, A. S., Neville, A., & Richardson, M. (1998). Hydrodynamic consequences of barnacle colonization. *Hydrobiologia*, 375, 191-201.

Underwood, A. J., & Fairweather, P. G. (1989). Supply-side ecology and benthic marine assemblages. *Trends in Ecology & Evolution*, 4(1), 16-20.

Villamar, D. F., & Langdon, C. J. (1993). Delivery of dietary components to larval shrimp (*Penaeus vannamei*) by means of complex microcapsules. *Marine Biology*, 115(4), 635-642.

Walley, L. J., White, F., & Brander, K. M. (1971). Sperm activation and fertilization in *Balanus balanoides*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 51(2), 489-494.