View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Universidade de Lisboa: Repositório.UL

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL

# Crescimento do ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* em viveiro na zona costeira da Ericeira, Portugal

PATRÍCIA MEGA LOPES DA SILVA

Dissertação de Mestrado

MESTRADO EM ECOLOGIA MARINHA

2012

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL

# Crescimento do ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* em viveiro na zona costeira da Ericeira, Portugal

PATRÍCIA MEGA LOPES DA SILVA

Dissertação de Mestrado orientada por Prof. Doutor Orlando de Jesus Luís – Professor Auxiliar do Departamento de Biologia Animal da FCUL

MESTRADO EM ECOLOGIA MARINHA

2012

# Agradecimentos

Ao meu orientador de tese Prof. Doutor Orlando Luís, pela oportunidade de desenvolvimento do projecto, apoio e disponibilidade demonstrada ao longo deste meu trabalho. Não esquecendo também o Laboratório Marítimo da Guia (Centro de Oceanografia da Faculdade de Ciências de Lisboa) que me proporcionou as condições para a execução dos trabalhos laboratoriais que precisei durante o meu projecto. Igualmente ao Dr. João Gago pela ajuda e disponibilidade demonstrada e ao Tiago do LMG que constantemente me questionava se precisava de algo para poder atingir o que me propus.

Agradeço também à Junta de Freguesia da Ericeira que teve a amabilidade de ceder o viveiro, o meu local de estudo, para este projecto. E falando da Junta, não posso deixar de referir o antigo Presidente, Joaquim José Casado que ainda mesmo antes deste projecto estar em cima da mesa, me proporcionou a utilização do viveiro e ideias conjuntas para o estudo dos ouriços da nossa Vila. Ao Sr. João que teve a gentileza de fazer as jaulas que estão no viveiro e ao Presidente actual António Mansura que me proporcionou a continuação da utilização do viveiro e me disponibilizou sempre a sua atenção. E claro um muito obrigada a todo o pessoal da Junta, dentro e fora do "escritório" por todo o apoio e ajuda.

Não posso deixar de agradecer igualmente à Capitania da Ericeira e seu pessoal, ao IPTM – Insituto Portuário e dos Transportes Marítimos, ao Departamento de Exploração dos Portos de Peniche e da Nazaré e à Direcção-Geral das Pescas e Aquicultura pela autorização da utilização do viveiro e simpatia demonstrada.

À minha professora de estatística de Peniche (ESTM), Susana Mendes, pela maravilhosa e preciosa ajuda na parte estatística deste trabalho.

Também ao meu "pessoal" do Algarve, a família de Loureiro, que me proporcionou óptimos momentos de férias para poder descontrair por breves instantes da minha escrita.

Às minhas amigas Ana Vieites, Xana Morais e Verinha Lopes pelo tempo, amizade, apoio e conselhos. Obrigada Xani pelas inúmeras vezes que leste o meu trabalho e o "assizaste".

À minha "prims" e restantes amigos pela confiança, apoio e motivação.

Por último e não menos importante à minha família (eu e os 4 mosqueteiros) por tanto, que teria de escrever uma tese à parte. Por me terem ajudado (ou de certo modo os obriguei a ajudar) durante a tese, tanto o meu Pai Filipe por tantas horas dentro do viveiro (se não fosse ele não teria o viveiro prontinho para se poder trabalhar) como a minha avó Palmira

pelas horas a olhar para as gónadas dos meus bichos. Obrigada por estarem sempre aí, por me verem crescer por dentro e por fora pelos conselhos (que muitas vezes não os sigo por ser cabeça dura) e pela paciência que têm de ter para me aturar, principalmente a minha avó! Por me ensinarem o respeito e a dedicação pelo trabalho e tudo o resto. À minha mãe que tenho por exemplo e ao meu irmão por me fazer uma pessoa melhor. São os melhores do Mundo. Adoro-vos.

Muito obrigada a todos

# Resumo

O ouriço *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), espécie mais dominante ao longo da costa portuguesa, representa um papel importante no funcionamento dos ecossistemas. Pode encontrar-se principalmente em habitats rochosos e a diferentes profundidades. É basicamente herbívoro e variações de alimento disponível podem afectar a sua reprodução (gametogénese, maturação, número e tamanho dos ovos). Esta espécie demonstra uma grande resposta adaptativa às condições ambientais a que se encontra, mas mesmo assim, o impacto humano a que está sujeito pode alterar significativamente seu papel ecológico. Devido as estes fenómenos, desde a alguns anos para cá, tem surgido um considerável número de estudos sobre a nutrição e crescimento do ouriço-do-mar, de modo a se perceber e garantir o sucesso do desenvolvimento do cultivo destes, pois é também uma iguaria muito apreciada em inúmeros países.

Neste estudo pretendeu-se estudar o crescimento do ouriço-do-mar (*P. lividus*) num viveiro da vila da Ericeira, mostrando as diferentes respostas adaptativas que os ouriços presenteiam em seis meses num ambiente natural e num ambiente com um suplemento na dieta. As dietas foram essencialmente alga, milho e alimento natural existente no meio. Para tal foram colectados ouriços em Cabo Raso na zona de Cascais e colocados no viveiro de estudo submetidos às diferentes dietas alimentares. No final foram comparados os índices gonadossomáticos através do peso dos indivíduos e suas gónadas concluindo-se que a média dos pesos dos ouriços tanto nas gónadas como no índice era significativamente maiores numa dieta principalmente com milho. A mesma dieta, mas com alga no meio envolvente, também obteve uma boa coloração nas gónadas dos ouriços-do-mar, aspecto importante para a comercialização dos mesmos.

Assim sendo a dieta milho pode fornecer os melhores resultados tanto para o crescimento como para uma boa coloração das gónadas do ouriço-do-mar, desde que aplicada conforme o presente trabalho.

**Palavras-chave:** ouriço-do-mar, *Paracentrotus lividus*, crescimento, índice gonadossomático, coloração das gónadas, viveiro e alimento disponível.

# Abstract

The sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), the most dominant echinoid specie along the Portuguese coast, represents an important role on marine ecosystem. It can be found in rocky subtidal habitats at different depths. *Paracentrotus lividus* is basically herbivorous and changes in available food can affect it´s reproduction (gametogenesis, maturation, number and eggs size). This specie demonstrate a very wide range of adaptive responses to environmental conditions, but even so, the human impact that is subjected can noticeably modify its ecological role. Due to these phenomena, since some years now, there has been a considerable number of studies on nutrition and growth of the sea urchin, to ensure the development of these animals and also because it is a highly appreciated delicacy in many countries.

The present work tries to study the growth of the sea urchin (*P. lividus*) in a live storage facility in Ericeira village, showing the different adaptive responses that sea urchins present during six months in a natural environment and in an environment with a supplement in its diet. The diet types were maize, macroalgae and natural food existed around. For this, the sea urchins were collected in Cascais, in the study facility placed and subjected to these different diets. At the end, gonadosomatic index were compared through its weight and its gonads concluding that gonadal mean weight and gonadosomatic mean index were significantly higher for sea urchins fed with maize than animals fed on algae alone. This diet type, but also with algae from the storage facility, can afford a good gonad colour, a fact that is very important for commercial production.

So, the results of the present study indicate that a maize diet is effective in increasing gonad mass and can provide the desired gonad colour if applied like the present study.

**Key-words:** sea urchin, *Paracentrotus lividus,* growth, gonadosomatic index, gonad colour, live storage facility, available food.

# Índice

Agradecimentos ..... i

Resumo ..... iii

Abstract ..... iv

PARTE I ..... 1

1. Introdução ..... 3

1.1 Ecologia da espécie em estudo: ouriço-do-mar, *Paracentrotus lividus* ..... 3

1.2 Crescimento dos ouriços e relação com a dieta ..... 5

1.3 Comercialização e qualidade ..... 7

1.4 Local de estudo ..... 8

1.5 Objectivos ..... 8

PARTE II ..... 9

2. Material e Métodos ..... 11

2.1 Descrição da área de Estudo e viveiro de marisco ..... 11

2.2 Material ..... 11

2.3 Recolha dos animais ..... 12

2.4 Configuração experimental ..... 12

2.5 Alimentação e condições ..... 13

2.6 Processamentos laboratoriais e análise de dados ..... 15

2.7 Análise de dados estatísticos ..... 16

2.8 Identificação dos locais com bancos de ouriços ..... 16

PARTE III ..... 17

3. Resultados ..... 19

3.1 Dados hidrográficos ..... 19

3.2 Mortalidade ..... 20

3.3 Observação das algas ..... 21

3.4 Observação dos intestinos ..... 21

3.5 Peso médio dos indivíduos em geral ..... 21

3.6 Análise das jaulas ..... 22

3.6.1 Peso médio dos indivíduos ..... 22

3.6.2 Peso médio das gónadas ..... 23

3.6.3 Índice Gonadossomático (GI) ..... 24

3.7 Análise dos poços ..... 27

3.7.1 Peso médio dos indivíduos ..... 27
3.7.2 Peso médio das gónadas ..... 27
3.7.3 Índice Gonadossomático (GI) ..... 28
3.8 Coloração das gónadas ..... 29
3.9 Identificação dos locais com bancos de ouriços ..... 32
4. Discussão ..... 33
PARTE IV ..... 39
5. Referências bibliográficas ..... 41

# Índice de figuras

*Figura 1* - Classificação taxonómica do ouriço da espécie *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), adaptado de Lawrance (2007). ..... 3

*Figura 2* - Ouriço da espécie *Paracentrotus lividus* (foto tirada por P. Mega Lopes)..... 4

*Figura 3* - Localização da área de estudo (foto tirada por P. Mega Lopes e mapa no *Google maps*)..... 11

*Figura 4* - Caixas (rede de cobertura em falta) com o tamanho indicado onde foram colocados os ouriços e respectivas Áreas e Volumes. ..... 13

*Figura 5* – Desenho do interior do viveiro com esquema da alimentação dos diferentes tanques e poços e respectivas medidas..... 14

*Figura 6* - Variação da temperatura no interior e exterior do viveiro ao longo do período experimental. ..... 19

*Figura 7* - Variação da precipitação na zona da Bacia Ribeiras do Oeste, zona mais perto do local de estudo e a Salinidade retirada no interior do viveiro durante os meses de estudo. .... 20

*Figura 8* - Média do peso (com desvio padrão) de *Paracentrotus lividus* sujeito a três diferentes dietas (milho, alga desidratada e controlo), nas jaulas, obtida no final da experiência..... 23

*Figura 9* - Média do peso das gónadas (com desvio padrão) de *Paracentrotus lividus* sujeito a três diferentes dietas (milho, alga desidratada e controlo), nas jaulas, obtida no final da experiência. ..... 24

*Figura 10* - Média do índice gonadossomático (com desvio padrão) de *Paracentrotus lividus* sujeito a três diferentes dietas (milho, alga desidratada e controlo), nas jaulas, obtida no final da experiência. ..... 25

*Figura 11* - Média do peso em gramas de *Paracentrotus lividus* sujeito a duas diferentes dietas (milho e controlo), nos poços, obtida no final da experiência..... 27

*Figura 12* - Média do peso das gónadas em gramas de *Paracentrotus lividus* sujeito a duas diferentes dietas (milho e controlo), nos poços, obtida no final da experiência. ..... 28

*Figura 13* - Média do índice gonadossomático em gramas de *Paracentrotus lividus* sujeito a duas diferentes dietas (milho e controlo), nos poços, obtida no final da experiência. ..... 28

*Figura 14* – Percentagem da coloração das gónadas..... 30

*Figura 15* – Mapa mostrando os diferentes locais existindo ouriços com as coordenadas retiradas (*Google Maps*). ..... 32

# Índice de tabelas

*Tabela I* - Taxa de mortalidade dos indivíduos para cada tanque e dieta do viveiro..... 20

*Tabela II* - Média e desvio padrão do peso inicial e final dos ouriços-do-mar para cada tanque. ..... 22

*Tabela III* – Teste de Homogeneidade de Variâncias (Teste de Levene), ANOVA, Kruskal-wallis e testes post-hoc para as variáveis dependentes peso dos indivíduos, peso das gónadas e índice gonadossomático (GI) nas jaulas. SQ – Soma dos quadrados, MQ – Média dos quadrados, F – estatístico, Sig. – valor significância (ρ-value), DM – diferença da média. ..... 26

*Tabela IV* - Teste Independente de amostras, testando-se a homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e a igualdade de médias (teste t) para as variáveis dependentes peso dos indivíduos, peso das gónadas e índice gonadossomático (GI) nos poços. Sig. – valor de significância (ρ-value), DM – diferença da média, Igualdade de variâncias assumidas/não assumidas – dependentemente do valor de sig para o teste Levene logo se vê a linha dos valores. ..... 29

*Tabela V* – Método de *Pearson* ..... 31

*Tabela VI* – Associação entre as variáveis cor das gónadas e ração. ..... 31

*Tabela VII* – Coordenadas dos vários locais com bancos de ouriços ..... 32

# PARTE I

Introdução e Objectivos

# 1. Introdução

## 1.1 Ecologia da espécie em estudo: ouriço-do-mar, *Paracentrotus lividus*

Os equinóides em geral e os ouriços em particular têm um papel predominante nas comunidades marinhas, dinamismo e em especial nos habitats costeiros (Fernandez, 1997; Gago *et al*., 2003).

O ouriço-do-mar é um equinoderme, tal como as estrelas-do-mar e os pepinos-do-mar e pertence à classe Echinoidea e à família Echinidae (*figura 1*), (Saldanha, 1995). Possui um esqueleto duro constituído por ossículos que inclui os espinhos (*figura 2*), elementos da Lanterna de Aristóteles e placas (Ebert, 2007), não possui olhos mas está coberto de células sensíveis à luz e movem-se com a ajuda de pés ambulacrários sendo constituído por um tubérculo primário em cada placa ambulacrária (com cinco pares de poros) e interambulacrária (Saldanha, 1995; Boudouresque & Verlaque, 2007; Elbert, 2007). Apresenta variadas cores (e.g. verde, violeta, esbranquiçada, acastanhada) apesar de não estarem relacionadas com a profundidade ou tamanho do indivíduo (Boudouresque & Verlaque, 2007).

Reino **Animalia** Linnaeus, 1758

Filo **Echinodermata**

Classe **Echinoidea**

Ordem **Echinoida**

*Figura 1* - Classificação taxonómica do ouriço da espécie *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816), adaptado de Lawrance (2007).

Os ouriços-do-mar são animais de sexos separados e de fecundação externa (Saldanha, 1995; Boudouresque & Verlaque, 2007; McEdward & Miner, 2007). Na altura da reprodução, as fêmeas libertam os ovos para o mar e os machos o esperma (Saldanha, 1995; McEdward & Miner, 2007). Os ovos produzem uma substância química que atrai os espermatozóides da mesma espécie, e é graças a este químico que ocorre a fecundação (McEdward & Miner, 2007). O desenvolvimento é indirecto e depois da fecundação forma-se um ovo ou zigoto que se segmenta para originar uma larva nadadora que mais tarde origina um ouriço-do-mar, como é conhecido (Saldanha, 1995; McEdward & Miner, 2007). As larvas dos equinóides são

planctónicas, alimentam-se na coluna de água durante aproximadamente durante um mês e designam-se por equinoplúteo (McEdward & Miner, 2007). A desova do *P. lividus* ocorre uma ou duas vezes ao ano podendo ser influenciada pela temperatura da água, sendo ela durante a Primavera e início de Verão, apesar de já se ter observado em Outubro (desova tardia de Verão) (Leoni *et al.*, 2003; Martínez *et al*., 2003; Boudouresque & Verlaque, 2007).

O ouriço-do-mar da espécie *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (*figura 2*) encontra-se distribuído ao longo do Mar Mediterrâneo, Atlântico nordeste, desde a Escócia e Irlanda até sul de Marrocos e ilhas Canárias, incluindo arquipélago dos Açores (Fernandez, 1997; Fernandez & Boudouresque, 2000; Boudouresque & Verlaque, 2007). É a espécie mais dominante na costa rochosa portuguesa (Gago *et al*., 2003) e é particularmente comum em regiões onde a temperatura de Inverno varia entre 10 °C a 15 °C e a temperatura de Verão entre 18°C a 25 °C (Boudouresque & Verlaque, 2007). Trata-se de uma espécie sensível a valores extremos de salinidade (15/20 ppm e 39/40 ppm) quando exposta durante um longo período (Boudouresque & Verlaque, 2007).

As excreções produzidas pelos ouriços, principalmente a amónia, podem ser um problema grave na medida em que causam efeitos negativos no seu comportamento e fisiologia podendo afectar o seu *fitness* reprodutivo, ou até mesmo provocar-lhes a morte. Isto acontece principalmente quando os ouriços são produzidos em sistemas fechados ou semi-fechados (Lawrence *et al.,* 2003; Boudouresque & Verlaque, 2007).

*Figura 2* - Ouriço da espécie *Paracentrotus lividus*
(foto tirada por P. Mega Lopes).

É caracteristicamente uma espécie subtidal habitando preferencialmente cavidades rochosas em zonas com pavimentos de algas e em menor densidade em substratos com acentuado desenvolvimento de algas erectas (Gago *et al*., 2003; Boudouresque & Verlaque, 2007). Encontram-se em águas pouco profundas até uma média de 10-20 m de profundidade e em poças de maré rochosas (Boudouresque & Verlaque, 2007). Os indivíduos que se encontram a pouca profundidade criam cavidades onde vivem de forma temporária ou

permanente, que os protege do hidrodinamismo e dos predadores (estrelas-do-mar e alguns caranguejos) (Boudouresque & Verlaque, 2007).

As densidades de *P. lividus* vão desde poucos a uma dúzia de indivíduos por metro quadrado. Densidades muito elevadas (> 50 – 100 indivíduos por metro quadrado) ocorrem normalmente em habitats pouco profundos, rochas levemente inclinadas, poças de maré e em ambientes poluídos. Podem ainda ocorrer agregações localizadas, com densidades superiores a 1600 indivíduos por metro quadrado, apesar de se conhecer pouco este fenómeno. Estas agregações podem estar relacionadas com uma estratégia de defesa contra predadores, comportamentos alimentares ou de desova (Boudouresque & Verlaque, 2007).

## 1.2 Crescimento dos ouriços e relação com a dieta

O crescimento nos ouriços, relacionado com o tamanho do corpo (Lawrence *et al.,*2007), é baseado em processos celulares que resultam em alterações na massa, no diâmetro e na forma, que implicam uma expansão, calcificação e produção de tecidos (Ebert, 2007). Normalmente é estimada uma idade média para os indivíduos, de acordo com o seu diâmetro: 2 cm de diâmetro correspondem a uma média de 2 anos de idade e um indivíduo com 4 cm terá entre 4 e 5 anos de idade (Boudouresque & Verlaque, 2007).

Este crescimento parece estar relacionado com a temperatura da água, a qualidade do alimento e o desenvolvimento das gónadas (Boudouresque & Verlaque, 2007; Tomsic *et al*., 2010).

Vários estudos de análise do conteúdo alimentar indicam que *P. lividus* é basicamente herbívoro (Boudouresque & Verlaque, 2007). É também um oportunista generalista mas a sua dieta selectiva. As preferências alimentares destes animais são muitas vezes dependentes das condições ambientais, do alimento disponível e também de tamanho e forma (Boudouresque & Verlaque, 2007; Lawrence *et al.,* 2007). Muitas vezes, mesmo com alimento continuamente disponível e sem ocorrer qualquer alteração das condições ambientais, os ouriços-do-mar podem não se alimentar necessariamente, demonstrando saciedade (Lawrence *et al.,* 2007). Noutras situações, é possível que o ouriço mude de um alimento preferido para um que seja mais abundante e menos preferido, o que representa um importante papel no funcionamento dos ecossistemas mantendo normalizada a densidade das populações de algas, a comunidade vegetal (Gago *et al*., 2003; Boudouresque & Verlaque, 2007). Isto, porque as cavidades rochosas cobertas por ouriços, estão geralmente cobertas por *Lithophyllum incrustans*, uma alga calcária, (bem como outra alga calcária mas em menor proporção, a *Mesophyllum*

*lichenoides*) de que o ouriço se vai alimentando, acabando por destruir a vegetação mole do fundo, deixando a descoberto o revestimento da rocha (Saldanha, 1995; Gago *et al.,* 2003). Mas estes alimentos podem ser preferidos numa determinada época para o ouriço e evitados noutra, não havendo um padrão geral para preferências e rejeições, mostrando uma resposta adaptativa às condições ambientais a que se encontram (Boudouresque & Verlaque, 2007). Isto demonstra-nos também o papel importante que os ouriços têm no funcionamento geral dos ecossistemas (Boudouresque & Verlaque, 2007) e na organização e funcionalidade das comunidades bentónicas e notavelmente em determinados níveis da produção primária e distribuição de macrófitos (Fernandez *et al.*, 2003).

No entanto, o impacto da população humana pode alterar significativamente o papel ecológico do ouriço-do-mar *P. lividus*, quer por reduzir a sua abundância pela apanha, ou directamente pelo aumento drástico através da poluição e indirectamente através da sobrepesca dos seus predadores (Boudouresque & Verlaque, 2007).

Segundo vários estudos descritos por Fernandez & Boudouresque (2000), pode-se afirmar que a quantidade e a qualidade do alimento ingerido podem influenciar a fisiologia e a morfologia dos ouriços, havendo uma relação directa entre o tamanho da lanterna de Aristóteles e a quantidade de alimento disponível. Também se verifica que, variações na quantidade de alimento disponível podem afectar a reprodução (gametogénese, maturação, número e tamanho dos ovos), enquanto que a qualidade do alimento afecta a fisiologia e os parâmetros nutricionais, apesar de os efeitos serem pouco conhecidos (Fernandez & Boudouresque, 2000).

Os factores que afectam a composição das gónadas podem então ser endógenos, exógenos ou ambos actuar em conjunto. Os endógenos são controlados geneticamente e estão associados com o ciclo de vida do animal. Assim, à medida que as gónadas aumentam de tamanho, o crescimento somático abranda e eventualmente pára, fazendo com que as proteínas e lípidos sejam mobilizados do músculo para as gónadas. Os exógenos podem ser ambientais, como a temperatura e salinidade, ou associados à dieta (Arafa *et al.*, 2012).

Por outro lado, ao considerar o crescimento e desenvolvimento dos tecidos das gónadas, o equilíbrio entre alimentação natural e ração pode ser descrito em termos de constituintes químicos que limitam o crescimento das gónadas, isto é, os componentes bioquímicos da ração que restringem o desenvolvimento dos tecidos das gónadas (Marsh & Watts, 2007). Por exemplo, os lípidos são importantes reservas de energia que podem armazenar mais energia por unidade de volume do que as proteínas ou carbohidratos (Arafa *et al.*, 2012). Assim sendo, o ciclo gametogénico dos equinóides, foi estudado em pormenor nos últimos 70 anos (ver em Marsh & Watts, 2007), e a conveniência do uso de um índice

gonadossomático para avaliação tem produzido inúmeros estudos documentando as diferenças de tamanho das gónadas durante a gametogénese (Marsh & Watts, 2007).

## 1.3 Comercialização e qualidade

Actualmente, o consumo de *P. lividus* é principalmente limitado a França, Espanha e Japão, e em menor quantidade para a Itália e Grécia, apesar de a apanha ocorrer, ou ter ocorrido, em vários locais (e.g. Irlanda, Portugal e Croácia) (Fernandez, 1997; Fernandez & Pergent, 1998; Fernandez *et al.*, 2003; Boudouresque & Verlaque, 2007; Cook & Kelly, 2007). As gónadas do ouriço-do-mar, com aspecto de caviar e sabor único, são intensivamente apreciadas e valorizadas em termos alimentares em muitos lugares do mundo, como uma iguaria (Liyana-Pathirana *et al.,* 2002; Pearce *et al.,* 2002; Robinson *et al.,* 2002; Boudouresque & Verlaque, 2007; Tomsic *et al*., 2010). Uma combinação de variedade de atributos determina a qualidade das gónadas do ouriço-do-mar, incluindo em particular a cor, tamanho, textura e granularidade (Blount & Worthington, 2002; Pearce *et al.,* 2002). Para um produto de alta qualidade, as gónadas devem conter poucos ou nenhuns gâmetas, uma textura firme e serem de cor amarela brilhante ou laranja (Shpigel *et al*., 2004; Shpigel *et al*., 2005). Esta coloração é derivada sobretudo aos pigmentos dos carotenóides (Robinson *et al.,* 2002; Shpigel *et al*., 2005) e os ouriços obtêm estes pigmentos através da sua dieta (Robinson *et al.,* 2002). Assim sendo, o controlo da reprodução do ouriço-do-mar é essencial para a comercialização deste produto valioso de marisco (Shpigel *et al*., 2004).

É por esta razão, devido ao incremento da demanda deste recurso, cada vez mais apreciado pela alta cozinha e pelo seu sabor e excelente composição nutricional, que um número considerável de estudos tenha surgido nos últimos anos sobre a nutrição e crescimento do ouriço, de modo a garantir o desenvolvimento do cultivo destes (Fernandez, 1997; Fernandez and Boudouresque, 1998; Fernandez *et al.*, 2003; Jimmy *et al.,* 2003; Cook and Kelly, 2007). Este tipo de estudos também são importantes, pois segundo Boudouresque & Verlaque (2007), a espécie *P. lividus* de ouriço-do-mar é muito irritante para os biólogos, pois mesmo quando se pensava que já se sabia o mecanismo, e uma sucessão de causas e efeitos pareciam ocorrer numa ordem lógica, escapava sempre algo.

## 1.4 Local de estudo

O local de estudo deste trabalho, vila da Ericeira, era antigamente designada por *Ouriceira*, nome vindo do próprio ouriço-do-mar, que antigamente era muito abundante nesta zona. Apesar de actualmente a sua ocorrência ser menor, continua a ser uma iguaria muito apreciada a nível gastronómico pela população local e um importante recurso económico. Daí o ouriço e as suas gónadas desempenham um importante papel a nível social, económico e gastronómico.

Relatos de antigamente dizem-nos que foi na Ericeira, vila de um "mar de tradições", que em 1670, motivada pela Guerra da Restauração, se iniciou a construção de um Forte ao qual estão ligadas as "Furnas", designação esta do tapete rochoso onde estão inseridos os viveiros associados às fábricas de conserva de pescado que terão sido utilizados ao longo dos tempos como apoio aos pescadores e populações locais (Pipa & Valle de Figueiredo, 2003).

Ao longo da história, hoje considerados emblemas da vila, Forte e Furnas sofreram vários períodos de abandono e reconstrução. Já no século XX, os viveiros foram utilizadas pelos vários restaurantes locais como dispensa ou armazéns. Lagostas, amêijoas, sapateiras, santolas e lavagantes eram alguns dos mariscos, que diariamente eram recolhidos de manhã e repostos no final do dia, permitindo que se mantivessem sempre vivos até serem consumidos. Esta prática terá contribuído para a fama e o bom nome actual da vila no que se refere à parte gastronómica associada à frescura do seu marisco (Pipa & Valle de Figueiredo, 2003).

Este procedimento deixou de ser rentável, pois tratava-se de uma logística dispendiosa. Assim, uma vez mais os viveiros nas Furnas foram deixados ao abandono.

## 1.5 Objectivos

O objectivo principal do presente estudo em ambiente semi-natural (viveiro de marisco) foi avaliar a influência da dieta no crescimento do ouriço-do-mar, submetido a três tipos de dieta, duas dietas alimentares controladas (alga desidratada e milho) e outra não controlada (alimento natural do meio). Os objectivos secundários foram a análise da coloração das gónadas dos ouriços de acordo com a dieta e a identificação das diferentes zonas, através da ferramenta *Google Earth*, na vila onde ainda se verifica alguma quantidade de ouriços.

# PARTE II

Material e Métodos

# 2. Material e Métodos

## 2.1 Descrição da área de Estudo e viveiro de marisco

A área de estudo localizou-se no litoral Oeste de Portugal a cerca de 50 km da cidade de Lisboa, na vila da Ericeira (*figura 3*). O viveiro agora aproveitado para este estudo era o único que se mantinha em condições razoáveis para utilização, quer no seu interior quer ao nível de segurança de forma a não poder ser vandalizado, uma vez que mantinha uma grade com fechadura. Trata-se de um viveiro sobre a alçada da junta de Freguesia que o foi mantendo, e que teve a amabilidade de o ceder para este projecto.

Os ouriços foram mantidos no viveiro cujas condições de humidade e luminosidade foram mantidas de forma natural. Isto porque o viveiro localiza-se na costa rochosa da vila, em contacto constante com o mar, e não é totalmente coberto, não condicionando por isso o fotoperíodo e garantido também a entrada e saída de água conforme as marés.

O viveiro é constituído por pavimento rochoso e no seu interior existem vários compartimentos e secções naturais que formam pequenos tanques individuais.

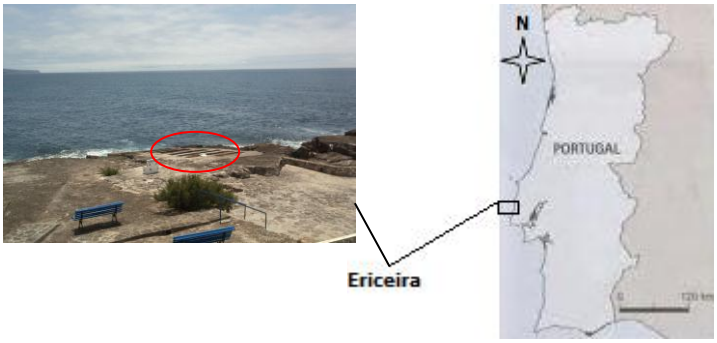


*Figura 3* - Localização da área de estudo (foto tirada por P. Mega Lopes e mapa no *Google maps*).

## 2.2 Material

Neste trabalho, para recolha e transporte dos exemplares de ouriços-do-mar foram utilizados garfos, baldes de várias dimensões e um arejador para veículos automóveis. Para as medições e pesagens utilizou-se uma balança, uma régua, um compasso de calibre (*caliper*), papel e caneta. Para os procedimentos laboratoriais foram utilizados pinças, tesouras, bisturis, caixas de *Petri* e uma lupa binocular (da marca *Wild Heerbrugg*). Para os registos no viveiro, foi utilizado um termómetro (*Marina Aquarium)*, um refractómetro $V^2$ (*TMC Aquarium*), um

fotómetro (*Lunasix* 3 *Gossen*) e uma máquina fotográfica (*Nikon*). Para alimentação utilizou-se milho [milho grado (OGM) da marca "Lucas", José M. Lucas, Lda. Mafra] e alga [KOMBU (*Laminaria*) desidratada da marca Algamar, Galicia Espanha].

## 2.3 Recolha dos animais

Para este procedimento experimental foram colectados do meio natural, manualmente, 560 ouriços, número este suficiente para obter uma boa amostra. A recolha ocorreu, em Cascais (Cabo Raso), a poucos metros de profundidade em princípio de Novembro do ano 2011 e incidiu, sempre que possível, sobre ouriços que tenham por volta de 3 - 4 cm de diâmetro. Os ouriços foram transportados em veículo automóvel para circuito fechado no Laboratório Marítimo da Guia. Antes de serem colocados no viveiro todos os exemplares foram medidos e pesados, registando-se os respectivos valores.

## 2.4 Configuração experimental

Os exemplares foram distribuídos uniformemente por 4 caixas (jaulas) introduzidas no viveiro, com 1,50 m de comprimento, 0,30 m de altura e 0,60 m de largura (*figura 4*). Soube-se assim, o peso médio dos ouriços para cada compartimento e consequentemente para cada caixa. Cada caixa tinha uma divisão a meio (devidamente identificadas com números e letra com 0,75 m de comprimento) de forma a garantir várias amostras e era constituída por uma rede de maneira a impedir a saída dos ouriços e ao mesmo tempo, garantir a entrada do alimento natural existente nas águas do viveiro. As redes inferiores e laterais da jaula tinham 0,5 cm, as superiores e as que efectuavam a divisão dos compartimentos tinham 2 cm.

Dentro de cada compartimento foram colocados 45 indivíduos (2 compartimentos por caixa), o que perfez 90 ouriços por caixa. Um total de 360 ouriços, pois tínhamos 4 caixas no total no interior do viveiro.

Fora das caixas, no pavimento rochoso dos tanques naturais do viveiro (designados de poços) foram colocados 100 indivíduos em cada um deles. Estes ouriços não se encontravam cobertos por nenhuma rede ou caixa, mas estavam divididos pelas paredes do viveiro, não havendo também troca de indivíduos durante a fase experimental.

$A_{total} = 0{,}90\ m^2$

$V_{total} = 0{,}27\ m^3$

$A_{compartimento} = 0{,}45\ m^2$

$V_{compartimento} = 0{,}135\ m^3$

*Figura 4* - Caixas (rede de cobertura em falta) com o tamanho indicado onde foram colocados os ouriços e respectivas Áreas e Volumes.

## 2.5 Alimentação e condições

Durante a fase experimental e com o intuito de se observar as diferenças no crescimento, os ouriços foram submetidos a dois tipos de alimentação controlada, milho e alga desidratada (Fernandez *et al.,* 1995; Basuyaux & Blin, 1998) e também alimentação não controlada nos compartimentos controlo, alimentação natural.

A alga foi fornecida pois é a alimentação típica e comum para os ouriços. A sua forma desidratada, além de ser de fácil conservação, não exige grandes cuidados aquando do fornecimento, sendo apenas necessário pô-la dentro de um recipiente com água salgada e esperar uns minutos. Como ela vem compactada, depois tem de se separar as folhas à mão e distribuir pelos ouriços.

A escolha de uma alimentação baseada em milho deveu-se ao facto de reunir vantagens como ser de fácil manuseamento, trata-se de um alimento barato, fácil de encontrar nos estabelecimentos e possui os nutrientes necessários para o ouriço.

Uma vez por semana durante 26 semanas na maré baixa (de 17 Novembro 2011 a 9 Maio 2012), foi dada a alimentação artificial e recolhida (com os materiais já descritos) a seguinte informação:

- Iluminação no viveiro (Fotómetro)
- Temperatura da água (Termómetro)
- Salinidade (Refractómetro)
- Existência de alga (sobre os ouriços testados) ou não no viveiro

Existindo alga no interior do viveiro e principalmente dentro dos tanques e em cima dos ouriços, fotografou-se para posterior identificação.

Esta recolha de informação ocorreu nas horas de maré baixa e duas horas antes ou depois da maré baixa, aquando da alimentação, para se verificar diferenças na água do viveiro. Isto para se registar as diferenças de dieta a que os ouriços estavam sujeitos.

Depois de colocados nos tanques, os ouriços não foram mais manuseados até ao final da experiência.

Além de um dia por semana para alimentação, o viveiro foi sempre que possível (devido às marés) monitorizado para se verificar se as jaulas não se tinham deslocado. Isto porque estávamos muito dependentes das condições do mar e da força da ondulação.

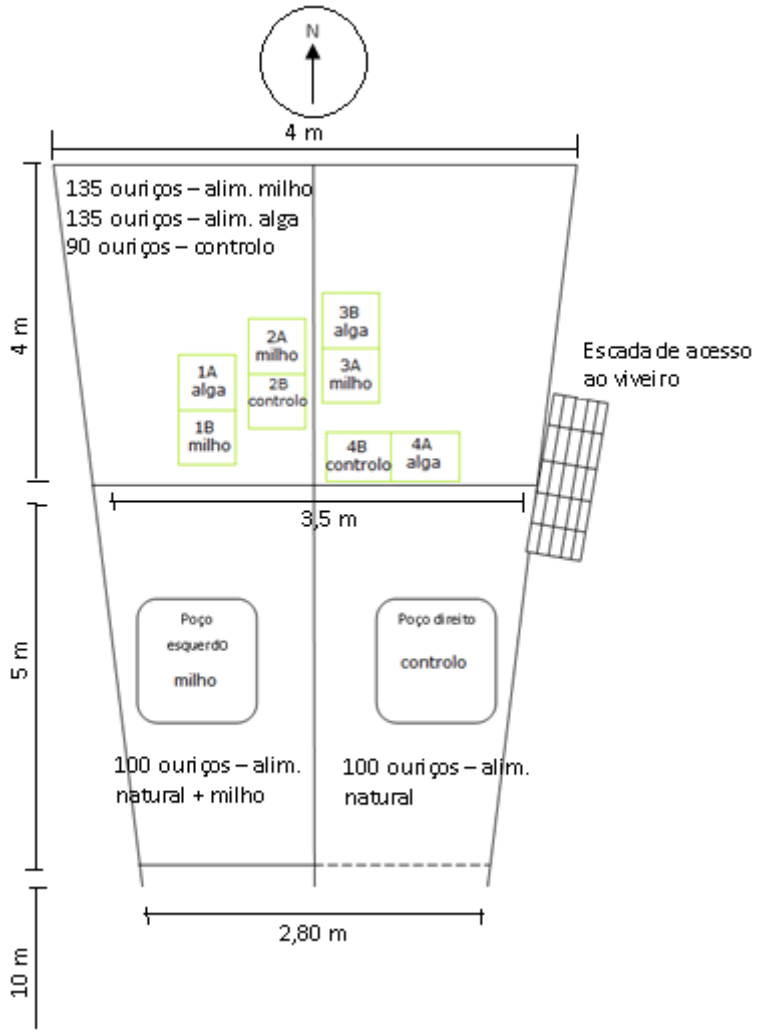


*Figura 5* – Desenho do interior do viveiro com esquema da alimentação dos diferentes tanques e poços e respectivas medidas.

Para a alimentação foram escolhidos ao acaso quais os tanques e alimentação fornecida (*figura 5*). Nas jaulas existiam 2 tanques controlo (alimento natural, não controlado,

que possa existir na água do viveiro), 3 tanques com alga e 3 com milho. Nos outros dois poços à parte (os tanques naturais) um deles não teve qualquer tipo de alimentação artificial (controlo) e o outro além da alimentação natural foi alimentado com milho. No início da experiencia tínhamos um total de 560 ouriços, ou seja 135 com milho, 135 com alga e 90 no controlo nas jaulas e 100 com milho e 100 no controlo nos poços da rocha (*figura 5*).

## 2.6 Processamentos laboratoriais e análise de dados

No final da experiência, os ouriços que se encontravam no interior do viveiro foram novamente medidos, registando o diâmetro (perpendicular ao eixo oral-aboral), pesados (peso total húmido) e abertos, tendo sido retiradas as cinco gónadas para pesagem e determinação do sexo. O peso das gónadas permitiu estimar o índice gonadossomático (GI %) de cada ouriço para aquela amostra. Este índice foi calculado pela seguinte equação (Sánchez-España *et al.,* 2004; Marsh & Watts, 2007):

$$GI\ (\%) = \left(\frac{Peso\ húmido\ das\ gónadas}{Peso\ total\ húmido\ do\ ouriço}\right) \times 100$$

O peso húmido das gónadas é o peso total das cinco gónadas retiradas dos indivíduos e o peso total húmido do ouriço, o peso do ouriço a que correspondem as gónadas retiradas.

As gónadas também foram fotografadas para efectuar uma avaliação da sua qualidade, classificando-as em cinco categorias de acordo com a cor apresentada: laranja escuro (LE), amarelo pálido (AP), laranja brilhante (LB), laranja amarelo (LA) e laranja manga (LM) (Shpigel *et al.,* 2005). Gónadas de cor LE e AP são consideradas de baixa qualidade, de cor LB e LA consideradas aceitáveis e de cor LM excelentes (Shpigel *et al.,* 2005).

Também foi calculada a diferença do peso médio de cada compartimento para o início e final da experiência.

Para se analisar o conteúdo estomacal e comprovar a alimentação dos ouriços-do-mar, aquando a abertura dos exemplares dos tanques controlo (2B, 4B e poço controlo), foram retirados os intestinos de cinco ouriços ao acaso. Estes intestinos foram devidamente identificados e congelados para posterior observação à lupa binocular no laboratório. Durante a observação dos intestinos foram registados os resultados.

## 2.7 Análise de dados estatísticos

Antes de se executar qualquer tipo de análise estatística, a homogeneidade das variáveis de estudo foram testadas através do teste de Levene. Todos os tratamentos estatísticos foram efectuados com o *software* IBM SPSS 20.0.

Realizou-se a comparação estatística da influência das duas dietas mais o controlo fornecidas aos animais para as jaulas através do método ANOVA, teste Kruskal-wallis (com o nível de significância $\alpha = 0,05$) e com um factor. O factor em estudo é o tipo de dieta que se pretendeu relacionar com as diferentes variáveis biológicas estudadas (peso do indivíduo, peso das gónadas e o índice gonadossomático, não em percentagem). Para cada variável existiam duas hipóteses em estudo, a hipótese nula ($H_0$) em que não existem diferenças estatisticamente significativas no valor médio das diferentes variáveis biológicas e a hipótese alternativa ($H_1$) em que existem diferenças estatisticamente significativas no valor médio das diferentes variáveis biológicas. Os efeitos significativos detectados foram sujeitos aos testes *post-hoc* Dunnett para se analisar individualmente os níveis do factor da dieta. Para os poços foi efectuado o teste t e analisados os resultados.

Para testar se a coloração das gónadas estaria dependente do tipo de dieta fornecida utilizou-se o teste do qui-quadrado.

## 2.8 Identificação dos locais com bancos de ouriços

O estudo foi efectuado perto da zona do viveiro em zonas com substrato rochoso que possuíssem ainda alguma quantidade de ouriços da espécie *P. lividus*. Aquando a escolha dos locais foram retiradas as coordenadas por *GPS* e para posteriormente se efectuar um mapa de coordenadas.

# PARTE III

Resultados e Discussão

# 3. Resultados

## 3.1 Dados hidrográficos

Os dados hidrográficos foram medidos no interior do viveiro com água rasa no local onde se encontravam os ouriços-do-mar. Para a temperatura o maior valor registado foi de 17°C no dia 4 de Dezembro, duas horas após o pico de maré vaza enquanto que o menor foi 12°C no dia 9 de Fevereiro na maré vaza e o mesmo valor duas horas após. A média de temperatura foi calculada, sendo 14,0 ± 0,9°C (*figura 6*). O gráfico abaixo diz respeito à variação temperatura ao longo da experiência no interior do viveiro e no Oceano Atlântico na zona da Ericeira.

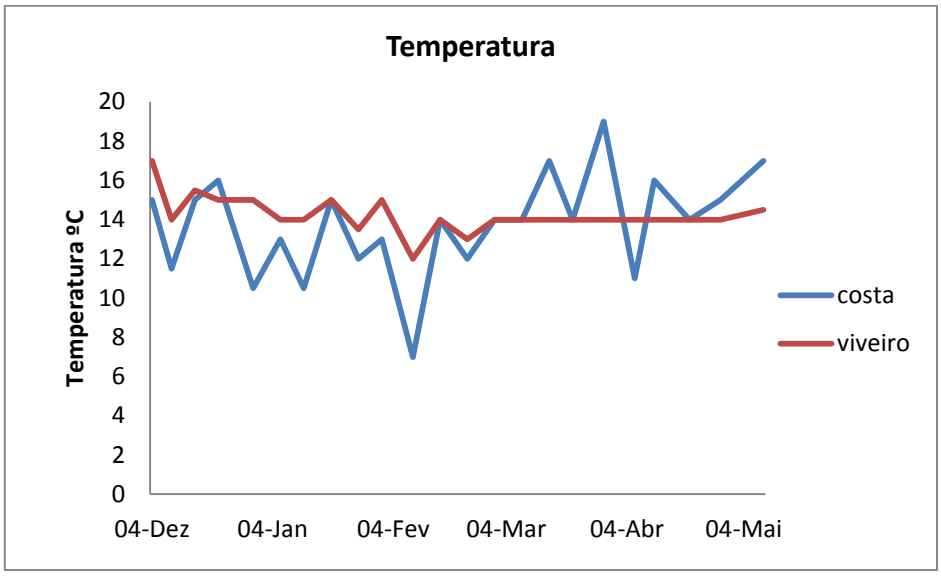


*Figura 6* - Variação da temperatura no interior e exterior do viveiro ao longo do período experimental.

A salinidade da água no decorrer da experiência também foi registada, sendo o valor mais elevado 35,5 *ppm* nos dias 21 e 29 de Março tanto na maré vaza bem como duas horas antes desta e o valor mais baixo de 32 *ppm* no dia 9 de Dezembro duas horas após o pico da maré vaza. A média de salinidade também foi calculada sendo 34,5 ± 0,9 *ppm* (*figura 7*). Para complementar a informação obteve-se um gráfico (*figura 7*) demonstrando a precipitação na zona mais perto do local de estudo, Ribeiras do Oeste, e durante os meses de estudo.

No que diz respeito à luminosidade, obtivemos valores no interior do viveiro apenas aquando da alimentação sendo duas horas antes ou após a maré vaza, mas estes não foram retirados até ao final da fase experimental pois ocorreu um acidente com o instrumento de medida. Mesmo assim obtivemos valores até dia 1 de Março sendo que a média ronda os

1400 *lux*. O valor mais baixo registado foi de 350 *lux* no dia 6 de Janeiro e o valor mais alto 4200 *lux* no dia 1 de Março.

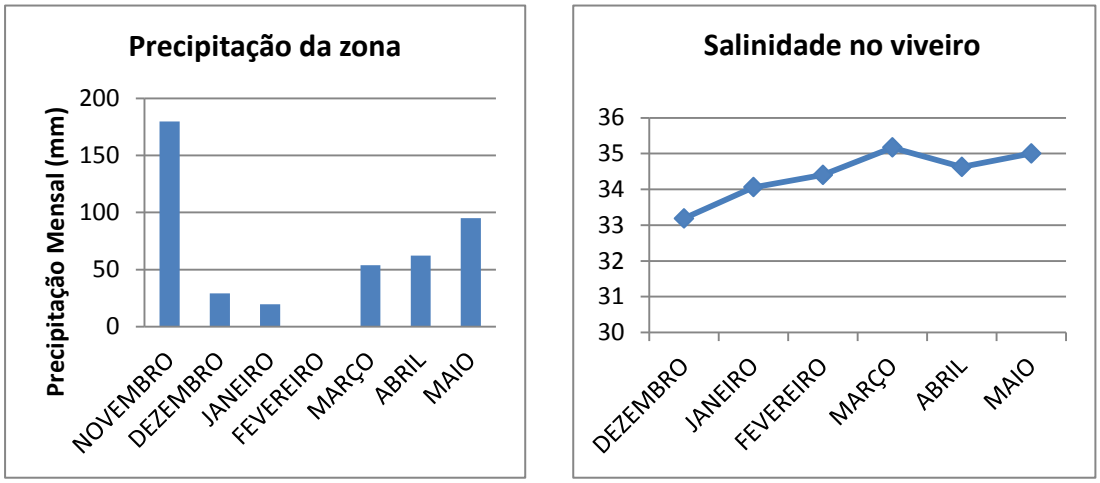


*Figura 7* - Variação da precipitação na zona da Bacia Ribeiras do Oeste, zona mais perto do local de estudo e a Salinidade retirada no interior do viveiro durante os meses de estudo.

## 3.2 Mortalidade

Obteve-se também no final da experiência a taxa de mortalidade dos indivíduos para cada tanque e para cada dieta, cujos resultados se encontram na seguinte tabela:

*Tabela I* - Taxa de mortalidade dos indivíduos para cada tanque e dieta do viveiro.

| Tanque | Ração | Número inicial | Número final | Taxa de mortalidade |
|---|---|---|---|---|
| Tanque 1A | Alga | 45 | 12 | 73,3% |
| Tanque 1B | Milho | 45 | 41 | 8,9% |
| Tanque 2A | Milho | 45 | 30 | 33,3% |
| Tanque 2B | Controlo | 45 | 36 | 20% |
| Tanque 3A | Milho | 45 | 42 | 6,7% |
| Tanque 3B | Alga | 45 | 32 | 28,9% |
| Tanque 4A | Alga | 45 | 20 | 55,6% |
| Tanque 4B | Controlo | 45 | 30 | 33,3% |
| Poço c/ milho | Milho | 100 | 94 | 6% |
| Poço controlo | Controlo | 100 | 53 | 47% |
| Total Milho | | 235 | 207 | 11,91% |
| Total Alga | | 135 | 64 | 52,59% |
| Total Controlo | | 190 | 119 | 37,37% |

## 3.3 Observação das algas

Foi também observada a existência de alga no viveiro e perto dos ouriços-do-mar. Obtivemos alga a 9 de Fevereiro e depois a partir de 1 de Março até ao final da fase experimental. As algas estavam a cobrir os ouriços que se encontravam nos poços e também os que se encontravam nas jaulas, mesmo com a rede a cobrir estas.

As algas foram fotografadas e identificadas. A alga vermelha que se encontrava no interior do viveiro era da espécie *Asparagopsis armata* e a alga verde *Codium sp.* (Cambell, 1976).

## 3.4 Observação dos intestinos

Os resultados que se obtiveram na observação dos intestinos dos ouriços dos tanques controlo foram os seguintes:

Tanque 2B - identificação de algas vermelhas e verdes por digerir, bastante visíveis e outros sem identificação pois já tinha tudo sido digerido.

Tanque 4B - identificação de algas verdes por digerir, bastante visível e outros sem identificação pois já tinha tudo sido digerido.

Poço controlo - identificação de algas vermelhas e verdes por digerir e aglomerados de alga vermelha + verde, bastante visíveis e outros sem identificação pois já tinha tudo sido digerido.

## 3.5 Peso médio dos indivíduos em geral

A diferença do peso médio dos ouriços de todo o viveiro foi calculada no início e no final da experiência. Para tal obteve-se a média do peso inicial e final para cada tanque como se demonstra na seguinte tabela:

*Tabela II* - Média e desvio padrão do peso inicial e final dos ouriços-do-mar para cada tanque.

| Tanque | Ração | Média do peso inicial | Média do peso final |
|---|---|---|---|
| Tanque 1A | Alga | 29,0 ± 9,3g | 34,17 ± 8,4g |
| Tanque 1B | Milho | 27,2 ± 8,9g | 31,0 ± 8,2g |
| Tanque 2A | Milho | 29,9 ± 9,3g | 31,0 ± 8,1g |
| Tanque 2B | Controlo | 23,8 ± 8,3g | 28,0 ± 7,3g |
| Tanque 3A | Milho | 28,4 ± 8,0g | 31,2 ± 8,5g |
| Tanque 3B | Alga | 27,2 ± 8,5g | 26,8 ± 6,9g |
| Tanque 4A | Alga | 25,6 ± 10,0g | 30,6 ± 10,1g |
| Tanque 4B | Controlo | 26,9 ± 7,7g | 28,6 ± 6,0g |
| Poço c/ milho | Milho | 26,3 ± 8,4g | 32,1 ± 9,6g |
| Poço controlo | Controlo | 26,4 ± 10,0g | 31,1 ± 8,1g |

## 3.6 Análise das jaulas

### 3.6.1 Peso médio dos indivíduos

O resultado da média do peso dos indivíduos para as três dietas mostra-nos que há poucas diferenças entre si. Apesar disso os indivíduos alimentados a milho tinham maior peso (*figura 8*).

Com a realização do teste de homogeneidade de variâncias (Levene) para a variável peso final dos ouriços nas jaulas, este pressuposto foi cumprido em que o valor de significância (sig) é superior a 0,05 sendo assim usada a ANOVA (*tabela III*).

Ao realizar-se a ANOVA para comparação das três diferentes dietas verificou-se que para o peso (g) o valor de sig (ρ-value) é superior a 0,05, ou seja, não se rejeita a $H_0$ (Hipótese nula), não existindo portanto diferenças estatisticamente significativas no peso quando comparadas as três dietas (*tabela III*).

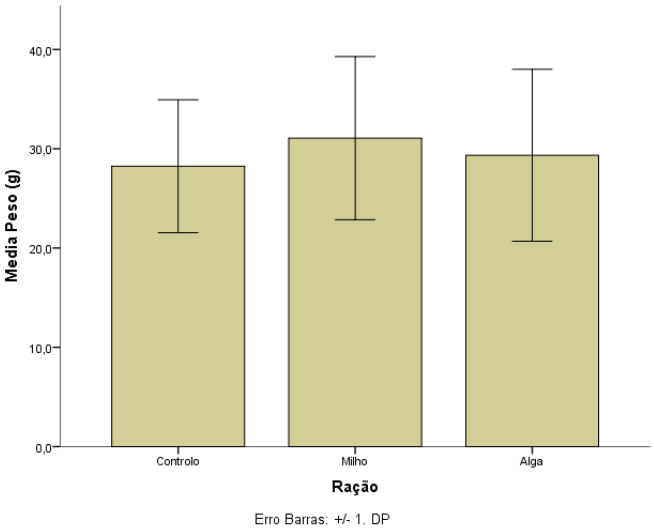


*Figura 8* - Média do peso (com desvio padrão) de *Paracentrotus lividus* sujeito a três diferentes dietas (milho, alga desidratada e controlo), nas jaulas, obtida no final da experiência.

### 3.6.2 Peso médio das gónadas

Foi avaliado para as jaulas o efeito das três dietas através do peso das gónadas dos indivíduos obtido no final da experiência. Os resultados (*figura 9*) mostram que os indivíduos alimentados a milho possuíam um maior peso nas suas gónadas que os alimentados com outra dieta.

Estatisticamente foi também efectuado o teste de homogeneidade de variâncias (Levene) em que o valor sig deu inferior a 0,05 (*tabela III*).O pressuposto de homogeneidade não foi cumprido, interpretando-se assim os resultados com o Kruskal-wallis. Ao elaborar-se este teste, verificou-se que para este peso o valor de sig é inferior a 0,05, ou seja, rejeita-se a $H_0$ (Hipótese nula), existindo assim diferenças estatisticamente significativas no peso das gónadas quando comparadas as três dietas (*tabela III*).

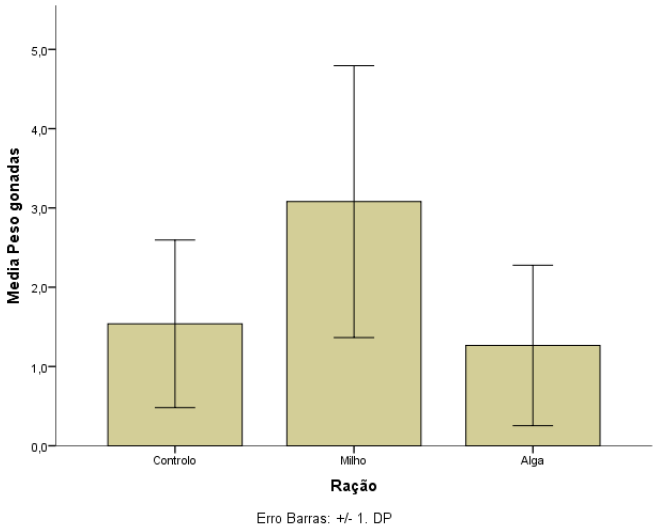


*Figura 9* - Média do peso das gónadas (com desvio padrão) de *Paracentrotus lividus* sujeito a três diferentes dietas (milho, alga desidratada e controlo), nas jaulas, obtida no final da experiência.

Analisando individualmente cada uma das dietas, utilizando o teste *Post-hoc*, só há diferenças estatisticamente significativas para as amostras de controlo, quando comparadas com o milho, sendo que os valores de milho são mais elevados (em termos médios: em 1,5418) (*tabela III*). Para as amostras entre milho e alga, e entre controlo e alga não há diferenças estatisticamente significativas.

### 3.6.3 Índice Gonadossomático (GI)

No final do projecto determinou-se também o índice gonadossomático. A média destes valores mostra-nos que os valores para o milho eram superiores (*figura 10*).

Efectuou-se também um estudo estatístico para este índice. O teste de homogeneidade de variâncias demonstrou que este pressuposto não era cumprido, efectuando-se assim o Teste de Kruskal-wallis. Testou-se a hipótese nula e verificou-se que esta era rejeitada, havendo diferenças significativas no índice quando comparadas as três dietas (*tabela III*).

Analisando individualmente cada uma das dietas, (teste *Post-hoc*), só há diferenças estatisticamente significativas para as amostras de controlo, quando comparadas com o milho, sendo que os valores de milho são mais elevados (em termos médios) (*tabela III*). As amostras

entre controlo e alga quando comparadas não têm quaisquer diferenças estatísticas significativas.

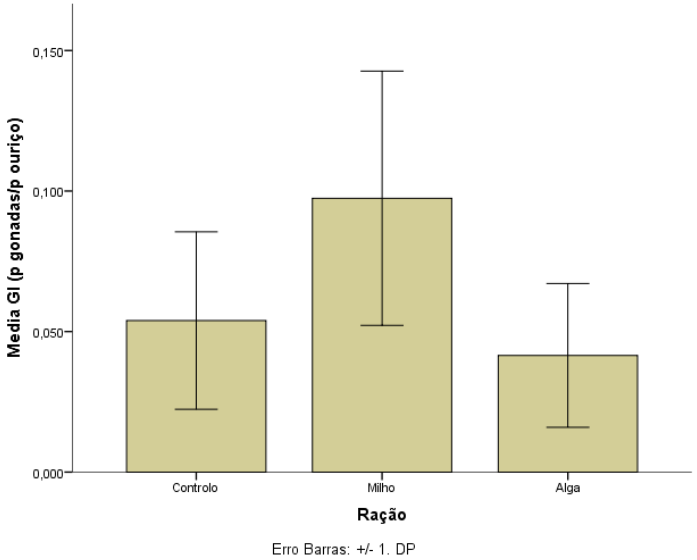


*Figura 10* - Média do índice gonadossomático (com desvio padrão) de *Paracentrotus lividus* sujeito a três diferentes dietas (milho, alga desidratada e controlo), nas jaulas, obtida no final da experiência.

*Tabela III* – Teste de Homogeneidade de Variâncias (Teste de Levene), ANOVA, Kruskal-wallis e testes post-hoc para as variáveis dependentes peso dos indivíduos, peso das gónadas e índice gonadossomático (GI) nas jaulas. SQ – Soma dos quadrados, MQ – Média dos quadrados, F – estatístico, Sig. – valor significância (p-value), DM – diferença da média.

**Teste Homogeneidade de Variâncias**

| Variável | Teste de Levene | graus liberdade | Sig. |
|---|---|---|---|
| **Peso (g)** | 2,510 | 2 | 0,083 |
| **Peso gónadas (g)** | 12,517 | 2 | 0,000 |
| **GI** | 9,233 | 2 | 0,000 |

**ANOVA**

| Variável dependente | SQ | graus liberdade | MQ | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| **Peso (g)** | 354,152 | 2 | 177,076 | 2,796 | 0,063 |

**Kruskal – wallis**

| Variável dependente | Qui-Quadrado | graus liberdade | Sig. |
|---|---|---|---|
| **Peso gónadas (g)** | 75,728 | 2 | 0,000 |
| **GI** | 84,429 | 2 | 0,000 |

**Testes Post – hoc**

| Variável dependente e níveis dos factores testados | Teste | Condição | DM | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| **Peso gónadas (g)** | Dunett T | Comparação de milho com controlo | 1,5418 | 0,000 |
| **GI** | Dunett T | Comparação de milho com controlo | 0,043478 | 0,000 |

## 3.7 Análise dos poços

### 3.7.1 Peso médio dos indivíduos

A média do peso dos indivíduos existentes nos poços também foi calculada, sendo muito semelhante como se pode observar pela *figura 11*.

Para as análises estatísticas nos poços temos a média de duas dietas, logo utilizou-se o teste independente de amostras (teste t). Assim sendo, temos os resultados do teste de Levene em que sig é superior a 0,05. Logo, o resultado é visto na linha em que a igualdade de variâncias é assumida e verificamos que não existem diferenças significativas entre as dietas milho e controlo (*tabela IV*).

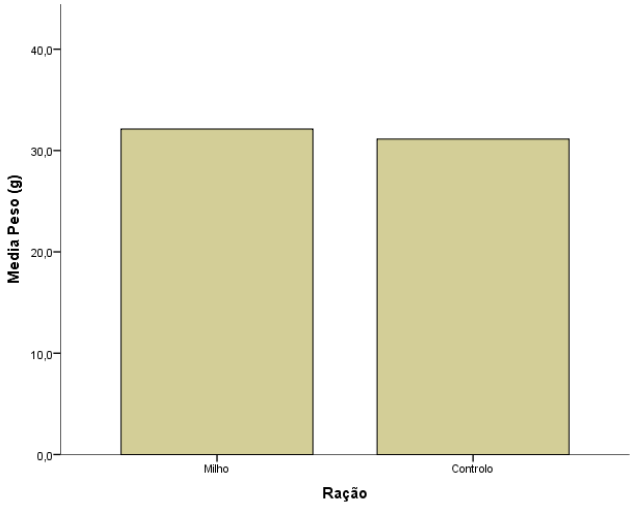


*Figura 11* - Média do peso em gramas de *Paracentrotus lividus* sujeito a duas diferentes dietas (milho e controlo), nos poços, obtida no final da experiência.

### 3.7.2 Peso médio das gónadas

Relativamente à média destes valores já se notam diferenças, sendo maior a média do peso das gónadas dos ouriços que se alimentaram a milho (*figura 12*).

No resultado do teste de Levene obtivemos o valor de sig inferior a 0,05. Logo, o resultado é visto na linha em que a igualdade de variâncias não é assumida e verificamos assim que existem diferenças significativas entre as dietas milho e controlo (*tabela IV*).

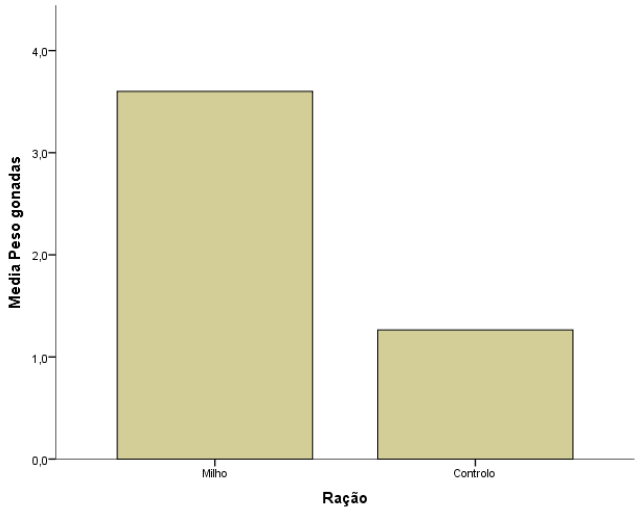


*Figura 12* - Média do peso das gónadas em gramas de *Paracentrotus lividus* sujeito a duas diferentes dietas (milho e controlo), nos poços, obtida no final da experiência.

### 3.7.3 Índice Gonadossomático (GI)

De modo igual aos resultados anteriores, os indivíduos que se alimentaram de milho possuem um maior valor médio de índice (*figura 13*).

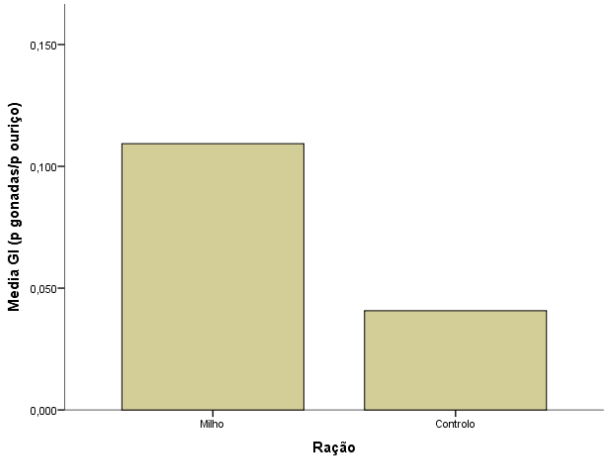


*Figura 13* - Média do índice gonadossomático em gramas de *Paracentrotus lividus* sujeito a duas diferentes dietas (milho e controlo), nos poços, obtida no final da experiência.

Para o GI o resultado estatístico é o mesmo do que para o peso das gónadas, no teste de Levene sig é inferior a 0,05 e verificámos que existem diferenças significativas entre as dietas milho o controlo (*tabela IV*).

*Tabela IV* - Teste Independente de amostras, testando-se a homogeneidade de variâncias (Teste de Levene) e a igualdade de médias (teste t) para as variáveis dependentes peso dos indivíduos, peso das gónadas e índice gonadossomático (GI) nos poços. Sig. – valor de significância (ρ-value), DM – diferença da média, Igualdade de variâncias assumidas/não assumidas – dependentemente do valor de sig para o teste Levene logo se vê a linha dos valores.

**Teste Independente de Amostras**

| Variável | Teste Levene | | Teste t | |
|---|---|---|---|---|
| | **Sig.** | **Igualdade Variâncias** | **Sig.** | **DM** |
| **Peso (g)** | 0,258 | Assumidas | 0,528 | 0,9849 |
| **Peso gónadas (g)** | 0,000 | Não assumidas | 0,000 | 2,3369 |
| **GI** | 0,000 | Não assumidas | 0,000 | 0,068576 |

## 3.8 Coloração das gónadas

No final da experiência foi também analisado a cor das gónadas para as diferentes dietas, pois tem bastante interesse a nível comercial. Assim sendo a coloração é essencial para a comercialização deste produto.

Como já foi referido as categorias escolhidas para as cores são: laranja escuro (LE), amarelo pálido (AP), laranja brilhante (LB), laranja amarelo (LA) e laranja manga (LM). Gónadas de cor LE e AP são consideradas de baixa qualidade, de cor LB e LA consideradas aceitáveis e de cor LM excelentes.

Com os resultados obtidos pudemos verificar que houve um maior número de cores consideradas aceitáveis do que as restantes (*figura 14*). Na dieta milho foi a que se observou com maior percentagem de coloração aceitável e excelente comparativamente com os outros tipos de dieta, mesmo para o controlo (*figura 14*).

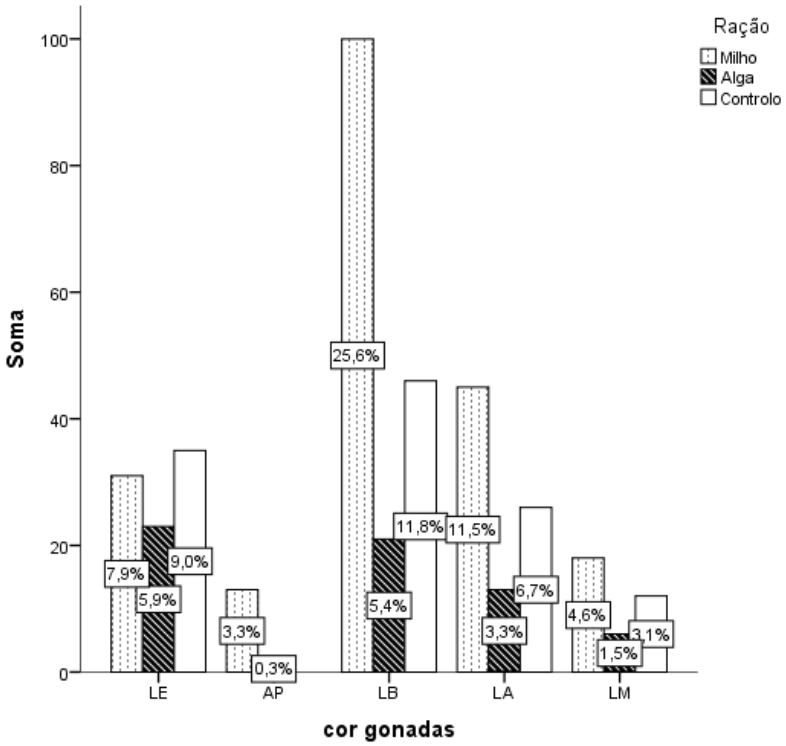


*Figura 14* – Percentagem da coloração das gónadas

Os resultados obtidos através do teste do qui-quadrado revelam que existe dependência estatística entre os atributos dieta e cor das gónadas. Ou seja, são condições estatisticamente dependentes (*tabela V;* $\chi^2$ = 25,5; ρ-value <0,05), em que o valor de significância é inferior a 0,05 logo rejeita-se a $H_0$, a cor das gónadas é estatisticamente dependente do tipo de amostras, havendo associação entre os atributos (*tabela V*).

Depois de verificada a associação entre as variáveis cor e dieta, sendo consideradas significativas, analisaram-se quais as categorias associadas localmente (*tabela VI*). Assim sendo calculam-se os Resíduos ajustados (*Adjusted Residual*) que, em valor absoluto, são superiores a 1,96. Todos os resíduos cujos valores absoluto são superiores a este número correspondem ao par responsável pela dependência, havendo evidências de associação significante entre categorias (*tabela VI*).

*Tabela V* – Método de *Pearson*

**Teste Qui-Quadrado**

| | Valor | Graus liberdade | Sig. |
|---|---|---|---|
| Pearson Qui-Quadrado | 25,500[a] | 8 | ,001 |
| Proporção Probabilidade | 29,153 | 8 | ,000 |
| N de Casos Válidos | 390 | | |

a. 2 células (13,3%) contam menos que 5. A contagem mínima esperada é 2,30.

Assim sendo, a cor amarelo pálido (AP) está associada tanto para a dieta de milho como de controlo, a cor laranja brilhante (LB) está associada apenas para a dieta milho e a cor laranja escuro (LE) está associada para todas as dietas (*tabela VI*).

*Tabela VI* – Associação entre as variáveis cor das gónadas e ração.

**Cruzamento Cor gónadas * Ração**

| | | | Ração | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Milho | Alga | Controlo | |
| Cor gónadas | AP | Soma | 13 | 1 | 0 | 14 |
| | | Resíduos ajustados | 3,0 | -1,0 | -2,5 | |
| | LA | Soma | 45 | 13 | 26 | 84 |
| | | Resíduos ajustados | ,1 | -,3 | ,1 | |
| | LB | Soma | 100 | 21 | 46 | 167 |
| | | Resíduos ajustados | 2,3 | -1,8 | -1,1 | |
| | LE | Soma | 31 | 23 | 35 | 89 |
| | | Resíduos ajustados | -3,9 | 2,7 | 2,1 | |
| | LM | Soma | 18 | 6 | 12 | 36 |
| | | Resíduos ajustados | -,4 | ,0 | ,4 | |
| Total | | Soma | 207 | 64 | 119 | 390 |

## 3.9 Identificação dos locais com bancos de ouriços

Ao retirar as coordenadas em *GPS* para se efectuar um mapa da zona com os possíveis bancos de ouriços existentes na vila obtivemos a seguinte tabela de coordenadas:

*Tabela VII* – Coordenadas dos vários locais com bancos de ouriços

| Coordenadas | Local |
|---|---|
| N 38° 57’ 35.58’’<br>O 9° 25’ 8.62’’ | Furnas/ Viveiro |
| N 38° 57’ 38.20’’<br>O 9° 25’ 11.76’’ | Furnas |
| N 38° 57’ 40.23’’<br>O 9° 25’ 12.82’’ | Furnas |
| N 38° 57’ 42.82’’<br>O 9° 25 11.59’’ | Furnas |
| N 38° 58’ 11.73’’<br>O 9° 25’ 17.51’’ | S. Sebastião |
| N 38° 58’ 14.15’’<br>O 9° 25’ 16.46’’ | S. Sebastião |

Dando origem ao seguinte mapa:

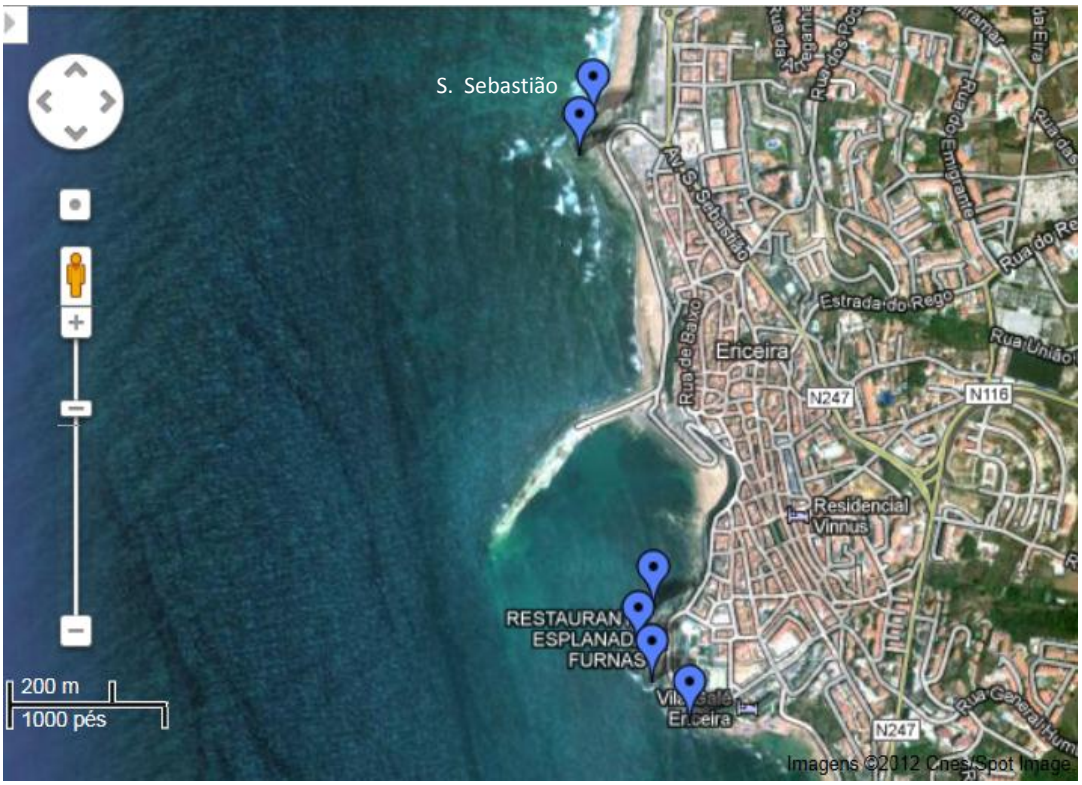


*Figura 15* – Mapa mostrando os diferentes locais existindo ouriços com as coordenadas retiradas (*Google Maps*).

# 4. Discussão

Vários estudos foram já efectuados analisando o crescimento do ouriço e das suas gónadas, a sua produção e o efeito da dieta neste crescimento (Basuyaux & Blin, 1998; Cook & Kelly, 2007; Fernandez *et al*., 1995; Fernandez, 1997; Fernandez & Pergent, 1998; Fernandez & Boudouresque, 2000; Tomsic *et al.*, 2010). No entanto, o efeito de uma dieta artificial no crescimento dos Equinoides, mantidos em ambiente natural, foi pouco estudado. Atendendo a este facto, com o presente estudo pretendeu-se analisar, pela primeira vez num viveiro, o crescimento do ouriço e das suas gónadas influenciado por diferentes dietas durante 6 meses, em ambiente natural, mas com várias amostras controladas.

Para os dados hidrográficos, que não foram controlados artificialmente mas de qualquer maneira registados, não obtivemos uma grande diferença de valores no intervalo dos 6 meses tanto para a temperatura como para a salinidade, não havendo diferenças muito bruscas. As temperaturas interiores e exteriores do viveiro alteraram-se de forma igual, descendo e subindo na mesma altura, mas com menores diferenças no interior do viveiro. A partir de Março mantiveram-se constantes no interior do viveiro. No que diz respeito à salinidade foi possível encontrar um padrão em que os valores mais baixos e mais elevados coincidiram com a altura de menor e maior precipitação, respectivamente, na zona do viveiro: depois de um longo período de precipitação no mês de Novembro, obteve-se os valores mais baixos de salinidade, enquanto que após um período em que não houve precipitação, Fevereiro, a salinidade registada no interior do viveiro apresentou valores mais elevados. Mesmo assim, o intervalo de diferença de valores não foi muito acentuado não afectando a sobrevivência dos indivíduos presentes no interior do viveiro. Factores abióticos como a temperatura e a salinidade não podem estar associados às diferenças de crescimento que pudessem surgir ou afectar a absorção do alimento, pois provavam ser iguais no interior do viveiro alterando-se por isso de uma forma natural.

No que diz respeito aos valores obtidos em termos de mortalidade dos indivíduos, não se pode afirmar que a causa foi a alimentação, pois foi observada alguma mortalidade logo no início do estudo. Tal facto pode estar relacionado com a mudança de local e de ambiente ou com o transporte dos indivíduos e não com a adaptação a um tipo específico de alimentação, uma vez que a dieta de milho foi a que teve menos mortalidade. Passada esta fase inicial, os indivíduos mantiveram-se vivos até ao final do estudo, verificando-se uma adaptação dos animais dentro do viveiro (quer nas jaulas quer nos poços) e uma obtenção de alimento por

parte destes visto que os dois alimentos fornecidos aos exemplares eram sempre totalmente consumidos, não se verificando a presença posterior nas caixas.

Observaram-se os intestinos dos ouriços dos tanques e do poço que estavam sujeitos a uma alimentação natural (controlo), ou seja, dependiam do que existia no viveiro trazido pelas marés. Depois de abertos, o resultado obtido através da análise realizada foi o esperado pois o tipo de algas que estes tinham ingerido foi o mesmo que se encontrou e fotografou no interior do viveiro: algas verdes e vermelhas. Provavelmente as espécie seriam também as mesmas, a alga vermelha da espécie *Asparagopsis armata*, alga invasora na costa portuguesa, encontrando-se em abundância e a alga verde *Codium sp*. (Cambell, 1976).

Relativamente ao peso médio global dos ouriços (em gramas), registou-se um aumento do início para o final da experiência. Nas jaulas registou-se um aumento mais significativo nos tanques alimentados a alga (1A e 4A), onde curiosamente também se verificou uma maior taxa de mortalidade. Isto leva-nos a ponderar que se a mortalidade fosse menor, provavelmente iríamos ter umas diferenças significativas na diferença de peso. Nos poços, a diferença média de pesos é bastante semelhante entre as dietas. Assim sendo, e de acordo com o trabalho de Boudouresque & Verlaque (2007), a espécie *Paracentrotus lividus* exibe um crescimento adequado com as algas, considerados animais basicamente herbívoros.

Em termos estatísticos e analisando os resultados de uma forma mais específica, não existem diferenças significativas no final do período experimental quando comparadas todas as dietas com o peso médio dos indivíduos. Apesar destes resultados, a dieta com milho, potencia sempre indivíduos de peso superior, face a uma dieta natural ou com alga *Laminaria* desidratada.

Nas jaulas, no que diz respeito ao peso médio das gónadas dos indivíduos, as diferenças mais significativas foram encontradas entre a dieta milho e o controlo. O peso das gónadas dos ouriços que foram alimentados com milho é mais elevado em valores de 1,5 g. Comparando as outras dietas, em termos estatísticos não foram encontradas diferenças significativas, nem entre a dieta milho e alga nem o controlo com a dieta alga. Para o índice gonadossomático também se encontraram diferenças entre as várias dietas. Aqui verificou-se o mesmo padrão do que para o peso das gónadas, havendo diferenças para as amostras de controlo quando comparadas com o milho. Estas diferenças corresponderam a um aumento de 0,04 g para os ouriços alimentados com milho, o que traduziu em 4% de aumento em termos de percentagem do índice gonadossomático. Isto sugere um maior desenvolvimento das gónadas relacionando com o peso dos ouriços quando alimentados a milho comparativamente aos ouriços com uma alimentação dependente da maré (controlo).

Possivelmente o alimento presente no viveiro não foi suficiente para os ouriços, visto que a rede das jaulas também poderá ter sido um impedimento na entrada de alimento.

Quanto ao peso das gónadas dos ouriços que se encontravam nos poços verificou-se uma diferença significativa correspondente a 2,3 g. Os valores no índice gonadossomático resultaram no mesmo padrão havendo uma diferença mas de 0,07 g, sendo os valores do peso das gónadas elevados para a dieta milho.

Assim sendo e em termos globais, não ocorreram diferenças estatisticamente significativas quer nos poços quer nas jaulas entre as dietas testadas no caso do peso dos animais, mas existiram diferenças consideráveis no peso das gónadas destes mesmos animais e no índice gonadossomático de igual modo para as jaulas e poços.

Apesar de haver diferenças nos dois locais do estudo no que diz respeito ao número da amostra, que é maior nos poços, e de haver mais uma dieta (a alga) nas jaulas do que nos poços, a diferença significativa que existe nos pesos médios estudados, quando feita uma análise mais detalhada no estudo, foi sempre maior entre a dieta milho e controlo. Podemos afirmar então que o peso das gónadas e o índice gonadossomático após seis meses de estudo apresentaram valores mais elevados na dieta milho do que no controlo. A dieta à base de milho e com alguma alga introduzida no viveiro com a maré, induziu um crescimento gonadal mais rápido do que a dieta à base de um suplemento de alga e do que o próprio controlo. Estes resultados foram semelhantes aos de Basuyaux & Blin (1998) que nos diz que uma dieta misturada com milho possui melhores resultados do que uma dieta só à base de milho ou só à base de alga.

Este desenvolvimento das gónadas pode ser explicado pelos factores endógenos que afectam a sua composição, em que quando o alimento é abundante e o valor nutricional da dieta é elevado (na dieta milho com alga da maré), o ouriço-do-mar mobiliza a energia (proteínas e lípidos) para o crescimento e produção das gónadas, armazenando os nutrientes e abrandando assim o crescimento somático, como se verifica pelos nossos resultados e resultados similares de outros autores como Fernandez *et al*. (1995), Fernandez & Boudouresque (1998) e Arafa *et al*. (2012).

Os resultados desta experiência demonstram que a qualidade do alimento ingerido influencia o crescimento, sugerido também por outros autores em Fernandez & Boudouresque (1998) e Fernandez & Pergent (1998) e os níveis do índice gonadossomático, reflectindo assim as condições nutricionais favoráveis para a criação dos indivíduos.

Mas por outro lado, tem que se ter algum cuidado com o tipo de dietas que se fornece aos indivíduos, se queremos ter um bom produto para comercialização, isto porque as gónadas necessitam de ter uma cor adequada para se ter uma boa qualidade do produto. Não

podemos ter em conta só o crescimento sem conseguirmos uma boa cor que está directamente ligada ao tipo de dieta e assim, aos nutrientes e pigmentos que a constituem (Robinson *et al*., 2002). Os nossos resultados demonstram que conseguimos ter uma boa percentagem de ouriços com gónadas de cor laranja brilhante (LB) considerada aceitável para comercialização, através da dieta com milho. Por fim, além de resultados positivos no crescimento das gónadas com a dieta milho, conseguiu-se também um bom resultado na coloração das mesmas, tendo no final um bom produto.

A grande percentagem de cor LB demonstrada para a dieta milho pode dever-se ao facto de ter havido pouca mortalidade para esta dieta, de haver um grande número de exemplares e por os ouriços se terem alimentado não só de milho mas também da alga existente no viveiro, principalmente os ouriços que estavam no poço e que mais facilmente eram cobertos por alga pois não estavam confinados às jaulas com rede. A boa coloração das gónadas dos ouriços também pode ter sido a que nos últimos meses antes de serem colectados, ter havido uma enorme entrada de alga vermelha da espécie *Asparagopsis armata* no viveiro. Resultados semelhantes obtidos por Shpigel *et al.* (2005) sugerem também que na cultura dos ouriços-do-mar, a adição de uma macroalga à dieta quatro semanas antes de os indivíduos serem colectados pode providenciar o desejo equilibrado entre a coloração das gónadas e o índice gonadossomático. Outro estudo como o de Pearce *et al.* (2002), também obteve bons resultados com outras dietas preparadas demonstrando que estas produzem gónadas com coloração aceitável para comercialização que são significativamente diferentes das dietas com *kelp* ou dos próprios ouriços-do-mar selvagens. Apesar dos nossos resultados terem sido favoráveis para uma dieta essencialmente com milho, também temos de ter em conta as mudanças que podem estar relacionas com o estado de maturação dos ouriços, sugerido por Blount & Worthington (2002), que podem influenciar a qualidade das gónadas, algo que não foi calculado neste estudo por não termos considerado essa época na cronologia do estudo.

Relativamente aos locais encontrados na vila da Ericeira com bancos de ouriços, apenas serviu como base de dados para trabalhos posteriores pois não há informações publicadas relativamente aos ouriços existentes. Apenas se tem informação pela população local, que de dia para dia há cada vez menor número de ouriços, antes abundantes na região.

Em conclusão os nossos resultados sugerem que uma dieta de milho, em viveiro natural que deixa entrar também algas que possam vir com a maré, fornece os melhores resultados tanto para o crescimento das gónadas como para a sua boa coloração para comercialização. Também o milho responde aos requisitos mínimos de cultivo algo sugerido por Basuyaux & Blin (1998) como a estabilidade na água do milho (sem degradação),

crescimento satisfatório do ouriço, qualidade aceitável das gónadas, alimento disponível o ano inteiro, fácil armazenamento e baixo-custo. Assim sendo, recomendamos esta dieta para os ouriços em viveiro associada à existente em meio natural.

# PARTE IV

Referências Bibliográficas

# 5. Referências bibliográficas

Arafa, S., Chouaibi, M., Sadok, S. and El Abed, A. 2012. The influence of Season on the Gonad Index and biochemical composition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* from the Golf of Tunis. *The Scientific World Journal*, 1-8.

Basuyaux, O. & Blin, J. L. 1998. Use of maize as a food source for sea urchins in a recirculation rearing system. *Aquaculture International*, 6: 233-247.

Blount, C. & Worthington, D. 2002. Identifying individuals of the sea urchin *Centrostephanus rodgersii* with high-quality roe in New South Wales, Australia. *Fisheries Research*, 58: 341-348.

Boudouresque, C.F. & Verlaque, M. 2007. Ecology of *Paracentrotus lividus*. In *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology,* John M. Lawrence (Eds.), pp 243-285. Amsterdam.

Campbell, A. C. 1976. *The Hamlyn Guide to the Seashore and Shallow Seas of Britain and Europe.* The Hamlyn Publishing Group Limited. London.

Cook, E. J. & Kelly, M. S. 2007. Enhanced production of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in integrated open-water cultivation with Atlantic salmon *Salmo salar*. *Aquaculture*, 273: 573-585.

Ebert, T.A. 2007. Growth and Survival of Postsettlement Sea Urchins. In *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology,* Second Edition, John M. Lawrence (Eds.), pp: 95-134. Amsterdam.

Fernandez, C., Dombrowski, E. and Caltagirone, A. 1995. Gonadic growth of adult sea urchins, *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in rearing: The effect of different diet types. In *Echinoderm Research 1995*. Emson, Smith & Campbell (Eds.), pp 269-275. A. A. Balkema Publishers, Rotterdam.

Fernandez, C. 1997. Effect of Diet on the Biochemical Composition of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) Under Natural and Rearing Conditions (Effect of Diet on Biochemical Composition of Urchins). *Comp. Biochem. Physiol.* 118A (4): 1377-1384.

Fernandez, C. & Boudouresque, C.F. 1998. Evaluating artificial diets for small *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea). In *Echinoderms*, San Francisco, Mooi & Telford (Eds.), pp 651-657. Balkema Publishers.

Fernandez, C. & Pergent, G. 1998. Effect of different formulated diets and rearing conditions on growth parameters in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Journal of Shelfish Research*. 17 (5): 1571-1581.

Fernandez, C. & Boudouresque, C.F. 2000. *Nutrition of the sea urchin* Paracentrotus lividus *(Echinodermata: Echinoidea) fed different artificial food*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 204: 131-141.

Fernandez, C., Pasqualini, V., Johnson, M., Ferrat, L., Caltagirone, A. and Boudouresque, C.F. 2003. Stock evaluation of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in a lagoonal environment. In *Echinoderm Research 2001*. J.P. Féral, & David (Eds.), pp 319-323. A. A. Balkema Publishers, Lisse.

Gago, J., Range, P. and Luís, O. 2003. Growth, reproductive biology and habitat selection of the sea urchin *Paracentrotus lividus* in the coastal waters of Cascais, Portugal. In *Echinoderm Research 2001*. J.P. Féral, & David (Eds.), pp 269-276. A. A. Balkema Publishers, Lisse.

Jimmy, R. A., Kelly, M. S. and Beaumont, A. R. 2003. The effect of diet type and quantity on the development of common sea urchin larvae *Echinus esculentus*. *Aquaculture*, 220: 261-275.

Lawrence, J.M., McBride, S. C., Plank, L. R. and Shpigel, M. 2003. Ammonia tolerance of the sea urchins *Lytechinus variegatus*, *Arbacia punctulata*, *Strongylocentrotus franciscanus*, and *Paracentrotus lividus*. In *Echinoderm Research 2001*, J.P. Féral, & David (Eds.), pp 233-236. A. A. Balkema Publishers, Lisse.

Lawrence, J.M. 2007. Edible Sea Urchins: Use and File-History Strategies. In *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*, Second Edition, John M. Lawrence (Eds.), pp 1-9. Amsterdam

Lawrence, J. M., Lawrence, A. L., and Watts, S. A. 2007. *Feeding, Digestion, and Digestibility*. In *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*, Second Edition, John M. Lawrence (Eds.), pp 135-158. Amsterdam

Leoni, V., Fernandez, C., Johnson, M., Ferrat, L. and Pergent-Martini, C. 2003. Preliminary study on spawning periods in the sea urchin *Paracentrotus lividus* from lagoon and marine environments. In *Echinoderm Research 2001*. J.P. Féral, & David (Eds.), pp 277-280. A. A. Balkema Publishers, Lisse.

Liyana-Pathirana, C., Shahidi, F. and Whittick, A. 2002. The effect of an artificial diet on the biochemical composition of the gonads of the sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). *Food Chemistry*, 79: 461-472.

Marsh, A.G. & Watts, S. A. 2007. Biochemical and Energy Requirements of Gonad Development. In *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*, Second Edition, John M. Lawrence (Eds.), pp 35-53. Amsterdam

Martínez, I., García, F. J., Sánchez, A. I., Daza, J. L. and del Castillo, F. 2003. Biometric parameters and reproductive cycle of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) in three habitats of Southern Spain. In *Echinoderm Research 2001*. J.P. Féral, & David (Eds.), pp 281-287. A. A. Balkema Publishers, Lisse.

McEdward, L.*R. & Miner, B.G. 2007. Echinoid Larval Ecology.* In *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*, Second Edition, John M. Lawrence (Eds.), pp 71-93. Amsterdam.

Mundstock, E., Fachel, J.M.G., Camey, S.A. and Agranonik, M. 2006. Introdução à análise estatística utilizando o SPSS 13.0.Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Matemática. *Cadernos de Matemática e Estatística*. Série B: Trabalho de Apoio didático, número XX.

Pearce, C. M., Daggett, T. L. and Robinson, S. M. C. 2002. Effect of protein source ratio and protein concentration in prepared diets on gonad yield and quality of the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture*, 214: 307 – 332.

Pipa, A. & Valle de Figueiredo, M. 2003. *Ericeira Um Mar de Tradições – An Ocean of Traditions.* Junta de Turismo da Ericeira, ELO – Publicidade e Artes Gráficas, SA. Portugal

Robinson, S. M. C., Castell, J.D. and Kennedy, E.J. 2002. Developing suitable colour in the gonads of cultered green sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*). Aquaculture, 206: 289 – 303.

Saldanha, L. 1995. *Fauna Submarina Atlântica*. Publicações Europa-América. Portugal

Sánchez-España, A. I., Martínez-Pita, I. and García, F. J. 2004. Gonadal growth and reproduction in the comercial sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata: Echinoidea) from southern Spain*. Hydrobiologia*, 519: 61-72.

Shpigel, M., McBride, S. C., Marciano, S. and Lupatsch, I. 2004. The effect of photoperiod and temperature on the reproduction of European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, 232: 343 – 355.

Shpigel, M., McBride, S. C., Marciano, S., Ron, S. and Bem-Amotz, A. 2005. Improving gonad colour and somatic index in the European sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Aquaculture*, 245: 101-109.

Tomsic, S., Conides, A., Dupcic Radic, I. and Glamuzina, B. 2010. Growth, size class frequency and reproduction of purple sea urchin, *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) in Bistrina Bay (Adriatic Sea, Croatia). *Acta Adriat*. 51(1): 67-77.