

**NEUZA SOFIA DA LUZ BELELA**

Estudo do crescimento, sobrevivência e estratégias de controlo das incrustações, num sistema extensivo de cultivo de *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790)



**Universidade do Algarve**

Faculdade de Ciências e Tecnologia

MARE-Centro de Ciências do Mar e do Ambiente,  
CIEMAR- Laboratório de Ciências do Mar, Universidade de Évora

2018

**NEUZA SOFIA DA LUZ BELELA**

Estudo do crescimento, sobrevivência e estratégias de  
controlo das incrustações, num sistema extensivo de  
cultivo de *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790)

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura e Pescas  
Ramo Aquacultura

Trabalho efetuado sob a orientação de:  
Teresa Cruz  
Alexandra Teodósio



**Universidade do Algarve**

Faculdade de Ciências e Tecnologia

MARE-Centro de Ciências do Mar e do Ambiente,  
CIEMAR- Laboratório de Ciências do Mar, Universidade de Évora

2018

Estudo do crescimento, sobrevivência e estratégias de controlo das incrustações, num sistema extensivo de cultivo de *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790)

Declaração da autoria do trabalho:

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Os autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam na lista de referências bibliográficas.

Neuza Sofia da Luz Belela

-----  
(Assinatura)

©Copyrights: Neuza Sofia da Luz Belela

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o 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

Antes demais, quero agradecer à Universidade do Algarve e à Universidade de Évora, concretamente ao CIEMAR, por aceitarem a minha integração neste projeto e tornarem esta dissertação de mestrado possível. Este foi um ano letivo completamente diferente do que já vivenciei em termos académicos e profissionais. Consegui realmente sentir as dificuldades e frustrações do trabalho de campo, e aprendi a encontrar soluções para os problemas recorrentes.

À Professora Alexandra Teodósio pela orientação e correções de última hora.

Um enorme obrigado à Teresa, Joana Fernandes, Inês Seabra e Daniela Nobre por estarem sempre presentes em todos os processos, pela transmissão de conhecimentos e principalmente pela vossa amizade. Assim como toda a equipa do CIEMAR que foi sempre super prestável e amável comigo. A Ana Torres, à Marta Mamede, à Cristina Espírito Santo, Teresa Silva e ao David Mateus que me ajudaram nos dias mais difíceis, o vosso apoio foi imprescindível.

Um especial agradecimento ao meu namorado que tem o dom de enaltecer o melhor que há em mim, sem nunca duvidar das minhas capacidades. À minha família por todo o apoio, nomeadamente à minha irmã Tânia que me ofereceu estadia no conforto da sua casa, libertando-me das viagens de carro cansativas.

E por fim quero agradecer à equipa do Porto das Barcas, à minha segunda família, por serem os melhores amigos, por compreenderem as minhas ausências e estarem sempre prontos a ajudar-me.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.

Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

Martin Luther King

## Resumo

O percebe (*Pollicipes pollicipes*) é um crustáceo cirrípede de elevado interesse económico, e para a aquacultura. Em estudos anteriores foi testado um sistema de cultivo numa jangada, localizada no Porto de Sines, que foi considerado inviável devido à observação da mortalidade total dos percebes causada pela incrustação de outras espécies (ex., cracas e mexilhões). No presente trabalho foi testado o efeito de vários métodos antivegetativos de forma isolada ou em conjunto (tinta antivegetativa; limpeza de jato de água; limpeza manual; afundamento) sobre a sobrevivência e o tamanho de percebes fixos em substratos artificiais (“barticles”) que foram implantados no Cabo de Sines (CS) no Verão de 2016 e de 2017 e que foram transferidos para a jangada de cultivo em janeiro de 2018. A sua monitorização foi realizada em quatro datas (fevereiro, abril, junho e agosto). Até junho, não foram encontradas diferenças significativas entre os vários tratamentos e o controle no CS, porém, em agosto, com exceção do tratamento combinado de limpeza manual e de jato de água, foi observada uma elevada mortalidade dos percebes do sistema de cultivo, sendo esta a técnica que foi considerada como a mais promissora. A sobrevivência também foi mais elevada em percebes oriundos de “barticles” colocados no terreno em 2016, pelo que se sugere que um maior número inicial de percebes por “barticle” também possa melhorar a sobrevivência na jangada. O recrutamento de cracas e mexilhões no sistema de cultivo foi mais intenso na primavera e/ou verão, tendo apresentado variação interanual. Não foram encontradas diferenças significativas entre estações do ano no crescimento dos percebes na jangada, mas no CS, o crescimento foi menor no outono. De uma forma geral, o crescimento de inverno na jangada foi maior do que no CS, mas o padrão de variação interanual (2015, 2016 e 2017) foi diferente consoante os locais.

**Palavras-chave:** Métodos antivegetativos, Organismos incrustantes, Cabo de Sines; Percebes; Sobrevivência; Aquacultura.

## Abstract

The gooseneck barnacle (*Pollicipes pollicipes*) is a cirripede crustacean of high economic interest, and for aquaculture. In previous studies, a culture system was tested on a platform, located in the Port of Sines, which was considered unfeasible due to the observation of the total mortality of the gooseneck barnacles caused by the incrustation of other species (eg, barnacles and mussels). In the present work, the effect of several antifouling methods in isolation or in combination (antifouling paint, water-jet cleaning, manual cleaning, lowering the gear) on the survival and size of gooseneck barnacles fixed on artificial substrates, that were deployed in Cabo de Sines (CS) in the summer of 2016 and 2017 and transferred to the platform in January 2018. Their monitoring was performed on four dates (February, April, June and August). Until June, no significant differences were found between the various treatments and the control in the CS, but in August, with the exception of the combined treatment of manual cleaning and water jet, a high mortality of the gooseneck barnacles on the platform was observed, this technique was considered to be the most promising of all. Survival was also higher in gooseneck barnacles of “barticles” that were placed on CS in 2016, so it is suggested that a larger initial individual number per “barticle” could also improve survival on the cultivation system. The recruitment of barnacles and mussels in the cultivation system was more intense in the spring and / or summer, and showed variation between years. No significant differences were found between seasons of the year in the growth of the gooseneck barnacles in the platform, but in the CS, the growth was smaller in the autumn. In general, winter growth in the platform was higher than in CS, but the yearly variation pattern (2015, 2016 and 2017) was different according to the locations.

**Keywords:** Antifouling methods, Fouling organisms, Cabo de Sines; Gooseneck barnacle; Survival; Aquaculture.

# Índice

|   |    |
|---|----|
| Agradecimentos .....  | i  |
| Resumo .....  | ii |
| Lista de Figuras .....  | iv |
| Lista de Tabelas .....  | vi |
| 1. Introdução geral .....   | 1  |
| 1.1. Caracterização biológica .....   | 2  |
| 1.2. Estado do Recurso .....  | 4  |
| 1.3. Avanços no cultivo .....   | 6  |
| 1.4. Problemas de “fouling” .....   | 8  |
| 1.5. Estudos do crescimento de <i>Pollicipes</i> spp. ....  | 10 |
| 2. Objetivos .....  | 12 |
| 3. Metodologia .....  | 13 |
| 3.1. Local de estudo .....  | 13 |
| 3.2. Organismos incrustantes .....  | 14 |
| 3.2.1. Profundidade de afundamento .....  | 14 |
| 3.2.2. Padrões temporais da estrutura dimensional de mexilhões e de recrutamento de cracas (2017) ..... | 15 |
| 3.2.3. Padrões temporais de recrutamento de mexilhões e de cracas (2018) .....                          | 16 |
| 3.3. Tratamentos “antifouling” .....  | 17 |
| 3.4. Variação da taxa de crescimento, por marcação com calceína .....                                   | 22 |
| 3.4.1. Variação sazonal do crescimento .....  | 22 |
| 3.4.2. Variação interanual do crescimento no inverno .....  | 24 |
| 3.5. Análise estatística .....  | 25 |
| 3.5.1. Organismos incrustantes .....  | 26 |
| 3.5.2. Tratamentos “antifouling” .....  | 26 |
| 3.5.3. Variação da taxa de crescimento, por marcação com calceína .....                                 | 26 |
| 4. Resultados .....   | 27 |
| 4.1. Organismos incrustantes .....  | 27 |
| 4.1.1. Profundidade de afundamento .....  | 27 |
| 4.1.2. Padrões temporais da estrutura dimensional de mexilhões e de recrutamento de cracas (2017) ..... | 29 |
| 4.1.3. Padrões temporais de recrutamento de mexilhões e de cracas em 2018 .....                         | 33 |
| 4.2. Tratamentos “antifouling” .....  | 35 |
| 4.3. Variação da taxa de crescimento, por marcação com calceína .....                                   | 44 |
| 4.3.1. Variação sazonal do crescimento .....  | 44 |
| 4.3.2. Variação intranual do crescimento no inverno .....   | 47 |

|   |    |
|---|----|
| 5. Discussão .....  | 52 |
| 5.1. Organismos incrustantes .....                            | 52 |
| 5.2. Tratamentos “antifouling” .....                          | 56 |
| 5.3. Variação do crescimento, por marcação com calceína ..... | 60 |
| 6. Conclusão.....   | 64 |
| 7. Referências bibliográficas.....                            | 65 |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - a) - Morfologia externa de <i>Pollicipes pollicipes</i> (adaptado de Molares, 1994a), com a divisão em pedúnculo e <i>capitulum</i> e identificação das diferentes placas calcárias; b) Morfologia interna (adaptado de Rainbow, 1984), com a identificação dos diferentes órgãos. ....  | 3  |
| Figura 2 - Fotografia que ilustra o recrutamento conspecífico da espécie <i>P. pollicipes</i> (retirado de Mateus, 2017). ....  | 4  |
| Figura 3 - “Barticle”, substrato artificial onde ocorre a fixação de larvas de percebes, composto por uma bucha de nylon de 8 mm e um parafuso em inox de 40 mm (pedido de patente em curso). ....  | 8  |
| Figura 4 - Fotografia de um percebe marcado com calceína, em que é possível observar as marcas fluorescentes, com recurso à lupa Leica M165FC com luz UV e filtro GFP3. ....  | 11 |
| Figura 5 - A) Local de amostragem no Cabo de Sines: (*)- Pedras Amarelas, colocação dos “barticles”; (**)- Local do sistema de cultivo, no Porto de Sines; (***)- Laboratório do CIEMAR; (●) Termómetro no Cabo de Sines; (●) Termómetro dentro do Terminal Petrolero do Porto de Sines; (●) Termómetro na jangada. B) Vista geral da zona entremarés das Pedras Amarelas. C) Colocação dos “barticles” no substrato rochoso, com o berbequim a bateria (retirado de Cruz <i>et al.</i> , 2016). .... | 13 |
| Figura 6 - A) Aspecto da jangada, onde é possível ver o passadiço e o sistema com os cabos de nylon com as bóias; B) Placas de suporte dos “barticles” em condições de total imersão (Cruz <i>et al.</i> , 2016). ....  | 14 |
| Figura 7 - Exemplo de uma Placa F suspensa a 10 m de profundidade. ....   | 15 |
| Figura 8 - A vermelho está marcado as distâncias <i>rostrum-carina</i> (RC) e a altura total (AT; Cruz <i>et al.</i> , 2015a). ....   | 18 |
| Figura 9 - Sistema com arejamento para os “barticles”. Os “barticles” são organizados por número na rede verde, que permite a sua identificação até ao momento da colocação no meio de crescimento. ....  | 18 |
| Figura 10 - Placa <i>scutum</i> esquerda, com a marca epifluorescente da calceína. As setas demonstram as variáveis medidas, <i>sc_i</i> (comprimento inicial do <i>scutum</i> ) e <i>sc_f</i> (comprimento final do <i>scutum</i> ). ....  | 23 |
| Figura 11 - Diagrama temporal da experiência: plantação dos “barticles” no verão 2014, 2015 e 2016; A recolha, marcação com calceína e colocação no ambiente de cultivo ocorreu em dezembro ou janeiro, conforme o ano de plantação. A amostragem foi em março ou abril, conforme o ano de plantação. ....  | 25 |
| Figura 12 - Peso húmido médio (g ± ep) das placas F por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m. ....  | 27 |
| Figura 13 - Peso total médio (g ± ep) dos mexilhões por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m. ....  | 28 |
| Figura 14 - Peso total médio (g ± ep) das cracas por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m. ....   | 29 |
| Figura 15 - Peso total médio (g ± ep) dos “outros” por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m. ....   | 29 |
| Figura 16 - Número de mexilhões médio (± ep) organizados por classe de dimensão (mm) em função do mês. ....   | 31 |
| Figura 17 - Número de cracas médio (± ep) por placa mensal (10 x 13 cm), em função do mês de amostragem. ....   | 33 |
| Figura 18 - Número de <i>Mytilus spp.</i> médio (± ep) na classe >500 µm, por “tuffy” e período de imersão. ....  | 34 |
| Figura 19 - Número de bivalves médio (± ep) na classe 250-500 µm, por “tuffy” e período de imersão. ....  | 34 |
| Figura 20 - Número de cracas médio (± ep), por placa mensal (10 x 13 cm) e período de imersão. ....   | 35 |
| Figura 21 - Monitorização de fevereiro de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep) e taxa de sobrevivência média (D). C=Controlo/sem tinta; T=com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento. ....           | 36 |
| Figura 22 - Monitorização de abril de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep; mm) e taxa de sobrevivência média (D); C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento” ....         | 37 |
| Figura 23 - Monitorização de abril de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2016, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep) e taxa de sobrevivência média (D). C=Controlo/sem tinta; T=com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento. ....               | 39 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 24 - Monitorização de junho de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final médio (média ± ep; mm) e taxa de sobrevivência média (D); O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento. ....   | 40 |
| Figura 25 - Monitorização de junho de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2016, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep; mm) (D). C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento. ....  | 41 |
| Figura 26 - Monitorização de agosto de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep; mm) (D). C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho de amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento. .... | 43 |
| Figura 27 - Monitorização de agosto de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2016, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep; mm) (D); C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento. .... | 44 |
| Figura 28 - Tamanho inicial estimado (RCi; mm) médio (± ep) em função da estação do ano, no Cabo (A) e na jangada (B). O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e estação do ano. ....   | 45 |
| Figura 29 - Crescimento mensal ( $\Delta$ RC30; mm) médio (± ep) em função da estação do ano, no Cabo (A) e na jangada (B). n= indivíduos marcados com calceína. O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e estação do ano. ....   | 46 |
| Figura 30 - Densidade média (± ep) no Cabo (A) e na jangada (B) em função da estação do ano. O tamanho da amostra é relativo ao número de “barticles” amostrados em cada habitat e estação do ano. ....  | 46 |
| Figura 31 - Temperatura média da água do mar (± ep; °C) na jangada em função da estação do ano. ....   | 47 |
| Figura 32 - Tamanho inicial estimado (RCi; mm) médio (± ep) conforme o habitat de cultivo e ano. O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e ano. ....  | 48 |
| Figura 33 - Crescimento mensal ( $\Delta$ RC30; mm) médio (± ep) de acordo com o habitat de cultivo e ano de plantação. n= tamanho da amostra. O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e ano. ....  | 49 |
| Figura 34 - Temperatura média da água do mar (± ep; °C) em janeiro e fevereiro dos anos 2015, 2016 e 2017, no Cabo e jangada (dentro do Terminal Petrolífero do Porto de Sines). ....  | 50 |
| Figura 35 - Densidade média (± ep) de acordo com o habitat de cultivo e ano de plantação. n= “barticles”. ....   | 51 |

## Lista de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela I - A recolha dos 440 “barticles”, referentes ao recrutamento do verão de 2017, iniciou-se na primeira semana de dezembro. Os 78 “barticles”, referentes ao recrutamento do verão de 2016, foram recolhidos na última semana de janeiro. As transferências dos “barticles” ocorreu na mesma semana da recolha, normalmente no dia a seguir ou no próprio dia. As monitorizações foram realizadas na terceira semana do mês de fevereiro, abril, junho e agosto. Os tratamentos “antifouling”: jato de água teve início na última semana de abril; limpeza manual e jato de água+ limpeza manual iniciaram-se na segunda semana de maio; O afundamento iniciou-se na terceira semana de maio. .... | 20 |
| Tabela II - Estatística descritiva dos valores do comprimento dos mexilhões nas placas acumuladas entre abril de 2017 e janeiro de 2018. ....  | 32 |
| Tabela III - Resultado da PERMANOVA e dos testes Pair-Wise para o RCi em relação aos fatores: Habitat (Ha); Ano (An). Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste PERMDISP : $P(\text{perm}) = 0.6$ ; $p < 0.05$ ). Legenda: g.l. – graus de liberdade; MQ – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa ( $p < 0.05$ ).....   | 48 |
| Tabela IV - Resultado da PERMANOVA e dos testes Pair-Wise para o $\Delta\text{RC30}$ em relação aos fatores: Habitat (Ha); Ano (An). Análise efetuada com transformação dos dados à raiz quadrada (Teste PERMDISP: $P(\text{perm}) = 0.197$ ; $p < 0.05$ ). Legenda: Ca – Cabo; Ja – Jangada; g.l. – graus de liberdade; MQ – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa ( $p < 0.05$ ). ....   | 49 |

## 1. Introdução geral

O percebe (*Pollicipes pollicipes*) é um crustáceo cirrípede muito apreciado na gastronomia Portuguesa e Espanhola, onde o seu preço de venda pode atingir os 200 Euros/kg em alguns restaurantes (Cruz *et al.*, 2015b). Como os percebes habitam em zonas do intertidal em que as rochas estão muito expostas à ação mecânica das ondas (López *et al.*, 2010; Cruz *et al.*, 2015b), a sua captura envolve uma atividade de elevado risco e a sua disponibilidade depende das condições do mar. Para além disso, a apanha profissional ou recreativa do percebe está sujeita a legislação específica que também condiciona a sua disponibilidade (Sousa *et al.*, 2013; Cruz *et al.*, 2015b).

Apesar de existirem áreas marinhas protegidas ao longo da costa Portuguesa com medidas de conservação e gestão, diferentes, consoante a região, bem como uma regulamentação nacional (ver Sousa *et al.*, 2013), tem-se verificado uma tendência negativa do estado do recurso ao longo dos anos, devido à exploração excessiva e às capturas ilegais (Cruz *et al.*, 2015b).

A aquacultura surge então como uma solução possível para aumentar o fornecimento de *P. pollicipes* nos mercados, durante o ano inteiro, que permitiria ainda a recuperação dos *stocks* naturais, ao libertá-los da pressão antropogénica a que estão normalmente sujeitos. O fato de os cirrípedes pertencerem a um nível trófico baixo (López *et al.*, 2012), uma vez que são consumidores primários, alimentando-se de uma grande variedade de fitoplâncton e zooplâncton (Fischer *et al.*, 1987), não necessitam de fornecimento de alimento exógeno em potenciais sistemas de cultivo extensivo, o que permite diminuir os custos de produção e ter impactos ambientais moderados (López *et al.*, 2012).

Para além disso, o fato desta espécie ser muito apreciada em Espanha (Molares & Freire, 2003) possibilita uma perspetiva de exportação para este mercado, onde *P. pollicipes* atinge o preço mais elevado de venda (Cruz *et al.*, 2016).

Apesar das características que esta espécie apresenta, tornando-a numa candidata promissora para um sistema de cultivo e das vantagens desta cultura, até aos dias de hoje, não se conhecem casos de sucesso de aquacultura de *Pollicipes spp.*

### 1.1. Caracterização biológica

Os percebes são cirrípedes pedunculados, pertencendo à superordem Thoracica, da classe Thecostraca, da subclasse Cirripedia que faz parte dos Crustacea.

Os Thoracica apresentam uma fase adulta sésil, fixando-se, normalmente, a substratos duros ou até mesmo a outros organismos (Cruz *et al.*, 2015a). No caso dos cirrípedes pedunculados, o corpo (ver Figura 1a) está separado em *capitulum* (revestido por placas calcárias e cuja cavidade interna é designada por cavidade do manto), composto por apêndices tróficos (i.e., seis pares de cirros e os apêndices bucais) e que abriga a maioria dos órgãos do animal (ver Figura 1b), e num pedúnculo que se fixa ao substrato e que contém o ovário (Cruz *et al.*, 2015a). O pedúnculo é uma estrutura flexível e forte que se encontra coberto por pequenas espículas calcárias (Molares, 1994a) e é normalmente mais comprido do que o *capitulum* (Darwin, 1851).

As espécies da superordem Thoracica são, maioritariamente, hermafroditas, sendo no caso de *P. pollicipes* do tipo simultâneo (i.e., estado masculino e feminino maduro em simultâneo; Cruz *et al.*, 2010) com tendências protândricas, ou seja, inicialmente machos, seguindo-se de uma fase hermafrodita (Cruz *et al.*, 2015a). A fecundação é, principalmente, cruzada, ou seja, o “macho” coloca o esperma na cavidade do manto da “fêmea”, onde posteriormente ocorre a fertilização, incubação dos ovos e eclosão larvar (Molares, 1994b).

As seis primeiras fases larvares (*nauplius*) são planctónicas e planctotróficas (i.e., alimentam-se de outros organismos do plâncton), e a última fase larvar, a fase *cypris*, é lecitotrófica (i.e., alimenta-se das reservas de nutrientes presentes no vitelo) e tem como objetivo encontrar um substrato para o assentamento e posterior metamorfose em juvenil (Cruz *et al.*, 2015a).

Esta fase larvar é dotada de um sistema sensorial desenvolvido, que lhe permite encontrar um substrato adequado, através de pistas do meio como a textura, cor, quantidade de luz ou sinais químicos que são desencadeados em resposta à presença de indivíduos conspecíficos, presas ou biofilmes (Rodríguez *et al.*, 1992).

As principais causas de mortalidade a seguir à metamorfose estão relacionadas com predação, competição ou perturbações físicas (Gaines & Roughgarden, 1985; Thomason *et al.*, 1998; López *et al.*, 2012).

Em termos de comportamento alimentar dos Thoracica, este passa pela extensão dos cirros, projetados através da abertura do *capitulum* por pressão da hemolinfa, e recolha

dos mesmos (Crisp & Southward, 1961). São assim suspensívoros ou filtradores, capturando plâncton (ex., algas microcópicas e larvas de outros invertebrados) e matéria orgânica particulada na coluna de água, através dos cirros (Anderson, 1994). Para além disso, os cirros também têm a finalidade de realizar as trocas respiratórias (Walker, 1992).

Relativamente à espécie do presente trabalho, *P. pollicipes*, sabe-se que no local de estudo, Sudoeste de Portugal, a reprodução ocorre, essencialmente, entre abril e setembro (Cruz & Hawkins, 1998). Os indivíduos sexualmente maduros realizam posturas assíncronas (i.e., várias posturas ao longo da época de reprodução), e estima-se que cada indivíduo realize entre 1 a 4 posturas por ano, com aproximadamente 30000 a 130000 ovos cada (Molares *et al.*, 1994b; Cruz & Araújo, 1999; Cruz, 2000).

Em laboratório, sob condições controladas, verificou-se que o desenvolvimento embrionário e larvar total dura entre 1,5 a 2 meses (Molares *et al.*, 1994b). O recrutamento é facilmente monitorizado, uma vez que o assentamento de *cypris* ocorre em elevada intensidade nos conspecíficos (Figura 2; Barnes, 1996). Aparentemente a fixação em indivíduos adultos oferece aos juvenis protecção contra a predação e dessecação (Hoffman, 1988). Na costa alentejana, o recrutamento ocorre sobretudo no verão e no outono (Cruz *et al.*, 2010).

A distribuição geográfica de *P. pollicipes* é predominantemente atlântica, podendo esta espécie encontrar-se desde a costa noroeste da França até ao Senegal, sendo rara no Mediterrâneo (Barnes, 1996).

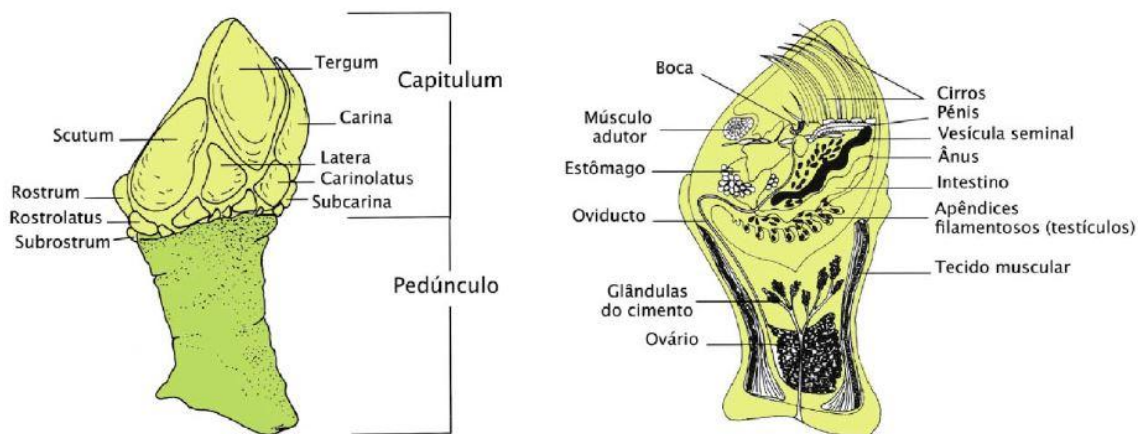


Figura 1 - a) - Morfologia externa de *Pollicipes pollicipes* (adaptado de Molares, 1994a), com a divisão em pedúnculo e *capitulum* e identificação das diferentes placas calcárias; b) Morfologia interna (adaptado de Rainbow, 1984), com a identificação dos diferentes órgãos.



Figura 2 - Fotografia que ilustra o recrutamento conspécifico da espécie *P. pollicipes* (retirado de Mateus, 2017).

### 1.2. Estado do Recurso

Dentro da superordem Thoracica, as espécies que estão em maior risco são as que têm interesse para o consumo humano e que estão sujeitas à exploração comercial, como é o caso de algumas cracas de maiores dimensões (ex., *Austromegabalanus psittacus* “picoroco”) e alguns percebes do género *Pollicipes* (ex., *P. polymerus*, *P. elegans* e *P. pollicipes*; López *et al.*, 2012). Cerca de 300-500 toneladas/ano de *P. pollicipes* são capturadas na Galiza, com uma crescente procura nos mercados (Molares & Freire, 2003). Em Portugal, esta exploração é essencialmente realizada por pescadores familiarizados com os locais de captura, com recurso a técnicas tradicionais como a arrilhada (Baptista, 2000), existindo pescadores profissionais e pescadores lúdicos ou recreativos. Dados mais recentes (2008-2014), desta actividade piscatória em Portugal, mostraram que existem cerca de 260 pescadores profissionais com licença de apanha (DGRM, 2016), e foram declaradas 64 toneladas de *P. pollicipes* capturadas anualmente, o que corresponde a uma receita anual de 876.000 € (DOCAPESCA, 2016). Porém os dados estatísticos sobre esta pesca são pouco representativos, visto que a maioria dos percebes são vendidos de forma direta a restaurantes e intermediários (Sousa *et al.*, 2013), o que impossibilita estimar a pressão real sobre este recurso (Cruz *et al.*, 2015b).

Em Portugal a apanha profissional do percebe é restringida por regulamentação implementada em quatro regiões: a Reserva Natural das Berlengas (RNB, desde 2000), o Parque Marinho Prof. Luiz Saldanha (PMLS), o Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina (PNSACV, desde 2006), sendo que esta última abrange a

área de estudo, o Cabo de Sines; e nas restantes zonas costeiras existe uma regulamentação nacional (Sousa *et al.*, 2013; Cruz *et al.*, 2015b).

Essas regulamentações passam por: restrições no número de licenças emitidas, épocas de defeso (i.e., a captura é proibida, em determinados locais e períodos de tempo), áreas protegidas, limite diário das capturas, tamanho mínimo individual ou registo diário das capturas (Jacinto *et al.*, 2010, 2011). Estas medidas têm como objetivo tornar esta atividade, com relevância socioeconómica a nível local e regional, sustentável e sob controlo (Jacinto *et al.*, 2011; Stewart *et al.*, 2014). No PMLS, a captura recreativa (atividade de lazer) ou profissional é proibida desde 2005 (Cruz *et al.*, 2015b).

A apanha lúdica de percebe está sujeita à regulamentação geral da apanha lúdica que inclui época de defeso e limites de tamanho e de capturas diárias (Cruz *et al.*, 2015b).

Apesar dos esforços para proteger esta espécie, segundo Cruz *et al.* (2015b) o estado do recurso apresenta uma tendência negativa em duas áreas protegidas, RNB e PNSACV, bem como na costa centro (área não protegida).

No entanto, a monitorização da abundância desta espécie é dificultada pelas condições das zonas de elevado hidrodinamismo onde habitam, e aos impactos contínuos da pesca nas populações exploradas (Castro & Cruz, 2009; Sousa *et al.*, 2013).

Dentro da área do PNSACV, o percebe é capturado intensivamente nos municípios de Aljezur e Vila do Bispo (Jesus, 2004). Esta espécie, *P. pollicipes*, revela-se muito importante no panorama económico e pode afetar alguns aspetos demográficos, culturais e sociais destas localidades costeiras (Castro & Cruz, 2009). Segundo Carvalho *et al.* (2017), apesar da sazonalidade da atividade (defeso entre 15 de setembro a 15 de dezembro), verificou-se que nestes municípios as capturas mais significativas, em termos de quantidade e intensidade, ocorrem durante a primavera e o verão.

A avaliação da gestão do recurso pode ser averiguada através de inquéritos aos pescadores, comunidade e restaurantes (Stewart *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2015b). Desta forma Cruz *et al.* (2015b), verificaram que a gestão no PNSACV pode ser considerada fraca. Isto deve-se, principalmente, à insuficiência na fiscalização e à discordância e incumprimento da regulamentação implementada entre pescadores, nomeadamente pela dificuldade na obtenção de licenças profissionais (são permitidas 80 licenças), enquanto que nas licenças recreativas não há limite e estas são fáceis de obter (Cruz *et al.*, 2015b; Carvalho *et al.*, 2017).

Porém, segundo a maioria dos pescadores locais do PNSACV, as capturas de *P. pollicipes* têm sido constantes e o tamanho dos indivíduos manteve-se inalterado entre 2009 e 2013 (Cruz *et al.*, 2015b).

### 1.3. Avanços no cultivo

Apesar de haver várias espécies da ordem Thoracica com interesse comercial, poucas são aquelas com produção efetiva em aquacultura (López *et al.*, 2010). No cultivo de *P. pollicipes*, os primeiros avanços foram descritos por Goldberg (1984), com a transferência de juvenis fixos a substratos rochosos da zona intertidal para sistemas flutuantes completamente submersos, na baía de Santander (Espanha). Apesar de ter obtido bons resultados relativamente ao crescimento dos indivíduos, comparativamente aos percebes no habitat natural, observou que o sistema desenvolvido era pouco viável, devido à perda de material com a força das correntes (Goldberg, 1984). Tendo em conta os resultados deste estudo, um sistema de imersão total em jangada pode ser favorável ao crescimento dos percebes, todavia o design do sistema de cultivo teria de ser aperfeiçoado.

Goldberg (1985) comparou a sobrevivência de uma outra espécie de cirrípede, *Lepas anatifera*, num sistema de cultivo em *long-line*. Porém, novamente, a configuração do sistema não resultou, a disposição horizontal e vertical das linhas de cultura levou à perda das mesmas por ruptura, possivelmente devido às condições adversas do mar (Goldberg, 1985). Para além disso, neste estudo, verificou-se uma mortalidade exponencial dos indivíduos ao fim da quinta semana de cultivo, sugerindo um problema de incrustação (ex., algas, cracas e mexilhões; Goldberg, 1985). A baixa densidade de *L. anatifera* nos substratos artificiais permitiu a fixação de outros organismos, que competem com os percebes por comida e dificultam a circulação de água (Goldberg, 1985), que no caso das espécies filtradoras, como os cirrípedes, pode afetar a sua taxa alimentar.

Para além dos problemas detetados nos estudos, anteriormente referidos, há uma outra condicionante no sucesso da aquacultura de cirrípedes, nomeadamente a dificuldade na obtenção de larvas em quantidades suficientes para sustentar escalas de produção industrial (López *et al.*, 2012). Atualmente, a única espécie de cirrípede com valor comercial a ser produzida com sucesso em culturas semi-industriais é *Austromegabalanus psittacus*, denominada de “picoroco” ou “craca gigante”, em que a

quantidade de larvas recolhidas da natureza consegue sustentar o desenvolvimento de culturas comerciais (López *et al.*, 2012).

Recentemente, no projeto AQUAPOLLIS (“Viabilidade biológica e económica da aquacultura de percebe (*Pollicipes pollicipes*) em Portugal” (31-03-05-FEP-46), realizou-se um estudo da viabilidade biológica de um sistema de cultivo de percebe da espécie *P. pollicipes* constituído pelas seguintes fases: 1) colocação de substratos artificiais (“barticles”; Figura 5C) no Cabo de Sines para fixação de larvas de percebe; 2) instalação de uma estrutura artificial de cultivo (jangada) no interior do Porto de Sines; 3) transferência dos “barticles” com percebes do Cabo de Sines para a jangada; 4) monitorização da fixação, sobrevivência, tamanho e crescimento de percebes em “barticles” transferidos para a jangada e que permaneceram no local de controlo - Cabo de Sines (Cruz *et al.*, 2016). Este estudo é pioneiro no desenvolvimento com sucesso de um método (“barticles”, pedido de patente em curso) que permite obter juvenis que podem ser transferidos para condições de cultivo (Cruz *et al.*, 2016). No entanto, após uma fase inicial de sobrevivência e elevado crescimento dos percebes transferidos para a jangada, foi registada a mortalidade total dos percebes transferidos devido a incrustações por outros organismos, como mexilhões (Cruz *et al.*, 2016). Atualmente está em curso um novo projecto, AQUAPOLLIS+ (“Aquacultura do percebe (*Pollicipes pollicipes*)” (ALT20-03-0145-FEDER-000003)), onde a presente tese se insere, e onde estão a ser testados alguns métodos antivegetativos, como tintas antivegetativas, limpeza manual e jato de água (Cruz *et al.*, 2017; Darras, 2017).

Por outro lado, já existem vários estudos que descrevem as condições para reprodução em cativeiro de *Pollicipes pollicipes* (Molares *et al.*, 1994a; Cribeiro, 2007; Franco *et al.*, 2015), assim como os efeitos das condições de cultivo no crescimento e sobrevivência das larvas (Coelho, 1990; Molares *et al.*, 1994b; Molares *et al.*, 2002; Candeias, 2005; Franco *et al.*, 2016;), e em juvenis/adultos (Norton, 1996), tendo-se obtido resultados promissores para o cultivo desta espécie em laboratório.

No entanto, a fase de fixação das larvas *cypris* e conseqüente processo de metamorfose em juvenil é considerada uma fase crítica no fecho do ciclo de produção desta espécie em condições laboratoriais (Franco, 2014).



Figura 3 - “Barticle”, substrato artificial onde ocorre a fixação de larvas de percebes, composto por uma bucha de nylon de 8 mm e um parafuso em inox de 40 mm (pedido de patente em curso).

#### 1.4. Problemas de “fouling”

As infraestruturas desenhadas para o cultivo de espécies marinhas são compostas, normalmente, por redes, gaiolas e cordas submersas. Estas superfícies servem de substrato para a fixação de outros organismos para além da espécie-alvo (i.e., “fouling” ou incrustação; Fitridge *et al.*, 2012). Esta grande variedade de superfícies permite a colonização e desenvolvimento de uma ampla diversidade de espécies, desde algas marinhas a animais, que são responsáveis por causar danos severos nas culturas, podendo levar à perda completa das mesmas (Fitridge *et al.*, 2012). Os organismos incrustantes podem ser prejudiciais em vários aspetos, causando: danos físicos (ex., fixação nas conchas), o que por sua vez também afeta a estética; interferência mecânica, impedindo a capacidade de alimentação; competição por recursos, por exemplo, alimento e espaço que afeta conseqüentemente o crescimento (Fitridge *et al.*, 2012); impacto ambiental, pois a colonização da infraestrutura diminui o fluxo de água o que leva à acumulação de resíduos, diminuição da oxigenação e da disponibilidade de alimento; degradação física do equipamento, o que implica uma maior despesa na manutenção e nos custos de produção (Willemsen, 2005; Fitridge *et al.*, 2012).

De uma forma geral, a incrustação ocorre quase imediatamente a seguir à imersão das infraestruturas na água, e é composta, inicialmente, por matéria orgânica (Guo, 2012). De seguida, em geral, verifica-se a colonização por microorganismos, designada por “microfouling”, que inclui fungos, algas, bactérias e diatomáceas (Legg *et al.*, 2015), e que se desenvolvem entre horas a dias após a imersão destas infraestruturas. Seguem-se as larvas de invertebrados marinhos tais como, briozoários, bivalves, cracas, esponjas,

hidrozoários, poliquetas e ascídias, que se fixam à camada de “microfouling” formando um revestimento de “macrofouling”, num espaço de dias a semanas (Callow & Callow, 2002; Guo, 2012).

Estes organismos incrustantes têm em comum uma distribuição geográfica ampla e uma elevada capacidade de sobreviver e reproduzir-se em novos locais (Fitridge *et al.*, 2012). Contudo, a formação destas comunidades é sazonal, ou seja, varia temporalmente e espacialmente, o que consiste por exemplo no aparecimento de novos recrutas ou em períodos de crescimento ótimo numa determinada estação do ano (Fitridge *et al.*, 2012). De forma geral, o recrutamento da maioria dos macroinvertebrados bentônicos sésseis, como as cracas e mexilhões, apresentam um padrão bimodal, com dois picos durante um ano, que de certa forma parece estar relacionado com as condições ambientais e eventos planctônicos tais como, disponibilidade de alimento (Menge *et al.*, 2004), aumento da temperatura (Buck, 2007) e salinidade (Fell & Balsamo, 1985), geralmente associados às estações da primavera e verão.

Por outro lado, a taxa de incrustação pode ser afetada pelo fluxo de água e pela intensidade luminosa, o que na maioria das vezes parece estar relacionado com a profundidade e a orientação da infraestrutura de cultivo (Guenther *et al.*, 2010). Estas comunidades de organismos incrustantes são menos abundantes e diversificadas em águas mais profundas (Cronin *et al.*, 1999; Guenther *et al.*, 2010). Desta forma, o seu impacto pode ser reduzido através do afundamento das infraestruturas de cultivo. Além disso, com a compreensão da biologia e assentamento larvar dos organismos incrustantes também pode-se evitar o recrutamento destas espécies, criando um cronograma anual de forma a mitigar a sua colonização. Por isso a cultura de interesse deve ser removida do nível de profundidade ótima de recrutamento dos organismos incrustantes antes do seu pico de colonização (Arakawa, 1990). Estas estratégias podem assim diminuir o assentamento de larvas de espécies incrustantes nos sistemas de cultivo.

Uma outra técnica utilizada para diminuir o problema de “fouling” em culturas de moluscos é a remoção manual, em que o grau de esforço aplicado depende da composição e da intensidade da incrustação (Mallet *et al.*, 2009). Estas limpezas regulares implicam uma mão-de-obra maior, mas diminuem a acumulação de organismos indesejados. Verificou-se em culturas de ostras que estas tinham um crescimento superior quando eram limpas e manipuladas, relativamente a ostras que não

passavam por nenhum tratamento (Taylor *et al.*, 1997). É também comum usar-se a lavagem como método de limpeza, pois esta reduz a presença de gametófitos de algas (Forrest & Blakemore, 2006) e a abundância de tunicados solitários até 80% (Mallet & Craver, 2006). A limpeza manual, com formões e escovas e a aplicação de água sob pressão é muito utilizada na indústria da pérola de ostra na Polinésia Francesa, Japão e China (Mao Che *et al.*, 1996).

Para além disso, as tintas “antifouling”, normalmente utilizadas nas embarcações de transporte marítimo (Yebra *et al.*, 2004), têm sido aplicadas na aquacultura. Estas tintas libertam substâncias químicas e metais pesados nas superfícies onde são aplicadas, formando uma camada fina e tóxica que impede a fixação de organismos (Fitridge *et al.*, 2012). Porém os compostos químicos presentes nestas tintas são prejudiciais ao meio ambiente e a outras espécies não-alvo, por exemplo, o cobre tem a capacidade de proteção até 6 meses, sendo capaz de impedir “fouling” intensivo que ocorre no verão, no entanto é um metal altamente tóxico (de Nys & Guenther, 2009).

Desta forma, tem-se eliminado gradualmente este tipo de tintas do mercado e apostado na criação de tintas com outro tipo de composição que não tenha impactos no ambiente (Scardino, 2009).

### 1.5. Estudos do crescimento de *Pollicipes spp.*

Utiliza-se geralmente o comprimento máximo entre a placa *rostrum* e a placa *carina* (ver figura 8; RC) para estudar o crescimento dos percebes (Cruz *et al.*, 2010). No entanto há outras variáveis também comuns, como a altura total (AT; Hoffman, 1984), a altura do *capitulum* (Cardoso & Yule, 1995) e o diâmetro da base do *capitulum* (Parada *et al.*, 2012). O crescimento peduncular verifica-se, principalmente, entre o *capitulum* e o pedúnculo (Chaffee & Lewis, 1988) e as placas *tergum*, *carina* e *scutum* têm um crescimento laminar e marginal provocando um aumento da espessura e área das mesmas (Barnes, 1996). Os espécimes maiores (comprimento RC > 30 mm) podem chegar aos 20 anos de idade (Barnes & Reese, 1960), porém não há nenhum método preciso para determinar a idade (Hoffman, 1984).

Tem-se verificado que há uma grande variabilidade na taxa de crescimento entre indivíduos (Jacinto *et al.*, 2015), sendo o crescimento potencialmente influenciado pela dimensão do percebe, densidade populacional, temperatura da água, disponibilidade de alimento e o nível intertidal (Cruz *et al.*, 2010; Jacinto *et al.*, 2015). Cruz *et al.*, (2010)

estimaram que, no Sudoeste alentejano, o incremento médio mensal de RC rondava os 1.3 mm no primeiro ano de vida.

Jacinto *et al.* (2015) observaram que a taxa de crescimento dos percebes decresce com o aumento do tamanho, e que esta é extremamente variável, principalmente, em indivíduos de menores dimensões.

O estudo do crescimento do percebe foi inicialmente baseado em estimativas das taxas de crescimento de alguns indivíduos que são marcados no habitat natural, com recurso a técnicas de marcação que consistem no mapeamento de indivíduos através de marcas no substrato adjacente ou com etiquetas coladas às placas do *capitulum* (Cruz, 2000; Jacinto *et al.*, 2015). Todavia, o sucesso destas técnicas é reduzido devido ao pouco tempo disponível na zona intertidal para fazer as marcações e medições, e, por outro lado, não é possível marcar animais de pequenas dimensões (Jacinto *et al.*, 2015).

Helms (2004) descreveu pela primeira vez a marcação de indivíduos juvenis da espécie *Pollicipes polymerus* através da imersão em calceína, para estudar o recrutamento e padrões de crescimento destes percebes. A calceína liga-se a estruturas calcificadas formando uma marca fluorescente, detectável à microscopia epifluorescente (Figura 4). Isto permite a identificação de indivíduos marcados e estimar as taxas de crescimento dos mesmos (Frenkel *et al.*, 2002). Para além disso, esta técnica permite a marcação de vários indivíduos ao mesmo tempo e com dimensões variáveis, com alguma facilidade e segurança (Jacinto *et al.*, 2015).

Porém, os estudos com recurso a esta técnica ainda são escassos, mas a utilização desta técnica mostra-se muito promissora para a compreensão do crescimento desta espécie.



Figura 4 - Fotografia de um percebe marcado com calceína, em que é possível observar as marcas fluorescentes, com recurso à lupa Leica M165FC com luz UV e filtro GFP3.

## 2. Objetivos

O sistema de cultivo de *P. pollicipes* desenvolvido, originalmente, no projeto AQUAPOLLIS consistiu numa jangada de cultivo localizada no Porto de Sines e foi considerado inviável devido à observação da mortalidade total dos percebes causada pela incrustação de outras espécies, nomeadamente de cracas e mexilhões (Cruz *et al.*, 2016). No seguimento deste projeto desenvolveu-se o projeto AQUAPOLLIS+, onde se insere o presente estudo, com o propósito de vencer as dificuldades encontradas no projeto anterior.

Por este motivo alterou-se o sistema de forma a testar vários métodos antivegetativos que potencializem a sobrevivência, crescimento e a produção, com custos reduzidos e o mais ecológico possível (tinta antivegetativa; limpeza de jato de água; limpeza manual; afundamento das estruturas de cultivo), sendo o primeiro objetivo geral do presente trabalho avaliar o efeito destes métodos na sobrevivência e no tamanho dos percebes.

Para além disso, para otimizar o sistema, foi necessário responder às seguintes questões: 1) Qual a melhor profundidade para o afundamento? 2) Qual a variação temporal do recrutamento de cracas e mexilhões, que se tinham revelado no projeto anterior como os organismos incrustantes mais nocivos? 3) Em que período se deve iniciar os tratamentos antivegetativos e com que frequência?

Para tal, elaboraram-se três experiências adicionais em que: 1) foi analisado o padrão vertical de colonização das comunidades incrustantes a várias profundidades de afundamento, com dados de 2017; 2) foi identificado o/os pico/s de recrutamento de cracas e mexilhões, com dados de 2017; 3) foi analisado o recrutamento de cracas e mexilhões, com dados da primavera e verão de 2018.

O segundo objetivo geral foi estudar a variação do crescimento dos percebes na jangada de cultivo em comparação com o que ocorre no habitat natural (Cabo de Sines), tendo sido realizadas duas experiências em que foi avaliada: 1) a variação sazonal do crescimento; 2) e a variação interanual do crescimento dos percebes no inverno de anos diferentes (2015, 2016 e 2017).

### 3. Metodologia

#### 3.1. Local de estudo

Os coletores artificiais de larvas de percebe e de juvenis (“barticles”) foram colocados nas Pedras Amarelas do Cabo de Sines ( $37^{\circ} 57'46''N$ ,  $8^{\circ} 53'10''W$ ) (Figura 5), no mês de Julho de 2017, onde se fixaram as larvas de percebes no período de recrutamento referente a esse verão e outono (Cruz *et al.*, 2017). Este local foi escolhido para esta fase da experiência, pois corresponde a um local onde *P. pollicipes* é muito abundante e onde têm sido colocados os “barticles” em estudos anteriores com elevada taxa de sucesso de fixação dos percebes (Cruz *et al.*, 2016). Os “barticles” foram colocados na zona intertidal sujeita a elevada exposição à ondulação e no meio da distribuição dos percebes, com a ajuda de berbequins a bateria (Bosch Professional 36V; Figura 5C), e com brocas apropriadas para furar a rocha (Cruz *et al.*, 2016). O local exacto da colocação dos “barticles” ficou registado em mapas, com base nas características do substrato, e em pontos marcados por GPS e por marcas rochosas.

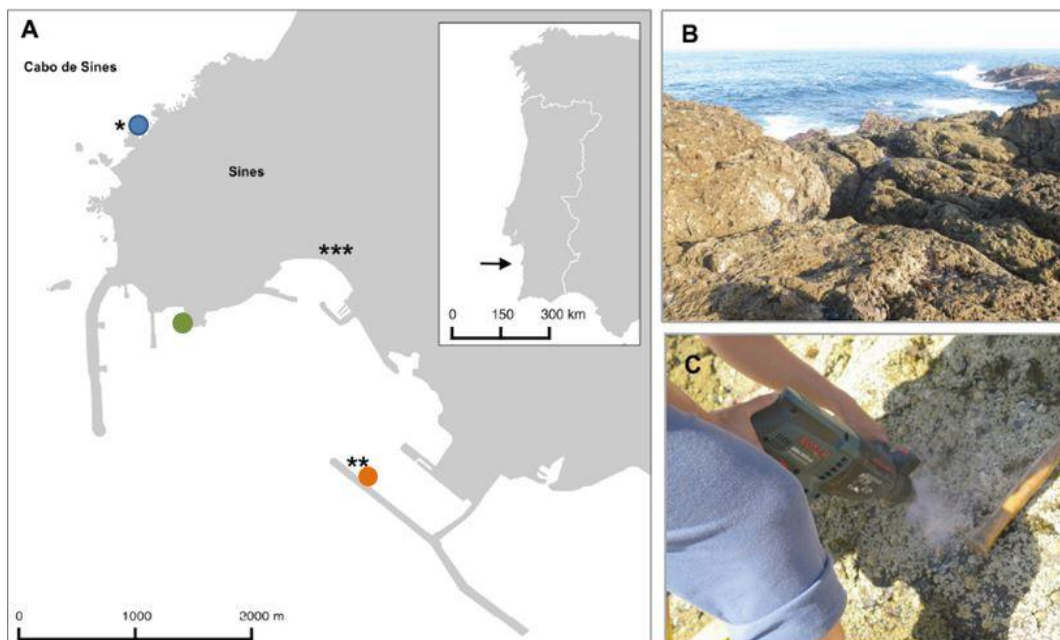


Figura 5 - A) Local de amostragem no Cabo de Sines: (\*)- Pedras Amarelas, colocação dos “barticles”; (\*\*) - Local do sistema de cultivo, no Porto de Sines; (\*\*\*)- Laboratório do CIEMAR; (●)Termómetro no Cabo de Sines; (●) Termómetro dentro do Terminal Petrolífero do Porto de Sines; (●) Termómetro na jangada. B) Vista geral da zona entremarés das Pedras Amarelas. C) Colocação dos “barticles” no substrato rochoso, com o berbequim a bateria (retirado de Cruz *et al.*, 2016).

Os “barticles” com os percebes fixos são depois retirados do Cabo de Sines e colocados em placas de suporte de PVC, suspensas numa jangada de cultivo.

A jangada de cultivo está localizada no Porto de Sines (Figura 5A) desde dezembro de 2014, e tem duas áreas (5 x 5 m), separadas por um passadiço que permite a deslocação na jangada (Cruz *et al.*, 2016). Esta estrutura tem, no total, 12,5 x 6 m de dimensões e encontra-se fixa por cabos de nylon a um sistema de betão na face interna do molhe Este do Porto de Sines (Cruz *et al.*, 2016). Em cada área da jangada, pode colocar-se até 6 cabos de nylon, paralelamente, com mais ou menos 1 metro de distanciamento, com 5 bóias presas em cada cabo (Figura 6A) que permitem a colocação de placas de suporte para os “barticles”, criando assim um sistema de cultivo em condições de total imersão (Figura 6B; Cruz *et al.*, 2016). O Porto de Sines foi escolhido para esta finalidade pois é uma zona abrigada, permitindo a estabilização da estrutura flutuante de forma segura (Cruz *et al.*, 2016).

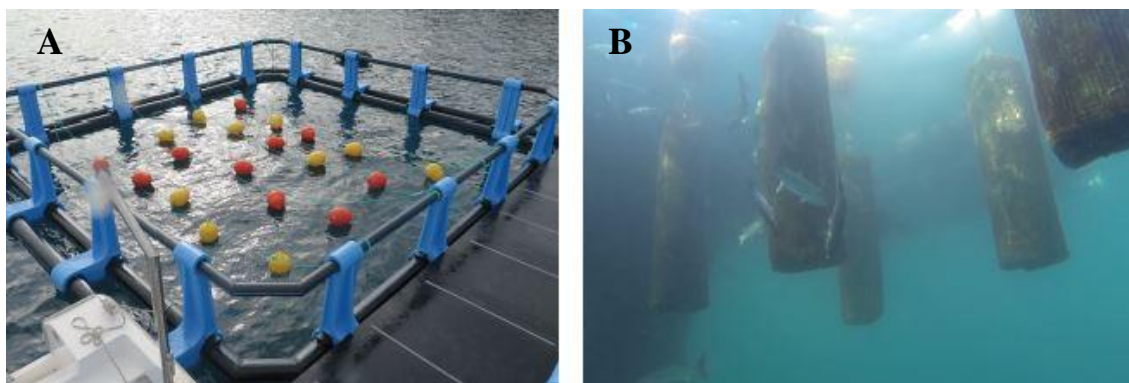


Figura 6 - A) Aspecto da jangada, onde é possível ver o passadiço e o sistema com os cabos de nylon com as bóias; B) Placas de suporte dos “barticles” em condições de total imersão (Cruz *et al.*, 2016).

### 3.2. Organismos incrustantes

#### 3.2.1. Profundidade de afundamento

Em abril de 2017, de forma a estudar os padrões de variação de “fouling” em profundidade no sistema de cultivo, colocaram-se quatro placas F (placas de PVC com 11 x 13 x 0,5 cm, e com dois “barticles” num só lado da placa) ao longo da coluna de água, em cinco profundidades diferentes: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m, com quatro repetições. Estas placas estavam suspensas por quatro cabos presos à jangada de cultivo (Figura 7), correspondendo cada cabo a um conjunto de placas colocadas às várias profundidades. As placas foram envolvidas em redes protetoras individuais, de forma a evitar a predação, assemelhando-se assim às condições do sistema de cultivo dos percebes (estruturas com redes anti-predação; ver Figura 6B). A recolha das placas ocorreu em outubro de 2017, ou seja, ao fim de um período de 6 meses, sendo colocadas

em sacos de plástico individuais e transportadas para o laboratório para posterior análise.

As placas foram então soltas das respectivas redes envolventes, lavadas em água corrente da torneira, com fluxo intenso, para retirar o máximo de organismos móveis (ex., anfípodes, copépodes) com a lavagem. De seguida raspou-se a parte da placa sem “barticles”, com a ajuda de um formão e descartou-se este conteúdo. Depois, deixou-se as placas a secar durante 15 minutos, para retirar o excesso de água, e pesaram-se as mesmas, anotando-se o peso húmido individual de cada, sendo que as placas tinham o mesmo peso aproximado antes de terem sido afundadas. Para pesar os indivíduos pertencentes aos grupos de organismos mais abundantes, realizou-se uma raspagem completa do lado da placa que continha os “barticles”, com a ajuda de um formão, tendo o cuidado de não danificar os organismos. Realizou-se uma triagem, com divisão nos seguintes grupos: mexilhões, cracas e “outros” (i.e., algas, briozoários, entre outros). Cada grupo foi colocado num saco individual devidamente etiquetado, pesado numa balança digital ( $\pm 1$  g) e devidamente anotado.



Figura 7 - Exemplo de uma Placa F suspensa a 10 m de profundidade.

### *3.2.2. Padrões temporais da estrutura dimensional de mexilhões e de recrutamento de cracas (2017)*

A variação temporal do “fouling” no sistema de cultivo foi analisada através de duas experiências distintas em anos consecutivos, nomeadamente 2017 e 2018 (secção 3.2.3). Entre janeiro de 2017 e janeiro de 2018 foram utilizadas placas F (ver descrição anterior) colocadas junto à superfície (20 cm de profundidade).

Para o estudo da estrutura dimensional dos mexilhões, as placas foram colocadas inicialmente em janeiro de 2017 e recolhidas em períodos acumulados de tempo (ao fim

de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, e 12 meses) sem reposição, num total de 22 placas, designadas daqui em diante como placas acumuladas. A colocação, recolha e processamento inicial destas placas foi feita por uma equipa do CIEMAR, tendo os mexilhões de cada placa sido individualizados, pesados (dados parcialmente apresentados em Darras (2017)) e congelados. No presente trabalho, os mexilhões de cada placa foram descongelados, separados (pois formam aglomerados presos pelos bissos), e de seguida foram misturados com a mão, de forma a homogeneizar o conteúdo de cada réplica. Analisou-se, no máximo, 100 mexilhões de cada réplica, de forma aleatória medindo-se o comprimento total da concha de cada indivíduo, com ajuda de uma craveira digital ( $\pm 0,01$ ). Os indivíduos de menores dimensões ( $< 10$  mm) foram medidos à lupa binocular. Por fim, quando se obteve o valor mínimo e máximo do comprimento, definiram-se classes de comprimento para a organização dos mexilhões por tamanho em cada mês de acumulação, sendo as seguintes:  $\leq 3$ ; ]3-6]; ]6-9]; ]9-12]; ]12-15]; ]15-18]; ]18-21]; ]21-24]; ]24-27]; ]27-30]; ]30-33]; ]33-36]; ]36-39]; ]39-42]; ]42-45]; ]45-48] (em mm).

O recrutamento de cracas foi estudado através de placas colocadas mensalmente no sistema de cultivo, havendo recolha e reposição mensal de todas as placas (início em janeiro de 2017). Ou seja, em cada mês eram recolhidas duas placas e repostas duas novas placas, sendo estas designadas daqui em diante como placas mensais.

A colocação, recolha e processamento inicial destas placas foi feita por uma equipa do CIEMAR. A variação temporal do recrutamento de cracas foi analisada com recurso às imagens fotográficas das placas mensais, uma vez que a recolha destes organismos sem os danificar foi impossível no momento do processamento das placas. Em cada fotografia, no presente trabalho, procedeu-se à contagem do número total de cracas, presente em cada placa mensal, com a ajuda do programa ImageJ (1.51j8) com a função de pontos múltiplos. Devido à fraca resolução das imagens fotográficas não foi possível identificar as cracas taxonomicamente.

### *3.2.3. Padrões temporais de recrutamento de mexilhões e de cracas (2018)*

O recrutamento das cracas e dos mexilhões foi avaliado com recurso a placas F (ver descrição anterior) e “tuffies” (esfregão de cozinha americano; SOS Tuffy, The Clorox Company, Oakland, Califórnia, USA), respetivamente. Segundo estudos anteriores, os “tuffies” têm uma estrutura semelhante à dos substratos filamentosos, como as

ramificações de algas, permitindo a fixação dos mexilhões através dos seus bissos (Espírito Santo, 2007). A experiência iniciou-se no dia 19 de abril de 2018, com a colocação, a cerca de 20 cm de profundidade, de uma placa e de um “tuffy” presos a uma extremidade da jangada de cultivo através de um cabo, tendo sido colocados uma outra placa e um outro “tuffy” em outra extremidade da jangada.

A recolha das placas e dos “tuffies” foi feita quinzenalmente, com sucessiva reposição, até agosto de 2018. Cada placa e cada “tuffy” foram armazenados em sacos individualizados, e congelados até posterior análise.

No laboratório, no caso do recrutamento das cracas, cada placa foi descongelada e o número total de indivíduos (frente e verso da placa) foi registado, tendo sido usada uma lupa binocular, e, quando necessário, um quadrado de amostragem subdividido em áreas de 1 cm<sup>2</sup> para facilitar a contagem. No caso do recrutamento dos mexilhões, cada “tuffy” foi colocado em água corrente da torneira, com dois crivos empilhados de 250 e 500 µm, de forma a reter os mexilhões desagregados. De seguida, desenrolou-se o “tuffy” e aplicou-se o mesmo procedimento, anteriormente descrito.

A contagem de mexilhões, presente em cada crivo, foi efetuada à lupa binocular com auxílio de um contador. Contou-se total de indivíduos do género *Mytilus* retidos no crivo >500 µ. Porém, na classe dos 250-500 µm, considerou-se um único grupo (bivalves), uma vez que a identificação deste género neste intervalo de tamanhos é difícil. Neste último caso, realizou-se sub-amostragem para facilitar as contagens. Para tal, num volume de 200 mL de água, retirou-se 5 mL com uma pipeta de Hensel-Stempel, sendo a sub-amostragem repetida até se obter um total de 200 bivalves ou 10 pipetagens de 5 mL.

### 3.3. Tratamentos “antifouling”

Os “barticles” foram recolhidos do Cabo de Sines (ver figura 5) na primeira semana de dezembro de 2017. Esta actividade é limitada pela maré e pelas condições do estado mar, pelo que se retiraram 440 “barticles” do Cabo de Sines em três dias consecutivos (4, 5 e 6 de dezembro), que foram posteriormente transportados para o laboratório do CIEMAR. Em cada “barticle” procedeu-se à contagem inicial dos indivíduos e à medição de RC (à lupa binocular ou com uma craveira  $\pm 0,01$ ; ver Figura 8) do maior indivíduo presente, com o máximo de cuidado possível de modo a não danificar os organismos. Os “barticles” sem nenhum percebe (designados como “zeros”) foram

descartados e substituídos por outros “barticles” que contivessem pelo menos um indivíduo.

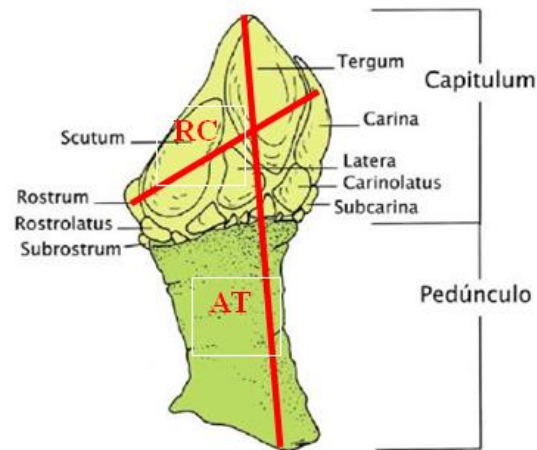


Figura 8 - A vermelho está marcado as distâncias máximas *rostrum-carina* (RC) e a altura total (AT; Cruz *et al.*, 2015a).

Durante as contagens, os “barticles” foram mantidos em laboratório num sistema fechado com arejamento (Figura 9), com finalidade de evitar o stress dos organismos por dessecação e consequente mortalidade até à colocação no habitat de cultivo destinado.



Figura 9 - Sistema com arejamento para os “barticles”. Os “barticles” são organizados por número na rede verde, que permite a sua identificação até ao momento da colocação no meio de crescimento.

Sessenta destes “barticles” foram novamente colocados no Cabo de Sines, no mesmo dia ou no dia a seguir, servindo de controlo à experiência a decorrer na jangada. Os restantes 380 “barticles” foram repartidos por dois tipos de placas: placas onde foi aplicada anteriormente uma tinta antivegetativa não-tóxica (11 placas); utilizada, normalmente, em equipamentos de aquicultura (NETMINDER®); e placas sem

aplicação de tinta (11 placas). Estas placas são de PVC e têm 20 cm largura x 95 cm de comprimento e 0,5 cm de espessura, com capacidade para 36 “barticles” cada.

Acrescentaram-se, adicionalmente, os seguintes tratamentos em ambos tipos de placas.

- 1) Jato de água aplicado semanalmente: Lavagem das placas de cultivo com água do mar pressurizada com auxílio a uma máquina de lavar de alta pressão (jato de água BOSCH AQT 45- 14X). A placa é colocada no chão e o jato de água é aplicado a uma distância da altura do joelho durante 30 segundos (em modo varrimento em cada lado da placa). Este tratamento permite eliminar espécies que se tenham recentemente fixado aos “barticles” ou à placa. Este tratamento teve início no dia 23 de abril de 2018.
- 2) Limpeza manual aplicado semanalmente: Remoção dos organismos incrustantes visíveis a olho nu (ex., mexilhão, cracas, algas) da placa com ajuda de um formão. A limpeza dos “barticles” foi realizada com ajuda de pinças, para remoção dos mexilhões, e agulhas para simplesmente perfurar as cracas que se fixem aos percebes. É necessário um certo cuidado nesta limpeza para não danificar os percebes. Este tratamento teve início no dia 10 de maio de 2018.
- 3) Jato de água + limpeza manual: Combinação dos tratamentos referidos na alínea 1 e 2. Este tratamento teve início no dia 10 de maio de 2018.
- 4) Afundamento: Pelos resultados da experiência da profundidade de afundamento (ver secção 4.1.1), testou-se o afundamento de placas para os 7,5 m, de forma a evitar a fixação de organismos incrustantes, em que o seu recrutamento ocorre maioritariamente nas camadas superficiais da coluna de água. Este tratamento foi iniciado no dia 18 de maio de 2018.
- 5) Controlo na jangada: Correspondente a “barticles” sem qualquer tipo de manipulação contra a incrustação de organismos, ocorrendo a colonização natural dos “barticles” e das respectivas placas de suporte.

As datas para iniciação (ver Tabela I) destes tratamentos foram determinadas e reajustadas perante o resultado do estudo dos padrões temporais da estrutura dimensional de mexilhões e de recrutamento de cracas (ver secção 4.1.2).

Dos 380 “barticles”, 190 foram transferidos para as placas pintadas com a tinta antivegetativa, e foram distribuídos da seguinte forma: 60 no controlo, 30 na limpeza manual, 30 no afundamento, 40 no jato de água e 30 no jato de água + limpeza manual,

os outros 190 “barticles” foram divididos da mesma forma, mas em placas sem tinta. Cada placa está protegida por uma rede anti-predação e foram colocadas na marina de Sines após a manipulação (i.e., aplicação dos “barticles” nas placas), sendo transportadas para a jangada no dia seguinte.

No entanto, no fim das contagens iniciais, verificou-se que o recrutamento do verão de 2017 tinha sido inferior a anos anteriores, apresentando um número médio de indivíduos por “barticle” baixo. Para assegurar a densidade dos indivíduos nesta experiência, decidiu-se recolher “barticles” colocados no Cabo de Sines no verão de 2016 e introduzi-los no sistema criado. Para isso no dia 31 de janeiro de 2018 foram recolhidos 78 “barticles”, que foram processados da mesma forma que os anteriores, com a seguinte distribuição nas placas: 12 no controlo, 6 na limpeza manual, 6 no afundamento, 9 no jato de água e 6 no jato de água + tratamento manual, tanto para as placas com e sem tinta antivegetativa. Estes “barticles” foram colocados no sistema no mesmo dia da recolha.

Foram realizadas 4 datas de monitorizações (ver Tabela I), com recolha em cada de: n= 10 “barticles” por tratamento na jangada e controlo do Cabo, relativamente ao recrutamento de 2017; e n= 3 por tratamento na jangada e controlo do Cabo, relativamente ao recrutamento de 2016. As monitorizações realizaram-se nas seguintes datas: 23 de fevereiro de 2018; 23 de abril de 2018; 26 de junho de 2018; 29 de agosto de 2018.

Tabela I - A recolha dos 440 “barticles”, referentes ao recrutamento do verão de 2017, iniciou-se na primeira semana de dezembro. Os 78 “barticles”, referentes ao recrutamento do verão de 2016, foram recolhidos na última semana de janeiro. As transferências dos “barticles” ocorreu na mesma semana da recolha, normalmente no dia a seguir ou no próprio dia. As monitorizações foram realizadas na terceira semana do mês de fevereiro, abril, junho e agosto. Os tratamentos “antifouling”: jato de água teve início na última semana de abril; limpeza manual e jato de água + limpeza manual tiveram início na segunda semana de maio; O afundamento iniciou-se na terceira semana de maio.

|                                     | Meses |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |
|-------------------------------------|-------|---|---|---|-----|---|---|---|-----|---|---|---|-----|---|---|---|-----|---|---|---|-----|---|---|---|-----|---|---|---|-----|---|---|---|-----|---|---|---|
|                                     | Dez   |   |   |   | Jan |   |   |   | Fev |   |   |   | Mar |   |   |   | Abr |   |   |   | Mai |   |   |   | Jun |   |   |   | Jul |   |   |   | Ago |   |   |   |
| Tarefas/<br>Semana                  | 1     | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 | 1   | 2 | 3 | 4 |
| Recolha dos<br>"barticles"          |       |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |
| Transferência<br>dos<br>"barticles" |       |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |
| Monitorização                       |       |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |
| Jato de água                        |       |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |
| Limpeza<br>manual                   |       |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |
| Afundamento                         |       |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |
| Jato de água +<br>limpeza<br>manual |       |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |     |   |   |   |

Nos “barticles” recolhidos em cada monitorização, estimou-se a sobrevivência através da contagem do número de indivíduos final (comparação com as contagens iniciais). Relativamente à variável “número inicial de percebes por barticle”, o efeito deste fator 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.

Para possibilitar a comparação de resultados com estudos anteriores, calculou-se também a percentagem de sobrevivência através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ de Sobrevivência} = \frac{\text{Número final de Percebes} \times 100}{\text{Número Inicial}}$$

É comum observarem-se percentagens de sobrevivência >100 % devido a erros nas contagens iniciais, ou porque os percebes eram muito pequenos na altura da contagem, ou estavam em zonas que impossibilitavam a sua visualização, notando-se a sua presença apenas no momento da separação e contagem final.

Os percebes fixos em cada “barticle” foram também separados, de forma a possibilitar a medição de RC e AT (Altura total; Figura 8) de cada indivíduo. Foi calculado o valor médio de RC e de AT de cada “barticle”. Calculou-se também a razão entre o RC médio o AT médio (RC/AT) de cada “barticle”, de forma a comparar o alongamento do

percebe, sendo que valores de RC/AT mais baixos são indicativos de percebes mais alongados e com menor valor comercial.

Na monitorização de junho e agosto não foi possível recolher “barticles” referentes ao ano de plantação de 2016 do Cabo, devido à sua inexistência, e por isso só são referidos em abril. Para além disso também não existiam contagens iniciais dos percebes destes “barticles”, apresentando-se apenas o número final de indivíduos, RC, AT e RC/AT.

### 3.4. *Variação da taxa de crescimento, por marcação com calceína*

#### 3.4.1. *Variação sazonal do crescimento*

De 64 “barticles” presentes no Cabo de Sines desde o Verão de 2016, retiraram-se 32 desses “barticles” e transferiram-se para jangada de cultivo em janeiro de 2017. Foram colocados em placas de suporte com o tratamento de limpeza manual (realizada uma vez por mês a partir de fevereiro), uma vez que este tratamento apresentou bons resultados em termos de sobrevivência e crescimento dos percebes em estudos anteriores (Cruz *et al.*, 2016).

Os outros 32 foram mantidos no Cabo de Sines como controlo. Foram estipuladas 4 datas para a marcação com calceína, determinando 4 períodos para estudar o crescimento dos percebes ao longo de um ano, representado as estações do ano. Inverno: 17 janeiro – 21 abril 2017; primavera: 25 abril – 18 julho 2017; verão: 19 julho - 11 outubro 2017; outono: outubro-janeiro 2018 (este último período foi alterado para 2 novembro - 23 janeiro, devido às condições adversas do mar no mês de outubro). No início de cada período retiraram-se 8 “barticles”, tanto na jangada como no Cabo, e realizou-se o procedimento de marcação com calceína, segundo o método descrito em Jacinto *et al.* (2015). Os indivíduos ficam submersos numa solução de marcação (200 mg/L) por 20-22 horas em laboratório, com arejamento contínuo, (Jacinto *et al.*, 2015), sendo depois devolvidos ao local de onde tinham sido retirados.

No fim de cada período, os “barticles” marcados são novamente recolhidos. Em laboratório separam-se os percebes do “barticle” e, para se obter os tamanhos dos organismos, mede-se o RC e o AT de cada indivíduo, com auxílio de uma lupa binocular. Para a sua análise, os percebes são imersos numa solução com lixívia a 3.5 % durante aproximadamente 2 minutos (consoante as dimensões do indivíduo), o que permite verificar a presença da marca fluorescente da calceína. Quando a marca não é bem visível ou há dúvidas na marcação deve-se colocar os percebes mais tempo na

lívria (por mais 2 minutos). De seguida, com a ajuda de uma pinça separa-se a placa *scutum* do *capitulum* e, com uma lupa de epifluorescência (Leica M165FC com luz UV e filtro GFP3, câmara fotográfica Leica DF 295 conectada a um computador), tira-se uma fotografia à placa *scutum* de cada percebe (Cruz *et al.*, 2017). Escolhe-se, aleatoriamente, uma das placas *scutum* para medição do comprimento final ( $sc\_f$ ; ver Figura 10) e do comprimento máximo inicial ( $sc\_i$ ; limite da placa delineado pela marca da calceína; ver Figura 10) à lupa (através do programa de análise de imagem Leica Application Suite v3.8;).

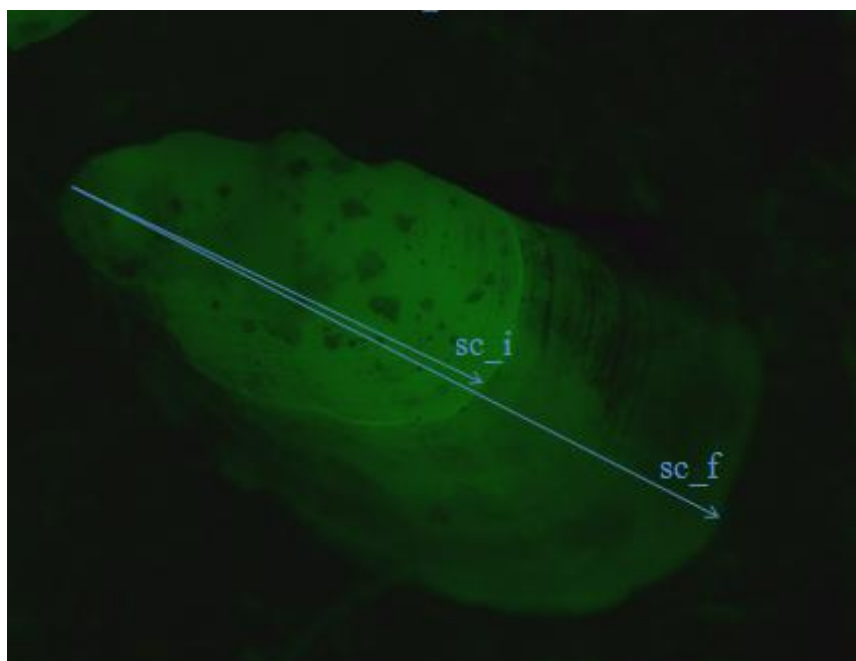


Figura 10 - Placa *scutum* esquerda, com a marca epifluorescente da calceína. As setas demonstram as variáveis medidas,  $sc\_i$  (comprimento inicial do *scutum*) e  $sc\_f$  (comprimento final do *scutum*).

Estes valores obtidos são então traduzidos em unidades RC estimadas, através do modelo linear descrito em Jacinto *et al.* (2015):  $RC = 1.66 \times sc$  ( $sc\_f$  ou  $sc\_i$ ), sendo a taxa de crescimento ( $\Delta RC$ ) obtida por intermédio da diferença entre  $RC_f$  (RC estimado final) e  $RC_i$  (RC estimado inicial), calculados com o modelo referido anteriormente.

A taxa de crescimento mensal ( $\Delta RC_{30}$ ) é obtido pela divisão do  $\Delta RC$  pelo período ( $n^\circ$  de dias) em que os percebes estão no meio de cultivo, e por fim, multiplica-se por 30. Para isto, assume-se um crescimento linear durante este período de tempo (Cruz *et al.*, 2017). Todos os dados obtidos nesta experiência foram posteriormente tratados em Excel. Analisou-se também a densidade média, ou seja, número de percebes médio por “particle” em função da estação do ano, bem como a temperatura média da água do mar, por colocação de um termómetro de registo semi-contínuo TidBit na jangada (ver

localização exata Figura 5A). Relativamente à temperatura da água do mar, no período referente ao inverno, só foi possível calcular o valor médio com dados de 1 de janeiro a 28 de fevereiro.

O processamento dos “barticles” no terreno e a marcação dos percebes foi feita por uma equipa do CIEMAR, tendo o procedimento laboratorial sido totalmente realizado no presente trabalho.

### 3.4.2. *Variação interanual do crescimento no inverno*

Para este estudo utilizaram-se “barticles” que foram plantados no Cabo de Sines em três anos consecutivos, verão de 2014, de 2015 e de 2016. Cada série temporal de “barticles” foi inicialmente recolhida do Cabo entre o fim de dezembro e início de janeiro (2014: recolhidos a 26 de dezembro de 2014; 2015: recolhidos a 16 de janeiro de 2016; 2016: recolhidos a 16 de janeiro de 2017; Figura 11), e transportados para o laboratório do CIEMAR. No laboratório iniciou-se o protocolo de marcação por calceína desenvolvido por Jacinto *et al.* (2015) e referido na experiência anterior.

Ao fim das 20-22 horas necessárias para a absorção da solução de marcação química pelos indivíduos submergidos, os “barticles” foram então plantados no meio de cultivo destinado, jangada ou Cabo de Sines, no mesmo dia ou no dia imediatamente a seguir.

A amostragem ocorreu entre finais de março e abril (2014: a 19 de março de 2015; 2015: a 22 de abril de 2016; 2016: a 21 de abril de 2017; Figura 11), correspondendo a um período de crescimento de aproximadamente 3 meses e maioritariamente de inverno. O processamento dos “barticles” no terreno e a marcação dos percebes foi feita por uma equipa do CIEMAR, tendo o procedimento laboratorial sido maioritariamente realizado no presente trabalho.

Os “barticles” foram guardados em sacos devidamente identificados e preservados em arca congeladoras até ao momento do processamento. O processo de manipulação dos percebes, para a obtenção dos dados de RC estimado e  $\Delta RC_{30}$ , foi exactamente o mesmo descrito na experiência da variação do crescimento sazonal (ver secção 3.4.1), com análise de cerca de 40 percebes por data e habitat, escolhidos aleatoriamente entre os percebes marcados.

Os dados obtidos foram posteriormente transferidos para Excel e transformados em gráficos que traduzem a variação do  $\Delta RC_{30}$  e o  $RC_i$  (estimado) em relação ao ano de crescimento. Analisou-se também a densidade média, ou seja, o número de percebes

médio por “barticle” e a temperatura média da água do mar, por colocação de um termómetro de registo semi-contínuo TidBit no Cabo de Sines e no Terminal Petrolheiro do Porto de Sines (ver localização exata dos termómetros na Figura 5A). Relativamente à temperatura da água do mar, só foi possível utilizar os valores compreendidos entre dia 1 de janeiro e 28 de fevereiro, para calcular os valores médios de temperatura no inverno de cada ano.

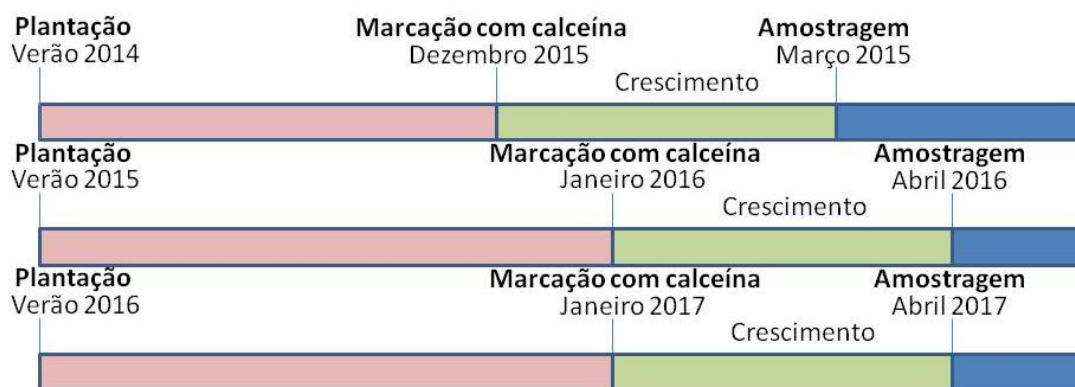


Figura 11 - Diagrama temporal da experiência: plantação dos “barticles” no verão 2014, 2015 e 2016; A recolha, marcação com calceína e colocação no ambiente de cultivo ocorreu em dezembro ou janeiro, conforme o ano de plantação. A amostragem foi em março ou abril, conforme o ano de plantação.

### 3.5. Análise estatística

As análises foram efetuadas através de vários programas estatísticos, conforme a adequação com os dados: PRIMER 7 (Clarke & Gorley, 2015), SPSS ou GMAV5 for Windows (Institute of Marine Ecology, University of Sydney).

No PRIMER 7, utilizou-se os testes de PERMANOVA (análise de variância multivariada permutacional; Anderson, 2001) em que executou-se, inicialmente, o teste PERMDISP (homogeneidade multivariada de dispersão; Anderson, 2006), com a similaridade da distância Euclidiana, e, caso não se verificasse a homogeneidade das dispersões, os dados eram sujeitos a transformações (raiz quadrada). Os testes PERMANOVA foram realizados com permutações dos dados sem limite, com a soma dos quadrados do Tipo III (Anderson *et al.*, 2008). Quando se observaram diferenças entre fatores foi necessário executar os testes de Pair-Wise.

No SPSS e no programa GMAV5, foram realizadas análises de variância (ANOVA), tendo sido executado inicialmente o teste Levene (SPSS) ou Cochran (GMAV5) que testa o pressuposto da homogeneidade das variâncias, tendo os dados sido transformados quando apropriado (raiz quadrada ou transformação logarítmica). As

análises de variância foram realizadas segundo Underwood (1997), tendo sido utilizados os testes de comparação múltipla de médias de Student-Newman-Keuls (SNK; Underwood, 1997) quando se verificaram diferenças entre tratamentos e o número de tratamentos era superior a dois.

### *3.5.1. Organismos incrustantes*

No estudo da variação da profundidade de afundamento (secção 3.2.1) no peso dos mexilhões e das cracas, a ANOVA foi realizada com o programa GMAV5 a um fator fixo: profundidade (com 5 níveis: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m).

No estudo da variação da estrutura dimensional de mexilhões (secção 3.2.2), calculou-se os valores da média, intervalo de confiança, desvio-padrão, máximo e mínimo do comprimento dos mexilhões no programa SPSS.

No estudo da variação do recrutamento de mexilhões e cracas em 2018 (secção 3.2.3) analisou-se, separadamente, o efeito da data no número de *Mytilus*, bivalves e cracas através de ANOVA (programa GMAV5) a um fator fixo: data (com 6 níveis: 19 Abril - 3 Maio; 3 Maio - 16 Maio; 16 Maio - 30 Maio; 30 Maio - 13 Junho; 13 Junho - 27 Junho; 27 Junho - 11 Julho; 11 Julho - 25 Julho; 25 Julho - 8 Agosto; 8 Agosto - 22 Agosto)

### *3.5.2. Tratamentos “antifouling”*

Nos tratamentos “antifouling” (secção 3.3) analisou-se, individualmente, RC, AT, RC/AT, e o número inicial e final de percebes, entre tratamentos incluindo o Cabo, em cada data de monitorização (Fevereiro, Abril, Junho e Agosto de 2018) e para cada ano de implantação (2016 e 2017) dos “barticles” no terreno, através de ANOVA a um fator fixo: tratamentos (com diferentes níveis consoante a data de monitorização), realizada no programa SPSS.

### *3.5.3. Variação da taxa de crescimento, por marcação com calceína*

Na variação sazonal (secção 3.4.1) analisou-se o efeito da estação do ano (factor fixo com 4 níveis correspondentes às 4 estações do ano analisadas) no crescimento mensal dos percebes ( $\Delta$ RC30) e na densidade por “barticle”, para o Cabo e para a jangada, separadamente, com recurso a ANOVA realizada no SPSS.

Na variação interanual do crescimento no inverno (secção 3.4.2) analisou-se o RCi e o  $\Delta$ RC30, individualmente, através de PERMANOVA, baseada na distância Euclidiana, a dois fatores fixos e ortogonais: ano (com três níveis: 2015, 2016 e 2017) e o habitat de cultivo (com dois níveis: Cabo e jangada).

## 4. Resultados

### 4.1. Organismos incrustantes

#### 4.1.1. Profundidade de afundamento

As placas F foram processadas e analisadas relativamente ao peso húmido médio das placas (Figura 12) e ao peso dos grupos de organismos mais abundantes: mexilhão (Figura 13), cracas (Figura 14) e “outros” (Figura 15), em função da profundidade (superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m). Não se analisou estatisticamente o peso das placas nem o peso dos “outros” uma vez que em estudos anteriores (Cruz *et al.*, 2016), foi considerado que são os mexilhões e as cracas que têm um efeito mais negativo sobre os percebes do sistema de cultivo.

As placas apresentam variações no peso húmido conforme a profundidade, com valores compreendidos entre  $259,5 \pm 6,51$  e  $386,0 \pm 14,80$  g, correspondendo este valor mínimo e máximo ao encontrado à superfície e a 2,5 m, respetivamente.

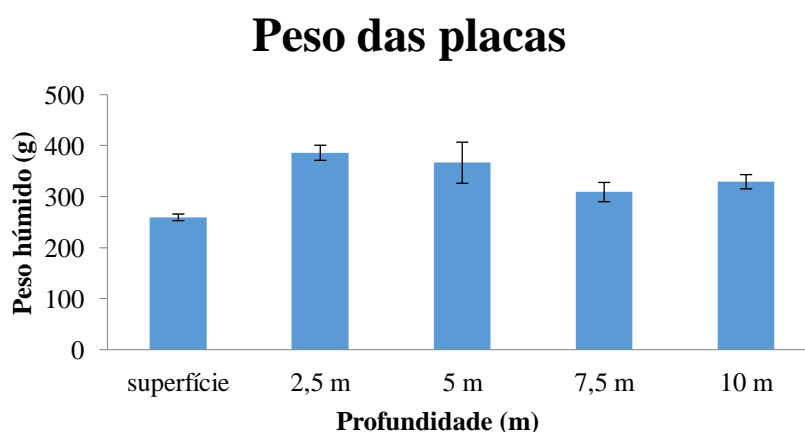


Figura 12 - Peso húmido médio (g  $\pm$  ep) das placas F por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m.

Para o grupo dos mexilhões, observou-se que o peso total variou entre  $9,0 \pm 2,38$  e  $40,5 \pm 7,53$  g, correspondendo aos valores obtidos nos 10 m e à superfície, respetivamente. Observou-se diferenças significativas no peso dos mexilhões com a profundidade

( $F_{4,15} = 5,31$ ;  $p = 0,007$ ). Com os testes SNK verificou-se o seguinte padrão: a superfície e os 5 m com um valor médio de 31,9 g, significativamente superior ao encontrado às restantes profundidades (2,5, 10 e 7,5 m) que apresentam um valor médio de 12,2 g.

## Mexilhão

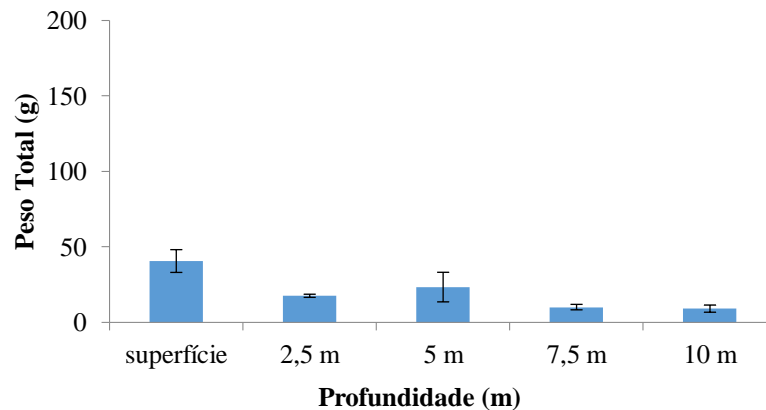


Figura 13 - Peso total médio ( $g \pm ep$ ) dos mexilhões por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m.

Observou-se, no grupo das cracas, que o peso total variou entre  $31,7 \pm 3,30$  e  $171,7 \pm 22,83$  g, sendo que estes valores são referentes às placas da superfície e dos 2,5 m, respetivamente. Observou-se diferenças significativas no peso das cracas com a profundidade ( $F_{4,15} = 12,08$ ;  $p < 0,01$ ) Verificou-se também, pelos testes SNK, que as cracas são mais abundantes nas camadas intermédias da coluna de água estudadas, nomeadamente 2,5 m, 5 m e 7,5 m, com um valor médio de 134,6 g que foi significativamente superior ao encontrado à superfície e aos 10 m que apresentaram um valor médio de 38,9 g.

## Cracas

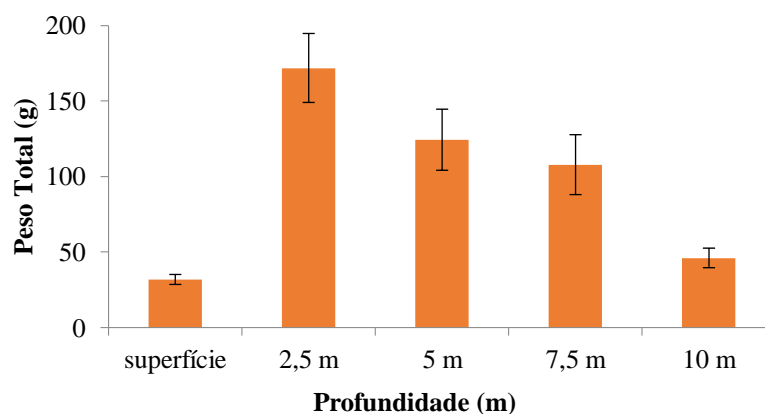


Figura 14 - Peso total médio ( $g \pm ep$ ) das cracas por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m.

Nos “outros” organismos constatou-se que o peso total variou entre  $42,5 \pm 6,17$  e  $127,5 \pm 15,67$  g, nas placas dos 2,5 m e 10 m, respetivamente. Entre a superfície e os 7,5 m, os valores do peso, para este grupo, estão compreendidos entre as 42,5 e 56,0 g, mantendo-se relativamente constante ao longo destas profundidades, observando-se apenas um pico nos 10 m, anteriormente referido.

## "Outros"

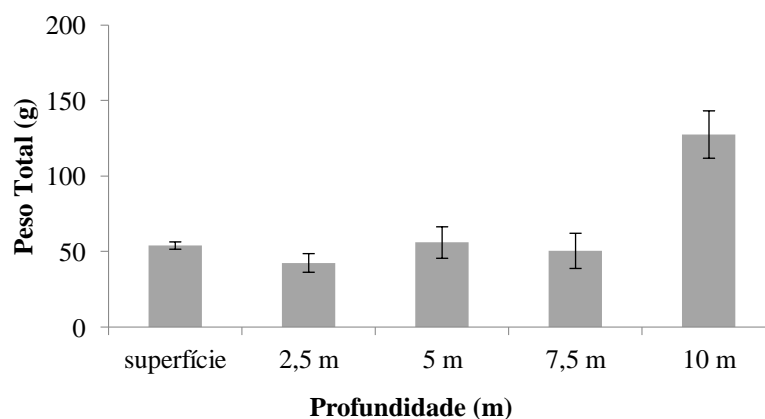


Figura 15 - Peso total médio ( $g \pm ep$ ) dos “outros” por profundidade: superfície, 2,5 m, 5 m, 7,5 m e 10 m.

### 4.1.2. Padrões temporais da estrutura dimensional de mexilhões e de recrutamento de cracas (2017)

No caso dos mexilhões o seu surgimento, nas placas acumuladas, verificou-se a partir do mês de abril. Os indivíduos foram agrupados nas seguintes classes de dimensão:  $\leq 3$ ; [3-6]; [6-9]; [9-12]; [12-15]; [15-18]; [18-21]; [21-24]; [24-27]; [27-30]; [30-33]; [33-

36]; ]36-39]; ]39-42]; ]42-45]; ]45-48]; por respectivo mês (i.e., abril, maio, junho, julho, agosto, setembro, outubro, novembro e janeiro; Figura 16). Não existem dados de dezembro, uma vez que as condições do mar não permitiram a recolha dessas placas.

É de salientar que em abril, maio e junho o número de indivíduos nas placas não chegou aos 100 mexilhões. As observações dos histogramas da figura 16 sugerem que há um pico inicial de recrutamento nos meses de abril, maio e junho, devido ao maior número de mexilhões com tamanhos inferiores a 6 mm, e provavelmente um pico secundário de outubro a janeiro, pois voltam a aparecer mais mexilhões com dimensões inferiores a 6 mm. Em julho, agosto e setembro não se observaram indivíduos com tamanho inferior a 3 mm, o que poderá indicar que não há recrutamento de mexilhões durante o verão. A observação destes gráficos e da tabela II também sugere que o mexilhão tem um crescimento muito rápido, podendo atingir num ano o comprimento máximo de 47.71 mm.

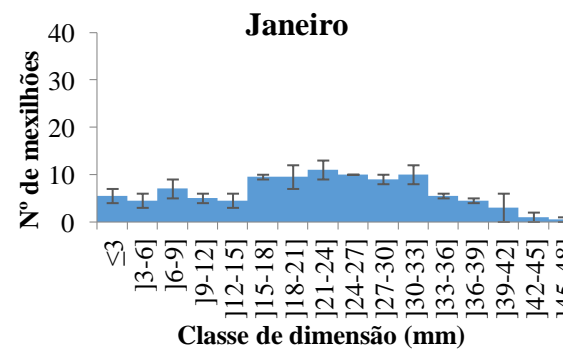
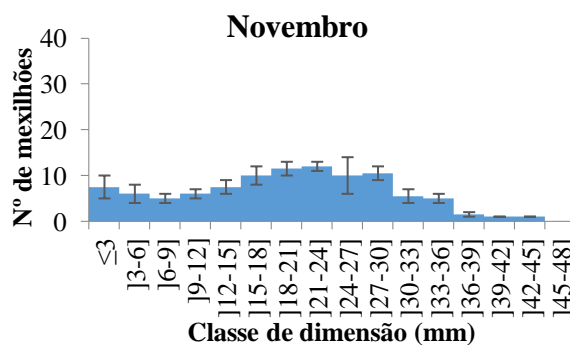
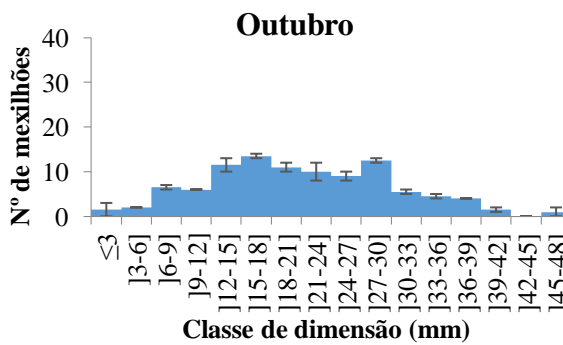
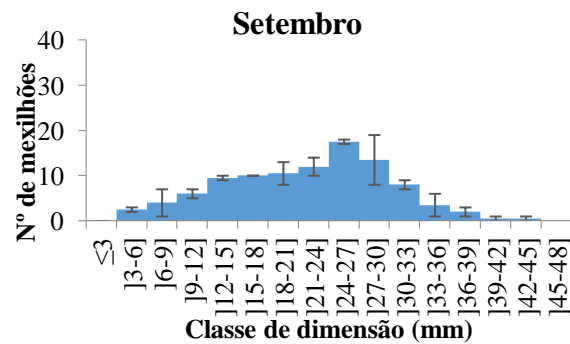
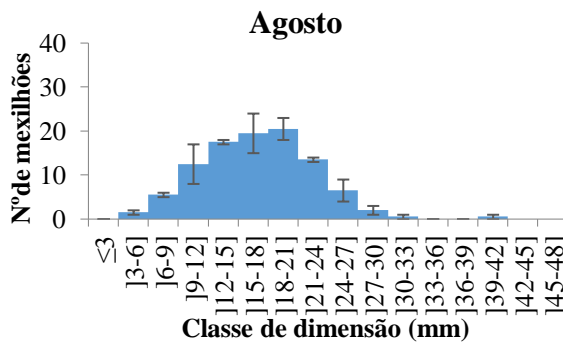
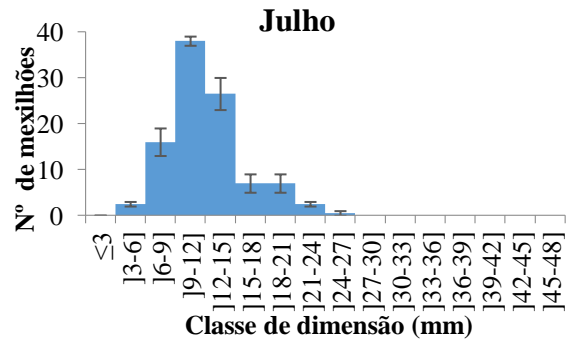
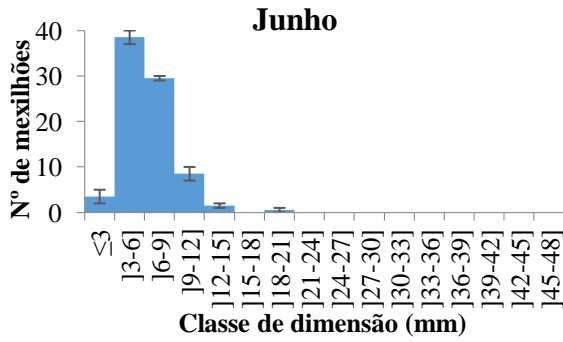
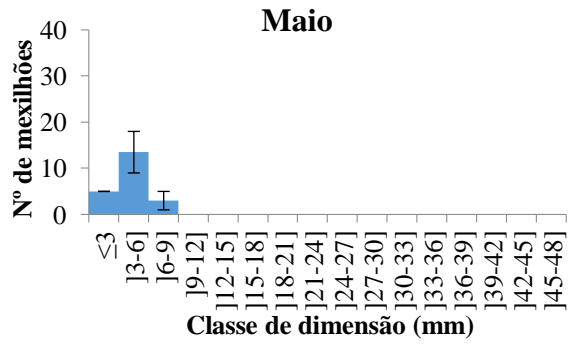
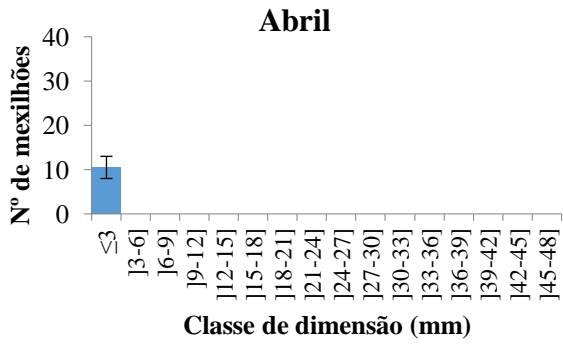


Figura 16 - Número de mexilhões médio ( $\pm$  ep) organizados por classe de dimensão (mm) em função do mês.

O tamanho médio variou entre  $1,3 \pm 0,31$  e  $21,9 \pm 8,00$  mm, em abril e setembro, respectivamente. O tamanho dos mexilhões veio sempre a aumentar até setembro, porém estagnou nos meses imediatamente a seguir, observando-se um decréscimo no valor médio comparativamente a setembro.

O valor mínimo foi observado em abril com 0,91 mm e o máximo em janeiro com 47,71 mm. Observou-se através da tabela II que o valor mínimo aumentou até agosto, inclusive, e que a partir de setembro começou a decrescer. O valor máximo veio sempre a aumentar, com exceção do mês de novembro. Para além disso observou-se que nos primeiros 5 meses (abril - agosto, inclusive) o valor máximo aumentou 39,28 mm e que nos últimos 5 meses (setembro - janeiro, inclusive) aumentou apenas 5,24 mm.

Tabela II - Estatística descritiva dos valores do comprimento do mexilhão nas placas acumuladas entre abril de 2017 e janeiro de 2018.

| Mês             | Média | Int. Confiança | Desvio-padrão | Mínimo-Máximo |
|-----------------|-------|----------------|---------------|---------------|
| <b>Abril</b>    | 1,33  | 1,19 – 1,47    | 0,31          | 0,91 – 2,13   |
| <b>Mai</b>      | 4,30  | 3,82 – 4,77    | 1,56          | 1,62 – 8,39   |
| <b>Junho</b>    | 6,43  | 6,04 – 6,81    | 2,47          | 1,80 – 18,77  |
| <b>Julho</b>    | 12,05 | 11,51 – 12,58  | 3,84          | 3,59 – 25,63  |
| <b>Agosto</b>   | 16,95 | 16,17 – 17,73  | 5,58          | 3,78 – 41,41  |
| <b>Setembro</b> | 21,95 | 20,84 – 23,07  | 8,00          | 3,42 – 42,47  |
| <b>Outubro</b>  | 21,09 | 19,82 – 22,36  | 9,14          | 1,47 – 46,30  |
| <b>Novembro</b> | 19,47 | 18,08 – 20,86  | 9,96          | 1,42 – 43,77  |
| <b>Janeiro</b>  | 21,55 | 20,06 – 23,04  | 10,68         | 1,40- 47,71   |

O padrão temporal de recrutamento das cracas foi obtido pela contagem dos indivíduos presentes nas placas mensais (i.e., fevereiro, março, abril, maio, junho, julho, agosto, setembro, outubro, novembro e janeiro; Figura 17). Não existem dados de dezembro, uma vez que, as condições do mar não permitiram a recolha dessas placas. O elevado erro-padrão do mês de setembro e outubro deveu-se à colonização por algas em uma das réplicas, o que afectou a fixação das cracas, causando uma discrepância elevada no número de indivíduos entre placas.

O número de cracas variou entre  $1,5 \pm 0,71$  e  $915,5 \pm 467,40$  indivíduos, no mês de novembro e outubro, respectivamente. É possível observar dois picos de recrutamento devido à elevada fixação de cracas. Um primeiro pico entre março - abril com um valor máximo de  $734,0 \pm 8,49$  indivíduos registado em abril, e um segundo pico entre setembro - outubro, com valor máximo registado em outubro, anteriormente referido. Excluindo os meses referentes a esses dois picos, o número de cracas foi sempre muito reduzido, nomeadamente em fevereiro, novembro e janeiro em que este número foi  $\leq 2$  indivíduos.

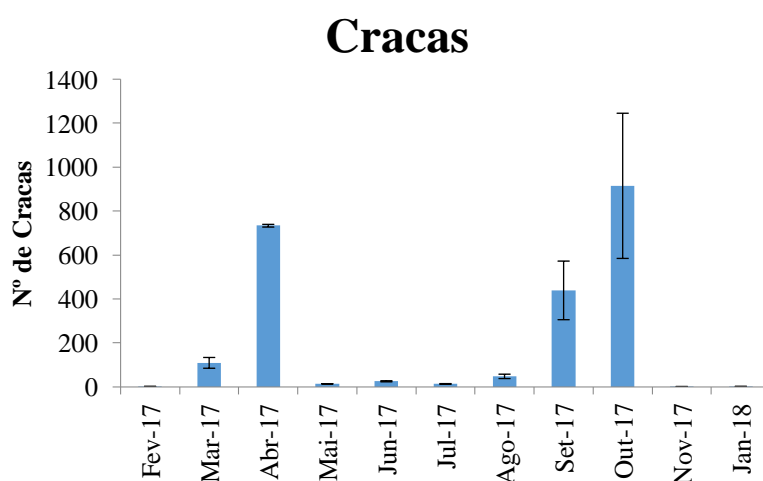


Figura 17 - Número de cracas médio ( $\pm$  ep) por placa mensal (10 x 13 cm), em função do mês de amostragem.

#### 4.1.3. Padrões temporais de recrutamento de mexilhões e de cracas em 2018

A variação quinzenal do recrutamento de *Mytilus spp.* na categoria  $>500 \mu\text{m}$  está representada na Figura 18, de bivalves na categoria  $250-500 \mu\text{m}$  na Figura 19 e de cracas na Figura 20.

O número de *Mytilus spp.* variou entre  $0,5 \pm 0,70$  e  $60,5 \pm 6,37$  indivíduos, sendo esta variação referente ao período de 3 maio – 16 maio e a 27 junho – 11 de julho, respectivamente. Em geral, a densidade de *Mytilus spp.* foi muito reduzida até 30 de maio, tendo sido mais elevada entre meados de junho e o final de julho. Por este motivo a análise estatística foi realizada sem as três primeiras datas, por apresentarem um número de indivíduos  $< 5$ . Observou-se diferenças significativas no número de indivíduos com o período quinzenal ( $F_{8,9} = 4,69$ ;  $p = 0,043$ ), contudo através dos testes SNK não se verificou a formação de um padrão evidente, deste modo só é possível

afirmar que o recrutamento no período de 8 agosto – 22 agosto foi significativamente menor do que no período de 27 junho – 11 julho.

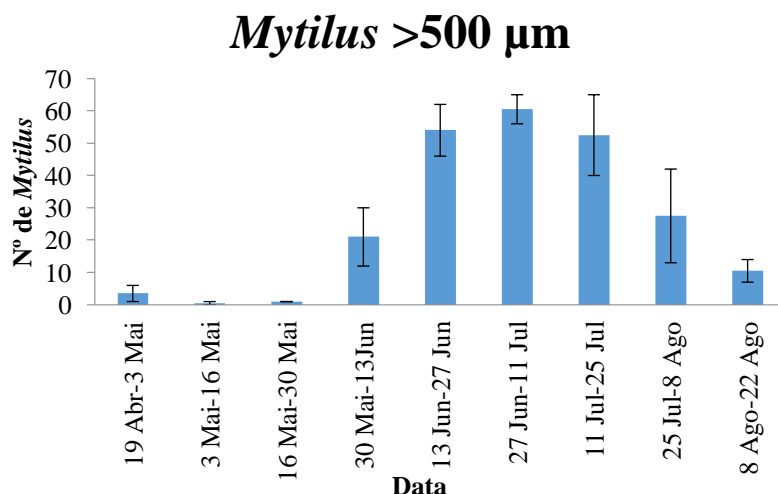


Figura 18 - Número de *Mytilus* spp. médio ( $\pm$  ep) na classe >500  $\mu\text{m}$ , por “tuffy” e período de imersão.

O número de bivalves variou entre  $32,0 \pm 2,83$  e  $1874,3 \pm 743,47$  indivíduos, sendo esta variação referente ao período de 19 abril – 3 maio e 13 junho – 27 junho. A maior densidade de bivalves foi observada na segunda quinzena de maio e na segunda quinzena de junho, sendo que há um novo período de maior densidade correspondente à segunda e terceira semana de agosto. Observou-se diferenças no número de bivalves com o período quinzenal ( $F_{8,9} = 7,89$ ;  $p = 0,003$ ), contudo através dos testes SNK não se verificou a formação de um padrão evidente, deste modo só é possível afirmar que o recrutamento no período de 19 abril – 3 maio foi significativamente menor do que período de 13 junho – 27 junho.

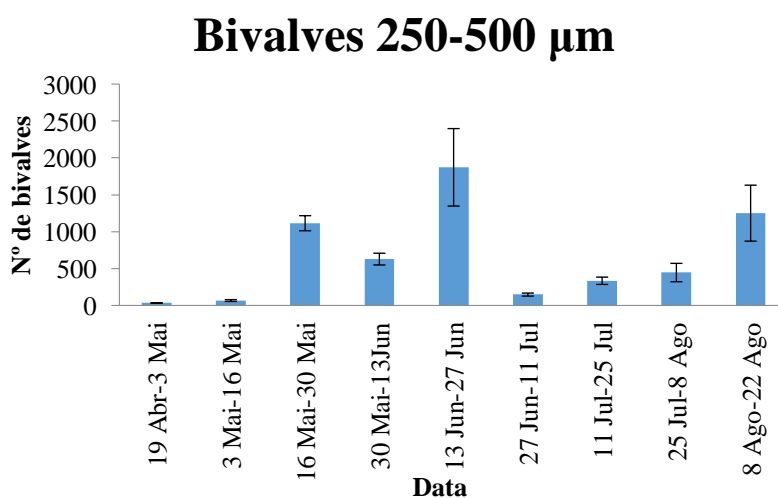


Figura 19 - Número de bivalves médio ( $\pm$  ep) na classe 250-500  $\mu\text{m}$ , por “tuffy” e período de imersão.

O recrutamento de cracas foi muito reduzido até dia 30 de maio (< 5), por esse motivo a análise estatística foi realizada sem as três primeiras datas. O número de cracas variou entre 0 e  $107,5 \pm 10,61$  indivíduos, esta variação é referente ao período de 19 abril – 3 maio e a 13 junho – 27 junho, respetivamente. Apesar de se ter observado um maior recrutamento em junho e julho, não há diferenças significativas entre períodos ( $F_{5,6}=2,51$ ;  $p=0,146$ ).

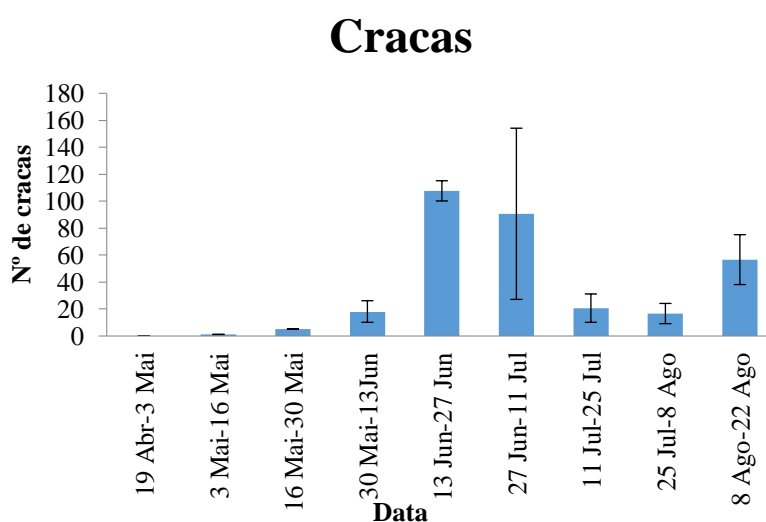


Figura 20 - Número de cracas médio ( $\pm$  ep), por placa mensal (10 x 13 cm) e período de imersão.

#### 4.2. Tratamentos “antifouling”

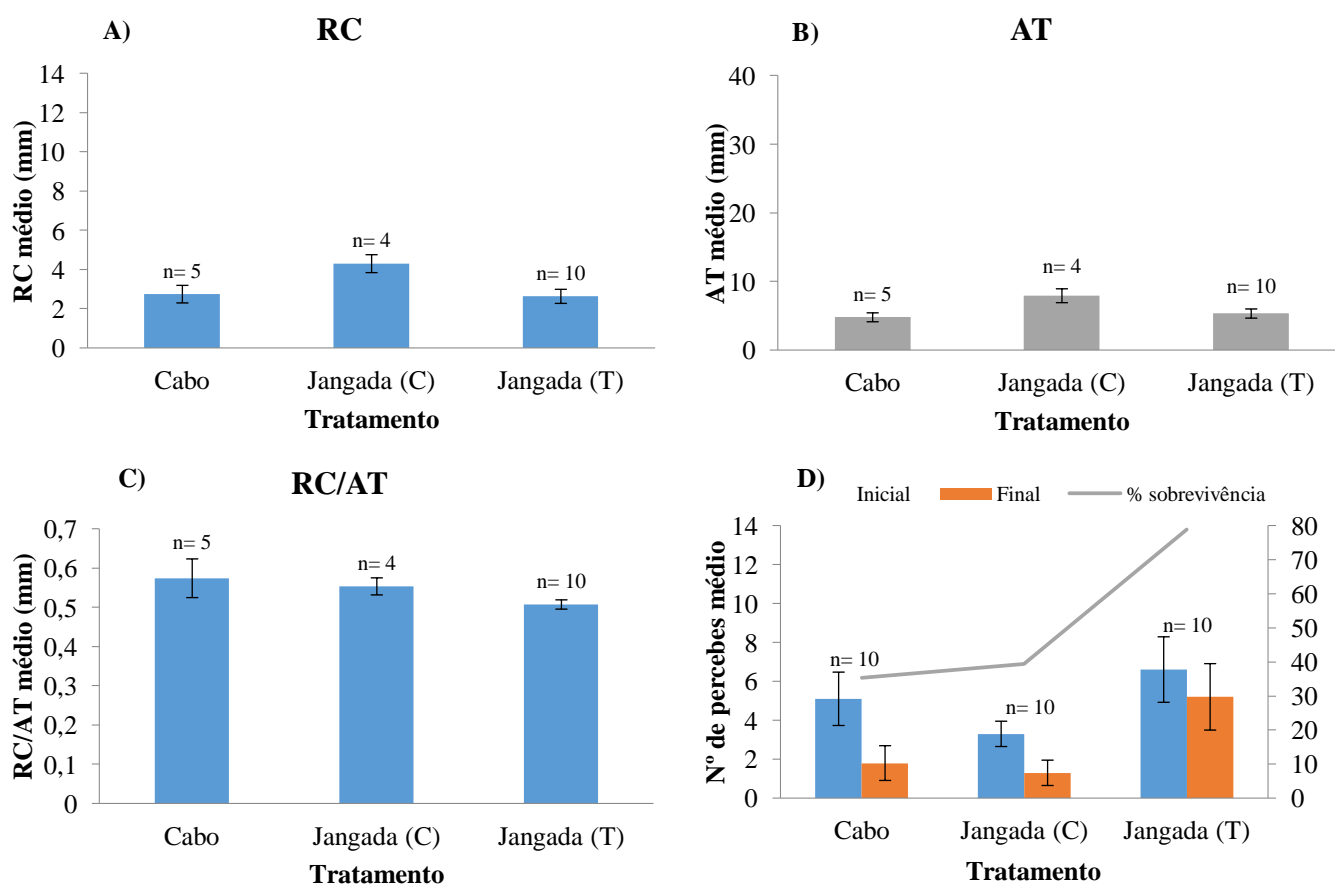
##### 1ª Monitorização (fevereiro de 2018)

Os valores médios da média de RC, AT, RC/AT e do número inicial e final de percebes, bem como o valor médio de sobrevivência nos tratamentos monitorizados em fevereiro de 2017 estão representados na figura 21.

O RC variou entre  $2,7 \pm 0,45$  e  $4,3 \pm 0,46$  mm, valores referentes ao Cabo e à jangada C, respetivamente, e observou-se diferenças significativas entre tratamentos ( $F_{2,16}=3,72$ ;  $p=0,047$ ). Verificou-se, pelos testes SNK, que o RC na jangada C é significativamente maior que o conjunto Cabo e jangada T, com um valor médio de 4,3 mm e 2,7 mm, respetivamente.

Não se observou diferenças significativas no AT ( $F_{2,16}=3,36$ ;  $p=0,060$ ), RC/AT ( $F_{2,16}=2,00$ ;  $p=0,168$ ) entre tratamentos, obtendo-se um valor médio de 6,0 mm de AT e 0,6 mm de RC/AT.

Também não se observou diferenças no número inicial ( $F_{2,27}= 1,60$ ;  $p= 0,221$ ) e número final ( $F_{2,27}= 3,28$ ;  $p= 0,053$ ) de percebes entre tratamentos, obtendo-se um valor médio de 5,0 e 2,8 indivíduos, respetivamente, e uma sobrevivência média de 51% nos vários



tratamentos.

Figura 21 - Monitorização de fevereiro de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média  $\pm$  ep; mm) (A); AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (B); RC/AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média  $\pm$  ep) e taxa de sobrevivência média (D). C=Controlo/sem tinta; T=com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento.

## 2ª Monitorização (abril de 2018)

Na monitorização de abril foram retirados os “barticles” que foram implantados originalmente no Cabo de Sines em 2017 (Figura 22) e em 2016 (Figura 23). Ambos “barticles” foram transferidos para o sistema de cultivo em janeiro de 2018.

Não se observou diferenças significativas no RC ( $F_{2,16}= 0,40$ ;  $p= 0,679$ ) e AT ( $F_{2,16}= 0,53$ ;  $p= 0,599$ ) entre tratamentos, obtendo-se um valor médio de 4,0 mm e 8,5 mm, respetivamente.

O RC/AT variou entre  $0,5 \pm 0,04$  e  $0,6 \pm 0,02$  mm, valores referentes à jangada T e ao Cabo, respetivamente, e observou-se diferenças significativas entre tratamentos ( $F_{2,16}= 6,97$ ;  $p= 0,007$ ). Verificou-se, pelos testes SNK, que o RC/AT no Cabo é significativamente maior que o conjunto jangada C e jangada T com um valor médio de 0,6 mm e 0,5 mm, respetivamente.

Não se observou diferenças significativas no número inicial ( $F_{2,27}= 2,99$ ;  $p= 0,067$ ) e final ( $F_{2,27}= 1,69$ ;  $p= 0,203$ ) de percebes entre tratamentos, obtendo-se um valor médio de 5,1 e 2,6 indivíduos, respetivamente, e uma sobrevivência média de 51% nos vários tratamentos.

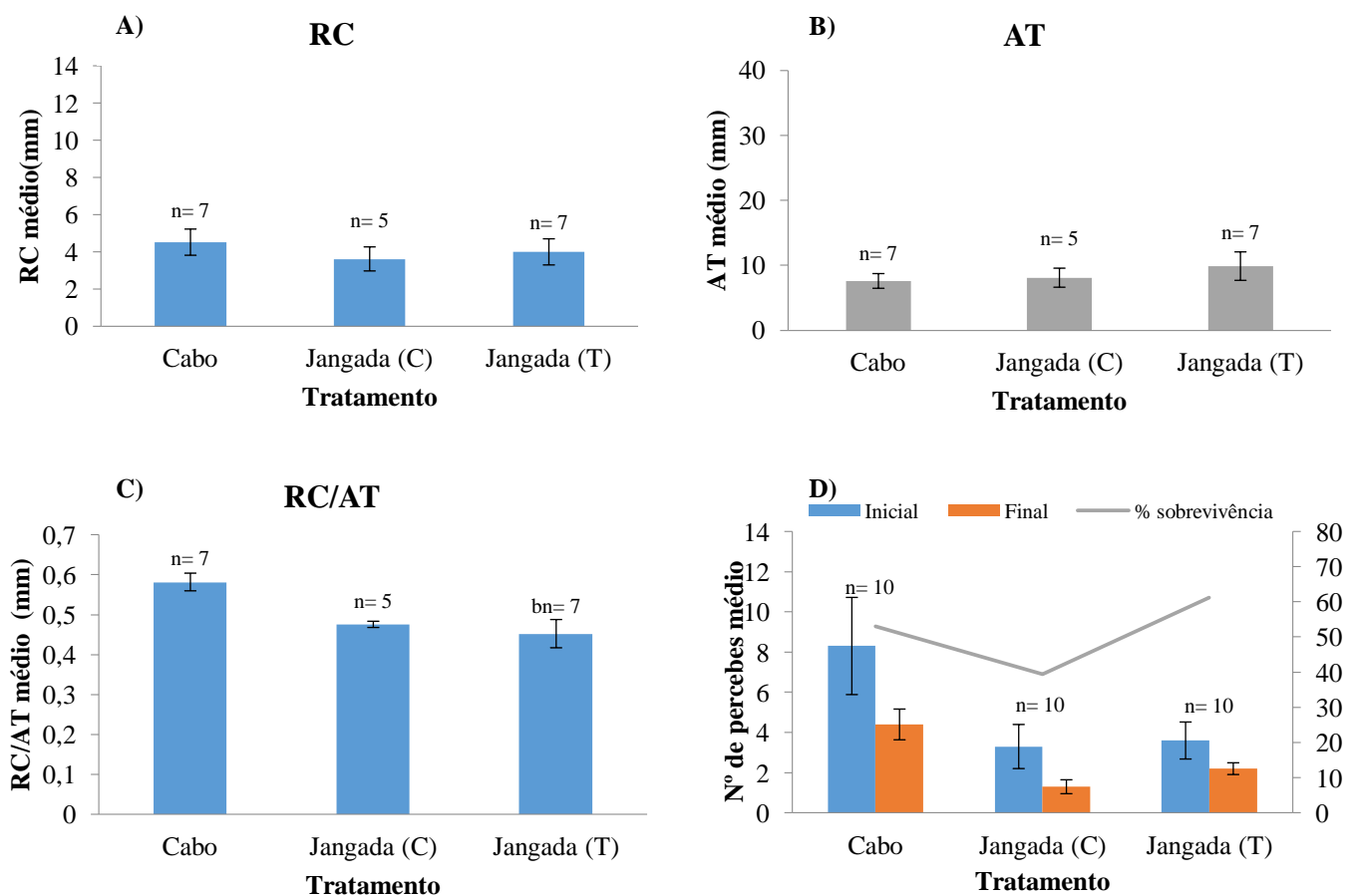


Figura 22 - Monitorização de abril de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média  $\pm$  ep; mm) (A); AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (B); RC/AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média  $\pm$  ep; mm) e taxa de sobrevivência média (D); C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento”.

O RC variou entre  $3,1 \pm 0,47$  e  $6,3 \pm 0,83$  mm, valores referentes à jangada T e ao Cabo, respetivamente, e observou-se diferenças significativas entre tratamentos ( $F_{2,6}= 6,98$ ;  $p= 0,027$ ). Verificou-se, pelos testes SNK, que o RC no Cabo é significativamente

maior que o conjunto jangada C e na jangada T, com um valor médio de 6,3 mm e 3,1 mm, respetivamente.

O AT variou entre  $6,1 \pm 1,56$  e  $12,2 \pm 1,00$  mm, valores referentes à jangada C e ao Cabo, respetivamente, e observou-se diferenças significativas entre tratamentos ( $F_{2,6} = 7,87$ ;  $p = 0,021$ ). Verificou-se, pelos testes SNK, que o AT no Cabo é significativamente maior que o conjunto jangada C e na jangada T, com um valor médio de 12,2 mm e 6,4 mm, respetivamente.

Não se observou diferenças significativas entre tratamentos para o RC/AT ( $F_{2,6} = 2,99$ ;  $p = 0,126$ ), obtendo-se um valor médio de 0,5 mm.

Também não se observou diferenças significativas do número inicial ( $F_{1,4} = 0,01$ ;  $p = 0,944$ ) e final ( $F_{2,7} = 0,40$ ;  $p = 0,961$ ) de percebes entre tratamentos, obtendo-se um valor médio de 20,3 e 14,8 indivíduos, respetivamente, e uma sobrevivência média de 89% nos vários tratamentos.

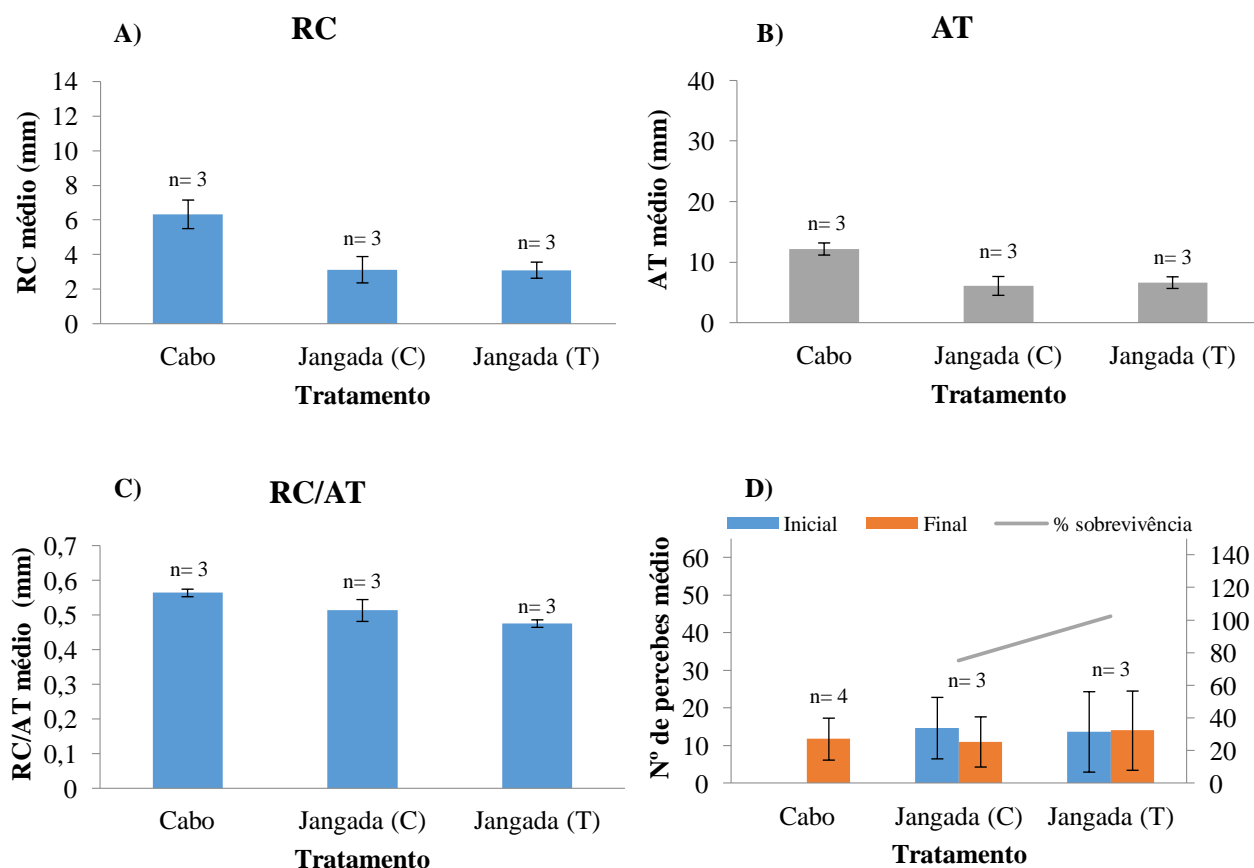


Figura 23 - Monitorização de abril de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2016, com variação entre tratamentos de: RC médio (média  $\pm$  ep; mm) (A); AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (B); RC/AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média  $\pm$  ep) e taxa de sobrevivência média (D). C=Controlo/sem tinta; T=com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento.

### 3ª Monitorização (junho de 2018)

Em junho, para além dos tratamentos jangada tinta e jangada controlo monitorizados nas anteriores datas, também foram comparados os tratamentos limpeza manual, jato de água e o combinado de jato de água+limpeza manual em placas com aplicação da tinta antivegetativa (T) e em placas controlo (C) relativamente às variáveis RC, AT, RC/AT, número inicial e final de percebes, e sobrevivência, dos percebes de “barticles” implantados no terreno em 2017 (Figura 24) e em 2016 (Figura 25).

Não se observou diferenças significativas no RC ( $F_{8,54} = 0,95$ ;  $p = 0,487$ ) e AT ( $F_{8,54} = 0,84$ ;  $p = 0,575$ ) entre tratamentos, obtendo-se um valor médio de 6,2 mm e 12,6 mm, respetivamente.

O RC/AT variou entre  $0,4 \pm 0,02$  e  $0,6 \pm 0,03$  mm, valores referentes à jangada T e ao Cabo, respetivamente, e observou-se diferenças significativas entre tratamentos ( $F_{8,54}=4,78$ ;  $p < 0,001$ ). Contudo, não se observou a formação de um padrão evidente através dos testes SNK, deste modo só é possível afirmar que o RC/AT no Cabo é significativamente maior que na jangada T.

Não se observou diferenças significativas no número inicial ( $F_{8,81}= 1,98$ ;  $p= 0,060$ ) e final ( $F_{8,81}= 1,53$ ;  $p= 0,160$ ) de percebes entre tratamentos, obtendo-se um valor médio de 5,8 e 2,8 indivíduos, respetivamente, e uma sobrevivência média de 46% nos vários tratamentos.

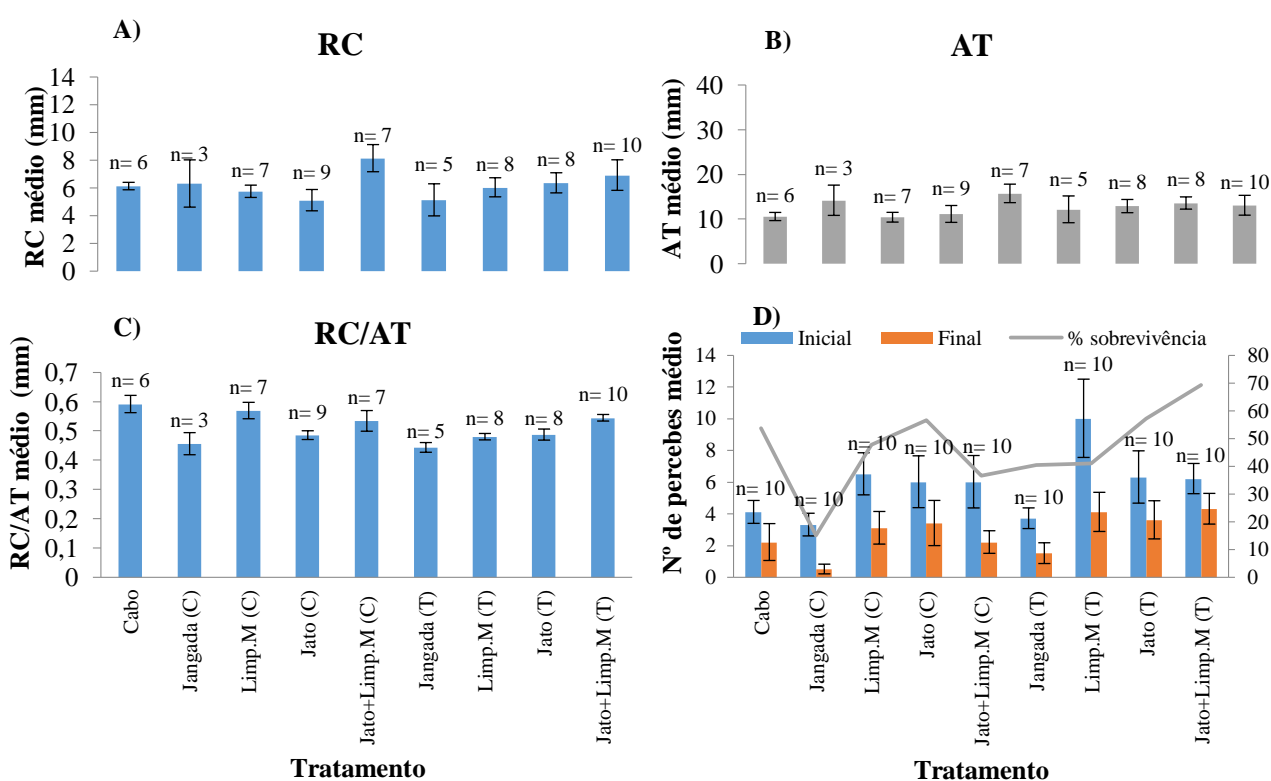


Figura 24 - Monitorização de junho de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média  $\pm$  ep; mm) (A); AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (B); RC/AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (C); Número inicial e final médio (média  $\pm$  ep; mm) e taxa de sobrevivência média (D); O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento.

Não existem diferenças significativas no RC ( $F_{7,12}= 1,01$ ;  $p= 0,471$ ), AT ( $F_{7,12}= 1,21$ ;  $p= 0,369$ ) e RC/AT ( $F_{7,12}= 0,70$ ;  $p= 0,676$ ), entre tratamentos. Obtendo-se um valor médio de 4,7 mm de RC, 9,0 mm de AT e 0,5 mm de RC/AT.

O mesmo foi observado para o número inicial ( $F_{7,12}= 0,62$ ;  $p= 0,735$ ) e final ( $F_{7,12}= 0,73$ ;  $p= 0,654$ ) de percebes entre tratamento, obtendo-se um valor médio de 20,3 e 14,8

indivíduos, respetivamente, com uma sobrevivência média de 73% nos vários tratamentos.

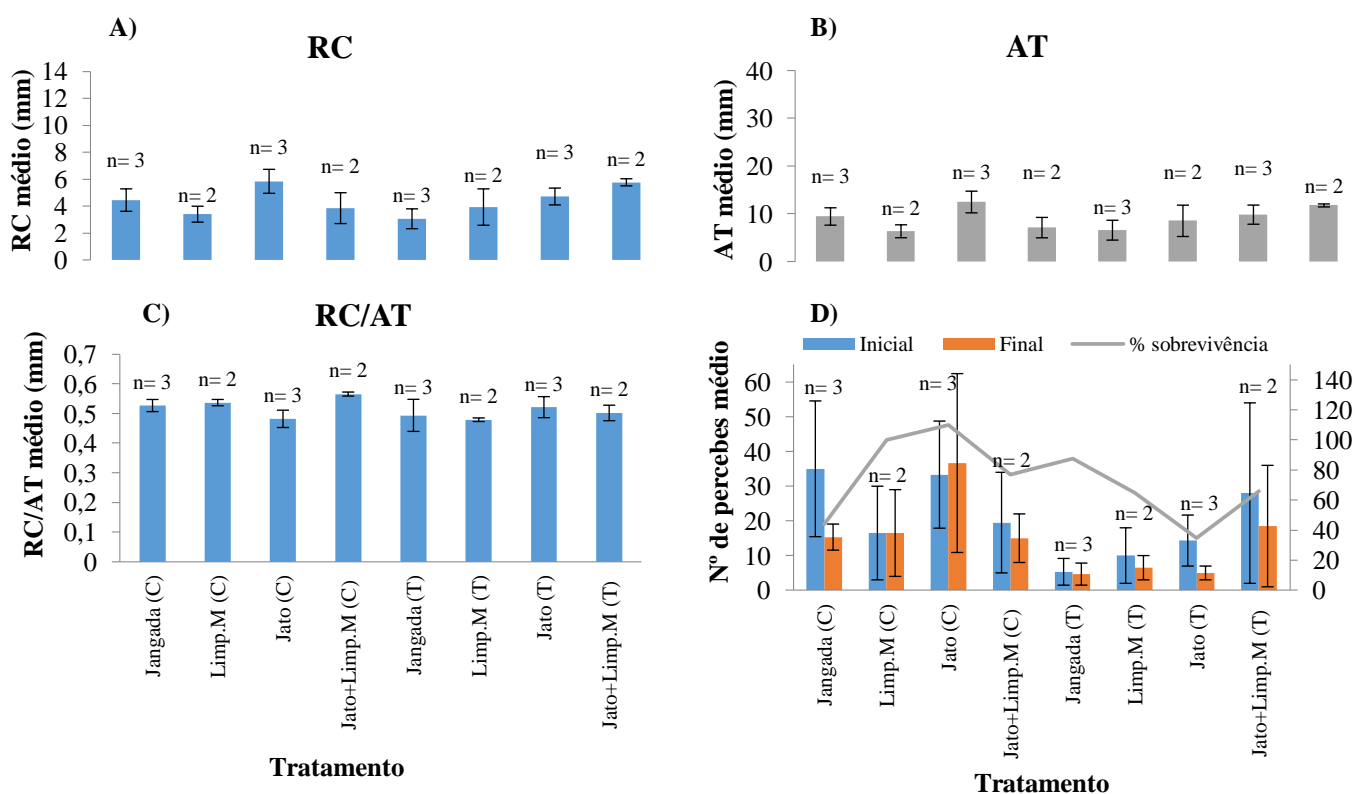


Figura 25 - Monitorização de junho de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2016, com variação entre tratamentos de: RC médio (média  $\pm$  ep; mm) (A); AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (B); RC/AT médio (média  $\pm$  ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média  $\pm$  ep; mm) (D). C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento.

#### 4ª Monitorização (agosto de 2018)

Em agosto de 2018, foram monitorizados os mesmos tratamentos que em junho, com a adição do tratamento de afundamento que foi iniciado em maio de 2018 em placas controlo (C) e em placas com aplicação de tinta antivegetativa (T), sendo os dados relativos a RC, AT, RC/AT, número inicial e final de percebes, e sobrevivência apresentados na figura 26 para os “barticles implantados no terreno em 2017, e na figura 27 para os “barticles” implantados em 2016.

A análise estatística do RC, AT e RC/AT foi executada sem os dados da jangada C, por haver problemas na análise devido ao fato deste tratamento só ter n=1 “barticles” com percebes. O RC variou entre  $3,8 \pm 0,84$  e  $12,1 \pm 0,83$  mm, valores referentes ao Cabo e ao jato de água+limpeza manual (C), respetivamente, e observou-se diferenças

significativas entre tratamentos ( $F_{9,30} = 7,06$ ;  $p < 0,001$ ). Contudo, não se observou a formação de um padrão evidente através dos testes SNK, deste modo só é possível afirmar que o RC no tratamento jato de água+limpeza manual (C) é significativamente maior que no Cabo.

O AT variou entre  $5,9 \pm 1,22$  e  $31,2 \pm 4,82$  mm, valores referentes ao Cabo e ao jato de água (C), respetivamente, e observou-se diferenças significativas entre tratamentos ( $F_{9,30} = 10,13$ ;  $p < 0,001$ ). Contudo, não se observou a formação de um padrão evidente através dos teste SNK, deste modo só é possível afirmar que o AT no tratamento jato de água (C) é significativamente maior que no Cabo.

O RC/AT variou entre  $0,3 \pm 0,05$  e  $0,6 \pm 0,02$  mm, valores referentes ao tratamento jato de água (C) e ao Cabo, respetivamente, e observou-se diferenças significativas entre tratamentos ( $F_{9,30} = 9,20$ ;  $p < 0,001$ ). Observou-se, pelos testes SNK, a formação de dois grupos, 1 grupo: constituído pelo jato de água (C), com um valor médio de 0,3mm, que é significativamente menor que o 2 grupo: constituído pelos outros tratamentos e Cabo, com um valor médio de 0,5 mm.

Não se observou diferenças no número inicial de percebes entre tratamentos ( $F_{10,79} = 1,30$ ;  $p = 0,247$ ), por outro lado, constatou-se diferenças no número final ( $F_{10,79} = 9,50$ ;  $p < 0,001$ ), com transformação dos dados à raiz quadrada. Através dos testes SNK, observou-se a formação de dois grupos, 1 grupo: constituído pelo jato de água+limpeza manual (C) e o Cabo, com um valor médio de 4,5 indivíduos e 48 % de sobrevivência; 2 grupo: constituído pelos outros tratamentos, com um valor médio de 0,7 indivíduos e 15 % de sobrevivência.

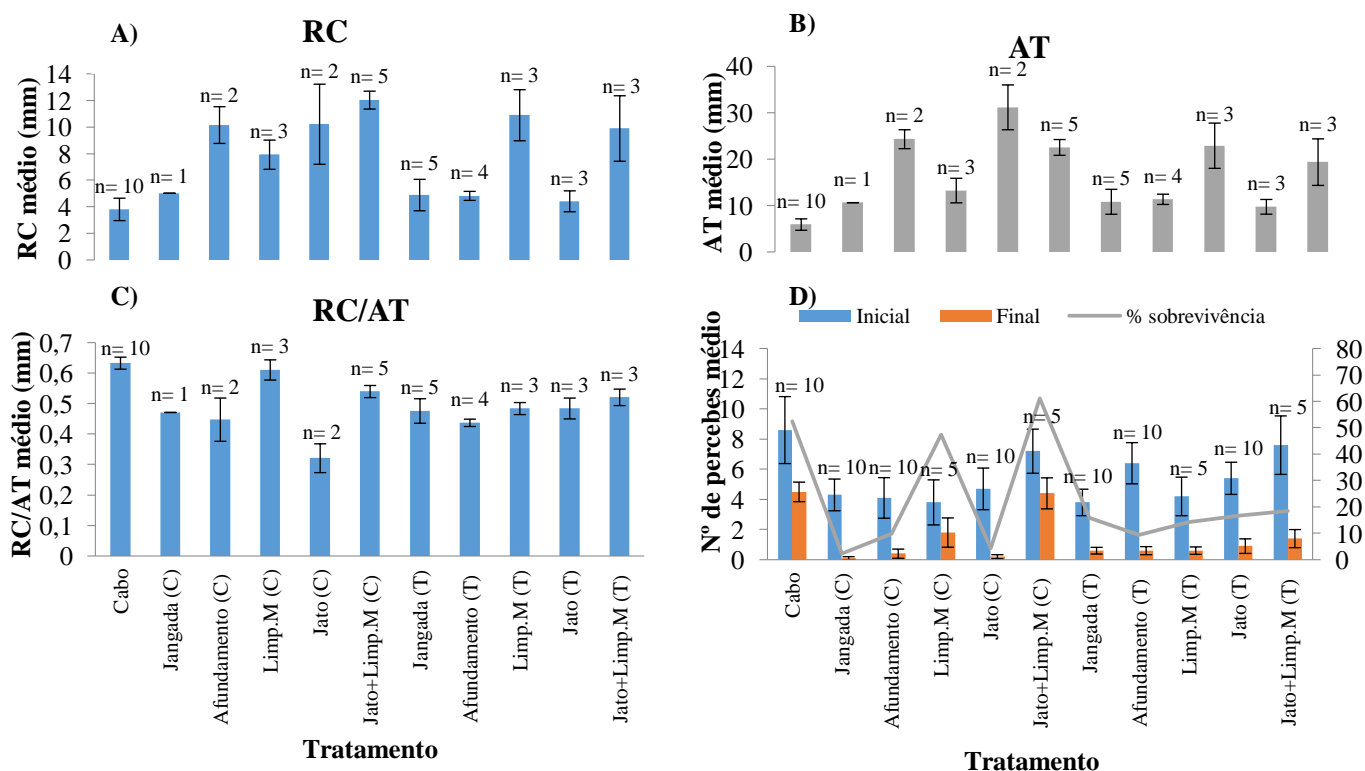


Figura 26 - Monitorização de agosto de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2017, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep; mm) (D). C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho de amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento.

A análise estatística do RC, AT e RC/AT foi executada sem os dados da jangada (C), limpeza manual (C), jangada (T) e jato de água (T), por haver problemas na análise devido ao fato destes tratamentos só terem n=1 “barticles” com percebes. Não se observou diferenças significativas no RC ( $F_{4,6} = 1,89$ ;  $p = 0,233$ ), AT ( $F_{4,6} = 2,44$ ;  $p = 0,158$ ) e RC/AT ( $F_{4,6} = 0,15$ ;  $p = 0,958$ ), constatando-se um valor médio de 8,6 mm de RC, 18,6 mm de AT, 0,5mm de RC/AT. Não se observou diferenças significativas no número inicial ( $F_{10,11} = 1,89$ ;  $p = 0,157$ ), e final ( $F_{10,11} = 2,31$ ,  $p = 0,093$ ), de percebes entre tratamentos, obtendo-se um valor médio 14,2 e 2,52 indivíduos, e uma sobrevivência média de 27% nos vários tratamentos.

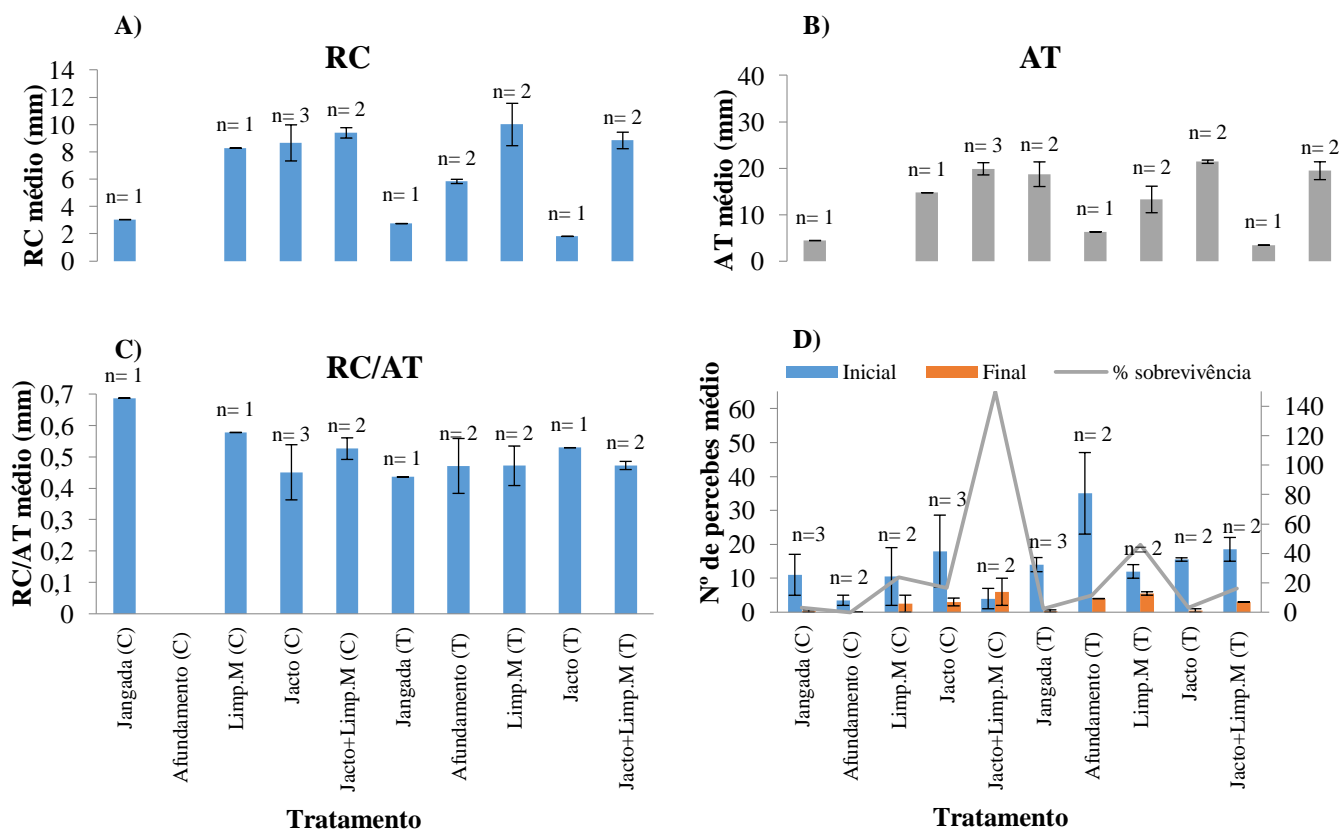


Figura 27 - Monitorização de agosto de 2018 dos “barticles” implantados no terreno no verão de 2016, com variação entre tratamentos de: RC médio (média ± ep; mm) (A); AT médio (média ± ep; mm) (B); RC/AT médio (média ± ep; mm) (C); Número inicial e final de percebes (média ± ep; mm) (D); C= Controlo/sem tinta; T= com aplicação de tinta antivegetativa. O tamanho da amostragem refere-se ao número de “barticles” amostrados em cada tratamento.

### 4.3. Variação da taxa de crescimento, por marcação com calceína

#### 4.3.1. Variação sazonal do crescimento

O tamanho inicial estimado (RCi estimado; Figura 28) e o crescimento médio em 30 dias ( $\Delta$ RC30; Figura 29) foram analisados em função da estação do ano (inverno, primavera, verão e outono) em dois habitats de cultivo distintos, Cabo e jangada. A análise gráfica e estatística foi realizada em separado para cada habitat, devido às diferenças no tamanho de amostra.

Não se realizou análise estatística ao RCi, uma vez que o interesse é averiguar a variação do crescimento dos percebes no sistema de cultivo (jangada) entre as várias estações do ano. Tendo em conta que a experiência decorreu ao longo de um ano e, sabendo que provavelmente não ocorre recrutamento neste habitat (Cruz *et al.*, 2016), é esperado logicamente que o RCi aumente ao longo do tempo, como é visível na figura 28B.

No Cabo o RCi variou entre  $0,9 \pm 0,13$  e  $1,6 \pm 0,22$  mm, correspondendo à primavera e inverno, respetivamente. Ao longo do tempo, o RCi mostrou-se pouco variável, sem a formação de um padrão perceptível.

Verificou-se na jangada um aumento progressivo de RCi entre  $1,7 \pm 0,22$  atingido no inverno e  $11,4 \pm 0,39$  mm referente ao outono, respetivamente. Neste caso é possível observar o aumento do RCi com o aumento do tempo de permanência na jangada.

É de notar que o número de indivíduos marcados variou bastante entre períodos, no Cabo devido à mortalidade natural por predação e ao recrutamento da espécie, e na jangada devido à mortalidade por competição associada a este cultivo.

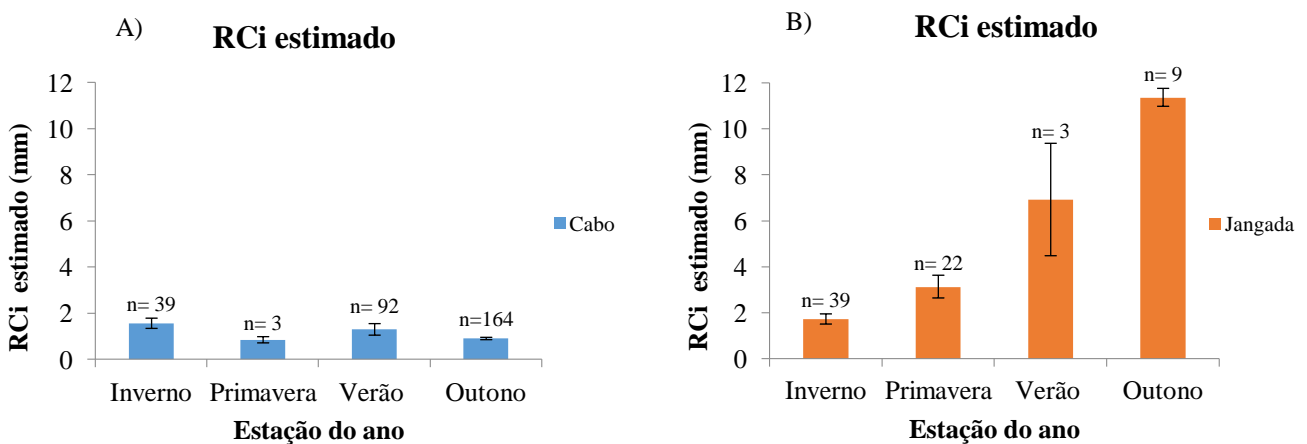


Figura 28 - Tamanho inicial estimado (RCi; mm) médio ( $\pm$  ep) em função da estação do ano, no Cabo (A) e na jangada (B). O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e estação do ano.

Relativamente ao crescimento mensal no Cabo, este variou entre  $0,4 \pm 0,01$  mm no outono e  $0,9 \pm 0,14$  mm na primavera, e observou-se diferenças significativas entre as estações do ano ( $F_{3,305} = 47,12$ ;  $p < 0,001$ ), com transformação dos dados à raiz quadrada. Verificou-se, pelos testes SNK, que o crescimento médio em 30 dias no outono foi significativamente menor do que nas restantes estações do ano, com um valor médio de 0,4 mm e 0,8 mm, respetivamente.

Na jangada apesar de o crescimento ter sido menor na primavera, não se verificou diferenças significativas entre estações ( $F_{3,69} = 1,71$ ;  $p = 0,173$ ;  $p > 0,05$ ), observando-se um valor de  $\Delta RC30$  médio de 0,9 mm.

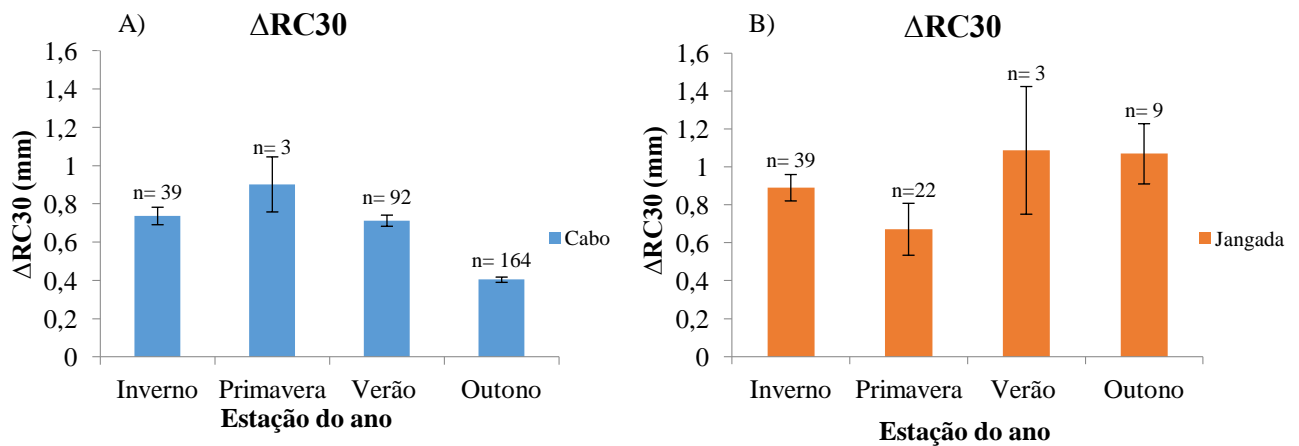


Figura 29 - Crescimento mensal ( $\Delta RC30$ ; mm) médio ( $\pm$  ep) em função da estação do ano, no Cabo (A) e na jangada (B). O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e estação do ano.

A densidade média, ou seja, número médio de percebes por “barticle”, está representado na figura 30.

No Cabo, pela observação dos gráficos, apesar de no verão e outono a densidade média ( $33,5 \pm 1,30$  indivíduos) ter sido três vezes maior do que no inverno e primavera ( $9,7 \pm 1,29$  indivíduos), não houve diferenças significativas no número de percebes por “barticle” entre estações ( $F_{3,294} = 47,58$ ;  $p = 0,140$ ) com transformação dos dados à raiz quadrada, obtendo-se um valor médio de 21,6 indivíduos.

Na jangada a densidade média variou entre  $1,0 \pm 0,00$  indivíduos no verão e  $9,6 \pm 1,94$  indivíduos no inverno.

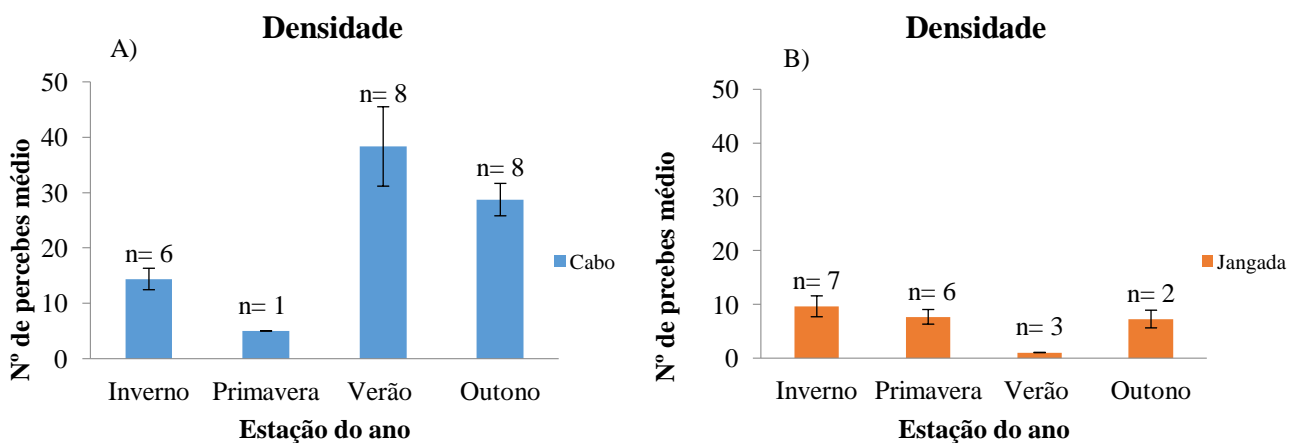


Figura 30 - Densidade média ( $\pm$  ep) no Cabo (A) e na jangada (B) em função da estação do ano. O tamanho da amostra é relativo ao número de “barticles” amostrados em cada habitat e estação do ano.

A temperatura média da água do mar, na jangada, nas quatro estações do ano, está representada graficamente na figura 31.

Observou-se que a temperatura média mínima amostrada no sistema de cultivo foi registada no inverno com 15,3° C, e a máxima na primavera com 18,1° C. No verão e outono registou-se uma temperatura média de 17,4° C e 16,3° C, respetivamente.

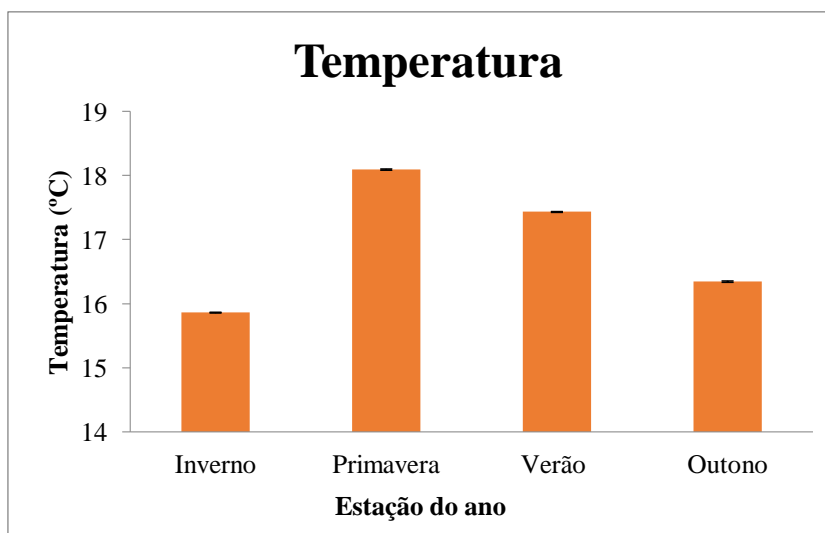


Figura 31 - Temperatura média da água do mar ( $\pm$  ep; ° C) na jangada em função da estação do ano.

#### 4.3.2. *Variação intranual do crescimento no inverno*

O RCi estimado e o  $\Delta$ RC30 dos percebes marcados nos dois habitats de cultivo (jangada e Cabo de Sines) nos meses de inverno em três anos consecutivos (2015, 2016 e 2017) estão representados nas figuras 32 e 33, respetivamente.

Relativamente ao RCi, o resultado da PERMANOVA (tabela III) indica a inexistência de diferenças significativas do tamanho inicial estimado com o fator habitat, assim como na interação dos fatores (habitat x ano).

Por outro lado, observou-se diferenças significativas no RCi entre anos, em que 2016 apresentou um RCi significativamente maior do que em 2015 e 2017 ( $p < 0,05$ ), com um valor médio de 2,2 mm em relação à média de 1,5 mm dos outros anos estudados.

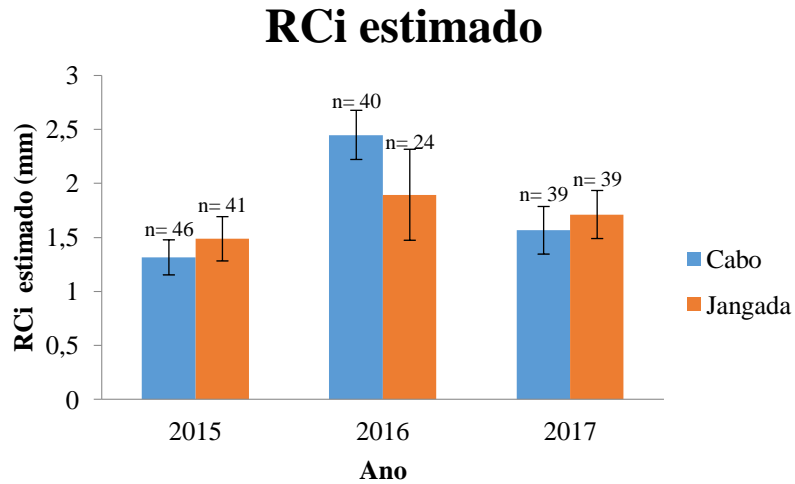


Figura 32 - Tamanho inicial estimado (RCi; mm) médio ( $\pm$  ep) conforme o habitat de cultivo e ano. O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e ano.

Tabela III - Resultado da PERMANOVA e dos testes Pair-Wise para o RCi em relação aos fatores: Habitat (Ha); Ano (An). Análise efetuada sem transformação dos dados (Teste PERMDISP : P(perm) = 0.6;  $p < 0.05$ ). Legenda: g.l. – graus de liberdade; MQ – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa ( $p < 0.05$ ).

| Origem da variação | g.l | M.Q     | F       | P     |
|--------------------|-----|---------|---------|-------|
| Ha                 | 1   | 0.40678 | 0.21361 | 0.630 |
| An                 | 2   | 10.026  | 5.256   | 0.012 |
| Ha x An            | 2   | 2.5535  | 1.3409  | 0.269 |
| Residual           | 223 | 1.9043  |         |       |
| Total              | 228 |         |         |       |

| Pair-Wise |                    |
|-----------|--------------------|
|           | 2015 = 2017 < 2016 |

Relativamente ao crescimento mensal, segundo o resultado da PERMANOVA (tabela IV), verificou-se uma interação significativa entre os fatores habitat e ano ( $p < 0,05$ ). Observou-se que o  $\Delta RC30$ , na jangada, decresceu significativamente ao longo dos anos (2015 > 2016 > 2017), com uma variação entre  $0,8 \pm 0,06$  mm em 2017 e  $1,5 \pm 0,08$  mm em 2015. Relativamente aos indivíduos do Cabo observou-se um aumento ligeiro do  $\Delta RC30$ , ao longo dos anos, com uma variação entre  $0,48 \pm 0,04$  e  $0,63 \pm 0,04$  mm, em 2015 e 2017, respetivamente. Contudo o crescimento no Cabo só foi significativamente maior em 2017 do que no conjunto dos anos de 2015 e 2016. Na comparação do  $\Delta RC30$  entre habitats, apesar de o crescimento na jangada ter sido sempre superior ao crescimento no Cabo, só se observaram diferenças significativas em 2015 e 2016.

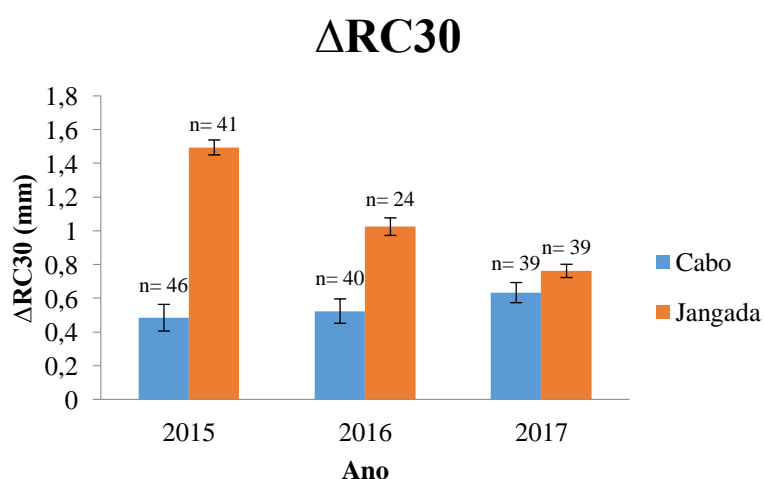


Figura 33 - Crescimento mensal ( $\Delta RC30$ ; mm) médio ( $\pm$  ep) de acordo com o habitat de cultivo e ano de plantação. n= tamanho da amostra. O tamanho da amostra é relativo ao número de percebes amostrados em cada habitat e ano.

Tabela IV - Resultado da PERMANOVA e dos testes Pair-Wise para o  $\Delta RC30$  em relação aos fatores: Habitat (Ha); Ano (An). Análise efetuada com transformação dos dados à raiz quadrada (Teste PERMDISP:  $P(\text{perm}) = 0.197$ ;  $p < 0.05$ ). Legenda: Ca – Cabo; Ja – Jangada; g.l. – graus de liberdade; MQ – média dos quadrados. “<” ou “>” – diferença significativa ( $p < 0.05$ ).

| Origem da variação | g.l     | M.Q                | F                  | P     |
|--------------------|---------|--------------------|--------------------|-------|
| Ha                 | 1       | 4.6409             | 91.575             | 0.001 |
| An                 | 2       | 0.27568            | 5.4398             | 0.006 |
| Ha x An            | 2       | 1.1437             | 22.568             | 0.001 |
| Residual           | 223     | 600.11             |                    |       |
| Total              | 228     |                    |                    |       |
| Pair-Wise          | An (Ha) | 2017               | Ca = Ja            |       |
|                    |         | 2016               | Ca < Ja            |       |
|                    |         | 2015               | Ca < Ja            |       |
|                    | Ha (An) | Cabo               | 2017 > 2015 = 2016 |       |
|                    | Jangada | 2015 > 2016 > 2017 |                    |       |

A temperatura média da água do mar (Figura 34) em 2015 foi semelhante entre os dois habitats, tendo o valor médio sido de 13,8°C. O mesmo foi observado em 2017, porém com uma temperatura mais elevada do que em 2015, com uma média de 15,3° C. Contrariamente, em 2016, registaram-se temperaturas mais diferentes entre habitats, sendo a temperatura média registada na jangada sido de 13,9°C, enquanto no Cabo foi de 15,9° C. O inverno mais quente no cabo foi o inverno de 2016, enquanto na jangada foi o de 2017.

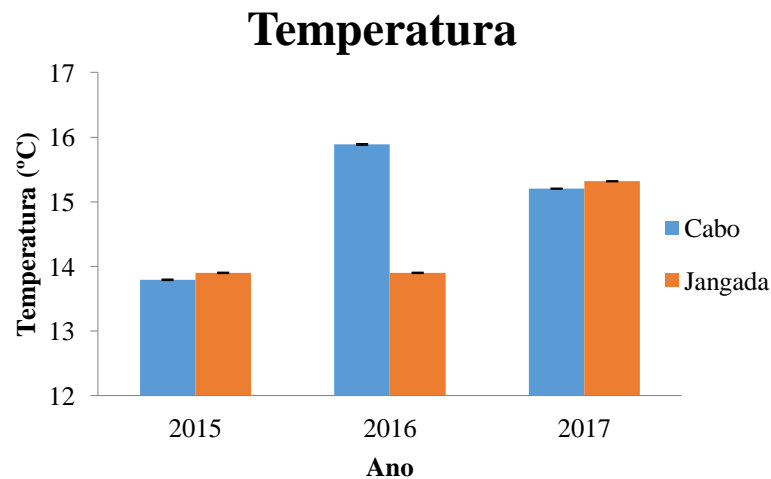


Figura 34 - Temperatura média da água do mar ( $\pm$  ep; °C) em janeiro e fevereiro dos anos 2015, 2016 e 2017, no Cabo e jangada (dentro do Terminal Petrolífero do Porto de Sines).

A densidade média, ou seja, número de percebes por “barticle” (Figura 35), no Cabo, não apresentou diferenças significativas com o fator ano ( $F_{1,8} = 0,53$ ;  $p = 0,489$ ), obtendo-se um valor médio de 14,6 indivíduos.

Na jangada a variação foi entre  $9,6 \pm 1,94$  e  $16,5 \pm 2,31$  indivíduos, referentes ao ano 2017 e 2015.

## Densidade

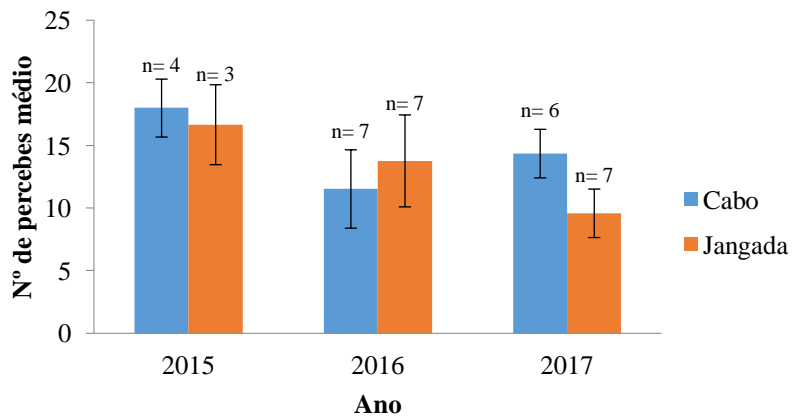


Figura 35 - Densidade média ( $\pm$  ep) de acordo com o habitat de cultivo e ano de plantação. O tamanho da amostra é relativo ao número de “barticles” amostrados em cada habitat e ano.

## 5. Discussão

### 5.1. Organismos incrustantes

O assentamento de organismos sedentários ocorre tanto em organismos vivos como em substrato inerte, e traz consigo impactos na aquacultura que podem ser devastadores (D'Antonio, 1985). O processo da incrustação é extremamente dinâmico, e a formação das comunidades incrustantes varia com o tempo e a profundidade perante determinados gradientes ambientais (Bumbeer, 2010). Deste modo, a eficiência no controlo do “fouling” advém de um vasto conhecimento das comunidades incrustantes que se desenvolvem em determinado local e condições.

Numa plataforma de óleo no Golfo Pérsico, Stachowitsch *et al.* (2002) avaliaram a abundância e a biomassa do fouling à superfície, 5 m e 10 m, e constataram um padrão de decréscimo com a profundidade, atingindo valores mínimos aos 10 m.

No presente estudo relativamente aos mexilhões, observou-se que a superfície e os 5 m foram as profundidades com maior peso total destes organismos (31,9 g), comparativamente aos 2,5 m, 7,5 m e 10 m com 12,2 g. Num estudo com larvas de *Mytilus edulis* no Mar Branco, observou-se que estas predominavam nas camadas superficiais da coluna de água, até aos 4,5 m (Dobretsov & Miron, 2001). Joschko *et al.* (2008), no Sudeste do Mar do Norte, constatou que o recrutamento do *M. edulis* é quase nulo a profundidades maiores que 3 m, devido à forte termoclina/haloalina que retém as larvas nas camadas superficiais.

As cracas, por sua vez, foram mais abundantes nas camadas intermédias (2,5 m, 5 m e 7,5 m) com um peso médio de 134,6 g, observando-se uma diminuição acentuada para 46 g aos 10 m. Um padrão semelhante, de decréscimo com a profundidade, também foi observado em Stachowitsch *et al.* (2002), onde a superfície e os 5 m apresentaram pesos totais superiores, com 111,8 g e 142,6 g respetivamente, e os 10 m apenas 29,1 g.

No grupo “outros”, o padrão foi inverso, com um peso total superior aos 10 m.

Este aumento de peso pode ser justificado pela presença de uma mistura de material biogénico nas placas dos 10 m, isto é, biomassa viva, conchas e restos de esqueletos de organismos mortos, como cracas, bivalves e briozoários. Resultados semelhantes foram obtidos em Stachowitsch *et al.* (2002), onde o peso do material biogénico foi mínimo à superfície e máximo aos 10 m.

O presente estudo demonstrou que a profundidade é um fator importante na distribuição vertical da epifauna bentónica na área de estudo. Contudo nem os mexilhões nem as

cracas ocorreram de forma exclusiva a uma determinada profundidade. É de notar que, apesar da jangada se encontrar num local abrigado da agitação marítima, comum em zonas coteiras, esta está localizada mesmo à entrada do Porto de Sines, onde ocorre a passagem contínua de navios de grandes dimensões. O tráfego destas embarcações pode causar o movimento de massas de água, impedindo uma estratificação acentuada da coluna de água e retenção larvar potencialmente superior, nas camadas superficiais.

Em geral, nenhuma profundidade mostrou um cenário perfeito de redução de fouling de todos os organismos estudados, contudo a profundidade dos 7,5 m foi considerada nalguns grupos a melhor e nunca foi considerada a pior. Deste modo, decidiu-se que os 7,5 m seria a profundidade de interesse para estudar o efeito do tratamento afundamento na sobrevivência de *Pollicipes pollicipes* no sistema de cultivo.

Segundo o relatório *Collective Research on Aquaculture Biofouling* (CRAB, 2006), estudos do recrutamento de espécies incrustantes a curto prazo e a longo prazo, como pode ser considerado o estudo do recrutamento em placas mensais e acumuladas do presente trabalho, são fundamentais para determinar a extensão da bioincrustação e compreender a alteração das comunidades com o tempo. Estes conhecimentos permitem determinar o momento ideal para aplicar as estratégias “antifouling” nos sistemas de cultivo.

Os dados de recrutamento de cracas em 2017 foram obtidos por análise de imagem e, por isso, não foi possível fazer uma identificação até à espécie, devido à fraca resolução das imagens e à necessidade de observação direta dos indivíduos. Relativamente aos dados do recrutamento de cracas de 2018, a identificação até à espécie também não foi feita devido ao tamanho reduzido dos animais. Contudo na região estudada, sabe-se que ocorrem duas espécies de cracas em maior abundância: a craca intertidal *Chthamalus montagui* (O’Riordan *et al.*, 2004); assim como a craca *Perforatus perforatus*, que se observa em grande abundância em Portugal, fixa a substratos artificiais (Fragoso & Icely, 2009; Cunha *et al.*, 2017).

Observou-se dois picos no recrutamento das cracas em 2017, um inicialmente entre março e abril e um segundo entre setembro e outubro. Por outro lado, entre novembro e fevereiro, assim como nos meses entre os picos (maio – agosto) o número de cracas foi muito reduzido. Relativamente ao recrutamento de 2018, constatou-se uma diferença temporal entre os dois anos estudados, em que se observou em 2018 um pico de

recrutamento entre junho e julho, e por outro lado o número de cracas foi quase nulo entre abril e maio.

Fragoso & Icely (2009), em Sagres, observaram um pico de *P. perforatus* entre junho e julho. Num outro estudo com a espécie *C. montagui*, também em Sines, foi observado um pico de recrutas de *C. montagui* em abril de 1997 e um segundo pico entre julho e setembro de 1997 (O’Riordan *et al.*, 2004).

Em outros estudos, em Portugal, observaram que tanto o recrutamento de *P. perforatus* (Cunha *et al.*, 2018) como de *C. montagui* (O’Riordan *et al.*, 2004) poderia ocorrer durante 10 meses (fevereiro-novembro). Esta extensão do período de recrutamento está, normalmente, relacionada com a disponibilidade de alimento e pode estar, indiretamente, associado com a latitude (Range & Paula, 2001). Burrows *et al.* (1992) observou que em latitudes mais a sul, o principal alimento destes organismos filtradores, *blooms* de flagelados, ocorrem durante um período longo do ano, o que possibilita um desenvolvimento bem-sucedido e o recrutamento das larvas de *Chthamalus spp.* num período igualmente extenso. Desta forma qualquer uma destas espécies poderia ter ocorrido nas placas nos períodos estudados, e por isso não é possível dizer se estas diferenças observadas no período de recrutamento entre anos, se deve a espécies diferentes ou se é devido à variação entre anos de fatores ambientais.

O período de recrutamento está dependente do processo de reprodução e de fatores físicos (ex., temperatura da água do mar; Patel & Crisp, 1960) e biológicos (ex., disponibilidade de alimento como *blooms* de flagelados; Hines, 1978) que podem afetar a dispersão larvar. O transporte físico das larvas pode também ser afetado por fatores de grande escala (ex., processos hidrodinâmicos *offshore*; Raimondi, 1990), e de pequena escala (ex., turbulência local da água; O’Riordan *et al.*, 2004). Poderão existir diferenças, no mesmo local, em termos de intensidade e ocorrência nestes fenómenos entre anos, o que poderá alterar os períodos de assentamento das espécies.

O recrutamento dos mexilhões, no presente estudo, foi analisado através dos dados da estrutura dimensional de 2017 obtidos em placas acumuladas, enquanto que os dados do recrutamento de 2018 foram obtidos através de “tuffies” colocados quinzenalmente na jangada. Em geral, é difícil conseguir prever exatamente o recrutamento para qualquer população de mexilhão, e aparentemente este pode ocorrer em qualquer época do ano (Brinkman *et al.*, 2002).

Através dos dados de estrutura dimensional dos mexilhões, em 2017, observou-se um pico inicial de recrutamento nos meses de abril, maio e junho (primavera), e possivelmente um pico secundário de outubro a janeiro (outono). Em comparação com o recrutamento de 2018, constatou-se uma diferença temporal entre anos, em que, em 2018, se observou um pico de recrutamento, essencialmente, entre meados de junho e o final de julho (verão).

Fragoso & Icely (2009), em Sagres, observaram que o recrutamento de *M. galloprovincialis*, ocorria intensamente durante junho e julho. Assim como outros estudos também observaram, no Mediterrâneo, um pico de larvas plantónicas de *M. galloprovincialis* na primavera, e um período de assentamento no início do verão (Ceccherelli & Rossi, 1984; Ardizzone *et al.*, 1996;).

Em Portugal são raros os estudos de recrutamento baseados em frequências de comprimentos. Saldanha (1974) e Santos (2000), são dois exemplos desses estudos, e ambos sugerem a existência de recrutamento durante o ano todo.

Uma análise do recrutamento através da estrutura dimensional apresenta várias dificuldades. Por exemplo, no período onde não se observou mexilhões < 3 mm (julho, agosto e setembro) não há forma de ter a certeza se corresponde a um período de pausa no recrutamento ou se corresponde a um período em que os mexilhões têm um crescimento muito elevado, e por isso, só se observam nas classes de tamanho maiores. Outra dúvida surge no período de outubro a janeiro, nomeadamente se o fato de se observar indivíduos < 6 mm pode significar um segundo pico no recrutamento, pois também pode significar que os mexilhões neste período têm um crescimento lento.

Okaniwa *et al.* (2010) num estudo com *M. galloprovincialis* na Baía de Tóquio, Japão, observaram taxas de crescimento maiores desta espécie, entre abril - setembro de 2007 e um menor crescimento entre novembro de 2007 e março de 2008, com evidências que este crescimento menor estava relacionado com menores temperaturas do ar e água do mar e escassez de fitoplâncton.

Por outro lado, sob condições favoráveis, os mexilhões podem crescer até 35,00 – 50,00 mm em 30 - 48 semanas (Walter & Liebezeit, 2001). No presente estudo observou-se um indivíduo em agosto com 41,41 mm em, aproximadamente, 21 semanas. A jangada de cultivo, localizada à entrada do Porto de Sines, é influenciada pelo fluxo de água e turbulência nesta área, e, estes fatores afetam consequentemente o recrutamento dos mexilhões e o fornecimento de alimento (Branch & Steffani, 2004). Sabe-se que as

áreas dentro de Portos favorecem as populações de mexilhões devido a uma maior retenção larvar, e que locais moderadamente expostos favorecem as taxas de crescimento de *M. galloprovincialis* devido à maior disponibilidade de alimento (Branch & Steffani, 2004).

Por estes motivos, não é possível saber se as diferenças entre os períodos de recrutamento observados no ano de 2017 e 2018 se deve a metodologias distintas dos dois estudos, ou se de fato o recrutamento dos mexilhões foi afetado por condições ambientais diferentes entre anos.

Em resumo, este estudo permitiu verificar a dificuldade nas previsões do recrutamento das espécies incrustante. Para além disso, verificou-se a necessidade de em estudos futuros, identificar-se a(s) espécie(s) de cracas para compreender os picos de recrutamento, e também a importância de prolongar a análise dos recrutamentos com a mesma metodologia em vários anos, de forma a evitar que metodologias diferentes possam causar confusão nos dados.

Deste modo, com a análise do recrutamento das cracas de 2017 e da estrutura dimensional dos mexilhões, foi decidido iniciar os tratamentos “antifouling” entre o fim de abril e o início de maio, e pela observação do rápido crescimento dos mexilhões, entre a primavera e o verão, decidiu-se que os tratamentos antivegetativos deveriam ser aplicados com uma frequência semanal. Esta decisão foi obviamente tomada antes da análise dos dados do recrutamento de cracas e mexilhões de 2018, e apesar de os resultados terem sido diferentes consoante os anos, o problema do fouling é genericamente maior durante a primavera e o verão, pelo que as decisões parecem ter sido acertadas.

## 5.2. Tratamentos “antifouling”

Foram aplicados vários tratamentos “antifouling”, em períodos considerados críticos em termos de problemas de incrustação, de forma a garantir a viabilidade biológica dos percebes no sistema de cultivo.

Nos “barticles” de 2017, entre dezembro e junho não se observou diferenças significativas na redução da mortalidade dos percebes nos tratamentos “antifouling” relativamente aos percebes do controlo (sem manipulação), bem como entre tratamentos “antifouling”.

Num estudo anterior, Darras (2017), também avaliou a sobrevivência de *P. pollicipes* na jangada de cultivo entre janeiro e julho de 2017, com a aplicação de três tratamentos “antifouling” (tinta antivegetativa, limpeza manual, jato de água vs controlo) entre fevereiro e julho. Neste estudo, Darras (2017) também não observou diferenças significativas na sobrevivência entre tratamentos.

A semelhança de resultados entre Darras (2017) e o presente estudo deve-se ao fato que, tanto junho como julho, podem ser uma data precoce para detetar os problemas de mortalidade dos percebes associados ao fouling. Tal como em Cruz *et al.* (2016) os problemas associados ao fouling só foram detectados no fim do verão.

Na verdade, em agosto, os resultados foram diferentes, verificando-se um número final de percebes significativamente maior no Cabo ( $\approx 4,5$  percebes e 57 % de sobrevivência), e no tratamento combinado (jato de água+limpeza manual C;  $\approx 4,4$  percebes e 61 % de sobrevivência), do que nos restantes tratamentos. Por outro lado, o controlo (Jangada C) apresentou o menor número de percebes ( $\approx 0,1$  percebes e 2 % de sobrevivência).

Relativamente aos tratamentos “antifouling”, o efeito da tinta antivegetativa na sobrevivência dos percebes não foi detetado, uma vez que o tratamento com melhor resultado de sobrevivência pertencia de fato a uma condição controlo (placas sem tinta). Segundo Tettelbach *et al.* (2012) esta mesma tinta tem uma durabilidade de aproximadamente 6 meses e, é capaz de reduzir a incrustação nesse período. Porém no seu estudo com vieiras, *Argopecten irradians irradians*, não foram observadas diferenças na sobrevivência entre redes tratadas e não tratadas, nos primeiros 7 meses (Tettelbach *et al.*, 2012).

Na limpeza manual, observou-se uma sobrevivência média de 44 % em junho e 31 % em agosto (“barticles” 2017). Contrariamente, em Darras (2017), no mesmo tratamento, observou uma sobrevivência de 5 %. Esta diferença de resultados pode ser reflexo dos períodos escolhidos para a iniciação dos tratamentos. No presente estudo, com a alteração da data de fevereiro para maio, observou-se que os percebes já eram maiores facilitando a limpeza dos “barticles” sem danificar os mesmos. Contudo, a afirmação que a limpeza manual é um tratamento eficaz, com uma estimativa de mortalidade de apenas 10 % (CRAB, 2006) não foi suportada pelos resultados obtidos.

O tratamento jato de água revelou uma percentagem de sobrevivência média de 57 % em junho e 11 % em agosto (“barticles” 2017). Darras (2017) observou para o mesmo tratamento uma sobrevivência de  $< 50$  %, esta semelhança com a percentagem de

sobrevivência do presente estudo, em junho, revela que de fato ambas as datas eram precoces para detetar o impacto da incrustação. Contudo, o aumento da frequência deste tratamento (de mensalmente para semanalmente) assim como a sua aplicação nas fases iniciais do recrutamento das espécies incrustantes, demonstraram ser ineficientes na diminuição da mortalidade dos percebes em agosto. Segundo os resultados da experiência dos padrões temporais de recrutamento (2018), os mexilhões começaram a aparecer no fim de maio, e nesse período o tratamento já era aplicado há um mês. Na verdade, este tratamento revelou-se pouco ou nada eficiente na remoção dos mexilhões, onde estes acabaram por crescer e ocupar completamente os “barticles”. A distância de segurança para aplicação do jato de água (altura do joelho) pode ser o motivo da redução de eficiência do mesmo, porém desconhecem-se os impactos de uma distância menor sobre a aderência dos percebes aos “barticles”.

Contudo, com a combinação do jato de água com o tratamento limpeza manual, obteve-se uma melhor percentagem média de sobrevivência, 40 % em agosto, do que os tratamentos aplicados separadamente, e a melhor percentagem de sobrevivência dos tratamentos “antifouling” testados (jato de água+limpeza manual C, 61 %; “barticles” 2017). Contrariamente Darras (2017) obteve melhores resultados no controlo da jangada (82 %). Deste modo a combinação dos tratamentos (nunca antes testado), permitiu assegurar a viabilidade biológica dos percebes em agosto, contudo é necessário prolongar este tipo de experiências até os percebes atingirem um tamanho comercial.

De todos os tratamentos aquele que implica menos despesas e cuidados é o afundamento do sistema de cultivo. Um estudo com vieiras, *Placopecten magellanicus*, na ilha da Terra Nova, demonstrou que o afundamento do sistema para os 10 m diminuiu a incrustação, e que o fator profundidade não é prejudicial à sobrevivência da cultura de interesse (Grecian *et al.*, 2000). Contudo, no presente estudo, os resultados não foram promissores, com uma sobrevivência de apenas 9 % em ambos os afundamentos (C e T; “barticles” 2017), constatando-se uma grande colonização por mexilhões nas placas e “barticles”. O sistema foi afundado no dia 18 de maio e de acordo com a experiência de padrões temporais de recrutamento de mexilhões, o recrutamento de *Mytilus spp.* teve início no fim de maio, deste modo, o afundamento foi executado no período correto. Segundo Arakawa (1990) a remoção temporária da cultura, da profundidade que favorece os organismos incrustantes, durante o pico de assentamento permite a diminuição da colonização destes organismos.

No presente estudo, não se quantificou a biomassa de mexilhões entre as placas do controlo à superfície e as placas afundadas, para saber se houve, ou não, efetivamente uma redução dos mexilhões entre profundidades. Porém, mesmo que tenha ocorrido uma diminuição da biomassa dos mexilhões nos 7,5 m, esta não foi o suficiente para impedir os efeitos negativos desta espécie na sobrevivência dos percebes.

Relativamente às medições dos percebes, observou-se que os tratamentos na jangada influenciaram positivamente o crescimento dos percebes. Nos “barticles” plantados em 2017, o RC foi significativamente maior na jangada C em fevereiro, e em agosto constatou-se que o tratamento jato de água+limpeza manual (C) teve um impacto positivo no RC médio (12,05 mm), assim como, o tratamento jato de água (C) teve no AT médio (31,17 mm). Contrariamente o Cabo continha os indivíduos menores (3,81 mm de RC médio e 5,93 mm de AT médio), nas duas variáveis.

Darras (2017), também observou uma relação positiva entre os tratamentos na jangada e o crescimento, nomeadamente, o tratamento jato de água e limpeza manual sob o RC médio (7,45 e 6,34 mm, respetivamente), onde obteve maiores valores de RC médio comparativamente ao Cabo de sines (2,8 mm). Nas culturas de ostras a bioincrustação pode causar um decréscimo nas taxas de crescimento até 40 % (Willemsen, 2005). Esta redução no crescimento pode dever-se ao aparecimento de comunidades de tunicados que competem por fitoplâncton (Rissgard *et al.*, 1995). Tantos os mexilhões, como as cracas, como os percebes são filtradores, competindo pelo mesmo alimento. Para além do mais também existe a competição por espaço. Por exemplo a capacidade de alimentação dos mexilhões pode ser afectada pelo crescimento excessivo de ascídias coloniais (Lesser *et al.*, 1992). Através dos resultados da estrutura dimensional dos mexilhões (ver secção 4.1.2), constatou-se que estes possuem um crescimento notoriamente rápido nesta altura do ano, ocupando por completo os “barticles” e exercendo uma pressão elevadíssima sobre os percebes. No caso das cracas observou-se que se fixam principalmente no *capitulum* dos percebes, Claereboudt *et al.* (1994) observou que a *Ectopleura larynx* ao se fixar à concha de vieiras poderia dificultar a capacidade de alimentação das mesmas. Deste modo, a remoção dos principais competidores biológicos (mexilhão e cracas), através da limpeza manual, permitiu melhorar o crescimento dos percebes.

Na relação RC/AT observou-se diferenças significativas entre tratamentos, em que ao longo do tempo (monitorização de abril, junho e agosto) os percebes no Cabo mostraram ser menos alongados que os percebes da jangada. Por outro lado, constatou-

se que o tratamento controlo (jangada T) em abril e junho, e o jato de água (C) em agosto, continham os percebes mais compridos. Uma possível explicação, é que o alongamento dos percebes seja resultado de uma maior competição interespecífica. Uma outra questão analisada foi a variação na sobrevivência ao longo do tempo em resultado da data de implantação dos “barticles” no terreno. Nos “barticles” de 2016 observou-se uma percentagem de sobrevivência média, entre tratamentos, de 89 % em abril, 73 % em junho e 27 % em agosto. Em comparação, nos “barticles” de 2017, em fevereiro e abril, observou-se uma sobrevivência média de 51 %, em junho de 46 % e em agosto 22 %. A justificação para estas diferenças na percentagem de sobrevivência, entre os “barticles”, pode estar relacionada com o tamanho superior dos indivíduos e densidades maiores, que se constatou nos “barticles” de 2016.

Deste modo, sugere-se que para garantir a viabilidade e a sobrevivência de *Pollicipes pollicipes* no sistema de cultivo se devam introduzir indivíduos maiores e com maiores densidades, referentes a recrutamentos de anos anteriores e ou a recrutamentos acumulados de vários anos.

### 5.3. Variação do crescimento, por marcação com calceína

Estudos anteriores apontam para uma elevada variabilidade na taxa de crescimento do percebe no habitat natural (Cruz *et al.*, 2000; Cruz *et al.*, 2010; Jacinto *et al.*, 2015), contudo a informação sobre este processo fundamental em situações de cultivo desta espécie é escassa. De forma a completar a informação existente (Cruz *et al.*, 2016), analisou-se a variação do crescimento sazonal do percebe na jangada de cultivo, uma vez que muitas espécies exibem mudanças sazonais nos seus ciclos de vida, devido à variabilidade ambiental (Turchin, 2003). Para além disso, também se pretendeu analisar as variações no crescimento entre anos, na jangada de cultivo.

Cruz *et al.* (2016) estudaram o crescimento na jangada no verão e inverno de 2015, e constataram que o crescimento era significativamente maior no inverno com  $\approx 1,1$  mm por mês, enquanto que no verão era  $\approx 0,9$  mm. No presente estudo, para os mesmos períodos estudados em Cruz *et al.* (2016), o crescimento também foi de  $\approx 1,1$  mm no inverno e  $\approx 0,9$  mm no verão, constatando-se resultados muito semelhantes.

Porém, ao contrário de Cruz *et al.* (2016), no presente estudo, não foram observadas diferenças no  $\Delta RC30$  entre estações do ano, provavelmente devido ao número reduzido de indivíduos marcados em alguns períodos e à elevada variabilidade entre indivíduos.

Deste modo, foi estimado um valor médio de crescimento na jangada de cultivo de cerca de 0,93 mm (RC) por mês.

Relativamente ao RCi, esta variável permitiu observar o crescimento rápido dos percebes no sistema de cultivo, observando-se um RC >11,4 mm ao fim de um ano de cultivo, tendo em conta que atingem a maturidade com um RC >12,5 mm (Cruz & Araújo, 1999), e o tamanho comercial com um RC >15 mm (Jesus, 2004).

Como em outros estudos os percebes da jangada mostraram ter um crescimento superior aos percebes do habitat natural (Cruz *et al.*, 2016; Darras 2017).

Relativamente ao  $\Delta$ RC30 no Cabo, observou-se diferenças significativas entre estações, com um crescimento menor no outono, cerca de 0,4 mm por mês, comparativamente a 0,8 mm na primavera, verão e inverno. Contrariamente, Cruz *et al.* (2000) observaram, na costa Sudoeste de Portugal, que os percebes com RC <10 mm (juvenis) cresciam 0,47 mm por mês, tanto na primavera, como no verão, como no inverno. Contudo as diferenças entre o presente estudo e Cruz *et al.* (2000) pode dever-se a metodologias distintas ou a diferenças de idade nos percebes amostrados. No presente estudo o crescimento foi obtido através da marcação com calceína em animais fixos em “barticles”, para os quais se sabe a idade máxima. Segundo Jacinto *et al.* (2015), o método de marcação por calceína é um método fácil e muito eficaz para a obtenção de informação sobre as taxas de crescimento de *P. pollicipes*, com uma percentagem de sucesso elevada.

Por outro lado, em Cruz *et al.* (2000) o crescimento dos indivíduos foi obtido *in-situ* através de medições com craveiras, em agregados de organismos em que não se sabia a idade. Por este motivo, as taxas de crescimento observadas em Cruz *et al.* (2000) podem ser reflexo da competição intra e interespecífica que os indivíduos sofrem por viverem em agregados numerosos, ou por serem mais velhos. No presente estudo não se observou diferenças na densidade (número de percebes por “barticle”) entre períodos, deste modo, as limitações no crescimento verificadas no outono não estavam relacionadas com a densidade.

Relativamente à explicação para o fato de o crescimento ter sido menor no outono, teria sido necessário avaliar a variação sazonal de algumas variáveis oceanográficas nas diferentes estações do ano, para ser possível responder a esta questão (variáveis não analisadas no presente estudo). Sanford & Menge (2001) observaram que a taxa de crescimento de algumas cracas varia conforme a exposição às ondas, abundância de alimento planctónico e temperatura da água do mar.

As taxas de crescimento dos percebes são altamente variáveis no espaço e no tempo (Barnes, 1996), o mesmo foi constatado no estudo da variação interanual do crescimento no inverno, em que se observou uma interação significativa entre os fatores habitat e ano.

Observou-se que o  $\Delta RC_{30}$ , no inverno de 2015 e 2016, foi maior na jangada do que no Cabo. As diferenças no crescimento entre jangada e Cabo não parecem estar relacionadas com a temperatura da água do mar, visto que em 2015 a temperatura foi idêntica entre os habitats (13,8° C) e mesmo assim observou-se crescimento diferente. Estas diferenças também não parecem estar relacionadas com a densidade de percebes por “barticle”, uma vez que não se observaram diferenças significativas na densidade entre anos ou habitats.

Segundo Jacinto *et al.* (2015), as maiores diferenças nas taxas de crescimento dos percebes estão, normalmente, relacionadas com o tamanho dos indivíduos, visto que percebes do mesmo tamanho contêm taxas de crescimento altamente variáveis, principalmente nos juvenis.

Em estudos anteriores, observou-se um  $RC_i$  na jangada muito superior ao do Cabo, e que esses tamanhos maiores podem indicar maiores taxas de crescimento (Cruz *et al.*, 2016). Contrariamente, no presente estudo, um  $RC_i$  maior não foi sinónimo de taxas de crescimento maiores, como se observou por exemplo em 2016.

Por outro lado, Cruz *et al.* (2016) sugeriram que crescimento na jangada é maior devido a condições mais benignas de hidrodinamismo na jangada do que no Cabo, no período do inverno. Por exemplo, Rodhouse *et al.* (1984) observaram que em locais com diferentes fluxos de corrente e exposição à ação das ondas, como *inshore* e *offshore*, podem afetar o crescimento de *Mytilus edulis*, isto é, as taxas de crescimento desta espécie são favorecidas em locais com menor hidrodinamismo, visto que a dispersão do alimento é menor.

Outro fator que pode favorecer o crescimento na jangada é a disponibilidade de alimento que poderá ser maior no interior do Porto de Sines, mas são necessários estudos que meçam a disponibilidade de alimento no interior e exterior do Porto de Sines. Sabe-se que, para outras espécies de cirrípedes a disponibilidade de alimento é o fator que mais influencia as taxas de crescimento (Bourget & Crisp, 1975).

Por outro lado, o sistema da jangada permite condições semelhantes à dos percebes que habitam no subtidal. No subtidal, os indivíduos são, geralmente, maiores do que os

percebes das zonas intertidais, e isto deve-se provavelmente à imersão contínua e condições permanentes de contacto com o alimento (Cruz *et al.*, 1993) suportando taxas de crescimento maiores, bem como uma menor pressão de predação (Cruz *et al.*, 2010). O mesmo foi observado para outras espécies, como por exemplo no estudo de Fletcher (1984) que descobriu que as taxas de crescimento de lapas, *Cellana tramoserica*, aumentaram com a transferência das populações intertidais para localizações subtidais. Em suma, se os indivíduos da jangada têm taxas de crescimento maior, isto vai equivaler a um maior valor comercial (Cruz *et al.*, 2010), o que incentiva a aposta no sistema de cultivo desenvolvido no projeto AQUAPOLLIS.

Relativamente à análise do  $\Delta RC30$  entre anos, no Cabo observou-se um aumento ligeiro ao longo dos anos, tendo sido maior em 2017. Constatou-se um padrão semelhante na temperatura, sendo esta mais elevada em 2017. Todavia, como se verificou anteriormente, só a temperatura não é suficiente para justificar variações do crescimento dos percebes. Em estudos futuros, seria interessante averiguar se esta subida de temperatura causou também um aumento da disponibilidade de alimento para os percebes (i.e., produtividade primária ou secundária, sendo que nenhuma destas variáveis foi analisada no presente estudo). Por outro lado, na jangada observou-se um padrão de decréscimo do  $\Delta RC30$  ao longo dos anos, sendo mínimo em 2017. Possivelmente o aumento da temperatura registado neste ano, favoreceu o crescimento rápido da principal espécie competidora na jangada de cultivo, ou seja, os mexilhões, e assim, pode ter tido um efeito indireto negativo sobre os percebes. Como se referiu na experiência dos tratamentos “antifouling”, as espécies competidoras podem diminuir as taxas de crescimento das culturas de interesse.

## 6. Conclusão

Com a otimização do calendário de aplicação dos tratamentos anti-fouling, nomeadamente, jato de água e limpeza manual, para o fim de abril e início de maio, respetivamente, e a aplicação semanal dos mesmos, conseguiu-se assegurar a sobrevivência dos percebes na jangada, com o tratamento jato de água+limpeza manual, (C), uma vez que foi semelhante à sobrevivência do habitat natural. O pressuposto da diminuição do fouling com o afundamento das placas para os 7,5 m falhou e a mortalidade dos percebes foi igualmente elevada, tal como nos outros tratamentos à superfície, com exceção do jato de água+limpeza manual.

Constatou-se também que, o tratamento jato de água+limpeza manual (C), não só garantiu melhores percentagens de sobrevivência como demonstrou ter um impacto positivo no crescimento dos percebes, obtendo-se indivíduos maiores comparativamente aos percebes do habitat natural. Para além do mais este tratamento não tem implicações negativas para o meio ambiente.

Desta forma, o presente estudo mostrou resultados promissores na viabilidade biológica de *Pollicipes pollicipes* no sistema de cultivo, nunca antes observada no período crítico de incrustação, ou seja, no verão. Por outro lado, nos “barticles” de 2016, a percentagem de sobrevivência foi superior do que nos “barticles” de 2017, sugerindo a possibilidade de diminuir a mortalidade dos percebes com a introdução de indivíduos e densidades por “barticle” maiores no sistema de cultivo.

No crescimento dos percebes, seria necessário haver um número maior de “barticles” de forma a garantir um número de indivíduos marcados maior em todas as estações do ano. Por este motivo, neste estudo ainda não foi possível determinar se existe, ou não, períodos nos quais há uma maior ou menor crescimento dos percebes na jangada de cultivo.

A elevada variabilidade na taxa de crescimento de *Pollicipes pollicipes* entre indivíduos foi notória, e revela-se um desafio. Porém resultados promissores foram obtidos na observação de diferenças do crescimento do percebe na jangada de cultivo e no habitat natural. De fato, é na jangada que o percebe apresenta as taxas de crescimento mais elevadas, mas é também necessário continuar a analisar o crescimento ao longo do tempo e também as alterações de forma do percebe, como o alongamento, pois percebes mais alongados e finos têm relativamente um menor valor comercial do que percebes mais grossos e curtos.

## 7. Referências bibliográficas

Anderson, D.T., 1994. Barnacles: structure, function, development and evolution. Chapman & Hall, Londres, 352.

Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26: 32-46.

Anderson, M.J., 2006. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions, *Biometrics*, 62: 245-253.

Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E, Plymouth, United Kingdom.

Arakawa, K.Y., 1990. Competitors and fouling organisms in the hanging culture of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 17: 67-94.

Ardizzone, G.D., Belluscio, A., Gravina, M.F., Somaschini, A., 1996. Colonization and disappearance of *Mytilus galloprovincialis* Lam. on an artificial habitat in the Mediterranean sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 43: 665-676.

Baptista, C.M.M., 2000. 2ª Edição Os Marisqueiros de Vila do Bispo – Ensaio Etnográfico, Junta de Freguesia de Vila do Bispo, Vila do Bispo, 159.

Barnes, H., Reese, E. S., 1960. The behavior of the stalked intertidal barnacle *Pollicipes polymerus* J.B. Sowerby, with special reference to its ecology and distribution. *Journal of Animal Ecology*, 29: 169-185.

Barnes, M., 1996. Pedunculate cirripedes of the genus *Pollicipes*. *Oceanography and Marine Biology an Annual Review*, 34: 303-394.

Bourget, E., Crisp, D.J., 1975. Factors affecting deposition of the shell in *Balanus balanoides* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 55: 231-249.

Branch, G.M., Steffani, C.N., 2004. Can we predict the effects of alien species? A case-history of the invasion of South Africa by *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 300: 189-215.

Brinkman, A.G., Dankers, N., Van Stralen, M., 2002. An analysis of mussel bed habitats in the Dutch Wadden sea. *Helgoland Marine Research*, 56: 59-75.

Buck, B. H., 2007. Experimental trials on the feasibility of offshore seed production of the mussel *Mytilus edulis* in the German Bight: installation, technical requirements and environmental conditions. *Helgoland Marine Research*, 15.

Bumbeer, J.A., 2010. Variabilidade sazonal na colonização de organismos epilíticos em relação à profundidade no infralitoral do Estado do Paraná. Universidade Federal do Paraná: Dissertação de Mestrado.

Burrows, M.T., Hawkins, S.J., Southward, A.J., 1992. A comparison of reproduction in co-occurring chthamalid barnacles, *Chthamalus stellatus* (Poli) and *Chthamalus montagui* Southwards. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 160: 229-249.

Callow, M. E., Callow, J. A., 2002. Marine biofouling: a sticky problem. *Biologist*, 49: 1-5.

Candeias, A.T., 2005. Aspects of feeding in barnacle larvae (Cirripedia: Thoracica). In School of Ocean Sciences. Menai Bridge, UK: University College of Wales, 130.

- Cardoso A., Yule A., 1995. Aspects of the reproductive biology of *Pollicipes pollicipes* (Cirripedia: Lepadomorpha) from the southwest coast of Portugal. Netherlands. *Journal of Aquatic Ecology*, 29: 391-396.
- Carvalho, A.N., Vasconcelos, P., Piló, D., Pereira, F., Gaspar, M.B., 2017. Socio-economic, operational and technical characterization of the harvesting of gooseneck barnacle (*Pollicipes pollicipes*) in SW Portugal: Insights towards Fishery co-management. *Marine Policy*, 78: 34-44.
- Castro, J.J., Cruz, T., 2009. Marine conservation in a southwest Portuguese natural park, *Journal of Coastal Research*, 56: 385-389.
- Ceccherelli, V.U., Rossi, R., 1984. Settlement, growth and production of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Ecology Progress Series*, 16: 173-184.
- Chaffee J., Lewis C., 1988. Pedunculate barnacle stalk growth. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 124: 145-162.
- Claereboudt, M.R., Bureau, D., Côté, J., Himmelman, J.H., 1994. Fouling development and its effect on the growth of juvenile giant scallops (*Placopecten magellanicus*) in suspended culture. *Aquaculture*, 121: 327-342.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2015. PRIMER v7: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, United Kingdom.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M., 1994. Change in Marine Communities. An approach to Statistical Analysis and Interpretation. PRIMER-E, Plymouth, United Kingdom.
- Coelho, M.R., 1990. Descrição dos estados larvares do perceve (*Pollicipes cornucopia*). Faro (Portugal): Universidade do Algarve, 39.
- Collective Research on Aquaculture Biofouling, 2006. CRAB Final Activity Report. 1-48.
- Cribeiro, A.P., 2007. Explotacion del percebe, *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1789), na costa do Ortegá. influencia dos factores abióticos, estudo en condicións experimentais da estrutura poboacional. In Departamento de Biología Animal. Santiago de Compostela, Spain: Universidade de Santiago de Compostela, 64.
- Crisp, D.J., Southward, A.J., 1961. Different types of cirral activity of barnacles. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 243: 271-308.
- Cronin, E.R., Cheshire, A.C., Clarke, S.M., Melville, A.J., 1999. An investigation into the composition, biomass and oxygen budget of the fouling community on tuna aquaculture farm. *Biofouling*, 13: 279-299.
- Cruz, T., 1993. Growth of *Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790) (Cirripedia, Lepadomorpha) on the SW coast of Portugal. *Crustaceana*, 65: 151-158.
- Cruz, T., Araújo, J., 1999. Reproductive patterns of *Pollicipes pollicipes* (Cirripedia: Scalpellomorpha) on the southwestern coast of Portugal. *Journal of Crustacean Biology*, 19: 260-267.
- 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: 200-209.
- Cruz, T., Fernandes, J.N., Jacinto, D., Seabra M.I., Silva, T., Castro, J.J., 2017. AQUAPOLLIS+ Aquacultura do percebe (*Pollicipes pollicipes*) (ALT20-03-0145-FEDER-000003). Relatório de progresso. Universidade de Évora, 27.
- Cruz, T., Fernandes, J.N., Jacinto, D., Seabra M.I., Silva, T., Castro, J.J., 2016. AQUAPOLLIS: Viabilidade biológica e económica da aquacultura de percebe (*Pollicipes pollicipes*) em Portugal

- (Relatório final do projeto piloto 31-03-05-FEP- 46). Parte I: Estudo da viabilidade biológica. Universidade de Évora, 92.
- Cruz, T., Fernandes, J.N., Van Syoc, R.J., Newman, W.A., 2015a. Ordens Lepadiformes, Scalpelliformes, Verruciformes e Balaniformes. *Revista Ibero Diversidad Entomológica*, 99: 1-12.
- 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: 483-496.
- Cruz, T., Jacinto, D., Sousa, A., Penteado, N., Pereira, D., Fernandes, J.N., Silva, T., Castro, J.J., 2015b. The state of the Fishery, conservation and management of the stalked barnacle *Pollicipes pollicipes* in Portugal. *Marine Environmental Research*, 112: 73-80.
- Cunha, I., Azevedo, T., Vasconcelos, V., Almeida J. R., 2018. Distribution ranges of the acorn barnacle *Perforatus* (=Balanus) *perforatus* (Bruguère, 1789) in the NE Atlantic are influenced by reproductive parameters. *Hydrobiologia*, 806: 227-235.
- D'Antonio, C., 1985. Epiphytes on the rocky intertidal red alga *Rhodomela larix* (Turner) C. Aghardh: negative effects on the host and food for herbivores? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 86: 197-218.
- Darras, J.P.J., 2017. Aquaculture of the stalked barnacle *Pollicipes pollicipes*: improving farming techniques in a extensive system located in Sines (Portugal). Universidade do Algarve: Dissertação de Mestrado.
- Darwin, C., 1851. A monograph on the sub-class Cirripedia with figures of all the species. The Lepadidae or pedunculate cirripedes. London: Ray society, 400.
- De Nys R., Guenther, J., 2009. The impact and control of biofouling in marine finfish aquaculture. In: Hellio C, Yebra D, editors. Advances in marine antifouling coatings and technologies. Cambridge (UK): Woodhead Publishing Ltd. 177–221.
- DGRM, Base de dados relativa às licenças atribuídas para o exercício da apanha de perceve em Portugal, Direcção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Portugal, Docapesca, Portos e Lotas, SA, Lisboa, 2016.
- Dobretsov, S.V., Miron, G., 2001. Larval and post-larval vertical distribution of the mussel *Mytilus edulis* in the White Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 218: 179-187.
- DOCAPESCA, Base de dados relativa às vendas declaradas de perceve em lota em Marítimos, Lisboa, 2016.
- Espírito Santo, C.I.O., 2007. Inside a marine harbour: patterns of distribution and abundance of *Mytilus galloprovincialis* in the port of Sines. Portugal: Universidade de Évora. Dissertação de mestrado, 79.
- Fell, P.E., Balsamo, A.M., 1985. Recruitment of *Mytilus edulis* L. in the Thames estuary, with evidence for differences in the time of maximal settling along the Connecticut Shore. *Estuaries* 8: 68-75.
- Fischer, W., Bauchot, M.L., Schneider, M., 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. 7. One de pêche 37 — Volume I. Végétaux et Invertébrés. Publication préparée par la FAO, résultat d'un accord entre la FAO et la Commission des Communautés Européennes (Projet GCP/INT/422/EEC) financée conjointement par ces deux organisations. Rome, FAO, 1: 760.
- Fitridge, I., Dempster, T., Guenther, J., de Nys, R., 2012. The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*. 28: 649-669.
- Fletcher, W.J., 1984. Intraspecific variation in the population dynamics and growth of the limpet, *Cellana tramsERICA*. *Oecologia* (Berl.), 63: 110-121.

- Forrest, B.M., Blakemore, K.A., 2006. Evaluation of treatments to reduce the spread of a marine plant pest with aquaculture transfers. *Aquaculture*, 257: 333-345.
- Fragoso, B., Icelly, J.D., 2009. Upwelling Events and Recruitment Patterns of the Major Fouling Species on Coastal Aquaculture (Sagres, Portugal). *Journal of Coastal Research*, 419-423.
- Franco, S.C., 2014. Aquaculture of stalked barnacles (*Pollicipes pollicipes*). Reino Unido: Newcastle University. Tese de Doutoramento, 218.
- Franco, S.C., Aldred, N., Cruz, T., Clare, A.S., 2016. Effects of culture conditions on larval growth and survival of stalked barnacles (*Pollicipes pollicipes*). *Aquaculture Research*, 1-14.
- Franco, S.C., Aldred, N., Sykes, A.V., Cruz, T., Clare, A.S., 2015. The effect of rearing temperature on reproductive conditioning of stalked barnacles (*Pollicipes pollicipes*). *Aquaculture*, 448: 410-417.
- Frenkel, V., Kindschi, G., Zohar, Y., 2002. Noninvasive, mass marking of fish by immersion in calcein: evaluation of fish size and ultrasound exposure on mark endurance. *Aquaculture*, 214: 169-183.
- 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 (USA)*, 82: 3703-3711.
- Goldberg, H., 1984. Posibilidades de cultivo del percebe, *Pollicipes cornucopia* Leach, en sistemas flotantes. *Informes Técnicos del Instituto Español de Oceanografía*, 19: 1-13.
- Goldberg, H., 1985. An investigation of the feasibility of gooseneck barnacle mariculture (*Lepas anatifera*). The University of British Columbia. Dissertação de mestrado, 108.
- Grecian, L.A., Parsons, G.J., Dabinett, P., Couturier, C., 2000. Influence of season, initial size, depth, gear type and stocking density on the growth rates and recovery of sea scallop, *Placopecten magellanicus*, on a farm-based nursery. *Aquaculture International*, 8: 183-206.
- Guenther, J., Misimi, E., Sunde, L.M., 2010. The development of biofouling, particularly the hydroid *Ectopleura larynx*, on commercial salmon cage nets in Mid-Norway. *Aquaculture*, 300: 120-127.
- Guo, S., Lee, H., Teo, S., Khoo, B., 2012. Inhibition of barnacle cyprid settlement using low frequency and intensity ultrasound. *Biofouling*, 28: 131-141.
- Helms A.R., 2004. Living on the edge: juvenile recruitment and growth of the gooseneck barnacle *Pollicipes polymerus*. Universidade de Oregon, Dissertação de mestrado, 107.
- Hines, A.H., 1978. Reproduction in three species of intertidal barnacles from central California. *Biological Bulletin. Marine Biological Laboratory, Woods Hole*, 154: 262-281.
- Hoffman, D.L., 1984. Size-frequency distribution patterns of the juvenile stages of the pedunculate barnacle, *Pollicipes polymerus* Sowerby, 1833 (Cirripedia, Lepadomorpha). *Crustaceana*, 46: 295-299.
- Hoffman, D.L., 1988. Settlement and recruitment patterns of a pedunculate barnacle, *Pollicipes polymerus* Sowerby, off La Jolla, California. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 125: 83-98.
- 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: 19-25.
- Jacinto, D., Cruz, T., Silva, T., Castro, J.J., 2011. Management of the stalked barnacle (*Pollicipes pollicipes*) Fishery in the nature reserve of Berlengas (Portugal): evaluation of bag and size limit regulation measures. *Scientia Marina* 75: 439- 445.

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: 117-123.

Jesus, D.M.C., 2004. Gestão do percebe [*Pollicipes pollicipes* (Gmelin, 1790)] no Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina, Tese de Mestrado, Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente, Universidade do Algarve, Portugal, 129.

Joschko, T.J., Buck, B.H., Gutow, L., Schroder, A., 2008. Colonization of an artificial hard substrate by *Mytilus edulis* in the German Bight. *Marine Biology Research*, 4: 350-360.

Legg, M., Yucel, M.K., Garcia de Carellan, I., Kappatos, V., Selcuk, C., Gan, T.H., 2015. Acoustic Methods for Biofouling Control: A review. *Ocean Engineering*, 103:237-247.

Lesser, M.P., Shumway, S.E., Cucci, T., Smith, J., 1992. Impact of fouling organisms on mussel rope culture: interspecific competition for food among suspension-feeding invertebrates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 165: 91-102.

López, D.A., López, B.A., Pham, C.K., Isidro, E.I., De Girolamo, M., 2010. Barnacle culture: background, potential and challenges. *Aquaculture Research*, 41: 367-375.

López, D.A., Lopez, B.A., Pham, C.K., Isidro, E.J., 2012. Potency of Barnacle in Aquaculture Industry. *Aquaculture*, Dr. Zainal Muchlisin (Ed.), ISBN: 978-953-307-974-5, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/aquaculture/potency-of-barnacle-in-aquaculture-industry>.

Mallet, A.L., Carver, C.E., 2006. Incorporating the New Zealand Tunicate Treatment Technology into a tunicate management strategy for Indian Point Marine Farms. Report prepared for Aquaculture Association of Nova Scotia. Dartmouth (Nova Scotia): *Mallet Research Services*, 21.

Mallet, A.L., Carver, C.E., Hardy, M., 2009. The effect of floating bag management strategies on biofouling, oyster growth and biodeposition levels. *Aquaculture*, 287: 315-323.

Mao Che, L., Le Campion-Alsumard, T., Boury-Esnault, N., Payri, C., Golubic, S., Bezac, C., 1996. Biodegradation of shells of the black pearl oyster, *Pinctada margaritifera* var. *cumingii*, by microborers and sponges of French Polynesia. *Marine Biology*, 126: 509-519.

Mateus, D.J.R., 2017. Variabilidade especial e temporal do recrutamento de *Pollicipes pollicipes* na região de Sines. Portugal: Universidade de Aveiro. Dissertação de mestrado, 98.

Menge, B.A., Blanchette, C.A., Raimondi, P., Freidenburg, T.L., Gaines, S.D., Lubchenco, J., Lohse, D., Hudson, G., Foley, M.M., Pamplin, J., 2004. Species interaction strength: testing model predictions along an upwelling gradient. *Ecological Monographs*, 74: 663-684.

Molares, J., 1994a. Estudio del ciclo biológico del percebe (*Pollicipes cornucopia* Leach) de las costas de Galicia. Xunta de Galicia, 133.

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.

Molares, J., Otero, E.V., Rivero, G.M., 2002. Ecología larvaria del percebe *Pollicipes pollicipes*: patrones estacionales, mecanismos de control y comportamiento, desde la aclusión hasta la fijación. In Informe Final del Proyecto de Investigación). Pontevedra, Spain: Conselleria de Pesca e Asuntos Marítimos. Centro de Investigacions Marinas, 41.

- Molares, J., Tilves, F., Pascual, C., 1994b. Larval development of the pedunculate barnacle *Pollicipes cornucopia* (Cirripedia: Scalpellomorpha) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 120: 261-264.
- Molares, J., Tilves, F., Quintana, R., Rodríguez, S., Pascual, C., 1994a. Gametogenesis of *Pollicipes cornucopia* (Cirripedia: Scalpellomorpha) in north-west Spain. *Marine Biology*, 120: 553-560.
- Norton, R.J., 1996. Feeding and energetic relationships of *P. pollicipes* (Gmelin, 1790) (Cirripedia: Lepadomorpha). In School of Ocean Sciences. Menai Bridge (UK): University College of North Wales, 273.
- Okaniwa, N., Miyaji, T., Sasaki, T., Tanabe, K., 2010. Shell growth and reproductive cycle of the Mediterranean an mussel *Mytilus galloprovincialis* in Tokyo Bay, Japan: relationship with environmental conditions. *Plankton and Benthos Research*, 5(Supplement), 214–220.
- O’Riordan R.M., Arenas, F., Arrontes, J., Castro, J.J., Cruz, T., Delany, J., Martínez, B., Fernandez, C., Hawkins, S.J., McGrath, D., Myers, A.A., Oliveros, J., Pannacciulli, F.G., Power, A.M., Relini, G., Rico, J.M., Silva, T., 2004. Spatial variation in the recruitment of the intertidal barnacles *Chthamalus montagui* Southward and *Chthamalus stellatus* (Poli) (Crustacea: Cirripedia) over an European scale. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 304: 243-264.
- Parada, J., Outeiral, R., Iglesias, E., Molares, J., 2012. Assessment of goose barnacle (*Pollicipes pollicipes* Gmelin, 1789) stocks in management plans: design of a sampling program based on the harvesters’ experience. *ICES Journal of Marine Science*, 69: 1840-1849.
- Patel, B., Crisp, D.J., 1960. The influence of temperature on the breeding and the moulting activities of some warmwater species of operculate barnacles. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 39: 667–680.
- Raimondi, P.T., 1990. Patterns, mechanisms, consequences of variability in settlement and recruitment of an intertidal barnacle. *Ecological Monographs*, 60: 283– 309.
- Rainbow, P.S., 1984. An introduction to the biology of British littoral barnacles. *Field studies*, 6: 1-51.
- Range, P., Paula, J., 2001. Distribution, abundance and recruitment of *Chthamalus* (Crustacea: Cirripedia) populations along the central coast of Portugal, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81: 461-468.
- Rissgard, H.U., Christensen, P.B., Olesen, N.J., Petersen, J.K., Moller, M.M., Anderson P., 1995. Biological structure in a shallow cove (Kertinge Nor, Denmark). Control by benthic nutrient fluxes and suspension-feeding ascidians and jellyfish. *Ophelia international journal of marine biology*, 41: 329–344.
- Rodhouse, P.G., Roden, C.M., Burnell, G.M., Hensey, M.P., McMahon, T., Ottway, B., Ryan, T. H., 1984. Food resource, gametogenesis and growth of *Mytilus edulis* on the shore and in suspended culture: Killary Harbour, Ireland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 64: 513-529.
- Rodríguez, S.R., Ojeda, F.P., Inestrosa, N.C., 1992. Inductores químicos del asentamiento de invertebrados marinos bentónicos: importancia y necesidad de su estudio en Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 65: 297-310.
- Saldanha, L., 1974. Estudo do povoamento dos horizontes superiores da rocha litoral da costa da Arrábida (Portugal). Dissertação apresentada à Universidade de Lisboa para obtenção do grau de Doutor em Ciências (Especialidade: Ecologia Animal). Faculdade de Ciências de Lisboa, 382.

- Sanford, E., Menge, B.A., 2001. Spatial and temporal variation in barnacle growth in a coastal upwelling system. *Marine Ecology Progress Series*, 209: 143–157.
- Santos, A.E., 2000. Intertidal ecology of northern Portuguese rocky shores. Faculty of Science, University of Southampton, 166.
- Scardino, A.J., 2009. Surface modification approaches to control marine biofouling. In Hellio C, Yebra D, editors. *Advances in marine antifouling coatings and technologies. Cambridge (UK): Woodhead Publishing Ltd.* 664-692.
- Sousa, A., Jacinto, D., Penteadó, N., Martins, P., Fernandes, J., Silva, T., Castro, J.J., 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.
- Stachowitsch, M., Kikinger, R., Herler, J., Zolda, P., Geutebruck, E., 2002. Offshore oil platforms and fouling communities in the southern Arabian Gulf (Abu Dhabi). *Marine Pollution Bulletin*, 44: 853-860.
- Stewart, A.T.M., Fragoso, B.D.D., Clímaco, R., Icely, J.D., 2014. Evaluation of stakeholder perspectives on the management of the stalked barnacles (*Pollicipes pollicipes*) resource in the Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina, Portugal. *Marine Policy*, 43: 71-79.
- Taylor, J.J., Southgate, P.C., Rose, R.A., 1997. Fouling animals and their effect on the growth of silverlip pearl oysters, *Pinctada maxima* (Jameson) in suspended culture. *Aquaculture*, 153 :31-40
- Tettelbach, S.T., Tetrault, K., Carroll, J., 2012. Efficacy of Netminder®silicone release coating for biofouling reduction in bay scallop grow-out and comparative effects on scallop survival, growth and reproduction. *Aquaculture Research*, 45(2): 234-242.
- Thomason, J.C., Hills, J.M., Clare, A., Richardson, A.N., 1998. Hydrodynamic consequences of barnacle colonization. *Hydrobiologia*, 375/376: 191-201.
- Turchin, P., 2003 *Complex population dynamics*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Underwood, A.J., 1997. *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Walter, U., Liebezeit, G., 2001. Abschlußbericht des Projektes: Nachhaltige Miesmuschel-Anzucht im niedersächsischen Wattenmeer durch die Besiedlung natürlicher und künstlicher Substrate. Wilhelmshaven (Germany): Forschungszentrum Terramare, 99. In: Joschko, T.J., Buck., B.H., Gutow, L., Schroder, A., 2008. Colonization of an artificial hard substrate by *Mytilus edulis* in the German Bight. *Marine Biology Research*, 4: 350-360.
- Willemsen, P.R., 2005. Biofouling in European Aquaculture: is there an easy Solution? *European Aquaculture Society Special Publication*, 35: 82-87.
- Winer, B.J., Brown, D.R., Michels, K.M., 1991. *Statistical Principles in Experimental Design*. McGraw-Hill, New York, 1057.
- Yebra, D.M., Kiil, S., Dam-Johansen, K., 2004. Antifouling technology – past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coating*, 50: 75-104.