

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Efeitos Ambientais nas Condições de Crescimento dos Estados  
Larvares de *Sardina pilchardus* na Costa Portuguesa e Golfo de  
Cádiz**

Sónia Lídia Delfino Antunes

**Mestrado em Ecologia Marinha**

Dissertação orientada por:  
Professor Doutor Pedro Miguel Alfaia Barcia Ré  
Investigadora Doutora Carla Susana Ferreira Garrido Coelho

2023

*“Há mulheres que trazem o mar nos olhos  
Pela grandeza da imensidão da alma  
Pelo infinito modo como abarcam as coisas e os homens...  
Há mulheres que são maré em noites de tardes...  
E calma”*  
Adelina Barradas de Oliveira

# Agradecimentos

O presente estudo foi inserido no projeto SARDINHA2020 e, como tal, fui inserida na equipa de investigadores que o desenvolveu. Obrigada pela oportunidade!

Expresso também os meus agradecimentos:

Ao Professor Manuel Piedade e ao Doutor Ricardo Simões, do Centro de Química e Bioquímica e Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, bem como, à Doutora Vânia Baptista, do Centro de Ciências Marinhas (CCMAR) da Universidade do Algarve, por disponibilizarem o espaço necessário à realização de determinadas etapas deste estudo.

Aos meus orientes, o Professor Doutor Pedro Ré, Doutora Susana Garrido e Doutora Isabel Meneses (embora que *off record*) por me terem lançado este desafio e por todo o acompanhamento e tempo despendido.

Um especial agradecimento à Doutora Susana Garrido, à Doutora Isabel Meneses e à Doutora Ana Moreno, não só porque contribuíram enormemente para o meu desenvolvimento pessoal, mas também pelo seu apoio incondicional, pelo animo que me deram que me ajudou a vencer cada batalha, que surgiu ao longo destes 4 anos, na minha vida e na minha saúde. Vocês sempre foram o farol que me orientou de volta ao meu trabalho: muito obrigada!

A todos os meus colegas do Instituto Português do Mar e da Atmosfera, que muito me ensinaram e me apoiaram, os quais recordo com grande gratidão. Quero agradecer em particular à minha colega Ivânia Quaresma, a partilha do seu conhecimento comigo.

À minha amiga de toda uma vida Teresa Taborda, da Direção Geral de Recursos Naturais Segurança e Serviços Marítimos (DGRM), ao meu pai, Joaquim Antunes, e ao meu grande amigo Pedro Guimarães, sem eles esta grande aventura nunca teria começado nem acabado. Obrigada por toda a força, por todo o carinho e por nunca deixarem de acreditar em mim!

Por último, mas não menos importante, aos meus amigos, poucos, mas verdadeiros, que fazem parte da minha família e me dão a grande honra de fazer parte das suas vidas. Um especial “Obrigada” à minha querida amiga Mena Ramires, que permitiu eu ter o tempo e a disponibilidade necessários para concluir este trabalho.

## Abstract

*Understanding recruitment variability of small pelagic fish is essential in the study of dynamics of the populations. Main drivers of recruitment success are sought to be environmental conditions such as temperature and food availability influencing survival of the early life stages. In the present study, we analyse the nutritional condition and growth of the larvae of the European sardine, *Sardina pilchardus*, off the Portuguese coast at the beginning and in the end of the spawning season, when larvae experience distinct environmental conditions. The number of increments and the width of the last three increments were determined on the otoliths and the dry weight and DNA content were analysed for the same larvae. Generalized additive models (GAM) were used to examine the influence of environmental variables on larvae distribution and individual growth rates. At the beginning of the spawning season (late autumn) larvae were found mainly in the vicinity of river freshwater runoff, restricted to the more productive and colder water masses. During spring, when high chlorophyll-*a* concentrations extend to a wider area, sardine larval stages were more homogeneously distributed throughout the surveyed area. Larval growth was higher during the fall off the western Iberian coast when compared to the spring off the west and south coasts, which is probably related to the higher temperature. Growth increased with increasing Chl*a* and higher temperature. Nutritional condition of sardine larvae was higher during spring in the west coast when compared to the fall. Larvae in higher nutritional condition occurred in areas with lower temperature and salinity. This work allowed to advance our understanding of the environmental factors impacting growth and survival of sardine larvae off the Portuguese continental coast.*

**Keywords:** Otolith microstructure; Fish larvae; DNA mg<sup>-1</sup>; *Sardina pilchardus*

## Resumo

Compreender a variabilidade de recrutamento de pequenos peixes pelágicos é essencial no estudo da dinâmica das populações. O sucesso do recrutamento está intrinsecamente relacionado com as condições ambientais, sendo a temperatura e a disponibilidade de alimento os fatores principais que se identificam como influenciando a sobrevivência dos estágios iniciais de desenvolvimento. No presente estudo, analisámos a condição nutricional e o crescimento de larvas da *Sardina pilchardus* ao largo da costa portuguesa no início e no final da época de desova, em condições ambientais distintas. Determinou-se para cada larva o número de incrementos dos otólitos e a largura dos três últimos incrementos, bem como o peso seco e o conteúdo em DNA das larvas. Modelos aditivos generalizados (GAM) foram usados para examinar a influência de variáveis ambientais na distribuição das larvas e nas taxas de crescimento individual. No início da época de desova (final do Outono) as larvas encontraram-se principalmente junto da foz dos rios onde as massas de água são mais produtivas e mais frias. Na primavera, quando as altas concentrações de clorofila-*a* se estendem para uma área mais ampla, os estágios larvares da sardinha estavam distribuídos de uma forma mais homogénea em toda a área rastreada. Durante o outono, o crescimento larval foi maior na costa oeste ibérica comparado com o crescimento observado na primavera nas costas oeste e sul, o que provavelmente, está relacionado com a temperatura mais elevada. O crescimento aumentou com o aumento de Chl*a* e de temperatura. A condição nutricional das larvas de sardinha foi maior durante a primavera na costa oeste comparada com o outono. Larvas em maior condição nutricional ocorreram em áreas com menor temperatura e salinidade. Este trabalho permitiu estender a nossa compreensão sobre os fatores ambientais que afetam o crescimento e a sobrevivência das larvas da sardinha ao largo da costa continental portuguesa.

**Keywords:** Microestrutura dos otólitos; Larvas de peixe; DNA mg<sup>-1</sup>; *Sardina pilchardus*

# Índice

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b> .....	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE EQUAÇÕES</b> .....	<b>XI</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS</b> .....	<b>XII</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 Contexto Ecológico e Socioeconómico .....	1
1.2 Ecologia e Biologia dos Estados Larvares de <i>Sardina pilchardus</i> .....	2
1.3 A Análise da Microestrutura dos Otólitos .....	5
1.4 Hipóteses para Explicar a Variabilidade do Desenvolvimento e Sobrevivência dos Estados Larvares e Subsequente Força de Recrutamento .....	7
1.4.1 Fatores Ambientais que Influenciam o Estado Larvar e Controlam o Recrutamento ....	11
1.5 Caracterização da Área de Estudo: Costa Atlanto-Ibérica.....	12
1.5.1 Costa Ocidental da Galiza (Sub-divisão ICES 9aN).....	14
1.5.2 Costa Ocidental de Portugal (Sub-divisões ICES OCN e OCS) .....	14
1.5.3 Costa Sul da Península Ibérica (ALG e CAD) .....	16
1.6 Condição Nutricional das Larvas: Crescimento e Concentração de Ácidos Nucleicos .....	18
1.7 Objetivos.....	19
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
2.1 Área de Estudo e Estratégia de Amostragem .....	20
2.2 Procedimentos Laboratoriais .....	21
2.2.1 Análise da Microestrutura dos Otólitos .....	22
2.2.2 Quantificação dos Ácidos Nucleicos .....	23
2.3 Análise dos Dados .....	24

<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>26</b>
3.1 Condições Oceanográficas.....	26
3.2 Distribuição e Abundância das Larvas de Sardinha .....	28
3.3 Comprimento e Peso das Larvas de Sardinha .....	32
3.4 Microestrutura dos Otólitos .....	38
3.5 Crescimento das Larvas .....	40
3.6 Condição Nutricional .....	41
3.7 Influência de Variáveis Ambientais na Distribuição de Ovos e Larvas e no Crescimento e Condição Nutricional dos Estados Larvares da Sardinha .....	42
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	<b>56</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>57</b>

# Índice de Figuras

Nº	Título	Pág.
1.1	Sumário da avaliação do stock de sardinha nas divisões 8.c e 9.a, (ICES, 2021). O gráfico da esquerda, representa a biomassa avaliada (em milhões de toneladas), onde MSY corresponde a <i>Maximum Sustainable Yield</i> . O gráfico da direita, representa a força do recrutamento (em milhares de indivíduos), (ICES, 2021).	2
1.2	Representação esquemática da posição do labirinto membranoso, à esquerda; representação esquemática da face distal do labirinto membranoso, à direita, (imagens de Assis, 2000).	5
1.3	Padrão de correntes superficiais do Atlântico Norte. AC – Corrente das Antilhas; CCC – Contra Corrente das Caraíbas; LC – Corrente Loop; AF – Frente dos Açores; SAF – Frente subantártica (imagem de Cunha (2001)).	13
1.4	Localização das zonas oceanográficas em estudo (adaptado de <a href="http://www.ices.dk">www.ices.dk</a> e de <a href="http://www.ipma.pt">www.ipma.pt</a> ).	14
1.5	Representação do Ecossistema de Afloramento do Oeste da Península Ibérica ( <i>Western Iberia Upwelling Ecosystem, WIUE</i> ), decomposto nas suas principais características oceanográficas, nomeadamente: a <i>Western Iberia Buoyant Plume (WIBP)</i> , a Corrente Ibérica para o polo ( <i>Iberian Poleward Current, IPC</i> ) e filamentos de afloramento ( <i>UpF</i> ). As linhas batimétricas até aos 250m são apresentadas para localizar a quebra na plataforma continental (Imagem adaptada de Santos <i>et al.</i> , 2007).	16
1.6	Representação da circulação superficial na costa Algarvia e Golfo de Cádiz. Em que “ <i>UpF</i> ” representa um dos filamentos de afloramento da costa portuguesa; “ <i>Pt-Can Stm</i> ” representa um ramo da corrente oriental de grande escala Portugal-Canárias que se desvia para Este no Golfo de Cádiz e que se move em torno da célula <i>eddy</i> “ <i>E1</i> ” ao largo do Cabo de São Vicente. Esta corrente move-se ainda mais para Este onde se divide em 2 partes, uma que alimenta diretamente o fluxo de entrada no Mediterrâneo ( <i>Flx Med</i> ) e outra parte que vira para Sul para se juntar à corrente das Canárias. A célula <i>eddy</i> a Este do Cabo de Santa Maria “ <i>E2</i> ”, é uma formação associada ao padrão de ventos predominantes (Imagem adaptada de García-Lafuente <i>et al.</i> (2006)).	17
2.1	Localização das estações de amostragem consideradas neste estudo. JUV_17 (à esquerda) e PEL_18 (à direita).	21
3.1	Distribuição horizontal da <i>Temperatura de Superfície (SST)</i> , em °C, referente às campanhas JUV_17, à esquerda, e PEL_18, à direita.	26

3.2	Distribuição horizontal da <i>Salinidade de Superfície (SSS)</i> , em PSU, referente às campanhas JUV_17, à esquerda, e PEL_18, à direita.	27
3.3	Distribuição horizontal da concentração da Clorofila-a (Chla), em mg/m <sup>3</sup> , referente às campanhas JUV_17, à esquerda, e PEL_18, à direita.	28
3.4	Abundância de larvas (cima) e ovos (baixo) de sardinha, capturados nas estações amostradas da JUV_17 (à esquerda) e da PEL_18 (à direita). As estações com as maiores abundâncias estão assinaladas a amarelo e aquelas em que não foram encontradas larvas nem ovos, estão assinaladas com uma cruz vermelha, nas duas campanhas.	30
3.5	Abundância de ovos e larvas de sardinha por estação nas campanhas JUV_17 (em cima) e PEL_18 (em baixo).	32
3.6	a) e c) Boxplots dos comprimentos de larvas de sardinha recolhidas na campanha JUV_17 (cima) e PEL_18 (baixo); b) e d) Boxplots dos comprimentos por estação de larvas de sardinha recolhidas na campanha JUV_17 (cima) e PEL_18 (baixo).	33
3.7	Frequências relativas dos estados larvares de sardinha por classes de comprimento nas estações consideradas nas campanhas JUV_17 e na PEL_18.	34
3.8	Abundância de larvas por classes de tamanho, em mm e por estações das campanhas JUV_17 e PEL_18.	35
3.9	Relação entre o peso seco, em mg, e o respetivo comprimento padrão ( <i>SL</i> ), em mm, das larvas de sardinha capturadas nas campanhas JUV_17 e PEL_18.	38
3.10	Raio dos otólitos ( $\mu\text{m}$ , média $\pm\text{SD}$ , Painel A) e Incrementos (número, média $\pm\text{SD}$ , Painel B) dos otólitos <i>sagittae</i> e <i>lapilli</i> das larvas recolhidas nas campanhas JUVESAR17 (juv) e PELAGO18 (pel).	39
3.11	Relação entre as larvas de sardinha capturadas nas campanhas JUV_17 (esquerda) e PEL_18 (direita): a) e b) o raio dos otólitos, em $\mu\text{m}$ , e o respetivo comprimento padrão ( <i>SL</i> ), em mm; c) e d) o raio dos otólitos, em $\mu\text{m}$ , e a respetiva idade, em <i>dph</i> .	40
3.12	Modelo de Gompertz ajustada ao crescimento das larvas de sardinha durante a campanha JUV_17 (preto) e PEL_18 (azul).	41
3.13	DNA/mg das larvas em função do seu tamanho em cada uma das zonas de captura (ocidental norte, ocidental sul e algarve) para: a) Campanha PEL_18, b) Campanha JUV_17 e c) Larvas recolhidas na costa ocidental nas duas campanhas.	41

3.14	Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre_Região (Outono_Oeste, Primavera_Oeste, Primavera_Sul) na densidade de larvas ( $\sqrt{\text{Dlarvas}}$ ). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).	43
3.15	Resultado do GAM com melhor ajuste: efeitos parciais das variáveis contínuas (a) Profundidade (PF, m), (b) Temperatura superficial da água (SST, °C), e (c) densidade de ovos ( $\sqrt{\text{Dovos}}$ , ovos/m <sup>3</sup> ) na densidade de larvas.	44
3.16	Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre_Região (Outono_Oeste, Primavera_Oeste, Primavera_Sul) na taxa de crescimento das larvas (TC). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).	45
3.17	Resultados dos GAMs ilustrando a relação entre a Taxa de Crescimento e as variáveis ambientais explicativas (a) Clorofila-a (Chla, mg/m <sup>3</sup> ), (b) Temperatura superficial da água (SST, °C), (c) Profundidade (PF, m) e (d) Comprimento da larva (SL, mm).	46
3.18	Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre_Região (Outono_Oeste, Primavera_Oeste, Primavera_Sul) na condição nutricional das larvas (lnDNA/mg). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).	48
3.19	Resultados dos GAMs ilustrando a relação entre a Condição nutricional (lnDNA) e as variáveis ambientais explicativas (a) Temperatura superficial da água (SST, °C), (b) Salinidade superficial da água, (c) Clorofila-a (Chla, mg/m <sup>3</sup> ) e (d) Comprimento da larva (SL, mm).	48
3.20	Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre_Região (Outono_Oeste, Primavera_Oeste, Primavera_Sul) no Crescimento dos 3 Últimos Anéis (lnC3). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).	50
3.21	Resultados dos GAMs ilustrando a relação entre o Crescimento dos 3 Últimos Anéis e as variáveis ambientais explicativas (a) Clorofila-a (Chla, mg/m <sup>3</sup> ) Temperatura superficial da água (SST, °C), (c) Densidade das larvas ( $\sqrt{\text{Dlarvas}}$ , larvas/m <sup>3</sup> ).	50

# Índice de Tabelas

Nº	Título	Pág.
1.1	Relação entre a ocorrência de afloramento e a época de postura da sardinha, segundo a literatura. As cores mais escuras correspondem a afloramentos e postura mais intensos e as cores mais esbatidas correspondem a afloramentos e postura residuais.	15
2.1	Resumo da amostragem nas duas campanhas, JUV_17 e PEL_18.	20
3.1	Densidade de ovos e larvas de Sardinha, Biqueirão e Outros Peixes (Outros) por metro cúbico de água filtrada, nas duas campanhas. Espécies apresentadas com o seu código FAO; <i>Sardina pilchardus</i> – PIL e <i>Engraulis encrasicolus</i> – ANE.	28
3.2	Média de abundância por 100m <sup>3</sup> de ovos e larvas de Sardinha, por zona oceanográfica em cada campanha.	29
3.3	Número de observações, média, máximo, mínimo, variância e desvio padrão das variáveis: comprimento, peso seco, idade e taxa de crescimento.	33
3.4	Abundâncias de larvas (n.100m <sup>-3</sup> ) que foram encontradas por classe de tamanho e por estação, na JUV_17.	36
3.5	Abundâncias de larvas (n.100m <sup>-3</sup> ) que foram encontradas por classe de tamanho e por estação, num quarto da amostra analisada da PEL_18.	37
3.6	Parâmetros da Função GLM da variação do DNA/mg das larvas em função do seu tamanho e da zona de captura (ocidental Norte, ocidental Sul e Algarve) para larvas recolhidas na campanha PEL_18 e JUV_17.	42
3.7	Matriz de correlação – Densidade de Larvas	42
3.8	Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para a Densidade de Larvas com a variável categórica Trimestre_Região e as variáveis ambientais ( <i>smoothers</i> ) Profundidade (PF), Temperatura média até 20m (T_20m) Temperatura superficial da água (SST) e Densidade de ovos (sqrtDovos). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 ‘****’ 0.001 ‘***’ 0.01 ‘**’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1.	43
3.9	Matriz de correlação – Taxa de Crescimento	44

3.10	Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para a Taxa de Crescimento com a variável categórica Trimestre_Região e as variáveis ambientais ( <i>smoothers</i> ) Profundidade (PF), Clorofila_a (Chla), Temperatura superficial da água (SST) e comprimento da larva (SL). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1.	45
3.11	Matriz de correlação – Condição Nutricional (DNA/peso seco)	46
3.12	Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para a Condição Nutricional (lnDNA mg <sup>-1</sup> ) com a variável categórica Trimestre_Região e as variáveis ambientais ( <i>smoothers</i> ) Temperatura superficial da água (SST), Salinidade superficial da água (SST), Clorofila_a (Chla) e comprimento da larva (SL). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1.	47
3.13	Matriz de correlação – Crescimento dos Três Últimos Anéis	49
3.14	Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para o Crescimento dos 3 Últimos Anéis (C3) com a variável categórica Trimestre_Região e as variáveis ambientais ( <i>smoothers</i> ) Clorofila_a (Chla), Temperatura superficial da água (SST), densidade de larvas (sqrtDlarvas) e comprimento da larva (SL). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1.	49

# Índice de Equações

<b>Nº</b>	<b>Título</b>	<b>Pág.</b>
2.1	Equação de Crescimento de Gompertz	24
3.1	Equação de Crescimento das larvas na campanha JUV_17	40
3.2	Equação de Crescimento das larvas na campanha PEL_18	40

## Lista de Símbolos e Abreviaturas

#	Estação de Amostragem
AC	Antillean Current (Corrente das Antilhas)
AF	Azores Front (Frente dos Açores)
ALG	Algarve
ANE	Biqueirão: <i>Engraulis encrasicolus</i> (Linnaeus, 1758)
BO60	Rede BONGO_60
BO90	Rede BONGO_90
C3	Crescimento dos três últimos anéis dos otólitos das larvas de sardinha
CAD	Cádiz
CCC	Caribbean Counter Current (Contra Corrente das Caraíbas)
Chl_a ou Cla	Chlorophyll_a (Clorofila_a)
CL	Comprimento Total da Larva
CTDF	Conductivity Temperature Depth/pressure and Fluorescence (Condutividade Temperatura Profundidade/pressão e Fluorescência)
Dcosta	Distância à costa
DIC	Differential Interference Contrast (Contraste de Interferência Diferencial)
Dlarvas	Densidade de larvas
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
Dovos	Densidade de ovos
dph	Days Post Hatch (Dias Pós Eclosão)
FAO	FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)
GAMs	Generalized Additive Models (Modelos Aditivos Generalizados)
ICES	International Council for the Exploration of the Sea (Conselho Internacional para a Exploração do Mar).

IPC	Iberian Poleward Current (Corrente Ibérica Polar)
IPMA	Instituto Português do Mar e da Atmosfera
JUV_17	JUVESAR_2017
LC	Loop Current (Corrente Loop)
MW	Mediterranean Water (água do mediterrâneo)
NAO	North Atlantic Oscillation (Oscilação Norte-Atlântica)
OCN	Occidental Coastal North (Costa Ocidental Norte)
OCS	Occidental Coastal South (Costa Ocidental Sul)
PEL_18	PELAGO_2018
PF	Profundidade do Fundo
PIL	Sardinha: <i>Sardina pilchardus</i> (Walbaum, 1792), código FAO
RNA	Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucleico)
S_20m	Salinidade integrada da coluna de água dos 0 a 20 m de profundidade
SAF	Subantarctic Front (Frente subantártica)
SL	Standard Length (Comprimento padrão)
SPF	Small Pelagic Fish (Pequenos Peixes Pelágicos)
SSS	Sea Surface Salinity (Salinidade Superficial da Água do Mar)
SST	Sea Surface Temperature (Temperatura de Superfície da Água do Mar)
T_20m	Temperatura integrada da coluna de água dos 0 a 20 m de profundidade
TC	Taxa de Crescimento
UpF	Upwelling Filaments (Filamentos de Afloramento)
VIFs	Variance Inflation Factor (Fator de Inflação de Variação)
WIBP	Western Iberia Buoyant Plume (Pluma Flutuante da Ibéria Ocidental)
WIUE	Western Iberia Upwelling Ecosystem (Ecossistema de afloramento da Península Ibérica Ocidental)

# 1 Introdução

## 1.1 Contexto Ecológico e Socioeconómico

A espécie de pequeno peixe pelágico mais abundante nas águas costeiras da Península Ibérica é a sardinha, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) da família *Clupeidae* (Ré & Meneses, 2008; Garrido *et al.*, 2009). Os pequenos peixes pelágicos, *Small Pelagic Fish (SPF)* como a sardinha são uma componente chave dos ecossistemas de afloramento inclusivamente na costa continental portuguesa, na medida em que, ao serem predados por muitas outras espécies de peixes, aves e mamíferos marinhos, suportam a integridade dos ecossistemas pelágicos e das suas cadeias tróficas (Cury *et al.*, 2008; Marçalo *et al.*, 2018; Veiga-Malta *et al.*, 2018; ICES, 2021).

Pela elevada abundância histórica nas águas Portuguesas, a sardinha tornou-se um ícone da gastronomia constituindo uma das espécies de maior importância comercial e cultural para o país (Douglas, 2012; Silva *et al.*, 2015; ICES, 2021) sofrendo durante anos, uma grande pressão por parte do setor pesqueiro nos seus stocks Ibéricos (Silva *et al.*, 2015). Como para todos os *SPF* com ciclos de vida curtos, a abundância das populações desta espécie é propensa a periódicos colapsos que podem afetar dramaticamente tanto as comunidades humanas como ecológicas (Hjort, 1914; Lasker, 1981; Bellier *et al.*, 2007; Gantias *et al.*, 2014; ICES, 2018).

“From the earliest times, a characteristic feature in all branches of the fishing industry has been the fluctuation of the respective yields from year to year.”

“These periodical fluctuations have as a rule been of some considerable duration, a series of years of profitable fishery succeeding and succeeded by several years of dearth.”

(Hjort, 1914, p. 3)

Uma gestão eficiente da pesca da sardinha é crucial para mitigar os impactos destas diminuições de biomassa, principalmente após a ocorrência de vários anos consecutivos de baixo recrutamento (Lasker, 1981). Entende-se como recrutamento, o número de indivíduos jovens que sobrevive às primeiras fases de vida, nomeadamente a fase de ovo e larva, chegando a uma idade em que a mortalidade natural se estabiliza, o que tipicamente ocorre perto da fase adulta. Nestes cenários, de decréscimo de stock, o esforço de pesca amplifica a variabilidade natural do recrutamento, acentuando os valores mínimos da biomassa desovante, correndo o risco de o stock passar de um ponto de não retorno (Lasker, 1981; Silva *et al.*, 2015). Na sequência de uma importante descida de abundância do stock ibérico de sardinha na última década, impuseram-se fortes restrições à sua captura no sentido de diminuir o esforço de pesca nos adultos desta espécie. Assim, após uma década de baixa abundância de sardinha e baixos recrutamentos, assistiu-se a uma subida dos níveis da biomassa (Figura 1.1, painel esquerdo) e do recrutamento (Figura 1.1, painel direito) ao largo da costa Ibero-Atlântica a partir de 2020 (Santos *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2015; ICES, 2021).

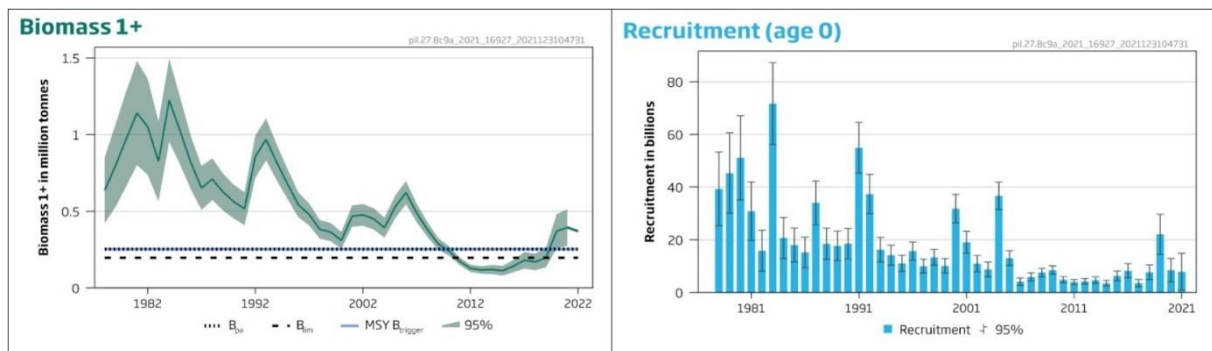


Figura 1.1. Sumário da avaliação do stock de sardinha nas divisões 8.c e 9.a, (ICES, 2021), correspondente a toda a costa Ibero Atlântica, desde o Mar Cantábrico ao Golfo de Cádiz. O gráfico da esquerda, representa a biomassa avaliada (em milhões de toneladas), onde MSY corresponde a *Maximum Sustainable Yield*. O gráfico da direita, representa a força do recrutamento (em milhares de indivíduos), (ICES, 2021).

A força do recrutamento é determinante para manter as populações de pequenos pelágicos em níveis elevados de abundância, e o sucesso do recrutamento depende maioritariamente da sobrevivência dos primeiros estádios de vida, nomeadamente de ovo e larva (Lasker, 1975; Cushing, 1990; Agostini & Bakun, 2002; Houde, 2008; Pepin, 2015; Houde, 2018). Para estudar a dinâmica das populações Ibero-Atlânticas da sardinha, é imprescindível saber como é que as suas larvas sobrevivem até atingirem a idade de recrutamento e os principais fatores ambientais que governam a taxa de sobrevivência. Assim, o estudo destes primeiros estádios de vida pode contribuir para prever o sucesso do recrutamento e, consequentemente, melhorar a gestão do stock Ibero-Atlântico de sardinha.

“To what extent can a pelagic stock be fished before subsequent year classes resulting from that stock are affected?” “At what population size of a fish can recruitment, the successful survival of fish from hatching to a size exploitable by a fishery, be shown to be density dependent, if at all?” Answers to these questions would help greatly in elucidating the relationship between stock and recruitment and ultimately the management of highly volatile pelagic stocks.”

(Lasker, 1981, p. 80-81)

## 1.2 Ecologia e Biologia dos Estados Larvares de *Sardinha pilchardus*

As sardinhas geralmente ocupam sistemas de afloramento costeiro ou *upwelling* (Cushing *et al.*, 2018). A sardinha tem uma distribuição ao longo da costa oriental Norte Atlântica, desde a Islândia e mar do Norte até ao Senegal, incluindo o mar Mediterrâneo (Parrish *et al.*, 1989), fazendo da costa Ibero-Atlântica a sua principal área de desova a seguir à costa noroeste de Marrocos (Stratoudakis *et al.*, 2007; Garrido *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2018). Dentro do seu habitat os seus movimentos são relativamente restritos, transitando entre zonas de afloramento vizinhas (Cushing *et al.*, 2018). À semelhança de outras espécies de peixes pelágicos costeiros que habitam a costa Ibero-Atlântica, os adultos da *S. pilchardus*, agregam-se em cardumes (Ré & Meneses, 2008), alimentando-se de organismos planctónicos existentes na coluna de água (Garrido, 2007b; Garrido *et al.*, 2007a, 2008; Morote *et al.*, 2010).

As sardinhas, assim como outros pelágicos de pequenas dimensões, têm um rápido crescimento, mas possuem um ciclo de vida curto (Costalago & Palomera, 2014; Garrido *et al.*, 2015), razões que as tornam suscetíveis a quaisquer variações ambientais dentro dos seus ecossistemas (Teodósio *et al.*, 2016). De modo a compensar este facto e aumentar a sobrevivência dos ovos e larvas, sobressaem duas estratégias parentais que se traduzem em: 1) períodos de postura prolongados, que costumam ser mais longos a baixas latitudes e em zonas de afloramento; e 2) fecundidade alta, produzindo muitos ovos por massa corporal, experienciando também uma alta mortalidade nos primeiros estágios de vida (May,

1974; Silva & Miranda, 1992; Riveiro *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2013; Gantias *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2015). As fêmeas assumem a maturidade sexual cedo e reproduzem-se sazonalmente existindo múltiplas posturas por época, estratégia *bet-hedging*, garantindo que os ovos fecundados eclodem aproveitando a melhor “janela temporal” que reúne as condições ambientais mais favoráveis que assegurem a sobrevivência da coorte (Ramos *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2013; Gantias *et al.*, 2014). A composição bioquímica dos ovos adapta-se às temperaturas que oscilam durante a época da postura (Riveiro *et al.*, 2004) sendo que, as posturas feitas a temperaturas mais altas dentro da tolerância térmica dos ovos, beneficiam de maiores taxas de desenvolvimento embrionário, o que se traduz, numa redução do período de incubação (Riveiro *et al.*, 2004).

A época de postura também depende grandemente da temperatura da água (Coombs *et al.*, 2006; Ramos *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2011; Gantias *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2016) e estende-se ao longo da costa continental portuguesa e do golfo de Cádiz por um período bastante alargado, durante os meses de outubro a abril, atingindo o seu auge entre dezembro e fevereiro, tirando o maior partido das condições favoráveis para o desenvolvimento e crescimento dos seus ovos e larvas (Ré *et al.*, 1990; Stratoudakis *et al.*, 2007; Ré & Meneses, 2008; Garrido *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2011; Gantias *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2014). A duração da época de postura está diretamente relacionada com a maturidade das fêmeas e a sua fecundidade, sendo que fêmeas de maiores tamanhos são capazes de suportar períodos de postura mais alargados e produzirem um maior número de ovos (Stratoudakis *et al.*, 2007; Nunes *et al.*, 2011). Uma vez na coluna de água, a fecundação dos ovos é externa, são *broadcast spawners*, *i. e.*, tanto o macho como a fêmea libertam os seus gâmetas na água sem necessidade de cuidados parentais (Nunes *et al.*, 2011; Gantias *et al.*, 2014). Este processo, ocorre preferencialmente a temperaturas de 13°-17°C, estando otimizado entre os 14° e 15°C, temperaturas da água correspondentes com o mês de dezembro na costa Oeste portuguesa (Ré *et al.*, 1990), evitando temperaturas inferiores a 12°C e superiores a 18°C (Stratoudakis *et al.*, 2007; Gantias *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2016).

Tal como a maioria dos ovos e larvas dos peixes marinhos, os ovos e larvas da sardinha são planctónicos (Lasker, 1963; Ré *et al.*, 1988), derivam na coluna de água desprovidos de natação ativa para se deslocar, dependendo das correntes oceânicas para o fazer (Buckley, 1984; Houde, 2018). Constituem, assim, uma parte do ictioplâncton, uma fração pequena, mas crucial do zooplâncton que é consumido por uma variedade de predadores pelágicos e nectónicos (Buckley, 1984; Houde, 2018). Os ovos medem cerca de 0,8 a 1,3 mm de diâmetro e desenvolvem-se num intervalo de 3 a 5 dias após a fertilização (Ré & Meneses 2008; Garrido *et al.*, 2015). No fim deste período eclode uma larva com cerca de 3,5 mm (+/- 1mm) de comprimento (Ré, 1986; Silva & Miranda, 1992; Santos *et al.*, 2007; Ré & Meneses, 2008; Silva *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2016). Logo após a eclosão, as larvas alimentam-se das reservas vitelinas que possuem nos primeiros 2/3 dias (Garrido *et al.*, 2016). Estas reservas têm uma importância relevante (Lasker, 1963), pois a boca ainda não está desenvolvida o que não permite a alimentação exógena (Silva & Miranda, 1992). Esta, só começa a ser possível aproximadamente 3 a 5 dias *dph* (pós eclosão ou *days post hatch*) quando se dá a completa pigmentação dos olhos e a abertura da mandíbula (Ré, 1986; Silva & Miranda, 1992; Garrido *et al.*, 2016). As larvas, tal como os adultos da sardinha, são plânctívoras. A disponibilidade, o tamanho e o tipo de alimento adequado são cruciais para assegurar um crescimento rápido e a sua sobrevivência (Caldeira *et al.*, 2014; Houde, 2018), tornando-se evidente o delicado balanço entre as necessidades metabólicas destes organismos e a sua primeira alimentação (Lasker, 1963). Em populações naturais de sardinhas, a falta de alimento é considerada uma das principais causas de morte larvar no momento em que estas transitam para uma alimentação exógena (Riveiro *et al.*, 2004; Garrido *et al.*, 2015). Contudo, logo no início desta alimentação, de 3 a 5 após a eclosão (Silva & Miranda, 1992; Garrido *et al.*, 2016), as larvas não são capazes de ingerir presas de dimensões grandes, como as fases naupliares dos copépodes (Caldeira *et al.*, 2014), que fazem parte da sua dieta em estádios larvares mais avançados (Morote *et al.*, 2010). Esta limitação física sugere que os primeiros estádios larvares dependem de presas mais pequenas e menos móveis, como os tintídeos,

fitoplâncton ou larvas de moluscos e ciliados (Morote *et al.*, 2010; Caldeira *et al.*, 2014). Nos estágios iniciais, a orientação e a proximidade a presas adequadas são fundamentais, pois as larvas dependem das agregações de plâncton que existem no ambiente pelágico para se alimentarem (Lasker, 1963; Silva *et al.*, 2014). Ao longo da sua ontogenia, desenvolvem capacidades de natação que vão melhorando progressiva e significativamente, com o aumento do seu tamanho/ idade (Silva *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2016).

A capacidade natatória tem início entre os 18 e os 22 *dph*, coincidindo com a flexão da notocorda e a formação da barbatana caudal (Ré, 1986; Silva *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2016), que lhes permite aumentar o sucesso da sua alimentação e melhorar a sua condição nutricional (Garrido *et al.*, 2016). Por esta altura, as larvas de sardinha começam a assumir um comportamento ativo de predação no que diz respeito à procura e captura das suas presas planctónicas (Houde, 1997; Morote *et al.*, 2010; Garrido *et al.*, 2016). As larvas de sardinha dominam os agregados de ictioplâncton das águas Ibero-Atlânticas, exercendo um controle do tipo *bottom-up* nos aglomerados de plâncton (Garrido *et al.*, 2009; Caldeira *et al.*, 2014). São predadoras visuais e alimentam-se durante o período diurno, selecionando as presas e ingerindo presas de tamanho limitado pelo tamanho da sua boca (Houde, 1997; Morote *et al.*, 2010; Houde, 2018). É também por esta altura, aproximadamente 20 *dph*, que as larvas desenvolvem uma bexiga gasosa (Ré, 1986), essencial para controlar as migrações diárias verticais, permitindo às larvas ter maiores possibilidades de permanecer em locais apropriados ao seu desenvolvimento, evitar predadores ou perseguir presas (Garrido *et al.*, 2009).

A taxa de crescimento é um fator de grande importância para a sobrevivência larvar, e depende da temperatura da água e da disponibilidade de alimento adequado (Silva *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2016). Por sua vez, a taxa de mortalidade é afetada pela escassez de alimento, que pode levar diretamente à morte por subnutrição ou indiretamente, reduzindo as taxas de crescimento e aumentando a duração do período larvar (Buckley, 1984; Takasuka *et al.*, 2003; Takasuka *et al.*, 2004; Caldeira *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2015). Acredita-se que as taxas de crescimento e de mortalidade são codependentes (*growth-dependent mortality hypothesis*), pois as larvas que crescem mais rápido dentro de uma população, têm baixos riscos de mortalidade por se tornarem presas de maiores dimensões, não só porque possuem capacidades natatórias mais desenvolvidas que as de menores dimensões como experienciam períodos larvares mais curtos, diminuindo a exposição a predadores (Garrido *et al.*, 2015). A duração da fase larvar é determinante, pois os organismos estão mais suscetíveis às variáveis ecológicas, como à predação e às alterações na disponibilidade do próprio alimento, sendo que a maioria das larvas (99%) morre antes de atingir a fase juvenil (Houde, 2018). Esta fase larvar pode prolongar-se 2 a 3 vezes mais tempo, caso os indivíduos experienciem temperaturas mais baixas, entre 13° a 15°C, do que a temperaturas na ordem dos 18° a 20°C, ver estudo Lasker, 1963 com a sardinha do Pacífico. Contudo, a taxa de mortalidade das larvas tem tendência a diminuir à medida que o tamanho destas aumenta e se desenvolvem outras características relevantes, que foram aqui referidas, como a flexão da notocorda e o desenvolvimento dos raios da barbatana caudal (Garrido *et al.*, 2016; Houde, 2018), até atingirem a completa metamorfose, tornando-as mais aptas e menos sujeitas às condições físicas/ambientais envolventes (Garrido *et al.*, 2016; Houde, 2018). Por fim, a metamorfose dá-se geralmente antes das larvas de sardinha atingirem os 30-50 mm, aproximadamente (Ré, 1986; Dulčić, 1995; Ré & Meneses, 2008), e 69 *dph* fazendo a transição para a fase juvenil (Dulčić, 1995).

### 1.3 A Análise da Microestrutura dos Otólitos

Uma das características mais relevantes nos peixes ósseos, classe *Osteichthyes* (Martins & Carneiro, 2018), é a presença de otólitos. Estas estruturas de crescimento contínuo acompanham a ontogenia dos peixes ósseos, tanto dos atuais como dos pré-históricos, registando os eventos cruciais de cada indivíduo (Assis, 2000), com a vantagem acrescida de não existir reabsorção da estrutura sob condições de stress (Jones, 1992). Tornaram-se, assim, numa das ferramentas mais fidedignas e aplicadas a vários domínios da ciência, trazendo um contributo indispensável para a gestão e compreensão da dinâmica populacional dos recursos pesqueiros atuais (Jones, 1992; Assis, 2000; Houde, 2018).

Os incrementos anuais dos otólitos são contados e estudados em peixes desde o final do século XIX (Jones, 1992), tendo em vista a determinação da idade e o crescimento dos peixes, mas foi apenas em 1971 que Pannella (1971) sugeriu que uma periodicidade diária na deposição do cálcio poderia estar envolvida na formação de unidades de crescimento diário. Tal descoberta, permitiu o posterior acesso a informação biológica reservada nos primeiros estádios de vida (Brothers *et al.*, 1976; Brothers, 1979; Ré, 1983a, 1984, 1986; Morales-Nin, 1986; Campana, 1989; Dulčić, 1995). Informações sobre populações naturais de larvas de peixe como a idade em dias, a taxa de crescimento, a mortalidade, períodos de jejum e alimentação ou até respostas somáticas às alterações ambientais (Ré, 1984; Campana & Neilson, 1985; Jones, 1992; Meneses, 2003; Houde 2008), passaram a estar disponíveis, abrindo novas perspetivas à utilização destas microestruturas (Jones, 1992; Assis, 2000).

À semelhança de outros vertebrados, o ouvido interno dos peixes é responsável pela manutenção do equilíbrio contendo células nervosas sensíveis à pressão, aos movimentos e a vibrações sonoras (Gauldie 1988; Morales-Nin, 2000). É um sistema par e simétrico situado na parte posterior do crânio e estruturado pelo labirinto membranoso (Morales-Nin, 2000; Assis, 2000). Este último, encontra-se envolvido numa cápsula ótica e preenchido por um líquido chamado endolinfa (Morales-Nin, 2000; Assis, 2000). Nele destacam-se duas regiões distintas, a *pars superior* e a *pars inferior* (Figura 1.2), onde se distribui um conjunto complexo de bolsas e canais interligados entre si que compartimenta os otólitos (Assis, 2000). Cada otólito, *sagitta*, *asteriscus* e *lapillus*, preenche um dos 3 principais compartimentos do labirinto membranoso, *sacculus* e *lagena* (na *pars inferior*) e *utricleus* (na *pars superior*), respetivamente (Assis, 2000; Popper & Lu, 2000), estando cada um dos otólitos em contacto com a correspondente *macula sensorial*, através da membrana otolítica (Morales-Nin, 2000; Popper & Lu, 2000) e completamente isolados do ambiente exterior sem contacto com qualquer tecido celular (Pannella, 1971). O terceiro par de otólitos, *asterisci* localizados na *lagena*, é exclusivo de vertebrados não-mamíferos como aves, répteis e peixes ósseos (Boyle, 2020), desenvolvendo-se posteriormente aos outros pares, inclusive nas larvas de peixe (Secor *et al.*, 1992). Nos peixes ósseos todos os otólitos são sensíveis a estímulos vibratórios, detetam movimentos e são responsáveis pela função auditiva (Gauldie, 1988; Popper & Lu, 2000), estando sujeitos a forças gravitacionais (Boyle, 2020) cuja tradução fornece informação postural, possibilitando a orientação e o equilíbrio na coluna de água (Popper & Lu, 2000).

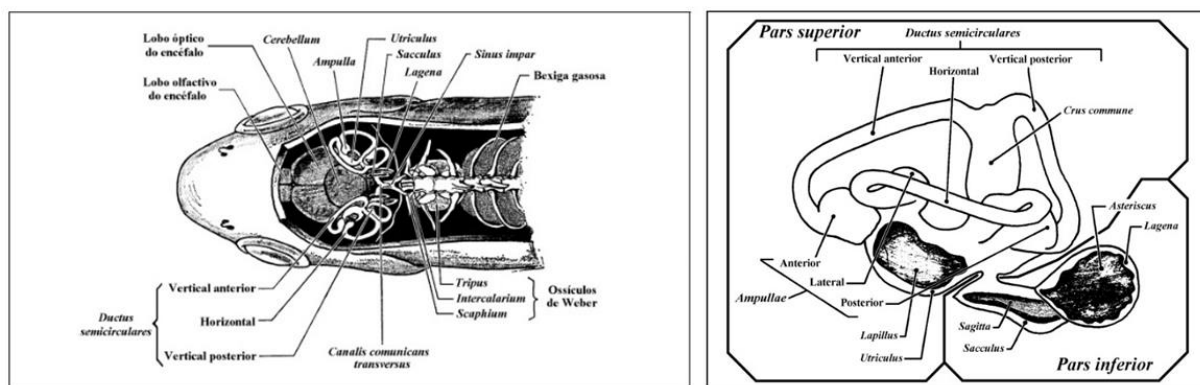


Figura 1.2. Representação esquemática da posição do labirinto membranoso, à esquerda; representação esquemática da face distal do labirinto membranoso, à direita, (imagens de Assis, 2000).

Determinadas espécies desenvolvem a existência de espaços perilinfáticos, através do desenvolvimento acentuado dos elementos da *pars superior*, o que faz com que o labirinto membranoso esteja em contacto direto com a bexiga gasosa, expandindo-a quando necessário. Estas adaptações anatómicas verificam-se em *clupeiformes*, a que pertence a sardinha, e permitem-lhes desenvolver uma boa audição e orientação tridimensional indispensáveis para uma natação rápida (Assis, 2000; Popper & Lu, 2000).

Os otólitos dos peixes ósseos são tecidos biominerais calcários, provenientes da deposição do carbonato de cálcio (Pannella, 1971). O seu desenvolvimento inicia-se no embrião (Geffen, 1992; Morales-Nin, 2000) com a formação do núcleo e segue ininterruptamente o seu crescimento através do processo de biomineralização concêntrica em torno deste (Pannella, 1971; Morales-Nin, 2000). O primeiro incremento bem visível após a marca da eclosão, varia de espécie para espécie (Brothers *et al.*, 1976), sendo que, nas larvas de sardinha, surge no primeiro dia pós-eclosão (Alemany & Alvarez, 1994; Garrido *et al.*, 2015). Cada otólito vai, assim, registando o crescimento do peixe com uma periodicidade que pode ser anual, mensal, sazonal ou diária no caso dos primeiros estádios de vida (Pannella, 1971; Campana & Neilson, 1985).

Nestes primeiros estádios de desenvolvimento, os ritmos endógenos são marcados com uma periodicidade circadiana, influenciada pelo fotoperíodo (Ré, 1984; Campana & Neilson, 1985; Secor *et al.*, 1992), podendo, eventualmente, existir a formação de anéis subdiários marcados por pequenas variações ambientais (Brothers *et al.*, 1976; Campana, 1992), especialmente em larvas em estádios larvares mais tardios. A existência de fatores exógenos também influencia a formação de incrementos diários, pela quantidade de material que é depositado em cada um deles (Morales-Nin, 2000), ditando, assim, a sua largura. É através desta leitura, complementar ao cálculo da idade, que podemos compreender se as condições a que os organismos estiveram expostos foram favoráveis ou não ao crescimento das larvas (Ré, 1986). Ambos os ritmos endógeno e exógeno, são regulados pela fisiologia do peixe (Morales-Nin, 2000), por isso, o significado cronológico das bandas não muda com a idade, o que muda é a eficiência e a continuidade do processo de crescimento (Pannella, 1971). No entanto, esta periodicidade poderá ser interrompida no caso de um evento extremo de stress fisiológico (Morales-Nin, 2000). Cada unidade rítmica resultante, é composta por duas zonas com características estruturais e químicas diferentes (Pannella, 1971): 1) a matriz orgânica, uma matriz proteica composta por otolina; 2) e as camadas de aragonite inorgânicas (cristalização mais comum do carbonato cálcio) que correspondem ao crescimento 3D do otólito (Morales-Nin, 2000). Ambas possuem diferentes taxas de deposição do material cristalino (Pannella, 1971; Morales-Nin, 2000), sendo que a matriz orgânica é representada por uma zona de crescimento lento com bandas escuras, estreitas e mais densas que as camadas de aragonite (Pannella, 1971). Estas, por oposição, são mais largas, de crescimento rápido e apresentam uma cor clara (Pannella, 1971). A cor das bandas, clara ou escura, só é perceptível quando

vistas à luz transmitida. O conjunto das duas bandas alternadas forma um ciclo, uma unidade estrutural que se repete e se deposita todos os dias (Pannella, 1971).

Para além de se poder estimar com precisão a idade das larvas, as suas taxas de crescimento ou mortalidade, as aplicações mais recentes desta técnica avançam para a análise das assinaturas químicas registadas na composição dos otólitos, sendo que, estas oferecem o potencial de determinar locais de nascimento, migrações e mudanças de habitats, identificando assim, contribuições específicas da coorte para o recrutamento (Assis, 2000; Houde, 2008; Correia *et al.*, 2014; Sakamoto *et al.*, 2020).

A validação dos otólitos de larvas de sardinha tem sido feita ao longo de vários estudos (Ré, 1983b, 1984; Garrido *et al.*, 2015, 2021). Neste estudo, foram utilizados os *sagittae* para a leitura do historial ontogénico das larvas de sardinha, por serem os maiores (Pannella, 1971) e os que, segundo a bibliografia atual, comportam o registo mais detalhado dos eventos passados na vida dos indivíduos e da respetiva influência dos fatores ambientais que antecederam à sua captura (Ré, 1986; Jones, 1992).

## 1.4 Hipóteses para Explicar a Variabilidade do Desenvolvimento e Sobrevivência dos Estados Larvares e Subsequente Força de Recrutamento

As investigações de Hjort, propondo a existência de um período crítico “*Critical Period hypothesis*” e a dispersão/deriva de ovos e larvas através de correntes desfavoráveis “*Aberrant Drift hypothesis*”, foram publicadas no início do século XX em “*Fluctuations in the great fisheries of northern Europe*”, (1914) (Houde, 2008). Mas só com a publicação de Pannella, “*Fish Otoliths: Daily Growth Layers and Periodical Patterns*” (1971) e a subsequente possibilidade de aceder a informação biológica sobre a idade das larvas de peixe provenientes de populações naturais, é que foi possível dar continuidade aos estudos de Hjort. Assim, a partir do início dos anos 70, emergiram várias teorias desenvolvidas ao longo dos anos seguintes, que permitiram relacionar o sucesso do recrutamento com a sobrevivências das larvas, nos primeiros estádios de vida (Hjort, 1914; May, 1974; Cushing, 1975; Lasker, 1975, 1981; Sinclair & Iles, 1989; Cury & Roy, 1989; Cushing, 1990; Agostini *et al.*, 2007; Houde, 2008, 2018).

“All that it is desired to assert is that the observations here recorded distinctly point to the conclusion that the fluctuations noted in the stock have their origin in certain conditions prevailing at a very early period in the life of the fish.”

(...)

“This again leads us to the question, at which stage of development the most critical period is to be sought. Nothing is known with certainty as to this; such data as are available, however, appear to indicate the very earliest larval and young fry stages as most important.”

(Hjort, 1914, p. 204)

### Hjort:

A famosa coorte de arenque norueguês de 1904 (Hjort, 1914) que desovou posteriormente à época esperada, encontrou melhores condições de sobrevivência por coincidir com uma maior disponibilidade de alimento adequado à sua fase larvar (Hjort, 1914). Esta observação sugeriu a Hjort que poderia haver um “período crítico” que determinasse o sucesso de uma coorte (Hjort, 1914). Esse período surgiria logo após a absorção total das reservas vitelinas, sendo o sucesso da primeira alimentação, “*first-feeding*”, um fator determinante para a sobrevivência larvar (Hjort, 1914). Pela altura da exaustão das reservas vitelinas, as larvas necessitariam de encontrar as presas adequadas, tanto em tamanho como em quantidade, para garantir a sua sobrevivência. Segundo Hjort (1914), caso isto não acontecesse, dar-se-ia uma mortalidade em massa dessa coorte, diminuindo substancialmente o número de indivíduos que

chega à fase de recrutamento. Não sendo esta teoria por si só suficiente para explicar a variabilidade no recrutamento, Hjort acrescentou a possibilidade desta variabilidade se dever também a processos hidrodinâmicos desfavoráveis, nos quais ocorreria a deriva aberrante de ovos e larvas para fora das zonas costeiras favoráveis, “*Aberrant Drift hypothesis*”, como consequência de correntes adversas (Hjort, 1914).

“Two points immediately suggest themselves in this connection, viz; the conditions as regards nourishment to which the fish were subject at this stage, and the passive movement of the same stages under the influence of the currents.”

(Hjort, 1914, p. 204)

Assim Hjort, através da sua investigação concluiu que a variabilidade no recrutamento seria uma consequência de processos tróficos e hidrodinâmicos experienciados nos estádios iniciais da fase larvar (Houde, 2008).

### Cushing e Sinclair:

Enraizado nas propostas de Hjort, Cushing reuniu ao longo dos anos posteriores a 1975, provas que suportavam a hipótese “*Match-Mismatch*” e na sua publicação “*Plankton Production and Year-class Strength in Fish Populations: An Update of the Match-Mismatch Hypothesis*”, de 1990, o autor afirma que a hipótese não só é válida como aplicável a várias espécies de peixes (Cushing, 1990). O mecanismo de “*Match*” é desenvolvido por muitas espécies de peixes pelágicos com capacidade de fazer coincidir o seu pico de produção de larvas com os *booms* de plâncton que ocorrem na primavera e no verão, aumentando a probabilidade de estas encontrarem o alimento adequado de que necessitam (Sinclair & Iles, 1989; Cushing, 1990). Esta coincidência resulta assim, em larvas maiores e em melhor condição nutricional, com maiores hipóteses de sobreviverem até à fase juvenil e recrutarem. Segundo Hjort, as larvas melhor nutridas geram recrutas de melhor qualidade que se tornam, depois, em reprodutores de qualidade (Hjort, 1914). Os eventos de “*Mismatch*” ocorrem quando existe desfasamento temporal e espacial da produção de larvas com o seu alimento, o que implica uma maior mortalidade de indivíduos dessa coorte (Cushing, 1975; Sinclair & Iles, 1989). Sendo a época da postura relativamente fixa durante o ano, Cushing argumentou que as flutuações de abundância dos stocks de peixes dependem se as larvas coincidem ou não com a produção planctónica, “*Match-Mismatch*”, (Cushing, 1975, 1990). No entanto, o autor considera esta hipótese insuficiente, por si só, para justificar as variações anuais no recrutamento (Cushing, 1990). Na mesma publicação de 1990, Cushing associa uma outra hipótese aos mecanismos de “*Match-Mismatch*”, a hipótese de “*Member/Vagrant*”, inicialmente sugerida por Iles e Sinclair em 1982 (Houde, 2008). Estes autores sugerem a existência de áreas de retenção de larvas que favorecem a sua taxa de crescimento pela presença de alimento (Cushing, 1990).

“The hypothesis that emerges is that the number of herring stocks and the geographic location of their respective spawning sites are determined by the number, location, and extent of geographically stable larval retention areas.”

(Iles & Sinclair, 1982, p. 629)

Geralmente, a zona onde ocorre a desova dos peixes pelágicos é diferente da zona em que as larvas se desenvolvem até atingirem a fase juvenil (Cushing, 1990), mas ambas pertencentes ao mesmo habitat da população (Sinclair & Iles, 1989). Entre estes dois estádios iniciais, as larvas dependem de processos hidrodinâmicos determinantes que as transportarão para zonas de retenção/berçário, oceanograficamente estáveis onde usufruem de condições apropriadas ao seu desenvolvimento, “*Member*”, ou então, derivam para zonas desfavoráveis à sua sobrevivência, “*Vagrant*” (Sinclair &

Iles, 1989; Cushing, 1990). Não só a retenção física nas fases iniciais da vida é crítica no processo de recrutamento (Sinclair & Iles, 1989), uma ideia que já vinha da segunda hipótese de Hjort, “*Aberrant Drift*” (Houde, 2008), assim como, também é crucial o florescimento planctónico coincidir com a produção de larvas (Cushing, 1990).

As hipóteses aparentemente contrastantes de “*Match-Mismatch*” e “*Member/Vagrant*” são, em muitos casos, complementares (Iles & Sinclair, 1982; Cushing, 1990; Houde, 2008), mas não são as únicas que regulam a abundância do recrutamento. Atualmente admite-se, que um conjunto de processos, podendo ou não atuar entre si, ao longo das fases iniciais de ovo até à pré-recruta juvenil, são responsáveis pela variabilidade anual do recrutamento nos peixes pelágicos (Houde, 2008).

### Lasker:

Contemporâneo aos estudos de Cushing (1975), Lasker e os seus colegas desenvolveram a “*Stable Ocean hypothesis*”, após a publicação do estudo “*Field criteria for survival of anchovy larvae: the relation between inshore chlorophyll maximum layers and successful first feeding*” em 1975 (Lasker, 1981). Neste estudo é considerado o “período crítico” de Hjort, *i. e.*, o insucesso de encontrar alimento adequado na altura da primeira alimentação larvar, logo após a exaustão das reservas vitelinas (Hjort, 1914; Lasker, 1975). Nesta experiência, são utilizadas larvas de biqueirão *Engraulis mordax*, na fase de primeira alimentação eclodidas a bordo de um navio, para detetar áreas de alimentação favoráveis no mar e estabelecer valores de concentrações mínimos a partir dos quais as larvas pelágicas são estimuladas a perseguir e caçar as suas presas pela primeira vez (Lasker, 1975). Lasker pôde assim constatar, não só que as larvas apenas se alimentavam nas camadas estratificadas que atingiam os valores máximos de *clorofila a*, mas também que o tamanho das partículas e o tipo de organismos fitoplanctónicos nelas presentes eram essenciais para que fosse bem sucedida a primeira alimentação (Lasker, 1975). No entanto, um evento de grande turbulência durante a expedição demonstrou a importância da estabilidade do oceano para a sobrevivência destes organismos (Lasker, 1981). Um fenómeno massivo de afloramento ao longo da costa, gerado por uma tempestade de vento, dispersou as agregações estáveis de alimento, refletindo os efeitos até 20m de profundidade (Lasker, 1975, 1981). Esta mistura abrupta na coluna de água reduziu a concentração de partículas fitoplanctónicas para um valor muito abaixo do limite mínimo necessário para que as larvas pudessem se alimentar pela primeira vez (Lasker, 1975, 1981). Neste caso, o evento de afloramento não só dispersou o alimento existente, como promoveu subsequentemente, uma sucessão de espécies desfavoráveis à alimentação das larvas de biqueirão, apesar de a produção primária ser alta, substituindo os organismos desejáveis por indesejáveis (Lasker, 1975, 1981). As fracas condições de alimentação proporcionadas por este evento de 1975 resultaram numa enorme mortalidade larvar durante toda a época de postura do biqueirão, sendo registado como um dos piores anos de recrutamento desta espécie (Lasker, 1981), confirmando assim pela primeira vez, a hipótese do Período Crítico “*Critical Period*” de Hjort, de 1914.

Em “*The Role of a Stable Ocean in Larval Fish Survival and Subsequent Recruitment*”, em 1981, Lasker consolida a ligação entre a cadeia alimentar marinha, as condições ambientais no mar e as flutuações dos stocks de peixes que possuem fase larvar planctónica. Analisando se as concentrações mínimas de alimento adequado estão ou não presentes no ambiente das larvas e se estas estão associadas a condições oceânicas de estabilidade, poder-se-ia prever a qualidade do recrutamento para determinada espécie de peixe (Lasker, 1981).

“If managers want to respond before there are sudden collapses or substantial increases in fish populations, it seems clear that they must take into consideration the increasing evidence that environmental factors have major effects on the survival of larval fish and that density-independent factors may be more important than previously believed.”

(Lasker, 1981, p. 85)

Esta afirmação de Lasker, em 1981, reflete a consciência de uma comunidade científica muito mais voltada para a influência dos fatores ambientais extrínsecos nos primeiros estádios de vida dos peixes. É, assim, fácil de perceber que muitos são os processos e fatores que atuam ao longo das fases de ovo, larva até à metamorfose e que influenciam a variabilidade do recrutamento (Pepin, 2015), mas apesar dos avanços nos estudos, as previsões sobre a abundância dos stocks continuam a ser um desafio complexo.

No final do séc. XX, os modelos computacionais estavam suficientemente desenvolvidos para reproduzirem simulações gráficas de sistemas dinâmicos e fazerem fidedignas previsões comportamentais ao longo de uma escala temporal alargada, usando a interpretação de modelos matemáticos (Houde, 2008). Modelos simulando eventos de afloramento, ondulação provocada pelo vento ou qualquer padrão de transporte energético, são uma mais valia para prever as condições ambientais em que as larvas se desenvolvem (Lasker, 1981). Posteriormente, ajustaram-se padrões de crescimento larvar às várias estruturas físicas e hidrodinâmicas do seu habitat (Houde, 2008) desenvolvendo, assim, complexos modelos biofísicos (CBPM), “*Coupled Bio-Physical Models*”, que ajudam a compreender as complexas interações entre fatores intrínsecos (biológicos) e extrínsecos (ambientais) que determinam a sobrevivência das larvas de peixes.

Dos estudos emergentes, três mecanismos fundamentais começaram a evidenciar-se compondo a Hipótese da Tríade do Oceano ou “*Ocean Triads hypothesis*” (Bakun, 1996; Bakun & Csirke, 1998). Usando modelos empíricos aplicados a determinadas regiões, Bakun foi capaz de identificar com sucesso possíveis habitats favoráveis à reprodução dos peixes (Agostini & Bakun, 2002). Estas áreas reúnem simultaneamente três condições consideradas fundamentais: 1) processos de enriquecimento de nutrientes para fornecer a produção primária necessária, *e. g.*, afloramento costeiro, mistura da coluna de água, escoamento dos rios, 2) processos que favoreçam aglomerados de alimento para as larvas, *e. g.* estabilidade da coluna de água, padrões de convergência, formações frontais, etc.; e 3) processos que favoreçam a retenção das larvas em berçários apropriados ou deslocamento para regiões adequadas, *e. g.* migrações verticais; (Bakun & Csirke, 1998; Agostini & Bakun, 2002). A existência desta “*Ocean Triads*” ou “*Fundamental triad*” (Bakun, 1996) em determinadas áreas, assegura a sobrevivência dos ovos e larvas dos pequenos pelágicos, como a sardinha ou o biqueirão, constituindo um prenúncio de um bom ano de recrutamento (Agostini & Bakun, 2002). Enriquecimento nutricional, retenção e transporte favorável, poderão ser os pilares fundamentais que determinam a força de uma coorte para as larvas pelágicas de várias espécies de peixes (Bakun & Csirke, 1998; Agostini & Bakun, 2002). Cada população vai adaptando as suas estratégias reprodutivas à tríade favorável em determinada área (Bakun, 1985) e os progenitores mais aptos a garantir o seu sucesso reprodutivo, serão aqueles que melhor souberem aproveitar a “janela de oportunidade ambiental” ideal, “*Optimal Environmental Window*”, que melhor se adapta às necessidades da sua prole/descendência (Cury & Roy, 1989).

“Because natural selection implies that reproductive strategies are responses to the most crucial factors regulating reproductive success, compelling patterns of correspondence among reproductive habits and environmental characteristics are likely to reflect important causal mechanisms.”

(Bakun 1985, p.30)

Talvez por esta razão seja bastante difícil desenvolver qualquer tipo de generalização que se adapte aos diferentes tipos de sistemas e, para além disso, desenvolver vários modelos para cada especificação ambiental e regional torna-se uma tarefa dispendiosa (Pepin, 2015).

#### 1.4.1 Fatores Ambientais que Influenciam o Estado Larvar e Controlam o Recrutamento

Como muitos autores afirmam, prever a variabilidade do recrutamento continua a ser o “*santo Graal*” do estudo de dinâmicas de populações, pois a sobrevivência durante os primeiros estádios de vida é variável e imprevisível (Houde, 1997; Houde, 2008). É necessário ter uma compreensão holística dos processos hidrográficos e biológicos que afetam as populações de peixes, tendo em conta a potencial importância das taxas vitais de crescimento e de mortalidade ocorridas durante o período larvar (Pepin, 2015) e os fatores ambientais que as regem. A combinação de fatores físicos e biológicos que afetam estas taxas vitais resultam numa variação considerável do número de larvas que sobrevivem e transitam para os estádios seguintes (Pepin, 2015; Houde, 2018).

Admitindo que não existe um controle dependente da densidade populacional ao longo da fase larvar que diminua o número de recrutas (Cushing, 1975; Lasker, 1981; Cushing, 1990; Pepin, 2015), todos os organismos têm uma tendência natural para aumentar o seu número (Darwin, 1859), mas as enormes posturas que observamos nos pequenos pelágicos, não implicam automaticamente uma grande abundância de adultos dessa espécie. Já em 1859, as observações de Darwin elucidavam que as grandes posturas têm como objetivo compensar as perdas sofridas durante os estádios de ovo e larva, que são os mais vulneráveis à predação (Darwin, 1859).

“The real importance of a large number of eggs or seeds is to make up for much destruction at some period of life; and this period in the great majority of cases is an early one.”

(...)

“But if many eggs or young are destroyed, many must be produced, or the species will become extinct.”

(...)

“The amount of food for each species of course gives the extreme limit to which each can increase; but very frequently it is not the obtaining food, but the serving as prey to other animals, which determines the average numbers of a species.”

(Darwin, 1859, p. 93-95)

A predação é assumida, por vários autores (Cushing, 1975; Houde, 2008, 2018), como sendo o agente de mortalidade que controla os níveis de recrutamento durante a fase larvar, contudo, ainda poucas experiências têm sido feitas que o comprovem. Em teoria, sabe-se que os indivíduos que possuem tamanhos pequenos são predados mais facilmente, quer pela fraca condição nutricional resultante dos períodos de jejum, quer pela falta de um crescimento rápido que lhes permita diminuir a gama de predadores que deles se alimenta (Houde, 1997, 2018). O resultado é um processo altamente seletivo em relação ao tamanho, quer dos predadores como das presas, que determina a taxa de mortalidade (Houde, 1997). Assim, entende-se que a mortalidade seja “*size-selective*” (Houde, 1997) e que, por esta influência do tamanho, ela se correlacione com a taxa de crescimento (Pepin, 2015). Com altas taxas de crescimento, durante o período larvar, é esperado haver também altas taxas de mortalidade e que ambas diminuam à medida que a larva aumenta de tamanho, ao longo da ontogenia (Houde, 1997; Pepin, 2015).

Se, por um lado, a predação é o agente que rege a taxa de mortalidade das larvas, os agentes que regem a taxa de crescimento são, sem dúvida, a temperatura da água e a disponibilidade de alimento adequado. O aumento da temperatura acelera o metabolismo e proporciona um crescimento rápido que diminui a

permanência no estado larvar e a consequente exposição a predadores (Houde, 1997; McClatchie *et al.*, 2007; Garrido *et al.*, 2016). Adicionalmente, as capacidades natatórias aumentam com o crescimento, o que permite às larvas se esquivarem com maior destreza (Silva *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2015). Assim, tamanhos grandes (“*bigger is better*”), crescimento rápido e estádios iniciais de vida encurtados estão associados a níveis de recrutamento elevados (Houde, 2008).

A associação entre fatores ambientais e variabilidade do recrutamento é, atualmente, a base dos estudos da dinâmica de populações, porém, deve ser também considerado o comportamento dos indivíduos e as adaptações de cada população ao seu habitat para que possam ser construídos modelos numéricos com maior rigor em cenários de previsão de recrutamento (Heath, 1992; Houde, 1997). Muitas destas adaptações influenciam diretamente as taxas vitais, como é o caso das migrações diárias verticais. Estudos de campo com a *S. pilchardus* demonstram a importância destas migrações para as larvas se manterem num estrato oceânico favorável que lhes permita ter acesso às concentrações de alimento, evitar predadores, e regular a temperatura à taxa metabólica mais adequada (Santos *et al.*, 2006; Garrido *et al.*, 2009), sendo outra forma de assegurar condições ótimas ao seu crescimento e sobrevivência.

Como foi aqui revisto, uma grande variabilidade no recrutamento é devida a inúmeros processos que se interligam entre si, nomeadamente as condições ambientais em conjunto com a época de postura e o comportamento larvar (Lasker, 1981; Sinclair & Iles, 1989; Bakun, 1996; Agostini & Bakun, 2002; Garrido *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2018). As regiões ambientalmente favoráveis potenciam altos níveis de recrutamento (Santos *et al.*, 2018), mas ainda estamos longe de prever com certeza científica a totalidade desta variabilidade, no entanto:

“Appreciating recruitment variability, explaining its causes, considering implications for management, and understanding it in the context of broader variability in marine ecosystems are worthy goals.”

(Houde, 2008, p. 65)

## 1.5 Caracterização da Área de Estudo: Costa Atlanto-Ibérica

Portugal continental está localizado a Oeste da Península Ibérica, entre os 41° e os 37° de latitude no hemisfério Norte, inserido na célula de convecção *Hadley* de alta pressão, correspondente às latitudes médias. Esta localização geográfica é caracterizada pelos padrões globais de circulação atmosférica que conferem a Portugal um clima temperado de transição (segundo classificação principal de *Koppen*), governado pelo anticiclone dos Açores (Fiúza *et al.*, 1982; Cardoso *et al.*, 2019). Este padrão de circulação atmosférico do Atlântico Norte em direção ao equador, interage com o movimento de *Coriolis*, defletindo a corrente oceânica para a direita, dando origem ao Giro subtropical do Atlântico Norte (Relvas *et al.*, 2007), (Figura 1.3). A parte Este do Giro Atlântico Norte é caracterizada por um acentuado afloramento resultante do transporte de *Ekman*, *i. e.*, os ventos que sopram na direção do equador, à superfície do mar, induzem a deslocação das águas superficiais para o largo e traçam um padrão divergente (Fiúza *et al.*, 1982; Relvas *et al.*, 2007). Como resultado, as camadas mais profundas emergem ao longo da costa e substituem as águas superficiais anteriores, ressurgindo uma massa de água fria e rica em nutrientes (afloramento ou *upwelling*) que alimenta a produção primária (Relvas *et al.*, 2007). Estas águas que agora ocupam a superfície, deixam um espaço imediatamente abaixo que é ocupado pela Corrente Ibérica para o Polo ou *Iberian Poleward Current (IPC)* (Peliz *et al.*, 2005; Relvas *et al.*, 2007), sendo esta segunda camada costeira que flui em direção aos polos, menos fria e mais salgada que a primeira (Aristegui *et al.*, 2009). Por sua vez, o fluxo de água que provém do mar Mediterrâneo conjuntamente com a corrente dos Açores separam o segmento Este do Giro Atlântico Norte, em dois subsistemas com características diferentes, um a Sul, a corrente das Canárias e outro a

Norte, a corrente de Portugal (Relvas *et al.*, 2007), (Figura 1.3). Associada a esta separação entre os subsistemas de Norte e de Sul, está a influência da *North Atlantic Oscillation (NAO)* (Relvas *et al.*, 2007). A *NAO* é gerada a Norte da célula de Hadley subtropical, através da diferença de pressões atmosféricas entre a convergência do anticiclone dos Açores, de alta pressão, e a célula subpolar, de baixa pressão da Islândia (Fiúza *et al.*, 1982; Mason *et al.*, 2006; Cardoso *et al.*, 2019). Esta oscilação de grande escala, é responsável pelo padrão sazonal de ventos na costa Oeste de Portugal, *i. e.*, predominância de ventos relativamente fortes no verão, provenientes de Norte e Nordeste, e predominância de ventos fracos no inverno, provenientes de Oeste (Fiúza *et al.*, 1982; Mason *et al.*, 2006).

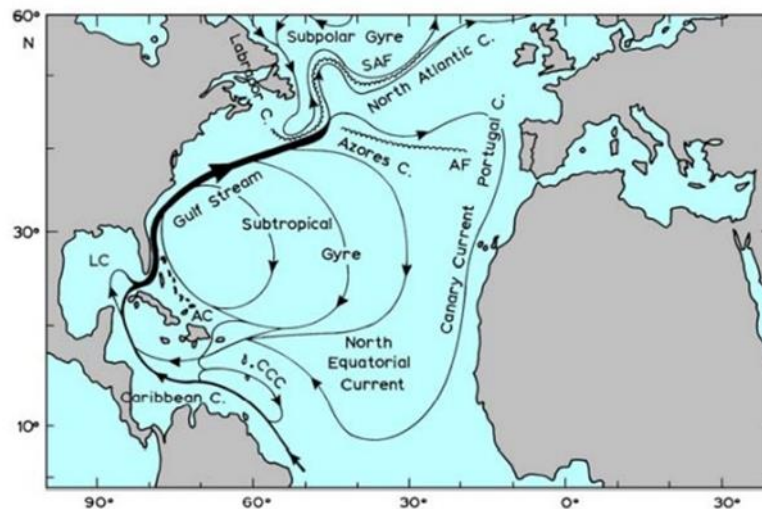


Figura 1.3. Padrão de correntes superficiais do Atlântico Norte. AC – Corrente das Antilhas; CCC – Contra Corrente das Caraíbas; LC – Corrente Loop; AF – Frente dos Açores; SAF – Frente subantártica (imagem de Cunha (2001)).

Podemos afirmar de grosso modo, que a *IPC* conjuntamente com a corrente de Portugal e a *NAO* formam os pilares climáticos do ecossistema de *upwellings* a Oeste da Península Ibérica, *Western Iberia Upwelling Ecosystem (WIUE)* (Relvas *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2007), (Figura 1.5). No entanto, este sistema de *upwelling* é bastante complexo e governado por fenómenos locais de mesoescala, como frentes, plumas ou estratificações, que se sobrepõem à circulação climatológica subjacente. (Fiúza, 1983; Relvas *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2007; Cardoso *et al.*, 2019; Leitão *et al.*, 2019).

Dada as características oceanográficas divergentes a costa Atlântica ocidental e sul da Península Ibérica está dividida em cinco zonas oceanográficas pertencentes à divisão IXa, designadas pelo *ICES, International Council for the Exploration of the Sea*, (Figura 1.4). Uma destas zonas localiza-se na costa ocidental norte espanhola ao largo da Galiza (9aN), três destas zonas situam-se na costa portuguesa continental, e são elas: a zona Ocidental Norte (*OCN*), entre a fronteira Norte de Portugal e o canhão da Nazaré; a zona Ocidental Sul (*OCS*), entre o canhão da Nazaré e o cabo de São Vicente; e Algarve (*ALG*), do cabo de São Vicente até ao Guadiana que faz a fronteira Sudeste com Espanha. Por último, o Golfo de Cádiz (*CAD*) em Espanha, que vai do Guadiana até ao Estreito de Gibraltar. Abaixo sumariza-se as principais características de cada uma destas zonas.



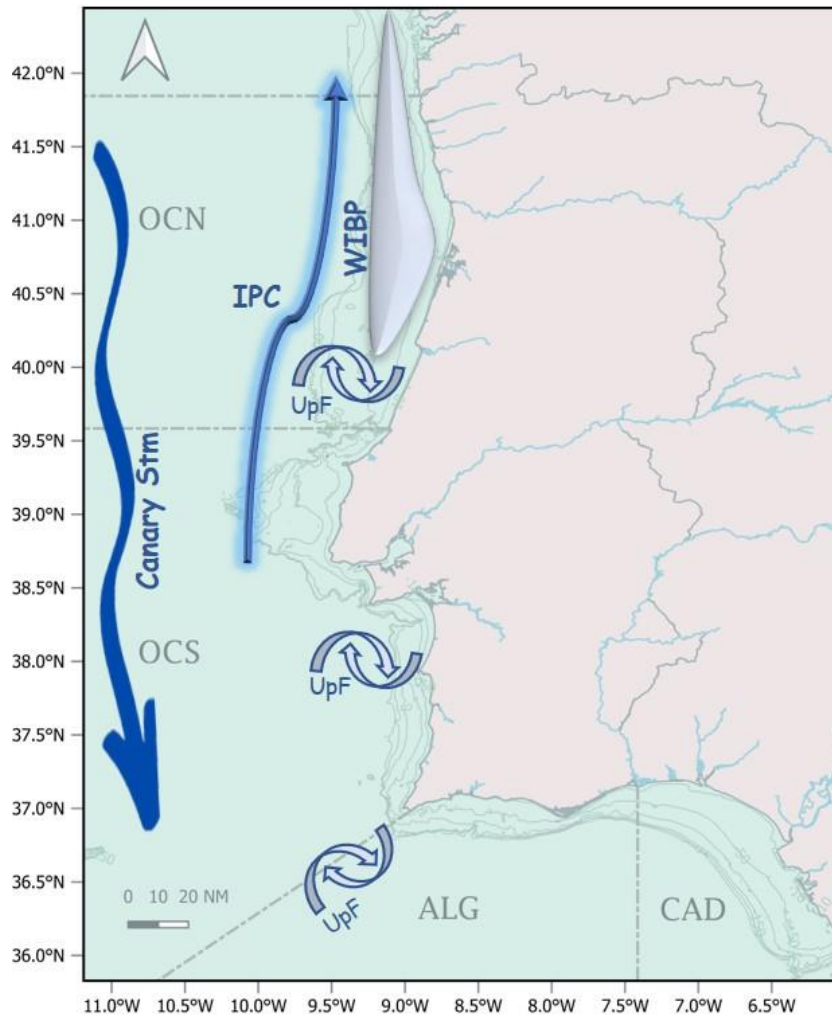
o inverno os afloramentos tornam-se mais raros e menos intensos, chegando a serem mínimos na primavera, entre março e maio (Fiúza *et al.*, 1982; Fiúza, 1983). A postura da sardinha dá-se durante os meses de outubro a abril, atingindo o seu auge entre dezembro e fevereiro (Ré *et al.*, 1990; Secor *et al.*, 1992; Stratoudakis *et al.*, 2007; Garrido *et al.*, 2016) coincidindo com a época em que os afloramentos são mais fracos, mas não mínimos (Tabela 1.1).

**Tabela 1.1.** Relação entre a ocorrência de afloramento e a época de postura da sardinha, segundo a literatura. As cores mais escuras correspondem a afloramentos e postura mais intensos e as cores mais esbatidas correspondem a afloramentos e postura residuais.

	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set
Afloramento												
Postura												

Esta dinâmica entre afloramento costeiro e postura da sardinha é tal, que evita que os ovos e larvas se percam por *Aberrant Drift*, mas mantém uma relação de “Match” com o crescimento de plâncton que se dá depois dos eventos de *upwelling*. No entanto, podem ocorrer *upwellings* esporádicos entre dezembro e janeiro (Fiúza *et al.*, 1982), coincidindo com o auge da desova da sardinha, o que pode resultar numa perda de ovos e larvas diminuindo o número de recrutas da coorte.

Existem diferenças entre as zonas *OCN* e *OCS* em termos de morfologia da plataforma continental marinha, topografia costeira ou fluxos provenientes de rios (Cunha, 2001). As águas da costa ocidental, comparadas com as da costa sudoeste, possuem menos fosfatos e nitratos, são menos salinas e possuem uma maior estratificação termo-halina (Cunha, 2001). Os baixos valores da salinidade média das águas da *OCN*, são devidos ao maior número de rios a Norte que desaguam no oceano, fazendo ainda parte da formação da *WIBP* (Figura 1.5), e que trazem um acréscimo de nutrientes para a produção primária (Cunha, 2001; Mason *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2018). A *WIBP* em conjunto com a *IPC*, na *OCN*, gera uma zona de convergência, estável e estratificada entre as águas costeiras e as do largo (*offshore*) que promove a retenção dos ovos e larvas de peixes e impede que estes se percam por *Aberrant Drift* (Santos *et al.*, 2007). Durante o inverno, na zona *OCS*, dá-se uma intensificação da corrente *IPC*, que emerge, tornando-se uma corrente de superfície (Santos *et al.*, 2018) mais quente e mais salgada (Aristegui *et al.*, 2009). Por sua vez, na *OCN*, a *WIBP* também se intensifica no inverno, pelo aumento do fluxo dos rios sendo o fenómeno de retenção que esta faz com a *IPC*, ainda mais potenciado nesta altura do ano (Relvas *et al.*, 2007). Segundo as hipóteses de *Member-Vagrant*, *Stable Ocean* e *Ocean Triads*, este sistema protege os estádios iniciais da sardinha dos eventuais fenómenos de afloramento costeiro que possam surgir no inverno nesta região, durante as suas posturas (Cunha, 2001; Relvas *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2007). Adicionalmente, a *OCN*, comparada com a *OCS*, possui melhores condições para o desenvolvimento da produção primária e secundária, que resulta numa maior biomassa de zooplâncton, mas com menor diversidade de espécies que a do Sul (Cunha, 2001).



**Figura 1.5.** Representação do Ecossistema de Afloramento do Oeste da Península Ibérica (*Western Iberia Upwelling Ecosystem, WIUE*), decomposto nas suas principais características oceanográficas, nomeadamente: a *Western Iberia Buoyant Plume (WIBP)*, a *Corrente Ibérica para o polo (Iberian Poleward Current, IPC)* e filamentos de afloramento (*UpF*). As linhas batimétricas até aos 250m são apresentadas para localizar a quebra na plataforma continental (Imagem adaptada de Santos *et al.*, 2007).

### 1.5.3 Costa Sul da Península Ibérica (ALG e CAD)

O extremo Norte da sub-região do Golfo de Cádiz (ALG e CAD) representa uma grande alteração a nível do sistema de circulação, não só pela drástica mudança de direção da linha de costa a Este do cabo de São Vicente como pela óbvia divisão geográfica provocada pelo estreito de Gibraltar e o fluxo das massas de água que entram e saem do Mediterrâneo (Relvas *et al.*, 2007; Peliz *et al.*, 2007; Arístegui *et al.*, 2009). Estas duas zonas oceânicas, Algarve (ALG) e Cádiz (CAD), são influenciadas de maneira semelhante, pela forte circulação resultante da interface entre as águas do Atlântico e as do Mediterrâneo, bem como por fenómenos mais superficiais à mesoescala, como *eddies* e *meddies*, que ocorrem em duas células de circulação independentes, uma a Oeste e outra a Este do Cabo de Santa Maria, (Figura 1.6), (García-Lafuente *et al.*, 2006; Peliz *et al.*, 2007; Relvas *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2018). Os *eddies* são movimentos circulares (redemoinhos) formados na lateral de uma corrente principal com uma escala temporal na ordem dos 10 a 30 dias, que se estende entre os 10 e 100 km e tendem a enriquecer as águas onde se formam (Cury *et al.*, 2008).

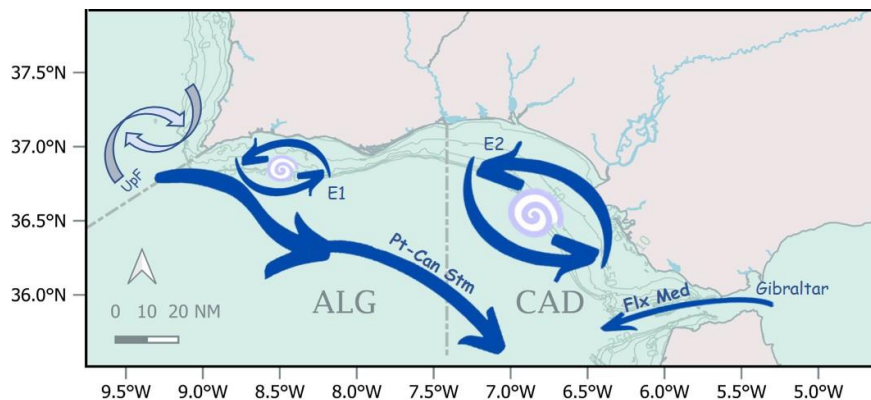


Figura 1.6. Representação da circulação superficial na costa Algarvia e Golfo de Cádiz. Em que “UpF” representa um dos filamentos de afloramento da costa portuguesa; “Pt-Can Stm” representa um ramo da corrente oriental de grande escala Portugal-Canárias que se desvia para Este no Golfo de Cádiz e que se move em torno da célula eddy “E1” ao largo do Cabo de São Vicente. Esta corrente move-se ainda mais para Este onde se divide em 2 partes, uma que alimenta diretamente o fluxo de entrada no Mediterrâneo (Flx Med) e outra parte que vira para Sul para se juntar à corrente das Canárias. A célula eddy a Este do Cabo de Santa Maria “E2”, é uma formação associada ao padrão de ventos predominantes (Imagem adaptada de García-Lafuente *et al.* (2006)).

A circulação de massas de água que se dá entre o estreito de Gibraltar é uma circulação em profundidade, mas de extrema importância, pois influencia grandemente a circulação superficial local, com impactos na dinâmica oceânica a uma escala regional (García-Lafuente *et al.*, 2006; Peliz *et al.*, 2007). Estas massas de água que entram e saem do mar Mediterrâneo conferem características hidrodinâmicas únicas que dominam o sistema de circulação na costa sul, nomeadamente, a presença de águas de intermédia profundidade associadas à saída de fluxo de água do Mediterrâneo (MW), através do estreito de Gibraltar (Relvas *et al.*, 2007). As águas provenientes do Mediterrâneo, MW, são mais quentes, mais salinas e densas que as do Atlântico, resultante da grande evaporação deste mar, e por esta razão descem em profundidade, até cerca de 1000m, ao largo do Golfo de Cádiz, formando uma pluma de densidade impulsãoada pela salinidade que se estabiliza ao longo de CAD e ALG (Relvas *et al.*, 2007). A pluma de MW é uma estratificação termo-halina em profundidade, que influencia todo o comportamento das massas de água superficiais do Golfo de Cádiz e da sua periferia, estando este motor hidrodinâmico na origem da Corrente dos Açores (Figura 1.3), e dos fenómenos de mesoescala “meddies” (Peliz *et al.*, 2007; Relvas *et al.*, 2007). Acima deste fluxo de saída, a cerca de 300m da superfície, forma-se a contracorrente com as águas que entram no Mediterrâneo provenientes do Atlântico, influenciando fortemente as camadas mais superficiais de ALG e CAD (García-Lafuente *et al.*, 2006; Peliz *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2018). Devido a esta hidrodinâmica, as larvas que se encontram na plataforma continental (mais perto da costa) têm mais hipóteses de sobreviver e recrutar que as larvas que se encontram fora da plataforma, por estarem expostas a estas correntes profundas adversas que as arrastam para Sudeste com a consequência de perda por *Aberrant Drift*, experienciando uma alta mortalidade (Santos *et al.*, 2018). Em contrapartida, as larvas que se encontram ainda sobre a plataforma continental, são transportadas para a vizinhança Este, para CAD, por correntes superficiais mais fracas que se formam, especialmente, nos meses de verão (Santos *et al.*, 2018).

Comparando com a costa Oeste de Portugal, a região do algarve ALG, devido à configuração geográfica, é mais protegida durante todo o ano dos ventos que promovem o afloramento, principalmente no período de verão (Fiúza, 1983; Arístegui *et al.*, 2009) e é, geralmente, uma zona de retenção para os ovos e

larvas (Santos *et al.*, 2018). O afloramento dá-se apenas sob condições locais favoráveis, nomeadamente ventos de Oeste ou na formação de *eddies*, como o que se dá a Este do cabo de São Vicente e onde sobressai uma assinatura mais fria na SST (Fiúza, 1983; García-Lafuente *et al.*, 2006; Relvas *et al.*, 2007). No entanto, a costa Oeste de Portugal revela melhores condições para retenção e recrutamento de larvas que as zonas de ALG e CAD, especialmente na OCN, onde estas características favoráveis são potenciadas durante os meses de inverno, coincidente com a época de postura da *S. pilchardus* (Santos *et al.*, 2018).

## 1.6 Condição Nutricional das Larvas: Crescimento e Concentração de Ácidos Nucleicos

O crescimento somático reflete-se no crescimento dos otólitos, tal que uma larva em boa condição nutricional terá uma correspondência compatível com uma deposição de incrementos mais grossos e uma larva subnutrida com incrementos mais finos (Campana, 1992). É, portanto, fácil perceber que quanto melhor for a condição nutricional das larvas, melhor estas estarão preparadas para lidar com fatores ambientais adversos e, portanto, terão maiores probabilidades de sobreviver e de recrutar, (Buckley, 1984; Clemmesen, 1994).

A análise dos ácidos nucleicos, nomeadamente do DNA e RNA, tem sido amplamente usada em investigação marinha para a avaliação da condição nutricional de peixes (Buckley, 1984; Busacker *et al.*, 1990; Clemmesen, 1994; Bergeron, 1997). As diferentes técnicas e métodos são aplicados e adequados, consoante a espécie ou o estágio de desenvolvimento em que os indivíduos se encontram (Caldarone *et al.*, 2001).

Desde o início dos anos 80 (Bergeron, 1997), que estas técnicas são também aplicadas em larvas de peixe marinha para a determinação das suas condições fisiológicas, (Buckley, 1984; Caldarone *et al.*, 2001). Através da relação direta entre a quantidade de DNA e RNA presentes numa célula e os processos biológicos inerentes, desenvolvem-se uma série de índices de condição nutricional e de crescimento, a partir dos quais é possível prever a taxa de sobrevivência das larvas e a influência das condições ambientais ao longo da sua ontogenia (Buckley, 1984; Bergeron, 1997; Chícharo *et al.*, 1998b; Chícharo & Chícharo, 2008). Chícharo (1998b), refere que fatores limitantes à sobrevivência e ao recrutamento das larvas de peixes em populações naturais eram difíceis de provar. No entanto, a introdução da avaliação dos índices de condição em laboratório alterou esta tendência em larvas provenientes do mar, sendo que, indicadores eco-fisiológicos como os índices de RNA/DNA, DNA/peso seco e RNA/proteína, são das ferramentas mais utilizadas para este fim (Chícharo *et al.*, 1998b; Chícharo & Chícharo, 2008). O índice RNA/DNA (*sRD*) é dos mais amplamente aplicados neste âmbito (Chícharo & Chícharo, 2008; Silva *et al.*, 2014). O princípio subjacente, está na quantidade de DNA intrínseco numa unidade celular que se mantém constante, mesmo durante períodos de privação de alimento, enquanto que a quantidade de RNA, da mesma célula, é diretamente proporcional à sua síntese proteica (Clemmesen & Doan, 1996; Cruz *et al.*, 2017; Baptista *et al.*, 2019), indicando o crescimento recente e dando, assim, uma medida instantânea do crescimento das larvas, (Chícharo *et al.*, 1998b). Larvas em boas condições têm um índice RNA/DNA maior do que aquelas que se encontram em condições de subnutrição.

As técnicas para a quantificação de DNA e RNA em larvas de peixe enfrentaram vários desafios ao mesmo tempo que foram ficando mais específicas para cada espécie e a cada estágio de desenvolvimento. Em 1984, Buckley validou o método para 8 espécies de larvas de peixe, incluindo para o arenque (*Clupea harengus*) da família *Clupeidae*. Porém, foram encontradas diversas dificuldades na quantificação dos ácidos nucleicos nos estádios mais precoces do desenvolvimento

larvar. Mais tarde, Clemmesen (1988) propôs pela primeira vez uma metodologia detalhada aplicada a larvas de peixe utilizando o método fluorométrico que demonstrou ser mais sensível, ultrapassando as limitações encontradas nos estudos de Buckley. Desde então, o recurso a este método, permite a quantificação do RNA e do DNA com grande precisão, (Baptista *et al.*, 2019), e tem vindo a ser aplicado com êxito em larvas de sardinha (Chícharo *et al.*, 1998a; Chícharo *et al.*, 1998b; Ramirez *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2014).

Outro índice bastante utilizado é o DNA/DW (DNA/peso seco). Sendo o DNA de um organismo, um indicador constante do número de células somáticas, o conteúdo relativo deste índice é uma estimativa do próprio tamanho das células (Bergeron, 1997). Perante condições adversas, o peso celular decresce, e consequentemente, o valor do DNA/DW aumenta, pois existem mais células somáticas presentes para o mesmo peso de tecido (Bergeron, 1997; Silva *et al.*, 2014). Para a sardinha, demonstrou-se em laboratório ser este o melhor índice para estimar a condição nutricional, capaz de distinguir larvas em inanição, alimentadas com dietas de baixas e altas concentrações (Soares *et al.*, unpubl. data). Para além disso, o índice mostrou-se independente do tamanho e idade da larva, sendo comparável os resultados ao longo da ontogenia (Soares *et al.*, unpubl. data).

## 1.7 Objetivos

O objetivo geral desta dissertação é compreender a relação entre as condições ambientais e o crescimento e sobrevivência de larvas de sardinha ao largo da costa Atlanto-Ibérica. Em particular, os objetivos específicos deste trabalho são os seguintes:

- (1) estudar a distribuição dos ovos e estados larvares da *S. pilchardus* em dois períodos com condições ambientais contrastantes, em particular no início e no fim da época da desova, ao largo da costa de Portugal continental e Golfo de Cádiz, em Espanha;
- (2) estudar o crescimento e a condição nutricional dos estados larvares da *S. pilchardus*;
- (3) Relacionar a distribuição, o crescimento e condição das larvas de sardinha com os fatores ambientais, nomeadamente temperatura, clorofila-a e salinidade.

Este estudo foi desenvolvido no âmbito do projeto “Sardinha 2020 - Abordagem Ecosistémica para a Gestão da Pesca da Sardinha”, coordenado pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) e financiado pelo MAR2020 (MAR-01.04.02-FEAMP-0009). O grande propósito desta iniciativa, visa o desenvolvimento um plano de gestão da indústria pesqueira de acordo com as diretrizes da Política Comum das Pescas (PCP) da UE e da Diretiva-Quadro Estratégia Marinha.

O projeto “Sardinha 2020” pretende desenvolver os estudos sobre a biologia, habitat e stock de espécies pelágicas da nossa costa, como a sardinha e a biqueirão, sendo foco de estudo, algumas das suas principais causas de mortalidade, tais como: predação e competição alimentar, impacto de variáveis ambientais (como a temperatura), acumulação de contaminantes (incluindo microplásticos) e acumulação de parasitas.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Área de Estudo e Estratégia de Amostragem

Recolheram-se larvas e ovos de sardinha em duas campanhas realizadas pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), uma no fim do Outono de 2017 (JUVESAR\_2017, JUV\_17) e outra na Primavera de 2018 (PELAGO\_2018, PEL\_18), coincidentes com o início e o final da postura da sardinha na Península Ibérica. O NI “Noruega” foi o navio operante em ambas as campanhas. A área geográfica estudada, abrangeu 4 zonas oceanográficas distintas, a costa ocidental norte de Portugal (OCN), a costa ocidental sul de Portugal (OCS), a costa sul de Portugal (ALG) e a costa Atlântica sul de Espanha (CAD) (Figura 2.1).

A campanha de rastreio acústico de Outono, JUV\_17, que decorreu entre 06 e 20 de dezembro de 2017, cobriu as águas costeiras do norte e centro de Portugal continental até à batimétrica dos 100 m, entre a Póvoa do Varzim e Pinheiro da Cruz, tendo como objetivo principal avaliar o recrutamento de sardinha, *S. pilchardus*, através do método de eco-integração acústica. Esta campanha não cobriu a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD). A campanha de rastreio acústico de Primavera, PEL\_18, que decorreu entre 26 de abril e 01 de junho de 2018, cobriu as águas portuguesas (OCN, OCS e ALG) e do Golfo de Cádiz (CAD), em Espanha, da costa até ao bordo da plataforma continental (Figura 2.1), tendo por principal objetivo a monitorização da abundância dos pequenos pelágicos, nomeadamente sardinha e biqueirão, através do método de eco-integração acústica. Em ambas as campanhas, foi realizada a amostragem de plâncton com redes Bongo para caracterização das comunidades de zooplâncton, estudos de crescimento e dietas de pequenos peixes pelágicos e das teias tróficas e ainda para determinação de microplásticos. As amostragens foram realizadas durante a noite (20 – 04 h aprox) ao longo de transectos de oportunidade perpendiculares à costa, com estações distanciadas de 3 milhas desde a costa até à batimétrica dos 100 m. Na campanha JUV\_17 foi usada uma rede BONGO\_90 (em que se usou para este estudo a malha 780µm) e na campanha PEL\_18 foi usada uma BONGO\_60 (em que se usou para este estudo a malha 500µm), (Tabela 2.1). Em ambas as campanhas as redes foram operadas em arrasto oblíquo entre a superfície e os 60 m de profundidade.

Tabela 2.1. Resumo da amostragem nas duas campanhas, JUV\_17 e PEL\_18.

	CAMPANHAS	
	JUV_17	PEL_18
Início amostragem	08/12/2017	30-04-2018
Fim amostragem	19/12/2017	30-05-2018
Tipo Rede	BONGO_90cm	BONGO_60cm
Malha	780 µm	500 µm
Nº Estações Amostradas	27	87
Nº Amostras Estudadas	12	28*

\*Cada uma das amostras provenientes da PEL\_18 foi dividida em quatro alíquotas, utilizando um aparelho de Folsom, portanto, trabalhou-se nesta campanha com uma sub-amostra correspondente a ¼ da amostra total.

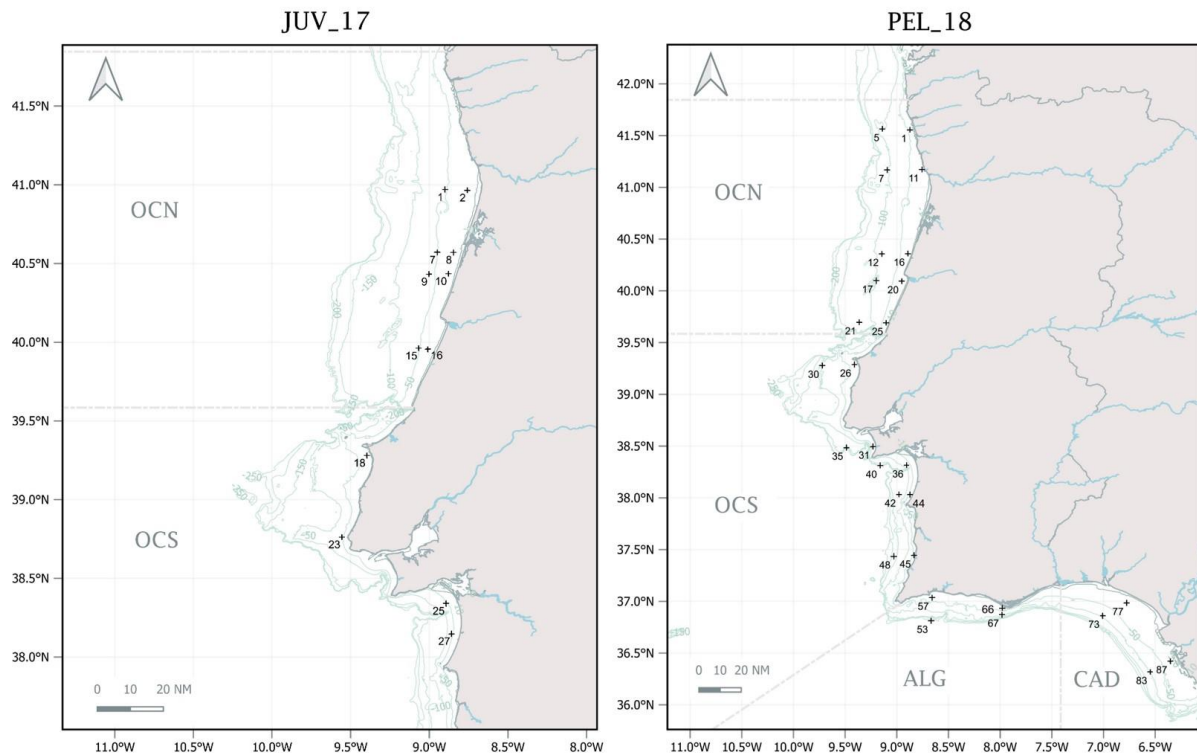


Figura 2.1. Localização das estações de amostragem consideradas neste estudo. JUV\_17 (à esquerda) e PEL\_18 (à direita)

Foram usados fluxómetros GO fixados às redes para a estimativa do volume de água filtrada. A bordo, nas duas campanhas, e imediatamente após a recolha, as amostras foram preservadas em álcool etílico (96%). Simultaneamente foram obtidos registos não só dos arrastos efetuados, mas também das condições oceanográficas. Em cada estação de amostragem de plâncton foram registados ao longo da coluna de água valores de temperatura, salinidade, fluorescência (concentração de clorofila-a) e profundidade, obtidos através de um *CTDF* (*Conductivity Temperature Depth/pressure and Fluorescence*).

Selecionou-se um sub-conjunto de amostras de ictioplâncton, que fosse representativo da área amostrada, para triar, quantificar e analisar as larvas de sardinha.

## 2.2 Procedimentos Laboratoriais

Em laboratório, quantificou-se primeiro a biomassa de cada uma das amostras selecionadas, através do método do volume deslocado. Após esta determinação separaram-se as larvas de peixe dos outros organismos zooplancónicos, identificaram-se depois, utilizando uma lupa binocular (Leica, modelo: TL3000 Ergo), as larvas de sardinha e biqueirão e separaram-se estas das restantes larvas. Todas as larvas de sardinha encontradas nas amostras selecionadas foram medidas (comprimento padrão (SL\_standard length), de acordo com (Busacker *et al.*, 1990) com o auxílio do programa LAS Core, V4.12. Em seguida, realizou-se extração dos otólitos de cada larva.

Para avaliar o crescimento e condição nutricional dos estados larvares de *S. pilchardus* optou-se, neste estudo, por duas metodologias: a análise da microestrutura dos otólitos e a quantificação dos ácidos nucleicos, respetivamente. Para realizar estas análises e para cada larva, separou-se a cabeça para posterior extração e análise dos otólitos do resto do corpo, para o qual se avaliaram os ácidos nucleicos (procedimento pormenorizado em 2.2.1). A incisão para separar a cabeça da larva do resto do corpo, de

modo a preservar os otólitos, foi feita entre o cleitrum, que corresponde a um osso localizado na zona occipital, e a zona anterior às barbatanas peitorais, adaptando assim o “método da guilhotina” às larvas de sardinha (Secor et al., 1992). Ambos as partes foram conservados individualmente em álcool (96%) e as amostras congeladas (a -20°C).

### 2.2.1 Análise da Microestrutura dos Otólitos

Para analisar a microestrutura dos otólitos, cada larva foi colocada numa lâmina de vidro com uma gota de água para aí se proceder à sua dissecação. Utilizaram-se pinças de relojoeiro de aço inoxidável N5 e agulhas de espessura extrafina (0.25 x 25mm) para esta dissecação. Depois de separar cirurgicamente os otólitos do resto do material biológico, seguiu-se a fixação imediata dos mesmos na lâmina de vidro com resina de fraca dureza, DPX®. Todo este processo foi realizado com uma lupa binocular (Leica, Modelo: TL3000 Ergo) com luz de leds. Cada lâmina contendo os otólitos de cada larva foi catalogada e colocada, pelo menos, 12h numa estufa a 60°C para evitar a formação de bolhas (Secor *et al.*, 1992). Quantificaram-se os anéis diários presentes nos otólitos e a distância entre os anéis consecutivos com a ajuda de um microscópio (Leica DM 25000 LED) associado a um sistema de imagem, com características que permitiram obter grandes ampliações com alta resolução. Utilizou-se luz polarizada e um sistema de contraste com prismas *DIC* (*Differential Interference Contrast*). Assim, em cada lâmina foram observados, sempre que possível, os dois *sagittae*. Os critérios de medição adotados foram os mesmos para todas as amostras. As medições fizeram-se sobre o eixo maior com início no centro do núcleo prolongando-se até ao bordo do otólito. Em cada otólito mediram-se os anéis de eclosão e de primeira alimentação, as distâncias entre os três últimos anéis (exceto o bordo), e fez-se a contagem do total dos anéis, a começar depois do anel de primeira alimentação e terminando no anel imediatamente antes do bordo. Embora alguns autores, como em (Alemany & Alvarez; 1994), refiram a existência de anéis que são depositados diariamente entre a marca de eclosão e a da primeira alimentação exógena, no presente estudo, muitas vezes estes eram ténues ou estavam invisíveis e, portanto, não foram considerados. Optou-se, assim, por se adicionar 4 anéis ao total dos anéis contabilizados. Nas larvas em que se leram os dois *sagittae*, o número de incrementos, dessa larva foi calculado fazendo uma média entre os dois *sagittae*. Rejeitaram-se as leituras em que a diferença do número de anéis entre os dois otólitos da mesma larva foi superior a 10%, somando um número total de 41 rejeições.

#### Escolha dos *Sagittae* – Critérios de Seleção Adotados:

Nos casos em que a extração dos **4 otólitos** foi bem sucedida, adotou-se os seguintes critérios para distinguir e selecionar os 2 *sagittae*:

Para as larvas em que foram retirados 4 ou 3 otólitos, considerou-se como *sagittae* os 2 otólitos que possuem o maior raio. Exceto nas larvas com comprimentos entre 6 e 8 mm. No caso das larvas em que o raio dos 4 otólitos foi muito semelhante, considerou-se os 2 otólitos com maior número de anéis identificáveis. Larvas em que foram retirados 2 otólitos considerou-se apenas o otólito com maior raio, no caso de haver grande diferença entre os dois raios. No caso dessa diferença ser pequena considerou-se os dois otólitos. Larvas em que foi retirado 1 otólito considerou-se esse único, independentemente do comprimento da larva ou do raio.

Na campanha PEL\_18, conseguiu-se fazer a divisão, na maioria das larvas, entre os otólitos extraídos do lado esquerdo e os otólitos extraídos do lado direito. Nestas, os critérios de seleção dos *sagittae* foram os seguintes: Para as larvas em que foram retirados 4 otólitos, considerou-se como *sagitta* o otólito com o maior raio, de cada lado da cabeça. Para as larvas em que foram retirados 3 otólitos, sabemos que o lado da cabeça que possui dois otólitos, um deles de certeza que é um *sagitta*, o outro do lado oposto,

pode ser ou não. Considerou-se como *sagitta* o maior otólito do lado em que possui os dois, sendo que, se considerou como *sagitta* o do lado oposto, se o tamanho do raio for aproximado. Quando a diferença de tamanhos foi grande, rejeitou-se otólito. Nas larvas com otólitos de raios semelhantes, identificou-se primeiro o *sagitta* no lado com dois otólitos que será o que possui maior número de anéis. O otólito do lado oposto aceitou-se como sendo também *sagitta* quando tinha uma diferença no número de anéis igual ou inferior a 10%. Nas larvas em que foram retirados 2 otólitos, podem dar-se duas situações: 1) serem os dois otólitos do mesmo lado da cabeça e apenas um será o *sagitta*; 2) serem de lados opostos da cabeça podendo os dois ser ou não *sagitta*. Na situação 1), considerou-se como *sagitta* o otólito que possui o maior raio. Nas larvas com otólitos com os raios aproximados ou iguais considerou-se o otólito com maior número de anéis. Na situação 2) e para larvas em que apenas se retirou 1 dos otólitos, procedeu-se homologamente como descrito em cima para a situação em que não haveria distinção dos lados da cabeça.

### 2.2.2 Quantificação dos Ácidos Nucleicos

Para quantificar os ácidos nucleicos, as amostras congeladas foram liofilizadas no liofilizador LABCONGO a  $-79^{\circ}\text{C}$ , onde permaneceram 24h. Posteriormente as amostras foram pesadas numa balança de alta precisão Mettler Toledo XS205 (precisão de  $\pm 0,01$  mg), temporariamente cedida pelo Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.

Depois de liofilizadas, as larvas de maiores dimensões foram ainda cortadas e pesadas novamente na balança de alta precisão de modo a que os seus pesos não excedessem 1mg, preferencialmente, facilitando assim, os cálculos e as comparações dos resultados entre larvas de diferentes tamanhos. Os procedimentos laboratoriais seguintes foram desempenhados nas instalações do Centro de Ciências Marinhas (CCMAR) da Universidade do Algarve. Ambos os ácidos nucleicos DNA e RNA foram obtidos através do método de fluorescência em microplaca num leitor de Microplacas de Fluorescência (Biotek Synergy HT modelo SIAFRTD - BioTek®Instruments, Inc., Vermont, EUA). A extração dos mesmos, seguiu o protocolo descrito em (Baptista *et al.*, 2019; Cruz *et al.*, 2017; Caldarone *et al.*, 2001). Os procedimentos protocolares envolveram a homogeneização química (com a adição de Sarcosina a 0.5%) e mecânica (sonicação – 3 pulsos a 50 A) dos tecidos, mais a adição do corante Gel Red (GR) antes de serem submetidas à primeira leitura por fluorescência. Esta primeira leitura tem por objetivo determinar a fluorescência total de DNA+RNA que se encontra em cada amostra, sendo medida, seguidamente, no leitor de microplacas com um comprimento de onda de excitação de 365 nm e um comprimento de onda de emissão de 590 nm, segundo (Baptista *et al.*, 2019). É feita uma segunda leitura após a adição de uma solução de ribonuclease A (Tipo II A), enzima que catalisa a degradação do RNA recente, excluindo-o da solução. Seguidamente são executadas curvas padrão de DNA ultrapuro a esta segunda leitura, de onde é obtida diretamente a concentração de DNA. Homologamente, a concentração de RNA é obtida através da execução de curvas padrão de RNA à diferença entre a primeira leitura (DNA+RNA total) e a segunda leitura. No entanto, a preservação das amostras foi feita em álcool o que compromete os valores de RNA, tornando-os pouco fiáveis (Teodósio, *com. pess*) e, por esta razão, neste estudo foram apenas usados os valores quantificados do DNA/mg para refletir a condição nutricional das larvas, que é considerado um bom indicador da condição larvar por Garrido (em *press com.*).

## 2.3 Análise dos Dados

A informação das campanhas e dos correspondentes dados obtidos foram introduzidos numa base de dados, utilizando o programa de cálculo Microsoft Excel onde foram elaborados os gráficos de dispersão e as tabelas dinâmicas. Pôde-se fazer comparações entre as abundâncias das duas campanhas utilizando o volume de água filtrada.

Foi utilizado o programa QGIS, versão 3.14.16, para a elaboração dos mapas. A partir da ferramenta de “Interpolação pelo Inverso da Potência das Distâncias” do mesmo programa, foram elaborados os mapas para a caracterização ambiental da zona de amostragem. Os dados interpolados vieram dos perfis de *CTDF* de cada estação, em particular a Temperatura de superfície (*Sea Surface Temperature, SST*), a Salinidade de Superfície (*Sea Surface Salinity, SSS*) e a concentração de Clorofila-a (*Chl\_a*). A concentração da Clorofila-a, em  $\text{mg/m}^3$ , calculou-se como a média no intervalo de 20 m centrado no valor máximo de fluorescência registado no perfil de *CTDF*.

Os dados de idade e tamanho das larvas de cada campanha foram ajustados a equações de crescimento de Gompertz, no software ‘R4.2.0’, com a forma:

$$SL = a^{-b^{-c*Idade}} \quad 2.1$$

em que *SL* é o comprimento padrão, *a* é o tamanho da larva à idade 0 e *b* e *c* são parâmetros da forma da curva, através de regressão não linear. Para comparar a relação entre o tamanho e a idade das larvas entre as duas campanhas, usou-se o método de (Chen *et al.*, 1992) para comparar modelos não lineares.

Estudou-se a variação do DNA/mg das larvas em função do seu tamanho e da zona de captura (*OCN*, *OCS* e *ALG*) para larvas recolhidas na campanha PEL\_18 e na campanha JUV\_17 (*OCN* e *OCS*) ajustando modelos lineares generalizados com uma função Gama. Para comparar as diferentes zonas fizeram-se testes à posteriori.

Foram usados modelos aditivos generalizados (*Generalized Additive Models, GAMs*, Hastie & Tibshirani, 1986) para explicar a influência das variáveis ambientais nas variáveis resposta: densidade de larvas (*Dlarvas*), taxa de crescimento (*TC*), condição nutricional (*DNA*) e crescimento dos três últimos anéis dos otólitos das larvas de sardinha (*C3*). As variáveis explicativas ambientais usadas nos modelos incluíram: temperatura integrada da coluna de água dos 0 a 20 m (*T\_20m*), salinidade integrada da coluna de água dos 0 a 20 m (*S\_20m*), temperatura de superfície (*SST*), salinidade de superfície (*SSS*), a concentração média de Clorofila-a (*Chla*) e a densidade de ovos (*Dovos*). O trimestre e a região foram também considerados nos modelos, assim como a distância à costa (*Dcosta*) e a profundidade do fundo (*PF*), para incluir possíveis influências temporais e geográficas não relacionadas com as variáveis ambientais que foram selecionadas. Para melhor interpretação dos resultados obtidos nos GAM, as variáveis trimestre e região foram agrupadas na variável nominal trimestre/região: Outono\_Oeste, Primavera\_Oeste e Primavera\_Sul. Correspondendo “Outono\_Oeste” à campanha JUV\_17, onde a amostragem contemplou apenas a zona Oeste de Portugal. Para a campanha PEL\_18, que abrangeu as zonas Oeste e Sul, decidiu-se separar em “Primavera\_Oeste” e “Primavera\_Sul”. O comprimento total larval (*CL*) foi incluído como uma variável contínua intrínseca nos modelos para *TC*, *DNA* e *C3*.

Foi realizada uma análise exploratória dos dados *a priori* (Zuur *et al.*, 2010) que incluiu a verificação da existência de valores extremos (*outliers*), da normalidade das variáveis respostas e de colinearidade, *i. e.*, existência de correlação significativa entre as variáveis explicativas, usando “*QQ-plots*”, teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* e verificação de *VIFs* (“*Variance Inflation Factor*”). O problema da colinearidade foi resolvido, descartando sequencialmente a variável com maior *VIF*, recalculando os

*IFs* para as restantes variáveis e repetindo este processo até ter um conjunto de variáveis com *VIF* inferior a 10 (Montgomery & Peck, 1992). As variáveis com grande desvio da normalidade foram transformadas usando a raiz quadrada (*sqrt*) ou o logaritmo natural (*ln*).

Uma vez que as variáveis resposta seguem uma distribuição normal ou foram previamente transformadas, em *sqrt* ou *ln*, para aproximar à normalidade, foram usados modelos GAM com função *Gaussian* e com ligação de identidade (*identity link*). Foram usados “*Splines*” de suavização (*smoothers*) para representar o efeito não linear das variáveis explicativas contínuas. Para todas as variáveis explicativas contínuas, um grau máximo de suavização igual a 5 foi usado para reduzir o sobre ajuste (*overfitting*). Os parâmetros de suavização foram estimados usando validação cruzada generalizada (*GCV*) (Gu & Wahba, 1991). Os modelos foram construídos seguindo um procedimento de seleção reversa começando com um modelo completo, ou seja, incluindo todas as variáveis explicativas candidatas, e removendo sequencialmente as variáveis explicativas com efeitos parciais não significativos ou as menos significativas entre pares de variáveis altamente colineares, por exemplo, *T\_20m* e *SST*. O modelo de melhor ajuste foi selecionado com base no *Akaike Information Criterion* (*AIC*) (menor *AIC*). Mais informações sobre estas técnicas podem ser encontradas em Zuur *et al.* (2007) e Zuur *et al.* (2010). Todos os gráficos e análises estatísticas foram realizados usando o software de código aberto R versão 4.2.0..

## 3 Resultados

### 3.1 Condições Oceanográficas

#### Temperatura:

Na campanha de Outono (JUV\_17) a temperatura de superfície (*SST*) variou entre 13,8°C e 15,9°C com uma média de 14,7±0,545 °C. Na campanha de Primavera (PEL\_18) a temperatura variou entre 13,2°C e 20,2°C com uma média de 16,2±2,060 °C. Comparando a zona *OCN* entre as duas campanhas, verificou-se uma diminuição da *SST* do Outono para a Primavera, correspondendo a uma descida nos valores médios de 14,4±0,318 para 14,0±0,647 °C (Figura 3.1).

No Outono, observou-se um aumento da temperatura de Norte para Sul, à medida que se transitou da *OCN* para *OCS*, em direção ao cabo de São Vicente. Correspondendo este aumento dos valores médios de 14,4±0,318 °C na *OCN* para 15,2±0,425 °C na *OCS*. A temperatura mínima foi registada ao largo da ria de Aveiro (*OCN*) e a máxima ao largo da península de Troia (*OCS*).

No início da Primavera os valores de temperatura da zona *OCN* foram também mais baixos que nas restantes zonas oceanográficas, principalmente a Norte de Aveiro, onde se registou o valor mínimo de 13,2°C. Na zona *OCS*, a temperatura aumentou gradualmente para Sul em direção ao cabo de São Vicente, com uma média de 15,2±0,460 °C. Nas zonas *ALG* e *CAD*, a temperatura aumentou de Oeste para Este, na direção de *CAD* (onde se registou o valor mais alto de *SST*) com uma média de 19,3±0,495 °C, comparando com os da zona *ALG*, com uma média de 17,7±0,899 °C.

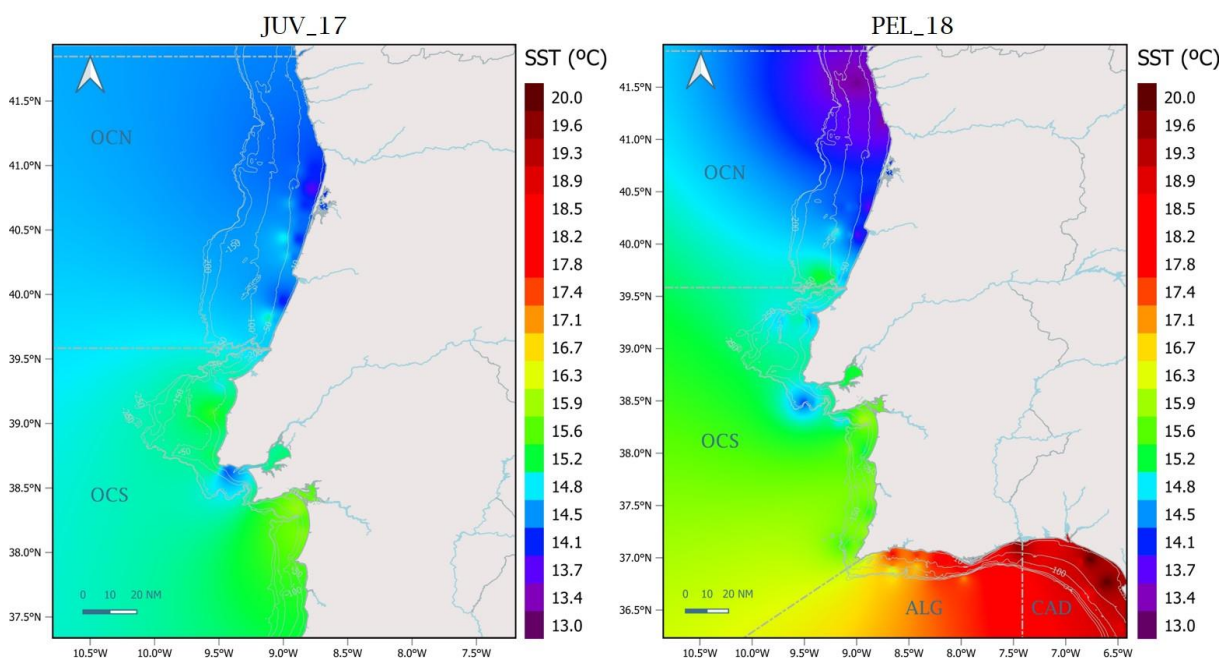


Figura 3.1. Distribuição horizontal da *Temperatura de Superfície (SST)*, em °C, referente às campanhas JUV\_17, à esquerda, e PEL\_18, à direita.

### Salinidade:

Comparando a JUV\_17 com a PEL\_18 em termos de salinidade, verificou-se uma ligeira descida do Outono para a Primavera, tanto na zona *OCN* como na zona *OCS* (Figura 3.2). Sendo que na JUV\_17, os valores variaram entre 36,15 e 34,79 com uma média de  $35,83 \pm 0,257$  e na PEL\_18 variaram entre 36,04 e 32,28 com uma média de  $35,56 \pm 0,527$ .

Os valores de salinidade no Outono foram mais ou menos constantes, exceto na foz do rio Tejo (na *OCS*) onde se registou o valor mínimo de salinidade e ao largo da península de Troia onde se registou o valor mais alto de salinidade.

Na Primavera, a zona *OCN* é a zona com menor salinidade, especialmente na foz do Rio Douro, onde se observou o valor mínimo. As zonas de *ALG* e *CAD*, registam os valores mais elevados de salinidade, sobretudo em *CAD* com o registo do valor mais alto e uma média de  $35,95 \pm 0,056$ . A zona de *ALG* registou uma média de  $35,86 \pm 0,150$ .

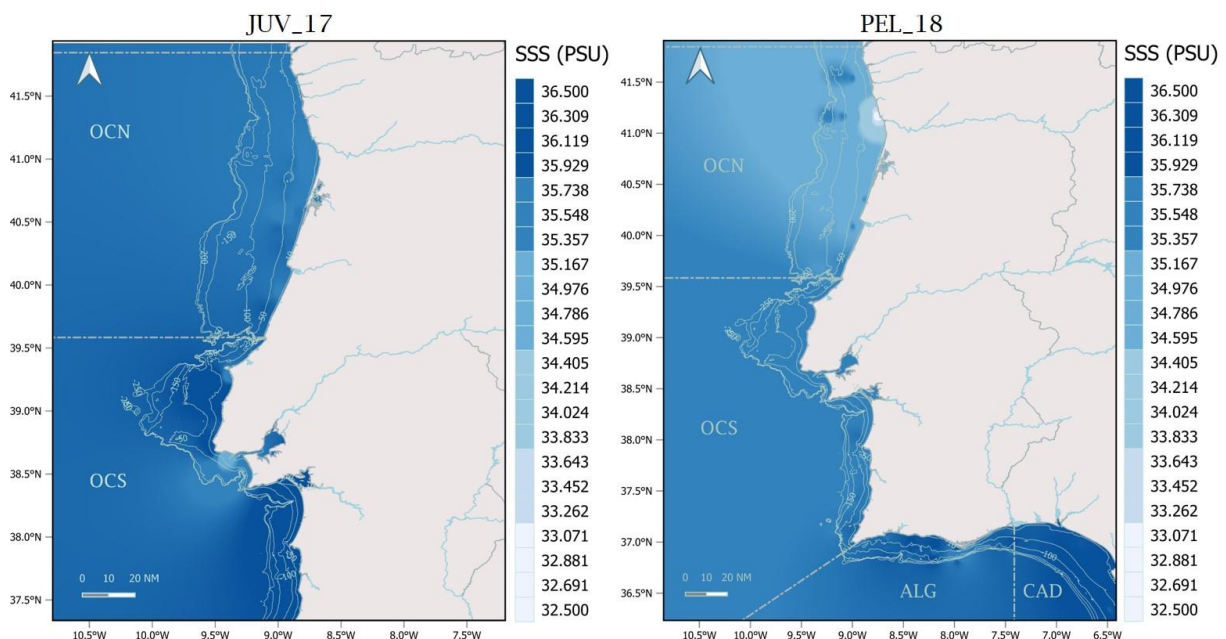


Figura 3.2. Distribuição horizontal da Salinidade de Superfície (SSS), em PSU, referente às campanhas JUV\_17, à esquerda, e PEL\_18, à direita.

### Clorofila-a:

Na campanha de Outono a concentração de Clorofila-a variou entre  $2,048 \text{ mg.m}^{-3}$  e  $0,520 \text{ mg.m}^{-3}$ , com uma média de  $1,010 \pm 0,414 \text{ mg.m}^{-3}$ . Na campanha de Primavera as concentrações variaram entre  $7,488 \text{ mg.m}^{-3}$  e  $0,360 \text{ mg.m}^{-3}$  com uma média de  $1,615 \pm 1,046 \text{ mg.m}^{-3}$  (Figura 3.3).

No final do Outono, os valores da clorofila-a foram mais altos na *OCN* com uma média de  $1,168 \pm 0,458 \text{ mg.m}^{-3}$  do que na *OCS* com uma média de  $0,780 \pm 0,166 \text{ mg.m}^{-3}$ . Homologamente, o valor mais alto de clorofila-a registou-se na *OCN*, na foz do Rio Douro, e o valor mais baixo na *OCS*, a sul de Peniche.

Esta tendência inverteu-se na Primavera, *i. e.*, a zona *OCS* registou a concentração mais alta de toda a campanha ao largo de Peniche, verificando-se uma média de  $2,267 \pm 1,504 \text{ mg.m}^{-3}$ , em comparação com a zona *OCN*, onde se verificou uma média de  $1,711 \pm 0,516 \text{ mg.m}^{-3}$ . Ainda na *OCS*, observaram-se concentrações altas de clorofila-a a Norte do cabo de Sines e a Norte do cabo de São Vicente. As zonas de *ALG* e *CAD* foram as menos produtivas no início da Primavera com médias de  $0,911 \pm 0,270 \text{ mg.m}^{-3}$

e  $1,222\pm 0,370 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ , respetivamente, destacando-se a zona a Este de Portimão onde se verificou o valor mais baixo de clorofila-a.

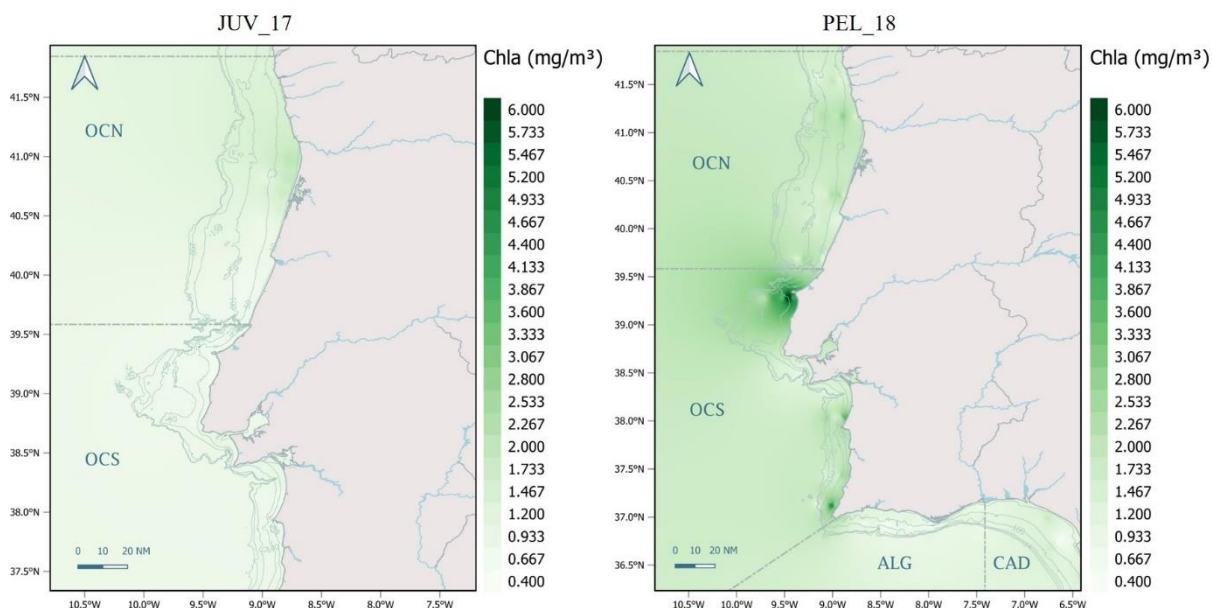


Figura 3.3. Distribuição horizontal da concentração da Clorofila-a (Chla), em  $\text{mg}/\text{m}^3$ , referente às campanhas JUV\_17, à esquerda, e PEL\_18, à direita.

### 3.2 Distribuição e Abundância das Larvas de Sardinha

Um total de **279** larvas de sardinha foram triadas no conjunto das campanhas. Na [tabela 3.1](#) estão apresentados os valores da abundância do ictioplâncton triado por  $\text{m}^3$  de água filtrada.

Tabela 3.1. Densidade de ovos e larvas de Sardinha, Biqueirão e Outros Peixes (Outros) por metro cúbico de água filtrada, nas duas campanhas. Espécies apresentadas com o seu código FAO; *Sardina pilchardus* – PIL e *Engraulis encrasicolus* – ANE.

		PIL x100/ $\text{m}^3$	ANE x100/ $\text{m}^3$	Outras x100/ $\text{m}^3$
<b>JUV_17</b>	Ovos	144	0	351
BO_90_780	Larvas	94	4	20
<b>PEL_18</b>	Ovos	2 656	4 631	11 519
BO_60_500	Larvas	605	542	1 646

A média da abundância, por  $100\text{m}^3$ , de ovos e larvas de sardinha na costa Ocidental portuguesa, foi bem menor na campanha do final do Outono (JUV\_17) do que na campanha do início da Primavera (PEL\_18). Assim, na costa Ocidental (OCN e OCS) verificou-se uma média total de  $12,0\pm 18,8 \text{ ovos}\cdot\text{m}^{-3}$  e  $7,8\pm 8,7 \text{ larvas}\cdot\text{m}^{-3}$  no Outono, e uma média total de  $94,9\pm 170,4 \text{ ovos}\cdot\text{m}^{-3}$  e  $21,6\pm 20,8 \text{ larvas}\cdot\text{m}^{-3}$  no início da Primavera ([Tabela 3.2](#) e [Figura 3.4](#)).

No início da Primavera, observou-se maior abundância, por  $100\text{m}^3$ , de ovos e larvas de sardinha na costa Ocidental do que na costa Sul (ALG e CAD), embora a comparação de abundância entre as duas campanhas esteja limitada pelo facto de se terem utilizado redes diferentes, como explicado no material e métodos ([Tabela 3.2](#) e [Figura 3.4](#)).

Tabela 3.2. Média de abundância por 100m<sup>3</sup> de ovos e larvas de Sardinha, por zona oceanográfica em cada campanha.

<b>JUV_17</b>				<b>PEL_18</b>			
		média	DesvPad			média	DesvPad
<b>Oeste</b>	Ovos	12,0	18,8	<b>Oeste</b>	Ovos	121,3	193,2
	Larvas	7,8	8,7		Larvas	24,4	19,5
				<b>Sul</b>	Ovos	28,7	46,9
					Larvas	14,6	22,1
				<b>Total</b>	Ovos	94,9	170,4
					Larvas	21,6	20,8

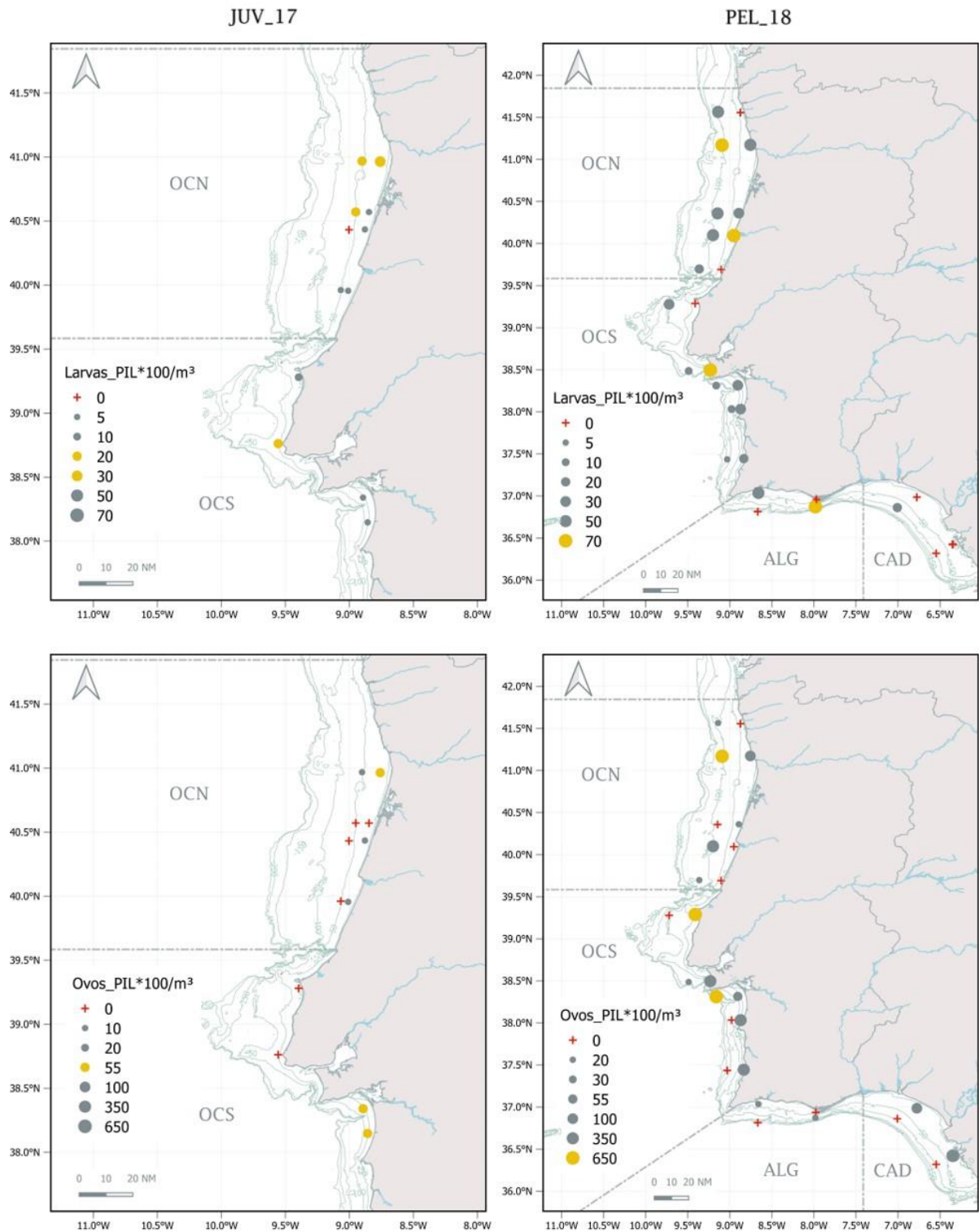


Figura 3.4. Abundância de larvas (cima) e ovos (baixo) de sardinha, capturados nas estações amostradas da JUV\_17 (à esquerda) e da PEL\_18 (à direita). As estações com as maiores abundâncias estão assinaladas a amarelo e aquelas em que não foram encontradas larvas nem ovos, estão assinaladas com uma cruz vermelha, nas duas campanhas.

### Abundância de Ovos e de Larvas por Estação de Amostragem no Final do Outono

A **abundância de ovos por estação de amostragem**, na zona *OCS*, foi maior entre a península de Troia e o Cabo de Sines. Nesta zona um dos pontos de amostragem registou 54,1 ovos.100m<sup>-3</sup>. Na zona *OCN*, a maior abundância de ovos registou-se a norte da Ria de Aveiro, com uma abundância de 47,4 ovos.100m<sup>-3</sup> (Figura 3.4, Figura 3.5). Fora destas estações, a abundância de ovos na JUV\_17 é fraca, com muitas estações onde o registo de ovos capturados é zero.

Na zona *OCN*, as estações com maior **abundância de larvas** situam-se ao largo da Ria de Aveiro, onde se registou a maior concentração (29,1 larvas.100m<sup>-3</sup>). Na zona *OCS*, destaca-se a estação junto ao Cabo da Roca, com um dos valores mais altos (16,9 larvas.100m<sup>-3</sup>) (Figura 3.4, Figura 3.5 e Tabela 3.4).

### Abundância de ovos e de larvas por estação de amostragem no Início da Primavera

Em relação à **abundância de ovos por estação**, destacou-se a costa Oeste (*OCN* e *OCS*) com maior abundância, sendo os pontos fortes a Norte de Aveiro (*OCN*), ao largo de Peniche (*OCS*) e a Sul do Cabo Espichel (*OCS*), este último com o maior registo de abundância de ovos de toda a campanha, 649,3 ovos.100m<sup>-3</sup> (Figura 3.4, Figura 3.5). A costa Sul (*ALG* e *CAD*) registou pouca abundância de ovos de sardinha.

As estações com maior **abundância de larvas** situaram-se na *OCN*, na zona da foz do rio Mondego e a Norte da Ria de Aveiro. Nesta zona verificou-se a estação com o maior registo de larvas de sardinha de toda a campanha (70,1 larvas.100m<sup>-3</sup>). A zona *OCS* também tem um registo elevado na abundância de larvas, destacando-se a zona a Norte do Cabo Espichel (51,4 larvas.100m<sup>-3</sup>). Na zona *ALG* destaca-se a estação a Oeste da ponta de Faro, com um registo de 61,0 larvas.100m<sup>-3</sup>. Na zona de *CAD* registaram-se as menores abundâncias de larvas de sardinha, onde a maioria das suas estações registam zero larvas capturadas (Figura 3.4, Figura 3.5 e Tabela 3.5).

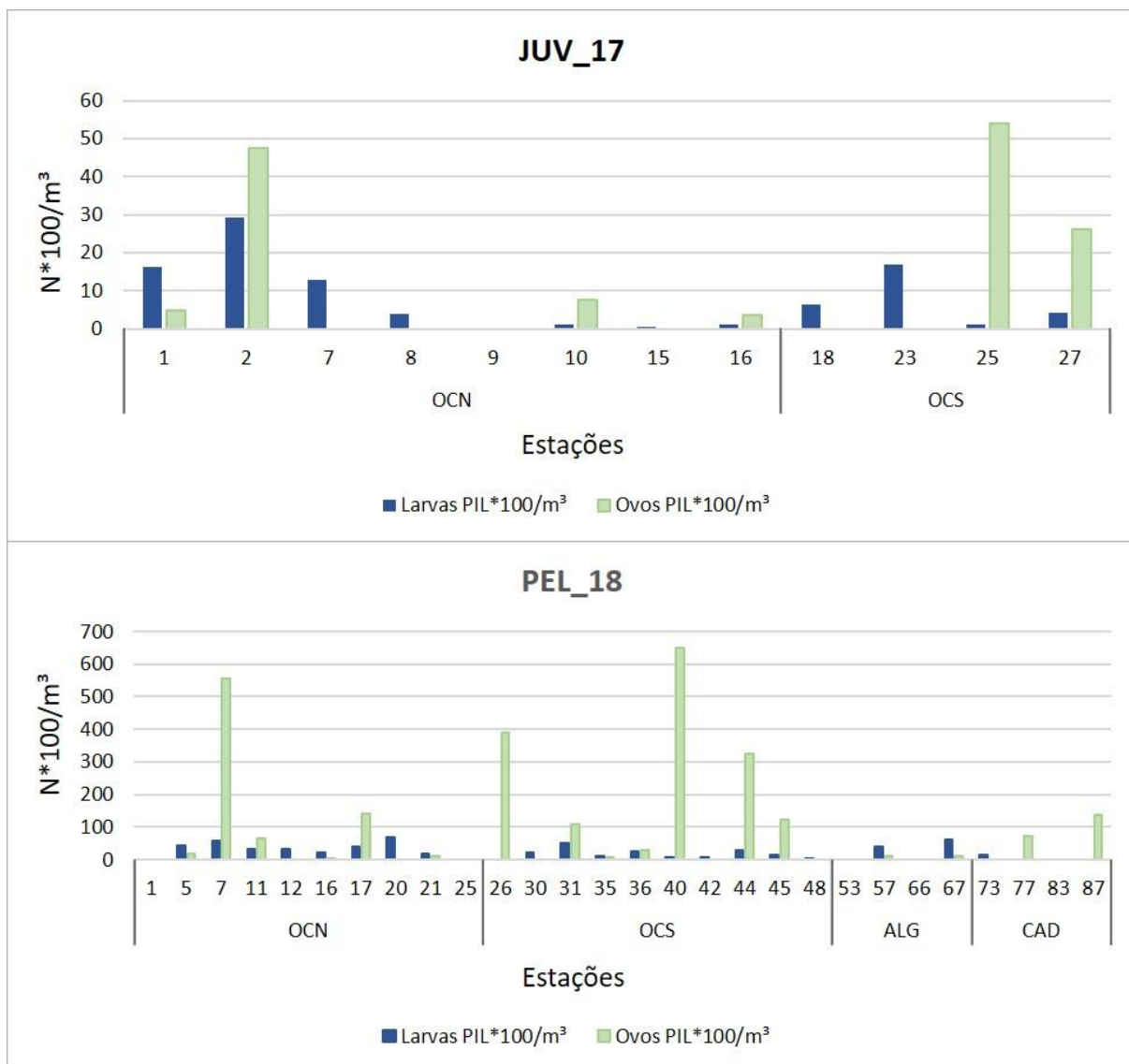


Figura 3.5. Abundância de ovos e larvas de sardinha por estação nas campanhas JUV\_17 (em cima) e PEL\_18 (em baixo).

### 3.3 Comprimento e Peso das Larvas de Sardinha

Apenas **247** larvas, das 279 triadas, foram medidas. As restantes 32 larvas não se mediram por se encontrarem deterioradas e/ou não ser possível determinar com precisão o seu comprimento.

O **comprimento padrão** das larvas de sardinha capturadas no final do Outono variou entre 3,3 e 22,4 mm e entre 2,4 e 21,3 mm na campanha de início da Primavera, sendo o comprimento médio  $8,7 \pm 3,85$  e  $7,8 \pm 3,91$ , respetivamente (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Número de observações, média, máximo, mínimo, variância e desvio padrão das variáveis: comprimento, peso seco, idade e taxa de crescimento.

JUV_17						
	Nº obs	Média	Máximo	Mínimo	Variância	DesvPad
Comprimento (SL_mm)	154	8,64	22,41	3,26	14,988	3,871
Peso_seco (mg)	173	0,16	5,49	0,002	0,29	0,539
Idade (dph)	109	18,77	116	4	471,516	21,714
Tx.Crescimento (mm/dia)	89	0,61	1,05	0,17	0,031	0,176
DNA/mg	152	13,5	67,99	1,06	84,33	9,15
PEL_18						
	Nº obs	Média	Máximo	Mínimo	Variância	DesvPad
Comprimento (SL_mm)	93	7,81	21,38	2,42	15,422	3,927
Peso_seco (mg)	102	0,18	3,89	0,002	0,258	0,508
Idade (dph)	70	17,8	105	4	345,017	18,575
Tx.Crescimento (mm/dia)	63	0,59	1,01	0,2	0,031	0,175
DNA/mg	91	7,8	33,83	0,43	49,41	6,99

A frequência de comprimentos observada do total de larvas capturadas no final do Outono, foi de 50% entre 6 e 10 mm de comprimento, 25% entre 10 e 15,5 mm e os outros 25% entre 6 e 4 mm (Figura 3.6 a)). No início da Primavera, a frequência de comprimentos observada foi de 50% entre 5 e 9 mm, 25% entre 9 e 13 mm e os restantes 25% entre 5 e 2,5 mm (Figura 3.6 c)).

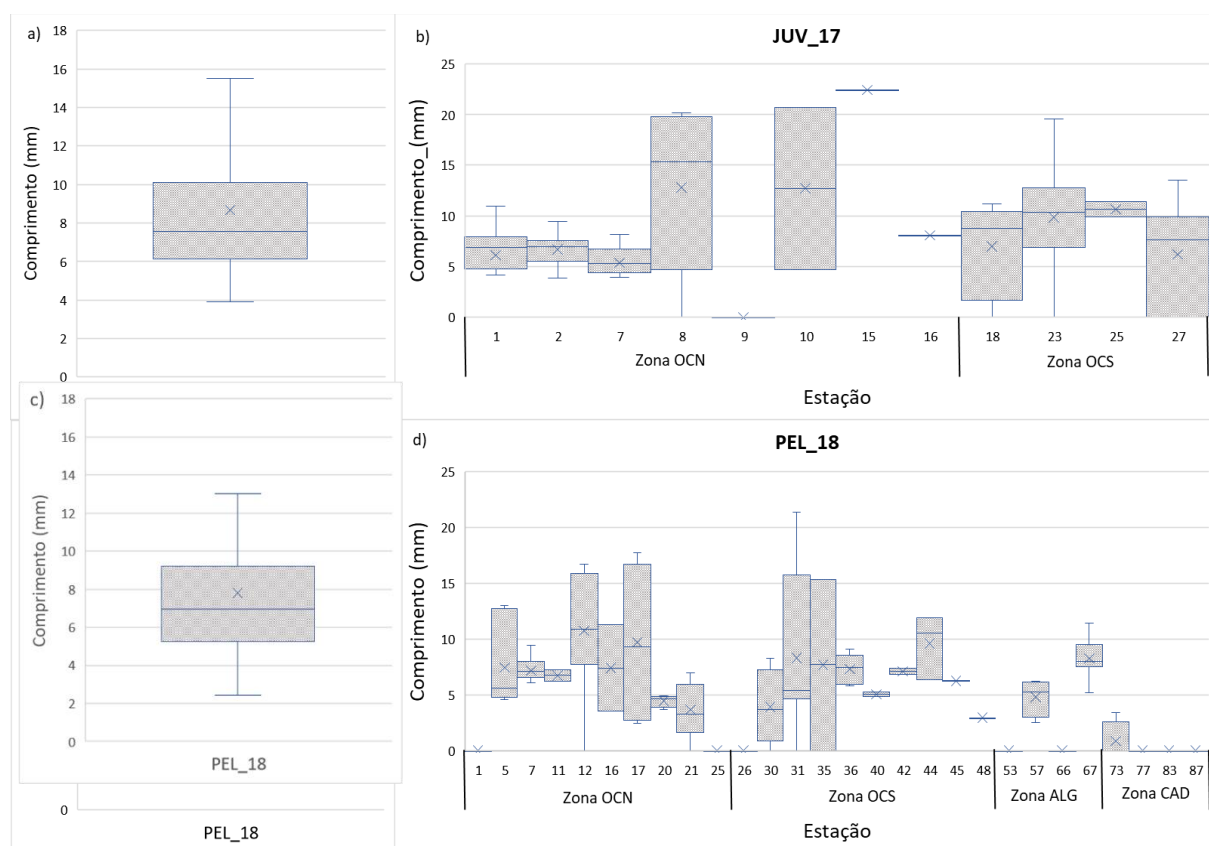


Figura 3.6. a) e c) Boxplots dos comprimentos de larvas de sardinha recolhidas na campanha JUV\_17 (cima) e PEL\_18 (baixo); b) e d) Boxplots dos comprimentos por estação de larvas de sardinha recolhidas na campanha JUV\_17 (cima) e PEL\_18 (baixo).

No **final do Outono** um grande número de larvas, de comprimentos entre 05-10 mm, encontrou-se na zona a sul do Rio Douro na zona *OCN* (Figura 3.7, Figura 3.8), sendo o número de larvas por volume filtrado de 21,9 larvas.m<sup>-3</sup> (Tabela 3.4).

Homologamente, no **início da Primavera**, um grande número de larvas de comprimentos entre 05-10 mm foi registado em 3 zonas. Estas correspondem: na *OCN*, ao largo da foz do Rio Douro (453 larvas.100m<sup>-3</sup>); na *OCS*, ao largo do Cabo Espichel (269 larvas.100m<sup>-3</sup>); e na *ALG*, ao largo da ponta de Faro (560 larvas.100m<sup>-3</sup>), (Figura 3.7, Figura 3.8. e Tabela 3.5).

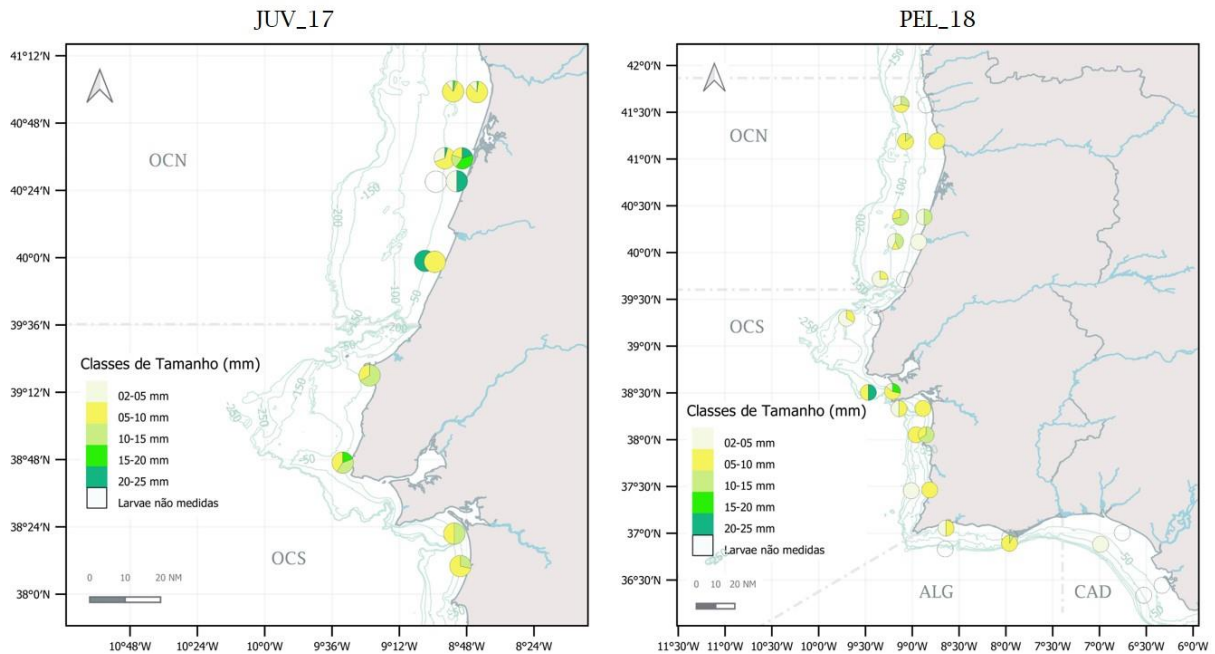


Figura 3.7. Frequências relativas dos estados larvares de sardinha por classes de comprimento nas estações consideradas na nas campanhas JUV\_17 e na PEL\_18.

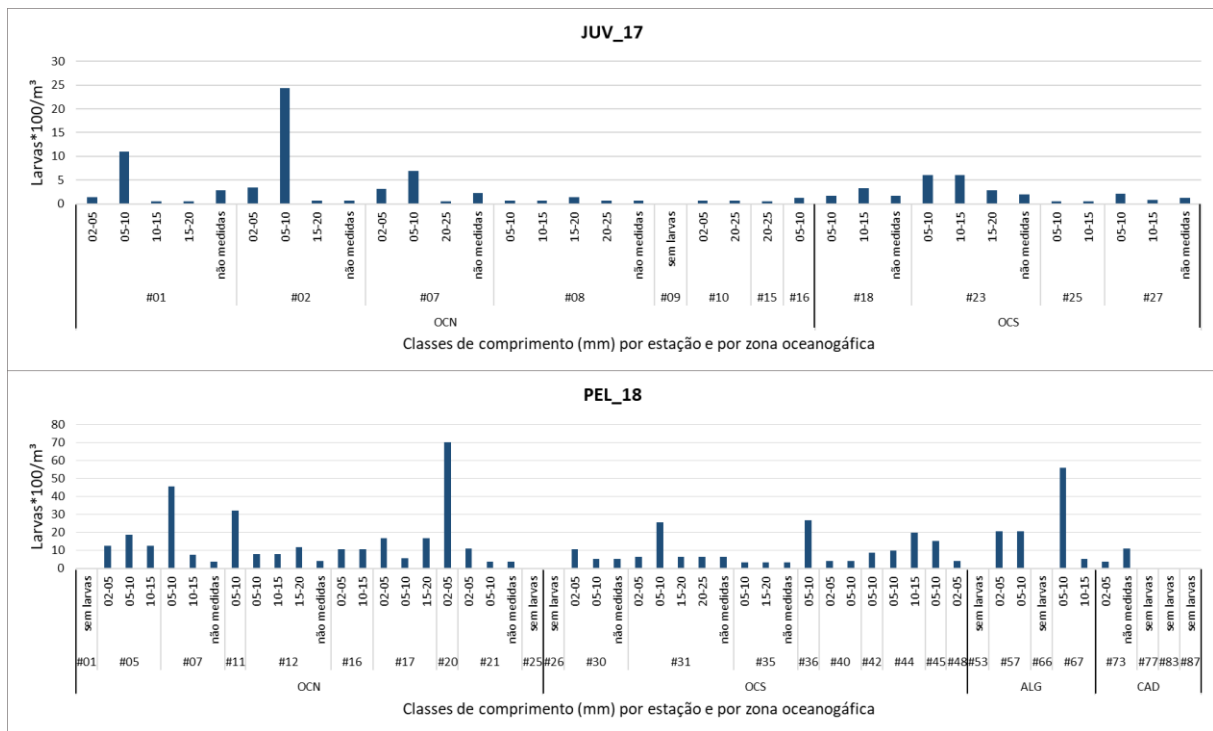


Figura 3.8. Abundância de larvas por classes de comprimento, em mm e por estações das campanhas JUV\_17 e PEL\_18.

Tabela 3.4. Abundâncias de larvas (n.100m<sup>-3</sup>) que foram encontradas por classe de comprimento e por estação, na JUV\_17.

JUV\_17

Classes de Comprimento por zona e por estação	Larvas x100/m <sup>3</sup>	Classes de Comprimento por zona e por estação	Larvas x100/m <sup>3</sup>
<b>OCN</b>	<b>65,21</b>	<b>#10</b>	<b>1,25</b>
<b>#01</b>	<b>16,25</b>	02-05	0,63
02-05	1,43	20-25	0,63
05-10	10,99	<b>#15</b>	<b>0,58</b>
10-15	0,48	20-25	0,58
15-20	0,48	<b>#16</b>	<b>1,19</b>
não medidas	2,87	05-10	1,19
<b>#02</b>	<b>29,14</b>	<b>OCS</b>	<b>28,63</b>
02-05	3,39	<b>#18</b>	<b>6,48</b>
05-10	24,39	05-10	1,62
15-20	0,68	10-15	3,24
não medidas	0,68	não medidas	1,62
<b>#07</b>	<b>12,84</b>	<b>#23</b>	<b>16,90</b>
02-05	3,21	05-10	6,03
05-10	6,88	10-15	6,03
20-25	0,46	15-20	2,82
não medidas	2,29	não medidas	2,01
<b>#08</b>	<b>3,98</b>	<b>#25</b>	<b>1,08</b>
05-10	0,66	05-10	0,54
10-15	0,66	10-15	0,54
15-20	1,33	<b>#27</b>	<b>4,17</b>
20-25	0,66	05-10	2,09
não medidas	0,66	10-15	0,83
<b>#09</b>	<b>0</b>	não medidas	1,25
sem larvas	0	<b>Total Geral</b>	<b>93,85</b>

Tabela 3.5. Abundâncias de larvas (n.100m<sup>-3</sup>) que foram encontradas por classe de comprimento e por estação, num quarto da amostra analisada da PEL\_18.

PEL 18

Classes de Comprimento por zona e por estação	Larvas x100/m <sup>3</sup>	Classes de Comprimento por zona e por estação	Larvas x100/m <sup>3</sup>
<b>OCN</b>	<b>312,85</b>		
#01	0	15-20	6,42
sem larvas	0	20-25	6,42
#05	<b>43,32</b>	não medidas	6,42
02-05	12,38	#35	<b>9,99</b>
05-10	18,57	05-10	3,33
10-15	12,38	15-20	3,33
#07	<b>56,68</b>	não medidas	3,33
05-10	45,34	#36	<b>26,85</b>
10-15	7,56	05-10	26,85
não medidas	3,78	#40	<b>7,92</b>
#11	<b>31,97</b>	02-05	3,96
05-10	31,97	05-10	3,96
#12	<b>31,65</b>	#42	<b>8,80</b>
05-10	7,91	05-10	8,80
10-15	7,91	#44	<b>29,60</b>
15-20	11,87	05-10	9,87
não medidas	3,96	10-15	19,73
#16	<b>21,19</b>	#45	<b>15,41</b>
02-05	10,60	05-10	15,41
10-15	10,60	#48	<b>4,29</b>
#17	<b>39,25</b>	02-05	4,29
02-05	16,82	<b>ALG</b>	<b>101,96</b>
05-10	5,61	#53	<b>0</b>
15-20	16,82	sem larvas	0
#20	<b>70,12</b>	#57	<b>40,92</b>
02-05	70,12	02-05	20,46
#21	<b>18,67</b>	05-10	20,46
02-05	11,20	#66	<b>0</b>
05-10	3,73	sem larvas	0
não medidas	3,73	#67	<b>61,04</b>
#25	<b>0,00</b>	05-10	55,96
sem larvas	0,00	10-15	5,09
<b>OCS</b>	<b>175,19</b>	<b>CAD</b>	<b>14,71</b>
#26	<b>0</b>	#73	<b>14,71</b>
sem larvas	0	02-05	3,68
#30	<b>20,94</b>	não medidas	11,04
02-05	10,47	#77	<b>0</b>
05-10	5,23	sem larvas	0
não medidas	5,23	#83	<b>0</b>
#31	<b>51,40</b>	sem larvas	0
02-05	6,42	#87	<b>0</b>
05-10	25,70	sem larvas	0
		<b>Total Geral</b>	<b>604,72</b>

A relação entre o **peso seco** e o comprimento das larvas, ajusta-se bem a uma função exponencial, o que significa que as larvas com maiores pesos correspondem às larvas com maiores comprimentos e larvas com menores pesos correspondem às de menores comprimentos (Figura 3.9). Este ajustamento é melhor na PEL\_18 ( $R^2 = 0,96$ ) do que na JUV\_17 ( $R^2 = 0,85$ ).

Na campanha do **final do Outono**, o peso seco das larvas de sardinha apresentou valores compreendidos entre 0,0026 e 5,5 mg, sendo a média  $0,16 \pm 0,54$  mg (Tabela 3.3). Na zona OCN foram registadas as larvas com maior peso seco e maior comprimento, capturadas a sul da foz do Rio Mondego (5,5 mg), ao largo da Ria de Aveiro (2,97 mg) e a sul da Ria de Aveiro (2,91 mg). As duas larvas com menores pesos também foram capturadas na zona OCN ao largo da Ria de Aveiro (0,0026 mg e 0,0054 mg) (Figura 3.6 b)).

No **início da Primavera**, o peso seco das larvas de sardinha apresentou valores compreendidos entre 0,0028 e 3,9 mg, sendo a média  $0,18 \pm 0,51$  mg (Tabela 3.3). Ao largo do Cabo Espichel (OCS), foram capturadas as larvas com maiores pesos secos (3,9 mg e 2 mg). Já na zona de CAD foram capturadas as larvas com menores pesos secos, incluindo a larva com 0,0028 mg, que corresponde ao registo mínimo encontrado em toda a campanha (Figura 3.6 d)).

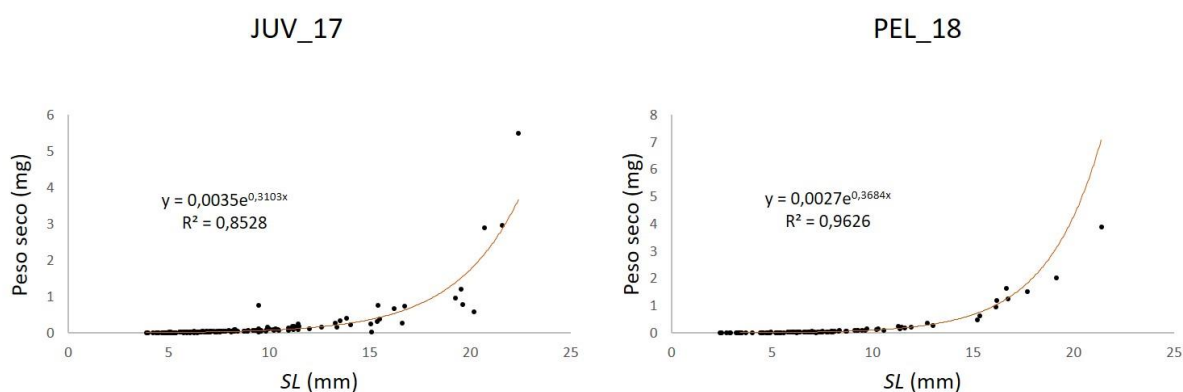


Figura 3.9. Relação entre o peso seco, em mg, e o respetivo comprimento padrão (SL), em mm, das larvas de sardinha capturadas nas campanhas JUV\_17 e PEL\_18.

### 3.4 Microestrutura dos Otólitos

Extraíram-se os otólitos de 219 larvas, sendo que o número de otólitos extraídos em cada larva variou entre 1 e 4 (*sagittae* e *lapilli*).

#### Escolha dos *Sagittae*

A distinção entre *sagittae* e *lapilli* nas larvas amostradas deste estudo, nem sempre foi fácil e evidente. Num conjunto de larvas entre o comprimento 6 e 8 mm foi possível recolher os otólitos *sagittae* e *lapilli* das mesmas larvas. Neste intervalo de comprimentos verificou-se que quer o raio dos otólitos quer o número de incrementos foi muito semelhante, sendo, portanto, impossível distinguir entre um e outro tipo de otólitos. Este facto foi transversal às duas campanhas (Figura 3.10).

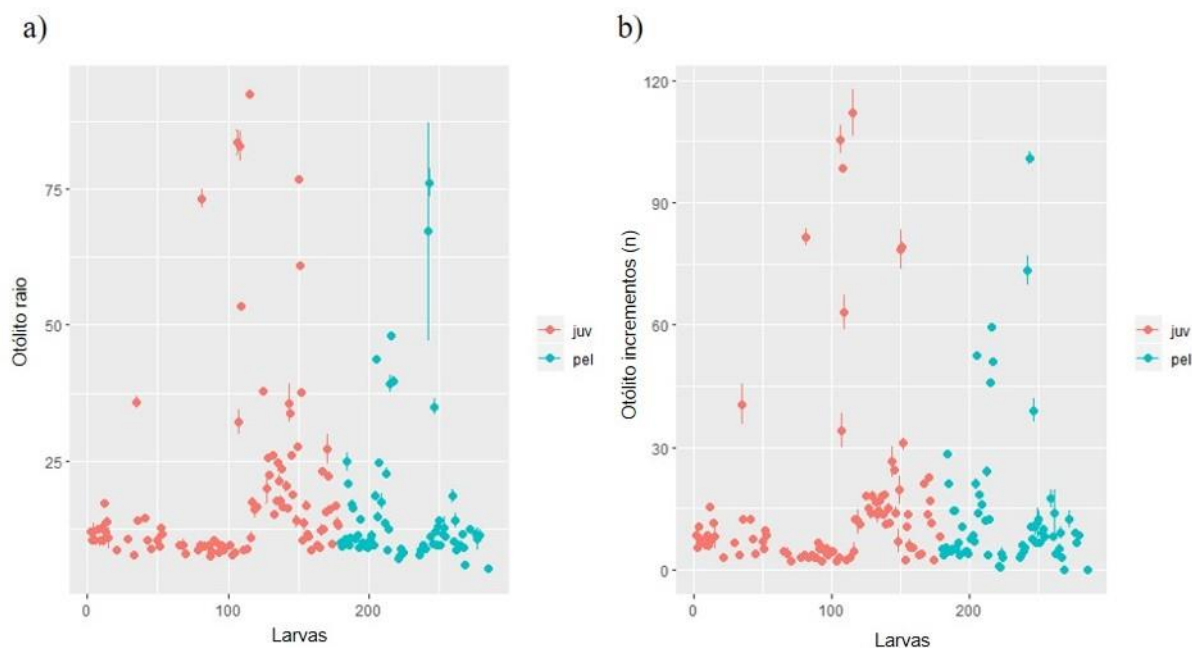


Figura 3.10. Raio dos otólitos ( $\mu\text{m}$ , média  $\pm$ SD, Painel A) e Incrementos (número, média  $\pm$ SD, Painel B) dos otólitos *sagittae* e *lapilli* das larvas recolhidas nas campanhas JUVESAR17 (juv) e PELAGO18 (pel).

#### Idade das Larvas:

Nas amostras recolhidas na campanha de final do Outono, a idade das larvas de sardinha variou entre 4 e 116 dias pós eclosão (*days post hatching*, dph), sendo a média  $19 \pm 21,7$  dph (Tabela 3.3). Nas amostras recolhidas na campanha de início da Primavera a idade das larvas de sardinha variou entre 4 dph e 105 dph, sendo a média  $18 \pm 18,6$  dph (Tabela 3.3).

#### Raio dos Otólitos *Sagittae*:

A relação entre o **raio dos otólitos** e o comprimento das larvas, ajusta-se bem a uma função exponencial, com  $R^2 = 0,91$  para a JUV\_17 e  $R^2 = 0,95$  para a PEL\_18 (Figura 3.11 a) e b)). Os otólitos com raios maiores correspondem às larvas com maiores comprimentos e otólitos com menores raios correspondem às larvas de menores comprimentos.

Do mesmo modo, os otólitos de larvas com maiores **idades** correspondem aos de maior raio e os otólitos com menores raios correspondem a larvas com menor idade. A relação entre o raio dos otólitos e a idade das larvas é linearmente crescente, com valores de  $R^2$  altos tanto para a JUV\_17 como para a PEL\_19, sendo estes de 0,97 e 0,98 respetivamente.

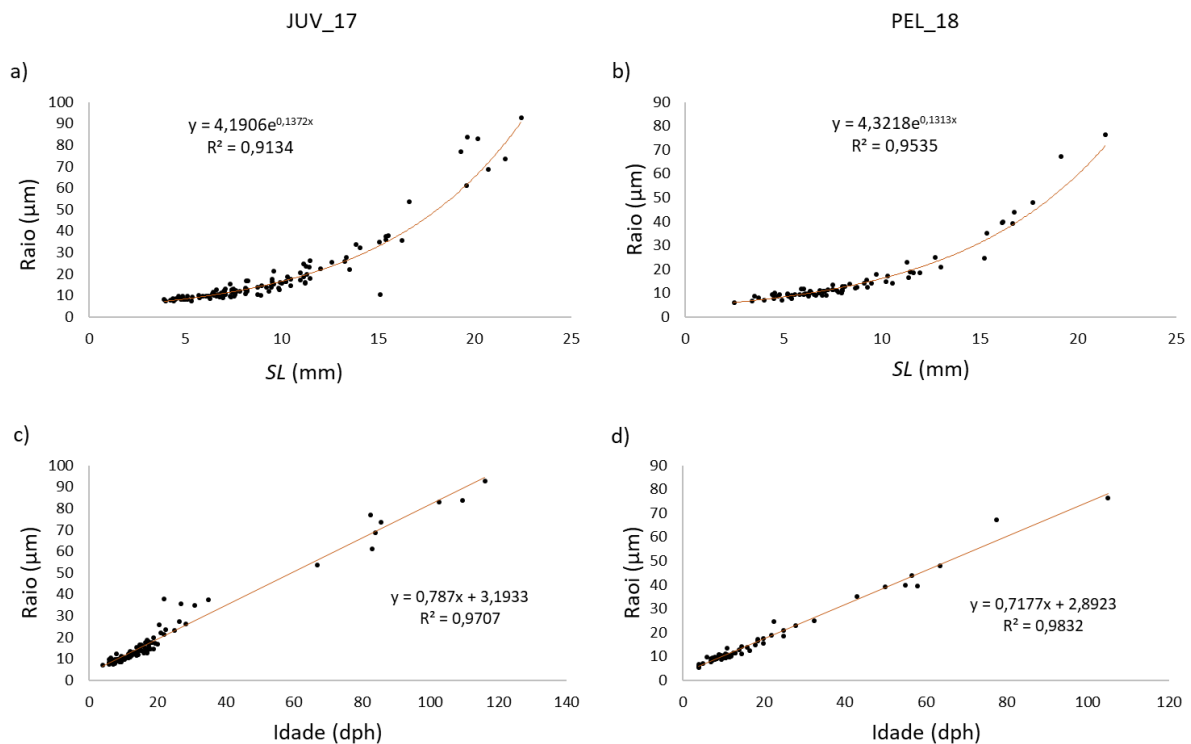


Figura 3.11. Relação entre as larvas de sardinha capturadas nas campanhas JUV\_17 (esquerda) e PEL\_18 (direita): a) e b) o raio dos otólitos, em  $\mu\text{m}$ , e o respectivo comprimento padrão ( $SL$ ), em  $\text{mm}$ ; c) e d) o raio dos otólitos, em  $\mu\text{m}$ , e a respetiva idade, em  $dph$ .

### 3.5 Crescimento das Larvas

A taxa de crescimento das larvas recolhidas no final do Outono oscilou entre  $0,179$  e  $1,054 \text{ mm dia}^{-1}$ , sendo em média  $0,611 \pm 0,176 \text{ mm dia}^{-1}$ . No início da Primavera, oscilaram entre  $0,204$  e  $1,018 \text{ mm/dia}$ , com uma média de  $0,593 \pm 0,175 \text{ mm dia}^{-1}$  (Tabela 3.3).

O modelo com melhor ajuste aos dados de comprimento à idade foi o modelo Gompertz.

A curva de crescimento das larvas na campanha JUV\_17 foi:

$$SL = 2,82780^{-1,00399 * 0,91314^{Idade}} \quad 3.1$$

Enquanto a curva do crescimento das larvas na campanha PEL\_18 foi:

$$SL = 2,4297383^{-0,9439156 * 0,8412820^{Idade}} \quad 3.2$$

A comparação entre as duas curvas de crescimento não mostrou diferenças significativas, *i. e.*, o crescimento das larvas de sardinha foi semelhante nas duas campanhas (Figura 3.12). Foram eliminadas três larvas na JUV\_17 com idades acima de  $100 \text{ dph}$  por parecerem sobrestimadas e duas larvas na PEL\_18 pelo mesmo motivo.

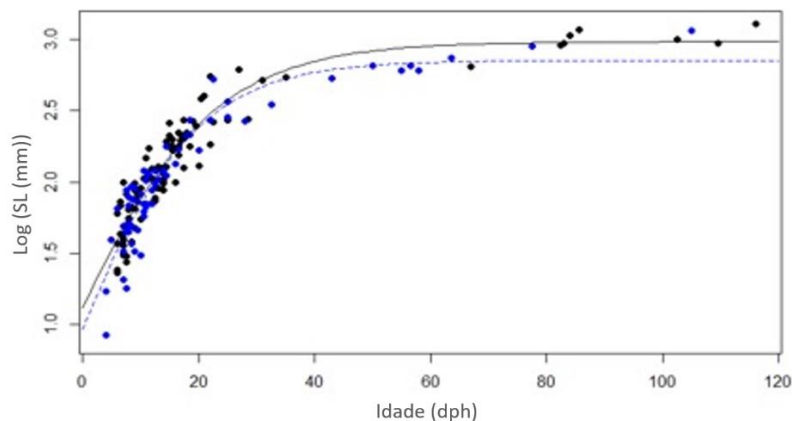


Figura 3.12. Modelo de Gompertz ajustada ao crescimento das larvas de sardinha durante a campanha JUV\_17 (preto) e PEL\_18 (azul).

### 3.6 Condição Nutricional

Um total de 275 larvas foram submetidas para quantificação dos ácidos nucleicos.

O índice DNA/mg variou entre 1,06 e 67,99mg para a campanha de Outono (JUV\_17) e entre 0,43 e 33,83mg para a campanha de primavera (PEL\_18). O valor médio foi de  $13,5 \pm 9,15$  mg e  $7,8 \pm 6,99$  mg, respetivamente (Tabela 3.3).

Este índice varia inversamente com o comprimento, sendo geralmente menor em larvas com um crescimento somático elevado. Assim, o DNA/mg variou significativamente com o comprimento (SL) das larvas, pois, diminuiu com o aumento do comprimento destas, quer nas duas campanhas como para todas as zonas estudadas (Tabela 3.6, Figura 3.13).

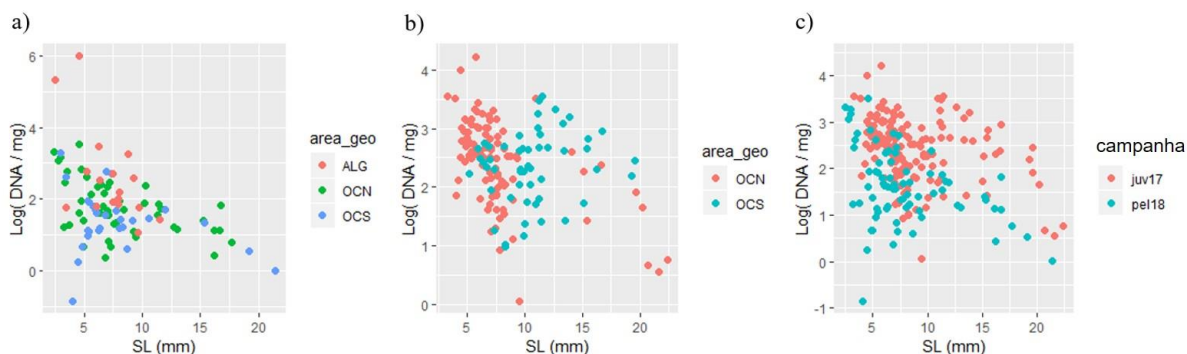


Figura 3.13. DNA/mg das larvas em função do seu tamanho em cada uma das zonas de captura (ocidental norte, ocidental sul e algarve) para: a) Campanha PEL\_18, b) Campanha JUV\_17 e c) Larvas recolhidas na costa ocidental nas duas campanhas.

No caso da campanha PEL\_18 o DNA/mg foi diferente entre zonas (Figura 3.13, a). Em particular, os testes à posteriori revelaram que houve diferenças no índice entre as larvas da OCN e as da zona ALG ( $p=0,00393$ ) e entre as larvas da OCS e a zona ALG ( $p<0,0001$ ). Sendo o DNA/mg em geral, superior para as larvas recolhidas em ALG quando comparadas com as larvas recolhidas nas duas zonas da costa ocidental. Na costa ocidental, não houve diferenças significativas entre as larvas recolhidas a Norte e as larvas recolhidas a Sul ( $p=0,08596$ ). Na zona de Cádiz, apenas se determinou o comprimento e DNA/mg numa única larva de sardinha, pelo que se excluiu esta zona da comparação formal do índice entre as restantes zonas de recolha.

De igual forma, na campanha JUV\_17, não houve diferenças significativas no DNA/mg entre as larvas recolhidas na OCN e as larvas recolhidas na OCS ( $p=0.344$ ) (Figura 3.13, b)).

Comparando a costa ocidental nas duas campanhas, verificou-se que houve diferenças significativas entre as duas ( $p<0,0001$ ), sendo o DNA/mg geralmente superior para as larvas recolhidas na campanha JUV\_17 (Figura 3.13, c)).

Tabela 3.6. Parâmetros da Função GLM da variação do DNA/mg das larvas em função do seu tamanho e da zona de captura (ocidental Norte, ocidental Sul e Algarve) para larvas recolhidas na campanha PEL\_18 e JUV\_17.

JUV_17	Estimativa	Erro Padrão	t	Pr(> t )	PEL_18	Estimativa	Erro Padrão	t	Pr(> t )
<b>Interceto</b>	2,92417	0,13012	22,473	< 2e-16 ***	<b>Interceto</b>	3,30911	0,25736	12,858	<0,0001
<b>SL (mm)</b>	-0,06488	0,01472	-4,407	1,99e-05 ***	<b>SL (mm)</b>	-0,09697	0,02221	-4,367	0,000034
<b>area_OCS</b>	0,11392	0,11989	0,950	0,344	<b>area_OCN</b>	-0,75671	0,23675	-3,196	0,00193
<b>AIC</b>	308,93				<b>area_OCS</b>	-1,17284	0,25502	-4,599	0,000014
					<b>AIC</b>	235,99			

### 3.7 Influência de Variáveis Ambientais na Distribuição de Ovos e Larvas e no Crescimento e Condição Nutricional dos Estados Larvares da Sardinha

#### Densidade de Larvas:

Na tabela 3.7 apresenta-se a matriz de correlação entre as variáveis explicativas contínuas consideradas, que mostra que a densidade de larvas tem uma correlação positiva com as variáveis relacionadas com a distância à costa (PF e Dcosta), com a clorofila\_a e com a densidade de ovos e uma correlação negativa com a temperatura e a salinidade. Verifica-se ainda a elevada colinearidade entre alguns pares de variáveis, em particular entre SST e T\_20m e SSS e S\_20m. A aplicação do cálculo do VIF para minimizar a colinearidade na matriz de dados selecionou o seguinte conjunto de variáveis contínuas (com  $VIF < 3$ ): PF, Dcosta, SST, SSS, Chla e sqrtDovos.

Tabela 3.7. Matriz de correlação – Densidade de Larvas

	PF	Dcosta	SST	T_20m	SSS	S_20m	Chla	sqrtDovos	sqrtDlarvas
<b>PF</b>	1	0.61	0.07	0.09	0.15	0.03	-0.10	0.01	-0.06
<b>DC</b>		1	0.10	0.12	0.14	-0.11	-0.04	-0.09	0.13
<b>SST</b>			1	0.98	0.43	0.62	-0.13	-0.04	-0.28
<b>T_20m</b>				1	0.42	0.65	-0.22	-0.09	-0.29
<b>SSS</b>					1	0.74	-0.06	-0.01	-0.32
<b>S_20m</b>						1	-0.19	-0.10	-0.38
<b>Chla</b>							1	0.61	0.12
<b>sqrtDovos</b>								1	0.19
<b>sqrtDlarvas</b>									1

O modelo GAM em função das variáveis Trimestre\_Região, profundidade, temperatura de superfície e densidade dos ovos demonstrou o melhor ajuste (Tabela 3.8), tendo sido selecionado com base no menor AIC, seguindo o procedimento de seleção reversa que se iniciou com um modelo completo, ou seja, incluindo todas as variáveis explicativas candidatas. As variáveis SSS, Chla e Dcosta foram excluídas sequencialmente.

$$\text{sqrtDlarvas} \sim \text{as.factor(Trimestre_Região)} + \text{s(PF, k = 5)} + \text{s(SST, k = 5)} + \text{s(sqrtDovos, k = 5)}$$

A densidade das larvas foi significativamente maior na Primavera do que no Outono na costa Oeste e significativamente maior na Primavera na costa Oeste do que nesta época na costa Sul (Tabela 3.8 e Figura 3.14). Os efeitos parciais da profundidade da zona amostrada e da temperatura de superfície foram também significativos. A densidade de larvas aumentou com a profundidade até um máximo de cerca de 100 m e a partir deste valor o efeito da profundidade foi negativo (Figura 3.15 a)). O efeito da SST foi negativo no intervalo observado nas campanhas (13-20 °C), com maiores densidades de larvas nas zonas com temperaturas mais baixas (Figura 3.15 b)). Apesar do efeito parcial da densidade de ovos não ser significativo para explicar a densidade de larvas na mesma área, esta variável contribuiu para aumentar a variância explicada do modelo com melhor ajuste. Os ovos de sardinha, tal como as larvas partilham o mesmo habitat, verificando que a densidade de larvas é maior onde a densidade de ovos também é maior (Figura 3.15 c)).

Tabela 3.8. Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para a Densidade de Larvas com a variável categórica Trimestre\_Região e as variáveis ambientais (*smoothers*) Profundidade (PF), Temperatura média até 20m (T\_20m) Temperatura superficial da água (SST) e Densidade de ovos (sqrtDovos). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 ‘\*\*\*\*’ 0.001 ‘\*\*\*’ 0.01 ‘\*\*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘.’ 1.

Variável categórica	Estimate	Std. Error	t value	Pr (>  t )
Intercept	0.3597	0.2493	1.443	0.1591 ns
as.factor(Trimestre_Região) Primavera_Oeste	0.4529	0.2774	1.632	0.1128 ns
as.factor(Trimestre_Região) Primavera_Sul	2.1568	0.8348	2.584	0.0148 *
Smoothers	edf	Ref.df	F	p-value
PF	2.496	2.891	3.079	0.0314 *
SST	1.813	2.175	3.892	0.0283 *
sqrtDovos	1.895	2.283	2.113	0.1708 ns

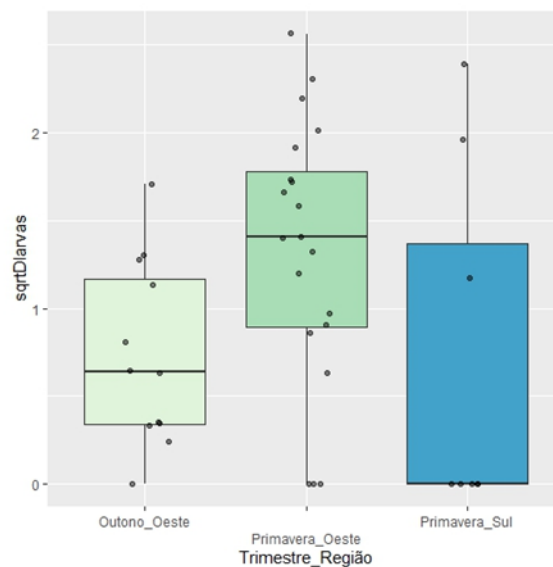


Figura 3.14. Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre\_Região (Outono\_Oeste, Primavera\_Oeste, Primavera\_Sul) na densidade de larvas (sqrtDlarvas). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).

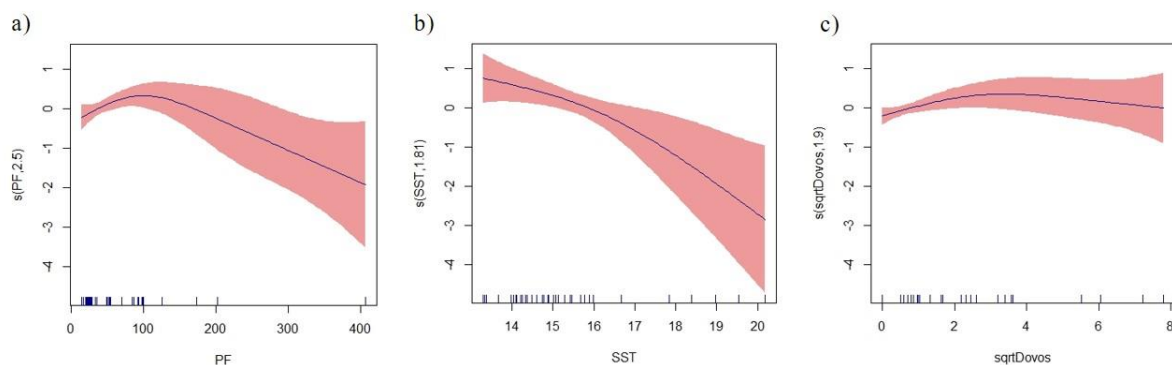


Figura 3.15. Resultado do GAM com melhor ajuste: efeitos parciais das variáveis contínuas (a) Profundidade (PF, m), (b) Temperatura superficial da água (SST, °C), e (c) densidade de ovos (sqrtDovos, ovos/m<sup>3</sup>) na densidade de larvas.

### Taxa de Crescimento:

Na [tabela 3.9](#) apresenta-se a matriz de correlação entre as variáveis explicativas contínuas consideradas, onde se verifica que o crescimento das larvas tem uma correlação negativa elevada com o comprimento e uma correlação positiva, mas reduzida com todas as restantes variáveis. Existe elevada colinearidade entre alguns pares de variáveis, como referido anteriormente. A aplicação do cálculo do VIF para minimizar a colinearidade na matriz de dados selecionou o seguinte conjunto de variáveis contínuas (com VIF < 3): PF, SST, SSS, Chla, sqrtDlarvas e SL.

Tabela 3.9. Matriz de correlação – Taxa de Crescimento

	PF	Dcosta	SST	T_20m	SSS	S_20m	Chla	sqrtDlarvas	SL	TC
PF	1	0.63	0.19	0.19	-0.07	-0.31	-0.09	0.12	-0.03	0.03
Dcosta		1	-0.19	-0.20	-0.16	-0.59	0.31	0.22	-0.15	0.13
SST			1	0.95	0.23	0.49	-0.44	0.01	0.02	0
T_20m				1	0.24	0.57	-0.52	-0.05	0.07	0.02
SSS					1	0.70	-0.15	-0.38	0.13	0.09
S_20m						1	-0.43	-0.47	0.11	0.09
Chla							1	0.30	-0.23	0.11
sqrtDlarvas								1	-0.19	0.14
SL									1	-0.67
TC										1

O modelo GAM para explicar o crescimento das larvas de sardinha em função das variáveis Trimestre\_Região, Chla, SST, Sqrt Dlarvas e SL demonstrou o melhor ajuste ([Tabela 3.10](#)). As variáveis PF e SSS foram excluídas sequencialmente.

$$TC \sim \text{as.factor}(\text{Trimestre\_Região}) + s(\text{PF}, k=5) + s(\text{SST}, k=5) + s(\text{Chla}, k=5) + s(\text{CL}, k=5)$$

A taxa de crescimento das larvas foi significativamente maior na costa sul. Na costa oeste foi significativamente menor na Primavera do que no Outono ([Tabela 3.10](#) e [Figura 3.16](#)). Os efeitos parciais da clorofila\_a, temperatura de superfície e profundidade no crescimento das larvas, não são lineares, mas estimam maiores taxas de crescimento em zonas com maior concentração de clorofila\_a e temperatura mais elevada ([Figura 3.17](#)). O efeito parcial da Profundidade também não é linear observando-se um efeito positivo até aos 50 m e um decréscimo das taxas de crescimento a maiores profundidades ([Figura 3.17 c](#)). A variável intrínseca “comprimento da larva” (SL) foi a mais significativa em explicar a taxa de crescimentos das larvas. A taxa de crescimento aumentou até ao

comprimento padrão de 7 mm das larvas, diminuindo a partir daí com o maior tamanho das larvas (Figura 3.17 d).

Tabela 3.10. Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para a Taxa de Crescimento com a variável categórica Trimestre\_Região e as variáveis ambientais (*smoothers*) Profundidade (PF), Clorofila\_a (Chla), Temperatura superficial da água (SST) e comprimento da larva (SL). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 ‘\*\*\*\*’ 0.001 ‘\*\*\*’ 0.01 ‘\*\*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘.’

Variável categórica	Estimate	Std. Error	t value	Pr (>  t )
Intercept	0.58883	0.02486	23.6889	< 2e-16 ***
as.factor (Trimestre_Região) Primavera_Oeste	0.08079	0.04795	1.685	0.0943 .
as.factor (Trimestre_Região) Primavera_Sul	-0.17372	0.26711	15.320	0.5166 ns
Smoothers	edf	Ref.df	F	p-value
PF	3.796	3.956	5.150	0.00049 ***
Chla	3.054	3.567	2.279	0.03970 *
SST	1.000	1.000	4.070	0.04560 *
SL	3.686	3.943	40.040	< 2e-16 ***

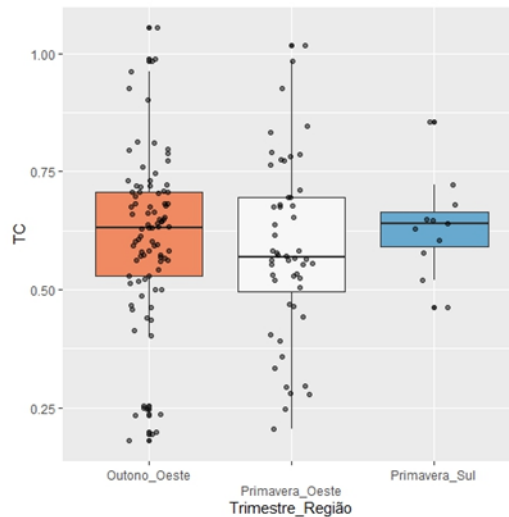


Figura 3.16. Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre\_Região (Outono\_Oeste, Primavera\_Oeste, Primavera\_Sul) na taxa de crescimento das larvas (TC). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).

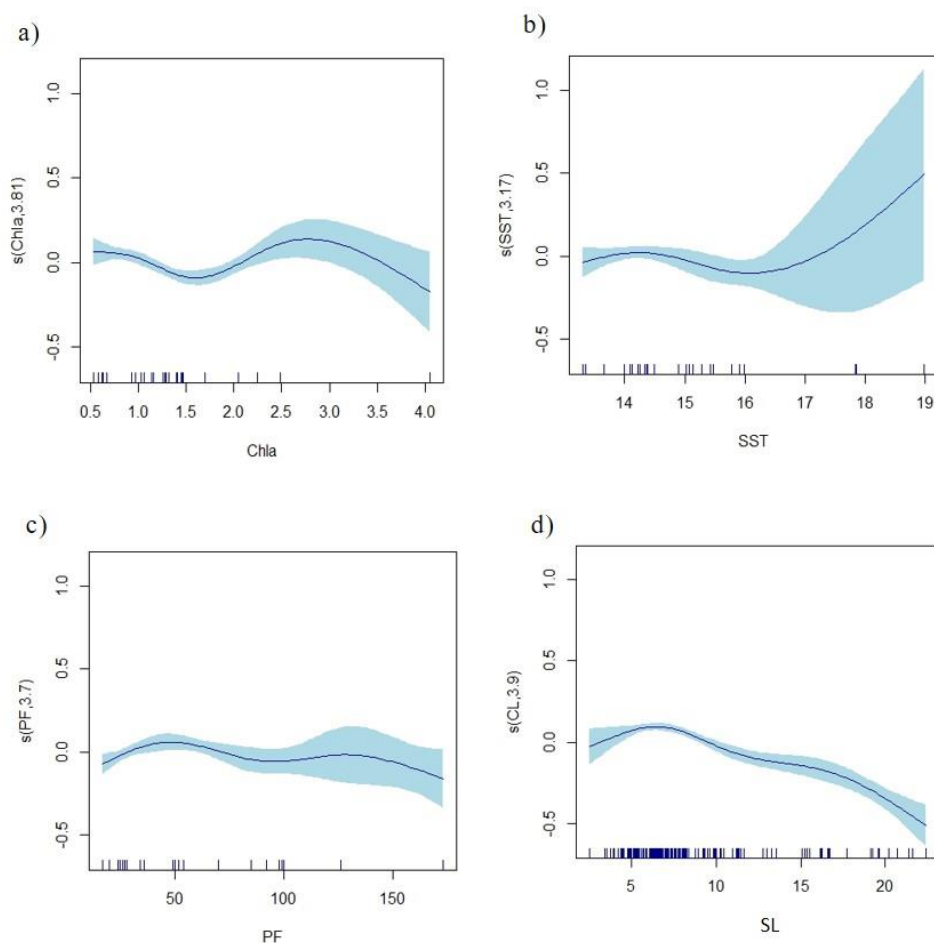


Figura 3.17. Resultados dos GAMs ilustrando a relação entre a Taxa de Crescimento e as variáveis ambientais explicativas (a) Clorofila-a (Chla, mg/m<sup>3</sup>), (b) Temperatura superficial da água (SST, °C), (c) Profundidade (PF, m) e (d) Comprimento da larva (SL, mm).

#### Condição Nutricional (DNA/peso seco):

Na [tabela 3.11](#) apresenta-se a matriz de correlação entre as variáveis explicativas contínuas consideradas, onde se verifica que a condição das larvas tem uma correlação reduzida com todas as variáveis. A aplicação do cálculo do VIF para minimizar a colinearidade na matriz de dados, selecionou o seguinte conjunto de variáveis contínuas (VIF<3): PF, SST, SSS, Chla, sqrtDlarvas e SL.

Tabela 3.11. Matriz de correlação – Condição Nutricional (DNA/peso seco)

	PF	Dcosta	SST	T_20m	SSS	S_20m	Chla	sqrtDlarvas	SL	lnDNA
PF	1	0.63	0.19	0.19	-0.07	-0.31	-0.09	0.12	-0.03	-0.11
Dcosta		1	-0.19	-0.20	-0.16	-0.59	0.31	0.22	-0.15	0.01
SST			1	0.95	0.23	0.49	-0.44	0.01	0.02	0
T_20m				1	0.24	0.57	-0.52	-0.05	0.07	0.08
SSS					1	0.70	-0.15	-0.38	0.13	0.16
S_20m						1	-0.43	-0.47	0.11	0.24
Chla							1	0.30	-0.23	-0.09
sqrtDlarvas								1	-0.19	-0.16
SL									1	-0.28
lnDNA										1

O modelo GAM para explicar a condição nutricional das larvas de sardinha em função das variáveis Trimestre\_Região, SST, SSS Chla e SL demonstrou o melhor ajuste e explica 37.5% da variabilidade (Tabela 3.12). As variáveis PF e sqrtDlarvas foram excluídas sequencialmente.

$\ln\text{DNA} \sim \text{as.factor}(\text{Trimestre\_Região}) + s(\text{SST}, k = 5) + s(\text{SSS}, k = 5) + s(\text{Chla}, k = 5) + s(\text{SL}, k = 5)$

Em termos de região, registaram-se concentrações de DNA mais elevadas na costa Oeste no Outono e baixas concentrações de DNA na costa Oeste mas na Primavera. O que significa que as larvas com a melhor condição nutricional podem ser encontradas na costa Oeste na Primavera, no final da época da desova (Figura 3.18, Tabela 3.12). Na Primavera na costa Sul, as larvas encontram-se em menor condição nutricional, comparando com a costa Oeste no mesmo período. Não se observou diferenças significativas entre a condição nutricional na Primavera na costa Sul e no Outono na costa Oeste (Figura 3.18, Tabela 3.12).

Os smoothers temperatura (SST), salinidade (SSS) e comprimento (SL) são significativos e explicam a variabilidade da condição nutricional (Tabela 3.12). A clorofila (Chla) não explica a condição nutricional (Tabela 3.12). O índice DNA/peso seco variou inversamente com a temperatura e com o comprimento (Figura 3.19 a) e d)). A temperatura influenciou significativamente a condição nutricional, sendo relativamente constante no intervalo de temperaturas ótimo das larvas (14-16°C) e aumentando significativamente para temperaturas acima dos 16°C, embora neste intervalo maior de temperaturas a quantidade de larvas a parametrizar o modelo é muito reduzida e os resultados devem por isso ser interpretados com cuidado (Figura 3.19 a)).

**Tabela 3.12.** Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para a Condição Nutricional ( $\ln\text{DNA mg}^{-1}$ ) com a variável categórica Trimestre\_Região e as variáveis ambientais (smoothers) Temperatura superficial da água (SST), Salinidade superficial da água (SSS), Clorofila\_a (Chla) e comprimento da larva (SL). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 '.' 1.

<b>Variáveis categóricas</b>	<b>Estimate</b>	<b>Std. Error</b>	<b>t value</b>	<b>Pr (&gt;  t )</b>
Intercept	2.0503	0.1188	17.255	< 2e-16 ***
as.factor (Trimestre_Região) Primavera_Oeste	- 0.6809	0.2243	- 3.036	0.00268 **
as.factor (Trimestre_Região) Primavera_Sul	5.0094	1.3205	3.794	0.00019 ***
<b>Smoothers</b>	<b>Edf</b>	<b>Ref.df</b>	<b>F</b>	<b>p-value</b>
SST	3.792	3.965	5.378	0.000046 ***
SSS	3.879	3.986	3.503	0.007810 **
Chla	1.000	1.000	2.813	0.094894 .
SL	3.534	3.883	17.483	< 2e-16 ***

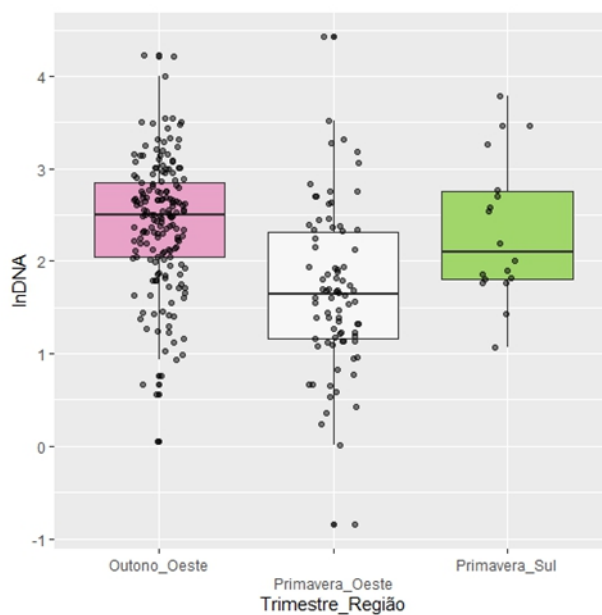


Figura 3.18. Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre\_Região (Outono\_Oeste, Primavera\_Oeste, Primavera\_Sul) na condição nutricional das larvas (lnDNA/mg). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).

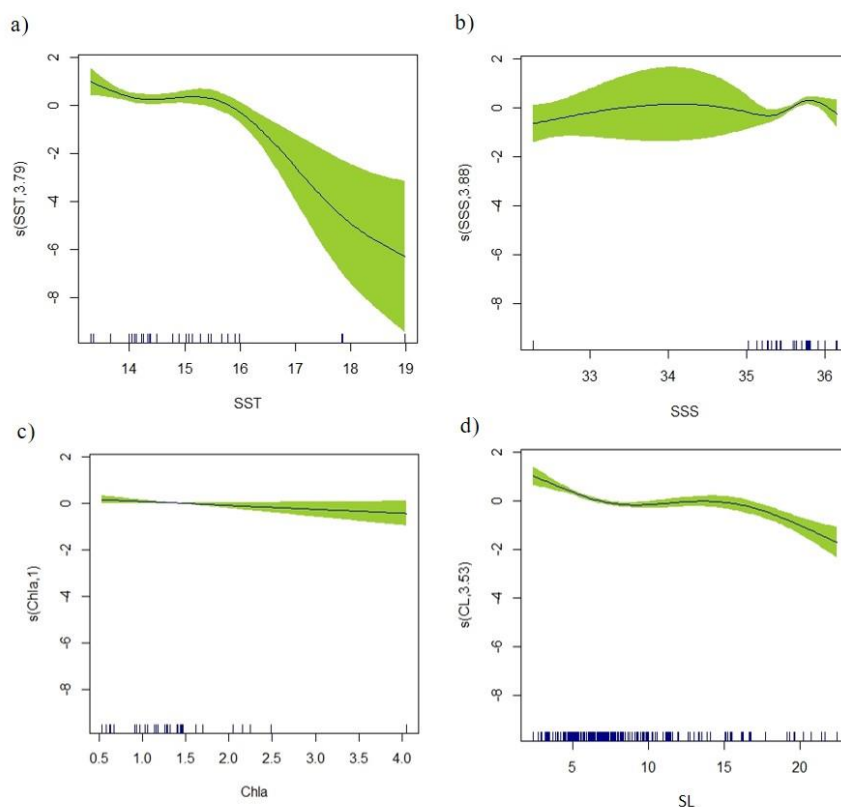


Figura 3.19. Resultados dos GAMs ilustrando a relação entre a Condição nutricional (lnDNA) e as variáveis ambientais explicativas (a) Temperatura superficial da água (SST, °C), (b) Salinidade superficial da água, (c) Clorofila-a (Chla,  $\text{mg}/\text{m}^3$ ) e (d) Comprimento da larva (SL, mm).

### Crescimento dos Três Últimos Anéis:

Na [tabela 3.13](#) apresenta-se a matriz de correlação entre as variáveis explicativas contínuas consideradas, onde se verifica que o crescimento dos três últimos anéis dos otólitos das larvas de sardinha tem uma correlação reduzida com todas as variáveis exceto com o comprimento da larva, sendo esta correlação positiva e muito elevada. A aplicação do cálculo do VIF para minimizar a colinearidade na matriz de dados selecionou o seguinte conjunto de variáveis contínuas (VIF<3): PF, SST, SSS, Chla, sqrtDlarvas e SL.

**Tabela 3.13.** Matriz de correlação – Crescimento dos Três últimos Anéis

	PF	Dcosta	SST	T_20m	SSS	S_20m	Chla	sqrtDlarvas	SL	C3
PF	1	0.63	0.19	0.19	-0.07	-0.31	-0.09	0.12	-0.03	0.06
Dcosta		1	-0.19	-0.20	-0.16	-0.59	0.31	0.22	-0.15	-0.22
SST			1	0.95	0.23	0.49	-0.44	0.01	0.02	0.17
T_20m				1	0.24	0.57	-0.52	-0.05	0.07	0.25
SSS					1	0.70	-0.15	-0.38	0.13	-0.34
S_20m						1	-0.43	-0.47	0.11	0.08
Chla							1	0.30	-0.23	0.19
sqrtDlarvas								1	-0.19	-0.22
SL									1	0.64
C3										1

O modelo GAM para explicar o crescimento dos três últimos anéis dos otólitos das larvas de sardinha (lnC3) em função das variáveis Trimestre\_Região, Chla, SST, sqrtDlarvas e SL demonstrou o melhor ajuste ([Tabela 3.14](#)). As variáveis PF e SSS foram excluídas sequencialmente.

$$\ln C3 \sim \text{as.factor}(\text{Trimestre\_Região}) + s(\text{Chla}, k=5) + s(\text{SL}, k=5)$$

O crescimento recente dos otólitos, *i. e.*, na largura dos últimos 3 incrementos, foi maior no Outono na costa Oeste em comparação com a Primavera, tanto na costa Oeste como na costa Sul ([Figura 3.20](#)).

**Tabela 3.14.** Resultados do modelo GAM com melhor ajuste para o Crescimento dos 3 Últimos Anéis (C3) com a variável categórica Trimestre\_Região e as variáveis ambientais (*smoothers*) Clorofila\_a (Chla), Temperatura superficial da água (SST), densidade de larvas (sqrtDlarvas) e comprimento da larva (SL). Códigos de significância dos efeitos parciais: 0 \*\*\*\* 0.001 \*\*\* 0.01 \*\* 0.05 \* 0.1 . 1.

Nominal variables	Estimate	Std. Error	t value	Pr (>  t )
Intercept	0.60398	0.01383	43.674	< 2e-16 ***
as.factor (Trimester/region) Primavera_Oeste	-0.01073	0.02566	-0.418	0.676 ns
as.factor (Trimester/region) Primavera_Sul	-0.09879	0.04167	-2.371	0.019 *
Smoothers	edf	Ref.df	F	p-value
Chla	3.401	3.751	7.141	5.34e-05 ***
SL	3.414	3.816	29.749	< 2e-16 ***

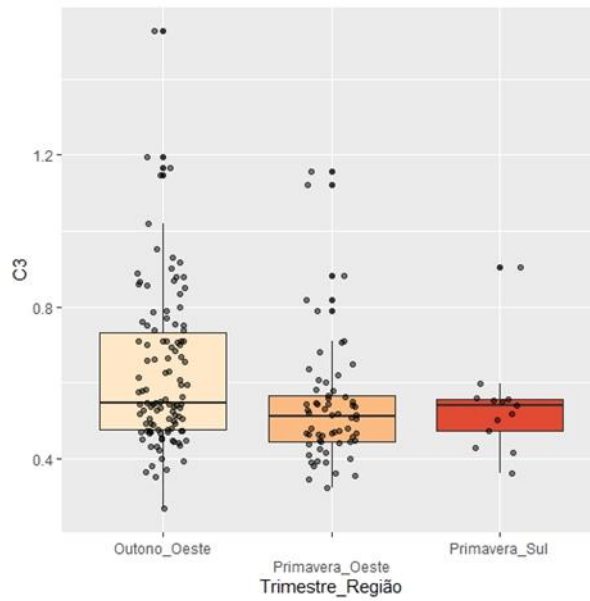


Figura 3.20. Resultado do GAM com melhor ajuste: efeito parcial da variável categórica Trimestre\_Região (Outono\_Oeste, Primavera\_Oeste, Primavera\_Sul) no Crescimento dos 3 Últimos Anéis (lnC3). A campanha de Outono não cobre a zona sul da Península Ibérica (ALG e CAD).

A largura dos 3 incrementos externos dos otólitos variou com a variável intrínseca comprimento da larva, sendo mais espessos em larvas maiores. A largura dos incrementos nos otólitos de larvas de sardinha foi maior com o aumento do comprimento e com o aumento da concentração de clorofila-a (Figura 3.21 a) e b)).

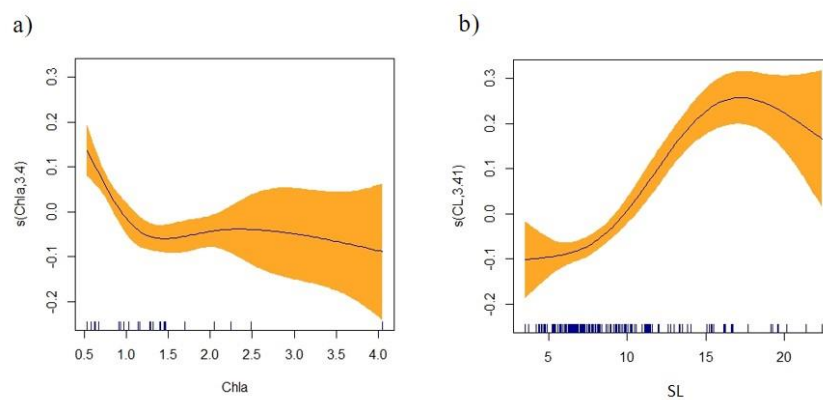


Figura 3.21. Resultados dos GAMs ilustrando a relação entre o Crescimento dos 3 Últimos Anéis e as variáveis ambientais explicativas (a) Clorofila-a (Chla,  $\text{mg}/\text{m}^3$ ) Temperatura superficial da água (SST,  $^{\circ}\text{C}$ ), (c) Densidade das larvas ( $\text{sqrtDlarvas}$ ,  $\text{larvas}/\text{m}^3$ )

## 4 Discussão

A temperatura da água tem implicações relevantes não só na ontogenia das larvas de sardinha como no sucesso do seu recrutamento (Garrido *et al.*, 2016; Garrido *et al.*, 2017). Juntamente com a disponibilidade de alimento adequado, são considerados os fatores ambientais de maior relevância para o crescimento e sobrevivência das larvas de peixes (Houde, 2008).

De um modo geral, tanto no final do Outono como no início da primavera, a temperatura aumenta de Norte para Sul ao longo da costa Oeste portuguesa, mantendo-se o padrão na zona Sul, de Algarve para Cádiz, na direção de Oeste para Este. Os valores de temperatura são típicos das estações, tanto no início do período de postura como no final deste, mantendo-se, na costa Oeste, dentro do intervalo de tolerância descritos para as larvas de sardinha, especialmente na parte mais a Sul desta costa, onde foram registadas temperaturas ótimas, entre os 14 e 15°C (Ré *et al.*, 1990; Coombs *et al.*, 2006; Garrido *et al.*, 2016). Estes valores ótimos de temperatura poderão explicar as abundâncias de ovos e larvas de sardinha observadas neste estudo na costa Oeste, nas duas campanhas.

Os registos de salinidade, demonstraram que a zona Norte da costa Oeste é em média menos salina ao longo do ano do que as restantes zonas, o que leva à formação da *WIBP*, representada na [Figuras 1.5](#), descrita em Santos *et al.* (2004, 2007 e 2018). Registou-se junto à foz do Rio Mondego, no início da Primavera, a maior quantidade de larvas capturadas, todas elas dentro da classe de comprimento de 02-05 mm. Esta observação poderá não só indicar uma zona de postura, como ser justificada pelo sucesso da *WIBP* em evitar que os ovos e larvas se dispersem por *Aberrant Drift*, como demonstrado por Chícharo *et al.* (2003) e descrito no capítulo 1.5.

No final do Outono, a produtividade primária na costa Oeste é mais elevada na zona Norte, junto à foz dos rios, muito provavelmente devido ao aumento da intensidade do fluxo de águas ricas em nutrientes que desagüam do mar. Já no início da Primavera, parece ter mais impacto a produtividade subsequente aos eventos de afloramento na costa Oeste na zona mais a Sul. Note-se o sincronismo geográfico entre os filamentos de afloramento indicados da [Figuras 1.5](#) e os picos de maior produção primária da [Figura 3.3](#) dos resultados. Estes resultados coincidem com a maior abundância de larvas, no final do Outono, na zona Norte da costa Oeste e na zona Sul da costa Oeste, mas no início da Primavera.

Também no início da Primavera, mas na costa Sul (Algarve e Cádiz) as temperaturas foram demasiado elevadas, entre os 18 e 20°C ([Figura 3.1](#)), e fora do intervalo de tolerância das larvas descrito em Garrido *et al.*, 2016, no qual se observou uma elevada mortalidade das larvas acima dos 17°C. Adicionalmente, a produtividade primária observada nesta zona também foi fraca ([Figura 3.3](#)). Esta região, foi a que apresentou os menores valores de ovos e larvas capturados ([Figura 3.4](#)), o que pode ser justificado, não só, por estes registos de temperatura e produtividade, ou simplesmente pela ausência de adultos reprodutores na zona.

Qualquer uma das malhagens utilizadas neste trabalho é indicada para reter os ovos e larvas de sardinha recém eclodidas (Smith & Richardson, 1977; Wiebe & Benfield, 2003). A comparação dos resultados da abundância total de ovos e larvas de sardinha entre diferentes redes de captura, foi possível usando o volume de água filtrada nos cálculos, traduzindo os valores observados para a proporção: abundância por volume de água filtrada. Apesar disso, a comparação entre as duas campanhas com redes diferentes deverá ser interpretada com cautela.

Os diâmetros dos aros das redes traduzem-se diretamente em capturabilidades diferentes (Moreno, *com. pess.*), *i. e.*, a rede BO\_90, utilizada na JUV\_17, é mais indicada para capturar larvas de dimensões maiores do que a rede BO\_60, utilizada na PEL\_18. A rede utilizada nesta última campanha, possui menor sucesso em capturar larvas de sardinha maiores devido à reduzida dimensão do seu aro, em que as larvas de maiores dimensões e com capacidades natatórias mais desenvolvidas, estão mais aptas a evitar a rede. Este facto poderá explicar a diferença na frequência de classes de comprimento entre as duas campanhas, *i. e.*, capturou-se maior quantidade de larvas com comprimento maior no início da época de desova, do que no fim, quando o espectável seria o oposto (Figura 3.6 a) e c)).

Por outro lado, a capturabilidade das redes não explica a baixa abundância de ovos e larvas de sardinha (principalmente de ovos) da campanha do final do Outono em relação à campanha da Primavera. Dado a maior intensidade da postura se dar nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro seria de esperar que na PEL\_18, que decorreu durante o mês de maio, fossem capturados menos ovos e mais larvas com maiores comprimentos e que na JUV\_17, correspondendo com o início da desova, no mês de dezembro, esperar-se-ia que houvesse mais ovos e larvas de menores comprimentos. Este desfasamento entre os resultados das duas campanhas, poderia ser explicado se houvesse um atraso do início e do pico da postura da sardinha, para a JUV\_17, e que este período se estendesse até maio, durante a campanha PEL\_18. Se este desfasamento ocorreu, é possível que esteja relacionado com alterações nas condições ambientais, permitindo à sardinha uma época de postura tardia para usufruir das condições mais propícias ao desenvolvimento das suas larvas.

A distribuição das larvas não foi homogénea ao longo da área amostrada, quer no final do Outono, quer no início da Primavera. No final do Outono, os pontos de amostragem com maior abundância de larvas situaram-se junto à foz do Rio Douro e ao largo da Ria de Aveiro coincidindo com os valores mais altos de produção primária, muito provavelmente incrementada pelos nutrientes provenientes de descargas fluviais, sendo que a temperatura nesta zona registou valores dentro do intervalo ótimo, entre os 14 e 15°C.

Na Primavera, a dispersão de ovos e larvas de sardinha começou a ser mais recorrente ao longo de toda a costa Oeste. A maior abundância de larvas registou-se junto à foz de alguns dos principais rios, Douro, Mondego e Tejo, onde a temperatura parece ter mais relevância que a produtividade primária, dado que estes pontos não coincidiram com os registos mais elevados de clorofila, mas sim com o intervalo ótimo de temperatura, entre os 14 e 15°C.

O estudo dos *sagittae*, dá-nos informações precisas sobre a idade, o crescimento ou os eventos importantes durante a ontogenia das larvas. Assim sendo, a distinção entre os dois pares de otólitos *sagittae* e *lapilli* torna-se relevante, pois a análise equivocada dos *lapilli* pode, eventualmente, conduzir a conclusões erradas sobre os indivíduos em estudo.

Segundo referências anteriores, os *sagittae* são discerníveis dos *lapilli* pelo maior tamanho e maior número de anéis (Campana & Jones, 1992), no entanto, nas amostras analisadas, observou-se que os estados larvares menos desenvolvidos de sardinha, nomeadamente entre 6 e 8 mm de comprimento da larva, podem possuir *sagittae* e *lapilli* com tamanhos idênticos, não sendo possível a distinção entre os dois pares. Esta dificuldade não se observou em larvas cujo tamanho estaria abaixo ou acima deste intervalo de comprimentos, o que sugere que o crescimento destas estruturas, no respetivo intervalo, apresenta uma trajetória idêntica. No entanto, como o número de incrementos e o raio são muito semelhantes entre os 4 otólitos, tal não deverá interferir com os estudos de crescimento e morfometria dos otólitos das larvas de sardinha aplicados neste estudo.

Não descurando as evidências destas observações, propõem-se uma análise futura mais conclusiva, dado que, não faz parte dos objetivos deste estudo analisar as diferenças morfológicas entre *sagittae* e *lapilli*, e por esta razão não se aprofundou a questão.

Tendo os *sagittae* sido escolhidos sob os critérios de seleção desenvolvidos no capítulo 2, Material e Métodos, a idade das larvas de sardinha foi estimada através da contagem dos anéis diários dos otólitos lidos num microscópio de alta resolução. No entanto, pensa-se que poderão ter sido cometidos erros de sobrestimação da idade em algumas das larvas de maiores dimensões. Segundo a bibliografia consultada, a metamorfose nas larvas de sardinha para a fase juvenil, dá-se, aproximadamente, por volta dos 70 *dph* (Dulčić, 1995). No entanto, no presente estudo estimaram-se idades entre 4 a 116 *dph* na JUV\_17 e 4 a 105 *dph* na PEL\_18. A utilização do microscópio de alta resolução poderá ter originado erros de sobre estimacão da contagem dos anéis diários nas larvas com idades maiores, não só pela capacidade de estas, já poderem formar anéis subdiários, como pela capacidade de resolução do microscópio de os tornar visíveis. Em Garrido *et al.* (2021), foram comparadas duas leituras de dois microscópios distintos. No primeiro, usando um microscópio de luz invertida, as idades foram subestimadas, porque não eram visíveis os anéis formados nos primeiros dias. Com o segundo microscópio de alta resolução, esses anéis já eram visíveis, mas o estudo só envolveu larvas até 40 *dph*.

Em ambas as campanhas, observou-se a existência de uma relação exponencial evidenciada entre o comprimento padrão das larvas (SL) e o raio dos seus otólitos, bem como uma relação linear positiva entre o raio dos otólitos e a sua idade (*dph*), o que significa que o aumento do tamanho das larvas corresponde ao aumento do tamanho dos otólitos, à medida que estas crescem.

As taxas de crescimento das larvas de sardinha verificadas neste trabalho, dependeram da temperatura da água e do alimento disponível, o que está de acordo com os resultados de Silva *et al.* (2014) e de Garrido *et al.* (2016). Verificou-se neste estudo, maiores taxas de crescimento a maiores temperaturas, observadas no Outono, devido ao aumento do metabolismo (Garrido *et al.*, 2016), dentro do intervalo de tolerância de 13 a 17°C. Por outro lado, maior disponibilidade de alimento implica maior crescimento de acordo com Garrido *et al.* (2021). No presente estudo registou-se uma média da taxa de crescimento de  $0,611 \pm 0,176$  mm/dia no final do Outono e de  $0,593 \pm 0,175$  mm/dia no início da Primavera. Estes resultados são muito idênticos aos resultados obtidos em laboratório apresentados em Garrido *et al.* (2021), onde é descrita uma taxa de crescimento, considerada alta, de 0,61mm/dia, para larvas com uma alta concentração de alimento e outra taxa de crescimento de 0,59mm/dia, para larvas com concentração intermédia de alimento. Contudo, a média da taxa de crescimento é maior no Outono do que na Primavera o que parece ser oposto aos resultados obtidos na distribuição horizontal da clorofila-a, que foi mais elevada na costa Oeste na Primavera do que na mesma zona no final do Outono. Lasker (1963) e Caldeira (2014), comprovam nos seus estudos que a indisponibilidade do tipo de presas adequadas resulta num desenvolvimento menor das larvas ou até mesmo numa elevada mortalidade da coorte, apesar da abundância de plâncton no habitat. No entanto, neste estudo, foi utilizado o proxy clorofila-a para perceber a disponibilidade alimentar das larvas e, por ser o zooplâncton o seu alimento direto, torna-se ariscado fazer este tipo de suposições. Propõem-se, então, estarmos perante um efeito “Top-Down”, isto é, o maior crescimento dá-se na presença de zooplâncton que previamente se alimentou do fito disponível na água e, assim, justifica-se a convergência de resultados de maiores taxas de crescimento em águas com menor produção primária.

Neste estudo, optou-se por se usar o índice DNA/peso seco, devido ao eventual comprometimento dos valores de RNA celular derivados da conservação em álcool das amostras, como explicado no capítulo de Material e Métodos. E, assim, tendo em conta que quanto menor o índice de DNA/mg, maior será a condição nutricional da larva, observou-se que as larvas recolhidas durante a campanha de Primavera, na costa Oeste, tiveram melhor condição nutricional do que as larvas recolhidas na campanha de Outono.

Neste caso, o proxy clorofila-a poderá ser um bom indicador da disponibilidade de alimento para as larvas, visto que a produtividade primária é maior na Primavera, na costa Oeste, do que no Outono, o que suporta os resultados de melhor condição nutricional nas larvas. Contudo, este resultado parece adverso às taxas de crescimento observadas, que foram maiores no Outono do que na Primavera. Quando isto acontece, pode ser resultado de “*Size-Selective Mortality*”, mortalidade seletiva por tamanho, isto é, na presença de condições ambientais favoráveis, há maior sobrevivência de larvas, não só das que possuem maior crescimento como das que possuem menor crescimento que, por terem uma boa disponibilidade alimentar, têm melhor condição nutricional. Ao contrário, em condições desfavoráveis, só sobrevivem as que crescem mais, mas que estão em pior condição nutricional pela menor disponibilidade de alimento, o que resulta numa relação inversa entre Crescimento e Condição Nutricional, tal como descrito em Garrido *et al.*, 2015.

Durante a campanha de Primavera, as larvas recolhidas no Algarve revelaram índices de DNA/mg mais elevados que os da costa Ocidental, o que indica uma menor condição nutricional das larvas. Este facto pode estar associado às piores condições ambientais, temperaturas acima do limite de tolerância e/ou menor disponibilidade de alimento. Os resultados do estudo de Chícharo (1998), realizado entre o período de maio e abril no Algarve, revelaram que as larvas de sardinha capturadas estavam em boas condições nutricionais. No entanto, os autores sugerem que estes resultados se poderão dever à rápida perda/mortalidade de larvas em pior condição nutricional por predação (Chícharo, 1998).

As variáveis explicativas para a densidade das larvas verificadas nas campanhas foram a Profundidade (PF), a Temperatura de Superfície (SST) e a Densidade dos Ovos (sqrDovos), que em conjunto explicaram 49,5% da variabilidade da densidade das larvas. Na costa Sul, na Primavera, a densidade é significativamente mais baixa, comparando com outras zonas, o que muito provavelmente se deve às temperaturas elevadas, fora do intervalo de tolerância, verificadas nesta zona. A preferência por águas mais frias, reflete-se em densidades mais elevadas encontradas na costa Oeste Norte na Primavera, onde se verificou uma ligeira descida da média da SST, do Outono para a Primavera, na mesma área.

Santos *et al.* (2006), descreve que as migrações verticais das larvas de sardinha na costa Oeste, tendem a concentrar-se entre os 10 e os 25m de profundidade durante o dia e durante a noite ocupam camadas mais superficiais, entre os 5 e os 10m de profundidade, evitando tanto predadores como a radiação solar. Isto sugere que a profundidade é um fator relevante à sobrevivência dos estágios larvares.

As variáveis menos significativas na taxa de crescimento foram a Clorofila (Chla) e a Temperatura (SST), sendo os efeitos parciais da Profundidade (PF) e do Comprimento da larva (SL) mais significativos. Em particular o Comprimento, que se destacou por ser a variável intrínseca que melhor explicou a variabilidade do crescimento, relacionando-se inversamente com este, pois à medida que a larva cresce, a taxa de crescimento diminui.

A taxa de crescimento das larvas no mar, é determinada pela temperatura da água e pela disponibilidade de alimento (Buckley, 1984; Houde, 2008; Silva *et al.*, 2014; Garrido *et al.*, 2016). As taxas de crescimento mais elevadas foram observadas na costa Oeste, no Outono, zona onde se reuniram os requisitos ideais para o crescimento.

Os efeitos parciais da Temperatura (SST), Salinidade (SSS) e Comprimento (SL) explicaram a Condição Nutricional nas larvas, mas a variável Clorofila (Chla) não explicou, sendo o seu valor de significância maior que 0.05 para ser explicada pelo modelo, mais concretamente 0.095. Assim, foi observada maior Condição Nutricional a maiores Temperaturas e maiores Comprimentos. A concentração de DNA/mg foi maior nas larvas da costa Oeste no Outono e menor na costa Oeste na Primavera. Isto significa que as larvas possuem melhor condição nutricional na Primavera na costa Oeste. Se compararmos a condição das larvas nas diferentes zonas (Sul da Península Ibérica em relação à costa Oeste) e estações do ano

(Outono quando comparado com a Primavera), verificamos que o crescimento das larvas foi maior e a condição das larvas foi menor nas áreas/zonas de maior temperatura. Isto pode ser explicado pelo maior metabolismo basal à medida que aumenta a temperatura em que as larvas crescem mais rápido, no entanto, à custa de um gasto metabólico superior (Garrido *et al.*, 2016).

Verificou-se ainda que a condição nutricional aumentou com o aumento do comprimento das larvas. Isto pode sugerir uma sobrevivência dependente da condição, em que só sobrevivem as larvas em melhor condição nutricional, sendo que, as que estão em pior condição se perdem, muito provavelmente, por predação (Garrido *et al.*, 2015).

O crescimento recente das larvas, estimado pela largura dos três últimos anéis dos otólitos das larvas de sardinha, foi significativamente explicado pelas variáveis Clorofila (Chla) e Comprimento da larva (SL), que explicaram 57,6% da variabilidade. A espessura dos 3 últimos incrementos foi maior com o aumento do Comprimento da larva, mas foi menor com o aumento da Clorofila, ou seja, as larvas maiores cresceram mais, nos 3 últimos dias antecedentes à captura, em águas com menor Clorofila, o que já foi anteriormente explicado pelo efeito “Top-Dawn”.

O crescimento recente foi maior no final do Outono do que na Primavera, tal como as taxas de crescimento também foram maiores no Outono do que na Primavera, constatando-se mais uma vez, a relação inversa entre Crescimento e Condição Nutricional, explicada anteriormente pela hipótese “*Size-Selective Mortality*”

A monitorização de ovos e larvas de sardinha e de como estes são afetados pelas condições ambientais, é imprescindível para melhorar a gestão deste importante recurso pesqueiro. Perante os próximos cenários de alterações climáticas esta monitorização ainda se torna mais relevante. Apesar da grande resiliência dos sistemas de afloramento como os da costa portuguesa a variações ambientais, as alterações climáticas podem afetar dramaticamente a sua ecologia. Assim, as larvas das comunidades pelágicas poderão enfrentar novos desafios de sobrevivência (Bakun *et al.*, 2015). Neste âmbito, estudos como este, tornam-se importantes para a obtenção de conhecimentos e informação sobre os efeitos ambientais nas condições de crescimento dos estados larvares em geral e, em particular, dos de *Sardinha pilchardus*.

## 5 Conclusões

O presente trabalho permitiu as seguintes conclusões:

1. É sabido que o sucesso do recrutamento está intrinsecamente relacionado com as condições ambientais, influenciando a sobrevivência e o desenvolvimento dos estágios iniciais da sardinha.
2. No início da época de desova, no Outono, as larvas aglomeraram-se principalmente, junto da foz dos rios onde as massas de água são mais produtivas e mais frias. Na primavera, quando as altas concentrações de clorofila-a se estendem a uma área mais ampla, os estágios larvares da sardinha apresentaram uma dispersão mais homogénea, distribuídos por toda a área rastreada.
3. Em geral, foram encontradas maiores densidades de larvas no intervalo de temperatura entre 13 a 17°C, que é o intervalo preferencial para o crescimento e sobrevivência da sardinha, conforme foi verificado em experiências de laboratório (Garrido *et al.*, 2016).
4. A relação inversa entre o Crescimento e a Condição Nutricional, quando comparando o Outono e a Primavera, pode ser resultado de mortalidade seletiva por tamanho (*Size-Selective Mortality*), tal como descrito em Garrido *et al.* (2015).
5. As nossas observações na natureza confirmaram que a temperatura e a disponibilidade de alimento têm uma forte influência na condição nutricional e nas taxas de crescimento, potencialmente agindo em conjunto como fatores chave para o sucesso do recrutamento. Adicionalmente, a costa Oeste portuguesa reuniu as condições ideais para o desenvolvimento e sobrevivência dos primeiros estágios de vida da sardinha.
6. Compreender a variabilidade do recrutamento da sardinha é essencial no estudo da dinâmica das suas populações. Neste âmbito, o presente trabalho permitiu estender a nossa compreensão sobre os fatores ambientais que afetam o crescimento e a sobrevivência dos estados larvares da sardinha ao largo da costa continental portuguesa. Perante os novos cenários de alterações climáticas, é importante continuar a estudar o seu efeito na sobrevivência e no recrutamento para melhor prever a variabilidade e, assim, contribuir para uma melhor gestão deste recurso na Península Ibérica.

## 6 Referências Bibliográficas

- Agostini, V. N., & Bakun, A., 2002. “Ocean Triads” In the Mediterranean Sea: Physical Mechanisms Potentially Structuring Reproductive Habitat Suitability (With Example Application to European Anchovy, *Engraulis encrasicolus*). *Fisheries Oceanography* **11**:3, pp. 129–142.
- Agostini, V. N., Bakun, A., & Francis, R. C., 2007. Larval Stage Controls on Pacific Sardine Recruitment Variability: High Zooplankton Abundance Linked to Poor Reproductive Success. *Marine Ecology Progress Series*, **345**, pp. 237–244. <https://doi.org/10.3354/meps06992>.
- Alemaný, F., & Alvarez, F., 1994. Formation of Initial Daily Increments in Sagittal Otoliths of Reared and Wild *Sardina pilchardus* Yolk-Sac Larvae. *Marine Biology*, **121**(1), pp. 35–39. <https://doi.org/10.1007/BF00349471>.
- Arístegui, J., Barton, E. D., Álvarez-Salgado, X. A., Santos, A. M. P., Figueiras, F. G., Kifani, S., Hernández-León, S., Mason, E., Machú, E., & Demarcq, H., 2009. Sub-Regional Ecosystem Variability in the Canary Current Upwelling. *Progress in Oceanography*, **83**(1–4), pp. 33–48. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2009.07.031>.
- Assis, C. A., 2000. *Estudo Morfológico Dos Otólitos Sagitta, Asteriscus E Lapillus De Teleósteos (Actinopterygii, Teleostei) De Portugal Continental. Sua Aplicação Em Estudos De Filogenia, Sistemática e Ecologia*. Tese de doutoramento, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- Bakun, A., 1985. Comparative Studies and The Recruitment Problem: Searching for Generalizations. *CalCOFI Rep.*, Vol. XXVI, pp. 30–40.
- Bakun, A., 1996. *Patterns in the Ocean: Ocean Processes and Marine Population Dynamics*. California Sea Grant College System/NOAA/Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Mexico, 323pp. ISBN 1-888691-01-8.
- Bakun, A., & Csirke, J., 1998. Environmental processes and recruitment variability. *FAO fisheries technical paper*, pp. 105–124.
- Bakun, A., Black, B. A., Bograd, S. J., García-Reyes, M., Miller, A. J., Rykaczewski, R. R., & Sydeman, W. J., 2015. Anticipated Effects of Climate Change on Coastal Upwelling Ecosystems. In *Current Climate Change Reports*, Vol. **1**, Issue **2**, pp. 85–93. Springer. <https://doi.org/10.1007/s40641-015-0008-4>.
- Baptista, V., Morais, P., Cruz, J., Castanho, S., Ribeiro, L., Pousão-Ferreira, P., Leitão, F., Wolanski, E., & Teodósio, M. A., 2019. Swimming Abilities of Temperate Pelagic Fish Larvae Prove That They May Control Their Dispersion in Coastal Areas. *Diversity*, **11**: 185. <https://doi.org/10.3390/d11100185>.
- Bellier, E., Planque, B., & Petitgas, P., 2007. Historical Fluctuations in Spawning Location of Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and Sardine (*Sardina pilchardus*) in the Bay of Biscay During 1967-73 and 2000-2004. *Fisheries Oceanography*, Vol. **16**, Issue **1**, pp. 1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2419.2006.00410.x>.

- Bergeron, J. P., 1997. Nucleic Acids in Ichthyoplankton Ecology: A Review, With Emphasis on Recent Advances for New Perspectives. *Journal of Fish Biology*, **51** (Supplement A), pp. 284–302.
- Boyle, R., 2020. Otolith adaptive responses to altered gravity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol. **122**, pp. 218–228. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.10.025>.
- Brothers, E. B., Mathews, C. P., & Lasker<sup>3</sup>, R., 1976. Daily Growth Increments in Otoliths from Larval and Adult Fishes. *Fishery Bulletin*, Vol. **74**, No. 1, 8pp.
- Brothers, E. B., 1979. Age and Growth Studies on Tropical Fishes. In: *Stock Assessment for Tropical Small-Scale Fisheries: Proceedings of an International Workshop*, Saila, S. B., & Roedel, P. M.. Kingston, R. I.: University of Rhode Island, 204pp.
- Buckley, L. J., 1984. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. *Marine Biology*, Vol. **80**, pp. 291–298.
- Busacker, G. P., Adelman, I. R., & Goolish, E. M., 1990. Growth. In: *Methods for fish biology*, Schreck, C. B., Moyle, P. B.. American Fisheries Society, Education Section, pp. 363–387.
- Caldarone, M., Wagner, M., Onge-Burns, J., & Buckley, L. J., 2001. *Northeast Fisheries Science Center Protocol and Guide for Estimating Nucleic Acids in Larval Fish Using a Fluorescence Microplate Reader*. Massachusetts: Northeast Fisheries Science Center, 23pp.
- Caldeira, C., Santos, A. M. P., Ré, P., Peck, M. A., Saiz, E., & Garrido, S., 2014. Effects of prey concentration on ingestion rates of European sardine *Sardina pilchardus* larvae in the laboratory. *Marine Ecology Progress Series*, **517**: pp. 217–228. <https://doi.org/10.3354/meps11010>.
- Campana, S. E., & Neilson, J. D., 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **42**, pp. 1014–1032. <https://www.researchgate.net/publication/309173980>.
- Campana, S. E., 1989. Otolith Microstructure of Three Larval Gadids in The Gulf of Maine, With Inferences on Early Life History. *Canadian journal of zoology*., **67**(6), pp. 1401–1410. [www.nrcresearchpress.com](http://www.nrcresearchpress.com).
- Campana, S. E., 1992. Measurement and Interpretation of the Microstructure of Fish Otoliths. In: *Otolith Microstructure Examination and Analysis*, Stevenson, D. K., & Campana, S. E.. Ottawa, Canada: Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences **117**, pp. 59–71. Publishing Supply and Services Canada.
- Campana S. E., & Jones, C. M., 1992. Analysis of Otolith Microstructure Data. In: *Otolith Microstructure Examination and Analysis*, Stevenson, D. K., & Campana, S. E.. Ottawa, Canada: Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences **117**, pp. 73–100. Publishing Supply and Services Canada.
- Cardoso, P. G., Dolbeth, M., Sousa, R., Relvas, P., Santos, R., Silva, A., & Quintino, V., 2019. The Portuguese Coast. In: *World Seas: An Environmental Evaluation Volume I: Europe, the Americas and West Africa*, Hamel, J.F.. Elsevier, pp. 189–208. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805068-2.00009-7>.

- Chen. Y., Jackson D. A., Harvey H. H., 1992. A Comparison of Von Bertalanffy and Polynomial Functions in Modelling Fish Growth Data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **49**(6), pp. 1228–1235.
- Chícharo, M., Chícharo, L., Valdés, L., López-Jamar, E., & Ré, P., 1998a. Estimation of Starvation and Diel Variation of the RNA/DNA Ratios in Field-Caught *Sardina pilchardus* Larvae off the North of Spain. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. **164**, pp. 273–283.
- Chícharo, M., Chícharo, L., Valdés, L., López-Jamar, E., & Ré, P., 1998b. Does The Nutritional Condition Limit Survival Potential of Sardine *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) Larvae Off the North Coast of Spain? RNA/DNA Ratios and Their Variability. *Fisheries Research*, **39**, pp. 43–54.
- Chícharo, M. A., 1998. Nutritional Condition and Starvation in *Sardina pilchardus* (L.) Larvae off Southern Portugal Compared with Some Environmental Factors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **225**, pp. 123–137.
- Chícharo, M. A., Esteves, E., Santos, A.M., dos Santos, A., Peliz, Á., Ré, P., 2003. Are Sardine Larvae Caught off Northern Portugal in Winter Starving? An Approach Examining Nutritional Conditions. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. **257**, pp. 303–309.
- Chícharo, M. A., & Chícharo, L., 2008. RNA:DNA Ratio and Other Nucleic Acid Derived Indices in Marine Ecology. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. **9**, Issue 8, pp. 1453–1471. <https://doi.org/10.3390/ijms9081453>.
- Clemmesen, C., 1988. A RNA and DNA Fluorescence Technique to Evaluate the Nutritional Condition of Individual Marine Fish Larvae. *Meeresforschung-Reports on Marine Research*, **32**, pp. 134–143.
- Clemmesen, C., 1994. Importance and Limits of RNA/DNA Ratios as a Measure of Nutritional Condition in Fish Larvae. In: *Survival Strategies in Early Life Stages of Marine Resources*, pp. 64–82.
- Clemmesen, C., & Doan, T., 1996. Does Otolith Structure Reflect the Nutritional Condition of a Fish Larva? Comparison Of Otolith Structure and Biochemical Index (RNA/DNA ratio) Determined on Cod Larvae. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. **138**.
- Coombs, S. H., Smyth, T. J., Conway D. V. P., Halliday, N.C., Bernal M., Stratoudakis, Y., & Alvarez, P., 2006. Spawning Season and Temperature Relationships for Sardine (*Sardina pilchardus*) in the Eastern North Atlantic. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **86**, pp. 1245–1252
- Correia, A. T., Hamer, P., Carocinho, B., & Silva, A., 2014. Evidence for Meta-Population Structure of *Sardina Pilchardus* in The Atlantic Iberian Waters from Otolith Elemental Signatures of a Strong Cohort. *Fisheries Research*, **149**, pp. 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2013.09.016>.
- Costalago, D., & Palomera, I., 2014. Feeding of European pilchard (*Sardina pilchardus*) In the Northwestern Mediterranean: From Late Larvae to Adults. *Scientia Marina*, **78**(1), pp. 41–54. <https://doi.org/10.3989/scimar.03898.06D>.

- Cruz, J., Teodósio, M. A., Ben-Hamadou, R., Chícharo, L., Garrido, S., Ré, P., & Santos, A. M. P., 2017. RNA:DNA Ratios As A Proxy Of Egg Production Rates Of Acartia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **187**, pp. 96–109. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.12.028>.
- Cunha, M. E., 2001. *Physical Control of Biological Processes in a Coastal Upwelling System: Comparison of the Effects of Coastal Topography, River Run-off and Physical Oceanography in the Northern and Southern Parts of Western Portuguese Coastal Waters*. Dissertação apresentada a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa para obtenção do grau de doutor em Biologia, 305pp.
- Cury, P., & Roy, C., 1989. Optimal Environmental Window and Pelagic Fish Recruitment Success in Upwelling Areas. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **46**(4), pp. 670–680. [www.nrcresearchpress.com](http://www.nrcresearchpress.com).
- Cury, P. M., Shin, Y. J., Planque, B., Durant, J. M., Fromentin, J. M., Kramer-Schadt, S., Stenseth, N. C., Travers, M., & Grimm, V., 2008. Ecosystem oceanography for global change in fisheries. *Trends in Ecology and Evolution*, Vol. 23, Issue 6, pp. 338–346. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.02.005>.
- Cushing, D. H., 1975. The Natural Mortality of the Plaice. *ICES Journal of Marine Science*, Vol. **36**(2), pp. 150–157. <http://icesjms.oxfordjournals.org/>.
- Cushing, D. H., 1990. Plankton Production and Year-class Strength in Fish Populations: An Update of the Match/Mismatch Hypothesis. In: *Advances in marine biology*, Blaxter, J. H. S., & Southward, A. J.. Volume 26, pp. 249–293. Academic Press., ISBN 0-12-026126-X.
- Cushing, D. H., Shipley, O. N., & Siskey, M. R., 2018. Pelagic Fishes. In: *Encyclopedia of Ocean Sciences*, Cochran, J.K., et al.. 3rd Edition, pp. 290–296. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10848-6>.
- Darwin, C., 1859. *The Origin of Species*. United States: Modern Library Paperback Edition, 689pp.
- Douglas, L. S., 2012. Pelagic Fish. In: *The Seafood Industry: Species, Products, Processing, and Safety*, Granata, L. A., Flick, G. J., & Martin R. E., 2nd edition. Blackwell Publishing, pp. 49–62.
- Dulčić, J., 1995. Estimation Of Age and Growth Of Sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), Larvae By Reading Daily Otolith Increments. *Fisheries Research*, **22**(3–4), pp. 265–277. [https://doi.org/10.1016/0165-7836\(94\)00316-O](https://doi.org/10.1016/0165-7836(94)00316-O).
- Fiúza, A. F. G., Macedo, M. E., & Guerreiro, M. R., 1982. Climatological Space and Time Variation of The Portuguese Coastal Upwelling. *Oceanologica acta*, vol. **5**(1), pp. 31–40.
- Fiúza, A. F., 1983. Upwelling Patterns Off Portugal. In: *Coastal Upwelling Its Sediment Record*, Suess, E., et al.. Boston, MA: Springer US., pp. 85–98.
- Ganias, K., Somarakis, S., & Nunes, C., 2014. Reproductive Potential. In: *Biology and ecology of sardines and anchovies*, Ganias, K.. Greece: School of Biology Aristotle University of Thessaloniki, pp. 79-121.
- García-Lafuente, J., Delgado, J., Criado-Aldeanueva, F., Bruno, M., del Río, J., & Vargas, M. J., 2006. Water Mass Circulation on the Continental Shelf of the Gulf of Cádiz. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, **53**(11–13), pp. 1182–1197. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2006.04.011>.

- Garrido, S., Marçalo, A., Zwolinski, J., van der Lingen, C. D., 2007a. Laboratory Investigations on the Effect of Prey Size and Concentration on the Feeding Behaviour of *Sardina pilchardus*. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. **330**, pp. 189–199.
- Garrido, S., 2007b. *Trophic Ecology of The Atlanto-Iberian Sardine (Sardina pilchardus)*. Tese de doutoramento, Universidade Do Algarve, Faculdade De Ciências Do Mar E Do Ambiente, 194pp.
- Garrido, S., Ben-Hamadou, R., Oliveira, P. B., Cunha, M. E., Chícharo, M. A., & van der Lingen, C. D., 2008. Diet and Feeding Intensity of Sardine *Sardina pilchardus*: Correlation with Satellite-Derived Chlorophyll Data. *Marine Ecology Progress Series*, **354**, pp. 245–256. <https://doi.org/10.3354/meps07201>.
- Garrido, S., Santos, A. M. P., dos Santos, A., & Ré, P., 2009. Spatial Distribution and Vertical Migrations of Fish Larvae Communities Off Northwestern Iberia Sampled With LHPR And Bongo Nets. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **84**(4), pp. 463–475. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2009.07.018>.
- Garrido, S., Ben-Hamadou, R., Santos, A. M. P., Ferreira, S., Teodósio, M. A., Cotano, U., Irigoien, X., Peck, M. A., Saiz, E., & Ré, P., 2015. Born Small, Die Young: Intrinsic, Size-Selective Mortality in Marine Larval Fish. *Scientific Reports*, **5**. <https://doi.org/10.1038/srep17065>.
- Garrido, S., Cristóvão, A., Caldeira, C., Ben-Hamadou, R., Baylina, N., Batista, H., Saiz, E., Peck, M. A., Ré, P., & Santos, A. M. P., 2016. Effect of Temperature on The Growth, Survival, Development and Foraging Behaviour of *Sardina pilchardus* Larvae. *Marine Ecology Progress Series*, **559**, pp. 131–145. <https://doi.org/10.3354/meps11881>.
- Garrido, S., Silva, A., Marques, V., Figueiredo, I., Bryère, P., Mangin, A., & Santos, A. M. P., 2017. Temperature and Food-Mediated Variability of European Atlantic Sardine Recruitment. *Progress in Oceanography*, **159**, pp. 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.pocan.2017.10.006>.
- Garrido, S., Ferreira, S., Soares, C., Meneses, I., Baylina, N., Batista, H., Teodosio, M. A., Piecho-Santos, A. M., & Ré, P., 2021. Effect of Food Availability on the Growth and Age Determination of European Sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792) Larvae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **101**(3), pp. 609–619. <https://doi.org/10.1017/S0025315421000497>.
- Gauldie, R. W., 1988. Function, Form and Time-Keeping Properties of Fish Otoliths. *Biochem. Physiol*, Vol. **91**, Issue 2, pp. 395–402.
- Geffen, A. J., 1992. Validation of Otolith Increment Deposition Rate. In: *Otolith Microstructure Examination and Analysis*, Stevenson, D. K., & Campana, S. E.. Ottawa, Canada: Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences **117**, pp. 101–113. Publishing Supply and Services Canada.
- Gu, C., & Wahba, G., 1991. Minimizing GCV/GML Scores with Multiple Smoothing Parameters Via the Newton Method. *SIAM Journal on Scientific and Statistical Computing*, Vol. **12**(2), pp. 383–398. <http://www.siam.org/journals/ojsa.php>.
- Hastie, T., & Tibshirani, R., 1986. Generalized Additive Models. *Statistical Science*, Vol. **1**, Issue 3, pp. 297–318.

- Heath, M.R., 1992. Field investigations of the early life stages of marine fish. *In: Advances in Marine Biology*, Vol. **28**, pp. 1–174. Academic Press, ISBN CL12-026128-6.
- Hjort, J., 1914. *Fluctuations in the Great Fisheries of Northern Europe: Viewed in the Light of Biological Research*. ICES Rapports Et Procès-Verbaux, Volume XX. Copenhagen: Andr. Fred. Høst & Fils.
- Houde, E. D., 1997. Patterns and Consequences of Selective Processes in Teleost Early Life Histories. *In: Early Life History and Recruitment in Fish Populations*, Chambers, R. C & Tripler, E. A.. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 173–196. DOI: 10.1007/978-94-009-1439-1.
- Houde, E. D., 2008. Emerging From Hjort’s Shadow. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, **41**, pp. 53–70. <https://doi.org/10.2960/J.v41.m634>.
- Houde, E. D., 2018. Fish larvae. *Encyclopedia of Ocean Sciences*, pp. 182–192. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10696-7>.
- ICES, 2018. *Bay of Biscay and the Iberian Coast Ecoregion*. Ecosystem overview. ICES Advice 2018, 17pp. <https://doi.org/10.17895/ices.pub.4666>.
- ICES, 2021. Advice on fishing opportunities, catch, and effort Bay of Biscay and the Iberian Coast ecoregion. *ICES Advice 2021, pil.27.8c9a*. <https://doi.org/10.17895/ices.advice.7816>.
- Iles, T. D., & Sinclair, M., 1982. Atlantic Herring: Stock Discreteness and Abundance. *Science*, Vol. **215**(4533), pp. 627–633. [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org).
- Jones, C. M., 1992. Development and Application of the Otolith Increment Technique. *In: Otolith Microstructure Examination and Analysis*, Stevenson, D. K., & Campana, S. E.. Ottawa, Canada: Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences **117**, pp. 1–11. Publishing Supply and Services Canada.
- Lasker, R., 1963. The Physiology of Pacific Sardine Embryos and Larvae. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations and Reports*, Vol. X, pp. 96–101.
- Lasker, R., 1975. Field Criteria for Survival of Anchovy Larvae: The Relation Between Inshore Chlorophyll Maximum Layers and Successful First Feeding. *Fishery Bulletin*, Vol. **73**, No.3, pp. 453–462.
- Lasker, R., 1981. The Role of a Stable Ocean in Larval Fish Survival and Subsequent Recruitment. *Marine Fish Larvae: morphology, ecology and relation to fisheries*, **1**, pp. 80–89.
- Leitão, F., Baptista, V., Vieira, V., Silva, P. L., Relvas, P., & Teodósio, M. A., 2019. A 60-year time series analyses of the upwelling along the Portuguese coast. *Water*, **11**(6), 1285pp. <https://doi.org/10.3390/w11061285>.
- Marçalo, A., Nicolau, L., Giménez, J., Ferreira, M., Santos, J., Araújo, H., Silva, A., Vingada, J., & Pierce, G. J., 2018. Feeding Ecology of the Common Dolphin (*Delphinus delphis*) in Western Iberian Waters: Has the Decline in Sardine (*Sardina pilchardus*) Affected Dolphin Diet?. *Marine Biology*, **165**:44. <https://doi.org/10.1007/s00227-018-3285-3>.
- Martins, R., Carneiro, M., 2018. *Manual De Identificação De Peixes Ósseos Da Costa Continental Portuguesa. Principais Características Diagnosticantes*. Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P., 204pp. <http://hdl.handle.net/10400.26/43649>.

- Mason, E., Coombs, S., & Oliveira, P. B., 2006. An Overview of The Literature Concerning the Oceanography of The Eastern North Atlantic Region. *Relatórios Científicos e Técnicos IPIMAR*, série digital, **33**, 59pp. <http://ipimar-iniap.ipimar.pt>
- May, R. C., 1974. Larval Mortality in Marine Fishes and the Critical Period Concept. In: *The Early Life History of Fish*, The Proceedings of an International Symposium Held at the Dunstaffnage Marine Research Laboratory of the Scottish Marine Biological Association at Oban, Scotland, from May 17–23, 1973, pp. 3–9. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- McClatchie, S., Rogers, P. J., & McLeay, L., 2007. Importance Of Scale to The Relationship Between Abundance of Sardine Larvae, Stability, And Food. *Limnology and Oceanography*, **52**(4), pp. 1570–1579.
- Meneses, I., 2003. *Estimação de Fatores que Condicionam a Variabilidade do Recrutamento de Peixes na Costa Atlântica da Península Ibérica*. Tese de doutoramento, INAP/IPIMAR.
- Montgomery, D. C., Peck E. A., 1992. *Introduction to Linear Regression Analysis*. 2nd Edition.
- Morales-Nin, B. Y. O., 1986. Structure And Composition of Otoliths of Cape Hake Merluccius Capensis. *South African Journal of Marine Science*, **4**(1), pp. 3–10. <https://doi.org/10.2989/025776186784461639>.
- Morales-Nin, B., 2000. Review Of the Growth Regulation Processes of Otolith Daily Increment Formation. *Fisheries Research*, **46**(1–3), pp. 53–67. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(00\)00133-8](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(00)00133-8).
- Morote, E., Olivar, M.P., Villate, F., & Uriarte, I., 2010. A comparison of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus*) larvae feeding in the Northwest Mediterranean: influence of prey availability and ontogeny *ICES Journal of Marine Science*, **67**(5), pp. 887–908. <https://academic.oup.com/icesjms/article/67/5/897/609506>.
- Nunes, C., Silva, A., Marques, V., & Gantias, K., 2011. Integrating Fish Size, Condition, And Population Demography in The Estimation of Atlantic Sardine Annual Fecundity. *Ciencias Marinas*, **37**(4B), pp. 565–584. <https://doi.org/10.7773/cm.v37i4B.1779>.
- Pannella, G., 1971. Fish Otoliths: Daily Growth Layers and Periodical Patterns. *Science*, Vol. **173**, pp. 1124–1127.
- Parrish, R. H., Serra, R., Grant, S., Serra, W., & So Grant, W., 1989. The Monotypic Sardines, *Sardina* and *Sardinops*: Their Taxonomy, Distribution, Stock Structure, and Zoogeography. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **46**(11): pp. 2019–2836. [www.nrcresearchpress.com](http://www.nrcresearchpress.com).
- Peliz, Á., Dubert, J., Santos, A. M. P., Oliveira, P. B., & Le Cann, B., 2005. Winter Upper Ocean Circulation in the Western Iberian Basin - Fronts, Eddies and Poleward Flows: An Overview. *Deep-Sea Research I: Oceanographic Research Papers*, **52**(4), pp. 621–646. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2004.11.005>.
- Peliz, A., Dubert, J., Marchesiello, P., & Teles-Machado, A., 2007. Surface circulation in the Gulf of Cadiz: Model and mean flow structure. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, Vol. **112**, C11015, 20pp. <https://doi.org/10.1029/2007JC004159>.

- Pepin, P., 2015. Reconsidering The Impossible – Linking Environmental Drivers to Growth, Mortality, And Recruitment of Fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **73**(2), pp. 205–215. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2015-0091>.
- Popper, A. N., & Lu, Z., 2000. Structure-function relationships in fish otolith organs. *Fisheries research*, **46**(1-3), pp. 15–25.
- Ramírez, T., Cortés, D., García, A., Carpena, A., 2004. Seasonal Variations of RNA/DNA Ratios and Growth Rates of the Alboran Sea Sardine Larvae (*Sardina pilchardus*). *Fisheries Research*, **68**, pp. 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2004.02.008>
- Ramos, S., Ré, P., & Bordalo, A. A., 2009. New Insights Into The Early Life Ecology Of *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) In The Northern Iberian Atlantic. *Scientia Marina*, **73**(3), pp. 449–459. <https://doi.org/10.3989/scimar.2009.73n3449>.
- Ré, P., 1983a. Daily Growth Increments in The Sagitta of *pilchard* Larvae *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1972). *Cybium*, **7**(3), pp. 9–15.
- Ré, P., 1983b. Growth of *pilchard* Larvae *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1972) in Relation to Some Environmental Factors. *Investigacion Pesquera*, **47**(2), pp. 277–283.
- Ré, P., 1984. Evidence Of Daily and Hourly Growth in Pilchard Larvae Based on Otolith Growth Increments, *Sardina pilchardus* (Walbaun, 1792). *Cybium*, **8**(1), pp. 33–38.
- Ré, P., 1986. Otolith Microstructure Detection Life History Events Sardine and Anchovy Larvae. *Ciêñ. Biol. Ecol. Syst.*, **6**, pp. 9–7.
- Ré, P., Farinha, T., Meneses, I., 1988. Diel Spawning Time of Sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum\_ 1792) (Teleostei, *Clupeidae*) off Portugal. *Boletim do Instituto Nacional de Investigação das Pescas*, **52**(2), pp. 207–213.
- Ré, P., Cabral e Silva, R., Cunha, E., Farinha, A., Meneses, I., & Moita, T., 1990. Sardine Spawning off Portugal. *Boletim do Instituto Nacional de Investigação das Pescas*, **15**, pp. 31–44. <https://www.researchgate.net/publication/285107053>.
- Ré, P., Meneses, I., 2008. *Early Stages of Marine Fishes Occurring in the Iberian Peninsula*. IPIMAR, 283pp. <http://projectvital.fc.ul.pt>.
- Relvas, P., Barton, E. D., Dubert, J., Oliveira, P. B., Peliz, Á., da Silva, J. C. B., & Santos, A. M. P., 2007. Physical oceanography of the western Iberia ecosystem: Latest views and challenges. *Progress in Oceanography*, **74**(2–3), pp. 149–173. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.04.021>.
- Riveiro, I., Guisande, C., Maneiro, I., & Vergara, A. R., 2004. Parental effects in the European sardine *Sardina pilchardus*. *Marine Ecology Progress Series*, **274**, pp. 225–234. <https://doi.org/10.3354/meps274225>.
- Sakamoto, T., Lingen, C. D., Shirai, K., Ishimura, T., Geja, Y., Peterson, J., & Komatsu, K., 2020. Otolith  $\delta^{18}\text{O}$  and Microstructure Analyses Provide Further Evidence of Population Structure in Sardine *Sardinops sagax* Around South Africa. *ICES Journal of Marine Science*, **77**(7), pp. 2669–2680. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsaa130>.

- Santos, A. M. P., Peliz, A., Dubert, J., Oliveira, P. B., Angélico, M. M., & Ré, P., 2004. Impact of a winter upwelling event on the distribution and transport of sardine (*Sardina pilchardus*) eggs and larvae off western Iberia: A retention mechanism. *Continental Shelf Research*, **24**(2), pp. 149–165. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2003.10.004>.
- Santos, A. M. P., Re, P., dos Santos, A., & Peliz, Á., 2006. Vertical Distribution of The European Sardine (*Sardina pilchardus*) Larvae and Its Implications for Their Survival. *Journal of Plankton Research*, **28**(5), pp. 523–532. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbi137>.
- Santos, A. M. P., Chícharo, A., dos Santos, A., Moita, T., Oliveira, P. B., Peliz, Á., & Ré, P., 2007. Physical-Biological Interactions in The Life History of Small Pelagic Fish in The Western Iberia Upwelling Ecosystem. *Progress in Oceanography*, **74**(2–3), pp. 192–209. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.04.008>.
- Santos, A. M. P., Nieblas, A. E., Verley, P., Teles-Machado, A., Bonhommeau, S., Lett, C., Garrido, S., & Peliz, A., 2018. Sardine (*Sardina pilchardus*) larval dispersal in the Iberian upwelling system, using coupled biophysical techniques. *Progress in Oceanography*, **162**, pp. 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.02.011>.
- Secor, D. H., Dean, J. M., & Laban E. H., 1992. Otolith Removal and Preparation for Microstructural Examination. In: *Otolith Microstructure Examination and Analysis*, Stevenson, D. K., & Campana, S. E.. Ottawa, Canada: Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences **117**, pp. 19–57. Publishing Supply and Services Canada.
- Silva, A., & Miranda, A., 1992. Laboratory Rearing of Sardine Larvae, *Sardina pilchardus* (Walb.), and Early Effects of Starvation: A Preliminary Experiment. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* **8**(1), pp. 163–174. <https://www.researchgate.net/publication/269874531>.
- Silva, A., Faria, S., & Nunes, C., 2013. Long-term Changes in Maturation of Sardine, *Sardina pilchardus*, in Portuguese Waters. *Scientia Marina*, **77**(3), pp. 429–438. <https://doi.org/10.3989/scimar.03852.03A>.
- Silva, L., Faria, A. M., Teodósio, M. A., & Garrido, S., 2014. Ontogeny of Swimming Behaviour in Sardine *Sardina pilchardus* Larvae and Effect of Larval Nutritional Condition on Critical Speed. *Marine Ecology Progress Series*, **504**, pp. 287–300. <https://doi.org/10.3354/meps10758>.
- Silva, A., Moreno, A., Riveiro, I., Santos, B., Pita, C., Rodrigues, J., Villasante, S., Pawlowski, L., Duhamel, E., 2015. Sardine Fisheries: Resource Assessment and Social and Economic Situation. *Directorate-General for Internal Policies, Policy Department B: Structural and Cohesion Policies, Fisheries*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1289.8649>.
- Sinclair, M., & Iles, T. D., 1989. Population Regulation and Speciation in The Oceans. *ICES Journal of Marine Science*, **45**(2), pp. 165–175. <http://icesjms.oxfordjournals.org/>.
- Smith, P. E., & Richardson, S. L., 1977. *Standard Techniques for Pelagic Fish Eggs and Larvae Surveys*. FAO Fish Tech ‘Papers, (175), 100pp.
- Soares, C., Cristóvão, A. R., Gordo, L., Ré, P., Batista, H., Baylina, N., Teodósio, M. A., Garrido, S., unpublic data. Nutritional Condition of *Sardina pilchardus* Larvae Reared in Laboratory Conditions: Histological and Nucleic Acid Derived Indices. (*Em fase de publicação*).

- Stratoudakis, Y., Coombs, S., de Lanzós, A. L., Halliday, N., Costas, G., Caneco, B., Franco, C., Conway, D., Santos, M. B., Silva, A., & Bernal, M., 2007. Sardine (*Sardina pilchardus*) Spawning Seasonality in European Waters of The Northeast Atlantic. *Marine Biology*, **152**(1), pp. 201–212. <https://doi.org/10.1007/s00227-007-0674-4>.
- Takasuka, A., Aoki, I., Mitani, I., 2003. Evidence of Growth-Selective Predation on Larval Japanese Anchovy, *Engraulis japonicus*, in Sagami Bay. *Marine Ecology Progress Series*, **252**: pp. 223–238.
- Takasuka A., Oozeki Y, Kimura, R., Kubota, H., Aoki, I., 2004. Growth-Selective Predation Hypothesis Revisited for Larval Anchovy in Offshore Waters: Cannibalism by Juveniles Versus Predation by Skipjack Tunas. *Marine Ecology Progress Series*, **278**, pp. 297–302.
- Teodósio, M. A., Garrido, S., Peters, J., Leitão, F., Ré, P., Peliz, A., & Santos, A. M. P., 2016. Assessing The Impact of Environmental Forcing on The Condition of Anchovy Larvae in The Cadiz Gulf Using Nucleic Acid and Fatty Acid-Derived Indices. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **185**, pp. 94–106. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.10.023>.
- Veiga-Malta, T., Szalaj, D., Angélico, M. M., Azevedo, M., Farias, I., Garrido, S., Lourenço, S., Marçalo, A., 2018. The First Representation of the Trophic Structure and Functioning of the Portuguese Continental Shelf Ecosystem: Insights on the Role of Sardine. *Marine Ecology Progress Series*, **617**, pp. 323–340.
- Wiebe, P. H., & Benfield, M. C., 2003. From the Hensen Net Toward Four-Dimensional Biological Oceanography. *Progress in Oceanography*, Vol. **56**, Issue 1, pp. 7–136. Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0079-6611\(02\)00140-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6611(02)00140-4).
- Zuur, A. F., Ieno, E .N., Smith, G. M., 2007. *Analysing Ecological Data*. New York: Springer, 680pp.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., & Elphick, C. S., 2010. A Protocol for Data Exploration to Avoid Common Statistical Problems. *Methods in Ecology and Evolution*, **1**(1), pp. 3–14. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2009.00001.x>.