



Oceanário de Lisboa
Sempre diferente.

ENGUIA LIMPA

ESTUDOS SOBRE A ENGUIA EM PORTUGAL: LEVANTAMENTO DO IMPACTO DE ALGUNS METAIS E DO PARASITA ANGUILLICOLA EM MEIO SALOBRO



Relatório Final



LISBOA
Março 2010

ESTUDOS SOBRE A ENGUIA EM PORTUGAL: LEVANTAMENTO DO IMPACTO DE ALGUNS METAIS E DO PARASITA ANGUILLICOLA EM MEIO SALOBRO

Relatório Final

Equipa técnica:

Isabel Domingos ^{1,2} (coordenação)

José Lino Costa ¹

Ana Filipa Neto ¹

Diana Passos ¹

Maria José Costa ^{1,2}

¹ Centro de Oceanografia, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa



² Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa



Elaborado para:



Oceanário de Lisboa
Sempre diferente.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS	1
1.2. TAREFAS ESPECÍFICAS	3
2. METODOLOGIA GERAL	4
2.1. ÁREAS DE ESTUDO	4
2.2. TRABALHO DE CAMPO	5
2.2. TRABALHO DE LABORATÓRIO	5
3. ACUMULAÇÃO DE METAIS PESADOS	8
3.1. INTRODUÇÃO	8
3.2. METODOLOGIA ESPECÍFICA	8
3.3. RESULTADOS	9
3.3.1. Nível Nacional	9
3.3.2. Nível Local	10
3.3.3. Variáveis Biológicas	13
3.3.4. Condição dos Indivíduos e Saúde Pública	15
4. EPIDEMIOLOGIA POR <i>ANGUILLICOLA CRASSUS</i>	17
4.1. INTRODUÇÃO	17
4.2. METODOLOGIA ESPECÍFICA	17
4.3. RESULTADOS	17
4.3.1. Nível Nacional	17
4.3.2. Nível Local	19
4.3.3. Variáveis Biológicas	20
4.3.4. Condição dos Indivíduos	20
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
6. REFERÊNCIAS	24
7. <i>OUTPUTS</i> DO PROJECTO	

1. INTRODUÇÃO

1.1. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS

A enguia-europeia, *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758), é uma espécie migradora catádroma que apresenta um dos mais fascinantes ciclos de vida (Figura 1.1). Após a reprodução, que ocorre no mar dos Sargaços, as larvas, leptocéfalos, são transportadas pelas correntes do Golfo e do Atlântico Norte até alcançarem a plataforma continental da Europa e Norte de África, onde sofrem uma metamorfose transformando-se em enguias de vidro, também designadas por angulas ou meixão. É nesta fase que colonizam os sistemas aquáticos continentais, migrando ao longo do leito dos cursos de água até atingir ambientes adequados ao seu desenvolvimento, onde se transformam em enguias amarelas. Aqui passam grande parte da sua vida, até se tornarem enguias prateadas e iniciarem a migração reprodutora de regresso ao mar dos Sargaços, morrendo após o processo de desova.

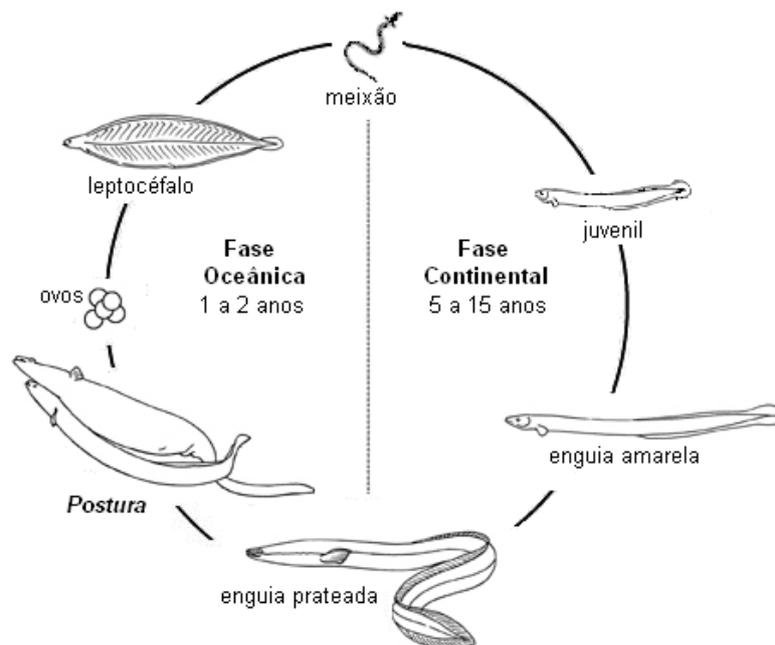


Figura 1.1. Ciclo de vida da enguia-europeia, *Anguilla anguilla*.
(Adaptado de Dekker, 2003)

O *stock* da enguia-europeia encontra-se em franca regressão desde a década de 1980, como resultado de inúmeros factores que actuam tanto a nível oceânico como continental. Apesar das modificações nas correntes oceânicas, resultantes de alterações climáticas, poderem afectar a migração das larvas, a maioria dos constrangimentos ocorre em águas continentais (Feunteun, 2002). Entre eles destacam-se a sobrepesca de meixão, que se iniciou com a forte procura para aquacultura em países asiáticos, a redução do *habitat* disponível devido à construção de barragens e açudes, a degradação da qualidade da água por contaminantes e a

presença do nemátode parasita, *Anguillicola crassus* Kuwahara, Niimi e Hagaki 1974, que se instala na bexiga gasosa das enguias, podendo afectar a sua funcionalidade e inviabilizar a migração reprodutora (ICES, 2006; 2007).

O acentuado declínio da população tem vindo a preocupar a comunidade científica, a ponto de, em 1998, o ICES ter declarado que a espécie se encontrava fora dos limites biológicos de segurança, e que a pesca não era sustentável, alertando, a Comissão Europeia para a necessidade urgente de tomar medidas tendentes a inverter a situação. Volvidos dez anos, os Estados-Membros, ao abrigo do Regulamento (CE) n.º 1100/2007, passaram a ser obrigados a elaborar Planos de Gestão da Enguia em cada bacia hidrográfica (ou a nível nacional), os quais terão que garantir a fuga de pelo menos 40% das enguias prateadas que migrariam dos seus rios para se reproduzir, caso não existissem constrangimentos antrópicos.

Apesar dos efeitos negativos que os contaminantes (entre eles, os metais) e o parasita *A. crassus* podem ter na saúde e sobrevivência da enguia, contribuindo para reduzir a condição das enguias e, conseqüentemente, a qualidade dos reprodutores (Robinet e Feunteun, 2002), os dados existentes em Portugal sobre estes aspectos são escassos. Com o intuito de preencher essa lacuna, o presente projecto teve como objectivo primário contribuir para a avaliação da susceptibilidade da enguia a ambos os tipos de contaminação a nível nacional. A selecção dos locais a estudar recaiu sobre sistemas salobros por aí existirem grandes concentrações populacionais e por ser onde se reflecte o efeito de todas as actividades que se desenrolam ao longo das bacias hidrográficas. Os sistemas escolhidos foram: ria de Aveiro, lagoa de Óbidos, estuário do Tejo, lagoa de Santo André e estuário do Mira, de modo a abranger uma variada gama de condições ambientais naturais e antrópicas. A relação entre nível de contaminação e determinadas variáveis biológicas (sexo e tamanho), algumas variáveis ambientais e impactos específicos na condição dos exemplares foi também avaliada, em particular no estuário do Tejo, o qual é tradicionalmente considerado bastante perturbado.

Além disso, uma vez que a enguia é uma espécie ameaçada, classificada como EM PERIGO no Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal (Cabral *et al.*, 2005), pretende-se divulgar a situação de elevado risco em que esta actualmente se encontra e a necessidade urgente de ser protegida, bem como os benefícios que ela pode obter com uma mudança de atitude por parte de todos os cidadãos nas acções do dia-a-dia e de como a realização deste estudo pode contribuir para o cumprimento do objectivo da sua preservação.

Por fim, este projecto é também uma mais valia por contribuir para o Plano de Gestão da Enguia, tendo em conta que Portugal tem de tomar medidas fundamentadas para recuperação e conservação dos efectivos desta espécie nos sistemas nacionais, cooperando assim para o esforço que está a ser feito a nível internacional na preservação deste recurso europeu.

1.2. TAREFAS ESPECÍFICAS

No presente relatório serão apresentados os resultados relativos às duas principais tarefas que o projecto englobava, os quais serão objecto de vários artigos científicos (em anexo):

Tarefa 1 - Efeitos dos contaminantes na enguia

Pretendeu-se: 1) identificar os contaminantes (cádmio, cobre, mercúrio, chumbo e zinco) potencialmente mais lesivos; 2) determinar se estes terão potencial para afectar a condição dos indivíduos; 3) averiguar se a susceptibilidade a este constrangimento é idêntica para todos os exemplares ou se existem diferenças em função do sexo ou do tamanho; 4) identificar os locais em que a espécie se encontra mais vulnerável à contaminação por metais.

Tarefa 2 - Efeitos e infecção pelo parasita

Pretendeu-se: 1) determinar os níveis de infecção pelo parasita; 2) avaliar o decréscimo da condição e as lesões da bexiga gasosa em função do grau de parasitismo; 3) averiguar se a susceptibilidade a este constrangimento é idêntica para todos os exemplares ou se existem diferenças em função do sexo ou do tamanho; 4) identificar os locais em que a espécie se encontra mais vulnerável ao parasita. Nesta segunda tarefa não foi possível, até ao momento, realizar toda a amostragem inicialmente programada, nomeadamente porque na lagoa de Santo André a captura de enguias foi condicionada pelo processo de abertura artificial da lagoa para renovação da água interior. Por este motivo, não se inclui no presente relatório a avaliação do grau de parasitismo nos vários sistemas salobros em estudo. No entanto, em Setembro de 2009 será realizada uma saída de campo a esta região com o intuito de recolher as enguias em falta e cujos resultados serão incluídos no relatório final.

Foram realizadas algumas acções de divulgação, nomeadamente a publicação de uma notícia no Jornal de Notícias de 14 de Janeiro de 2009, no Boletim Informativo do Centro de Oceanografia (CORrentes nº 3, Janeiro 2009), e na revista Portugal Dive (nº 6, Novembro de 2009), nas quais se analisa o grau de ameaça da espécie e a importância deste projecto para o conhecimento do estado actual da população e consequentemente para a sua conservação. Todas estas notícias são apresentadas em anexo.

Por fim, será referida a contribuição deste estudo para o Plano de Gestão da Enguia, submetido para aprovação em Dezembro de 2008, com base em alguns dados preliminares do presente estudo, e apresentadas propostas futuras para minimizar o efeito destes dois tipos de contaminação.

2. METODOLOGIA GERAL

2.1. ÁREAS DE ESTUDO

A ria de Aveiro (Figura 2.1a), localizada na região norte portuguesa, constitui um sistema estuarino-lagunar bem misturado, que está em permanente contacto com o oceano através de um canal fixado artificialmente (Dias *et al.*, 2000). A superfície imersa varia entre 83 km², durante a maré alta, e 66 km², durante a maré baixa, estendendo-se por quatro canais principais de águas pouco profundas (Dias *et al.*, 2000). Os seus principais tributários são os rios Vouga e Antuã. Nesta região, a enguia-europeia detém um elevado valor, tanto económico, como gastronómico e cultural. É sobretudo abundante durante a Primavera e princípio do Verão, em especial na zona da Torreira, de acordo com o referido pelos pescadores locais.

A lagoa de Óbidos (Figura 2.1b), localizada na costa centro-ocidental portuguesa, constitui um corpo lagunar de cerca de 4,5 m de profundidade média e 7 km² de área (Pereira *et al.*, 2009). A sua comunicação com o mar é feita através de um cordão de dunas naturais que formam um canal (de largura e posicionamento variável), sendo o principal responsável pela remoção de água do interior do sistema (Pereira *et al.*, 2009). Os principais cursos de água doce que drenam para o sistema são os rios Real, Arnóia e Cal, os quais apresentam um caudal relevante apenas durante o Inverno. A enguia-europeia encontra-se sobretudo na parte superior da lagoa (perto da foz dos rios), que se caracteriza por águas pouco profundas e de baixa salinidade, e onde o substrato é vasoso e a vegetação esparsa.

O estuário do rio Tejo (Figura 2.1c), localizado na costa centro-ocidental portuguesa, é do tipo mesotidal bem misturado e estende-se aproximadamente por 320 km², desde a foz até ao seu limite montante a 80 km, próximo de Muge, sendo por isso o maior de Portugal e um dos mais importantes da Europa Ocidental (Costa, 1999). Recebe água doce de vários tributários, entre os quais se destacam os rios Trancão e Sorraia, mas é principalmente abastecido pelo rio Tejo. A enguia-europeia é mais abundante no estuário médio e superior, especialmente na zona central (Costa *et al.*, 2008a).

A lagoa de Santo André (Figura 2.1d), localizada na costa sudoeste portuguesa, caracteriza-se por apresentar uma forma complexa e ocupar uma superfície de 2,5 km². Encontra-se naturalmente isolada do mar por uma barra arenosa, cuja abertura artificial, por curtos períodos de tempo, controla o fluxo de água salgada (Cancela da Fonseca *et al.*, 1993). É essencialmente drenada por várias ribeiras da região sudoeste, sendo as mais importantes Cascalheira, Ponte, Forneço, Azinhal e Badoca. A enguia-europeia é a espécie piscícola mais

abundante na lagoa e possui uma elevada importância económica na área, sendo os exemplares de menores dimensões predominantes na lagoa.

O estuário do rio Mira (Figura 2.1e), localizado na costa sudoeste portuguesa, é do tipo mesotidal, bem misturado, e estende-se ao longo de 2 km² numa estrutura tipo canal, que alarga em direcção à foz, situada junto a Vila Nova de Milfontes (Bettencourt *et al.*, 2003). O limite superior da influência salina encontra-se sensivelmente na região de Odemira, a 32 km do oceano. A ribeira do Torgal, localizada na parte superior do estuário, é responsável pelo maior afluxo de água doce para o sistema, bem como o próprio rio Mira. A abundância da enguia-europeia é superior na zona montante do estuário e em água doce, distribuição invulgar que resulta, aparentemente, de um fenómeno de segregação espacial com o xarroco *Halobatrachus didactylus*, espécie bentónica dominante que tem um modo de vida e hábitos alimentares semelhantes aos da enguia (Costa *et al.*, 2008b).

2.2. TRABALHO DE CAMPO

A amostragem de indivíduos de *A. anguilla* (na fase de enguia amarela) decorreu nos meses de Fevereiro e Março de 2008 para a abordagem a nível nacional, e nos meses de Maio e Junho de 2007 para o estudo específico no estuário do Tejo (Figura 2.2). As enguias foram capturadas com o auxílio de pescadores locais, tendo sido utilizadas como artes de pesca covos/nassas ou aparelhos de anzol (Figura 2.3). As estações de amostragem dentro de cada sistema foram previamente estabelecidas de forma a abranger por inteiro a área de distribuição da espécie em cada caso.

2.2. TRABALHO DE LABORATÓRIO

As enguias foram transportadas, ainda vivas, para o laboratório, sobre-anestesiadas com benzocaina e preservadas a -20 °C até ao processamento laboratorial. Cada exemplar foi medido (comprimento total) e pesado (peso total) (Figura 2.4). Após dissecação dos indivíduos, foi feita microscopicamente a sua determinação sexual, de acordo com Domingos (2003), considerando separadamente, não só os indivíduos sexualmente diferenciados, *i.e.* machos e fêmeas, mas também os que ainda se encontravam indiferenciados. Posteriormente, removeram-se os órgãos e pesaram-se novamente os indivíduos (peso eviscerado).

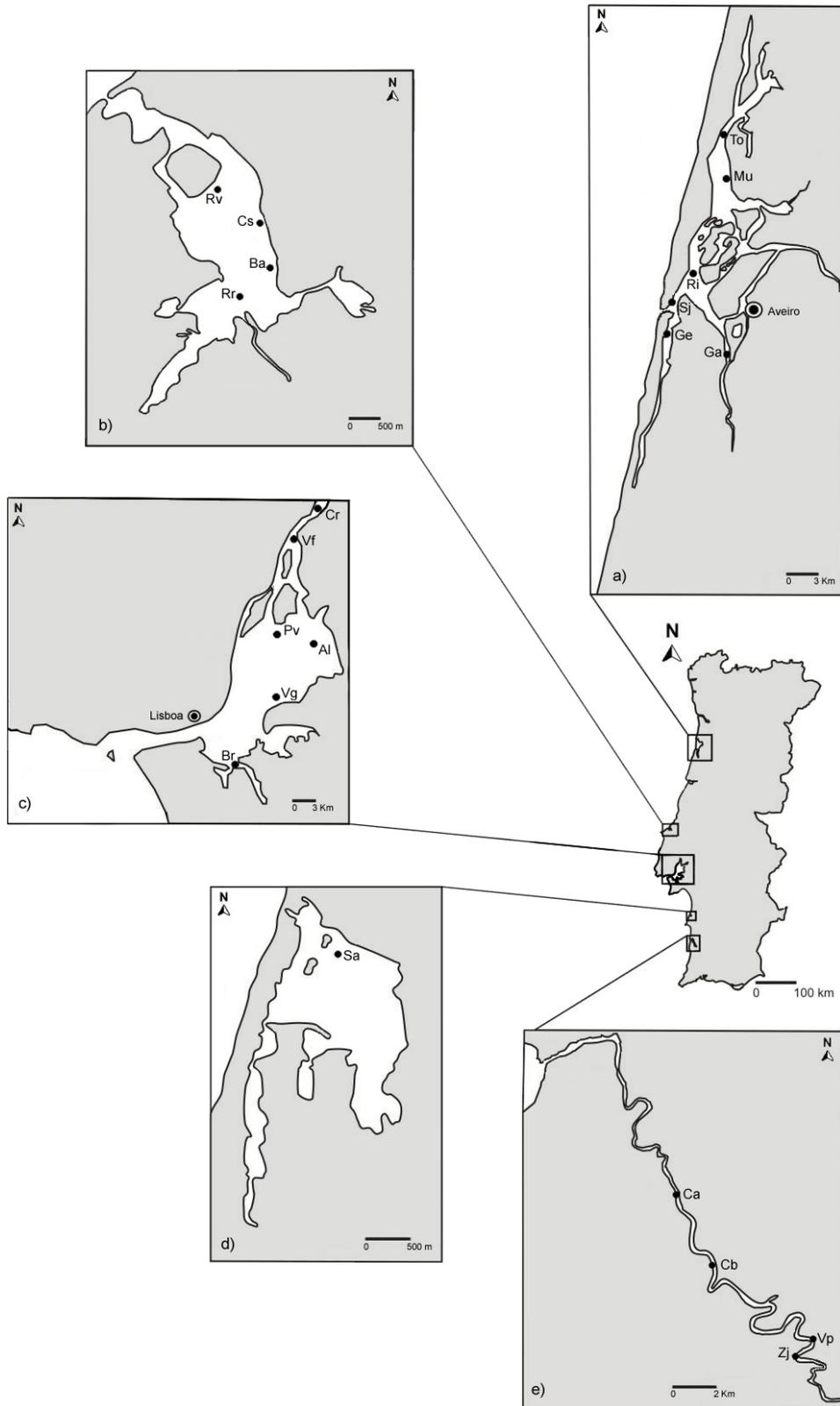


Figura 2.1. Áreas de estudo e respectivas estações de amostragem: a) Ria de Aveiro: Mu - Murtosa, To - Torreira, Ri - Rio, Sj - São Jacinto, Ge - Gafanha da Encarnação, Ga - Gafanha de Aquém; b) Lagoa de Óbidos: Rr - Rio Real, Cs - Casinhas, Ba - Boiças-Ardonha, Rv - Rivaís; c) Estuário do Tejo: Cr - Carregado, Vf - Vila Franca de Xira, Pv - Póvoa de Santa Iria; Al - Alcochete; Vg - ponte Vasco da Gama, Br - Barreiro; d) Lagoa de Santo André: Sa - Santo André; e) Estuário do Mira: Zj - Zambujeiro, Vp - Vale Palhete, Cb - Cuba, Ca - Casa Branca.



Figura 2.2. Locais amostrados no estuário do Tejo.



Figura 2.3. Covos/nassas utilizados na captura de enguias.



Figura 2.4. Medição e pesagem das enguias no laboratório.

3. ACUMULAÇÃO DE METAIS PESADOS

3.1. INTRODUÇÃO

A contaminação química dos sistemas aquáticos por metais é uma das mais preocupantes, não só pela toxicidade que estes elementos apresentam, mas também pela sua elevada resiliência (Crompton, 1997). Após entrarem nos ecossistemas, estes poluentes acabam por se acumular nos sedimentos, onde podem permanecer durante décadas. Dependendo da sua biodisponibilidade, os contaminantes que são introduzidos nos sistemas aquáticos podem acarretar consequências mais ou menos nocivas para os organismos. Relativamente à enguia-europeia, tem sido observada uma relação entre a concentração de poluentes no meio e a contaminação existente nos seus tecidos, sendo, conseqüentemente, considerada uma espécie indicadora da degradação da qualidade ambiental (Robinet e Feunteun, 2002; Belpaire e Goemans, 2007a). Por outro lado, apesar da relativa resistência desta espécie à contaminação por metais, podem ocorrer diversas alterações a nível anatômico, histológico e citológico, que se reflectem negativamente na condição dos indivíduos (Bruslé, 1990). Em situações de maior toxicidade, é possível que a presença dos contaminantes interfira negativamente, não só com o processo reprodutivo das enguias, mas também com a sobrevivência dos seus ovos e das suas larvas durante a migração transoceânica (Robinet e Feunteun, 2002; Belpaire e Goemans, 2007a).

3.2. METODOLOGIA ESPECÍFICA

Os tecidos seleccionados para a análise dos metais foram o fígado e o músculo (Figura 3.1). A escolha do fígado deveu-se à sua importância em funções vitais (*e.g.* depurador de substâncias tóxicas, síntese de proteínas do plasma e triglicéridos, conversão de amónia em ureia) e eficácia demonstrada como indicador da contaminação por metais, enquanto o tecido muscular, por constituir a parte consumida pelo Homem, permitiu determinar os possíveis riscos para a Saúde Pública. Após pesagem, os tecidos foram liofilizados durante um período de 48 horas, de modo a remover totalmente a água presente, moídos num almofariz e guardados num local seco a temperatura ambiente. No caso do estuário do Tejo foram ainda recolhidas amostras de sedimento, através de dragagens efectuadas nos mesmos locais de captura das enguias, para determinar a concentração de metais no meio ambiente. Adicionalmente, procedeu-se também à análise granulométrica (metodologia de Gaudêncio *et al.*, 1991) e do teor em matéria orgânica (metodologia adaptada de Pereira *et al.*, 1997) dos sedimentos.

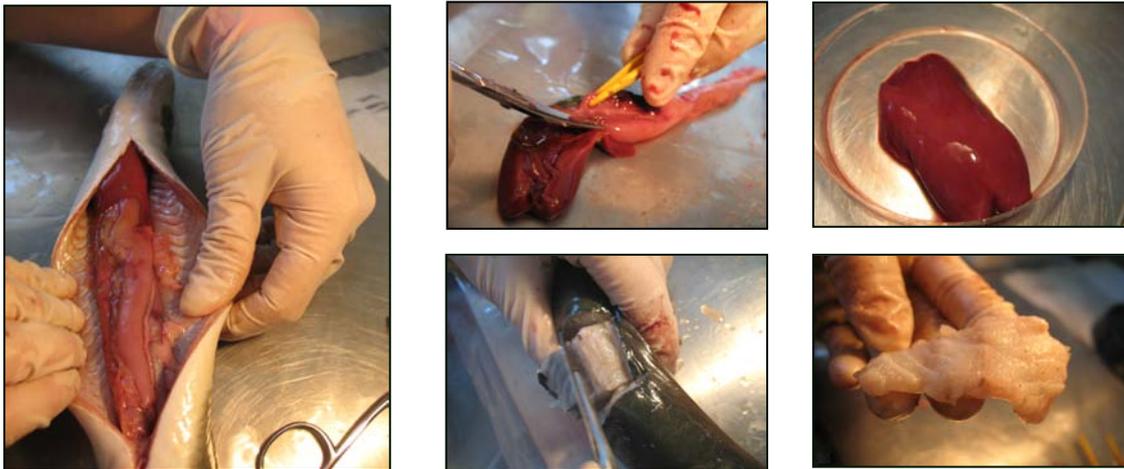


Figura 3.1. Obtenção do material biológico (fígado e músculo) para a análise dos metais.

Para determinar a concentração de Cd, Cu, Pb e Zn, digeriu-se aproximadamente 0,1 g de tecido seco em bombas teflon, numa mistura de 2,0 ml de ácido nítrico e ácido perclórico (9:1 v/v), durante 2 horas a 110 °C (Julshamn *et al.*, 1982). Para a análise do sedimento utilizou-se cerca de 0,2 g de material seco numa mistura de 2,5 ml de ácido nítrico e ácido clorídrico (3:1 v/v), durante 4 horas a 110 °C (Otte, 1991). Posteriormente, a concentração de cada elemento foi lida por espectrometria de massa (ICP-MS) ou por espectrometria de absorção atómica (no caso das amostras do Tejo). A determinação da concentração de Hg, tanto no material biológico como no sedimento, foi efectuada recorrendo a espectrometria de absorção atómica com decomposição térmica directa da amostra.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Nível Nacional

Comparativamente ao restante panorama europeu, as concentrações de metais encontradas nas enguias dos sistemas salobros portugueses foram geralmente inferiores aos valores obtidos por outros autores (*e.g.* Linde *et al.*, 2001; Usero *et al.*, 2003; Durrieu *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2005).

A comparação entre sistemas salobros portugueses revelou uma elevada heterogeneidade na concentração mediana de cada metal no fígado das enguias (Figura 3.2). Em geral, as enguias provenientes do estuário do Tejo apresentaram concentrações de metais relativamente elevadas e quase sempre superiores às dos restantes sistemas, exceptuando o caso do Cd (valores abaixo do limite de detecção que não permitiram a sua inclusão nas análises específicas). Este metal apresentou as maiores concentrações relativas nos exemplares provenientes do estuário do Mira, onde também se observaram valores ligeiramente elevados de Pb. Na lagoa de Óbidos observaram-se valores próximos aos do estuário do Tejo para a

maioria dos metais (Cu, Pb e Zn). As concentrações de Cu e Hg nas enguias da ria de Aveiro foram também semelhantes aos valores do sistema mais contaminado. Apenas na lagoa de Santo André os exemplares registaram concentrações medianas tendencialmente baixas para a generalidade dos metais analisados. A análise dos dados obtidos parece assim indicar que, apesar dos reduzidos níveis da contaminação numa perspectiva internacional, esta espécie encontra-se vulnerável à contaminação por metais, tendo os teores mais elevados sido obtidos nos sistemas sujeitos a maiores pressões antrópicas, quer por serem regiões muito industrializadas e com uma elevada densidade populacional (estuário do Tejo e ria de Aveiro), quer por serem áreas com uma importante actividade agrícola e pecuária (lagoa de Óbidos e estuário do Mira).

3.3.2. Nível Local

Da análise das variações intra-sistema (Figura 3.3), verificou-se que as concentrações entre estações de amostragem, dentro de cada sistema salobro, foram relativamente próximas, à excepção da ria de Aveiro. Neste sistema destacaram-se claramente Rio (Ri), São Jacinto (Sj) e Gafanha de Aquém (Ga), com valores tendencialmente mais elevados comparativamente a Gafanha da Encarnação (Ge), Torreira (To) e Murtosa (Mu). É possível que a localização das variadas fontes de contaminação aliada às diferentes características geomorfológicas tenha influenciado a heterogeneidade observada entre estações. De facto, a ria de Aveiro é formada por uma complexa e extensa rede de ilhas e canais que dificultam a circulação de água dentro deste sistema, promovendo, consequentemente, a acumulação de metais a nível local (Pato *et al.*, 2008).

Relativamente aos resultados obtidos para o estuário do Tejo (Figura 3.4), onde se efectuaram análises mais específicas, verificou-se que a contaminação nos tecidos das enguias reflecte eficazmente as pressões particulares de cada uma das estações de amostragem (Tabela 3.1). No entanto, quando se comparam as concentrações de metais existentes nos tecidos das enguias com as obtidas para os sedimentos, nem sempre se observa uma relação clara entre ambas as contaminações. Este facto parece resultar da influência que algumas variáveis ambientais têm nos níveis de metais no sedimento, como é o caso da granulometria. Em geral, a concentração de metais no sedimento aumenta com a diminuição do tamanho das partículas, uma vez que as mais pequenas apresentam uma maior razão área/volume, permitindo uma maior associação com estes elementos (Pourang *et al.*, 2005). Assim, na estação do Barreiro (Br), onde a percentagem de vasa foi superior a 75%, a concentração de metais nas enguias apresentou uma elevada relação com as concentrações do sedimento, uma vez que este reflecte eficazmente a contaminação resultante das actividades humanas locais. Pelo contrário, na estação da Póvoa de Santa Iria (Pv), onde a percentagem de vasa foi apenas de 50%, apesar das pressões antrópicas serem semelhantes às do Barreiro (Br), o sedimento não se revelou particularmente contaminado e, como tal, não

se verificou uma relação entre a concentração de metais aí presente e a concentração de metais nas enguias.

a)

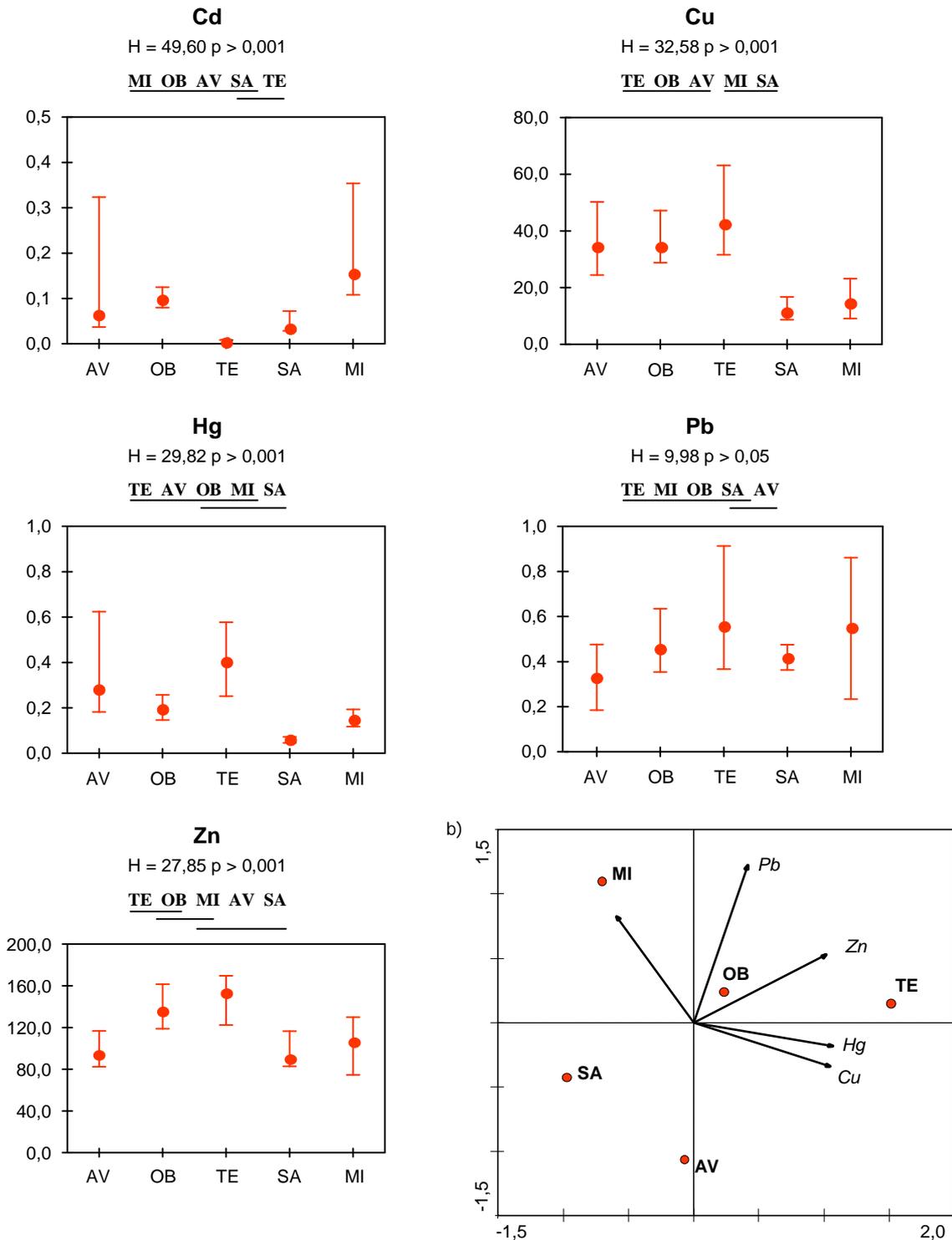


Figura 3.2. a) Concentração de metais ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) no fígado de exemplares de enguia-europeia de vários sistemas salobros portugueses. Valores medianos e respectivos quartis (25% e 75%) representados. H - resultados dos testes de Kruskal-Wallis para verificar diferenças na concentração de metais entre sistemas (gdl = 4; N = 90); as linhas unem os conjuntos de dados não significativamente diferentes. b) Resultados da Análise de Componentes Principais (PCA) baseada na concentração mediana ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos diferentes metais no fígado de exemplares de enguia-europeia de vários sistemas salobros. As concentrações medianas de cada metal encontram-se representadas por setas. Os sistemas salobros encontram-se representados por círculos. Uma variância de 84,4% é explicada pelos dois primeiros eixos de ordenação. AV - Ria de Aveiro; OB - Lagoa de Óbidos; TE - Estuário do Tejo; SA - Lagoa de Santo André; MI - Estuário do Mira.

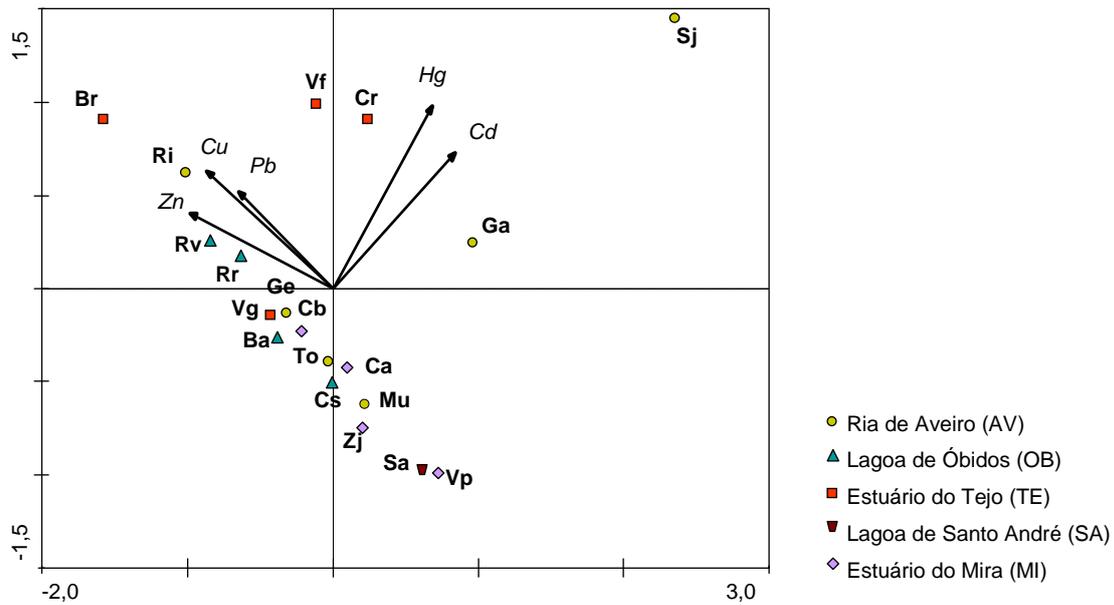


Figura 3.3. Resultados da Análise de Componentes Principais (PCA) baseada na concentração mediana ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos diferentes metais no fígado de exemplares de enguia-europeia de cada estação de amostragem de vários sistemas salobros portugueses. As concentrações medianas de cada metal encontram-se representadas por setas. As estações de amostragem encontram-se representadas por símbolos (ver abreviaturas na Figura 2.1). Uma variância de 65,5% é explicada pelos dois primeiros eixos de ordenação.

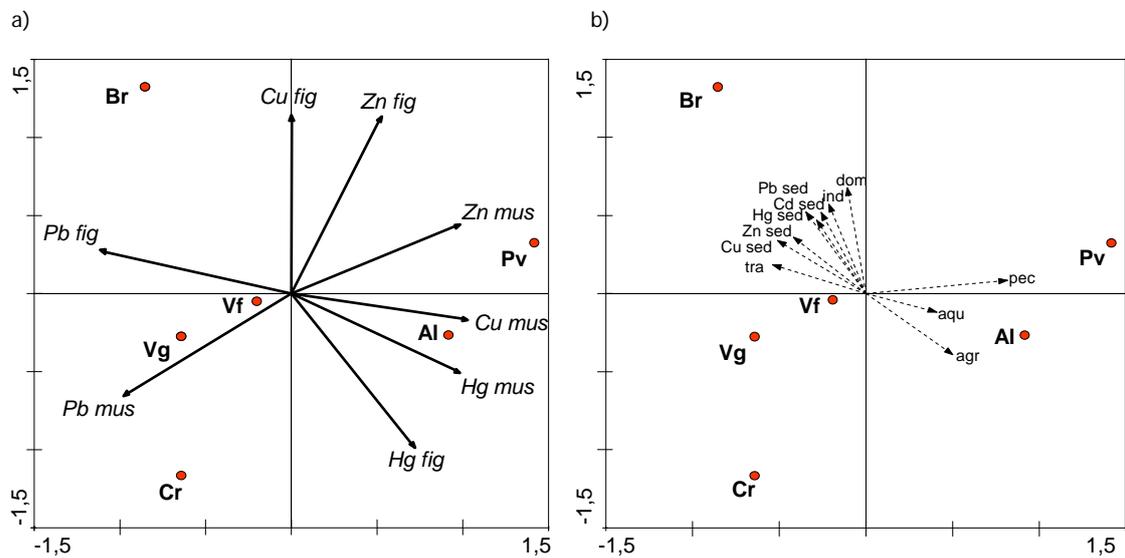


Figura 3.4. Resultados da Análise de Componentes Principais (PCA) baseada na concentração mediana ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) dos diferentes metais no fígado e no músculo de exemplares de enguia-europeia de cada estação de amostragem do estuário do Tejo. Uma variância de 86,0% é explicada pelos dois primeiros eixos de ordenação. As concentrações medianas encontram-se representadas por setas escuras (a) e as variáveis ambientais usadas para caracterizar a concentração de metais no sedimento e as pressões antrópicas locais por setas a tracejado (b). As estações de amostragem encontram-se representadas por símbolos. Cr - Carregado; Vf - Vila Franca de Xira; Pv - Póvoa de Santa Iria; Al - Alcochete; Vg - ponte Vasco da Gama; Br - Barreiro; fig - fígado; mus - músculo; sed - sedimento; dom - efluentes domésticos; ind - indústrias e/ou portos; tra - tráfego rodoviário; agr - agricultura; aqu - aquacultura; pec - pecuária.

Tabela 3.1. Potenciais fontes de introdução de contaminantes em cada estação de amostragem do estuário do Tejo.

	Efluentes Domésticos	Indústrias e/ou portos	Trânsito	Agricultura	Aquacultura	Pecuária
Carregado	*	*	**	**		
Vila Franca de Xira	**	*	*	**		
Póvoa de Santa Iria	**	***		*		*
Alcochete	*			***	*	*
Ponte Vasco da Gama	*	*	***			
Barreiro	***	***	**			

* - baixa, ** - moderada, e *** - elevada contaminação.

A salinidade parece também contribuir para a não existência de relações claras entre a concentração de metais nas enguias e a concentração do sedimento, uma vez que no Carregado (Cr), a estação com características maioritariamente dulciaquícolas, foram observadas relações contraditórias entre as concentrações de metais no sedimento e nos tecidos das enguias. De facto, esta variável não só influencia a biodisponibilidade que estes elementos têm para serem incorporados pelos organismos (Bidwell e Gorrie, 2006), como também pode condicionar a regulação dos metais essenciais (Cu e Zn), de modo a corresponder à necessidade que as enguias têm em manter o seu balanço homeostático (Tzeng *et al.*, 2003).

3.3.3. Variáveis Biológicas

Em relação aos exemplares de enguia-europeia analisados no estuário do Tejo, não foram verificadas quaisquer diferenças entre os sexos relativamente à concentração de metais (Figura 3.5). De facto, apesar de a diferenciação sexual desta espécie iniciar na fase de enguia amarela, a maturação sexual só ocorre durante a migração transoceânica para o mar dos Sargaços (van Ginneken e Maes 2005). Consequentemente, poderão ainda não estar totalmente activos os processos fisiológicos relacionados com esta variável que influenciem a concentração de metais nos tecidos, de modo a se conseguirem detectar tendências.

Em oposição, o tamanho dos indivíduos parece ser uma variável importante na contaminação dos exemplares, já que afectou significativamente a concentração de metais nas enguias (Figura 3.6). Em geral, os indivíduos mais novos têm um metabolismo superior comparativamente aos mais velhos, o que se reflecte numa maior acumulação de metais (Canli e Atli, 2003). À medida que os animais se vão desenvolvendo, estas concentrações vão sendo diluídas pelo crescimento dos tecidos e/ou como resultado de uma menor actividade metabólica dos indivíduos maiores (Canli e Atli, 2003). As concentrações dos metais observadas no tecido muscular das enguias do estuário do Tejo seguiram o padrão descrito, ou seja, as enguias mais pequenas exibiram concentrações mais elevadas que as de maiores dimensões. Contudo, no fígado, verificou-se, para os metais essenciais (Cu e Zn) uma maior acumulação com o aumento do tamanho dos indivíduos. A tendência observada para estes

dois metais, os quais são regulados por mecanismos fisiológicos idênticos (Kress *et al.*, 1999), pode ser explicada pelo facto dos indivíduos maiores apresentarem, no fígado, uma taxa de acumulação superior à taxa de eliminação, ao longo de todo o crescimento (Evans *et al.*, 1993; Al-Yousuf *et al.*, 2000). Para o Hg também se observou um padrão distinto, nomeadamente porque a sua concentração aumentou com o tamanho das enguias, em ambos os tecidos. A capacidade de biomagnificação típica deste metal ao longo da cadeia trófica, assim como a falta de mecanismos de eliminação eficientes, podem estar na base da tendência obtida (Riisgård e Hansen, 1990).

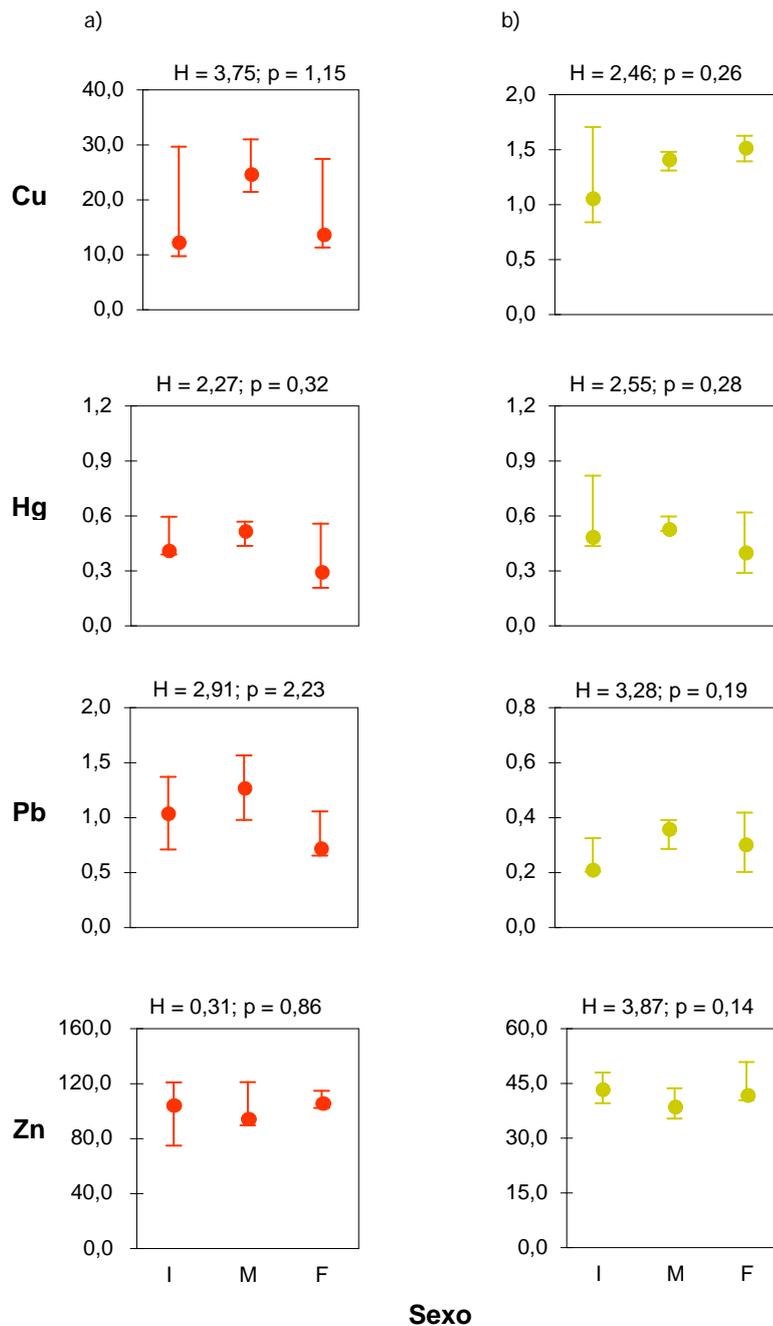


Figura 3.5. Concentração de metais ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) no fígado (a) e no músculo (b) de exemplares de enguia-europeia do estuário do Tejo em função do sexo. Valores medianos e respectivos quartis (25% e 75%) representados. H - resultados dos testes de Kruskal-Wallis para verificar diferenças na concentração de metais entre sexos (gdl = 2; N = 25). I - Indiferenciados; M - Machos; F - Fêmeas.

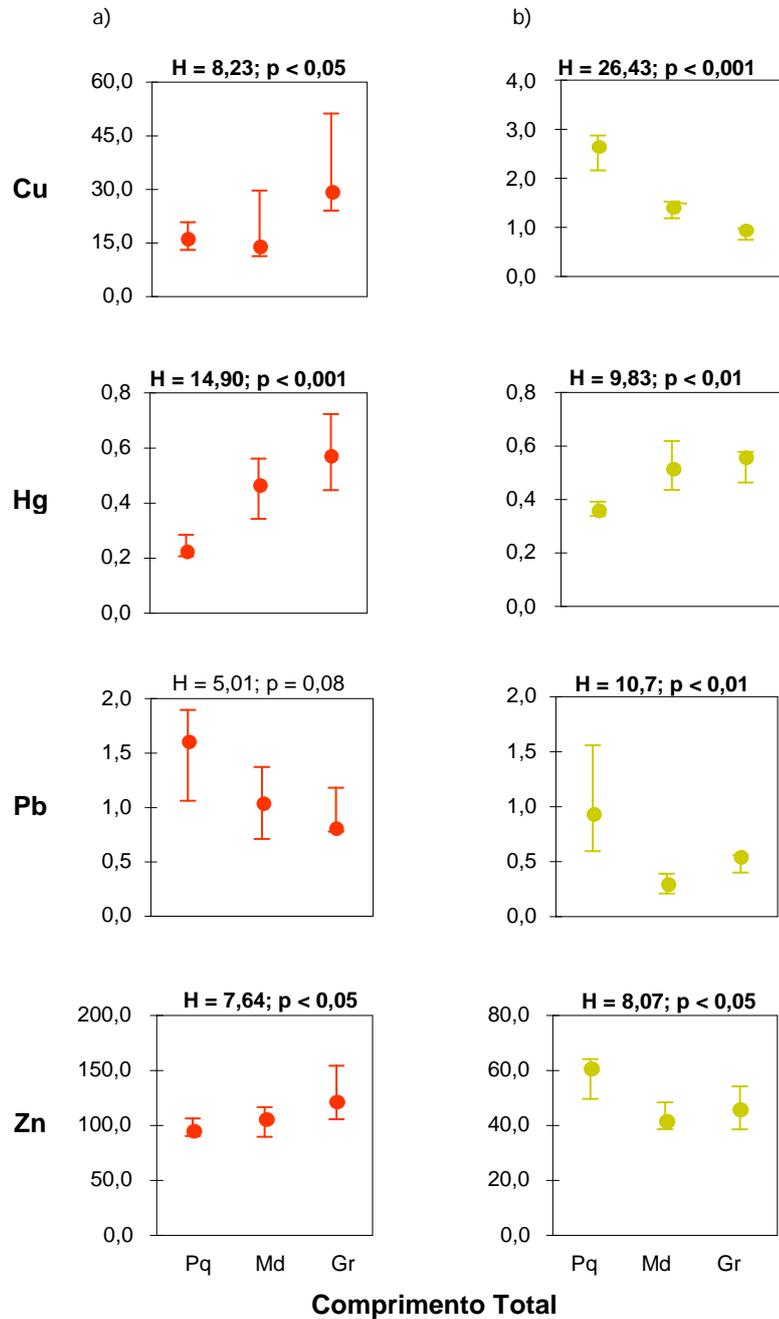


Figura 3.6. Concentração de metais ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) no fígado (a) e no músculo (b) de exemplares de enguia-europeia do estuário do Tejo em função do comprimento total. Valores médios e respectivos quartis (25% e 75%) representados. H - resultados dos testes de Kruskal-Wallis para verificar diferenças na concentração de metais entre classes dimensionais (gdl = 2; N = 43). Pq - Pequenas (Ct < 240 mm); Md - Médias (240 mm ≤ Ct < 350 mm); Gr - Grandes (Ct ≥ 350 mm).

3.3.4. Condição dos Indivíduos e Saúde Pública

Para avaliar a condição das enguias do estuário do Tejo foi utilizada uma medida da carga total de contaminantes, designada por índice médio de bioacumulação individual (IMBI) (Maes *et al.*, 2005), em detrimento de uma análise individual por metal. Apenas no fígado se verificou um efeito negativo como consequência de um maior teor de contaminantes neste órgão. Este resultado pode ser explicado pelo gasto acrescido de energia resultante do processo de desintoxicação a que os indivíduos estão sujeitos (Bruslé, 1990; Maes *et al.*, 2005).

Em geral, as concentrações obtidas no músculo desta espécie foram inferiores aos níveis estabelecidos pela Comunidade Europeia, não havendo, por isso, risco para a Saúde Pública.

4. EPIDEMIOLOGIA POR *ANGUILLICOLA CRASSUS*

4.1. INTRODUÇÃO

O parasita da bexiga gasosa, *Anguillicola crassus*, é uma espécie emergente que tem como hospedeiro final a enguia (Kirk, 2003). Este nemátode foi introduzido acidentalmente na Europa no início da década de 1980, provavelmente devido à importação de exemplares infectados de enguia-japonesa, *Anguilla japonica* (Temminck e Schlegel, 1847), dos quais o parasita é oriundo (Palstra *et al.*, 2007). Rapidamente a infecção alastrou, atingindo todo o continente europeu, tanto em enguias selvagens, como nas de aquacultura (Kirk, 2003). Como resultado da presença do parasita em exemplares de enguia-europeia, podem ser definidos dois tipos de efeitos adversos gerais: danos mecânicos na bexiga gasosa e consumo acrescido de energia do hospedeiro (Palstra *et al.*, 2007). De acordo com a severidade da infecção, os prejuízos causados por *A. crassus* podem levar a uma diminuição da qualidade das enguias prateadas, nomeadamente por reduzirem a sua capacidade migratória até ao mar dos Sargaços (Palstra *et al.*, 2007).

4.2. METODOLOGIA ESPECÍFICA

Após dissecação, o lúmen das bexigas gasosas foi analisado com o intuito de contabilizar o número de pré-adultos e/ou adultos de *A. crassus* (Figura 4.1). A infecção pelo parasita foi descrita usando a prevalência (número de enguias infectadas/número de enguias total) e a intensidade (número de parasitas/número de enguias infectadas), de acordo com Bush *et al.* (1997). A condição das bexigas foi também avaliada através de um índice baseado nos danos mecânicos causados pelo parasita (I_{SD}), de acordo com Lefebvre *et al.* (2002a). Além disso, determinou-se o peso de dois importantes órgãos para as funções vitais da enguia: fígado e baço.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Nível Nacional

Os níveis epidemiológicos de *A. crassus* observados nas enguias dos sistemas salobros portugueses (Tabela 4.1) foram semelhantes aos valores obtidos em outros sistemas europeus onde a população deste parasita é considerada estável (*e.g.* Lefebvre *et al.*, 2002b; Sauvaget *et al.*, 2003; Norton *et al.*, 2005; Morrissey e McCarthy, 2007; Loukili e Belghyti, 2007).

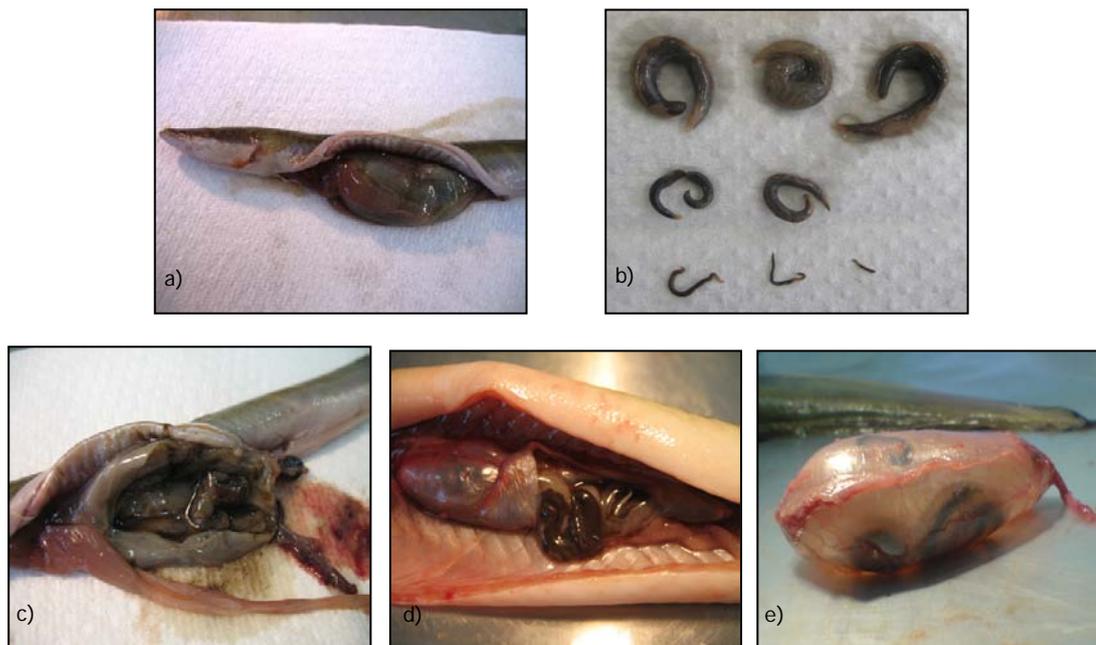


Figura 4.1. Infecção pelo parasita *A. crassus*. a) Aspecto da bexiga gasosa dilatada devido à presença do parasita. b) Nemátodes retirados do interior da bexiga gasosa. c) Aspecto interior da bexiga gasosa após dissecação e respectivos danos mecânicos. d) Aspecto da bexiga gasosa com os nemátodes a sair do seu interior. e) Bexiga gasosa insuflada com os nemátodes no seu interior.

O maior número de enguias infectadas foi observado nos estuários do Tejo e do Mira. Apesar da baixa prevalência do parasita na Ria de Aveiro, o número médio de nemátodes por enguia foi superior neste sistema em comparação com os restantes. Na lagoa de Óbidos não foi encontrada qualquer enguia parasitada. Devido ao reduzido número de exemplares capturados na lagoa de Santo André, os valores obtidos neste sistema devem ser considerados como meramente indicativos.

Os resultados obtidos parecem indicar que, salvo algumas exceções, o parasita se encontra distribuído por todo o território nacional. Outros trabalhos revelam também a sua presença em enguias do estuário do Mondego, onde a prevalência é de 29 % (dados não publicados), e em enguias do estuário do Minho, onde a prevalência varia entre 26 e 71 % (Antunes, 1996).

Tabela 4.1. Infecção pelo parasita *A. crassus* de exemplares de enguia-europeia de vários sistemas salobros portugueses.

	N	CT (mm)	P (%)	I
Ria de Aveiro	64	448 (271 - 644)	14	3,78 ± 1,96
Lagoa de Óbidos	57	439 (315 - 583)	0	-
Estuário do Tejo	131	440 (207 - 715)	42	3,33 ± 3,00
Lagoa de Santo André	5	298 (274 - 321)	40	1,00 ± 0,55
Estuário do Mira	44	260 (184 - 339)	55	2,21 ± 1,32

N - número de enguias; CT - Comprimento médio (mínimo e máximo); P - Prevalência; I - Intensidade média (\pm desvio padrão); I_{SD} - Índice degenerativo da bexiga gasosa (\pm desvio padrão).

4.3.2. Nível Local

No caso do estuário do Tejo (Figura 4.2), onde foram realizados estudos espacialmente mais abrangentes, verificou-se que a prevalência de *A. crassus* foi significativamente diferente entre locais, nomeadamente porque não se encontrou qualquer enguia infectada no Barreiro (Br). No Carregado (Cr), os valores de prevalência foram os mais elevados (73%), enquanto as restantes estações apresentaram valores intermédios (aproximadamente 50%). Alguns estudos demonstraram que a salinidade diminui a percentagem de eclosão dos ovos e a sobrevivência das larvas deste nemátode, apesar da sua capacidade de infecção permanecer viável (Kennedy e Fitch 1990, Kirk *et al.* 2000a), o que vai de encontro aos resultados obtidos no presente estudo. No entanto, a inexistência do parasita na estação mais salina (Barreiro) poderá também estar relacionada com a falta de hospedeiros intermediários nesta localidade, os quais são vectores determinantes na eficaz disseminação de *A. crassus* (Kirk *et al.* 2000b; Morrissey e McCarthy, 2007).

Em relação à intensidade, não foram observadas diferenças significativas entre estações de amostragem (Figura 4.2). De notar que o Barreiro (Br) não foi incluído nesta análise porque a intensidade apenas considera os organismos parasitados, e nesta estação não foi registada qualquer ocorrência do parasita.

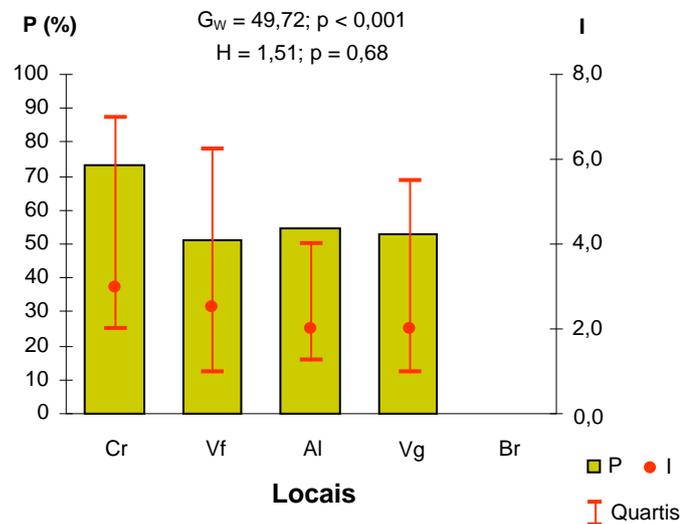


Figura 4.2. Prevalência (P) e Intensidade mediana (I) de *A. crassus* em exemplares de enguia-europeia de cada estação de amostragem do estuário do Tejo. G_w - resultado do teste G-de-independência com correcção de Williams para verificar diferenças na prevalência entre locais (gdl = 4; N = 174); H - resultado do teste de Kruskal-Wallis para verificar diferenças na intensidade entre locais (gdl = 3; N = 79); Cr - Carregado; Vf - Vila Franca de Xira; Al - Alcochete; Vg - ponte Vasco da Gama; Br - Barreiro.

4.3.3. Variáveis Biológicas

Não se encontraram diferenças significativas na prevalência do parasitismo, nem em relação ao sexo nem ao tamanho (Figura 4.3) das enguias amostradas. Quanto à intensidade, também não se observaram diferenças significativas entre sexos (Figura 4.3). No entanto, verificou-se que o número de parasitas por enguia infectada foi superior na classe de maiores dimensões, tendo sido obtidas diferenças estatisticamente significativas entre as duas classes de tamanho (Figura 4.3). O aumento do número de nemátodes nos hospedeiros de maior tamanho pode resultar de vários factores: 1) maior tempo de exposição ao parasita; 2) maior área de bexiga gasosa e, consequentemente, maior capacidade de alojamento; e 3) hábitos alimentares distintos, que podem propiciar o consumo de presas com maior número de parasitas (Lefebvre *et al.*, 2002b).

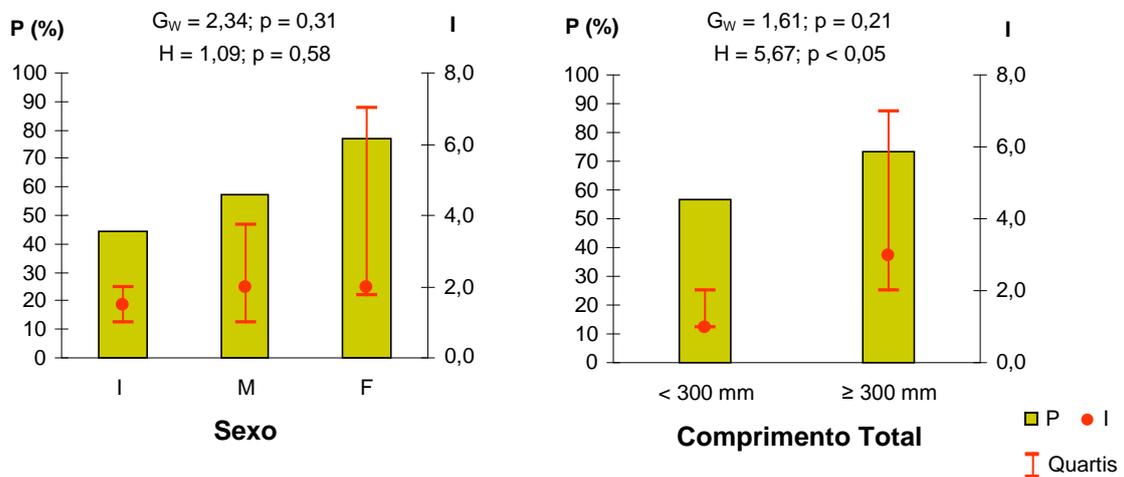


Figura 4.3. Prevalência (P) e Intensidade mediana (I) de *A. crassus* em exemplares de enguia-europeia do estuário do Tejo em função do sexo e do comprimento total. G_w - resultados dos testes G-de-independência com correcção de Williams para verificar diferenças na prevalência entre sexos (gdl = 2; N = 29) e classes dimensionais (gdl = 1; N = 56); H - resultados dos testes de Kruskal-Wallis para verificar diferenças na intensidade entre sexos (gdl = 2; N = 18) e classes dimensionais (gdl = 1; N = 36); I - Indiferenciados; M - Machos; F - Fêmeas.

4.3.4. Condição dos Indivíduos

Em geral, a presença de *A. crassus* causa danos mecânicos na bexiga gasosa do hospedeiro (Palstra *et al.*, 2007), devido a uma inflamação crónica seguida de um mecanismo de fibrose, que torna a parede deste órgão mais espessa e opaca (van Banning e Haenen, 1990; Haenen *et al.* 1996). Apesar de 68% enguias do estuário do Tejo terem apresentado danos mecânicos na bexiga causados pelo parasita, estes foram de nível reduzido, porque raramente foram observadas enguias com uma espessura de parede da bexiga gasosa superior ao normal (Figura 4.5). Este resultado parece indicar que as enguias não se encontraram sujeitas a repetidos fenómenos de infecção por parte do parasita, já que uma parede mais espessa reflecte um maior número de re-infecções (Haenen *et al.*, 1996). No entanto, os critérios opacidade e pigmentação/exsudados foram observados em mais de metade das enguias (Figura 4.5),

sugerindo que, apesar de não se verificarem danos histológicos mais severos, a presença do nemátode apresenta já um impacto negativo na bexiga gasosa.

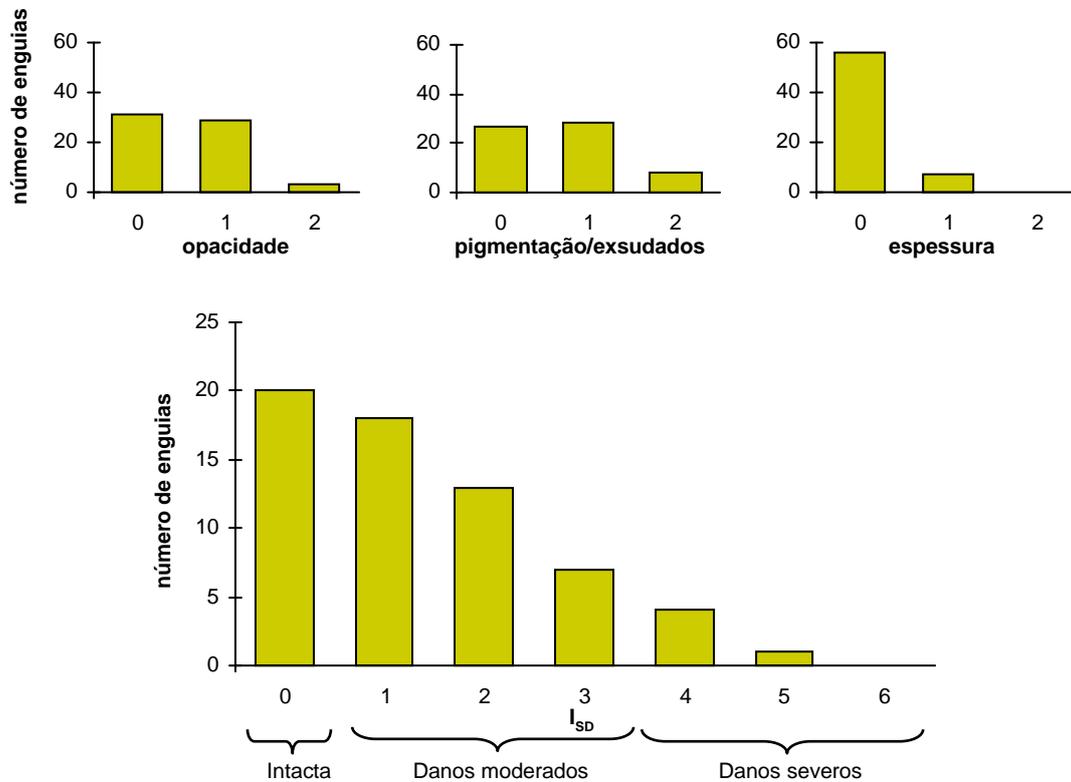


Figura 4.5. Distribuição de frequências absolutas do índice degenerativo da bexiga gasosa (I_{SD}) e dos três critérios usados para o formular em exemplares de enguia-europeia do estuário do Tejo. A classificação dos critérios baseia-se em normal (0), moderado (1) e severo (2).

O consumo acrescido de energia do hospedeiro, devido à infecção por *A. crassus*, apenas se reflectiu na condição das enguias a nível do baço a nível do baço, nomeadamente porque nos indivíduos com um maior número de parasitas o peso deste órgão foi significativamente superior. O mesmo resultado foi obtido por Lefebvre *et al.* (2004), que alegaram que os processos de adaptação da enguia face ao nemátode podem condicionar o tamanho do baço, uma vez que este é responsável por importantes funções hematológicas e imunológicas. Especificamente para o presente estudo, o aumento verificado parece resultar da hiper-síntese de células sanguíneas, no sentido de compensar as perdas causadas pela actividade alimentar do parasita (Lefebvre *et al.*, 2004).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por serem consideradas prejudiciais para o sucesso reprodutivo da enguia-europeia a médio-longo prazo, a contaminação por metais e a infecção pelo parasita *A. crassus* têm sido apontadas como factores chave na justificação do declínio global desta espécie (Robinet e Feunteun, 2002). Neste sentido, o presente estudo representa um contributo essencial para a conservação de *A. anguilla*, já que permitiu averiguar a sua susceptibilidade a estes condicionantes, a nível nacional.

Em geral, as enguias reflectiram eficazmente as pressões antrópicas a que se encontravam sujeitas, tanto numa larga escala espacial (variação inter-sistema), como numa escala espacial mais reduzida (variação intra-sistema). Isto significa que indivíduos de zonas mais industrializadas e/ou com uma maior actividade agrícola se encontram mais vulneráveis à contaminação por metais. De facto, a enguia-europeia tem-se revelado uma espécie promissora na monitorização de alterações ao nível do ecossistema, sendo inclusive apontada como um potencial modelo para avaliação da qualidade ambiental no âmbito da Directiva Quadro da Água (Belpaire e Goemans, 2007b). Os efeitos negativos dos metais nas enguias encontram-se principalmente relacionados com um excessivo dispêndio de energia necessário aos processos de desintoxicação (Bruslé, 1990; Maes *et al.*, 2005) e/ou com a sua mobilização para as gónadas, como resultado do metabolismo lipídico que ocorre durante a maturação sexual (Robinet e Feunteun, 2002; Belpaire e Goemans, 2007a). A nível do estuário do Tejo verificaram-se alguns efeitos negativos relacionados com a carga de metais nos tecidos das enguias. No entanto, considerando que as enguias portuguesas apresentaram uma contaminação inferior à dos seus congéneres europeus, a fracção nacional da população europeia pode apresentar reprodutores potenciais de melhor qualidade, sendo portanto fundamental a sua conservação.

As enguias encontram-se infectadas pelo parasita *A. crassus*, na maioria dos sistemas salobros nacionais. Esta epidemiologia tem sido considerada especialmente preocupante porque a infecção da bexiga gasosa das enguias, e o seu conseqüente inadequado funcionamento, pode levar a um comportamento migratório aberrante e a uma menor capacidade natatória e de resistência a condições ambientais adversas (Kirk, 2003; Palstra *et al.*, 2007). Apesar desta contaminação ter sido evidente nas enguias do estuário do Tejo, os danos mecânicos na bexiga gasosa e os impactos negativos na condição dos indivíduos foram reduzidos. No entanto, considerando a falta de mecanismos de defesa por parte das enguias e a facilidade de disseminação e resistência que este nemátode possui (Kirk, 2003), podem ser esperados efeitos patológicos mais severos com o evoluir do parasitismo. Um importante desafio para o futuro passa por compreender os mecanismos envolvidos na infecção deste nemátode,

nomeadamente a nível da resposta imunológica por parte das enguias e da sua importância na relação de co-evolução hospedeiro-parasita.

Uma vez que estes resultados apenas reflectem uma situação pontual, para avaliar a susceptibilidade da enguia-europeia e determinar a real dimensão dos impactos da contaminação química por metais e da contaminação biológica pelo parasita *A. crassus*, é necessário a implementação de um programa de monitorização contínua face a estes condicionantes. De facto, apesar de não terem sido propostas medidas minimizadoras destes impactos no Plano de Gestão da Enguia português, por não serem considerados actualmente aspectos prioritários no panorama nacional de riscos a que esta espécie se encontra sujeita, foi referida a importância de acompanhar com alguma atenção o evoluir da situação de ambas as contaminações, nesse mesmo plano.

No entanto, é fundamental a implementação de algumas medidas específicas no sentido de promover a melhoria da qualidade da água no âmbito da Directiva Quadro da Água, assim como reduzir ou eliminar a captura de enguias em zonas não afectadas pela parasita *A. crassus* e/ou que não sejam propícias a esta infecção. Estas deverão ser contempladas numa futura revisão do Plano de Gestão da Enguia português uma vez que são sobretudo essenciais para salvaguardar a produção de quantitativos importantes de enguias menos afectadas e, conseqüentemente, contribuir para a recuperação desta espécie em risco.

6. REFERÊNCIAS

- Al-Yousuf, M.H., El-Shahawi, M.S., Al-Ghais, S.M. (2000). Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *The Science of the Total Environment* 256: 87-94.
- Antunes, C. (1996). A pesca da enguia no rio Minho - que futuro? *Actas do I Simpósio Ibérico Sobre a Bacia Hidrográfica do Rio Minho*: 79-83.
- Belpaire, C., Goemans, G. (2007a). Eels: contaminant cocktails pinpointing environmental contamination. *ICES Journal of Marine Sciences* 64: 1423-1436.
- Belpaire, C., Goemans, G. (2007b). The European eel *Anguilla anguilla*, a rapporteur of the chemical status for the Water Framework Directive? *Vie et Milieu* 57: 235-252.
- Bettencourt, A.M., Gomes, F.V., Dias, J.A., Ferreira, J.G., Silva, M.C., Costa, J.L. (2003). *Estuários portugueses*. INAG, Lisboa.
- Bidwell, J.R., Gorrie, J.R. (2006). The influence of salinity on metal uptake and effects in the midge *Chironomus maddenii*. *Environmental Pollution* 139: 206-213.
- Bruslé, J. (1990). Effects of heavy metals on eels, *Anguilla* sp. *Aquatic and Living Resources* 3: 131-141.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology* 83: 575-583.
- Cabral, M.J. (coord.), Almeida, J., Almeida, P.R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M.E., Palmeirim, J.M., Queiroz, A.I., Rogado, L., Santos-Reis, M. (eds.) (2005). *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal*. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.
- Cancela da Fonseca, L., Costa, A.M., Bernardo, J.M., Cruz, T. (1993). *Lagoa de Santo André: sistema litoral produtivo mas frágil*: pp. 29-42. In: Encontro sobre a Lagoa de Santo André. Associação Cultural de Santiago do Cacém, Santiago do Cacém.
- Canli, M., Atli, G. (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution* 121: 129-136.
- Costa, J.L., Domingos, I., Almeida, A.J., Feunteun, E., Costa, M.J. (2008b). Interaction between *Halobatrachus didactylus* and *Anguilla anguilla*: what happens when these species occur in sympatry? *Cybium* 32: 111-117.
- Costa, J.L., Domingos, I., Assis, C.A., Almeida, P.R., Moreira, F.M., Feunteun, E., Costa, M.J. (2008a). Comparative ecology of the European eel, *Anguilla anguilla* (L., 1758), in a large Iberian River. *Environmental Biology of Fishes* 81: 421-434.
- Costa, M.J. (1999). *O estuário do Tejo*. Edições Cotovia, Lisboa.
- Crompton, T.R. (1997). *Toxicants in the aqueous ecosystem*. John Wiley, Chichester.
- Dekker, W. (2003). Eels in crisis. *Newsletter ICES/CIEM* 40: 10-11.
- Dias, J.M., Lopes, J.F., Dekeyser, I. (2000). Tidal propagation in Ria de Aveiro lagoon, Portugal. *Physics and Chemistry of the Earth (B)* 25: 369-374.
- Domingos, I. (2003). *A enguia-europeia, Anguilla anguilla (L., 1758), na bacia hidrográfica do Rio Mondego*. Tese de Doutoramento. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa.
- Durrieu, G., Maury-Breachet, R., Girardin, M., Rochard, E., Boudeu, A. (2005). Contamination by heavy metals (Cd, Zn, Cu, and Hg) of eight fish species in the Gironde estuary (France). *Estuaries* 28: 581-591.

- Evans, D.W., Dadoo, D.K., Hanson, D.J. (1993). Trace element concentration in fish livers: implication of variations with fish size in pollution monitoring. *Marine Pollution Bulletin* 26: 329-354.
- Feunteun, E. (2002). Management and restoration of European eel population (*Anguilla anguilla*): an impossible bargain. *Ecological Engineering* 18: 575-591.
- Gaudêncio, M.J., Guerra, M.T., Glémarec, M. (1991). Recherches biosédimentaires sur la zone maritime de l'estuaire du Tage, Portugal: données sédimentaires préliminaires: pp. 11-16. In: Elliot, M. e Ducrotoy, J.-C. (Eds). *Estuaries and coasts: spatial and temporal intercomparisons*. Olsen and Olsen, Fredensborg.
- Haenen, O.L.M., van Wijngaarden, T.A.M., van der Heijden, M.H.T., Höglund, J., Cornelissen, J.B.J.W., van Leengoed, L.A.M.G., Borgsteede, F.H.M., van Muiswinkel, W.B. (1996). Effects of experimental infections with different doses of *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) on European eel (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture* 141: 41-57.
- ICES (2006). Report of the 2006 session of the joint EIFAC/ICES Working Group on Eels. *ICES CM 2006/ACFM*: 16.
- ICES (2007). Report of the 2007 session of the Joint EIFAC/ICES Working Group on Eels. *ICES CM 2007/ACFM*: 23.
- Julshamn, K., Ringdal, O., Slinning, K.-E., Braekan, O. (1982). Optimization of the determination of selenium in marine samples by atomic absorption spectrometry: comparison of a flameless graphite furnace atomic absorption system with a hydride generation atomic absorption system. *Spectrochimica Acta* 37B: 473-482.
- Kennedy, C.R., Fitch, D.J. (1990). Colonization, larval survival and epidemiology of the nematode *Anguillicola crassus*, parasitic in the eel, *Anguilla anguilla*, in Britain. *Journal of Fish Biology* 36: 117-131.
- Kirk, R.S. (2003). The impact of *Anguillicola crassus* on European eels. *Fisheries Management and Ecology* 10: 385-394.
- Kirk, R.S., Kennedy, C.R., Lewis, J.W. (2000a). Effect of salinity on hatching, survival and infectivity of *Anguillicola crassus* (Nematoda: Dracunculoidea) larvae. *Diseases of Aquatic Organisms* 40: 211-218.
- Kirk, R.S., Lewis, J.W., Kennedy, C.R. (2000b). Survival and transmission of *Anguillicola crassus* Kuwahara, Niimi and Itagaki, 1974 (Nematoda) in seawater eels. *Parasitology* 120: 289-295.
- Kress, N., Herut, B., Hornung, E., Hornung, H. (1999). Trace element levels in fish from clean and polluted coastal marine sites in the Mediterranean Sea, Red Sea and North Sea. *Helgoland Marine Research* 53: 163-170.
- Lefebvre, F., Contournet, P., Crivelli, A.J. (2002a). The health state of the eel swimbladder as a measure of parasite pressure by *Anguillicola crassus*. *Parasitology* 124: 457-463.
- Lefebvre, F., Contournet, P., Priour, F., Soulas, O., Crivelli, A.J. (2002b). Spatial and temporal variation in *Anguillicola crassus* counts: results of a 4 year survey of eels in Mediterranean lagoons. *Diseases of Aquatic Organisms* 50: 181-188.
- Lefebvre, F., Mounaix, B., Poizat, G., Crivelli, A.J. (2004). Impacts of the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* on *Anguilla anguilla*: variations in liver and spleen masses. *Journal of Fish Biology* 64: 435-447.
- Linde, A.R., Sanchez-Galan, S., Valles-Mota, P., Garcia-Vazquez, E. (2001). Metallothionein as bioindicator of freshwater metal pollution: European eel and brown trout. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49: 60-63.
- Loukili, A., Belghyti, D. (2007). The dynamics of the nematode *Anguillicola crassus*, Kuwahara 1974 in eel *Anguilla anguilla* (L. 1758) in the Sebou estuary (Morocco). *Parasitology Research* 100: 683-686.

- Maes, G.E., Raeymaekers, J.A.M., Pampoulie, C., Seynaeve, A., Goemans, G., Belpaire, C., Volckaert, F.A.M. (2005). The catadromous European eel *Anguilla anguilla* (L.) as a model for freshwater evolutionary ecotoxicology: relationship between heavy metal bioaccumulation, condition and genetic variability. *Aquatic Toxicology* 73: 99-114.
- Morrissey, M., McCarthy, T.K. (2007). The occurrence of *Anguillicola crassus* (Kuwahara, Niimi, and Hagaki, 1974), an introduced nematode, in an unexploited western Irish eel population. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* 107B: 13-18.
- Norton, J., Rollinson, D., Lewis, J.W. (2005). Epidemiology of *Anguillicola crassus* in the European eel (*Anguilla anguilla*) from two rivers in southern England. *Parasitology* 130: 679-686.
- Otte, M.L. (1991). *Heavy metals and arsenic in vegetation of saltmarshes and foodplains*. Ph. D. Thesis. Vrije University, Amsterdam.
- Palstra, A.P., Heppener, D.F.M., van Ginneken, V.J.T., Székely, C., van den Thillart, G.E.E.J.M. (2007). Swimming performance of silver eels is severely impaired by the swim-bladder parasite *Anguillicola crassus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 352: 244-256.
- Pato, P., Válega, M., Pereira, E., Vale, C., Duarte, A.C. (2008). Inputs from a mercury-contaminated lagoon: impact on the nearshore waters of the Atlantic Ocean. *Journal of Coastal Research* 74: 28-38.
- Pereira, C.D., Gaudêncio, M.J., Guerra, M.T., Lopes, M.T. (1997). Intertidal macrozoobenthos of the Tagus estuary (Portugal): the Expo'98 area. *Publicaciones Especiales del Instituto Español de Oceanografía* 23: 107-120.
- Pereira, P., Pablo, H., Vale, C., Franco, V., Nogueira, M. (2009). Spatial and seasonal variation of water quality in an impacted coastal lagoon (Óbidos Lagoon, Portugal). *Environmental Monitoring and Assessment* 153: 281-292.
- Pourang, N., Nikouyan A., Dennis, J.H. (2005). Trace element concentrations in fish, surficial sediments and water from northern part of the Persian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment* 109: 293-316.
- Ribeiro, C.A.O., Vollaire, Y., Sanchez-Chardi, A., Roche, H. (2005). Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. *Aquatic Toxicology* 74: 53-69.
- Riisgård, H.U., Hansen, S. (1990). Biomagnification of mercury in a marine grazing food-chain: algal cells *Phaeodactylum tricornutum*, mussels *Mytilus edulis* and flounders *Platichthys flesus* studied by means of a stepwise-reduction-CVAA method. *Marine Ecology Progress Series* 62: 259-270.
- Robinet, T., Feunteun, E. (2002). Sublethal effects of exposure to chemical compounds: a cause for the decline in Atlantic eels? *Ecotoxicology* 11: 265-277.
- Sauvaget, B., Fatin, D., Briand, C. (2003). Contamination par *Anguillicola crassus* de cinq populations d'anguilles (*Anguilla anguilla*) du littoral de Bretagne Sud (France). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 368: 21-26.
- Tzeng, W.-N., Iizuka, Y., Shiao, J.-C., Yamada, Y., Oka, H.P. (2003). Identification and growth rates comparison of divergent migratory contingents of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Aquaculture* 216: 77-86.
- Usero, J., Izquierdo, C., Morillo, J., Gracia, I. (2003). Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the Southern Atlantic coast of Spain. *Environment International* 29: 949-956.
- Van Banning, P., Haenen, O.L.M. (1990). Effects of the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* in wild and farmed eel, *Anguilla anguilla*: pp. 317-330. In: Perkins, F.O., Cheng, T.C. (Eds.). *Pathology in Marine Science*. Academic Press, New York.

- Van Ginneken, V.J.T, Maes, G.E. (2005). The European eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus), its lifecycle, evolution and reproduction: a literature review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 15: 367-398.

7. OUTPUTS DO PROJECTO

Artigos Científicos:

Publicados

- Neto, A.F., J.L. Costa, M.J. Costa & I. Domingos. (2010). Epidemiology and pathology of *Anguillicoloides crassus* in European eel, *Anguilla anguilla*, from the Tagus estuary (Portugal). *Diseases of Aquatic Organisms* 88: 225-233.
<http://www.int-res.com/abstracts/dao/v88/n3/p225-233/>

Em processo de submissão/avaliação

- Metal concentrations in the European eel, *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758), in estuaries and coastal lagoons from Portugal, submetido a *Environmental Monitoring and Assessment* (em fase de revisão);
- Accumulation of metals in *Anguilla anguilla* from the Tagus estuary: relationship with environmental contamination and individuals fitness, submetido a *Journal of Applied Ichthyology*.

A submeter

- Infection of European eel by the parasite *Anguillicoloides crassus* in Portuguese brackish water systems (em fase de redacção).

Notícias Publicadas:

- “Aventura das enguias vai ser mais protegida” em Jornal de Notícias de 14 de Janeiro de 2009;
- “Projecto ENGUALIMPA” no Boletim Informativo do Centro de Oceanografia (Correntes nº 3, Janeiro 2009);
- “Proteger a Enguia-europeia” na revista Portugal Dive (nº 6, Novembro de 2009).

