

Realizado por:

Prof. Cat. Rui Manuel Vitor Cortes

Dr. Nuno Paula Santos

Prof. Adj. Amílcar Teixeira

Eng^a Daniel Oliveira

O presente relatório final refere-se ao protocolo assinado entre a Direcção Geral das Florestas e a Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro relativo a estudos sobre as populações de truta (*Salmo trutta* L.) em rios do Nordeste, no período entre 1 de Julho de 2000 e 31 de Dezembro de 2002, de acordo com o programa aí definido. Este relatório divide-se em dois capítulos, onde se analisam os resultados derivados das operações de repovoamento piscícola, correspondendo tais capítulos às duas componentes abordadas: a) efeitos genéticos; b) aspectos comportamentais. Tais estudos visaram analisar as consequências destas operações, quer em termos da sua eficácia, quer a nível dos possíveis impactos nas populações residentes da mesma espécie.

CAPÍTULO I

EFEITOS DOS REPOVOAMENTOS NA DIVERSIDADE GENÉTICA DAS POPULAÇÕES DE TRUTAS RESIDENTES

1. Introdução e objectivos

Do ponto de vista histórico, a truta *Salmo trutta* tem sido considerado um recurso natural muito importante, cujo declínio tem merecido particular atenção. Nesta perspectiva, em 1999 foi publicado o Relatório sobre a conservação e a gestão dos recursos genéticos da truta a nível europeu. Este documento reflecte o esforço conjunto de investigadores europeus, incluindo Portugal, onde é dado particular destaque à necessidade de monitorizar as populações de *S. trutta* no estado selvagem. De igual modo, foi analisado o impacto provocado pelos repovoamentos, dado que a sustentabilidade das populações, especialmente, daquelas que são exploradas em termos de pesca desportiva, tem sido promovida através de programas de repovoamento que, na maior parte da Europa, são sustentados por “stocks domésticos” de piscicultura. A distribuição e fragmentação de habitats naturais têm sido factores adicionais à diminuição das populações de truta. Apesar de se perceber que os efeitos destes programas nas populações indígenas são limitados, dados obtidos nos últimos vinte anos indicam que podem alterar a comparação genética através de endogamia. De realçar que Laikre *et al.* (1999) alertaram para a necessidade de acautelar intervenções nesta área, enquanto não se proceder a uma extensa caracterização genética da truta em Portugal. Importa salientar que *S. trutta* apresenta uma grande diversidade morfológica, comportamental e genética ao longo da sua área de distribuição geográfica. Está descrita a existência de cinco principais linhagens evolutivas, definidas especialmente com base no estudo do DNA mitocondrial, e cuja distribuição geográfica coincide com as principais bacias do Danúbio, Adriático, Mediterrâneo e Atlântico, havendo ainda a destacar um grupo morfológicamente distinto (*S. trutta marmoratus*) encontrado em alguns cursos de água sobranceiros ao Adriático (Bernatchez, 1995). Adicionalmente, existem evidências recentes que demonstram a existência, dentro da linhagem Atlântica, de uma diferenciação genética das populações da Península Ibérica, em geral, e das populações portuguesas, em particular (Alexandrino *et al.*, comunicação

peixe; Antunes *et al.* 1999; Weiss. *et al.*, 2000; Antunes *et al.*, 2001; Suárez *et al.*, 2001). Deste modo, torna-se crucial a existência de uma correcta avaliação dos programas de repovoamento, de forma a garantir linhas de orientação para a preservação do património genético autóctone e a eficácia destes programas na sustentabilidade das populações (Laikre, L. *et al*, 1999), conforme anteriormente foi referido.

Tendo como ponto de partida as considerações anteriores, o presente estudo pretende avaliar os níveis de introgressão genética de populações cultivadas em cativeiro em populações autóctones. Dos locais seleccionados, foram efectuadas recolhas de amostras de peixes durante os últimos três anos consecutivos. De igual modo, procedeu-se à recolha de animais de “stock” de piscicultura com o objectivo de estabelecer um termo de comparação.

1.1 Metodologia

Dada a necessidade de estabelecer a adequação e afinação das técnicas laboratoriais, foi realizada uma pesquisa bibliográfica e um intercâmbio de ideias com outros investigadores, nacionais e estrangeiros, sobre estudos semelhantes. De acordo com esta pesquisa, foram implementadas algumas técnicas e protocolos, presentemente em curso no presente estudo, estando ainda em fase de afinação o processo electroforético em gel de policrilamida utilizado na técnica de microssatélites (descrita mais adiante). As extracções de DNA até agora ensaiadas foram realizadas de acordo com Bernatchez (1992), cujos resultados são satisfatórios, tendo sido resolvidos os problemas associados ao grau de pureza do DNA conforme os requisitos definidos por Sambrook *et al* (1989). O teor de DNA foi determinado através de processos de espectrofotometria. De notar ainda o estabelecimento da sequência de *primers* a usar a partir dos definidos pelo TROUTCONCERT www.qub.ac.uk/bb/prodohl/TroutConcert/fr_molecularmarkers.htm (última consulta - 24/9/2002), de forma a garantir um padrão de comparação com os resultados obtidos noutros estudos.

1.2.1. Locais de amostragem e recolha das amostras

Na realização deste projecto foram seleccionados três locais de amostragem, localizados na Bacia Hidrográfica do rio Douro: rios Sabor, Tuela e Baceiro (afluente do rio Tuela) (Figura 1).

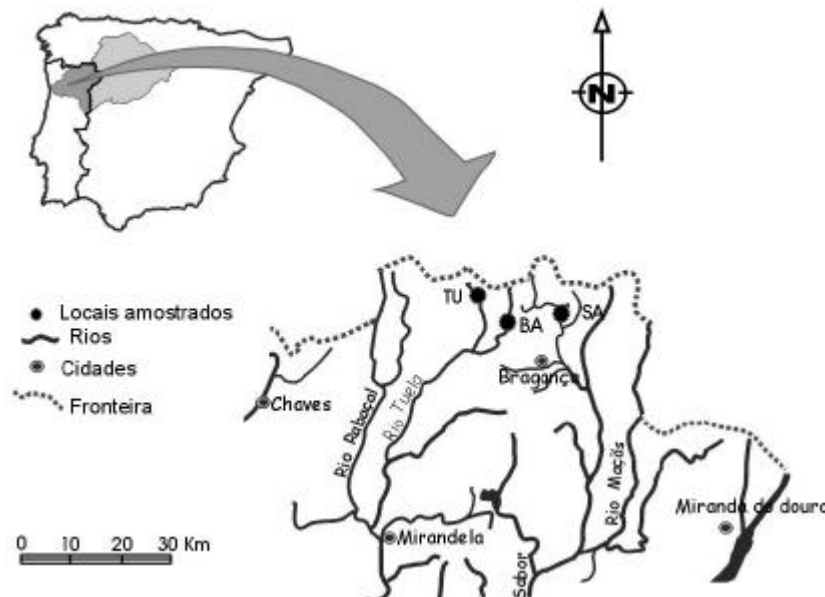


Figura 1 – Localização geográfica das populações analisadas. BA – Rio Baceiro; SA – Rio Sabor; TU – Rio Tuela.

Nestes locais, foi inicialmente realizada uma amostragem em Agosto de 2000, de modo a caracterizar geneticamente as populações previamente à realização dos repovoamentos experimentais. Os repovoamentos foram realizados em Setembro de 2000 e de 2001, com cerca de 600 indivíduos/ano, em cada local. Os exemplares libertados, com idades 1+ (na sua grande maioria) a 2+, eram provenientes da piscicultura de Castrelos (da DRATM), no rio Baceiro, tendo-se procedido a uma amostragem de 32 indivíduos deste stock para análise genética. Em cada curso de água (Baceiro e Sabor) o repovoamento foi efectuado equitativamente por dois sectores (aproximadamente 2,5 Km de extensão) com diferentes características ecológicas. Posteriormente, realizaram-se de novo amostragens nos mesmos locais, em Setembro de 2001, anteriormente à realização do repovoamento desse ano, e em Julho de 2002.

Os exemplares analisados ($N = 237$) foram capturados através de pesca eléctrica, a qual foi realizada nos sectores onde se efectuaram os repovoamentos, mas também nas

zonas localizadas a montante e a jusante. Os indivíduos capturados foram medidos e pesados, procedendo-se, posteriormente, à recolha de amostras de músculo, olho e barbatana adiposa. As amostras de olho e músculo foram transportadas em azoto líquido e, posteriormente, conservadas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1.2.2. Técnicas laboratoriais

No plano inicialmente definido, era nosso objectivo estabelecer a comparação da constituição genética das populações indígenas e os peixes utilizados em “stocks” piscícolas com o intuito de reprodução e posterior repovoamentos, através de duas técnicas laboratoriais:

- Estudo dos polimorfismos isoenzimáticos;
- Utilização de microssatélites como marcadores moleculares.

1.2.2.1. Isoenzimas

Segundo Torres-de-Castro (1989), designa-se por isoenzima, as múltiplas formas de um mesmo enzima, ou seja, as diferentes formas moleculares duma enzima e que têm funções catalíticas iguais ou semelhantes. As isoenzimas resultam de mutações ao nível do DNA e que se reflectem na composição e sequência dos aminoácidos das cadeias polipeptídicas, traduzidas a partir das sequências nucleotídicas dos genes estruturais. Tais mutações podem provocar diferenças significativas nas cargas iónicas das cadeias polipeptídicas e, ainda nas suas dimensão e forma. Ao serem submetidas a uma diferença de potencial num gel semiporoso de amido ou policrilamida, estas diferenças irão provocar distintas velocidades de migração, não só pelo efeito eléctrico mas também pela crivagem molecular facultada pela estrutura do gel, efeitos estes que, idealmente irão produzir uma banda distinta para cada forma isoenzimática. É de admitir, no entanto, que algumas mutações possam não se concretizar no aparecimento de novas bandas.

A comprovação da hereditariedade das isoenzimas, em inúmeras espécies animais e vegetais, levou a União Internacional dos Bioquímicos, a defini-las como: “Múltiplas formas de uma enzima apresentando, entre si, diferenças na estrutura primária, determinadas geneticamente”.

No âmbito da componente laboratorial, foi realizado o estudo isoenzimático das amostras das populações nativas e do “stock” de piscicultura utilizado nos repovoamentos efectuados em 2000, tendo este último grupo de animais sido usado como grupo controlo. A referida análise, em tecido ocular, alargou-se às recolhas de 2001 e 2002. Os estudos isoenzimáticos contemplaram o locus LDH-C* (L-lactato desidrogenase, E.C. 1.1.1.27), que constitui um marcador diagnóstico que diferencia as populações do Centro e Norte da Europa, que exibem naturalmente o alelo LDH-C*90 (Hamilton *et al.*, 1989), das populações do Sudoeste Atlântico, incluindo as portuguesas, que exibem o alelo LDH-C*100 (Antunes *et al.*, 1999; Almodovar *et al.*, 2001). De destacar ainda o estudo dos locus SIDHP – 1 (Isocitrato desidrogenase, E.C. 1.1.1.42), cujo alelo SIDHP-1*100 é comum na Península Ibérica, sendo o alelo SIDHP-1*160 mais frequente em animais usados nos “stocks” piscícolas; locus sMDH-2 (Malato desidrogenase, E.C. 1.1.1.37), sendo mais frequente no nosso território o alelo sMDH-2*100, acabando o alelo sMDH*152 por se encontrar com maior frequência em animais oriundos de piscicultura (homozigóticos essencialmente); e a finalizar o locus G3PDH-2* (Glicerol – 3-fosfato desidrogenase, E.C. 1.1.1.8), este último marcador proteico analisado em tecido muscular. De salientar o facto do alelo G3PDH *100 ser o mais frequente na Península, sendo o G3PDH*50 mais comum nos “stocks” piscícolas.

1.2.2.2. Microssatélites

Os microssatélites são pequenas sequências de nucleótidos (geralmente inferior a 300 pb), repetidas em séries mono, di, tri ou tetra nucleótidos. Em geral, os microssatélites encontram-se dispersos pelo genoma do organismo eucariota em intervalos de 10 kpb. Eles são polimórficos por terem um número variável de sequências repetidas. A variabilidade parece ser consequência de trocas entre cromátídeos homólogos das células germinais ou de “resvalamento” durante o processo de replicação do DNA. Este polimorfismo pode ser visualizado por PCR, utilizando pequenas quantidades de tecido e um par de primers complementares às sequências que flanqueiam os microssatélites. O comprimento dos microssatélites é depois analisado por electroforese.

Os microssatélites representam óptimos marcadores moleculares: são altamente polimórficos e multi-alélicos entre populações, são muito abundantes e encontram-se

dispersos por todo o genoma dos organismos eucarióticas, são herdados de forma codominante e rápidos de caracterizar. Os níveis de variação genética para cada um dos pontos de amostragem serão determinados através da média de número de alelos por locus (A), da heterozigosidade observada (H_0) e da heterozigosidade esperada (H_e) (Hardy-Weinberg). A diferença genética entre a população nativa e a utilizada no repovoamento poderá ser expressa como a percentagem de redução ou aumento de A e H_0 . A significância pode ser testada pelo teste X^2 . A heterozigosidade entre a frequência alélica pode também ser estudada pelo mesmo teste do X^2 .

Quanto à aplicação desta técnica, importa referir o facto de em virtude dos múltiplos atrasos sofridos devido ao fornecimento de reagentes e de equipamentos, a implementação da técnica só foi possível muito recentemente, e muito perto da entrega do presente Relatório Final. De salientar ainda o facto de termos efectuado um número elevado de extracções de DNA, cujo protocolo requereu algumas afinações, além das determinações das concentrações de DNA e consequentes diluições. Com efeito, trata-se de um processo um pouco moroso, de forma a permitir a passagem à fase seguinte - microssatélites. De notar, que na actualidade encontra-se em conclusão a primeira fase de PCR com a utilização dos primers Str543INRA – sequências entre parêntesis (5' – ATT CTT CGC CTT TCT CTT GC – 3' e 5' – ATC TGG TCA GTT TCT TTA TG – 3') para concluirmos a electroforese em gel de poliacrilamida. Deste modo, podem ser obtidos resultados que permitam confirmar os obtidos através das isoenzimas.

1.3. Resultados

De seguida, apresentam-se alguns dos resultados obtidos nas isoenzimas.

Lactato desidrogenase, E.C. 1.1.1.27 (alelos *90 e *100).

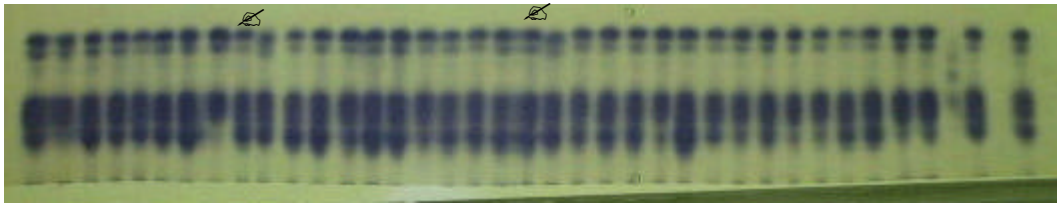


Figura 2 – Electroforese em gel de amido efectuada com amostras dos rios Tuela e Sabor. De notar os perfis assinalados com (s) que correspondem a indivíduos com genótipo LDH-C1*90/100, estando em ambas as situações ladeados por indivíduos LDH-C1*100/100.



Figura 3 – Electroforese em gel de amido efectuada com amostras de piscicultura e do rio Baceiro. Embora a imagem possa não parecer muito nítida no gel foi possível distinguir perfeitamente as diversas bandas. As bandas que se encontram dentro do espaço delimitado na figura 3 correspondem a genótipos LDH-C1*90/90 de animais da piscicultura, enquanto as restantes, à excepção do assinalado com (*) correspondem a indivíduos homozigóticos 100/100.

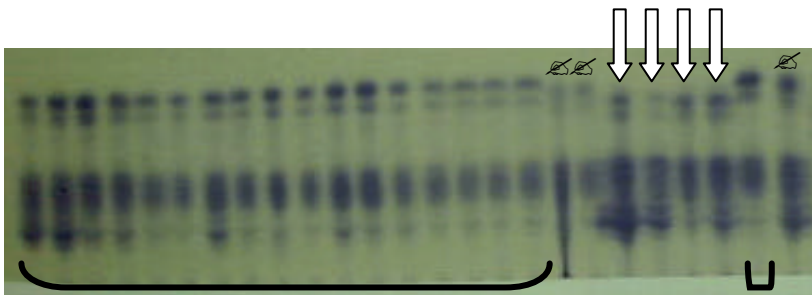


Figura 4 – Electroforese em gel de amido. De notar a existência dos alelos *90 e *100, assinalados com (s) – heterozigóticos: o primeiro usado como referência, o segundo encontrado no rio Baceiro e o terceiro encontrado no rio Sabor, reportando-se ao ano 2000. Apesar da ligeira curvatura exibida pelo gel, foi posteriormente possível a identificação dos genótipos LDH-C1*100/100 nas amostras assinaladas na parte inferior do gel. As setas indicam os perfis correspondentes a genótipos LDH-C1*90/90.

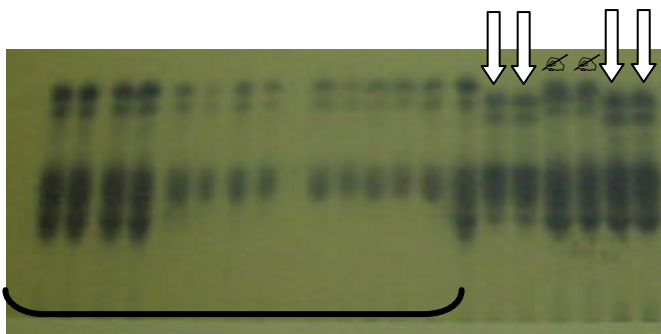


Figura 5 – Electroforese realizada nas amostras colhidas em 2002, tendo como várias referências outras amostras correspondentes aos diversos genótipos em análise. As setas indicam os perfis correspondentes a genótipos LDH-C1*90/90. Os indivíduos heterozigóticos LDH-C1*90/100 estão assinalados com (≠). A nível das amostras colhidas em 2002, verifica-se a ausência de polimorfismos, tendo apenas surgido genótipos 100/100.

Glicerol – 3 fosfato desidrogenase, E.C. 1.1.1.8 (alelos *50 e *100).



Figura 6 – Exemplo que ilustra a diversidade de genótipos detectados nos animais analisados. De salientar que o alelo G3PDH – 2* 100 é o comum na Península Ibérica, sendo provavelmente os indivíduos portadores do alelo LDH – C*90 e do G3PDH – 2* 50 oriundos ou descendentes de populações usadas nas pisciculturas e de origem em linhagens do Norte da Europa.

Malato desidrogenase, E.C. 1.1.1.37 (alelos *100 e *152).

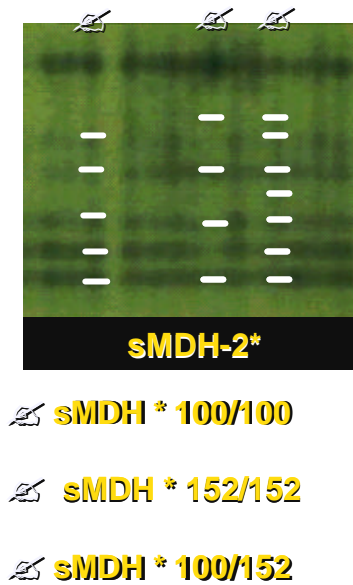


Figura 7 – Diversidade de genótipos detectados relativamente ao locus sMDH – 2*. O genótipo 100/100 é comum no nosso território, sendo que o genótipo 152/152 apresenta maior frequência em populações alóctones.

Isocitrato desidrogenase, E.C. 1.1.1.42 (alelos *100 e *160).

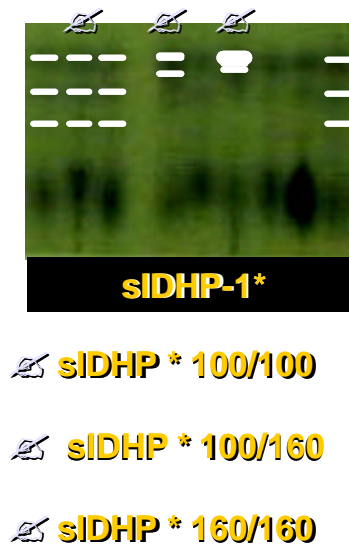


Figura 8 – Mais uma vez estamos perante situações de diversidade de genótipos. De destacar a maior frequência de homocigóticos *100/100, característicos nas nossas águas, sendo, no entanto, importante realçar o aparecimento do alelo 160, quer em homocigotia, quer em casos de heterocigotia. Os casos detectados surgem em animais da piscicultura de Castrelos, cujos ancestrais, tendo por base os presentes dados, são oriundos/descendentes do Norte da Europa.

Toda a informação recolhida encontra-se devidamente assinalada nas tabelas cujos resultados reflectem a análise dos zimogramas do conjunto de isoenzimas diagnóstico efectuado, e que permitiu estabelecer o genótipo para os indivíduos estudados.

Local: Piscicultura – Castrelos

Data: 13 de Setembro de 2000

Identificação da Amostra

Amostras de Controlo

Referência	Peso (g)	Tamanho (cm)
C1	154.67	24.5
C2	213.23	27
C3	105.18	21.5
C4	120.24	21.5
C5	214.23	29
C6	82.74	21
C7	90.67	22
C8	137.42	24
C9	185.55	25
C10	90.45	21.5
C11	43.42	16
C12	83.47	20.2
C13	103.61	22
C14	157.59	24
C15	182.41	25.5
C16	189.93	25
C17	187.25	26
C18	96.85	22
C19	173.65	26
C20	155.9	24
C21	113.43	23
C22	186.92	26
C23	185.13	26
C24	73.87	18
C25	66.33	20
C26	135	24
C27	108.75	22
C28	152.06	24.5
C29	174.18	26.5
C30	209	28

**Isoenzimas diagnóstico
Ensaio Realizados / Resultados**

Tecido	Olho			Músculo
	LDH-C1	sIDHP-1	sMDH-2	G3PDH-2
	☞	☞	☞	100/100
	90/90	100/160	100/100	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/100
	90/90	100/160	100/100	100/50
	☞	☞	☞	100/100
	90/90	100/100	100/152	50/50
	90/90	100/100	152/152	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/100
	90/90	100/100	100/152	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/50
	90/90	100/100	100/100	50/50
	90/90	100/160	100/100	100/100
	90/90	160/160	100/100	100/100
	☞	☞	☞	100/100
	90/90	100/160	100/100	100/50
	☞	☞	☞	100/100
	90/90	100/160	100/152	100/50
	☞	☞	☞	50/50
	90/90	160/160	100/152	100/100
	☞	☞	☞	100/50
	90/90	100/100	100/152	100/100
	90/90	100/100	100/152	100/100
	90/90	100/160	100/100	100/100
	90/90	100/100	100/152	100/100
	90/90	100/160	100/100	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/100
	90/90	100/160	100/100	50/50
	☞	☞	☞	100/50
	☞	☞	☞	100/100

Local: Piscicultura – Castrelos

Data: 13 de Setembro de 2000

Identificação da Amostra

Amostras de Controlo

Referência	Peso (g)	Tamanho (cm)
C31	191.22	27
C32	197.25	28
C33	143.88	24
C34	174.48	26
C35	97.15	22
C36	78.57	21
C37	199.84	25.5
C38	211.65	29.5
C39	119.95	24.5
C40	172.35	25.5
C41	222.33	28.5
C42	96.7	22.3

Isoenzimas diagnóstico

Ensaio Realizados / Resultados

Tecido	Olho			Músculo
	LDH-C1	sIDHP-1	sMDH-2	G3PDH-2
	90/90	100/100	100/152	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/50
	☞	☞	☞	100/100
	90/90	100/100	100/152	100/100
	90/90	100/100	100/152	100/50
	90/90	100/160	100/100	100/100
	90/90	100/160	100/152	100/50
	☞	☞	☞	100/50
	90/90	100/160	100/152	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/100
	90/90	100/100	100/100	100/50

Local: Baceiro (Ref. EB)

Data: 28 de Agosto de 2000

Identificação da Amostra

Amostras de Controlo
(Autóctones)

Referência	Peso (g)	Tamanho (cm)
EB 1	60.41	17.5
EB 2	88.87	21
EB 3	78.66	20.5
EB 4	53.57	18
EB 5	50.1	17.5
EB 6	111.16	21
EB 7	61.6	17.5
EB 8	51.98	16
EB 9	49.99	17.5
EB 10	40.84	16
EB 11	38.46	16
EB 12	37.45	16

Isoenzimas diagnóstico

Ensaio Realizados / Resultados

Tecido	Olho			Músculo
	LDH-C1	sIDHP-1	sMDH-2	G3PDH-2
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	☞	☞	☞	☞
	☞	☞	☞	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	☞	☞	☞	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	☞
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100

Local: Baceiro (Ref. EB)

Data: 28 de Agosto de 2000

Identificação da AmostraAmostras de Controlo
(Autóctones)

Referência	Peso (g)	Tamanho (cm)
EB 13	2.21	6
EB 14	15.16	11.5
EB 15	3.72	7
EB 16	3.09	7
EB 17	1.79	6
EB 18	4.62	8
EB 19	3.63	7
EB 20	101.29	20
EB 21	57.47	18.5
EB 22	35.47	15.5
EB 23	27	15
EB 24	19.03	13
EB 25	21.59	14
EB 26	80.25	19
EB 27	145	23
EB 28	37.55	19
EB 29	40.38	19
EB 30	57.4	17.5
EB 31	61.22	17.5
EB 32	41.87	16.5
EB 33	32.85	15
EB 34	2.67	7.5
EB 35	7.49	8.5
EB 36	74.85	20
EB 37	43.16	17
EB 38	45.12	17

Isoenzimas diagnóstico
Ensaio Realizados / Resultados

Tecido	Olho			Músculo
	LDH-C1	sIDHP-1	sMDH-2	G3PDH-2
	⊗	⊗	⊗	⊗
	100/100	100/100	100/100	100/100
	⊗	⊗	⊗	⊗
	⊗	⊗	⊗	⊗
	100/100	100/100	100/100	100/100
	⊗	⊗	⊗	⊗
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	N.R.
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	N.R.
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	⊗
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	⊗	⊗	⊗	⊗
	⊗	⊗	⊗	⊗
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100

Local: Tuela (Ref. TD)**Data:** 28 de Agosto de 2000**Identificação da Amostra**Amostras de Controlo
(Autóctones)

Referência	Peso (g)	Tamanho (cm)
TD 39	29.8	15
TD 40	4.45	8
TD 41	5.15	8.5
TD 42	39.26	16
TD 43	29.04	14
TD 44	41.56	17
TD 45	121.98	22
TD 46	79.77	19.5
TD 47	76.78	20
TD 48	107.27	22.5
TD 49	72.68	19.5
TD 50	78.71	19.5
TD 51	39.4	16
TD 52	284	31
TD 53	101.35	28
TD 54	249	29
TD 55	88.17	22
TD 56	54.01	17
TD 57	34.81	16
TD 58	33.08	16
TD 59	28.35	15
TD 60	22.93	14
TD 61	38.29	16
TD 62	7.17	8.5
TD 63	50.86	17
TD 64	45.5	16.5
TD 65	34.87	16
TD 66	90.73	21
TD 67	106.4	23
TD 68	64	9.5
TD 69	172.4	26.5
TD 70	69.24	19.5
TD 71	36	16
TD 72	44.13	17
TD 73	69.63	19

Isoenzimas diagnóstico**Ensaio Realizados / Resultados**

Tecido	Olho			Músculo
	LDH-C1	sIDHP-1	sMDH-2	G3PDH-2
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	N.R.	100/100	N.R.
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	☺
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	☺	☺	☺	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	☺	☺	☺	100/100
	100/100	100/100	100/100	N.R.
	☺	☺	☺	100/100
	100/100	100/100	100/100	N.R.
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	☺	☺	☺	☺
	100/100	100/100	100/100	☺
	100/100	100/100	100/100	☺
	☺	☺	☺	☺
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	☺
	100/100	160/160	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	100/100
	100/100	100/100	100/100	☺
	100/100	100/100	100/100	☺

1.4. Discussão e conclusões sobre a componente da variabilidade genética

Da análise das tabelas de resultados, pode-se concluir que a totalidade dos indivíduos de piscicultura analisados são homozigóticos 90/90, enquanto os indivíduos das populações naturais são homozigóticos 100/100 para o locus C da LDH, mesmo nas amostras obtidas após os repovoamentos. De notar que encontramos indivíduos com os alelos característicos das populações do Norte da Europa para os restantes marcadores proteicos em indivíduos oriundos da piscicultura e portadores do alelo *90 para a LDH – C. Com base na informação existente, os três indivíduos heterozigóticos detectados deverão ser interpretados como sendo provenientes de cruzamentos com indivíduos estabulados, em resultado dos repovoamentos anteriores ou, no caso do Baceiro, de fugas da própria piscicultura.. Contudo, o resultado mais relevante a salientar é que nas amostragens efectuadas após os repovoamentos realizados no âmbito deste estudo não foram detectadas heterozigocidades no meio natural, o que parece indicar uma elevada mortalidade. Concluimos ainda que, em termos globais, as populações dos rios estudados, apesar de sujeitas durante muitos anos a repovoamentos periódicos, não exibem características de deriva genética, devida á elevada proporção de homozigóticos.

Estes resultados, embora preliminares, confirmam trabalhos anteriores que apontam para uma ineficácia dos repovoamentos, pelo menos, dos efectuados com indivíduos não autóctones. Na realidade, Antunes *et al.* (2001) em cerca de 400 indivíduos analisados de várias populações portuguesas, não detectaram qualquer evidência de cruzamento entre os “stocks” doméstico e selvagem, com base na análise do locus LDH-C* e de sequências de DNA mitocondrial. Estes resultados estão de acordo com os observados por Moran *et al.* (1991) em populações das Astúrias, em Espanha. Embora este facto possa ser benéfico para a preservação do património genético das populações do Noroeste da Península, vem questionar os modelos adoptados para a gestão e conservação desta espécie em Portugal, pelo que os mesmos poderão necessitar de ser repensados. De qualquer forma, importa salientar a importância da continuação do presente estudo com a utilização de microssatélites, com vista a confirmar os resultados obtidos.

Sobre os resultados apenas podemos avançar com algumas hipóteses explicativas para a não introgressão genética. É possível que uma questão comportamental territorial esteja na base do não cruzamento de animais indígenas com o “stock” de piscicultura. Na realidade, quando comparamos os resultados obtidos, com os do capítulo seguinte,

encontramos uma ampla concordância associada com a alta mortalidade dos peixes libertados em repovoamento. Por um lado, o facto destes animais serem gerados em cativeiro, impede o processo de aprendizagem (pesquisa de alimento, delimitação territorial, hábitos reprodutores, etc.) no seu habitat natural pelo que exibem comportamentos que induzem uma diminuição da sua taxa de sobrevivência. Por outro lado, é notória a deficiente condição física, que se agrava progressivamente após a libertação destes peixes (em resultado de diferentes dietas alimentares _ver Cap. II). A sua reduzida capacidade para localizarem novos territórios e a alta competição por recursos criada pelo facto de permanecerem aglomerados no local onde o repovoamento em lugar são ainda factores de magna importância e que explicam os resultados obtidos. Em suma, julgamos que este assunto merece uma maior atenção e monitorização, não só pela questão dos recursos faunísticos em si, mas também pela necessidade de preservar a exclusividade genética de um dos grupos de vertebrados característicos dos nossos cursos de água.

Bibliografia

- ALMODÓVAR, A., SUÁREZ, J., NICOLA, G. G. & NUEVO, M., 2001. Genetic introgression between wild and stocked brown trout in Douro River basin, Spain. *J. Fish Biology*, **59** (supplement A): 68-74.
- ANTUNES, A., ALEXANDRINO, P. & FERRAND, N., 1999. Genetic characterization of Portuguese brown trout (*Salmo trutta* L.) and compararison with other European population. *Ecology of Freshwater Fish*, **8**: 194-200.
- ANTUNES, A., FARIA, R., WEISS, S. & ALEXANDRINO, P., 2001. Complex evolutionary history in the brown trout: Insight on the recognition of conservation units. *Conservation Genetics*, **2**: 337-347.
- BERNATCHEZ, L., GUYOMARD, R. & BONHOMME, F., 1992. DNA sequence variation of the mitochondrial control region among geographically and morphologically remote European brown trout *Salmo trutta* populations. *Molecular Ecology*, **1**: 161-173.
- TORRES-DE-CASTRO, L., 1989.. Isoenzimas do *Pinus Pinaster* Ait. numa perspectiva de aplicação ao melhoramento genético da espécie. Tese de Doutoramento, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- HAMILTON K., FERGUSON A., TAGGART J., TÓMASON T., WALKER A. & FAHY E., 1989. Post-glacial colnization of brown trout, *Salmo trutta* L. Ldh5 as a phylogeographic marker locus. *J. Fish Biol*, **35**: 65 -664.
- MC MEEL, O., HOEY, E & FERGUSON, A., 2001. Partial nucleotide sequences, and routine typing by polymeraase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, of the brown trout (*Salmo trutta*) lactate dehydrogenase, LDH-C1*90 and *100 alleles. *Molecular Ecology*, **10**, 29-34.
- MORAN, P., PENDÁS, A. M., GARCIA-VAZQUEZ, E. & IZQUIERDO, J.I., 1991. Failure of a stocking policy, of hatchery reared brown trout, *Salmo trutta* L., in Asturias, Spain, detected using LDH-5* as a genetic marker. *J. Fish Biol.*, **39**, 117-121.
- LAIKRE, L. (Coordenação) (1999) Conservation Genetic Management of Brown trout (*Salmo trutta*) in Europe. Report by the Concerted action on identification, management and exploitation of genetics resources in the brown trout (*Salmo trutta*) ("TROUTCONCERT"; EU FAIR CT97-3882).
- SAMBROOK, J., BRITSCH, E. F. & MANIATIS, T., 1989. *Molecular Cloning* (vol. 3). New York: CSH PRESS.
- SUÁREZ, J., BAUTISTA, J., ALMODÓVAR, A. & MACHORDOM, A., 2001. Evolution of the mitochondrial control region in Palaeartic brown trout (*Salmo trutta*) populations: the biogeographical role of the Iberian Peninsula. *Heredity*, **87**, 198-206.
- WEISS S., ANTUNES A., SCHLOTTERER C. & ALEXANDRINO, P., 2000. Mitochondrial haplotype diversity among Portuguese brown trout *Salmo trutta* L. populations: relevance to the post-Pleistocene recolonization of northern Europe. *Molecular Ecology*, **9**, 691-698.

CAPÍTULO II

SELECÇÃO DO HABITAT E PREFERÊNCIAS ALIMENTARES DA TRUTA DE RIO (*Salmo trutta* L.) EM RIOS DO NORDESTE DE PORTUGAL

2.1 Introdução e objectivos desta componente

O repovoamento com truta de rio (*Salmo trutta*, L.) consiste numa estratégia regularmente utilizada pelos Serviços Estatais, no sentido de melhorar o potencial piscícola nos troços de cabeceira dos rios do Norte e Centro de Portugal. No entanto, são poucos os estudos que avaliam a eficácia destes programas de repovoamentos em Portugal (Cortes *et al.*, 1996; Cortes *et al.*, 1998). De uma forma geral, os trabalhos desenvolvidos noutros países alertam para os impactos negativos resultantes da introdução de peixes criados em cativeiro sobre as populações nativas (Weiss & Schmutz, 1999, Blanco *et al.*, 1998)

O objectivo do presente estudo insere-se na problemática associada ao repovoamentos. Neste sentido, procedeu-se à avaliação da competição intra-específica relativamente ao microhabitat e alimentação entre as trutas nativas e as trutas criadas em cativeiro. Note-se que a componente em causa não foi devidamente explicitada no Protocolo, mas pareceu-nos de grande relevância dado permitir, a par dos estudos de natureza genética, avaliar a globalidade das consequências dos repovoamentos em termos de:

- Sustentabilidade das populações libertadas e eficácia do repovoamento.
- Impactes sobre as populações de trutas residentes.
- Aspectos comportamentais diferenciais entre as trutas introduzidas e as autóctones, a nível de território, selecção de habitat, padrões de dispersão.
- Diferenças relativas á dieta alimentar entre estes dois grupos.

2. Material e métodos

O estudo realizou-se nos rios Baceiro e Sabor, afluentes do rio Douro, localizados no Nordeste de Portugal. As zonas da cabeceira destes rios estão sujeitas a um impacto

humano baixo, que se reflecte nas características evidenciadas pela água, *i.e.*, uma concentração em sais dissolvidos e matéria orgânica muito baixa. O regime térmico anual da água varia, por norma, entre 4 e 22 °C, enquanto a condutividade não supera 100 μScm^{-1} .

O programa de repovoamento delineado foi levado a cabo durante 3 anos sucessivos (de 2000 a 2002). Assim, durante a época de Verão (meses de Julho/Agosto) dos anos mencionados, procedeu-se à libertação de trutas com idade 1⁺ em cada um dos rios (Comprimento total = 140-260 mm; Média \pm SD= 20,3 \pm 2,69 mm; $n= 1300$), mais especificamente em várias unidades de habitat (*riffles* ou *pools*) de cada um de dois sectores com uma extensão aproximada de 2,5 Km. Estes sectores foram seleccionados com base na sua aptidão piscícola, nomeadamente por possuírem populações exclusivamente salmonídeas (sector situado a montante) ou populações mistas de salmonídeos e ciprinídeos (sector situado a jusante).

As trutas de repovoamento foram criadas no Posto Aquícola de Castrelos (Bragança), segundo os métodos convencionais. No entanto, um mês antes da sua libertação nos rios, foi possível diminuir a densidade dos indivíduos nos tanques. Todos os indivíduos utilizados no estudo, foram previamente marcados com VIE- *Visible Implant Elastomer* (Northwest Marine Technology- NMT, Seattle, USA), tendo-se definido um conjunto de marcas únicas (combinação de diferentes posições no corpo- barbatana adiposa, tecido post-ocular com quatro cores diferentes do elastomer), no sentido de permitir a identificação posterior dos peixes libertados em cada unidade de habitat seleccionada.

Após a libertação dos peixes nos rios, foi feito o seguimento das trutas mediante o recurso a pescas eléctricas executadas regularmente (DC-500 Volts, produzidos por um gerador de 800 W). Todos os peixes capturados, inclusive os selvagens, foram anestesiados com etilenoglicol-monofenileter, medidos (até ao mm, TL) e pesados (até à grama). Nos indivíduos selvagens procedeu-se ainda à recolha de amostras de escamas distribuídas por várias classes de tamanho.

A avaliação das preferências alimentares foi realizada a partir da regurgitação dos conteúdos alimentares das trutas capturadas. No laboratório, procedeu-se à análise e identificação das presas alimentares até ao nível de família. A importância relativa de cada item alimentar foi avaliada pelo cálculo da percentagem de cada presa animal na amostra (Hislop, 1980). Recorreu-se ainda à análise multivariada (PRIMER, v. 5.2.2) no sentido de

comparar as dietas das trutas estabuladas e nativas, assim como entre as classes de idade definidas.

O uso do microhabitat por parte das trutas nativas e estabuladas foi avaliado através da observação sub-aquática. Deste modo, sempre que foi observado um peixe considerado não perturbado, foram registadas as seguintes variáveis: (1) Velocidade do ponto focal (VPF) (local onde se situava o focinho do peixe); (2) Velocidade média da coluna de água (VCA); (3) Velocidade superficial (VSA) (4) Profundidade total (PT); (5) Elevação do ponto focal (distância do leito do rio ao ponto onde estava o focinho do peixe, medido na vertical) (EPF); (6) Substrato Dominante (DomSub); (7) Substrato Subdominante (SubdSub) e (8) Cobertura (Cob). Nas variáveis 6, 7 e 8 foram definidas categorias de acordo com a classificação de Bovee (1982).

A disponibilidade do microhabitat por cada unidade de habitat (*e.g. riffle* ou *pool*) foi determinada a partir de transectos seleccionados aleatoriamente e medidas regularmente as variáveis supramencionadas. A partir do microhabitat disponível e usado foi então possível estabelecer as curves de preferência de cada variável para as diferentes classes de tamanho das trutas nativas, assim como para as trutas de repovoamento (STATISTICA v. 6.0). Através deste *package* estatístico, recorreu-se ainda a técnicas multivariadas- análise discriminante com o intuito de encontrar as variáveis que mais contribuíram para a separação dos grupos considerados e ainda as funções discriminantes que melhor ilustravam tal separação.

3. Resultados e discussão

Os resultados obtidos mostraram, para os três anos de estudo, uma capacidade de dispersão reduzida das trutas de repovoamento em ambos os rios (Figura 1), situação verificada em numerosos estudos (Cresswell, 1981; Jorgensen & Berg, 1991; Naslund 1998). Contudo, saliente-se que um mês após a sua libertação nos rios foram recapturadas apenas 10 a 20 % dos indivíduos, provavelmente como resultado de um rápido declínio da condição dos peixes.

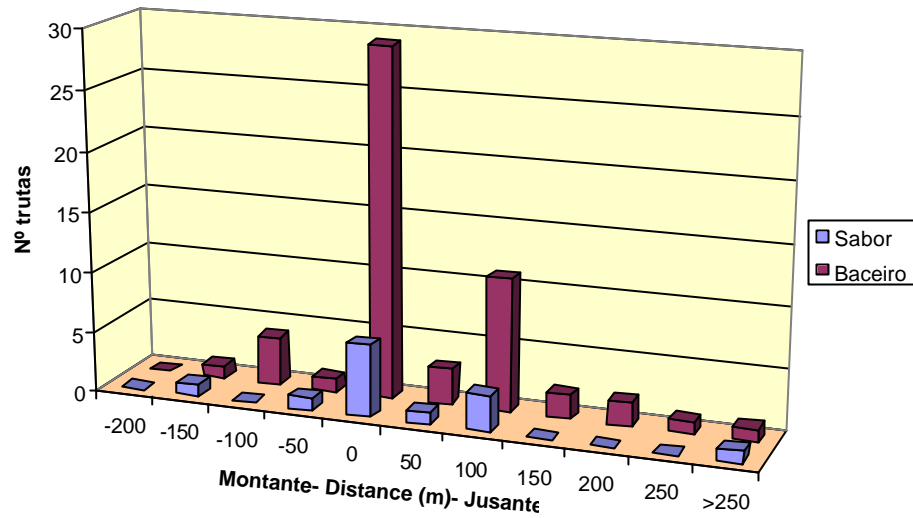


Figura 1 - Distribuição espacial das trutas de repovoamento ao longo dos dois sectores dos rios Sabor e Baceiro.

Relativamente à composição da dieta das trutas autóctones e de repovoamento verificou-se que esta estava essencialmente baseada em invertebrados aquáticos, e menor escala em insectos e larvas de origem terrestre (Figuras 2 e 3).

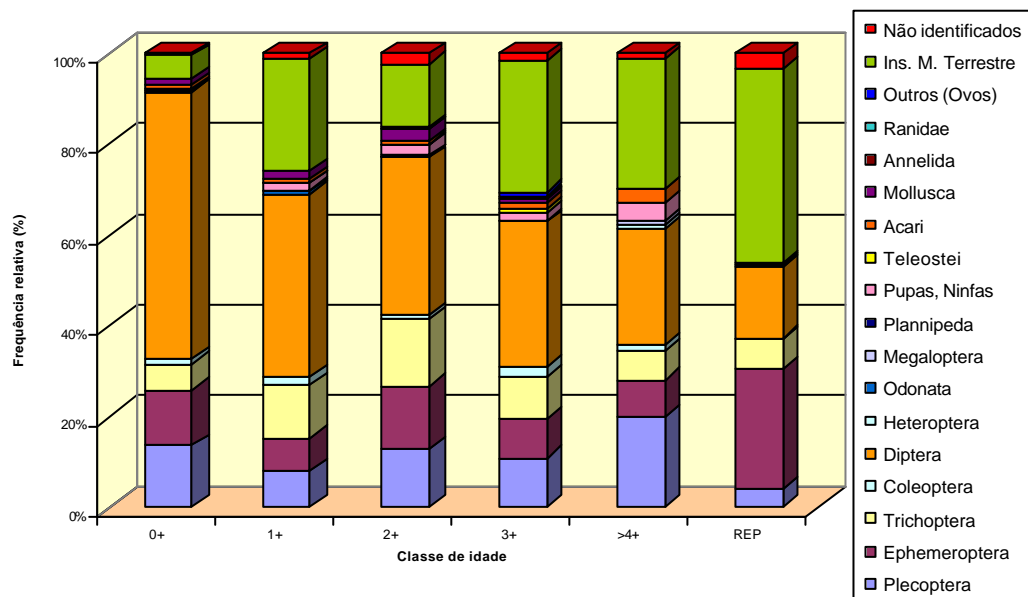


Figura 2 - Composição da dieta das trutas de repovoamento e nativas, definidas por classes de idade, do rio Sabor (Ano 2001).

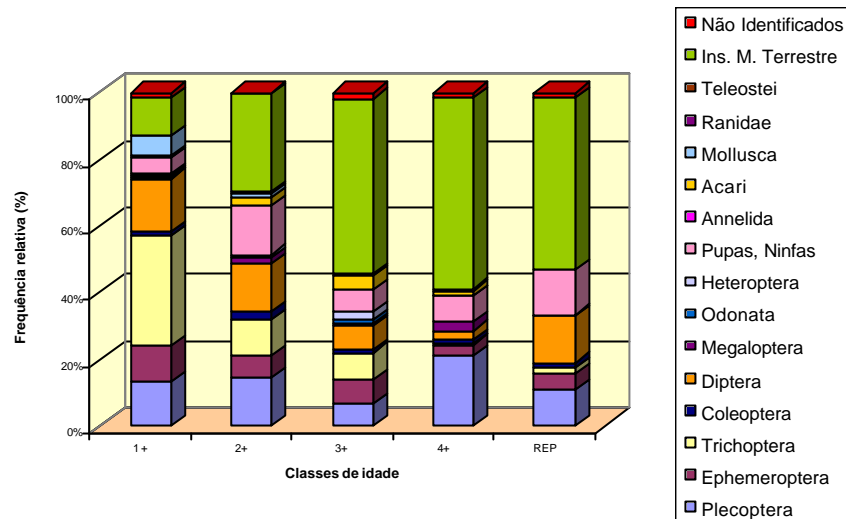


Figura 3 - Composição da dieta das trutas de repovoamento e nativas, definidas por classes de idade, do rio Baceiro (Ano 2001).

As trutas de repovoamento exibiram, em ambos os rios, um comportamento alimentar tipicamente oportunista. A análise dos conteúdos dos estômagos revelou uma dieta plástica baseada em invertebrados de origem terrestre ou aquática. Contudo, registaram-se índices de preenchimento dos estômagos (*fullness index*) muito baixos, que poderão ser vistos como indicadores de uma capacidade inferior de exploração dos recursos alimentares disponíveis.

Os resultados da análise multivariada mostraram também um padrão distinto no uso dos recursos alimentares entre todas as classes de tamanho das trutas nativas e de repovoamento (Figuras 4 e 5).

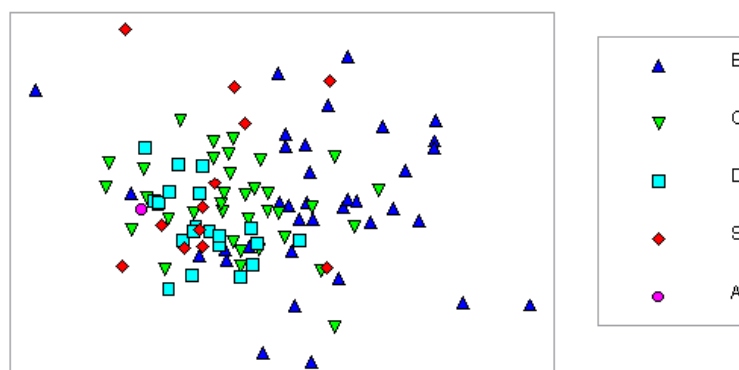


Figura 4 - Ordenação multivariada- MDS (PRIMER) das classes de tamanho definidas para as trutas nativas (A- < 10.0; B- 10.1-15; C- 15.1-20; D > 20 cm) e de repovoamento (S), do rio Baceiro.

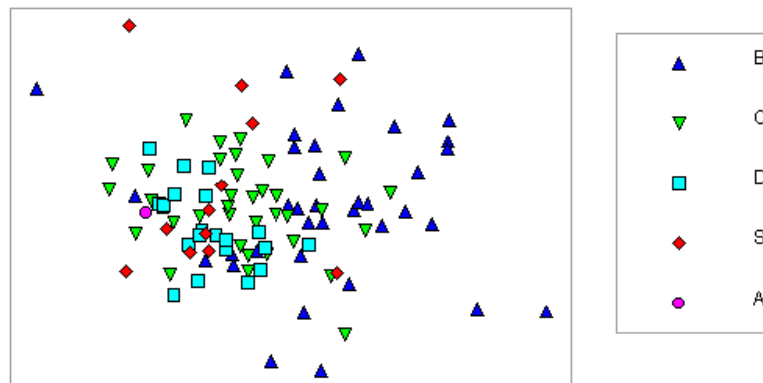


Figura 5 - Ordenação multivariada- MDS (PRIMER) das classes de tamanho definidas para as trutas nativas (A- < 10.0; B- 10.1-15; C- 15.1-20; D > 20 cm) e de repovoamento (S), do rio Sabor.

Por outro lado, a análise de similaridade, Teste ANOSIM (PRIMER) permitiu detectar diferenças significativas ($P < 0.05\%$) entre as classes de idade mais jovens e adultas, no que respeita às trutas nativas.

Uma análise individualizada às dietas das trutas nativas e de repovoamento da mesma idade (1+) evidenciou diferenças notáveis relativamente ao regime alimentar (Figuras 6 e 7). É possível, que as diferenças registadas no tamanho possam condicionar o acesso às zonas preferenciais de alimentação, uma vez que, como refere Bachman (1984), o tamanho individual pode desempenhar um papel fulcral na hierarquia social estabelecida

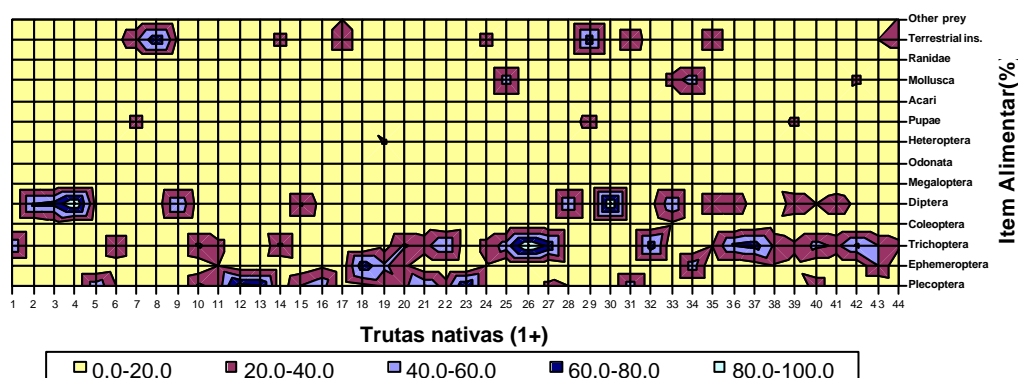


Figura 6 - Frequência relativa dos itens alimentares identificados na dieta das trutas nativas 1+, no rio Baceiro.

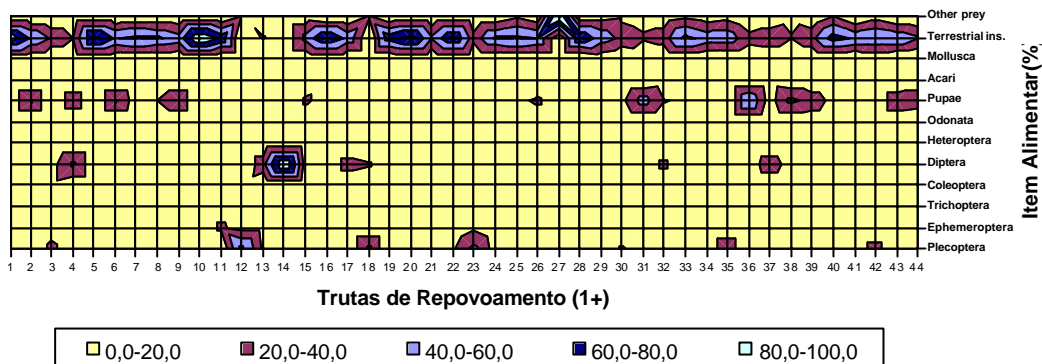


Figura 7 - Frequência relativa dos itens alimentares identificados na dieta das trutas de repovoamento, no rio Baceiro.

Relativamente ao uso do microhabitat são apresentadas algumas curvas de preferência exemplificativas para as trutas nativas e de repovoamento da mesma idade. De um modo geral foi possível detectar diferenças na selecção do microhabitat, com aparece explícito para o rio Baceiro (Figuras 8 a 13).

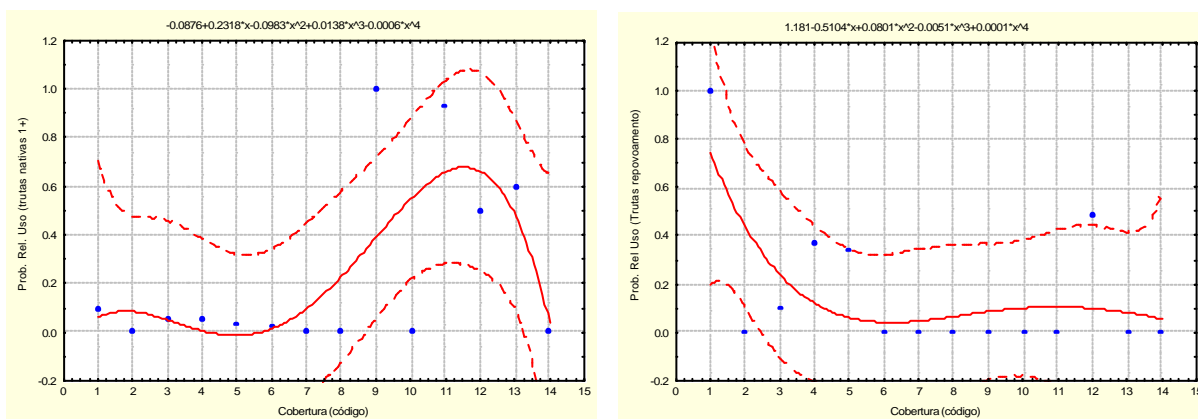


Figura 8 - Curvas de preferência das trutas nativas 1+ e de repovoamento respeitante à Cobertura (códigos definidos em anexo), no rio Baceiro.

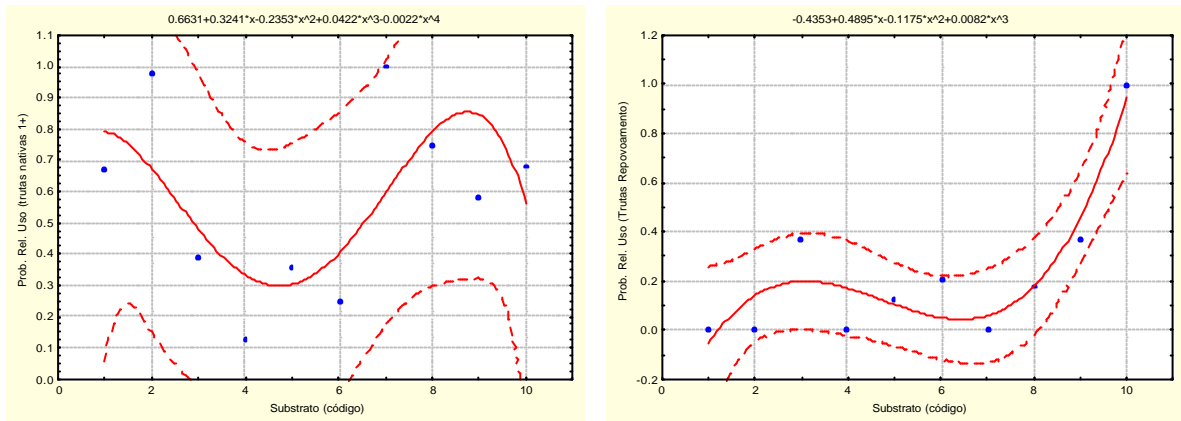


Figura 9 - Curvas de preferência das trutas nativas 1+ e de repovoamento respeitante ao **Substrato Dominante** (códigos definidos em anexo), no rio Baceiro.

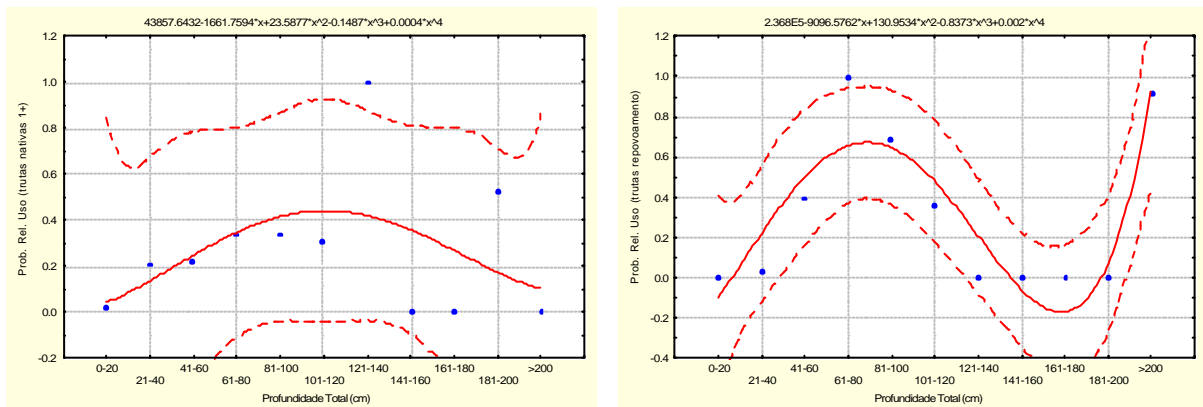


Figura 10 - Curvas de preferência das trutas nativas 1+ e de repovoamento respeitante à **Profundidade Total**, no rio Baceiro.

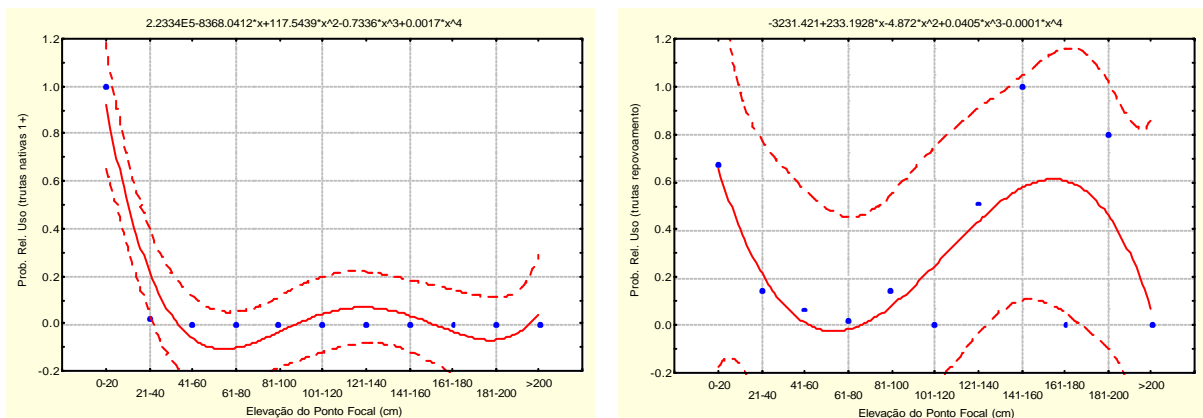


Figura 11 - Curvas de preferência das trutas nativas 1+ e de repovoamento respeitante à **Elevação do Ponto focal**, no rio Baceiro.

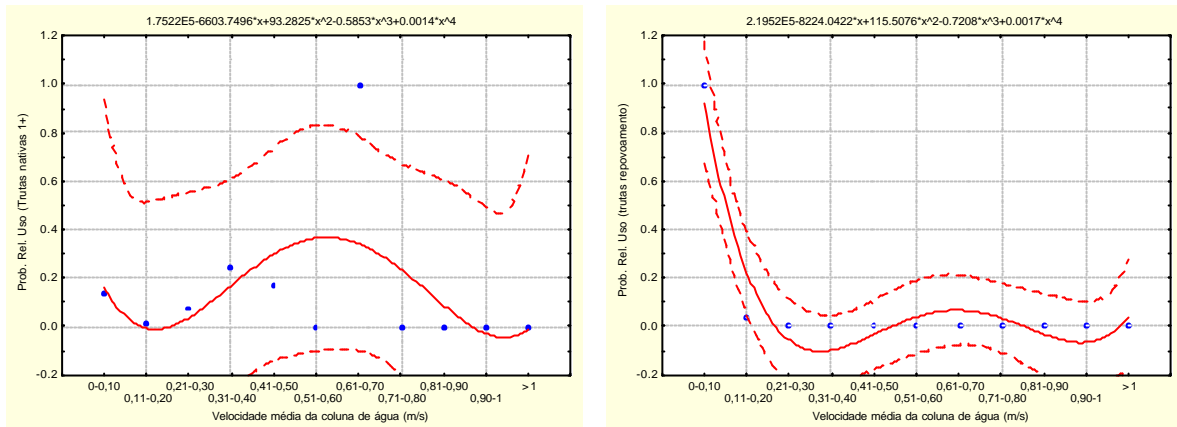


Figura 12 - Curvas de preferência das trutas nativas 1+ e de repovoamento respeitante à **Velocidade Média da Coluna de Água**, no rio Baceiro.

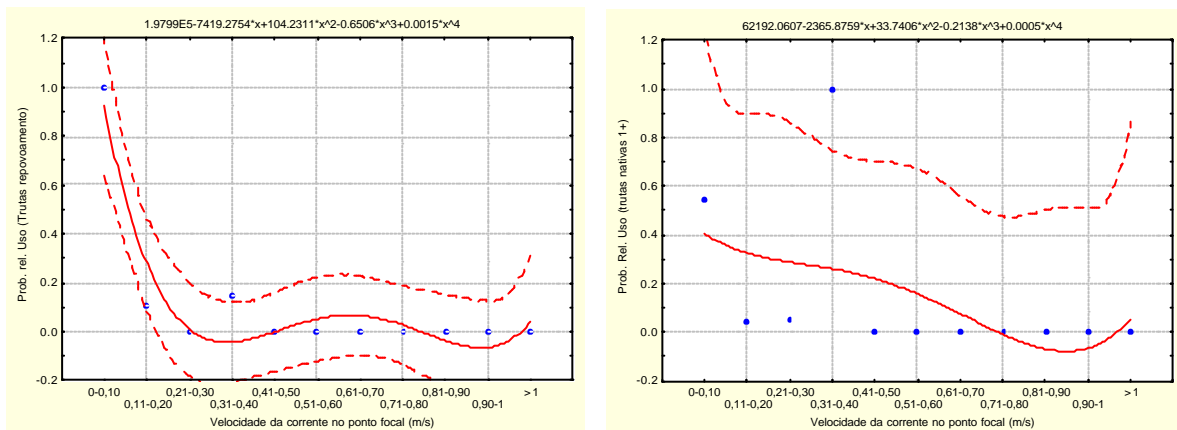


Figura 13 - Curvas de preferência das trutas nativas 1+ e de repovoamento respeitante à **Velocidade da corrente no Ponto Focal**, no rio Baceiro.

Da análise comparativa das curvas de preferência elaboradas para as trutas nativas 1+ e de repovoamento do rio Baceiro, podem realçar-se os seguintes aspectos:

- incapacidade das trutas de repovoamento para seleccionarem locais que proporcionem refúgio, ao contrário das trutas autóctones cuja preferência máxima reside em micro-habitats que combinem a presença de substrato grosseiro (> 30 cm) com o ensombramento provocado pela vegetação ripícola;
- preferência das trutas de repovoamento por substrato composto por rocha dura, normalmente existente no centro do canal, ao invés das trutas autóctones que

procuram partículas de dimensões superiores (> 60 cm), normalmente destacadas do leito do rio.

- preferência das trutas de repovoamento pelos espaços abertos do canal, normalmente com profundidades superiores e explorando toda a coluna de água (facilmente visíveis da margem). Por sua vez as trutas autóctones aparecem mais distribuídas pelos diferentes microhabitats e sempre na proximidade da zona bentónica.
- A presença maioritária dos peixes nos *pools*, unidades de habitat onde a velocidade da corrente é diminuta durante o Verão, pode ter sido responsável pelo padrão praticamente indistinto verificado entre as trutas de repovoamento e as autóctones. Contudo, foi observada a presença maioritária de trutas autóctones na proximidade dos locais de alimentação preferenciais, situadas junto às zonas rápidas (*riffles*). Tal facto implicará, por norma, que as trutas autóctones quando em actividade alimentar possam enfrentar velocidades da corrente superiores.

As comparações efectuadas entre as trutas de repovoamento e todas as classes de tamanho das trutas autóctones permitiram registar diferenças significativas ($P < 0,05$, Teste Mann-Whitney) para as variáveis cobertura, profundidade total, elevação do ponto focal em praticamente todos os sectores (Alto e Baixo Baceiro; Alto e Baixo Sabor) e anos de estudo (2000 a 2002). Nas restantes variáveis consideradas, *i.e.*, velocidade média da coluna de água, velocidade do ponto focal e substrato dominante, observaram-se diferenças significativas, especialmente nas comparações entre as trutas de repovoamento e as trutas autóctones de idade inferior (0+ e 1+).

A Análise Discriminante efectuada baseou-se nos dados acumulados durante os três anos (2000 a 2002) para os quatro sectores definidos nos dois rios (Sabor e Baceiro).

Uma análise possível consistiu no estabelecimento, prévio, de **cinco grupos**, formados pelas trutas autóctones, diferenciadas por classe de tamanho (**A**- <10.0 ; **B**- $10.1-15.0$; **C**- $15.1-20.0$; **D** > 20.0 cm) e de repovoamento (**R**). Os resultados da análise permitiram destacar as variáveis da Elevação do Ponto Focal, Profundidade Total, Velocidade do Ponto Focal e Cobertura como sendo aquelas que contribuem mais significativamente para a separação dos grupos considerados (Quadro 1).

Quadro 1: Resultados da Análise da Função Discriminante (Wilks' Lambda: 0,64734; F(28, 11557)= 52,912; P< 0,001). Para as variáveis discriminadas as relações são altamente significativas (P> 0,001).

Variável (N= 3216)	Wilks' Lambda	Lambda Parcial	Valor de F (4,342)	Tolerância	1-Tol.
EPF	0,7815827	0,8282412	166,1614000	0,7364856	0,2635144
PT	0,6836663	0,9468641	44,9643700	0,7443993	0,2556007
VPF	0,6563517	0,9862685	11,1555600	0,4462971	0,5537030
Cob.	0,6623936	0,9772725	18,6339200	0,8890418	0,1109582
VCA	0,6545303	0,9890131	8,9010820	0,4265225	0,5734775
DomSub	0,6531140	0,9911578	7,1479730	0,9287547	0,0712453
SubdSub	0,6521547	0,9926157	5,9607040	0,9288423	0,0711577

Através da Análise Canônica foram identificadas três funções lineares discriminantes- raízes (roots) significativas, que no conjunto são responsáveis por 99,8 % da variância explicada (*root 1*- 78,9 %; *root 2*-18,3%; *root 3*- 2,5%) (Quadro 2).

Quadro 2: Funções Discriminantes (Coeficientes estandardizados para as variáveis canônicas)

FUNÇÕES DISCRIMINANTES	
$Y_1 =$	$0,855 \text{ ELF} + 0,05 \text{ PT} - 0,05 \text{ VPF} - 0,242 \text{ Cob.} - 0,243 \text{ VCA} + 0,175 \text{ DomSub} + 0,128 \text{ SubdSub}$
$Y_2 =$	$-0,552 \text{ ELF} + 0,91 \text{ PT} - 0,421 \text{ VPF} + 0,214 \text{ Cob.} - 0,109 \text{ VCA} + 0,076 \text{ DomSub} + 0,19 \text{ SubdSub}$
$Y_3 =$	$-0,124 \text{ ELF} - 0,301 \text{ PT} - 1,095 \text{ VPF} - 0,621 \text{ Cob.} + 0,765 \text{ VCA} - 0,166 \text{ DomSub} + 0,114 \text{ SubdSub}$

Por sua vez, através das médias obtidas para as variáveis canônicas foi possível perceber a natureza da separação na análise discriminante (Quadro 3).

Quadro 3: Médias das Variáveis Canônicas.

GRUPOS	RAIZ 1	RAIZ 2	RAIZ 3
A- (< 10.0 cm)	- 0,7477	- 0,5573	- 0,0833
B- (10.1-15.0 cm)	- 0,4922	+ 0,1005	+ 0,1999
C- (15.1-20.0 cm)	- 0,5272	+ 0,4892	- 0,1253
D- (> 20.0 cm)	- 0,5140	+ 0,4490	- 0,1670
R- (Repovoamento)	+ 0,6734	- 0,0368	- 0,0076

Na *raiz 1* do Quadro 3 é facilmente perceptível o afastamento entre as trutas de repovoamento e as nativas, confirmando o comportamento mais diferenciado das trutas de cativeiro, relativamente às várias classes de tamanho das trutas nativas. Ainda que não tão evidente, é ainda possível observar um certo afastamento das trutas nativas de menor dimensão (Classe A < 10.0 cm) das restantes classes de tamanho definidas, com aparece explícito para a *raiz 2*. Portanto a selecção de habitat (ou a menor selecção do mesmo...) é um aspecto de marcada distinção entre indivíduos introduzidos e residentes.

A selecção do microhabitat por parte dos grupos considerados pode ainda ser apreciada com base na representação gráfica dos *scores* canónicos para as duas raízes estatisticamente mais significativas (Figura14).

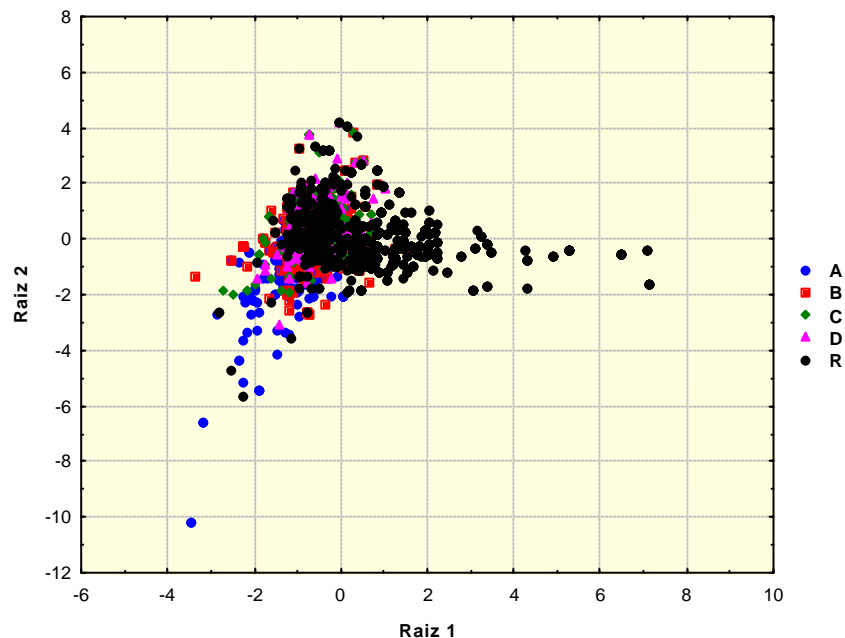


Figura 14 - Ordenação multivariada discriminante (STATISTICA) dos grupos considerados (**R**- *Trutas de Repovoamento*; *Trutas Nativas*- Classes de Tamanho **A**- <10.0; **B**-10.1-15.0; **C**- 15.1-20.0; **D** > 20.0 cm) para as duas raízes principais.

Devemos ainda mencionar que foi realizada uma intensa observação sub-aquática efectuada em vários períodos posteriores à libertação das trutas nos diferentes sectores dos rios Sabor e Baceiro. Dessa análise visual foi registado qualquer comportamento agonístico por parte das trutas de repovoamento, ao contrário daquilo que foi observado noutros trabalhos (McMichael *et al.* 1999). A maioria dos peixes de cativeiro observados mostraram um comportamento típico, bastante diferente das trutas nativas, nadando de modo errático na coluna de água e em espaços abertos. Provavelmente, a exploração

distinta dos recursos disponíveis pode explicar a ausência de interações inter e intra-específicas. De facto, os custos bioenergéticos envolvidos na natação parecem ser decisivos na perda de condição dos peixes, enquanto a adaptação ao habitat e recursos alimentares disponíveis não acontece.

A possibilidade de poder obter dados de forma contínua e detalhada, através do recurso à **telemetria**, poderá contribuir para um melhor conhecimento do comportamento das trutas de cativeiro quando libertadas no meio natural. Para além das vantagens inerentes a uma menor perturbação do meio, esta técnica tem sido utilizada com sucesso em estudos envolvendo salmonídeos, nomeadamente na definição do *home range* da espécie, no conhecimento da actividade diurna, nocturna (Young, 1984; Schulz & Berg, 1992; Bunnell *et al.*, 1998; Metcalfe *et al.*, 1999; Belanger & Rodriguez, 2001) e sazonal (Ovídio *et al.*, 2002), da influência de factores ambientais (Jonsson, 1991, Heggenes *et al.*, 1993, Ovídio *et al.*, 1998) e ainda em estudos relacionados com as migrações associadas à reprodução (Ovídio, 1999).

Um estudo recentemente efectuado, a título experimental e com a colaboração do Instituto Superior de Agronomia, permitiu estudar o comportamento e mobilidade de apenas duas trutas, no rio Baceiro, durante o mês de Outubro de 2002. Procedeu-se à instalação de dois transmissores (*tags*) com sinal codificado, implantados externamente (na barbatana dorsal) (Figuras 15 e 16) em duas trutas, uma criada em cativeiro (Posto Aquícola de Castrelos), embora recapturada no meio natural e outra autóctone. Ambos os exemplares possuíam tamanhos de 26 (repopoamento) e 33 (autóctone) centímetros.



Figura 15: Transmissor (*tag*) aplicado à barbatana dorsal de uma truta (Outubro 2002).

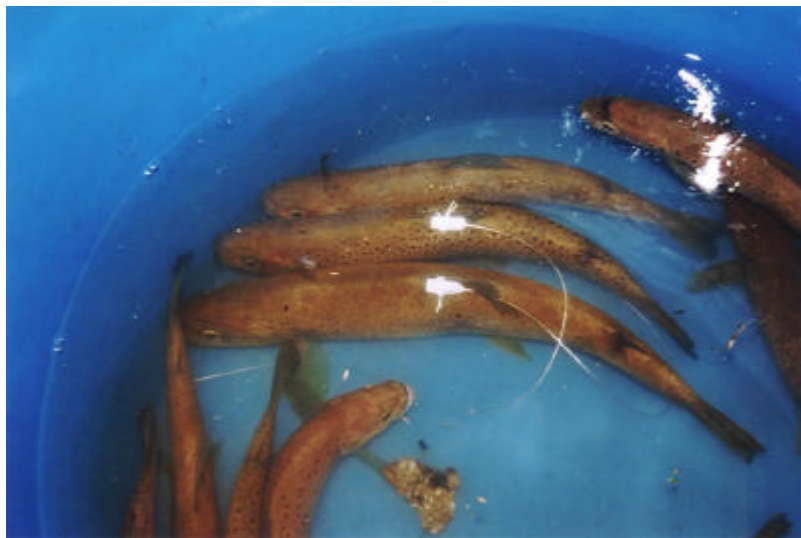


Figura 16: Aspecto geral dos *tags* cosidos (fio elástico) à barbatana dorsal (Outubro 2002).

A utilização de um receptor e processador de sinal rádio, modelo SRX-400 (marca Lotek) com software incorporado e uma antena para captação dos sinais acústicos permitiu fazer o seguimento destes indivíduos (Figuras 17 e 18).



Figura 17: Aparelho receptor e processador de sinal rádio - modelo LOTEK (Outubro 2002).



Figura 18: Operador manuseando o aparelho de rádio associado à antena para captação de sinais acústicos (Outubro 2002).

Os resultados obtidos, ainda que meramente informativos, registaram, de forma sumária, o deslocamento para jusante de ambos as trutas nos dois primeiros dias. Contudo, enquanto a truta autóctone rapidamente estabilizou numa unidade de habitat situada 200 metros a jusante, ocupando preferencialmente raízes de árvores situadas nas margens, a truta de repovoamento, por cada acréscimo substancial do caudal resultante de períodos de pluviosidade intensa, foi percorrendo vários *pools* situados a jusante do ponto de lançamento, com o último registo efectuado no limite da vida útil do transmissor a uma distância de 1600 metros.

Obviamente, os resultados obtidos carecem de uma confirmação, sendo que a possibilidade de poder aplicar esta técnica a um número razoável de indivíduos será decisiva para um conhecimento mais pormenorizado da ecologia dos salmonídeos em rios do Norte de Portugal, assim como do comportamento e efeito dos repovoamentos efectuados pelas Direcções Regionais de Agricultura. Com efeito, as análises comportamentais através de observação sub-aquática revelaram-se de grande dificuldade, designadamente a interacção entre indivíduos libertados e autóctones, devido á visibilidade da água ou á corrente. Em termos futuros é necessário utilizar a telemetria para se conhecer com um grau de detalhe superior os padrões de comportamento associados com a defesa do território e a competição por alimento, além dos aspectos energéticos diferenciais.

Bibliografia

- BACHMAN, R., 1984.** Foraging behavior of free-ranging wild and hatchery brown trout in a stream. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 113:1-32.
- BELANGER, G., & M.A. RODRIGUEZ 2001.** Homing behaviour of stream-dwelling brook charr following experimental displacement. *J. Fish. Biol.* **59**: 987-1001.
- BLANCO, G., GAGIGAS, E., VÁSQUEZ, E. & SÁNCHEZ, J.A. 1998.** Genetic impact of introduced domesticated strains of brown trout, *Salmo trutta*, on native Spanish populations. *In: Stocking and Introduction of Fish*, I. G. Cowx (Eds), 371-379. Fishing News Books, Oxford.
- BOVEE, K.D., 1982.** *A Guide to Stream Habitat Analysis Using the Instream Flow Incremental Methodology*. Instream Flow Information Paper N° 21, Biological Report 86 (7). U. S. Fish and Wildlife Service. Washington, DC.
- CORTES, R., TEIXEIRA, A. & PEREIRA, C. , 1996.** Is supplemental stocking of Brown trout (*Salmo trutta*) worthwhile in low productive streams? *Folia Zoologica*, 45 (4):371-381.
- CORTES, R., TEIXEIRA, A. & PEREIRA, C. , 1998.** Repovoamento e transferência de trutas para recuperação de rios salmonídeos: Soluções ou ameaças? *Silva Lusitana*, 6: 1-17.
- CRESSWELL, R., 1981.** Post-stocking movements and recapture of hatchery- reared trout into flowing waters-a review. *J. Fish. Biol.* 18:429-442
- HEGGENES, J., O. KROG, O. LINDAS, J. DOKK & T. BREMNES, 1993.** Homeostatic behavioural responses in a changing environment: brown trout (*Salmo trutta*) become nocturnal during winter. *J. Anim. Ecol.* **62**: 295-308.
- HISLOP, E. J. 1980.** Stomach contents analysis - A review of methods and their application. *J. Fish. Biol.*, 17: 411-429.
- JONSSON, N., 1991.** Influence of water flow, water temperature and light on fish migration rivers. *Nordic J. Fresh. Res.*, 66: 20-35.
- JORGENSEN, J. & BERG, S., 1991.** Stoking experiments with 0+ trout parr, *Salmo trutta* L., of wild and hatchery origin: Post-stocking movements. *J. Fish. Biol.* 39: 171-180.
- McMICHAEL, G, T. PERSONS & S. LEIDER, 1999.** Behavioural interactions among hatchery-reared steelhead smolts and wild *O. mykiss* in natural streams. *N. Am. J. Fish. Manage.* **19**: 948-956.
- METCALFE, N.B., N.H. FRASER & M. BURNS, 1999.** Food availability and the nocturnal vs. diurnal foraging trade-off in juvenile salmon. *J. Anim. Ecol.* **68**: 371-381.

NASLUND, I., 1998. Survival and dispersal of hatchery-reared brown trout, *Salmo trutta*, released in small streams. *In: Stocking and Introduction of Fish*, I.G. Cowx (Eds), 59-76. Fishing News Books, Oxford.

OVIDIO, M., E. BARAS, D. GOFFAUX, C. BIRTLES, & J.C. PHILIPPART, 1998. Environmental unpredictability rules the autumn migration of brown trout (*Salmo trutta* L.) in the Belgian Ardennes. *Hidrobiologia*. **371/372**: 263-274.

OVIDIO, M., 1999. Cycle annuel d'activité de la truite commune (*Salmo trutta* L.) adulte: Étude par radio-pistage dans un cours d'eau de l'Ardenne Belge. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* **353**: 1-18.

OVIDIO, M., E. BARAS, D. GOFFAUX, F. GIROUX, & J.C. PHILIPPART, 2002. Seasonal variations of activity pattern of brown trout (*Salmo trutta*) in a small stream, as determined by radio-telemetry. *Hidrobiologia* **470**: 195-202.

SHULZ, U. & R. BERG, 1992. Movements of ultrasonic tagged brown trout (*Salmo trutta* L.) in Lake Constance. *J. Fish. Biol.* **40**: 909-917.

YOUNG, M.K., 1994. Mobility of brown trout (*Salmo trutta* L.) in a South-Central Wyoming streams. *Can. J. Zool.* **72**: 2078-2083.

WEISS, S. & SCHMUTZ, S., 1999. Performance of hatchery-reared brown trout and their effects on wild fish in two small Austrian streams. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 128: 302-316.

ANEXOS

1- SUBSTRATO

Código utilizado para o substrato (adaptado de Bovee, 1982)

CÓDIGO	DESCRIÇÃO DO SUBSTRATO
1	Detritos de plantas
2	Materiais finos (argila e silte) < 0,062 mm
3	Areia (0,062-2,0 mm)
4	Seixo pequeno (0,2-4,0 cm)
5	Seixo grosseiro (4,0-7,5 cm)
6	Calhau pequeno (7,5-15 cm)
7	Calhau médio (15-22,5 cm)
8	Calhau grande (22,5-60 cm)
9	Bloco (> 60 cm)
10	Leito rochoso

2- COBERTURA

Código utilizado para a cobertura (adaptado de Bovee, 1982)

CÓDIGO	DESCRIÇÃO DA COBERTURA
1	Sem cobertura
2	Objectos com diâmetro inferior a 150 mm
3	Objectos com diâmetro superior a 150 mm e inferior a 300 mm
4	Objectos com diâmetro superior a 300 mm
5	Vegetação ripícola saliente (<1,5 m da superfície de água)
6	Raízes, troncos submersos, margens escavadas
7	Objectos com diâmetro inferior a 150 mm, com vegetação ripícola saliente
8	Objectos com diâmetro inferior a 150 mm, com raízes ou margens escavadas
9	Objectos com diâmetro superior a 150 mm e inferior a 300 mm, com vegetação ripícola saliente
10	Objectos com diâmetro superior a 150 mm e inferior a 300 mm, com raízes ou margens escavadas
11	Objectos com diâmetro superior a 300 mm, com vegetação ripícola saliente
12	Objectos com diâmetro superior a 300 mm, com raízes ou margens escavadas
13	Superfície turbulenta
14	Vegetação aquática submersa