



Ispas

Instituto Universitário
de Ciências Psicológicas,
Sociais e da Vida

AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA À TEMPERATURA E
SALINIDADE DE *P. PAPILLOSA*, UMA ANÉMONA
POTENCIALMENTE INVASORA

NÚRIA SIMÕES TEIXEIRA

Orientador de Dissertação:
PROF. DOUTORA ANA PEREIRA

Professor de Seminário de Dissertação:
PROF. DOUTOR EMANUEL GONÇALVES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de:
MESTRE EM BIOLOGIA MARINHA E CONSERVAÇÃO

2024

Dissertação de Mestrado realizado
sob a orientação de Prof. Doutora
Ana Pereira, apresentado no ISPA –
Instituto Universitário para obtenção
de grau de Mestre em Biologia
Marinha e Conservação

Agradecimentos

Gostaria de começar por expressar a minha eterna gratidão à professora Ana Pereira, orientadora da presente dissertação, por toda a ajuda, disponibilidade e partilha de conhecimentos. Agradecer ainda pela paciência e por todas as palavras de incentivo e motivação, a sua orientação foi fundamental para a conclusão desta dissertação.

Em seguida, agradecer ao António Roleira, técnico do biotério, por todos os ensinamentos transmitidos e pela disponibilidade. Não posso deixar de agradecer imenso ao meu colega e amigo André pelo apoio, por toda a ajuda, pela paciência e, acima de tudo, pela amizade nos últimos cinco anos.

A toda a minha família agradecer pelo apoio incondicional, por acreditarem e vibrarem com as minhas conquistas. Em especial, agradecer à minha mãe que acreditou desde o primeiro dia que este era o meu caminho e me permitiu viver este meu grande sonho, obrigada.

Um obrigado especial à minha namorada Rita, por ter sido um pilar fundamental ao longo destes últimos anos, obrigado pelo teu amor, paciência e por acreditares em mim mesmo quando eu duvidava. Aos meus amigos e às minhas queridas afilhadas, obrigada por serem um ponto de equilíbrio e força, e por estarem sempre do meu lado.

Por fim, agradecer ao ISPA, a instituição que me acolheu e que se tornou casa. Foi onde ao longo destes últimos anos, cresci, aprendi e acima de tudo onde fui muito feliz. Levo pessoas e memórias para a vida. Agora está na hora de começar a escrever um novo capítulo da minha história.

Obrigada de coração.

Resumo

As invasões biológicas são um fenômeno global que tem vindo a aumentar exponencialmente, sendo uma das principais causas da mudança global. As anémonas-do-mar são consideradas potencialmente invasoras devido às suas características adaptativas. Nativa da costa do Pacífico, *Phymactis papillosa* (Lesson, 1830) foi recentemente introduzida em Portugal, onde está a proliferar ao longo da costa, possivelmente como uma espécie invasora. É crucial estudar as áreas que esta espécie pode colonizar, analisando a sua tolerância a fatores físico-químicos da água, como temperatura e salinidade, para o que experiências de mesocosmos são particularmente úteis. O objetivo principal deste estudo foi avaliar de que forma a temperatura e a salinidade da água influenciam a sobrevivência de *P. papillosa*, estimando o seu potencial de invasão. Em experiências de mesocosmos, indivíduos dos morfotipos vermelho e verde foram expostos a combinações de temperaturas da água (31°C, 27°C, 23°C, 19°C, 15°C) e salinidades (38 psu, 35 psu, 32 psu). Após duas semanas, a taxa de sobrevivência foi avaliada, tendo sido realizadas três réplicas desta experiência. Os resultados mostraram que a temperatura teve um efeito significativo na sobrevivência das anémonas, com a temperatura extrema de 31°C a comprometer a sua sobrevivência. Por outro lado, a salinidade não teve um efeito significativo. Além disso, concluiu-se que a taxa de sobrevivência não depende do morfotipo da anémona estudada.

Palavra-chave: Experiência em Mesocosmos; Distribuição geográfica; Fatores abióticos

Abstrat

Biological invasions are a global phenomenon that has been increasing exponentially, being one of the main causes of global change. Sea anemones are considered potentially invasive due to their adaptive characteristics. Native to the Pacific coast, *Phymactis papillosa* (Lesson, 1830) was recently introduced in Portugal, where it is proliferating along the coast, possibly as an invasive species. It is crucial to study the areas this species can colonize, analyzing its tolerance to the water's physicochemical factors, such as temperature and salinity, for which mesocosm experiments are particularly useful. The main objective of this study was to assess how water temperature and salinity influence the survival of *P. papillosa*, estimating its invasion potential. In mesocosm experiments, individuals of the red and green morphotypes were exposed to combinations of water temperatures (31°C, 27°C, 23°C, 19°C, 15°C) and salinities (38 psu, 35 psu, 32 psu). After two weeks, the survival rate was evaluated, and three replicates of this experiment were performed. The results showed that temperature had a significant effect on the survival of the anemones, with the extreme temperature of 31°C compromising their survival. On the other hand, salinity did not have a significant effect. Additionally, it was concluded that the survival rate does not depend on the morphotype of the studied anemone.

Keyword: Mesocosm experiment; Geographical distribution; Abiotic factors

Índice

Agradecimentos	III
Resumo	IV
Abstrat	V
Lista de Figuras	VII
Lista de Tabelas	VIII
Introdução	9
Materiais e Métodos	12
Recolha de Exemplares	12
Procedimento Experimental	12
Análise de Dados	14
Resultados	15
Discussão	18
Referências	24
Anexos	30
Anexo I - Estado da Arte	30
Espécies Invasoras.....	30
Anémonas enquanto Espécies Invasoras	36
Biologia de <i>Phymactis papilosa</i>	41
Anexo II – Material Suplementar	45

Lista de Figuras

- Figura 1 – Setup Experimental utilizado. As três filas correspondem às salinidades escolhidas (32, 35 e 38 psu) e em cada uma delas há cinco aquários com as diferentes temperaturas escolhidas, representadas com diferentes cores.....11
- Figura 2 – Relação entre a Taxa de Sobrevivência e a Temperatura (Modelo regressão cúbica, $R^2=0,871$).....14
- Figura 3 – Curvas de Sobrevivência a cada tratamento de Temperatura (Método de Kaplan-Meier).....15
- Figura 4 – Mapa Global da Temperatura Potencial da Superfície do Mar. A – janeiro 2024; B – julho 2024 (Fonte: MyOcean by CMS <https://doi.org/10.48670/moi-00016>)16
- Figura 5 - Gráfico de Tendência da Temperatura da Superfície do Mar Mediterrâneo (Fonte: CEAM <https://www.ceam.es/ceamet/SST/SST-trend.html>).....17

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Taxas de sobrevivência das anêmonas, por Temperatura e Salinidade média, nas	três	réplicas	da
experiência.....			13

Introdução

As invasões biológicas são um fenómeno global que tem vindo a aumentar exponencialmente, sendo já consideradas como uma das principais causas da mudança global (Mack *et al.*, 2000; Konecny & Harley, 2019; Pyšek *et al.*, 2020). Este fenómeno ocorre quando espécies exóticas, que são espécies que foram transportadas (naturalmente ou através da ação humana) para novas regiões fora da sua distribuição natural, conseguem estabelecer-se e proliferar descontroladamente passando a representar uma ameaça significativa para a biodiversidade local, tornando-se assim espécies invasoras (González-Duarte *et al.*, 2016; Diagne *et al.*, 2020; Pyšek *et al.*, 2020).

O processo de invasão que conduz uma espécie ao estatuto de espécie invasora compreende quatro fases: transporte, introdução, estabelecimento e disseminação (Glon *et al.*, 2020). A fase do transporte, representa o movimento inicial da espécie exótica para uma nova região fora da sua distribuição nativa, e este processo pode ocorrer naturalmente ou não e neste último caso ser ou não de forma intencional (Glon *et al.*, 2020). Este transporte pode então ocorrer de forma natural, associado à dispersão ativa dos organismos. No entanto, o que se verifica frequentemente é que este processo é facilitado por ações humanas que potencializam e aceleram o transporte e circulação de espécies (Hulme *et al.*, 2008; Pyšek *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021). Estão já descritos diversos vetores de transporte de espécies exóticas mediados por ação humana, sendo o mais frequente no meio marinho o tráfego marítimo global, que compreende o transporte comercial e de turismo (cruzeiros) (Hulme *et al.*, 2008; González-Duarte *et al.*, 2016; Pyšek *et al.*, 2020). Visto este ser um transporte passivo e não intencional de espécies, leva a que haja uma subestimação do número de espécies que são diariamente transportadas. A fase seguinte corresponde à introdução da espécie em um novo local, e é a fase onde as espécies enfrentam grandes desafios até que se consigam estabelecer enquanto invasoras (Glon *et al.*, 2020). É necessário que haja uma tolerância e adaptação às condições locais, e que a espécie persista perante diversas pressões bióticas, como competição, predação e doenças no novo local para se afirmar que se tenha estabelecido (Glon *et al.*, 2020). Após concluir a fase de estabelecimento, a espécie passa pela última fase do processo de invasão que é a disseminação. Nesta fase ocorre a propagação da espécie na área introduzida, e é onde os métodos de reprodução são uma peça chave no processo, potencializando uma disseminação bem-sucedida. A persistência a longo prazo e a ampla distribuição dependem da capacidade da espécie de se propagar eficientemente

ao longo do tempo, aumentando a hipótese de ter sucesso na área introduzida (Glon *et al.*, 2020).

Existem grupos taxonómicos considerados mais suscetíveis a tornarem-se espécies invasoras, de que as anémonas-do-mar são um exemplo particular. Devido às características adaptativas que apresentam, como um elevado potencial de dispersão, diversidade de estratégias reprodutivas aliada a altas taxas de reprodução e uma ampla tolerância a diferentes condições ambientais, os indivíduos deste grupo são capazes de proliferar abundantemente num novo ambiente, independentemente das condições que os rodeiam (Glon *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021).

Em Portugal, especificamente na região de Cascais, foi registada pela primeira vez em 2017 a presença de uma espécie de anémona exótica - *Phymactis papillosa* (Lesson, 1830). A abundância desta espécie na região, desde então, tem vindo a aumentar, com registo da presença de indivíduos de várias classes de tamanho e diferentes morfotipos, o que sugere que esta espécie já estabeleceu populações locais, que está a reproduzir-se e a proliferar (Pereira *et al.*, 2022). Apesar de ainda ser desconhecida a forma exata de introdução desta espécie em Cascais, considerando a elevada distância entre a distribuição nativa de *P. papillosa* e Portugal, segundo Pereira *et al.*, (2022) é provável que esta espécie tenha sido transportada por dispersão passiva associado ao transporte marítimo (incrustação em cascos de navios e/ou águas de lastro).

Phymactis papillosa (Lesson, 1830), é um cnidário nativo da costa rochosa do Pacífico, particularmente da costa do Chile, e atualmente encontra-se amplamente distribuído pela área Centro e Sul da América e também em Portugal (fig. A1) (Häussermann, 2004; Uribe Alzamora *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2022). É uma espécie de anémona característica do intertidal e subtidal, sendo encontrada até aos 16 metros de profundidade, com um tamanho médio, podendo o disco pedal atingir até 100 mm (Häussermann, 2004; Brante & Riquelme, 2019; Pereira *et al.*, 2022). Esta apresenta quatro morfotipo diferentes – vermelho, verde, castanho e azul – e em Portugal já é possível identificar os morfotipos vermelho, verde e castanho, sendo que os mais abundantes são o vermelho e o verde (Häussermann, 2004; Pereira *et al.*, 2022). *P. papillosa* é caracterizada por apresentar reprodução sexuada e reprodução assexuada, realizada especificamente por fissão longitudinal, resultando na formação de indivíduos geneticamente idênticos (Uribe Alzamora *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2022). Assim como outras espécies de anémonas, *Phymactis papillosa* apresenta uma elevada tolerância a condições ambientais, elevado potencial de dispersão, e ainda uma elevada capacidade de

se reproduzir, características que potencializam a ocorrência de invasão aquando da sua chegada a um novo local (Glon *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021).

Devido a estas características, em Portugal verifica-se que a abundância desta espécie está a aumentar localmente, o que indica que provavelmente se trata de uma espécie invasora, assim como Pereira *et al.* (2022) havia referido. Considerando que esta é uma espécie potencialmente invasora que está a proliferar ao longo da costa portuguesa é de extremo interesse estudar quais as zonas que pode esta espécie vir a colonizar. Para prever o potencial de invasão de uma espécie é necessário adquirir conhecimento sobre a sua tolerância a fatores físico-químicos da água, tais como a temperatura e salinidade para o que experiências de mesocosmos são particularmente úteis.

Neste trabalho pretende-se avaliar de que forma é que a temperatura e a salinidade influenciam a sobrevivência de *Phymactis papillosa* em ambiente controlado, através de uma experiência de mesocosmos, de modo a estimar o potencial invasivo desta espécie.

Materiais e Métodos

Recolha de Exemplares

No Cabo Raso (38° 42'33.77"N; 9° 29'11.38"W) a espécie *Phymactis papillosa* é localmente abundante, tendo sido por esse motivo este o local escolhido como local de amostragem para a recolha de indivíduos utilizados no presente trabalho experimental.

Para a recolha dos indivíduos foram realizadas três saídas de campo, sempre no período de maré baixa, e as recolhas ocorreram em diferentes dias como é possível observar na fig. A3, em anexo II. Os indivíduos foram aleatoriamente selecionados, e cuidadosamente retirados do substrato rochoso onde se encontravam, colocados num recipiente com água do mar, e posteriormente transportados até as instalações do Biotério de Organismos Aquáticos do Ispa (no IPMA) onde decorreu o trabalho experimental. Foram recolhidos 100 indivíduos em cada uma das marés realizadas, dos quais 50 indivíduos eram do morfotipo vermelho e os outros 50 indivíduos do morfotipo verde. No total foram utilizados 300 indivíduos da espécie *Phymactis papillosa*.

Aquando da chegada ao Biotério do Ispa os organismos foram colocados num aquário em quarentena e mantido à temperatura ambiente (cerca de 16°C) e salinidade a 35 psu. Este processo de aclimação durou duas semanas, nas quais não foi oferecido qualquer tipo de alimentação aos organismos em estudo, de forma a não comprometer os resultados. A calendarização referente às etapas de recolha de indivíduos, quarentena e período experimental encontra-se apresentada em anexo (Anexo II, fig. A3).

Procedimento Experimental

Após aclimação as anémonas foram separadas aleatoriamente em grupos de seis indivíduos – três indivíduos do morfotipo verde e três do morfotipo vermelho – preferencialmente de tamanhos diferentes, de forma a facilitar uma posterior identificação. Estas foram colocadas em aquários de 22 L, tendo sido atribuído um número de 1 a 15 a cada aquário, para fins de identificação, como é possível observar na fig. 1. Todos os aquários dispunham de um sistema de filtragem e arejamento (Anexo II, tabela A1), e foi necessário adicionar termostatos (aquários: 1,2,3,4,6,7,9,10,11,13,14,15) e refrigeradores (aquários: 5, 8 e 12) em alguns aquários de forma a manipular a temperatura da água (Anexo II, tabela A1). Tendo em conta que o presente trabalho pretende estudar dois fatores em simultâneo – temperatura e salinidade – foi necessário obter combinações de tratamentos entre as temperaturas (31°C, 27°C, 23°C, 19°C, 15°C)

e as salinidades (38 psu, 35 psu, 32 psu) selecionadas para o estudo. Admitiu-se flutuações de 1.5°C para as temperaturas selecionadas. Devido a flutuações no valor de salinidade, considerou-se o valor da salinidade média ao longo dos vários dias de experiência. As combinações de tratamentos (temperatura - salinidade) foram realizadas alterando-se o posicionamento de aquários com a mesma temperatura entre cada fila, reduzindo-se o potencial efeito de variáveis não controladas. Na figura 1 é possível observar a representação do *setup* experimental construído para este estudo.

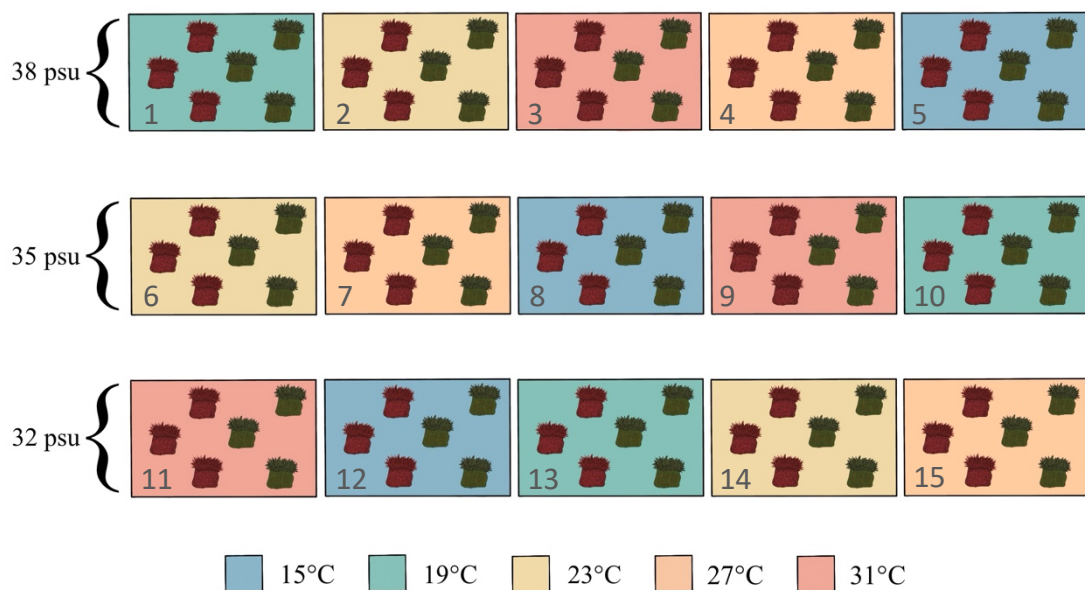


Figura 1 - Setup Experimental utilizado. As três filas correspondem às salinidades escolhidas (32, 35 e 38 psu) e em cada uma delas há cinco aquários com as diferentes temperaturas escolhidas, representadas com diferentes cores.

A gama de temperaturas e salinidades escolhidas no presente estudo, teve como objetivo compreender a capacidade desta espécie de anémone colonizar as zonas adjacentes à costa portuguesa. No caso das temperaturas estas foram selecionadas permitindo simular as condições térmicas do Mar Mediterrâneo e o Mar do Norte, já as salinidades vão de encontro às salinidades apresentadas no Mar Mediterrâneo e nas rias portuguesas (Dias *et al.*, 1999; Newton & Mudge, 2003; Sammartino *et al.*, 2022; CEAM, 2024; Copernicus Marine Service, 2024).

As anémons estiveram sujeitas às condições experimentais durante duas semanas. Durante esse período a temperatura e a salinidade da água de cada aquário foram monitorizadas e ajustadas diariamente, e sempre que necessário foram removidos indivíduos mortos, de modo a não comprometer a estabilidade do aquário. Os aparelhos utilizados para realizar a medição diária da temperatura e salinidade da água estão

presentes em Anexo II, tabela A1. Para cada período experimental foi também registrado a cor de cada anêmona presente nos aquários.

O procedimento experimental foi replicado três vezes, permitindo assim uma análise estatística inferencial. No fim de cada período experimental foi calculada a taxa de sobrevivência dos indivíduos.

Análise de Dados

Para todas as análises estatísticas realizadas foi utilizado o programa estatístico SPSS Statistics versão 29 - IBM Corp. ©.

Como referido anteriormente, tendo sido observadas flutuações na salinidade registrada nas diferentes condições experimentais, optou-se por utilizar a salinidade média observada em cada aquário experimental como variável independente em estudo, para além da temperatura.

De forma a comparar a taxa de sobrevivência das anêmonas de morfotipo verde com a taxa de sobrevivência das anêmonas de morfotipo vermelho, foi utilizado um teste não paramétrico de Wilcoxon. Por outro lado, o efeito da temperatura e da salinidade foram testados na taxa de sobrevivência das anêmonas por aquário, utilizando regressões não lineares, tendo posteriormente sido escolhido o modelo com melhor ajustamento para a análise. Por fim, a análise das curvas de sobrevivência foi realizada utilizando a metodologia de Kaplan-Meier.

Resultados

Na tabela 1 apresentam-se as taxas de sobrevivência das anêmonas, independentemente do seu morfotipo, por temperatura e salinidade média nas três réplicas da experiência. Verifica-se que as taxas de sobrevivência são elevadas nas temperaturas de 15°C a 23°C, baixando ligeiramente a 27°C e muito baixas a 31°C. Aparentemente não se verificam diferenças entre os diferentes níveis de salinidade nas mesmas temperaturas.

Tabela 1 – Taxas de sobrevivência das anêmonas, por Temperatura e Salinidade média nas três réplicas da experiência

Temperatura (°C)	Salinidade Média (máx-min)	Taxa de Sobrevivência (média ± desvio padrão)
15	36,7 - 37,5	100 ± 0
	34,1 - 34,8	100 ± 0
	31,8 - 32,3	88,9 ± 19,2
	<u>Global</u>	96,3 ± 11,1
19	37,3 - 38,4	100 ± 0
	35 - 35,4	94,4 ± 9,6
	30,9 - 32,3	88,9 ± 19,2
	<u>Global</u>	94,4 ± 11,8
23	37,8 - 38,5	94,4 ± 9,6
	34,9 - 35,8	94,4 ± 9,6
	31,9 - 32,5	100 ± 0
	<u>Global</u>	96,3 ± 7,3
27	37,5 - 39,5	72,2 ± 19,2
	35,8 - 36,1	94,4 ± 9,6
	31,6 - 32,9	94,4 ± 9,6
	<u>Global</u>	87,0 ± 16,2
31	38,3 - 39,0	0 ± 0
	35,0 - 38,0	0 ± 0
	32,6 - 34,0	0 ± 0
	<u>Global</u>	0 ± 0

Após realizar o teste não paramétrico de Wilcoxon, para comparar a taxa de sobrevivência de anêmonas verdes e vermelhas por aquário, verificou-se que não havia diferenças significativas entre estas (T=11, p=0,291).

Ao testar o efeito da temperatura e da salinidade na taxa de sobrevivência das anêmonas por aquário, utilizando regressões não lineares, os resultados indicam que apenas a temperatura tem um efeito significativo na taxa de sobrevivência das anêmonas (Anexo II, fig. A4). Este efeito significativo é independente do modelo utilizado, seja ele linear, logarítmico, inverso, quadrático ou cúbico (Anexo II, fig. A4). No entanto, o modelo cúbico foi o modelo que melhor se ajustou aos dados ($z(2,42) = 142,353$; $p < 0,001$; $r^2 = 0,871$) (Fig. 2) (Anexo II, tabela 2).

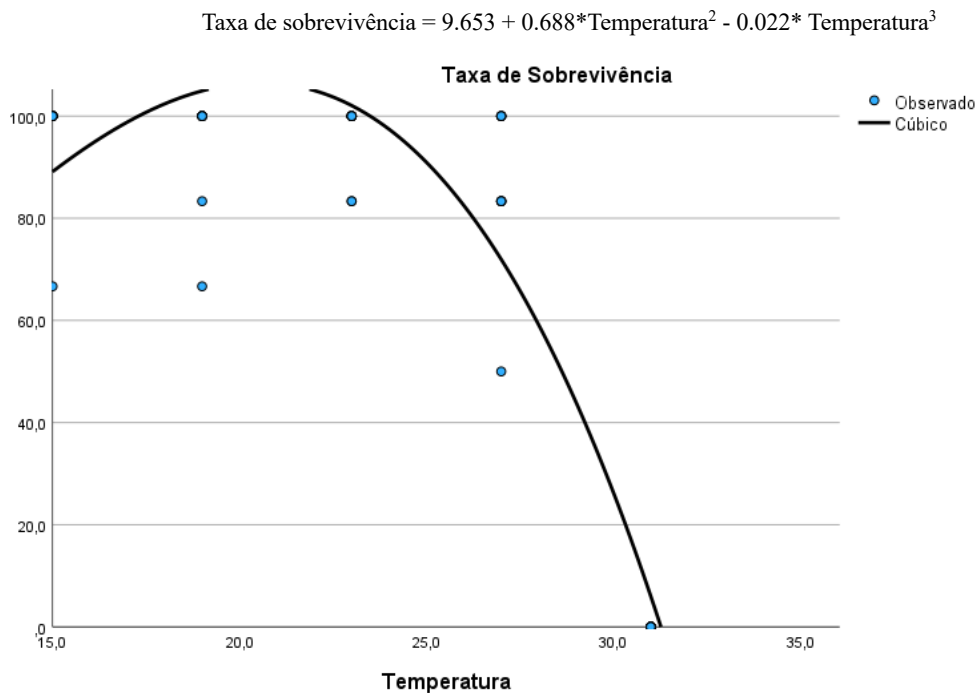


Figura 2 – Relação entre a Taxa de Sobrevivência e a Temperatura (Modelo regressão cúbica, $R^2=0,871$)

A análise das curvas de sobrevivência foi realizada utilizando a metodologia de Kaplan-Meier. O gráfico obtido (Fig. 3) apresenta as curvas de sobrevivência das anêmonas sob diferentes condições – Tempo até morrer em dias e Temperatura a que a anêmona esteve sujeita.

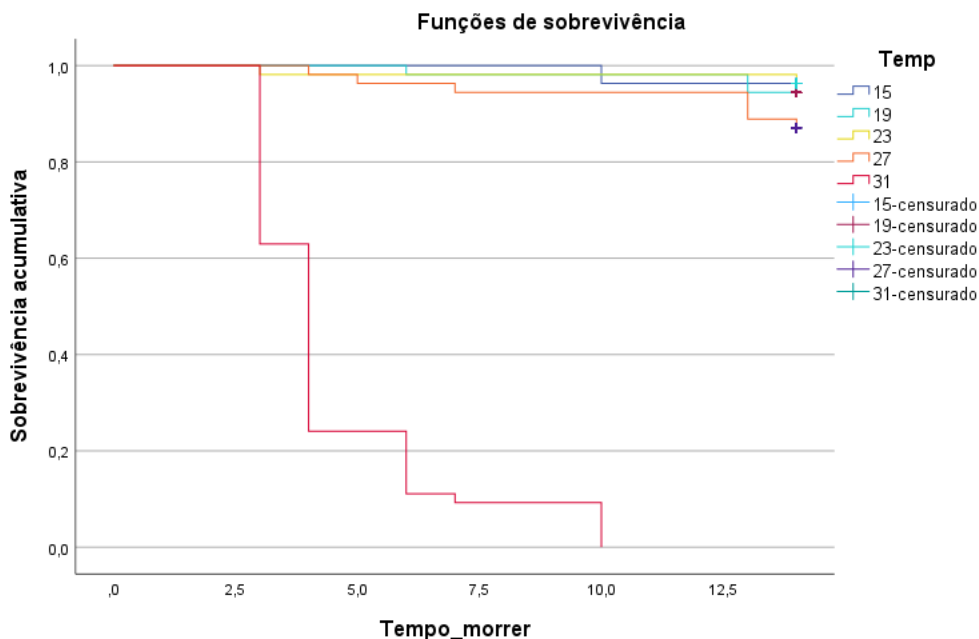


Figura 3 - Curvas de Sobrevivência a cada tratamento de Temperatura (Método de Kaplan-Meier)

As curvas de sobrevivência ilustram a probabilidade de sobrevivência das anêmonas ao longo do tempo. Comparando os diferentes grupos de temperaturas, é possível notar que a uma temperatura de 31°C há uma diminuição na sobrevivência das anêmonas a partir do terceiro dia. Ao quarto dia, nesta condição experimental, a probabilidade de sobrevivência é menor que 50%. As anêmonas sujeitas às temperaturas 15°C, 19°C e 23°C apresentam uma maior probabilidade de sobrevivência até ao final da experiência, e as anêmonas a 27°C tem uma probabilidade de sobrevivência equivalente às das temperaturas menores, decrescendo ligeiramente no final da experiência.

Para avaliar se as diferenças observadas entre as curvas de sobrevivência são estatisticamente significativas, foi realizado o teste de Log-Rank, que compara a probabilidade de sobrevivência por grupo. Os resultados indicam que $X^2 = 345,408$, $p = < 0,001$, sugerindo que há diferenças significativas na sobrevivência entre os grupos.

Discussão

Os resultados obtidos mostraram que a temperatura tem um efeito significativo na sobrevivência desta espécie. Para as temperaturas 15°C, 19°C e 23°C verificou-se a sobrevivência dos exemplares em estudo, no caso da temperatura a 27°C houve uma ligeira diminuição ao nível da sobrevivência dos indivíduos e só a 31°C é que se verificou haver um comprometimento na sobrevivência desta espécie, nomeadamente ao fim de três dias de exposição a essa temperatura. Este resultado sugere que o limite de tolerância máxima desta espécie corresponde aos 31°C, sendo que, segundo o modelo estudado, a 29°C apenas 50% das anémonas conseguem sobreviver. Tendo em conta os resultados obtidos é possível afirmar que *P. papillosa* tem preferência por temperaturas mais baixas, tolerando temperaturas até aos 15°C, sendo por isso espectável que haja a possibilidade de colonização de locais que registem estas temperaturas, por exemplo o Golfo da Biscaia (fig.4).

Na figura 4 é possível observar o mapa global da temperatura da superfície do mar no inverno (fig.4A) e o verão europeu (fig.4B) referentes ao ano de 2024. Ao analisar a gama de temperaturas registadas para Portugal é possível observar que na costa portuguesa são registadas as temperaturas onde se provou a tolerância de *P. papillosa* sendo essa a razão pela qual esta se estabeleceu nesta zona e continua a proliferar, tendo já sido avistada ao longo de toda a costa de Cascais, a norte até Peniche e ainda na costa alentejana (INaturalist. Org.). Esta espécie no local onde é nativa, está sujeita a uma gama de temperaturas que vai ao encontro dos resultados obtidos que revelaram altas taxas de sobrevivência a essas mesmas temperaturas. Tendo em conta a similaridade entre as temperaturas do local onde *P. papillosa* é nativa e a costa portuguesa (ainda que em períodos inversos) esta facilita a invasão desta espécie. No Mar Mediterrâneo as temperaturas da água sofrem grandes flutuações entre o inverno e o verão, como é possível observar nas figuras 4 e 5. Essas flutuações podem ter cerca de 10 graus Celsius de diferença, sendo que a tendência ao longo dos anos é que devido ao aquecimento global haja um aumento progressivo da temperatura (fig.5). Atualmente para o Mar Mediterrâneo são registados valores entre os 16°C e os 28°C (fig.5), sendo que no verão em certas zonas a temperatura pode ser superior aos 28°C (fig.4B). Tendo em conta estes valores de temperatura e os resultados obtidos, a presença de *P. papillosa* no Mar Mediterrâneo fica bastante comprometida na altura do verão devido às altas temperaturas. Mesmo conseguindo tolerar as temperaturas mais baixas registadas no inverno, com o aumento da temperatura no verão e segundo o modelo estudado, uma exposição de 3-4 dias a altas temperaturas diminuiria a taxa de sobrevivência para 50% e 0%, valores que comprometem o estabelecimento da espécie nesta zona. É importante realçar que o presente estudo teve a duração de apenas duas semanas, e mesmo não tendo sido observada mortalidade em indivíduos mantidos a certas

temperaturas, não é certo que se forem mantidos durante mais tempo a essas mesmas temperaturas iriam conseguir sobreviver. Isto porque o comprometimento na sobrevivência da espécie pode não ser imediato, mas pode ocorrer a longo prazo. Considerando as temperaturas altas no período de verão, sendo esse um período de exposição muito superior ao testado nesta experiência, pode ter um efeito diferente na sobrevivência dos indivíduos e consequentemente no processo de invasão da espécie.

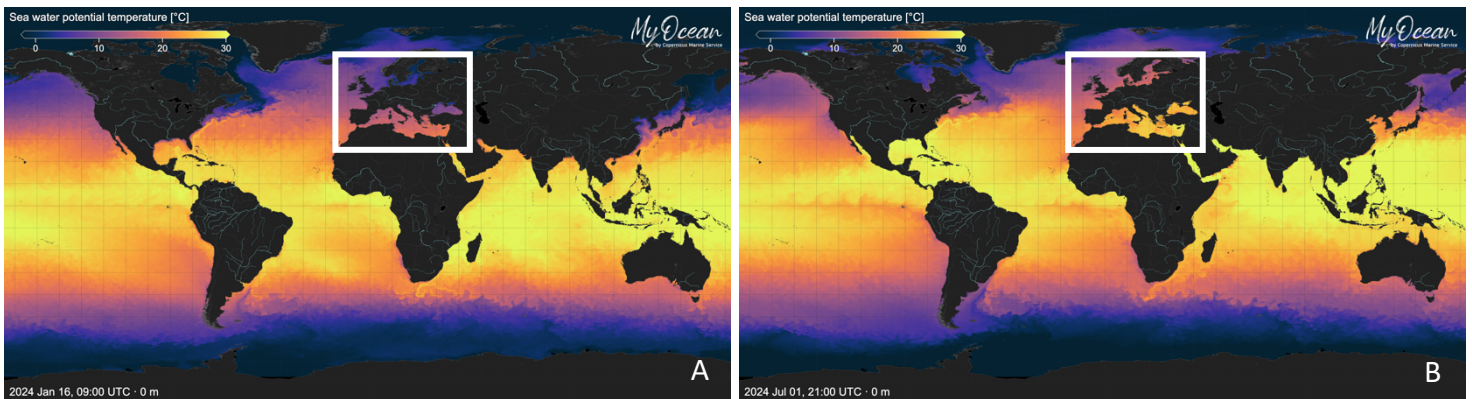


Figura 4 – Mapa Global da Temperatura Potencial da Superfície do Mar para o ano de 2024. A – janeiro 2024, correspondente ao inverno europeu; B – julho 2024, correspondente ao verão europeu. O quadrado branco delimita a área compreendida pela gama de temperaturas escolhida no presente estudo (Fonte: MyOcean by CMS <https://doi.org/10.48670/moi-00016>)

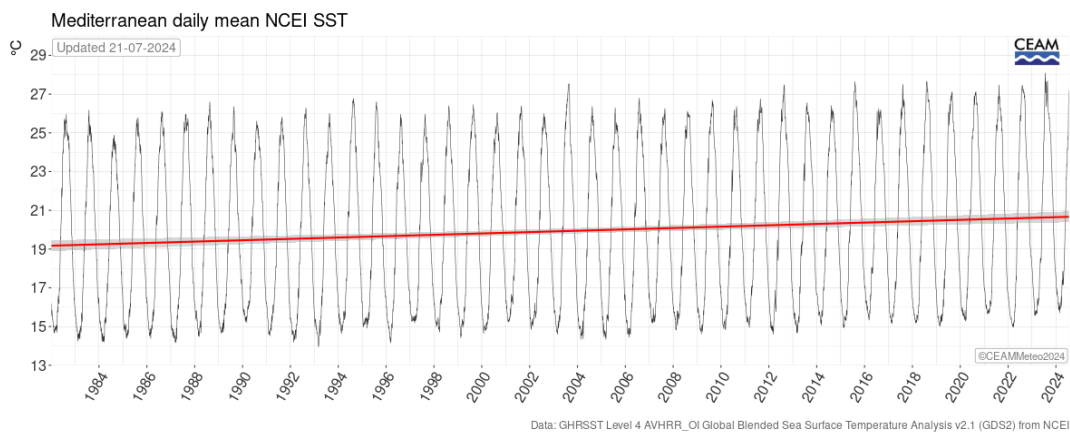


Figura 5 - Gráfico de Tendência da Temperatura da Superfície do Mar Mediterrâneo (Fonte: CEAM <https://www.ceam.es/ceamet/SST/SST-trend.html>)

Em relação ao estudo da salinidade, não houve um efeito significativo na sobrevivência das anêmonas, pelo que se considera que esta espécie é tolerante à gama de salinidades estudada, sendo que esta não influencia a sobrevivência da espécie. Uma vez que a tolerância à salinidade desta espécie compreende a gama de salinidades escolhida - 32 psu, 35 psu, e 38 psu – é possível que esta espécie seja capaz de colonizar

desde ambientes oceânicos a zonas de rias. Por este motivo seria espectável a presença desta espécie na zona do mar Mediterrâneo, por apresentar uma salinidade de aproximadamente 38 psu, salinidade que se provou que esta espécie tolera (Sammartino *et al.*, 2022). Apesar disso o fator temperatura também tem influência sobre o potencial de invasão da espécie, e como é apresentado anteriormente, o potencial de invasão desta espécie para o Mediterrâneo é limitado pela temperatura registada na altura do verão. Em Portugal, existem dois grandes sistemas lagunares: a Ria de Aveiro e a Ria Formosa (Newton & Mudge, 2003). Estas registam valores de salinidade de (0-35,1) e (12,7-36,5) respetivamente (Dias *et al.*, 1999; Newton & Mudge, 2003). Seria então possível que *P. papillosa* colonizasse qualquer uma destas rias, mas, apesar de apresentarem um valor de salinidade dentro da gama de tolerância desta espécie, no tipo de substrato destes locais não é espectável observar indivíduos desta espécie. Esta é uma espécie com preferência por substrato rochoso (Uribe Alzamora *et al.*, 2013), pelo que locais com ausência deste tipo de substrato dificilmente serão colonizados por esta espécie, que é o caso das rias de Aveiro e Formosa em que o substrato predominante é composto por sedimentos móveis (Dias *et al.*, 1999; Newton & Mudge, 2003). Considerando a estrutura da costa portuguesa esta encontra-se dividida em três zonas – norte, centro e sul – e compreende vários tipos de rocha que formam os substratos intertidais. Na região Norte de Portugal, desde Moledo do Minho até à Aguda, os litorais rochosos são predominantemente graníticos, exceto em Vila Chã, onde predominam plataformas rochosas constituídas por xistos. A zona central do litoral é composta por calcários e calcários arenosos, apresentando superfícies que variam de lisas a irregulares. Na costa sudoeste e parte da costa sul, os xistos são a rocha predominante, sendo substituídos por calcários arenosos a leste da costa sul (Boaventura *et al.*, 2002). Para um local ser considerado como possível de invadir por qualquer que seja a espécie, é importante considerar não só as características físico-químicas da água como temperatura e salinidade, os limites de tolerância da espécie em questão, mas também as condições a nível estrutural que o local oferece (como o tipo de substrato).

Este trabalho é pioneiro no que diz respeito a estudar a influência da temperatura e salinidade na espécie *P. papillosa*, e através dos resultados obtidos foi possível avaliar o potencial invasor desta espécie, concluindo que este é bastante elevado. Apesar da espécie *P. papillosa* não ter sido ainda estudada nestes moldes, existem já descritos na literatura alguns estudos similares com outras espécies de anémonas, nomeadamente *Diadumene lineata* e *Metridium senile*. Podbielski *et al.*, (2016) estudou, durante 4 semanas, o efeito da salinidade no potencial de invasão da espécie *D. lineata* utilizando

as salinidades 7, 14, 24 e 34 psu. Este autor observou que à salinidade de 34 psu não houve um comprometimento da aptidão individual dos organismos estudados, tendo sido registado um crescimento somático e populacional máximo a essa salinidade. Este resultado vai ao encontro dos resultados obtidos para *P. papillosa* que não demonstrou que houvesse diferenças significativas na taxa de sobrevivência para salinidades próximas a 34 psu. No entanto, neste mesmo estudo, foi ainda possível verificar que à salinidade de 14 psu houve uma redução moderada na aptidão das anémons, e uma redução total na aptidão da anémone quando sujeita à salinidade de 7 psu. Estes resultados indicam que a espécie *D. lineata* demonstra ter uma forte tolerância a salinidades salobras, assim como *P. papillosa*, mas revela ainda o limite fisiológico da espécie em salinidades entre 14 e 7 psu, fator que restringe uma expansão da espécie para o Mar Báltico (salinidade média 7). O mesmo se verificou no estudo de Konecny & Harley (2019) onde a sobrevivência de indivíduos de *D. lineata* foi significativamente correlacionada com a salinidade. Verificaram que a salinidades de 10 e 15 psu houve altos níveis de sobrevivência, que diminuíram quando os indivíduos eram sujeitos a salinidade de 2.5 e 5 psu. A uma salinidade igual ou inferior a 2 psu não foram registados quaisquer níveis de sobrevivência. Estes resultados confirmam a forte tolerância de *D. lineata* e indicam que a sua tolerância é limitada a salinidades mais baixas. Glon *et al.*, (2019) através de uma experiência de mesocosmos, testaram, durante 40 dias, a capacidade de sobrevivência de *Metridium senile* a temperaturas de 17, 20, 24 e 27,5°C e o seu limite de sobrevivência para salinidades de 5, 15, 30, 37 e 45 psu. Estes autores concluíram, assim como para *P. papillosa*, que a temperatura teve um efeito significativo na sobrevivência dos indivíduos desta espécie, sendo que houve uma sobrevivência elevada para as temperaturas de 17°C e 20°C, com diminuição a 24°C e 27,5°C. A gama de temperaturas escolhidas do estudo de Glon *et al.*, (2019), é semelhante às temperaturas utilizadas no presente estudo, e assim como *P. papillosa* a espécie *Metridium senile* parece preferir temperaturas mais frias, dentro da gama estudada. Por outro lado, concluíram que a salinidade teve um efeito significativo, contrariamente ao presente estudo. Verificou-se uma elevada sobrevivência para a salinidade de 30 psu, diminuindo ligeiramente a sobrevivência a salinidades de 15 e 37 psu e com uma forte diminuição para os valores extremos de salinidade estudados de 5 e 40 psu. Apenas o valor de 37 psu se encontra no intervalo de salinidades estudada para *P. papillosa*, e os resultados não são compatíveis, uma vez que para *M. senile* houve uma diminuição da sua sobrevivência a essa salinidade e para *P. papillosa* não se verificou qualquer influencia na sua sobrevivência.

Os estudos apresentados consideraram valores de salinidade bastante inferiores aos utilizados no presente estudo, pelo que seria vantajoso que futuramente se estudasse uma gama mais ampla de salinidades, para melhor compreender o valor limite de salinidade a partir do qual há uma influência/ comprometimento na sobrevivência dos indivíduos da espécie *P. papillosa*. Seria vantajoso estudar a gama de salinidades das zonas de rio e/ou estuário que estejam associadas a portos e marinas, uma vez que os principais vetores de transporte destes indivíduos são o transporte marítimo (Pereira *et al.*, 2022), em que há uma grande probabilidade de colonização destas estruturas por fornecem um substrato artificial indicado para a fixação desta espécie. Ao se provar que esta espécie de anémone tolera baixas salinidades e que, por isso, tem capacidade para colonizar zonas portuárias, é possível que haja uma potencialização da invasão para outras zonas associado a embarcações de recreio, por exemplo.

Devido à falta de informação que ainda existe sobre *P. papillosa*, é necessário realizar mais estudos com esta espécie. Estudos futuros devem avaliar uma maior gama de temperaturas, especificamente abaixo dos 15°C, pois através deste estudo concluiu-se que esta espécie tem a capacidade de sobreviver a 15°C, mas o limite inferior da tolerância térmica ficou ainda por determinar. As temperaturas do Mar do Norte no inverno são inferiores a 15°C (fig.4A), pelo que o estudo de valores mais baixos de temperatura irá permitir compreender se *P. papillosa* teria capacidade para colonizar esse local. Compreender quais os potenciais locais de invasão é de extremo interesse, uma vez que a introdução de uma espécie num novo local pode trazer consequências ao nível das espécies nativas e do ecossistema, e ainda devido à dificuldade de controlo e mitigação dessas introduções (Glon *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2022). Nestes casos em que o controlo e mitigação são tão complicados ou mesmo impossíveis toda a informação sobre o potencial de invasão das espécies é útil para impedir ou gerir a sua chegada a um novo local.

É de referir que as anémonas-do-mar enquanto organismos presentes na zona intertidal apresentam uma elevada tolerância a variações ambientais, e neste estudo as comuns flutuações características da zona intertidal não foram consideradas. Para estudos futuros seria também importante considerar aspetos fisiológicos/metabólicos (condição e stress) e ainda aspetos reprodutivos das anémonas, de forma a obter mais informação sobre a condição dos organismos às diferentes temperaturas. É importante perceber, por exemplo se à temperatura de 15°C existe algum tipo de reprodução, visto a capacidade de reprodução ser um fator crucial para o sucesso de uma invasão.

Este é o primeiro trabalho que cumpriu com o objetivo de documentar a influência da temperatura e da salinidade da água na sobrevivência de *Phymactis papillosa*, de modo a estimar o potencial de invasão desta espécie. Através deste trabalho foi possível concluir que só a temperatura extrema de 31°C mostrou comprometer a sobrevivência desta espécie. Verificou-se que o potencial de invasão de *P. papillosa* é particularmente elevado para temperaturas entre os 15°C e os 23°C e que esta espécie é tolerante à gama de salinidades estudada, sendo que esta não influencia a sobrevivência da espécie. O conhecimento obtido neste estudo, ainda que seja preliminar, permitiu avançar no conhecimento sobre esta espécie considerada como potencialmente invasora. Dada a importância e as consequências das espécies invasoras, qualquer conhecimento que se obtenha sobre as mesmas é de extremo interesse, pois possibilita uma previsão do seu comportamento e expansão.

Referências

Bellard, C., Cassey, P., & Blackburn, T. M. (2016). Alien species as a driver of recent extinctions. *Biology letters*, *12*(2), 20150623.

Blackburn, T. M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J. T., Duncan, R. P., Jarošík, V., ... & Richardson, D. M. (2011). A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in ecology & evolution*, *26*(7), 333-339.

Boaventura, D., Ré, P., Cancela da Fonseca, L., & Hawkins, S. J. (2002). Intertidal rocky shore communities of the continental Portuguese coast: analysis of distribution patterns. *Marine Ecology*, *23*(1), 69-90.

Bocharova, E. (2016). Reproduction of sea anemones and other hexacorals. *The Cnidaria, past, present and future: The world of Medusa and her sisters*, 239-248.

Brante, A., Riera, R., & Riquelme, P. (2019). Aggressive interactions between the invasive anemone *Anemonia alicemartinae* and the native anemone *Phymactis papillosa*. *Aquatic Biology*, *28*, 127-136

Butchart, S. H., Walpole, M., Collen, B., Van Strien, A., Scharlemann, J. P., Almond, R. E., ... & Watson, R. (2010). Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, *328*(5982), 1164-1168.

CBD (Convention on Biological Diversity). 2000. Alien species that threaten ecosystems, habitats or species, as adopted by Conference of the Parties 5 Decision V/8. Viewed march 2024. <https://www.cbd.int/decisions/cop/5/8>

Copernicus Marine Service. (n.d.). Global ocean analysis and forecast. Copernicus Marine Service. View july 2024. https://data.marine.copernicus.eu/product/GLOBAL_ANALYSISFORECAST_PHY_001_024/description

Crossland, N. O., & La Point, T. W. (1992). The design of mesocosm experiments. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 11(1), 1-4.

Diagne, C., Leroy, B., Gozlan, R. E., Vaissière, A. C., Assailly, C., Nuninger, L., ... & Courchamp, F. (2020). InvaCost, a public database of the economic costs of biological invasions worldwide. *Scientific data*, 7(1), 277.

Dias, J. M., Lopes, J., & Dekeyser, I. (1999). Hydrological characterisation of Ria de Aveiro, Portugal, in early summer. *Oceanologica Acta*, 22(5), 473-485.

European Commission. (s.d.). Invasive alien species. Viewed april 2024 https://environment.ec.europa.eu/topics/nature-and-biodiversity/invasive-alien-species_en

Falkenberg, L. J., Russell, B. D., & Connell, S. D. (2016). Design and performance evaluation of a mesocosm facility and techniques to simulate ocean acidification and warming. *Limnology & Oceanography, Methods*, 14(4), 278–291.

Fautin, D. G., Hickman, C. P., Daly, M., & Molodtsova, T. (2007). Shallow-Water Sea Anemones (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria) and Tube Anemones (Cnidaria: Anthozoa: Ceriantharia) of the Galápagos Islands. *Pacific Science*, 61(4), 549-573.

Fletcher, C., da Conceicao, L. P., & Darwin Tree of Life Consortium. (2023). The genome sequence of the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis* (Stephenson, 1935). *Wellcome Open Research*, 8(79), 79.

Floerl, O., Inglis, G. J., & Hayden, B. J. (2005). A risk-based predictive tool to prevent accidental introductions of nonindigenous marine species. *Environmental management*, 35, 765-778.

Fordham, D. A. (2015). Mesocosms reveal ecological surprises from climate change. *PLoS Biology*, 13(12), e1002323.

Fundación CEAM. (n.d.). Sea surface temperature trend. CEAMET. View July 2024
<https://www.ceam.es/ceamet/SST/SST-trend.html>

Gallardo, B., Aldridge, D. C., González-Moreno, P., Pergl, J., Pizarro, M., Pyšek, P., ... & Vilà, M. (2017). Protected areas offer refuge from invasive species spreading under climate change. *Global change biology*, 23(12), 5331-5343.

GBIF. (n.d.). *Phymactis papillosa* (Lesson, 1830). GBIF. View December 2023
<https://www.gbif.org/pt/species/2256771>

Gimenez, L. H., Battini, N., Gonzalez-Munoz, R., & Glon, H. (2023). Invader in disguise for decades: the plumose sea anemone *Metridium senile* in the Southwestern Atlantic Ocean. *Biological Invasions*, 1-15.

Gimenez, L. H., & Brante, A. (2021). Do non-native sea anemones (Cnidaria: Actiniaria) share a common invasion pattern? - A systematic review. *Aquatic Invasions*, 16(3), 365–390.

Gimenez, L. H., Rivera, R. J., & Brante, A. (2022). One step ahead of sea anemone invasions with ecological niche modeling: Potential distributions and niche dynamics of three successful invasive species. *Marine Ecology Progress Series*, 690, 83-95.

Glon, H., Daly, M., Carlton, J. T., Flenniken, M. M., & Currimjee, Z. (2020). Mediators of invasions in the sea: life history strategies and dispersal vectors facilitating global sea anemone introductions. *Biological Invasions*, 22(11), 3195-3222.

Glon, H., Haruka, Y., Daly, M., & Nakaoka, M. (2019). Temperature and salinity survival limits of the fluffy sea anemone, *Metridium senile* (L.), in Japan. *Hydrobiologia*, 830, 303-315.

González-Duarte, M. M., Megina, C., López-González, P. J., & Galil, B. (2016). Cnidarian alien species in expansion. *The Cnidaria, Past, Present and Future: The world of Medusa and her sisters*, 139-160.

Häussermann, V. (2004). Re-description of *Phymactis papillosa* (Lesson, 1830) and *Phymanthea pluvia* (Drayton in Dana, 1846)(Cnidaria: Anthozoa), two common actiniid sea anemones from the south east Pacific with a discussion of related genera. *Zoologische Mededelingen*, 78, 345-381.

Häussermann, V., Molinet, C., Díaz Gómez, M., Försterra, G., Henríquez, J., Espinoza Cea, K., ... & Subiabre Mena, D. (2022). Recent massive invasions of the circumboreal sea anemone *Metridium senile* in North and South Patagonia. *Biological Invasions*, 24(12), 3665-3674.

Hulme, P. E., Bacher, S., Kenis, M., Klotz, S., Kühn, I., Minchin, D., ... & Vilà, M. (2008). Grasping at the routes of biological invasions: a framework for integrating pathways into policy. *Journal of Applied Ecology*, 45(2), 403-414.

iNaturalist. (n.d.). Observations of *Phymactis papillosa*. iNaturalist. Viewed July 2024 https://www.inaturalist.org/observations?place_id=any&subview=map&taxon_id=195551

Konecny, C. A., & Harley, C. D. (2019). The distribution of the orange-striped green anemone, *Diadumene lineata*, in relation to environmental factors along coastal British Columbia, Canada. *Invertebrate Biology*, 138(4), e12268.

Lovich, J. E., & Yamamoto, K. (2016). Measuring the impact of invasive species on popular culture: A case study based on toy turtles from Japan. *Humans and Nature*, 27, 1-11.

Mack, R. N., Simberloff, D., Mark Lonsdale, W., Evans, H., Clout, M., & Bazzaz, F. A. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10(3), 689-710.

Mi, C., Ma, L., Yang, M., Li, X., Meiri, S., Roll, U., ... & Du, W. (2023). Global protected areas as refuges for amphibians and reptiles under climate change. *Nature Communications*, 14(1), 1389.

Molnar, J. L., Gamboa, R. L., Revenga, C., & Spalding, M. D. (2008). Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(9), 485-492.

Newton, A., & Mudge, S. M. (2003). Temperature and salinity regimes in a shallow, mesotidal lagoon, the Ria Formosa, Portugal. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57(1-2), 73-85.

Pereira, A. M., Silva, M. M., & Mateus, O. (2022). First record of *Phymactis papillosa* (Lesson, 1830), a Pacific south sea anemone in European shores. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 102(5), 350-353.

Podbielski, I., Bock, C., Lenz, M., & Melzner, F. (2016). Using the critical salinity (S crit) concept to predict invasion potential of the anemone *Diadumene lineata* in the Baltic Sea. *Marine Biology*, 163, 1-15.

Pyšek, P., Hulme, P. E., Simberloff, D., Bacher, S., Blackburn, T. M., Carlton, J. T., ... & Richardson, D. M. (2020). Scientists' warning on invasive alien species. *Biological Reviews*, 95(6), 1511-1534.

Sammartino, M., Aronica, S., Santoleri, R., & Buongiorno Nardelli, B. (2022). Retrieving Mediterranean sea surface salinity distribution and interannual trends from multi-sensor satellite and in situ data. *Remote Sensing*, 14(10), 2502.

Santos, H. B. D. (2020). *Distribuição espaço-temporal e estresse termo-salino na anêmona-do-mar *Anthopleura krebsi* (Cnidaria: Actiniidae)* (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba). Repositório UFPB. <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/18472>

Secretariat of the Convention on Biological Diversity. (2018). Report of the Conference of the Parties to the Convention on Biological Diversity on its fourteenth meeting (Vol. 14). Sharm El-Sheikh, Egypt, 17-29 November 2018. Retrieved from <https://www.cbd.int/doc/c/1081/32db/e26e7d13794f5f011cc621ef/cop-14-14-en.pdf>

Stewart, R. I., Dossena, M., Bohan, D. A., Jeppesen, E., Kordas, R. L., Ledger, M. E., ... & Woodward, G. (2013). Mesocosm experiments as a tool for ecological climate-change research. *Advances in ecological research*, 48, 71-181.

Sy, M., Keenleyside, K., Adare, K., Reader, B., Plante, M., & Deering, P. (2009). Protecting native biodiversity from high-impact invasive species through the protected areas of Parks Canada. *Biodiversity*, 10(2-3), 51-55.

Utrilla, O., Castro-Claros, J. D., Urra, J., Navas, F. D., & Salas, C. (2019). Reproduction of the anthozoan *Anemonia sulcata* (Pennant, 1777) in southern Spain: from asexual reproduction to putative maternal care. *Marine Biology*, 166, 1-14.

Uribe Alzamora, R., Rubio Rodríguez, J., Carbajal Enzian, P., & Berrú Paz, P. (2013). *Invertebrados marinos bentónicos del litoral de la Región Áncash, Perú*. Instituto del Mar del Perú (IMARPE).

Van Kleunen, M., Essl, F., Pergl, J., Brundu, G., Carboni, M., Dullinger, S., ... & Dehnen-Schmutz, K. (2018). The changing role of ornamental horticulture in alien plant invasions. *Biological Reviews*, 93(3), 1421-1437.

Watson, J. E., Dudley, N., Segan, D. B., & Hockings, M. (2014). The performance and potential of protected areas. *Nature*, 515(7525), 67-73.

Widdicombe, S., Dupont, S., & Thorndyke, M. (2010). Laboratory experiments and benthic mesocosm studies. Guide to Best Practices for Ocean Acidification Research and Data Reporting, Luxembourg Publications Office of the European Union, Luxembourg, 113-122.

Xiong, W., Li, H., & Zhan, A. (2016). Early detection of invasive species in marine ecosystems using high-throughput sequencing: technical challenges and possible solutions. *Marine Biology*, 163, 1-12.

Anexos

Anexo I - Estado da Arte

Espécies Invasoras

As invasões biológicas têm vindo a aumentar exponencialmente em vários locais, de tal forma que são já apontadas como uma das principais causas da mudança global à qual se está atualmente a assistir (Mack *et al.*, 2000; Konecny & Harley, 2019). Nos últimos 50 anos verificou-se um aumento colossal no número de listas nacionais de organismos invasores contando, já em 2015, com mais de 18.000 espécies (Pyšek *et al.*, 2020). No entanto, apesar da importância deste acontecimento, que ocorre à escala global, o conhecimento que se tem sobre o tema das espécies invasoras no geral é bastante reduzido. O facto de se viver num mundo cada vez mais conectado acarreta consequências inevitáveis que necessitam de ser estudadas e compreendidas de forma a prever potenciais invasões e criar medidas de gestão e mitigação das mesmas (Molnar *et al.*, 2008; Pyšek *et al.*, 2020; Gimenez *et al.*, 2023).

De forma a compreender o que são espécies invasoras, é importante esclarecer primeiramente a diferença entre espécies exóticas e espécies invasoras. As espécies exóticas são espécies que foram transportadas, de forma natural ou maioritariamente por ação humana, para uma nova região fora da sua distribuição natural, quebrando as suas barreiras biogeográficas, de forma intencional ou não (González-Duarte *et al.*, 2016; Pyšek *et al.*, 2020). Estas espécies podem tornar-se espécies invasoras se, ao serem introduzidas, tiverem a capacidade de se estabelecer e proliferar, reproduzindo-se regularmente e formando populações estabelecidas que se integram e persistem neste novo ambiente, representando uma ameaça para a biodiversidade, a sociedade e/ou a economia (Mack *et al.*, 2000; Molnar *et al.*, 2008; González-Duarte *et al.*, 2016; Pyšek *et al.*, 2020; Diagne *et al.*, 2020). Existem espécies consideradas mais suscetíveis a tornarem-se espécies invasoras, estando tal facto relacionado com as características biológicas e ecológicas que estas apresentam. Aspectos da história de vida das espécies, como o tipo de reprodução, o nível de dispersão e a sua tolerância/resiliência são fatores que determinam o sucesso de uma invasão, e por essa razão é necessário dar uma atenção especial ao estudo de todos estes aspetos (Glon *et al.*, 2020).

Segundo Blackburn *et al.* (2011), citado em Glon *et al.*, (2020), as invasões biológicas ocorrem segundo um processo com quatro estágios, sendo que cada um deles

desempenha um papel crucial no processo de invasão. O primeiro estágio, o transporte, representa o movimento inicial da espécie exótica para uma nova região, e este processo pode ocorrer naturalmente ou não, e neste último caso ser ou não intencional (Glon *et al.*, 2020). O transporte pode ocorrer de forma natural, associado à dispersão ativa dos organismos, ocorrendo uma expansão da distribuição de uma determinada espécie (associada ao processo de reprodução com a libertação de células sexuais por exemplo). No entanto, o que se verifica frequentemente é que este processo é facilitado por ações humanas que potencializam e aceleram o transporte e circulação de espécies (Hulme *et al.*, 2008; Pyšek *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021). Hulme *et al.*, (2008) descreveu um conjunto de mecanismos de transporte de espécies exóticas, todos eles de forma direta ou indireta com relação com o ser humano. É possível separar as vias de transporte em intencionais e não intencionais, considerando como intencional os casos de libertação deliberada de espécies em locais onde estas não são nativas (por exemplo, a libertação de animais de estimação como cães – Lovich & Yamamoto, 2016) e ainda os eventos de fuga ou libertação não intencional associados a ambientes de cativeiro (como por exemplo a de plantas ornamentais – Van Kleunen *et al.*, 2018). Locais que mantêm animais em cativeiro, possuem organismos que nem sempre são oriundos do local onde estão a ser mantidos, o que pode potencializar uma invasão dessas espécies em caso de fuga. Este aspeto verifica-se em ambiente terrestre, como em zoológicos que possuem uma coleção de organismos de diferentes locais do mundo, mas também no ambiente marinho, especialmente, com o aumento das estruturas de aquacultura *offshore* (González-Duarte *et al.*, 2016; Pyšek *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021). Neste último caso as espécies escolhidas toleram uma ampla gama de temperaturas o que as torna potencialmente invasoras, e as condições em que são mantidas favorece a disseminação não deliberada, mas preocupante, de químicos contaminantes e parasitas para o ambiente marinho (González-Duarte *et al.*, 2016). A libertação não intencional de organismos ocorre com uma maior frequência e a uma maior escala face à libertação intencional e é mais difícil de controlar devido, sobretudo, à ausência de conhecimento dessas mesmas libertações. Hulme *et al.*, (2008) considerou como via de transporte não intencional todo o tipo de atividades que servem como vetores de transporte para as espécies (tráfego marítimo e disseminação de plásticos, por exemplo). O aumento substancial do tráfego marítimo global, especialmente após a Segunda Guerra Mundial, e projetado para crescer ainda mais nas décadas seguintes levou a que atualmente este seja considerado o maior responsável pela introdução de espécies exóticas aquáticas em novos ambientes,

contemplando o transporte comercial, os navios de turismo (cruzeiros) e ainda os portos e marinas de que estes dependem (Hulme *et al.*, 2008; González-Duarte *et al.*, 2016; Glon *et al.*, 2020; Pyšek *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021). Este aumento resulta numa movimentação clandestina de um grande número de espécies em todo o mundo, associado sobretudo ao transporte involuntário de organismos nas águas de lastro das embarcações ou ainda associado a incrustações no casco das embarcações por parte de organismos incrustantes (como algas e moluscos), exacerbando os riscos de invasões biológicas em regiões sensíveis, nomeadamente ao aquecimento global. Além disso, o uso disseminado de plásticos não biodegradáveis desde meados do século XX contribui para a formação de jangadas flutuantes, possibilitando o transporte prolongado e a larga escala de espécies invasoras através dos diferentes oceanos. Os portos e marinas emergem como pontos críticos nestes processos, devido à sua associação direta com o tráfego marítimo. As condições ambientais desses locais, como elevada turbidez e poluição, favorecem a colonização de espécies oportunistas, aumentando assim a probabilidade de estabelecimento de novas invasoras. As estruturas flutuantes, como pontões e docas, são especialmente propícias ao desenvolvimento de comunidades de organismos exóticos, proporcionando-lhes habitats distintos do que os encontrados em ambientes rochosos naturais. A influência das condições hidrológicas nestas estruturas, especialmente sobre os organismos filtradores dominantes, é particularmente relevante, influenciando os padrões de dispersão e estabelecimento de espécies invasoras (González-Duarte *et al.*, 2016; Glon *et al.*, 2020; Pyšek *et al.*, 2020).

Na fase de introdução, as espécies enfrentam desafios significativos para se estabelecerem, e os elementos que promovem a sobrevivência e o sucesso da introdução após um transporte bem-sucedido abrangem a adaptação fisiológica fundamental dos indivíduos, a sua capacidade de dispersão local, os seus padrões comportamentais, e ainda as interações ecológicas com a comunidade local. As adaptações comportamentais são cruciais neste estágio, influenciando diretamente o sucesso da sobrevivência (Glon *et al.*, 2020). É de referir que as adaptações que ocorrem às condições adversas associadas ao transporte tendem a aumentar as hipóteses de sobrevivência de uma espécie ao chegar a um novo local (Glon *et al.*, 2020). Aquando da introdução de uma nova espécie esta passa por diversas pressões bióticas, como competição, predação e doenças na nova região e é necessário que persista no ambiente para se afirmar que passou ao estágio seguinte, o estabelecimento. A ocorrência de múltiplos ciclos de introdução, sobrevivência e reprodução desempenha um papel crucial na formação de uma população viável,

juntamente com o número inicial de indivíduos introduzidos. As ações e infraestruturas humanas podem providenciar condições ambientais favoráveis que facilitam a introdução e o estabelecimento de espécies exóticas. Estas estruturas artificiais, situadas em ambientes onde a temperatura ou a salinidade são adequadas, podem oferecer um substrato propício para o estabelecimento que, de outra forma, não estaria naturalmente disponível (Glon *et al.*, 2020). Por fim, o estágio de disseminação é impulsionado por fatores como tolerâncias físico-químicas, modos de reprodução e preferências de habitat, que permitem que a espécie se estabeleça e se propague na área introduzida (Glon *et al.*, 2020). A persistência a longo prazo e a ampla distribuição dependem da capacidade da espécie de se propagar eficientemente ao longo do tempo, aumentando as suas hipóteses de sucesso na nova região (Glon *et al.*, 2020). É de referir que apesar deste processo de invasão ser praticamente linear, ocorrem diferenças dependendo da espécie analisada e do local que está a ser invadido.

No caso particular dos ecossistemas marinhos, o aumento de espécies exóticas apresenta desafios significativos para a gestão e conservação da biodiversidade (Xiong & Zhan, 2016; Brante & Riquelme, 2019). Estes habitats, quando comparado com os habitats terrestres têm os seus limites muito menos estabelecidos, resultando numa uniformização e alta conectividade. Esta conectividade é essencialmente resultante do transporte associado às correntes oceânicas (dispersão natural) e cada vez mais devido ao aumento das atividades humanas (e.g. aumento exponencial do tráfego marítimo e aquacultura), aumentando assim a vulnerabilidade destes ambientes à invasão por espécies exóticas (Xiong & Zhan, 2016; Konecny & Harley, 2019). Além disso, a deteção precoce de espécies exóticas em ecossistemas marinhos é complexa e nem sempre possível devido à vastidão do oceano e à falta de informação existente. Frequentemente, estas espécies são documentadas acidentalmente em locais onde habitualmente se realizam pesquisas de biodiversidade ou quando as populações invasoras já formam grandes populações bem estabelecidas (Konecny & Harley, 2019). Esta falta de deteção precoce permite às espécies invasoras terem tempo para que se estabeleçam populações de grandes dimensões antes que medidas de gestão possam ser implementadas. Por este motivo, a Convenção sobre a Diversidade Biológica (CBD) alertou, já no ano 2000, para a necessidade de obter mais informação sobre estas espécies, e para a necessidade de disseminar essa mesma informação, de forma a ser possível prevenir e/ou mitigar os efeitos negativos que advêm da chegada destas espécies aos habitats não nativos (Molnar *et al.*, 2008). No entanto, o que se verifica é que atualmente ainda existem muitas lacunas

de conhecimento no que diz respeito a aspeto relacionados com espécies invasoras, o que justifica que em 2018 a temática das espécies invasoras tenha sido novamente mencionada na Convenção sobre a Diversidade Biológica (CBD), demonstrando que neste momento é imperativo apostar em investigação associada a estas espécies.

A urgência que surge no âmbito do estudo de espécies invasoras está inteiramente relacionado com os impactos que estas causam com as suas invasões, sendo que esse impacto pode ser observado a uma escala local ou global (Molnar *et al.*, 2008; Xiong & Zhan, 2016). É conhecido que a introdução de espécies exóticas num novo ambiente acarreta um conjunto de impactos que incluem modificações na estrutura das comunidades e na cadeia alimentar, com alteração na abundância, riqueza, comportamento e distribuição espacial de espécies nativas; em casos mais extremos estes impactos podem levar mesmo à extinção de espécies nativas, tendo já sido esta apontada como a segunda causa mais comum de extinção de espécies (Bellard & Blackburn 2016; Diagne *et al.*, 2020; Pyšek *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2022). Além disso, as espécies invasoras podem modificar o funcionamento dos ecossistemas, interferindo nos serviços ecossistémicos prestados, como o ciclo de nutrientes, considerando ainda que estes padrões de perturbação têm consequências adversas não só para a biodiversidade, mas também para a economia e a saúde humana, destacando a importância crítica da prevenção e controle dessas introduções em ecossistemas marinhos e costeiros (Diagne *et al.*, 2020; Pyšek *et al.*, 2020). A prevenção é particularmente importante neste momento, pois está-se a assistir a um aumento constante no número de invasões e nos seus impactos, devido sobretudo ao aumento das atividades humanas e às consequências associadas às alterações climáticas (Floerl *et al.*, 2005; Brante & Riquelme, 2019; Pyšek *et al.*, 2020). Uma consequência evidente da conexão entre as alterações climáticas e o aumento do número de invasões está relacionado com a crescente migração de espécies em direção às altas latitudes (pólos) devido ao aquecimento que as alterações climáticas provocam nos oceanos, o que leva a um desequilíbrio no ecossistema (Bellard & Blackburn 2016; Glon *et al.*, 2020).

Desde a década de 90, que se reconhece a urgência de abordar as ameaças impostas pelas espécies invasoras, e a sua importância enquanto indicadores do declínio da biodiversidade à escala global, pelo que foram sendo implementadas ao longo dos anos medidas com o objetivo de mitigar essas ameaças (Butchart *et al.*, 2010; Pyšek *et al.*, 2020). Considera-se que as áreas marinhas protegidas desempenham um papel crucial na salvaguarda das espécies e ecossistemas nativos, frente aos impactos das invasões,

especialmente diante da aceleração das mudanças climáticas. Existem diversos estudos que indicam que as áreas protegidas podem servir como refúgios estratégicos para as espécies nativas, para que estas possam proliferar sem ser alvo da pressão causada pelas espécies exóticas e invasoras. De forma que isso seja possível recomenda-se a priorização de ações destinadas à proteção destas áreas contra a disseminação destas espécies (Sy *et al.*, 2009; Watson *et al.*, 2014; Gallardo *et al.*, 2017; Pyšek *et al.*, 2020; Mi *et al.*, 2023).

A União Europeia (UE) adotou uma postura proativa para prevenir, minimizar e mitigar os impactos adversos dessas espécies na biodiversidade nativa e nos serviços ecossistêmicos, visando também limitar os prejuízos sociais e econômicos. Para isso e segundo a Estratégia de Biodiversidade para 2030, a UE compromete-se a gerir as espécies exóticas invasoras estabelecidas e reduzir pela metade o número de espécies presentes na Lista Vermelha que estão ameaças até 2030 (European Commission). Para que estes objetivos sejam cumpridos é necessário que haja um esforço coletivo dos estados-membros e um envolvimento da população, através da ciência cidadã, permitindo que haja uma monitorização e vigilância contínua com baixo custo, bem como uma rápida detecção de situações de alerta a grande escala e a longo prazo (Pyšek *et al.*, 2020).

Anémonas enquanto Espécies Invasoras

As anémonas-do-mar, pertencentes ao filo Cnidaria e Ordem Actiniaria, desempenham diversos papéis ecológicos enquanto membros das comunidades bentônicas, tornando-se assim dominantes em alguns habitats (Gimenez & Brante, 2021; Gimenez *et al.*, 2023). Existem grupos taxonômicos já descritos como potencialmente invasores por apresentarem características que favorecem o seu estabelecimento e proliferação, tais como as anémonas-do-mar. Este grupo apresenta uma grande diversidade e características adaptativas que promovem uma invasão, incluindo um elevado potencial de dispersão, uma alta taxa de reprodução assexuada e sexuada e ampla tolerância a diferentes condições ambientais, o que permite aos indivíduos dessas espécies proliferarem abundantemente num novo ambiente independentemente das condições que os rodeiam (Glon *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021).

Os aspetos da biologia das espécies desempenham um papel crucial no sucesso de uma invasão. No caso particular das anémonas, estas possuem uma diversidade de estratégias reprodutivas, englobando métodos sexuais e assexuais (como fragmentação, laceração basal, fissão transversal ou longitudinal e expulsão de pólipos) (Bocharova, 2016; González-Duarte *et al.*, 2016). Neste caso, a reprodução sexuada pode ocorrer entre indivíduos de ambos os sexos ou ainda por partenogénese, onde ocorre o desenvolvimento de oócitos sem fertilização (Bocharova, 2016; Utrilla *et al.*, 2019). Quando há fertilização de ovócitos por espermatozoides, na reprodução sexuada, esta pode ocorrer tanto dentro quanto fora da cavidade gastrovascular (Utrilla *et al.*, 2019). Já a reprodução assexuada envolve a formação de novos organismos a partir de uma parte do corpo parental (por exemplo a partir do disco pedal, tentáculos, ou através de gemulação) (Bocharova, 2016; Utrilla *et al.*, 2019). Algumas espécies de anémonas-do-mar recorrem exclusivamente à reprodução sexuada, outras à assexuada, e muitas combinam ambos os modos, adaptando-se às condições ambientais variáveis (Bocharova, 2016). No entanto, o fator biológico que determinará o estrago causado pela espécie invasora no novo ambiente, será a sua capacidade de dispersão, que pode estar associada à reprodução sexuada – dispersão larvar -, ou associada à dispersão dos indivíduos adultos. A dispersão dos indivíduos adultos pode ocorrer de forma natural ou impulsionada pela ação humana (Glon *et al.*, 2019). Uma vez estabelecidas, as anémonas-do-mar podem afetar as comunidades nativas que invadem. Foram já relatadas pelo menos 11 espécies de anémonas não nativas a nível global, e apesar de felizmente as introduções

ocorridas terem tido mais atenção nos novos relatórios anuais, existe ainda muito poucos esforços de monitorização, dificultando assim a deteção e identificação dessas anémonas, provavelmente levando a uma subestimação dos relatos obtidos até ao momento (Gimenez & Brante, 2021; Gimenez *et al.*, 2023). As populações não-nativas, especialmente de anémonas, são mais fáceis de detetar quando atingem grandes abundâncias e se espalham além do local inicial de introdução, mas, nesta fase, as consequências ecológicas podem ser inevitáveis e difíceis de mitigar (González-Duarte *et al.*, 2016; Gimenez *et al.*, 2023).

Como foi mencionado na secção anterior, Glon *et al.*, (2020) defende que as invasões biológicas ocorrem segundo um processo com quatro estágios: transporte, introdução, estabelecimento e disseminação. Para que uma espécie de anémona “invada” um novo local necessita de percorrer os diferentes estágios mencionados, começando então pelo transporte. Uma vez que estes são animais sésseis, a sua dispersão natural ocorre apenas a curta distância, associada à reprodução sexuada (dispersão larvar e de gâmetas) ou ao movimento de adultos, que ao se desprenderem do substrato flutuam em direção a um novo local, expandindo a área de distribuição correspondente (Glon *et al.*, 2019; Gimenez *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2022). No entanto, o transporte destes animais ocorre maioritariamente de forma passiva e associado a atividades humanas. Um dos maiores vetores de transporte de anémonas-do-mar é o transporte marítimo, sendo estas frequentemente transportadas como “passageiros clandestinos” incrustadas nos cascos dos navios, ou presentes nas águas de lastro (González-Duarte *et al.*, 2016; Glon *et al.*, 2020; Pyšek *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2022). Essa água ao ser captada, contém sedimentos que não são necessariamente expelidos quando esta é libertada no porto de destino, resultando assim na acumulação gradual desses sedimentos dentro dos tanques de lastro, o que pode fornecer um substrato adequado para algumas espécies de anémonas, favorecendo dessa forma o seu transporte (Glon *et al.*, 2020). Por outro lado, no caso do transporte ocorrer por incrustação no casco dos navios, é necessário que estes organismos sejam capazes de suportar condições adversas como as variações abruptas de temperatura e salinidade, e a força das correntes geradas pela velocidade da embarcação, sendo que a resistência a essas condições adversas favorece o posterior estabelecimento desses organismos no novo local (Glon *et al.*, 2020). A continua expansão do tráfego marítimo global (navios comerciais e cruzeiros), com a criação de canais - interoceânicos e intraoceânicos - que ligam regiões biogeográficas antes separadas, facilita a disseminação de milhares de espécies para novas regiões. Essa expansão, intensificada pelo

aquecimento global permite, por exemplo, a extensão da distribuição de cnidários tropicais para zonas temperadas (González-Duarte *et al.*, 2016; Pyšek *et al.*, 2020). Adicionalmente, associado ao tráfego marítimo, os portos e marinas, muitas vezes localizados em zonas estuarinas, funcionam como vetores de ligação entre o ambiente marinho e o estuarino. Representam um habitat artificial e são pontos críticos para potenciais invasões de espécies trazidas do meio marinho que posteriormente são disseminadas regionalmente por outras embarcações, como as de recreio (González-Duarte *et al.*, 2016). Existe ainda uma associação entre o lixo presente no meio marinho e o transporte de espécies de anêmonas, uma vez que estruturas de plástico dispersas no oceano, por exemplo, funcionam como meio de transporte que permitem uma deslocação duradora destes animais para grandes distâncias, inatingíveis de forma natural (González-Duarte *et al.*, 2016; Pyšek *et al.*, 2020). Encontram-se também documentado a existência de várias invasões de anêmonas-do-mar associadas à fauna utilizada em maricultura (Gimenez & Brante, 2021; Pereira *et al.*, 2022).

Posteriormente a serem transportadas, a sobrevivência e o sucesso da introdução das anêmonas num novo ambiente são facilitados por características que apresentam, como elevada capacidade de adaptação fisiológica (como a elevada tolerância, baixa taxa metabólica e dieta diversificada), grande capacidade de dispersão, comportamento natural e pelas suas interações ecológicas (Glon *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021; Pereira *et al.*, 2022). A capacidade de se estabelecerem após a introdução é reforçada por ciclos repetidos de introdução, sobrevivência e reprodução, e pelo sucesso competitivo num novo ambiente. As atividades e estruturas antropogénicas podem criar condições ambientais favoráveis, fornecendo, por exemplo, substratos adequados em zonas de temperatura e salinidade apropriadas, facilitando assim a colonização e o estabelecimento destes indivíduos (Glon *et al.*, 2020). Muitas espécies de anêmonas como toleram condições adversas e podem proliferar rapidamente por reprodução assexuada, tornam-se rapidamente bem-adaptadas ao novo local. Após passarem a fase do transporte e do estabelecimento, a espécie invasora deve ser capaz de se propagar, sendo o seu comportamento e as suas interações com espécies nativas cruciais nesta fase do processo (Pereira *et al.*, 2022). Alguns estudos sugerem que as espécies estabelecidas em novos habitats são competidoras superiores por alimento e espaço quando comparado com as espécies nativas (Brante & Riquelme, 2019). A propagação das anêmonas-do-mar depende da sua tolerância às condições físico-químicas, modos variados de reprodução, ampla preferência de habitat e plasticidade comportamental (Gimenez & Brante, 2021).

A utilização da reprodução assexuada permite criar populações de longa duração a partir de uma única introdução, enquanto a capacidade de combinar a reprodução assexuada e a reprodução sexuada contribui para a persistência e disseminação bem-sucedida das populações estabelecidas (Glon *et al.*, 2020).

São já várias as espécies de anêmonas que completaram todas as fases do processo de invasão, sendo consideradas na literatura como espécies invasoras. Alguns exemplos de espécies de anêmonas invasoras são então: *Diadumene lineata*, *Metridium senile* e *Nematostella vectensis* (Glon *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2022). A espécie invasora *Diadumene lineata*, segundo Gimenez & Brante (2021), é a mais estudada das anêmonas invasoras. A sua distribuição nativa estende-se de Hokkaido no Japão até ao sul de Hong Kong na China, mas atualmente é encontrada amplamente distribuída em locais nos hemisférios norte e sul. Apresenta a particularidade de ser pouco específica no que diz respeito à escolha do tipo de habitat, sendo frequentemente encontrada em diferentes tipos de substrato, o que favorece a sua ampla distribuição (Glon *et al.*, 2020; Gimenez & Brante, 2021). *Metridium senile* é uma espécie nativa do hemisfério norte, atualmente considerada como introduzida em países no sul da América (Chile, Argentina e Ilhas Falkland) e no sul de África (Glon *et al.*, 2020; Häussermann *et al.*, 2022; Gimenez *et al.*, 2023). Relativamente à distribuição de *Nematostella vectensis*, apesar de ter sido descrita pela primeira vez na Ilha de Wight, no Reino Unido, é nativa da América do Norte (Glon *et al.*, 2020; Fletcher *et al.*, 2023). Todas estas espécies partilham características que lhes permitem ser bem-sucedidas no momento de invadirem um novo ambiente, tais como elevada tolerância a variações de temperatura e salinidade, e capacidade de se reproduzirem assexuadamente e sexuadamente (Glon *et al.*, 2020).

As espécies de anêmonas invasoras, uma vez estabelecidas, podem impactar significativamente as comunidades nativas, nomeadamente através da pressão causada pela predação e competição, resultando assim no declínio e deslocação de espécies nativas (Gimenez & Brante, 2021; Gimenez *et al.*, 2022). Para além disso, têm ainda impactos económicos, embora raramente documentados, que podem envolver altos custos de manutenção de estruturas e alteração dos serviços ecossistémicos (Gimenez & Brante, 2021). Apesar da sua ampla introdução a nível global, a deteção e identificação de espécies invasoras de anêmonas é ainda muito limitada, assim como as consequências ecológicas e económicas dessas espécies permanecem pouco explorados (Gimenez & Brante, 2021; Gimenez *et al.*, 2023). Tais factos levam a que haja uma subestimação das suas populações e uma exacerbada falta de informação e esforços de monitorização

adequados. Existe uma grande necessidade de estudar e monitorizar mais estas espécies, para que seja possível gerir e implementar ações essencialmente preventivas, uma vez que controlar uma invasão num estado já avançado é quase impossível, tornando assim a monitorização precoce essencial para mitigar ou reduzir os impactos negativos no ambiente marinho (Floerl *et al.*, 2005; Gimenez & Brante, 2021; Gimenez *et al.*, 2023).

As experiências em mesocosmos são experiências realizadas em ambientes controlados que simulam ecossistemas naturais em menor escala (Crossland & La Point, 1992). Têm a ambição de proporcionar um certo grau de realismo ambiental, que permite alargar os resultados experimentais e realizar estudos de efeitos ecológicos que não podem ser realizados em contexto laboratorial ou no campo (Crossland & La Point, 1992; Widdicombe *et al.*, 2010). Este tipo de experiência permite estudar um conjunto diverso de fatores e os seus efeitos com um menor impacto e com resultados mais realistas (Widdicombe *et al.*, 2010). Com este tipo de experiência, é possível prever o potencial de invasão de espécies através da manipulação de fatores como a salinidade ou a temperatura (Podbielski *et al.*, 2016; Konecny & Harley, 2019). São também utilizadas em ecotoxicologia para estudar o impacto biológico de produtos químicos em caso de exposição real (Crossland & La Point, 1992), estudar o efeito e aumentar a compreensão que temos das consequências ecológicas das mudanças climáticas (Stewart *et al.*, 2013; Fordham, 2015), nomeadamente o efeito da acidificação e aquecimento do oceano (Widdicombe *et al.*, 2010; Falkenberg *et al.*, 2016), entre outros exemplos de estudos que podem ser realizados utilizando o princípio da experiência de mesocosmos.

Foram já realizadas experiências em mesocosmos com espécies de anémonas, nomeadamente, Konecny & Harley (2019), que através de uma experiência em mesocosmos estudaram o efeito da tolerância à salinidade na distribuição de *Diadumene lineata* ao largo da costa da Colúmbia Britânica. Concluíram que *Diadumene lineata* mostrou ser tolerante a salinidades extremamente baixas por curtos períodos, mas a sobrevivência a longo prazo é afetada pela diminuição da salinidade, o que sugere que a salinidade pode ser um fator limitante para a distribuição dessa espécie nessa região. Também Podbielski *et al.*, (2016) investigou a tolerância de *D. lineata* à salinidade de forma a avaliar o seu potencial de expansão geográfica no Mar Báltico, utilizando a mesma metodologia experimental. Os resultados obtidos indicam que esta espécie tem potencial para invadir as regiões com salinidade >10 psu (Kattegat e Skagerrak), mas salinidades inferiores a 8 psu atualmente parecem constituir um limite fisiológico para a espécie.

Biologia de *Phymactis papillosa*

Phymactis papillosa (Lesson, 1830), é um cnidário pertencente à família Actiniidae, uma das maiores e mais diversa família de anêmonas-do-mar. Esta anêmona apresenta um tamanho médio, com o disco pedal a atingir até 100 mm (Häussermann, 2004). A sua coluna cilíndrica apresenta aproximadamente o mesmo diâmetro que o disco pedal, e encontra-se inteiramente coberta por pequenas vesículas não aderentes, simples ou, por vezes, compostas, com cerca de 1 mm (Häussermann, 2004; Fautin *et al.*, 2007; Uribe Alzamora *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2022). Nestes organismos a coluna apresenta uma coloração que varia entre vermelho, verde, castanho e azul, sendo que cada tipo de coloração corresponde a uma variedade diferente: *var. rubra*, *var. viridis*, *var. fusca* e *var. cyanea* respetivamente, podendo ocorrer formas mistas (Häussermann, 2004; Uribe Alzamora *et al.*, 2013). Os cerca de 400 tentáculos, presentes na margem do disco oral e relativamente curtos, exibem a cor presente na coluna, mas num tom mais claro. O disco oral é ligeiramente lobado, especificamente em espécimes maiores, e apresenta um número variável de *acrorhagi* (Häussermann, 2004; Fautin *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2022).

Esta é uma anêmona do mar amplamente distribuída, sendo abundantemente encontrada ao longo da costa rochosa do Pacífico, cobrindo a área Centro e Sul da América. Existem registos da ocorrência desta espécie sobretudo na costa do Chile, mas também Peru, México, Mar de Cortez, bem como em algumas ilhas no Oceano Pacífico (fig. A1) (Häussermann, 2004; Uribe Alzamora *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2022). Pereira *et al.*, (2022), em 2017, registaram pela primeira vez a ocorrência desta espécie na costa portuguesa, concretamente na região de Cascais. Desde o primeiro avistamento que a abundância da espécie neste local tem vindo a aumentar, tendo sido já registados organismos vermelhos e verdes, em maiores quantidades, e ainda organismos castanhos, mesmo que em menor quantidade. Tais acontecimentos levam a crer que esta espécie já estabeleceu populações locais que estão atualmente a reproduzir-se e proliferar localmente. *Phymactis papillosa*, ocorre principalmente na zona entremarés, estando presente no intertidal e subtidal até aos 16 metros de profundidade (Brante & Riquelme, 2019; Pereira *et al.*, 2022). Apresenta preferência pela zona inferior do intertidal, fixando-se fortemente no substrato rochoso (locais húmidos, mais ou menos abrigados) onde podem ser encontradas tanto espécimes isolados como grandes agregações de até 100 indivíduos (Häussermann, 2004; Uribe Alzamora *et al.*, 2013). O tamanho destes

organismos parece estar sob influência da sua distribuição vertical, com indivíduos de maiores dimensões presentes na zona mais baixa do intertidal, em contraste com os indivíduos de menores dimensões que são frequentemente encontrados na zona mais alta do intertidal (Pereira *et al.*, 2022).

É considerada uma espécie que apresenta reprodução sexuada (sendo dióica) e assexuada, especificamente através de fissão longitudinal, com a formação de indivíduos geneticamente idênticos (Uribe Alzamora *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2022). Considera-se que a fissão longitudinal é o processo predominante de reprodução assexuada em anêmonas-do-mar, tendo sido já descrito em vários géneros representativos (como *Metridium*, *Anemonia*, *Aiptasia*, etc.). Segundo Bocharova (2016) este processo começa no momento em que se inicia a fissão podendo esta ocorrer com início na extremidade apical (topo) ou na extremidade basal (base) do organismo. Na fig. A2 é possível observar o processo de fissão longitudinal descrito em *Anthopleura elegantissima* (Bocharova, 2016). Neste caso, a fissão ocorre na extremidade basal, com a base a estender-se ao longo do corpo do indivíduo, criando uma divisão no eixo longitudinal do organismo. À medida que a divisão se desenvolve, os tecidos começam a adelgaçar na região da divisão, até ocorrer a separação completa em dois indivíduos resultando de um processo de apoptose celular. Esta divisão pode ocorrer de forma irregular, resultando em indivíduos de tamanhos ligeiramente diferentes. Ocasionalmente, podem surgir múltiplas fissões longitudinais na zona lateral da anémona, dando origem a vários novos indivíduos. Finalizada a fissão, os limites corporais resultantes convergem, dando início ao processo de regeneração das estruturas corporais perdidas durante o processo de fissão, incluindo a formação de tentáculos, mesentérios e sifonoglifos nos organismos recém-formados. Este processo é fundamental para garantir a integridade estrutural dos novos organismos. É importante referir que este processo é desencadeado por um conjunto de estímulos que são essencialmente provocados por alterações ambientais, como mudanças na temperatura da água, alterações na salinidade ou disponibilidade de alimentos (Santos, 2020). É conhecido que *P. papillosa* apresenta reprodução sexuada pois já foi possível observar tecido reprodutor em organismos estudados (Haussermann, 2004). Uma vez que não foram encontrados ovos nem larvas no seu interior, deduziu-se que esta espécie apresenta uma fertilização externa. Porém, não existem ainda informações na literatura que detalhem o ciclo de vida desta espécie. No entanto, utilizando como referência outras espécies de anémona onde o ciclo de vida já é conhecido (por exemplo *Metridium senile* – Glon *et al.*, 2019) é considerado que *P. papillosa* possui uma fase larvar com existência

de uma larva plântica de vida livre, que permite a dispersão natural através das correntes oceânicas destes organismos que em adultos apresentam uma vida sésil, com reduzido nível de dispersão. A dispersão é um fator muito importante pois permite que haja uma conexão entre locais geograficamente afastados e pode ainda possibilitar a ocorrência de possíveis invasões (Häussermann, 2004).

Encontra-se descrito na literatura que *P. papillosa* exibe comportamentos agonísticos no repertório de agressão inter e intra específica (Häussermann, 2004; Brante & Riquelme, 2019). O nível da agressão parece estar relacionado com o tipo de morfotipo apresentado pela anémone, sendo que, segundo Brante & Riquelme (2019) o morfotipo verde é considerado o mais agressivo em interações com outras espécies. Tendo em conta que esta é uma espécie de anémone-do-mar não nativa na costa portuguesa, é imperativo conhecer mais sobre a sua ecologia, pois representa neste momento um perigo para as espécies nativas por competir ativamente pelo espaço que estas ocupam. Considerando a sua natureza sésil e passiva na procura de alimento, o estabelecimento de um domínio espacial torna-se fundamental para o desenvolvimento das suas funções biológicas essenciais (Escribano-Álvarez & López-González, 2018; Vanni *et al.*, 2009).



Figura A1 – Distribuição atual de *Phymactis papillosa* (fonte: <https://www.gbif.org/pt/species/2256771>).

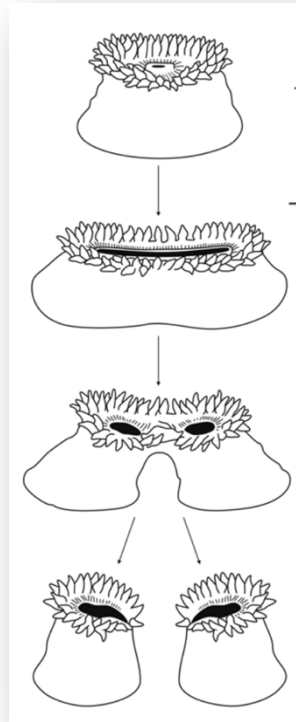


Figura A2 – Esquema representativo do processo de fissão longitudinal, um tipo de reprodução assexuada, descrito para a espécie *Anthopleura elegantissima* (segundo Bocharova, 2016) e utilizado por *P. papillosa*.

Anexo II – Material Suplementar

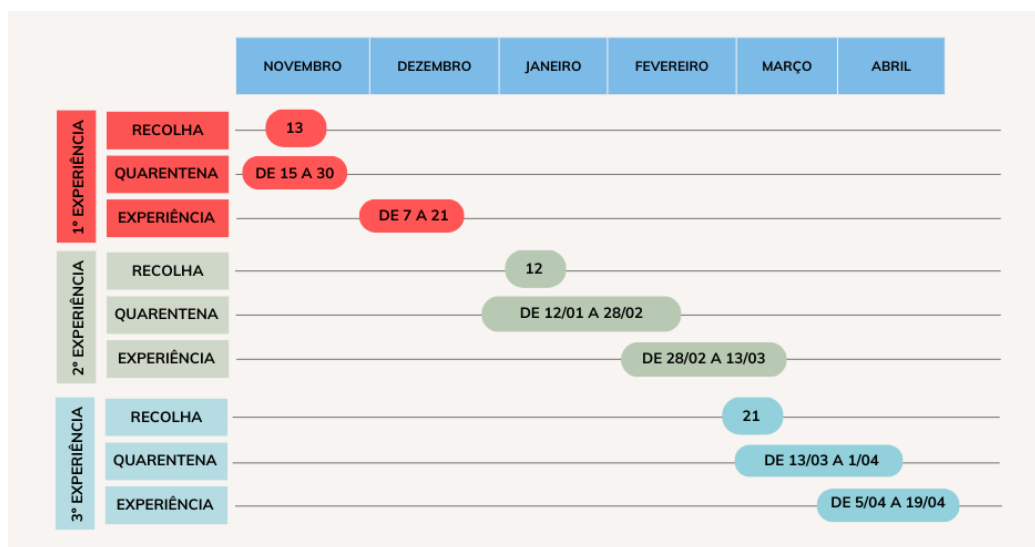




Figura A3 - Calendarização referente às etapas de recolha de indivíduos, quarentena e período experimental.

Tabela A1 – Informações referentes aos materiais utilizados para a filtragem e manipulação da temperatura em cada aquário experimental, juntamente com os aparelhos de medição de temperatura e salinidade (utilizados diariamente).

Material	Marca	Foto do Modelo
Filtro de cascata	EHEIM	
Filtro de cascata	AQUA NOVA	

<p>Hidras (escumadores)</p>	<p>OF OCEAN FREE</p>	
<p>Arejamento</p>	<p>Arejamento central do edifício</p>	
<p>Termostato (nota: usado nos aquários 1,2,3,4,6,7,9,10,11,13,14,15)</p>	<p>ICA</p>	
<p>Refrigerador (nota: usado nos aquários 5,8,12)</p>	<p>HAILEA</p>	

Termómetro Digital com Sonda	VWR	
Refratômetro	tmc – tropical marine centre	

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Survival_rate

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,528	48,189	1	43	<.001	189,815	-5,000		
Logarithmic	,446	34,549	1	43	<.001	389,063	-101,254		
Inverse	,367	24,885	1	43	<.001	-14,714	1928,902		
Quadratic	,839	109,640	2	42	<.001	-212,847	32,269	-,810	
Cubic	,871	142,353	2	42	<.001	9,653	,000	,688	-,022

The independent variable is Temperature.

Figura A4– Resumo do modelo e estimativas de parâmetros para a “Taxa de Sobrevivência” em função da “Temperatura”, utilizando diferentes tipos de equações (Linear, Logarítmica, Inversa, Quadrática e Cúbica). Os valores de R², F e significância indicam a adequação dos modelos, com destaque para o modelo cúbico que apresenta o maior R² (0,871), sugerindo o melhor ajuste aos dados.

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Survival_rate

Equation	Model Summary					Parameter Estimates			
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,000	,006	1	43	,939	81,296	-,185		
Logarithmic	,000	,005	1	43	,944	96,130	-6,000		
Inverse	,000	,004	1	43	,948	69,286	192,544		
Quadratic	,001	,027	2	42	,974	-294,938	21,420	-,309	
Cubic	,001	,027	2	42	,974	-46,268	,000	,305	-,006
Compound ^a		
Power ^a		
S ^a		
Growth ^a		
Exponential ^a		
Logistic ^a		

The independent variable is Salinity.

a. The dependent variable (Survival_rate) contains non-positive values. The minimum value is ,00000000000000. Log transform cannot be applied. The Compound, Power, S, Growth, Exponential, and Logistic models cannot be calculated for this variable.

Figura A5 – Resumo do modelo e estimativas de parâmetros para a variável dependente "Taxa de Sobrevivência" em função da "Salinidade", utilizando diferentes tipos de equações (Linear, Logarítmica, Inversa, Quadrática e Cúbica). Os valores de R², F e significância indicam a adequação dos modelos.