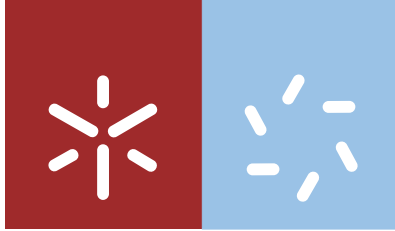


**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

Adriana Araújo Novais

**Análise comparativa das diferentes fontes de recursos utilizadas por uma espécie invasora (*Corbicula fluminea*) e por espécies nativas simpátricas**



**Universidade do Minho**  
Escola de Ciências

Adriana Araújo Novais

**Análise comparativa das diferentes fontes  
de recursos utilizadas por uma espécie  
invasora (*Corbicula fluminea*) e por espécies  
nativas simpátricas**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado em Ecologia

Trabalho realizado sob orientação do  
**Professor Doutor Ronaldo Gomes de Sousa**

outubro de 2013

Nome: Adriana Araújo Novais

Endereço eletrónico: adriana.novais@gmail.com

Telefone: +351 912693538

Número do Bilhete de Identidade: 13764450

Título da Dissertação de Mestrado: Análise comparativa das diferentes fontes de recursos utilizadas por uma espécie invasora (*Corbicula fluminea*) e por espécies nativas simpátricas

Orientador: Ronaldo Gomes de Sousa

Ano de Conclusão: 2013

Designação do Mestrado: Ecologia

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE

Universidade do Minho, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

# AGRADECIMENTOS

Ao *Departamento de Biologia* (Universidade do Minho) e ao *CIIMAR* – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (Universidade do Porto), instituições de acolhimento, o meu agradecimento por permitirem a realização da presente tese de Mestrado através da concessão de todo o apoio logístico necessário ao longo dos vários meses em que decorreu o trabalho.

Ao *Professor Doutor Ronaldo Sousa*, o meu sincero agradecimento pela orientação na elaboração desta tese de Mestrado. Muito obrigada pelo profissionalismo e pela total disponibilidade que sempre revelou. O seu apoio foi determinante na elaboração desta Tese.

À *Ester Dias*, um Muito Obrigada pela disponibilidade e colaboração neste trabalho de investigação.

Aos *meus colegas, Ângela e Francisco* agradeço a disponibilidade, partilha de bons momentos e ajuda que sempre prestaram durante as saídas de campo.

Aos *meus companheiros, Soraia, Hugo e Marcos*, Obrigada pela vossa amizade, companheirismo, ajuda e partilha de bons momentos.

À *minha amiga Lília*, um agradecimento sincero por toda a amizade e carinho que sempre manifestou. Agradeço, de forma especial, pelos desabaços, boas e longas conversas e partilha de bons momentos.

Ao *Tiago* um Obrigada Especial por ter sempre paciência para ouvir os meus devaneios e inquietações, pela ajuda, apoio incondicional e preocupação nos momentos de maior aflição. Agradeço ainda pelo carinho, pelas palavras doces e pela transmissão de confiança e de força em todos os momentos.

À *Minha Família*, em especial aos *Meus Pais* e ao *Meu Irmão*, um Enorme Obrigada por acreditarem sempre em mim e naquilo que faço e por todos os ensinamentos de vida.

Esta Tese esteve inserida no projeto ECO-IAS: Impactes ao nível do ecossistema de uma espécie invasora, financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia e fundos COMPETE (Contracto: PTDC/AAC-AMB/116685/2010).



## Análise comparativa das diferentes fontes de recursos utilizadas por uma espécie invasora (*Corbicula fluminea*) e por espécies nativas simpátricas

### RESUMO

As invasões biológicas em ecossistemas aquáticos podem provocar modificações profundas na estrutura e funcionamento dos ecossistemas. A espécie *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) tem sido reconhecida como um dos bivalves não nativos mais relevantes em ecossistemas aquáticos devido ao seu comportamento invasor. Esta espécie pode provocar graves impactes ecológicos e económicos nos ecossistemas invadidos, sendo uma severa ameaça para a biodiversidade nativa. Assim, a compreensão do papel que as espécies nativas e invasoras desempenham nas cadeias tróficas e na reciclagem dos nutrientes tornou-se um objetivo importante em ecologia e conservação. Com este trabalho pretendeu-se avaliar se *C. fluminea* apresenta um nicho trófico distinto de outras espécies nativas de bivalves (*Anodonta anatina*, *Anodonta cygnea*, *Pisidium amnicum*, *Potomida littoralis* e *Unio delphinus*) e se esta situação contribui para o seu sucesso invasor. Para tal, foram comparados os valores das assinaturas de isótopos estáveis (usando N e C) entre a espécie invasora e as espécies nativas em seis ecossistemas aquáticos distintos. Adicionalmente, foi desenvolvido um modelo para o rio Minho de forma a determinar quais os recursos efetivamente assimilados pelas espécies. Os resultados obtidos mostraram que os indivíduos pertencentes à Lagoa de Mira e ao rio Paiva exibiram assinaturas isotópicas com valores mais extremos. De facto, os valores medidos na Lagoa de Mira foram os mais enriquecidos em  $^{15}\text{N}$  (16‰) e empobrecidos em  $^{13}\text{C}$  (-29‰) e os do rio Paiva foram os mais empobrecidos em  $^{15}\text{N}$  (8‰) e enriquecidos em  $^{13}\text{C}$  (-21‰). Além disso, mostraram que a assinatura isotópica dos indivíduos das diferentes espécies varia de local para local e que as assinaturas isotópicas das espécies agrupam-se de acordo com o local de origem. No entanto, existem diferenças significativas nas assinaturas entre todas as espécies. Através da execução do modelo no rio Minho verificou-se que a alimentação dos indivíduos pertencentes a *C. fluminea* baseia-se 59.1% em microfítobentos (MPB), 40.2% em matéria orgânica particulada (POM) e 0.7% em matéria orgânica do sedimento (SOM); *A. anatina* 48.9% em MPB, 47.6% em POM e 3.5% em SOM; *P. littoralis* 57% em MPB e 43% em POM; *U. delphinus* 59% em MPB e 41% em POM; e *P. amnicum* 75% em MPB e 25% em SOM. Conclui-se assim que, indivíduos das espécies *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus* são fundamentalmente filtradores e que indivíduos da espécie *P. amnicum* dependem também de partículas associadas ao sedimento. Além disso, à exceção de *P. amnicum*, as restantes espécies analisadas utilizam fontes de matéria orgânica (MO) semelhantes e esta situação pode implicar competição interespecífica. Tendo em consideração que os indivíduos de *C. fluminea* têm um ciclo de vida oportunista, estes poderão estar em vantagem competitiva. Outros fatores podem também estar na base do declínio das espécies nativas mas este estudo abre portas para a importância da competição pelas mesmas fontes de MO como uma ameaça importante para as espécies nativas. Assim, novos estudos deverão ser realizados com vista a aumentar o conhecimento sobre o assunto e o leque de possíveis soluções para mitigar os problemas gerados pela introdução de *C. fluminea* em ecossistemas aquáticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Corbicula fluminea* · espécies nativas · isótopos estáveis · espaço do nicho trófico



# Comparative analysis of food resources used by one invasive (*Corbicula fluminea*) and 4 native sympatric bivalve species

## ABSTRACT

Biological invasions in aquatic ecosystems can cause profound changes in the structure and functioning of ecosystems. The Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) has been recognized as one of the most relevant non-native bivalve species in aquatic ecosystems due its invasive behavior. This species can cause serious ecological and economic impacts in invaded ecosystems and is considered a severe threat to native biodiversity. Thus, understanding the role that native and invasive species play in the food chains and nutrient recycling has become an important goal in ecology and conservation. This project aimed to evaluate if *C. fluminea* had a distinct trophic niche from others native bivalve species (*Anodonta anatina*, *Anodonta cygnea*, *Pisidium amnicum*, *Potomida littoralis* and *Unio delphinus*) and if this situation contribute to their invasive success. For this, we compared the stable isotope signatures (using C and N) in the invasive species and in native sympatric bivalve species in six distinct aquatic ecosystems. In addition, we developed a model for the Minho River to determine which resources were effectively assimilated by these species. The results showed that isotopic signatures with more extreme values belong to the Mira Lagoon and Paiva River. In fact, the values measured in the Mira Lagoon are the most enriched in  $^{15}\text{N}$  (16‰) and impoverished in  $^{13}\text{C}$  (-29‰), and in the Paiva River are the most impoverished in  $^{15}\text{N}$  (8‰) and enriched in  $^{13}\text{C}$  (-21‰). Besides, it was observed that the isotopic signature of individuals from different species varies according to location and that the isotopic signatures of the different species are grouped according to the site of origin. However, there are significant differences in the signatures between all species. Through execution of the model at the Minho River, it was found that nourishment of individuals belonging to *C. fluminea* is composed of 59.1% microphytobenthos (MPB), 40.2% particulate organic matter (POM) and 0.7% sediment organic matter (SOM); *A. anatina* 48.9% MPB, 47.6% POM and 3.5% SOM; *P. littoralis* 57% MPB and 43% POM; *U. delphinus* 59% MPB and 41% POM; and *P. amnicum* 75% MPB and 25% SOM. Therefore, we concluded that individuals belonging to the species *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* and *U. delphinus* are fundamentally filter feeders and individuals belonging to *P. amnicum* depend largely on particles associated with the sediment. Moreover, and except for *P. amnicum*, all the species analyzed use similar food resources which may contribute to interspecific competition. Given that individuals of *C. fluminea* have a more opportunistic life cycle, this species may have a competitive advantage. Although other factors may be contributing to the decline of native species, this study opens the possibility for the importance of competition for the same food resources as an important threat to the native species. Further studies should be conducted to increase the knowledge on this subject and the range of possible solutions to mitigate the problems caused by the introduction of *C. fluminea* in aquatic ecosystems.

KEYWORDS: *Corbicula fluminea* · native species · stable isotopes · trophic niche space





# ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS .....	iii
RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vii
ÍNDICE GERAL.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ÍNDICE DE TABELAS .....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. ESPÉCIES INVASORAS EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS .....	3
1.2. <i>Corbicula fluminea</i> .....	5
1.3. ANÁLISE DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	13
2.1. ÁREA DE ESTUDO .....	15
2.1.1. <i>Lagoa de Mira</i> .....	16
2.1.2. <i>Rio Minho</i> .....	16
2.1.3. <i>Rio Paiva</i> .....	17
2.1.4. <i>Rio Sabor</i> .....	18
2.1.5. <i>Rio Tâmega</i> .....	18
2.1.6. <i>Rio Tua</i> .....	19
2.2. AMOSTRAGEM E ANÁLISE LABORATORIAL.....	20
2.3. ANÁLISE DE DADOS.....	22
3. RESULTADOS .....	25
3.1. CARACTERIZAÇÃO ABIÓTICA.....	27
3.2. CARACTERIZAÇÃO BIÓTICA.....	28
3.2.1. <i>Assinaturas isotópicas das diferentes espécies de bivalves em distintos ecossistemas de água doce</i> .....	28

3.2.2. Contribuição das diferentes fontes de matéria orgânica para os bivalves de água doce presentes no rio Minho .....	43
4. DISCUSSÃO .....	49
4.1. Assinaturas isotópicas das diferentes espécies de bivalves em distintos ecossistemas de água doce.....	51
4.1.1. Assinatura de $\delta^{13}C$ .....	54
4.1.2. Assinatura de $\delta^{15}N$ .....	58
4.2. Contribuição das diferentes fontes de matéria orgânica para os bivalves de água doce presentes no Rio Minho .....	62
5. IMPLICAÇÕES DE CONSERVAÇÃO E DIREÇÕES FUTURAS .....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	73
ANEXOS .....	85

# ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Número cumulativo de artigos que abordam a espécie *C. fluminea* (n = 487) na *Web of Science* até 31 de Dezembro de 2012. .... 6
- Figura 2.** Mapa de Portugal continental com a localização dos seis locais de amostragem (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua)..... 15
- Figura 3.** Análise de Componentes Principais (PCA) ordenando os seis locais de amostragem (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua) de acordo com as características abióticas e respetiva projeção de vetores..... 27
- Figura 4.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às espécies recolhidas em cada ecossistema aquático amostrado. (Cf - *C. fluminea*, Cf-II - *C. fluminea* de um afluente próximo à Lagoa de Mira, Aa - *A. anatina*, Pl - *P. littoralis*, Ud - *U. delphinus*, Pa - *P. amnicum* e Ac - *A. cygnea*, LM - Lagoa de Mira, M - rio Minho, P - rio Paiva, S - rio Sabor, Ta - rio Tâmega e Tu - rio Tua)..... 28
- Figura 5. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas na Lagoa de Mira. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  **(B)** e  $\delta^{13}\text{C}$  **(C)** das diversas espécies recolhidas na Lagoa de Mira. (Cf - *C. fluminea*, Cf-II - *C. fluminea* de um afluente próximo à lagoa, Ud - *U. delphinus* e Ac - *A. cygnea*) ..... 30
- Figura 6. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Minho. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  **(B)** e  $\delta^{13}\text{C}$  **(C)** das diversas espécies recolhidas no rio Minho. (Cf - *C. fluminea*, Aa - *A. anatina*, Pl - *P. littoralis*, Ud - *U. delphinus* e Pa - *P. amnicum*)..... 31
- Figura 7. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Paiva. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de

$\delta^{15}\text{N}$  (B) e  $\delta^{13}\text{C}$  (C) das diversas espécies recolhidas no rio Paiva. (Cf - *C. fluminea*, Aa - *A. anatina* e Ud - *U. delphinus*)..... 32

**Figura 8. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Sabor. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (B) e  $\delta^{13}\text{C}$  (C) das diversas espécies recolhidas no rio Sabor. (Cf - *C. fluminea*, Pl - *P. littoralis* e Ud - *U. delphinus*)..... 33

**Figura 9. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às duas espécies recolhidas no rio Tâmega. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (B) e  $\delta^{13}\text{C}$  (C) das duas espécies recolhidas no rio Tâmega. (Cf - *C. fluminea* e Aa - *A. anatina*)..... 34

**Figura 10. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Tua. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (B) e  $\delta^{13}\text{C}$  (C) das diversas espécies recolhidas no rio Tua. (Cf - *C. fluminea*, Aa - *A. anatina*, Pl - *P. littoralis* e Ud - *U. delphinus*)..... 35

**Figura 11.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *C. fluminea* nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados (afluente próximo à Lagoa de Mira, Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua)..... 37

**Figura 12.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *A. anatina* nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados (rios Minho, Paiva, Tâmega e Tua). ..... 38

**Figura 13.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *P. littoralis* nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados (rios Minho, Sabor e Tua)..... 39

**Figura 14.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *U. delphinus* nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor e Tua). ..... 40

<b>Figura 15. A)</b> Relação entre os valores dos isótopos estáveis de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰), referentes à espécie <i>C. fluminea</i> e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); <b>B)</b> Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB, POM e SOM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie <i>C. fluminea</i> presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento) .....	43
<b>Figura 16. A)</b> Relação entre os valores dos isótopos estáveis de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰), referentes à espécie <i>A. anatina</i> e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); <b>B)</b> Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB, POM e SOM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie <i>A. anatina</i> presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento) .....	44
<b>Figura 17. A)</b> Relação entre os valores dos isótopos estáveis de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰), referentes à espécie <i>P. littoralis</i> e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); <b>B)</b> Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB e POM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie <i>P. littoralis</i> presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento) .....	45
<b>Figura 18. A)</b> Relação entre os valores dos isótopos estáveis de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰), referentes à espécie <i>U. delphinus</i> e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); <b>B)</b> Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB e POM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie <i>U. delphinus</i> presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento) .....	46
<b>Figura 19. A)</b> Relação entre os valores dos isótopos estáveis de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰), referentes à espécie <i>P. amnicum</i> e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); <b>B)</b> Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB e SOM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie <i>P. amnicum</i> presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento) .....	47



# ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valor médio ( $\pm$ Desvio Padrão), máximo e mínimo do comprimento da concha (mm) dos exemplares recolhidos das diferentes espécies de bivalves nos diversos ecossistemas aquáticos amostrados: Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua, onde <i>Corbicula fluminea</i> -II diz respeito aos indivíduos desta espécie recolhidos num afluente da Lagoa de Mira. ....	21
<b>Tabela 2.</b> Dados abióticos da água: temperatura ( $^{\circ}$ C), oxigénio dissolvido ( $\text{mg l}^{-1}$ ), pH, condutividade ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) e nutrientes dissolvidos - amónia ( $\text{mg l}^{-1}$ ), nitritos ( $\text{mg l}^{-1}$ ), nitratos ( $\text{mg l}^{-1}$ ) e fosfatos ( $\text{mg l}^{-1}$ ) medidos nos vários ecossistemas aquáticos de água doce (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua) em Setembro de 2012. ....	22
<b>Tabela 3.</b> Valores dos isótopos estáveis de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰) e das possíveis fontes de matéria orgânica de <i>C. fluminea</i> utilizadas para o desenvolvimento dos diferentes modelos (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento). ....	24
<b>Tabela 4.</b> Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰) entre as diversas espécies nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados. ....	36
<b>Tabela 5.</b> Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ (‰) de cada espécie entre os diferentes ecossistemas aquáticos amostrados. ....	41
<b>Tabela 6.</b> Valores referentes à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB, POM, SOM) ( $\pm$ Desvio Padrão), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos das diversas espécies presentes no rio Minho ( <i>C. fluminea</i> , <i>A. anatina</i> , <i>P. littoralis</i> , <i>U. delphinus</i> e <i>P. amnicum</i> ). (MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento) ....	48





# 1. INTRODUÇÃO

---



As invasões biológicas são consideradas como um dos principais mecanismos responsáveis pela alteração global da biosfera, provocando modificações profundas na estrutura e funcionamento dos ecossistemas (Simberloff *et al.*, 2013). De facto, os impactes gerados por estas introduções contribuem para a homogeneização das comunidades, redução da biodiversidade global (embora possam ser responsáveis por aumento da diversidade local) e extinção de espécies nativas (Strayer, 2010; Olden, 2006). As mudanças causadas pelas espécies invasoras poderão ser de tal maneira profundas que alguns investigadores sugerem que se está a entrar numa nova era, em que todos os continentes estão interligados devido às atividades humanas e em que as barreiras biogeográficas foram eliminadas, permitindo a movimentação de organismos à escala mundial (Olden, 2006). Assim sendo, a gestão e controlo de invasões biológicas é hoje um dos maiores desafios em ecologia e conservação (Allendorf & Lundquist, 2003).

## 1.1. ESPÉCIES INVASORAS EM ECOSSISTEMAS AQUÁTICOS

Os ecossistemas aquáticos estão sujeitos a centenas de introduções de espécies invasoras (Strayer, 2010). Estas introduções são reconhecidas como uma das principais ameaças à biodiversidade, sendo responsáveis por importantes efeitos ecológicos, económicos e evolutivos (Pimentel *et al.*, 2000; Grosholz, 2002; Cox, 2004). As espécies invasoras têm sido transportadas, deliberada ou acidentalmente, por vetores que resultam da ação humana (e.g., aquacultura, construção de canais, água de lastro, pesca desportiva, atividades recreativas) o que levou a um aumento dramático da dispersão destas espécies (Cohen & Carlton, 1998; Ricciardi & MacIsaac, 2000; Strayer, 2010). Simultaneamente, os ecossistemas de água doce estão a ser excessivamente alterados devido aos impactes gerados pela perda e fragmentação do habitat, poluição, regulação de caudais, exploração de recursos e alterações climáticas, que resultam num declínio das espécies nativas, podendo mesmo beneficiar a disseminação de espécies invasoras (Ricciardi & Rasmussen, 1999; Holeck *et al.*, 2004).

Ainda que tenham sido feitos progressos para a compreensão dos efeitos gerados pelas espécies invasoras em ecossistema aquáticos, só recentemente se começou a analisar os impactes cumulativos destas espécies sobre os ecossistemas (Ehrenfeld, 2011; Sousa *et al.*, 2011; Simberloff *et al.*, 2013). Se é comum encontrar estudos que relatam a diminuição da distribuição e/ou abundância ou mesmo extirpação de espécies nativas, a análise dos impactes no ecossistema permanecem por explorar quer cientificamente quer ao nível dos programas de gestão ambiental (Mack *et al.*, 2000). Esses impactes são diversos e vão desde alterações subtis no comportamento individual das espécies nativas (e.g., obtenção de recursos e uso do habitat), mudanças na abundância e/ou distribuição de outras espécies, mudanças nas interações entre populações, até alterações nos fluxos de energia e nutrientes nos ecossistemas (Simon & Townsend, 2003). Alguns destes impactes podem ser subtis ou mesmo difíceis de prever e/ou medir, mas a sua compreensão pode ser fundamental para a perceção de mudanças mais óbvias (Simon & Townsend, 2003; Simberloff *et al.*, 2013).

Com o interesse crescente em determinar os impactes gerados pelas espécies invasoras ao nível dos ecossistemas, foram já realizados alguns estudos que mostraram que certas espécies podem afetar as relações tróficas, sendo mesmo apontadas como as espécies com maior probabilidade de afetar significativamente o funcionamento dos ecossistemas (Simberloff *et al.*, 2013). As interações tróficas, resultantes da introdução de herbívoros, decompositores e predadores, transformam a composição da comunidade e as propriedades do ecossistema invadido, através da modificação dos fluxos de energia e nutrientes e da alteração da abundância de espécies que controlam estes mesmos fluxos. Exemplo disso é a remoção ou introdução de um predador de topo, que pode ter um efeito ecológico em cascata, levando a alterações nas cadeias tróficas que vão desde o topo até a sua base (Simberloff *et al.*, 2013). Contudo, estas mudanças irão igualmente depender da abundância, distribuição espacial, distinção funcional, características da zona invadida e tempo desde a introdução da espécie invasora (Sousa *et al.*, in press a). Alguns exemplos de espécies invasoras em ecossistemas de água doce que modificaram a natureza de comunidades inteiras incluem fenómenos de *top-down*, nos quais um predador afeta um nível trófico basal através do consumo direto de um nível trófico intermediário, como foi o caso da hiperpredação aquando da introdução da perca do Nilo (*Lates niloticus*) nos grandes lagos africanos que dizimou uma grande diversidade de peixes ciclídeos (Kaufman, 1992; Goldschmidt *et al.*, 1993); de *bottom-up*, quando um nível trófico na base da cadeia trófica afeta de forma indireta um nível trófico superior, como foi o caso da introdução do

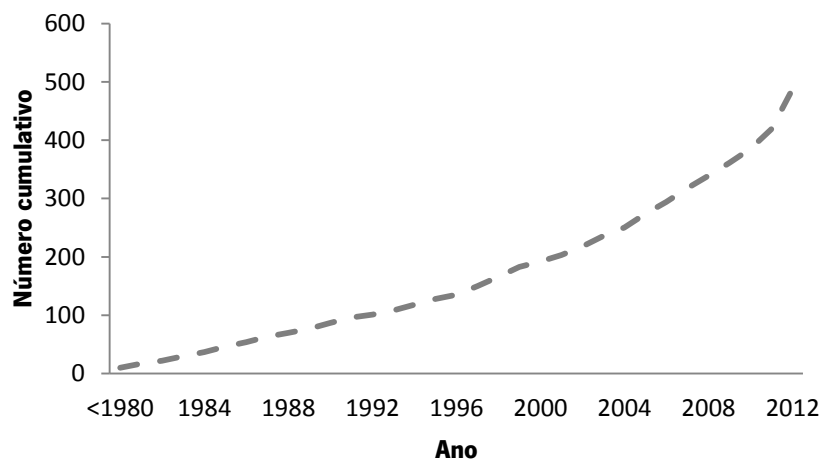
camarão gamba (*Mysis relicta*) no lago Flathead, na América do Norte que afetou o zooplâncton e com consequências importantes nos níveis tróficos superiores, nos quais se incluíam várias espécies de peixes, aves e mamíferos (Spencer *et al.*, 1991). Podem igualmente ocorrer mudanças nos níveis inferiores e superiores da cadeia trófica após a introdução de uma espécie de níveis tróficos intermédios como foi o caso do mexilhão zebra (*Dreissena polymorpha*) nos rios e grandes lagos da América do Norte que afetou drasticamente as comunidades de fitoplâncton e zooplâncton e com consequências para os níveis tróficos superiores (Nalepa & Schloesser, 1993; Strayer *et al.*, 1999; Ricciardi, 2003).

## 1.2. *Corbicula fluminea*

Os bivalves invasores têm sido amplamente estudados uma vez que, por serem consumidores primários, podem ser responsáveis por mudanças drásticas na cadeia trófica a partir da sua base (Strayer, 2010; Sousa *et al.*, in press a). De facto, estes organismos podem constituir a maior parte da biomassa existente no zoobentos de muitos rios, lagos, estuários e águas costeiras de baixa profundidade tendo potencial para influenciar a reciclagem dos nutrientes e a dinâmica das cadeias tróficas através da absorção e assimilação seletiva de carbono (C) e azoto (N) durante o processo de filtração (Dame, 1996; Vaughn *et al.*, 2008). Além disso, as taxas de filtração destes organismos podem ser substanciais, podendo originar alterações na função e estrutura dos ecossistemas, em que estão inseridos por mecanismos assimilativos (consumo de fitoplâncton) e não assimilativos (mudanças físicas resultantes de atividades de engenharia de ecossistemas) (Strayer *et al.*, 1999).

A espécie *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) tem sido reconhecida como uma das espécies de bivalves não nativas mais relevantes em ecossistemas aquáticos devido ao seu comportamento invasor e, por isso, o número de artigos publicados, tendo como modelo esta espécie, cresceu nos últimos anos (Figura 1) (Sousa *et al.*, 2008, in press a). Originalmente, espécies pertencentes ao género *Corbicula* estavam confinadas a ecossistemas aquáticos da Ásia, África e Oceânia, mas, a partir do século XX, expandiram para a América do Norte, América do Sul e Europa (Mouthon, 1981; Ituarte, 1994; McMahon, 2000). Recentemente foi descrita a introdução de *C. fluminea* no continente Africano, mais concretamente em duas bacias

hidrográficas marroquinas (Clavero *et al.*, 2012). Segundo McMahon (2002), a introdução e posterior dispersão desta espécie resulta da combinação de mecanismos de dispersão humanos (mencionados anteriormente) e naturais (e.g., os juvenis podem ser transportados por correntes fluviais ou marés e também por aves, mamíferos ou peixes). Este tipo de transporte natural pode revelar-se de grande importância em introduções secundárias, estando possivelmente relacionado com a dispersão de *C. fluminea* para áreas com baixa pressão humana (Ilarri & Sousa, 2012). O sucesso invasor desta espécie está também relacionado com características do seu ciclo de vida, nomeadamente crescimento rápido, maturidade sexual precoce (3-6 meses), ciclo de vida curto (1-5 anos), alta fecundidade (máximo de quase 70 000 indivíduos por adulto) e grande capacidade de dispersão. Todos estes atributos aliados às consequências geradas pelas atividades humanas tornam este bivalve passível de colonizar novos ambientes (McMahon, 2002; Sousa *et al.*, 2008).



**Figura 1.** Número cumulativo de artigos que abordam a espécie *C. fluminea* (n = 487) na *Web of Science* até 31 de Dezembro de 2012.

Dada a sua capacidade invasora, a espécie *C. fluminea* pode causar graves impactes ecológicos e económicos nos ecossistemas invadidos: alterações nos ciclos biogeoquímicos, na cadeia trófica, bioacumulação de contaminantes e *biofouling* (i.e., entupimento de canalizações em barragens e estações de tratamento de água, canais de rega e estruturas semelhantes) (Sousa *et al.*, 2008). Introduções desta espécie podem ainda ter consequências na vegetação aquática submersa, no fitoplâncton e zooplâncton e em níveis tróficos superiores (peixes e aves aquáticas migradoras e não migradoras) (Phelps, 1994; Strayer *et al.*, 1999; Sousa *et al.*, 2007). Vários estudos mostraram também que esta espécie pode causar impactes negativos na

abundância e diversidade de bivalves nativos de espécies pertencentes às famílias Margaritiferidae, Unionidae e Sphaeriidae, através da redução dos habitats disponíveis, de alterações no recrutamento e da quantidade de juvenis que sobrevivem e através da competição pelo alimento disponível para espécies de bivalves nativas (McMahon, 1991; Hakenkamp & Palmer, 1999; Strayer *et al.*, 1999; Vaughn & Hakenkamp, 2001; Sousa *et al.*, 2008). Esta espécie pode ser também um vetor de introdução de parasitas e doenças nos ecossistemas invadidos (Strayer *et al.*, 1999).

Nos últimos anos foram reportadas mortalidades massivas desta espécie aquando de fenómenos climáticos extremos (e.g., secas, cheias, vagas de calor) o que, aliado à grande biomassa e sua conseqüente decomposição, podem igualmente provocar mortalidades massivas em outras espécies bentónicas (Sousa *et al.*, 2007, 2012). Fenómenos deste tipo ocorreram, por exemplo, nos verões de 2005 e 2009 no rio Minho (Portugal). Nestes dois anos, o caudal foi particularmente baixo, o que aliado a altas temperaturas e diminuição de oxigénio dissolvido, provocou a morte não só da espécie invasora, mas também de outras espécies que viviam em simpatria, incluindo bivalves nativos (Ilarri *et al.*, 2011). Fenómeno semelhante, porém, como resultado de um aumento de caudal durante o inverno de 2009/2010, provocou a movimentação dos bivalves para as margens onde acabaram por morrer, quando o caudal voltou ao normal na primavera/verão de 2012 (Sousa *et al.*, 2012). Estas mortalidades afetam negativamente as populações de bivalves, sendo mesmo uma severa ameaça para algumas espécies nativas. No entanto, a espécie invasora tendo um ciclo de vida tipicamente oportunista, consegue recuperar mais rapidamente, estando em vantagem relativamente às espécies de bivalves nativas (Sousa *et al.*, 2012).

Finalmente, e segundo Sousa *et al.* (2009), *C. fluminea* possui determinados atributos chave (e.g., conchas, comportamento, tamanho, abundância e distribuição) que fazem deste bivalve um engenheiro de ecossistemas muito eficiente, podendo modificar a estrutura e função dos ecossistemas invadidos através da alteração das condições abióticas (e.g., turbidez da água, penetração da luz, granulometria do sedimento, oxigénio dissolvido, velocidade da corrente e complexidade do habitat) (Ilarri & Sousa, 2012). O tipo de alimentação que exhibe (filtração e *pedal feeding* (alimentação através do pé)) também altera fortemente o ambiente bentónico e a coluna de água, nomeadamente por controlarem a produção primária, alterarem as taxas de



sedimentação e aumentarem a claridade da água (Cohen *et al.*, 1984; Phelps, 1994; Strayer *et al.*, 1999).

Apesar de, nas últimas duas décadas, ter aumentado a compreensão sobre os possíveis impactos ecológicos que *C. fluminea* poderá exercer nas espécies de bivalves nativas nos ecossistemas invadidos, ainda existe uma grande incerteza e especulação em torno desses possíveis efeitos, sendo que a maior parte deles permanecem altamente especulativos e carecem de fundamentação científica (Sousa *et al.*, 2008, in press a). Na verdade, as espécies de bivalves nativas e não-nativas podem coexistir em algumas áreas, mas muitas vezes os seus papéis ecológicos ao nível das cadeias tróficas permanecem ignorados. No entanto, compreendê-los poderá ser essencial para prever como os ecossistemas poderão ser alterados, se as densidades das espécies de bivalves nativas continuarem a diminuir e as densidades dos bivalves invasores aumentarem. Como consequência, recentemente, alguns investigadores têm-se esforçado por determinar o papel funcional destes bivalves nas cadeias tróficas, utilizando para tal, a análise de isótopos estáveis (Atkinson *et al.*, 2010).

### 1.3. ANÁLISE DE ISÓTOPOS ESTÁVEIS

Os isótopos são átomos do mesmo elemento químico que ocupam o mesmo lugar na tabela periódica e que exibem o mesmo número de prótons e eletrões, mas um diferente número de neutrões em comparação com o isótopo desse elemento que é mais estável. Por conseguinte, cada isótopo de um determinado elemento químico apresenta um número de massa atómica diferente. Esta diferença é responsável por comportamentos distintos do elemento em relação a um determinado isótopo, modificando localmente a abundância relativa entre os vários isótopos na natureza num processo denominado de fracionamento isotópico. Quanto maior a diferença de massa entre eles maior o fracionamento. O fracionamento pode ocorrer por mudança de fase ou estado, diferenças na taxa de reação química e na velocidade de difusão molecular. Os isótopos estáveis são aqueles que não se transformam noutros por decaimento radioativo, ao contrário do que acontece com os isótopos radioativos (Clark & Fritz, 1997).

A análise de isótopos estáveis tem vindo a tornar-se numa das principais ferramentas para analisar a estrutura das cadeias tróficas em estudos de ecologia (Peterson, 1999; Layman *et al.*, 2012). Os isótopos estáveis são particularmente úteis, porque fornecem informação integrada no tempo e espaço das fontes de energia que suportam as cadeias tróficas, bem como das interações tróficas existentes entre os organismos (Pasquaud *et al.*, 2007; Hoffman *et al.*, 2008). Para além disto, têm contribuído para uma melhor compreensão sobre as mudanças na estrutura das comunidades causadas pela ação humana (Post *et al.*, 2000; Moore & Semmens, 2008; Semmens *et al.*, 2009; Layman *et al.*, 2007). Esta técnica baseia-se na relação existente entre a composição isotópica da matéria orgânica (MO) no ecossistema e na composição isotópica existente no tecido dos consumidores que incorporam essa MO nos seus componentes estruturais e reservas energéticas. Os isótopos estáveis de azoto ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) no tecido dos animais refletem assim a composição das fontes de MO que foram assimiladas ao longo do tempo. O  $\delta^{15}\text{N}$  de um organismo é tipicamente enriquecido em 2.2-3.4‰ em relação à sua dieta e é geralmente utilizado para determinar a posição trófica de um organismo (Hobson *et al.*, 1995, 1996; Páez-Rosas *et al.*, 2012). O  $\delta^{13}\text{C}$  é tipicamente enriquecido em 1-2‰ em relação ao nível trófico inferior, sendo utilizado para determinar as fontes de energia de um organismo (Peterson & Fry, 1987; Caut *et al.*, 2009).

Vários estudos sobre a estrutura das cadeias tróficas foram realizados em ecossistemas aquáticos, utilizando, para tal, as análises isotópicas. Por exemplo, Bilby *et al.* (2003) mostrou que as áreas limitrofes às utilizadas na desova de salmões da espécie *Oncorhynchus keta* recebem uma contribuição substancial de nutrientes provenientes de ecossistemas marinhos e que este subsídio trófico influencia inclusive a vegetação ripícola adjacente, aumentando a densidade e diversidade de determinadas espécies que passam a exibir valores de  $\delta^{15}\text{N}$  mais altos. Um estudo semelhante foi efetuado por Bartz & Naiman (2005), no qual foi mostrado que a desova do salmão do Pacífico (*Oncorhynchus* spp.) foi uma fonte de nutrientes de origem marinha para os ecossistemas ribeirinhos, afetando as características dos solos associados e da vegetação. Por outro lado, num estudo desenvolvido por Cucherousset *et al.* (2012), a análise de isótopos estáveis ( $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ ) foi utilizada para estudar as estratégias comportamentais desenvolvidas por alguns indivíduos da espécie *Silurus glanis* (peixe gato). Estes peixes de água doce alimentaram-se de pombos terrestres (*Columbia livia*), que estavam fora dos limites do seu ecossistema, tendo este estudo revelado que parte dos recursos consumidos por esta espécie advém de ecossistemas terrestres adjacentes. Já o estudo realizado por Correa *et al.* (2012)

utilizou a análise de isótopos estáveis ( $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ ) para explorar como a densidade de trutas invasoras (*Oncorhynchus mykiss* e *Salmo trutta*) em lagos da Patagônia alteraram o nicho trófico de um peixe nativo (*Galaxias platei*). A análise de isótopos estáveis tem sido igualmente utilizada em diversos tipos de estudos ecológicos e em várias áreas da ecologia vegetal e animal, nomeadamente para elucidar vias fotossintéticas e processos fisiológicos em plantas, migração de animais, na determinação das fontes de MO utilizadas pelos consumidores no contexto das cadeias tróficas aquáticas ou terrestres, na determinação de fontes de poluição, para traçar fluxos energéticos em cadeias tróficas, na compreensão de paleo-dietas, e ainda no estabelecimento das vias do ciclo dos nutrientes em ecossistemas terrestres e aquáticos (Fry & Sherr, 1984; Peterson & Fry, 1987; Lajtha & Marshall, 1994).

A análise de isótopos estáveis permite ainda analisar a existência de alterações nas fontes de MO utilizadas por um indivíduo ao longo do tempo. Neste contexto, a escolha do tecido a analisar é um fator a ponderar, dado que diferentes tecidos permitem fazer diferentes interpretações (Bearhop *et al.*, 2004; Layman *et al.*, 2012). Assim, algumas abordagens baseiam-se na análise de tecidos metabolicamente inertes como pelos, penas e a dentina dos dentes, que permitem obter a assinatura isotópica da dieta do consumidor no tempo da deposição. Se a taxa de deposição do tecido é conhecida, este tecido representa uma linha temporal na história da dieta do consumidor. Neste tipo de estudos, é necessário ter em conta que a natureza da deposição do tecido pode ser contínua (e.g., cristais capilares de algumas espécies de mamíferos) ou descontínua (e.g., penas) (Layman *et al.*, 2012). Por outro lado, existem abordagens que se baseiam no facto de diferentes tecidos terem diferentes taxas de *turnover* e portanto, diferentes tecidos refletem escalas de tempo distintas (Hesslein *et al.*, 1993). Assim, indivíduos que se alimentam de forma consistente num dado recurso exibem assinaturas isotópicas semelhantes em todos os tecidos independentemente da taxa de *turnover*, enquanto indivíduos com uma dieta variada ao longo do tempo mostram uma incompatibilidade de assinaturas entre os tecidos com diferentes taxas de *turnover*. Neste caso, é fundamental ter em conta esta situação para poder fazer inferências sobre o grau de especialização alimentar (Layman *et al.*, 2012). Importa ainda mencionar que se, no decorrer de um estudo, a amostragem for feita em momentos ou locais diferentes, tal facto pode ter repercussões nos valores das assinaturas isotópicas, caso as fontes de MO variem no tempo ou espaço. Assim sendo, indivíduos especialistas que se alimentem consistentemente em diferentes áreas, podem apresentar uma assinatura isotópica distinta, caso haja heterogeneidade espacial nos valores

dos isótopos estáveis dos recursos consumidos. Deste modo, as variações derivadas do local, onde é obtido o recurso, serão confundidas com variações na dieta e o indivíduo especialista é confundido com um generalista (Flaherty & Ben-David, 2010).

Este tipo de análise, embora permita tirar inferências sobre as relações tróficas e a estrutura da cadeia trófica, não é uma caracterização direta da dieta, como são exemplo a análise do conteúdo estomacal, as observações diretas da alimentação ou análise fecal. Devido à natureza indireta dos dados, existem diversas fontes potenciais de ambiguidade na interpretação das assinaturas isotópicas (Layman *et al.*, 2012). Os valores dos isótopos estáveis são o produto não só das interações tróficas reais, mas também são influenciados por processos biológicos e químicos subjacentes. Por exemplo, quando os isótopos elementares das fontes de MO são discriminados e assimilados de forma diferente entre os tipos de tecidos do consumidor, a interpretação direta das relações tróficas subjacentes pode ser problemática (Martinez del Rio *et al.*, 2009). Neste caso, o tecido não reflete a composição isotópica da dieta, mas sim a composição isotópica dos nutrientes que foram utilizados para sintetizar o tecido (Layman *et al.*, 2012). É importante ter este facto em conta, sobretudo quando se está perante um indivíduo que apresenta uma alimentação variada, ou seja, ignorar tais processos bioquímicos pode resultar em interpretações tendenciosas ou erradas das interações tróficas reais (Martinez del Rio *et al.*, 2009; Layman *et al.*, 2012).

Por todas as razões acima mencionadas (em 1.2. *Corbicula fluminea*), *C. fluminea* tem sido descrita como uma severa ameaça para a biodiversidade nativa e, como tal, estudar a importância trófica desta espécie tornou-se um objetivo importante em ecologia e conservação (Sousa *et al.*, 2008, 2011). Muitos trabalhos têm sido realizados numa tentativa de perceber quais os fatores que contribuem para o seu sucesso invasor, bem como para avaliar os impactos que esta espécie tem nos ecossistemas invadidos. Geralmente, o sucesso invasor destas espécies é explicado tendo por base a) as características das espécies invasoras e b) as características da área invadida. Contudo, a compreensão do papel que as espécies nativas e invasoras desempenham em termos da estrutura da cadeia trófica e reciclagem dos nutrientes é muitas vezes negligenciada. Desta forma, com este trabalho pretende-se avaliar se *C. fluminea* apresenta um nicho trófico maior do que o das espécies de bivalves nativas e se esta situação poderá contribuir para o seu sucesso invasor. Para tal, foram determinadas e comparadas as assinaturas dos  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  da espécie invasora *C. fluminea* e de cinco espécies de bivalves

nativas (*Anodonta anatina*, *Anodonta cygnea*, *Pisidium amnicum*, *Potomida littoralis* e *Unio delphinus*), recolhidas em seis ecossistemas distintos (desde rios oligotróficos até lagoas de água doce eutrofizadas). Neste estudo, assume-se que as espécies de bivalves nativas e não-nativas pertencem ao mesmo grupo funcional (filtradores) e que espécies com uma dieta generalista poderão ter maiores probabilidades de sucesso do que espécies especialistas, visto que a disponibilidade de alimento poderá ser um fator limitante (Moyle & Light, 1996). Para além desta análise, foi determinada a contribuição das diferentes fontes de MO para a espécie invasora *C. fluminea* e para várias espécies de bivalves nativas que vivem em simpatria no rio Minho. É de referir que, neste ecossistema, esta espécie invasora possui densidades elevadas, sendo que a sua biomassa contribui com mais de 95% da biomassa bentónica (Sousa *et al.*, 2005, 2007, 2008a, 2008b), e, ainda, que até ao momento este tipo de técnica nunca foi utilizada de forma a reconhecer possíveis diferenças na utilização de recursos por parte de *C. fluminea* e espécies de bivalves nativas simpátricas.

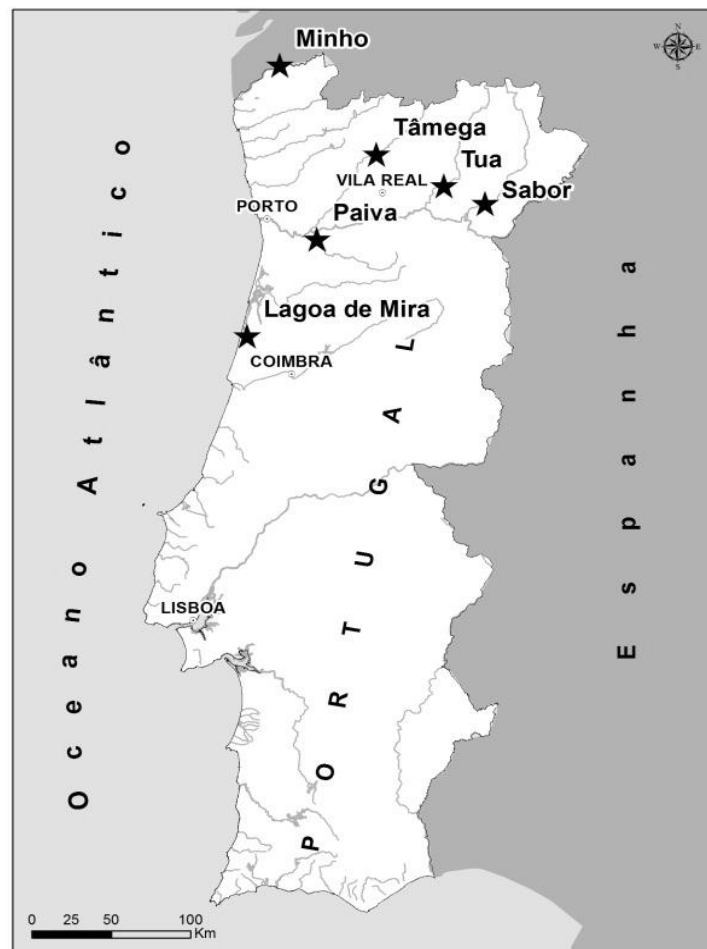
## 2. MATERIAL E MÉTODOS

---



## 2.1. ÁREA DE ESTUDO

Os bivalves utilizados neste estudo foram recolhidos em seis ecossistemas aquáticos distintos, desde lagoas de água doce eutrofizadas até rios oligotróficos (i.e., Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua) situados no norte e centro de Portugal (Figura 2). A seleção destes ecossistemas esteve relacionada com as suas características hidrológicas distintas, com a relativa facilidade em efetuar a recolha das espécies de bivalves nativas de água doce e, principalmente, por em todos estes locais estar presente a espécie invasora *C. fluminea*.



**Figura 2.** Mapa de Portugal continental com a localização dos seis locais de amostragem (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua).



### 2.1.1. Lagoa de Mira

A Lagoa de Mira, conhecida também por Lagoa de Baixo, é um pequeno corpo de água localizado no concelho de Mira, na região centro-litoral, entre Aveiro e a Figueira da Foz. É parte integrante do Sítio Natura 2000 - Dunas de Mira, Gândara e Gafanhas, faixa que incorpora a área costeira compreendida entre a Ria de Aveiro e o Cabo Mondego. Esta lagoa dista 5 km do mar, tem cerca de 18 hectares e comunica com a Lagoa da Barrinha pela chamada Vala da Cana. É classificada como sendo de origem interdunar, uma vez que resulta da acumulação de grandes porções de água nas depressões interdunares (Cruz, 2011). É um ecossistema de água doce eutrofizado, onde alguns estudos têm revelado a presença de determinadas espécies de cianobactérias tóxicas como *Microcystis aeruginosa* e *Anabaena flos-aquae*. Está rodeada por uma zona arborizada com pinhais, alguns campos de cultivo e um empreendimento hoteleiro que utiliza a lagoa diretamente como local recreativo. Assim, esta lagoa é utilizada essencialmente para lazer dos habitantes locais e dos turistas, nomeadamente para natação, passeios de barco sem motor e alguma pesca (Garcia, 2001). Está descrito para esta lagoa a presença de duas espécies de bivalves nativas de água doce (*A. cygnea* e *U. delphinus*) e uma invasora (*C. fluminea*) (Sousa, comunicação pessoal).

### 2.1.2. Rio Minho

O rio Minho nasce a 750 m de altitude em Espanha na serra de Meira, província de Lugo, e desagua no Oceano Atlântico a norte da localidade de Caminha (Portugal) e a sul de La Guardia (Espanha). A área total da bacia hidrográfica deste rio é de aproximadamente 17 080 km<sup>2</sup>, dos quais 95% estão localizados em Espanha e apenas 5% em Portugal (Sousa *et al.*, 2005, 2007, 2008a-b). Apresenta uma extensão total de 343 km, sendo que os primeiros 267 km são percorridos na Galiza, onde as margens do rio se encontram fortemente regularizadas devido à existência de 50 barreiras artificiais, e os últimos 76 km, entre Melgaço e a foz, constituem a fronteira natural entre Portugal e Espanha (Antunes *et al.*, 2011). Neste troço as margens já não se encontram regularizadas e estão em boas condições ecológicas, contudo no último afluente deste rio (rio Coura) existe uma barragem e duas mini-hídricas. Em geral, as fontes de poluição observáveis neste troço internacional do rio são essencialmente de origem industrial, doméstica e agrícola e essencialmente conotadas com as descargas provenientes do rio Louro e, em menor

grau, do rio Coura (Coimbra *et al.*, 2005; Sousa *et al.*, 2005, 2007, 2008a-b). O caudal médio anual é de  $300 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  (Ferreira *et al.*, 2003). O estuário do rio Minho tem uma largura máxima de pouco mais de 2 km e cerca de 35 km de extensão. Este estuário mesotidal é normalmente estratificado e apresenta uma amplitude de maré que pode atingir os 4 m (Alves, 1996). Devido à sua importância ecológica, o estuário do rio Minho e a seção internacional deste rio foram designados como um sítio Natura 2000 (EIONET, 2012). Está descrito para a bacia deste rio a presença de várias espécies de bivalves nativas de água doce (*A. anatina*, *M. margaritifera*, *P. littoralis*, *U. delphinus* e várias espécies do género *Pisidium* sendo de destacar a presença de *P. amnicum*) e uma invasora (*C. fluminea*) (Sousa *et al.*, 2005).

### 2.1.3. Rio Paiva

O rio Paiva nasce na Serra de Leomil, concelho de Moimenta da Beira e desagua no Rio Douro, em Castelo de Paiva. É um rio típico de montanha com comprimento total de 108 km e é um dos principais afluentes da margem esquerda do rio Douro em Portugal (Sousa *et al.*, in press b). O rio Paiva apresenta em todo o seu percurso aspetos que o tornam num dos mais interessantes rios do norte de Portugal. Devido às características geológicas encontradas ao longo do seu percurso, que incluem vales com encostas muito íngremes, este é um dos poucos rios onde é possível observar águas extremamente rápidas em praticamente toda a extensão de rio, permitindo a prática de vários desportos aquáticos (IDAD, 2002). Além disso, a água é de excelente qualidade, sendo mesmo reconhecido como um dos rios mais limpos da Europa. Este rio apresenta uma vegetação ripícola em bom estado de conservação, com predominância de amieiros, salgueiros e freixos, secundados por loureiros, aveleiras, azereiros, pilriteiros, carvalhos-robles e lóðãos. Em geral, as fontes de poluição observáveis neste rio são essencialmente de origem doméstica. Dada a sua importância ecológica e de conservação, esta área é classificada como um sítio Natura 2000 (Sousa *et al.*, in press b; IDAD, 2002). Está descrito para a bacia deste rio a presença de várias espécies de bivalves nativas de água doce (*A. anatina*, *M. margaritifera*, *U. delphinus* e várias espécies do género *Pisidium*) e uma invasora (*C. fluminea*) (Sousa *et al.*, in press b).

#### 2.1.4. Rio Sabor

O rio Sabor nasce em Espanha, na serra de Gamoneda, província de Zamora, e entra em Portugal atravessando a Serra de Montesinho no distrito de Bragança. Este rio pertence à bacia hidrográfica do rio Douro, situada no Nordeste Transmontano. Antes de desaguar na margem direita do rio Douro, na aldeia da Foz do Sabor, percorre uma extensão de aproximadamente 112 km. A área total da sua bacia hidrográfica é de 3 868 km<sup>2</sup>, dos quais 555 km<sup>2</sup> estão em território espanhol (Silva, 2010; Sousa *et al.*, 2012). No que toca à qualidade ecológica, o rio Sabor na maioria do seu percurso encontra-se em boas condições. Contudo, a poluição doméstica e industrial, a extração de inertes, os cortes exagerados da vegetação ripícola, a agropecuária intensiva e a regularização de caudais, são realidades que podem ser presenciadas na bacia do rio Sabor. Especial relevo assume o Aproveitamento Hidroeléctrico do Baixo Sabor (AHBS) que está atualmente em fase de construção e que, após o enchimento da barragem, será responsável pela criação de um espaço de características lânticas numa extensão aproximada de 50 km (Silva, 2010; Sousa *et al.*, 2012). Está descrito para a bacia deste rio a presença de várias espécies de bivalves nativas de água doce (*A. anatina*, *P. littoralis*, *U. delphinus* e várias espécies do género *Pisidium*) e uma invasora (*C. fluminea*) (Sousa *et al.*, 2012).

#### 2.1.5. Rio Tâmega

O rio Tâmega nasce a 960 m de altitude na serra de San Mamede, na província de Ourense em Espanha. Entra em Portugal na região de Veiga de Chaves e desagua na margem direita do rio Douro, na localidade de Entre-os-Rios. Apresenta uma extensão total de 140 km e a área total da bacia hidrográfica deste rio é de 3 309 km<sup>2</sup>, dos quais 80% estão localizados em Portugal e 20% em Espanha (Sousa *et al.*, 2012). A água do rio Tâmega é de má qualidade, apresentando problemas graves de eutrofização principalmente no verão. As fontes de poluição mais importantes para a bacia hidrográfica derivam da descarga dos esgotos domésticos e de efluentes de algumas indústrias, nomeadamente de exploração mineira (praticada nos troços superior e médio), da drenagem e tratamento de águas residuais urbanas e extração de inertes (Oliveira *et al.*, 2004; Sousa *et al.*, 2012). Está descrito para a bacia deste rio a presença de

várias espécies de bivalves nativas de água doce (*A. anatina*, *M. margaritifera*, *U. delphinus* e várias espécies do género *Pisidium*) e uma invasora (*C. fluminea*) (Sousa *et al.*, 2012).

### 2.1.6. Rio Tua

O rio Tua resulta da junção do rio Tuela com o rio Rabaçal 4 km a montante da cidade de Mirandela, sendo que estes dois rios são provenientes de duas províncias espanholas, Castela-Leão e Galiza, respetivamente. O rio Tua possui uma extensão total de 106 km e desagua na margem direita do rio Douro, na localidade de Foz Tua, sendo parte integrante da bacia hidrográfica do rio Douro. A bacia do rio Tua apresenta uma área total de cerca de 3 813 km<sup>2</sup>, onde 3 123 km<sup>2</sup> estão situados em território português e os restantes 690 km<sup>2</sup> em Espanha. Este afluente do rio Douro exhibe um escoamento médio anual de 988 hm<sup>3</sup> (Ferreiro, 2007; Sousa *et al.*, 2012). No que concerne ao estado da qualidade ecológica do rio Tua, verifica-se que, na maioria da sua extensão, encontra-se em boas condições, em muito devido aos baixos níveis de pressão humana. Contudo, existem alguns problemas de poluição orgânica nas áreas mais a jusante e que resultam principalmente das descargas de esgotos domésticos e das atividades agrícolas, bem como das descargas sem qualquer tratamento de esgotos por parte de algumas empresas que se instalaram no Complexo AgroIndustrial do Cachão (Ferreiro, 2007; Sousa *et al.*, 2012). Está descrito para a bacia deste rio a presença de várias espécies de bivalves nativas de água doce (*A. anatina*, *M. margaritifera*, *P. littoralis*, *U. delphinus* e várias espécies do género *Pisidium*) e uma invasora (*C. fluminea*) (Sousa *et al.*, 2012).

## 2.2. AMOSTRAGEM E ANÁLISE LABORATORIAL

Em cada local de amostragem foram recolhidos um mínimo de 12 indivíduos de cada espécie através de mergulho, durante os meses de Setembro e Outubro de 2012. De referir que em todos os locais se recolheram organismos da espécie *C. fluminea*, mas o mesmo não foi possível para as espécies de bivalves nativas (ver espécies recolhidas em cada local na Tabela 1). Estes organismos foram devidamente acondicionados e posteriormente congelados para futura análise laboratorial. Além disso, no mesmo período de tempo foram recolhidos dados físico-químicos da água dos diversos ecossistemas aquáticos amostrados (Tabela 2). Os dados referentes à temperatura, condutividade, pH e oxigénio dissolvido foram medidos *in situ* através da utilização de uma sonda multiparamétrica YSI 6820. Para os dados referentes aos nutrientes dissolvidos (amónia, nitritos, nitratos e fosfatos) foram feitas recolhas de água nos diversos locais de amostragem que, posteriormente, foram congeladas para futura análise laboratorial. Já no laboratório, os valores dos vários nutrientes foram determinados por colorimetria. Posteriormente, e também em laboratório, todos os organismos foram devidamente etiquetados (nome da espécie, do rio e o número da réplica) e determinou-se ainda o comprimento de cada exemplar (Tabela 1). Para cada organismo retirou-se um pequeno pedaço de tecido do pé e, em seguida, foram colocados numa estufa a 60°C durante 48h para secar. Findo esse período, foram triturados num almofariz de porcelana até ficarem em pó. Em seguida, pesou-se numa balança analítica aproximadamente 500 µg de cada amostra em cápsulas de estanho. Na determinação da razão isotópica foi necessária a utilização de um espectrómetro de massa de razão isotópica (Thermo Scientific Delta V Advantage IRMS via a Conflo IV interface - Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto), no qual a amostra é analisada contra um padrão internacional específico para cada elemento, com erro analítico de ± 0.1 ppm. A composição isotópica foi expressa na notação delta (δ), que representam partes por mil (‰) de diferença do isótopo da amostra em relação ao padrão:

$$\delta X = [(R_{amostra}/R_{padr\tilde{a}o}) - 1] \times 10^3$$

onde X representa o isótopo pesado de C ou N e R a razão correspondente  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  para o C e  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  para o N. O padrão utilizado para o C e N foram a rocha do fóssil *Belemnitella americana* da formação PeeDee (PDB) da Carolina do Sul e o gás  $\text{N}_2$  atmosférico, respetivamente (Peterson & Fry, 1987; Zanden & Rasmussen, 1999; Hoffman *et al.*, 2008).

**Tabela 1.** Valor médio ( $\pm$  Desvio Padrão), máximo e mínimo do comprimento da concha (mm) dos exemplares recolhidos das diferentes espécies de bivalves nos diversos ecossistemas aquáticos amostrados: Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua, onde *Corbicula fluminea*-II diz respeito aos indivíduos desta espécie recolhidos num afluente da Lagoa de Mira.

	Média $\pm$ DP (mm)	Máx. (mm)	Mín. (mm)
<b>Lagoa de Mira</b>			
<i>Corbicula fluminea</i>	39.5 $\pm$ 4.0	43.0	33.0
<i>Corbicula fluminea</i> -II	20.4 $\pm$ 2.5	24.5	17.5
<i>Unio delphinus</i>	99.7 $\pm$ 9.0	111.0	92.0
<i>Anodonta cygnea</i>	140.3 $\pm$ 6.8	149.0	132.0
<b>Rio Minho</b>			
<i>Corbicula fluminea</i>	23.6 $\pm$ 1.5	27.0	21.7
<i>Anodonta anatina</i>	81.0 $\pm$ 4.9	90.3	73.5
<i>Potomida littoralis</i>	63.4 $\pm$ 5.9	78.5	56.0
<i>Unio delphinus</i>	52.7 $\pm$ 6.3	64.5	43.4
<i>Pisidium amnicum</i>	7.9 $\pm$ 1.3	9.0	5.7
<b>Rio Paiva</b>			
<i>Corbicula fluminea</i>	19.2 $\pm$ 3.9	26.0	14.0
<i>Anodonta anatina</i>	88.4 $\pm$ 6.3	98.0	78.0
<i>Unio delphinus</i>	70.0 $\pm$ 5.7	74.0	66.0
<b>Rio Sabor</b>			
<i>Corbicula fluminea</i>	29.4 $\pm$ 2.9	34.5	26.5
<i>Potomida littoralis</i>	77.2 $\pm$ 5.9	87.0	69.0
<i>Unio delphinus</i>	52.5 $\pm$ 11.6	69.0	35.0
<b>Rio Tâmega</b>			
<i>Corbicula fluminea</i>	27.6 $\pm$ 2.8	31.0	23.0
<i>Anodonta anatina</i>	98.8 $\pm$ 14.1	128.0	71.5
<b>Rio Tua</b>			
<i>Corbicula fluminea</i>	30.0 $\pm$ 2.3	34.3	26.1
<i>Anodonta anatina</i>	116.2 $\pm$ 7.7	126.0	103.0
<i>Potomida littoralis</i>	77.4 $\pm$ 5.5	85.0	66.0
<i>Unio delphinus</i>	71.3 $\pm$ 6.0	85.0	65.0

**Tabela 2.** Dados abióticos da água: temperatura (°C), oxigénio dissolvido (mg l<sup>-1</sup>), pH, condutividade (µS cm<sup>-1</sup>) e nutrientes dissolvidos - amónia (mg l<sup>-1</sup>), nitritos (mg l<sup>-1</sup>), nitratos (mg l<sup>-1</sup>) e fosfatos (mg l<sup>-1</sup>) medidos nos vários ecossistemas aquáticos de água doce (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua) em Setembro de 2012.

	Lagoa de Mira	Rio Minho	Rio Paiva	Rio Sabor	Rio Tâmega	Rio Tua
Temperatura (°C)	24.00	21.96	21.20	23.20	24.30	24.30
Oxigénio (mg l <sup>-1</sup> )	8.1	9.12	8.45	8.72	8.59	9.02
pH	8.70	8.10	6.45	8.00	7.40	7.90
Condutividade (µS cm <sup>-1</sup> )	250.00	85.00	56.50	115.00	105.30	96.30
Amónia (mg l <sup>-1</sup> )	0.19	0.04	0.01	0.05	0.07	0.04
Nitritos (mg l <sup>-1</sup> )	0.08	0.03	0.01	0.02	0.02	0.03
Nitratos (mg l <sup>-1</sup> )	2.50	1.00	0.60	0.45	1.20	0.80
Fosfatos (mg l <sup>-1</sup> )	0.25	0.10	0.01	0.05	0.12	0.10

## 2.3. ANÁLISE DE DADOS

No tratamento dos dados abióticos recolhidos nos diversos ecossistemas aquáticos, procedeu-se inicialmente à elaboração de uma matriz de similaridade baseada na distância Euclideana, devido aos dados ambientais utilizarem escalas de medida diferentes. Posteriormente, realizou-se uma Análise de Componentes Principais (PCA) de forma a ordenar os locais amostrados de acordo com as características abióticas. Esta análise multivariada foi realizada com o programa estatístico PRIMER 6 (versão 6.1.6, PRIMER-E Ltd, Plymouth).

Para análise estatística das assinaturas de isótopos estáveis obtidas, utilizou-se o programa estatístico *Permutational multivariate analysis of variance* (PERMANOVA; Anderson, 2001), uma vez que os dados não apresentavam uma distribuição normal. Este programa permite testar a resposta simultânea de uma ou mais variáveis de um ou mais elementos de uma conceção experimental ANOVA com base em qualquer medida de distância, através de métodos de permutação. Em primeiro lugar, o programa calcula a distância entre cada par de unidades de observação (unidades de amostragem) para se obter uma matriz de distâncias. Em seguida, calcula a estatística de teste de acordo com o desenho experimental (Anderson, 2001; McArdle & Anderson, 2001; Anderson, 2005). Por conseguinte, inicialmente foram comparadas as assinaturas isotópicas dos indivíduos das diversas espécies nos diferentes locais amostrados,

utilizando em simultâneo as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , repetindo-se o mesmo procedimento posteriormente, utilizando as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  e de  $\delta^{13}\text{C}$  separadamente. Em seguida, foram comparadas as assinaturas isotópicas dos indivíduos das diversas espécies entre os diferentes locais amostrados, utilizando em simultâneo as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  e o mesmo foi feito, mas utilizando as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  e de  $\delta^{13}\text{C}$  separadamente. Para a elaboração dos gráficos referentes a esta análise foi utilizado o programa estatístico Minitab Release 14 (Minitab Inc.).

De forma a quantificar a contribuição das várias fontes de MO existentes no rio Minho na alimentação dos diversos bivalves, utilizou-se um modelo conservativo de equilíbrio de massas, que usa os isótopos estáveis de N e C (*Dual Stable Isotope Mixing Model*) com recurso ao software IsoSource v.1.3.1 (Phillips & Gregg, 2003). Os valores das possíveis fontes de MO utilizados para o desenvolvimento deste modelo foram os obtidos por Dias *et al.* (in press) (Tabela 3). Tendo em consideração a forma como os bivalves em estudo se alimentam, as fontes de MO de interesse são fitoplâncton (FP), microfítobentos (MPB), matéria orgânica particulada (POM) e matéria orgânica do sedimento (SOM) (Vaughn & Hakenkamp, 2001; Dias *et al.*, in press). Os valores das assinaturas isotópicas destas fontes de MO foram determinados diretamente (Dias *et al.*, dados não publicados), à exceção do FP, onde o  $\delta^{13}\text{C}$  foi obtido através do carbono inorgânico dissolvido (DIC;  $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}} - 21\text{‰}$ ; Mook & Tan, 1991) e o  $\delta^{15}\text{N}$  através da literatura (Cloern *et al.*, 2002) dada a dificuldade em separar este dos restantes constituintes da POM. Já os valores dos isótopos estáveis das diversas espécies (*C. fluminea*, *A. anatina*, *P. amnicum*, *P. littoralis* e *U. delphinus*) presentes no rio Minho utilizados no modelo foram obtidos através do cálculo da média das assinaturas isotópicas dos indivíduos pertencentes a cada espécie. Os valores do  $\delta^{13}\text{C}$  foram corrigidos para o teor de lipídios, utilizando a correção proposta por Hoffman & Sutton (2010; Eq. 6), dado que estes são mais empobrecidos em  $\delta^{13}\text{C}$  quando comparado com proteínas e carboidratos (DeNiro & Epstein, 1977). Efetuaram-se também correções analíticas onde os valores dos  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  foram ajustados de acordo com o nível de fracionamento trófico  $+3.4\text{‰}$  e  $+0.4\text{‰}$  nos  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , respetivamente (Vander Zanden & Rasmussen, 2001).



**Tabela 3.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) e das possíveis fontes de matéria orgânica de *C. fluminea* utilizadas para o desenvolvimento dos diferentes modelos (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento).

	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
FP	6.0	-31.0
MPB	7.8	-23.6
POM	6.7	-31.0
SOM	0.2	-28.0

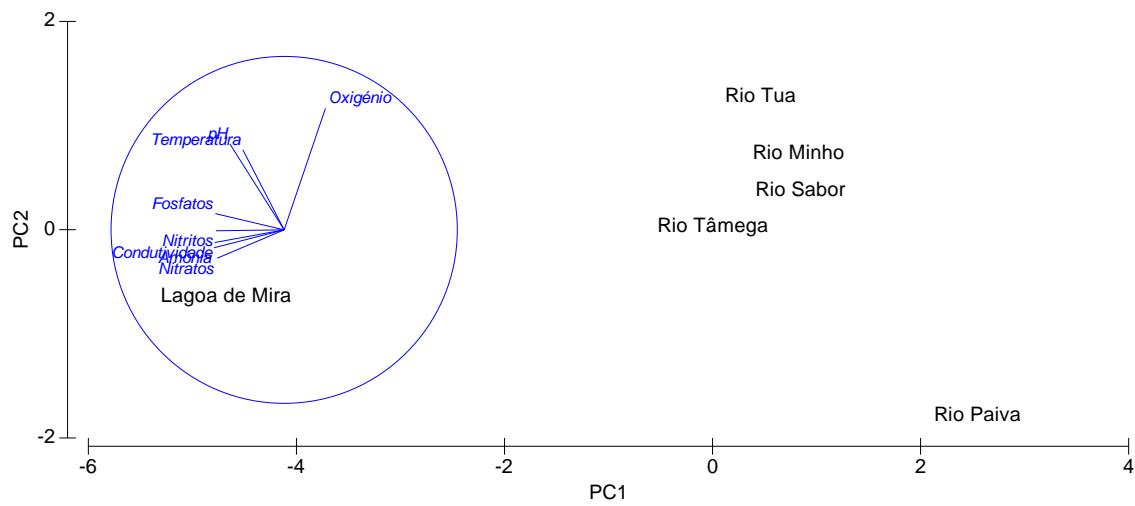
## 3. RESULTADOS

---



### 3.1. CARACTERIZAÇÃO ABIÓTICA

Os resultados obtidos na análise multivariada PCA que relacionou os dados abióticos amostrados de forma a ordenar os seis ecossistemas aquáticos de água doce podem ser observados na Figura 3.



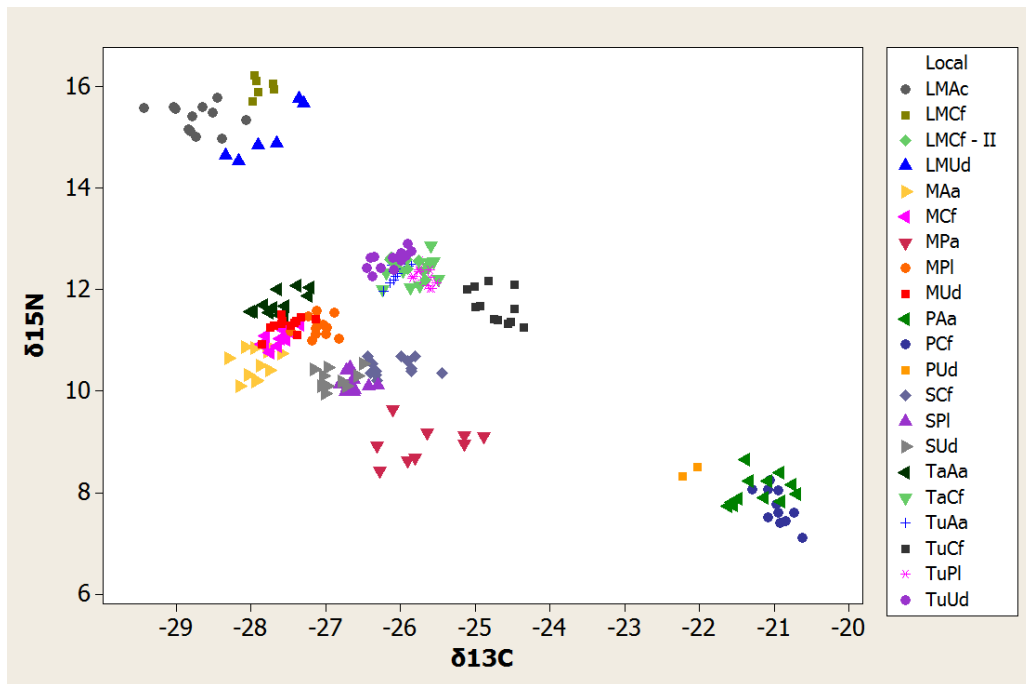
**Figura 3.** Análise de Componentes Principais (PCA) ordenando os seis locais de amostragem (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua) de acordo com as características abióticas e respetiva projeção de vetores.

Nesta análise foi possível verificar uma clara separação entre a Lagoa de Mira, ecossistema de características lênticas, e os restantes locais amostrados (rios Minho, Paiva, Sabor, Tâmega e Tua), todos ecossistemas de características lóticas. Pela análise simultânea da Figura 3 e da Tabela 2, tornou-se evidente que esta separação deveu-se essencialmente ao facto de a Lagoa de Mira possuir parâmetros físico-químicos com valores distintos dos demais, especificamente no que concerne aos valores de condutividade e nutrientes. Assim, a Lagoa de Mira apresentou valores elevados de condutividade ( $250.00 \mu\text{S cm}^{-1}$ ), amónia ( $0.19 \text{ mg l}^{-1}$ ), nitritos ( $0.08 \text{ mg l}^{-1}$ ), nitratos ( $2.50 \text{ mg l}^{-1}$ ) e fosfatos ( $0.25 \text{ mg l}^{-1}$ ). Importa, ainda, salientar que dentro do conjunto dos rios, o rio Paiva foi o que se distanciou dos restantes, particularmente, por na maioria dos parâmetros analisados exibir valores inferiores (Tabela 2).

## 3.2. CARACTERIZAÇÃO BIÓTICA

### 3.2.1. Assinaturas isotópicas das diferentes espécies de bivalves em distintos ecossistemas de água doce

Os resultados obtidos da análise de isótopos estáveis (usando simultaneamente  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ ) nas diferentes espécies analisadas e em cada um dos ecossistemas aquáticos amostrados podem ser observados na Figura 4. Importa mencionar que os valores apresentados nesta seção (3.2.1.) não sofreram ajuste ao fracionamento isotópico.

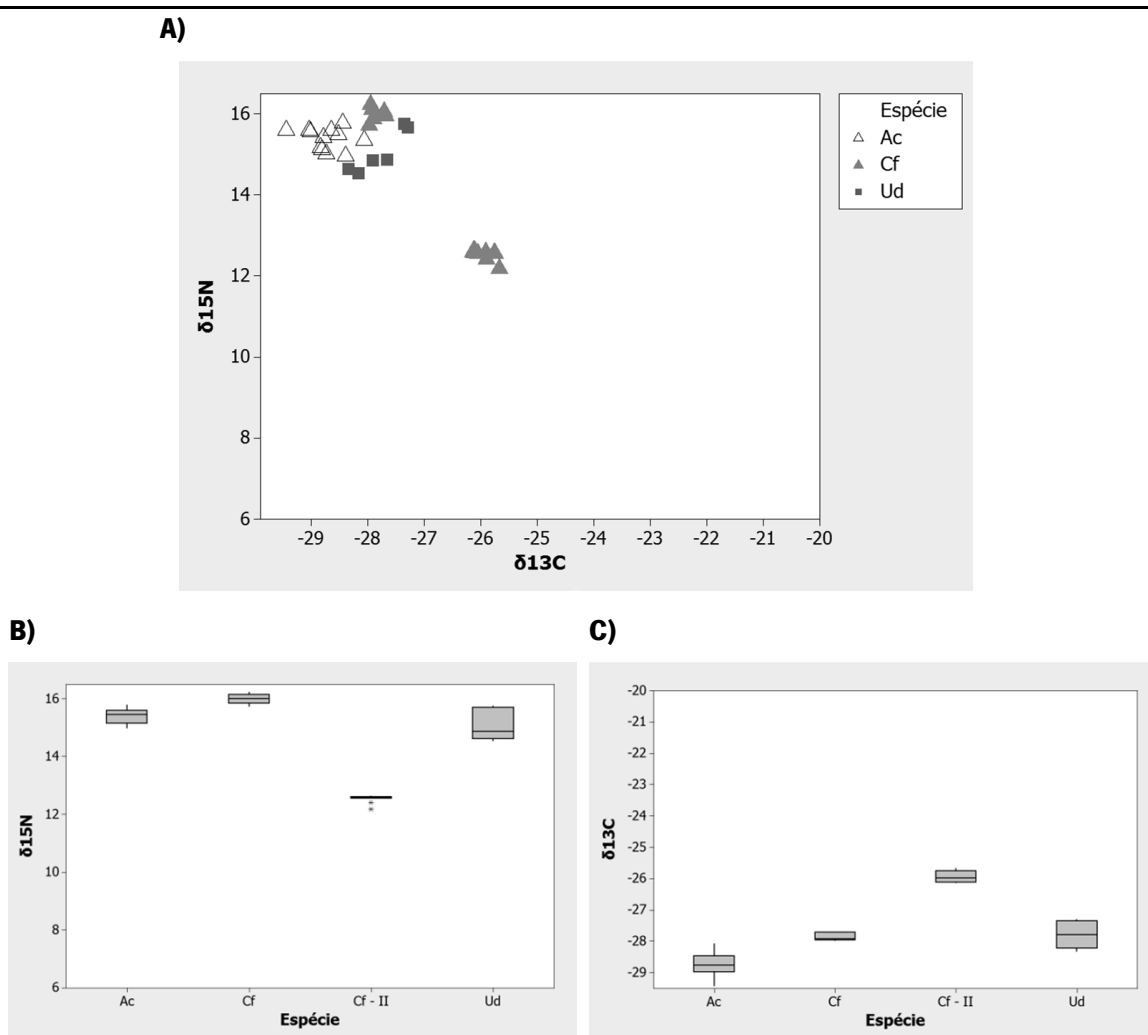


**Figura 4.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (%), referentes às espécies recolhidas em cada ecossistema aquático amostrado. (Cf - *C. fluminea*, Cf-II - *C. fluminea* de um afluente próximo à Lagoa de Mira, Aa - *A. anatina*, PI - *P. littoralis*, Ud - *U. delphinus*, Pa - *P. amnicum* e Ac - *A. cygnea*; LM - Lagoa de Mira, M - rio Minho, P - rio Paiva, S - rio Sabor, Ta - rio Tâmega e Tu - rio Tua)

Através da Figura 4 foi possível verificar uma clara relação espacial entre os valores dos isótopos estáveis ( $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ ) dos indivíduos das diversas espécies (i.e., as espécies agruparam-se de acordo com o local de origem). No entanto, indivíduos de espécies distintas apresentaram assinaturas isotópicas estatisticamente diferentes entre si para cada ecossistema amostrado

(Tabela 4). Para além do referido, tornou-se claro que, dependendo do ecossistema aquático onde cada espécie está inserida, estas vão apresentar assinaturas isotópicas diferentes (Tabela 5). Quando observados os valores das assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  das espécies nos diferentes locais amostrados, foi notório que os indivíduos pertencentes à Lagoa de Mira e ao rio Paiva foram os que apresentaram assinaturas isotópicas mais distintas, uma vez que, foram os que se encontraram com valores mais extremos. De facto, os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  dos bivalves recolhidos na Lagoa de Mira foram os mais enriquecidos em  $^{15}\text{N}$  ( $\approx 16\%$ ) e empobrecidos em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx -29\%$ ) quando comparados com os restantes locais de amostragem. Já os valores obtidos no rio Paiva foram os mais empobrecidos em  $^{15}\text{N}$  ( $\approx 8\%$ ) e mais enriquecidos em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx 21\%$ ). Para além disso, foi possível observar uma sobreposição entre os indivíduos recolhidos num afluente adjacente à Lagoa de Mira (i.e., *C. fluminea*-II) e alguns indivíduos dos rios Tâmega e Tua. Para os restantes rios (rios Minho e Sabor) verificou-se que, embora os valores estejam próximos, não houve sobreposição, o que aponta para que os indivíduos tenham assinaturas isotópicas semelhantes mas, ainda assim, distintas. Especificamente, o rio Minho foi um dos poucos locais amostrados onde foi possível observar uma separação clara entre as espécies analisadas e que resultou essencialmente da diferença existente entre a assinatura isotópica dos indivíduos pertencentes à espécie *P. amnicum* e às restantes espécies analisadas neste sistema aquático.

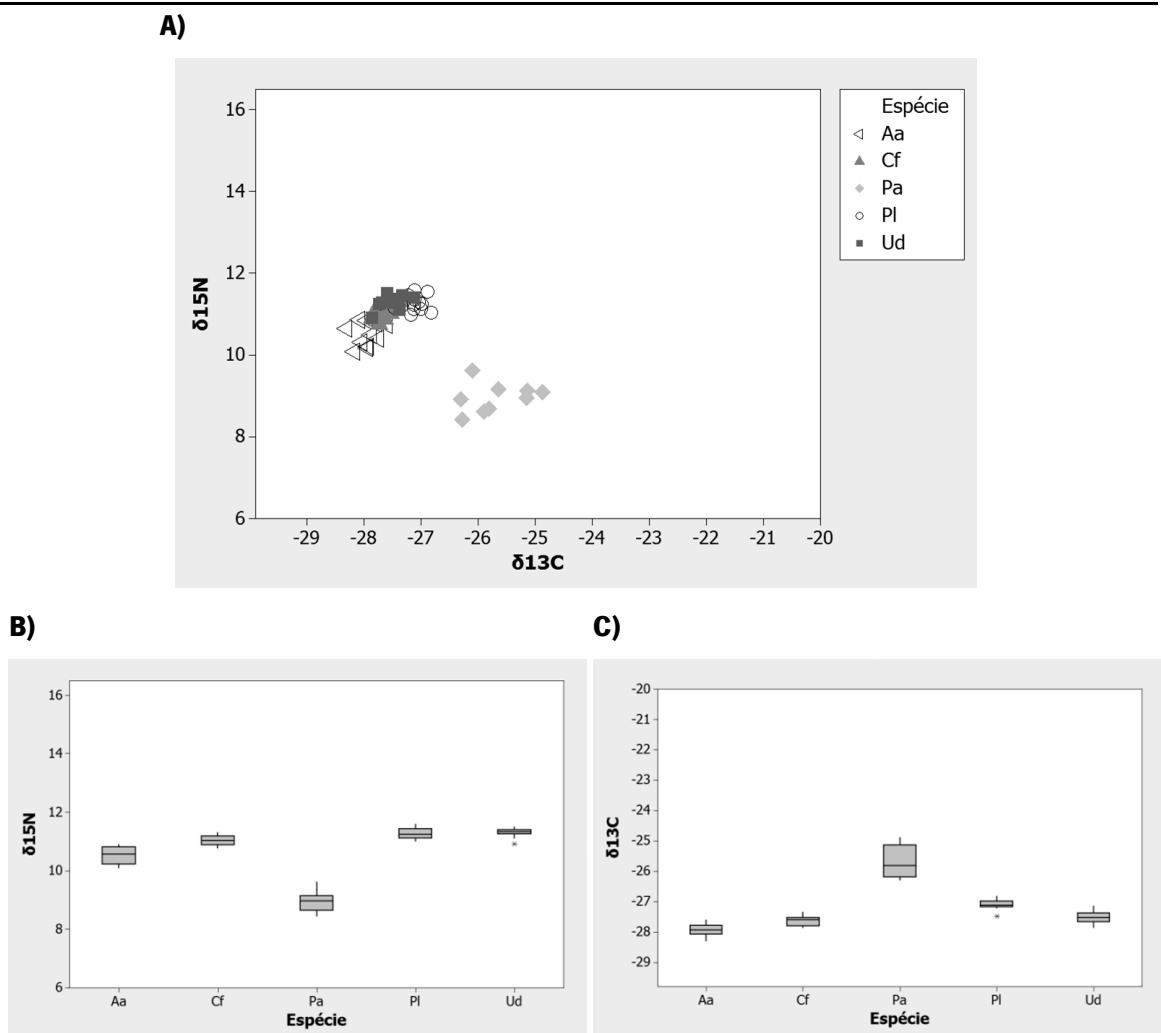
No que diz respeito aos resultados referentes à Lagoa de Mira foi possível verificar que as três espécies presentes, *C. fluminea*, *A. cygnea* e *U. delphinus*, à exceção do grupo *C. fluminea*-II, apresentaram assinaturas isotópicas semelhantes (Figura 5 A). No entanto, após análise estatística, verificou-se que as assinaturas isotópicas das espécies, utilizando  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em conjunto, foram estatisticamente diferentes entre si (Tabela 4). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 5 B, Tabela 1 em anexo), com exceção na comparação entre *A. cygnea* e *U. delphinus* (valor- $p=0.0845$ ), e  $\delta^{13}\text{C}$  (Figura 5 C, Tabela 2 em anexo), com exceção na comparação entre *C. fluminea* e *U. delphinus* (valor- $p=0.6835$ ). Os valores médios ( $\pm\text{DP}$ ) de  $\delta^{15}\text{N}$  foram de  $13.7\pm 1.7$ ,  $15.4\pm 0.3$  e  $15.1\pm 0.5$  e de  $\delta^{13}\text{C}$  foram de  $-26.6\pm 0.9$ ,  $-28.7\pm 0.4$  e  $-27.8\pm 0.4$ , respetivamente para as espécies *C. fluminea*, *A. cygnea* e *U. delphinus*. É de referir que, nos valores referentes a *C. fluminea*, notou-se a presença de dois grupos distintos, sendo que um deles é mais empobrecido em  $^{15}\text{N}$  ( $\approx 12\%$ ) e enriquecido em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx -26\%$ ), uma vez que estes organismos foram coletados num afluente próximo com características abióticas distintas da Lagoa de Mira.



**Figura 5. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas na Lagoa de Mira. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (**B**) e  $\delta^{13}\text{C}$  (**C**) das diversas espécies recolhidas na Lagoa de Mira. (Cf - *C. fluminea*, Cf-II - *C. fluminea* de um afluente próximo à lagoa, Ud - *U. delphinus* e Ac - *A. cygnea*)

No rio Minho foi possível observar que apenas os valores dos isótopos estáveis dos indivíduos da espécie *P. amnicum* estavam mais afastados dos restantes (Figura 6 A). Estes valores foram ligeiramente empobrecidos em  $^{15}\text{N}$  ( $\approx 8\%$ ) e enriquecidos em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx 25\%$ ). De facto, quando comparada a assinatura isotópica destes indivíduos com as das restantes espécies, verificou-se que existem diferenças estatisticamente significativas entre si (Tabela 4). Relativamente à relação entre as restantes espécies, os valores das assinaturas isotópicas, utilizando em simultâneo os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 4). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 6 B, Tabela 1 em anexo), com exceção na comparação entre *U. delphinus* e *P. littoralis* (valor- $p=0.6016$ ) e de  $\delta^{13}\text{C}$  (Figura 6 C, Tabela 2 em anexo), com exceção na comparação entre *C. fluminea* e *U.*

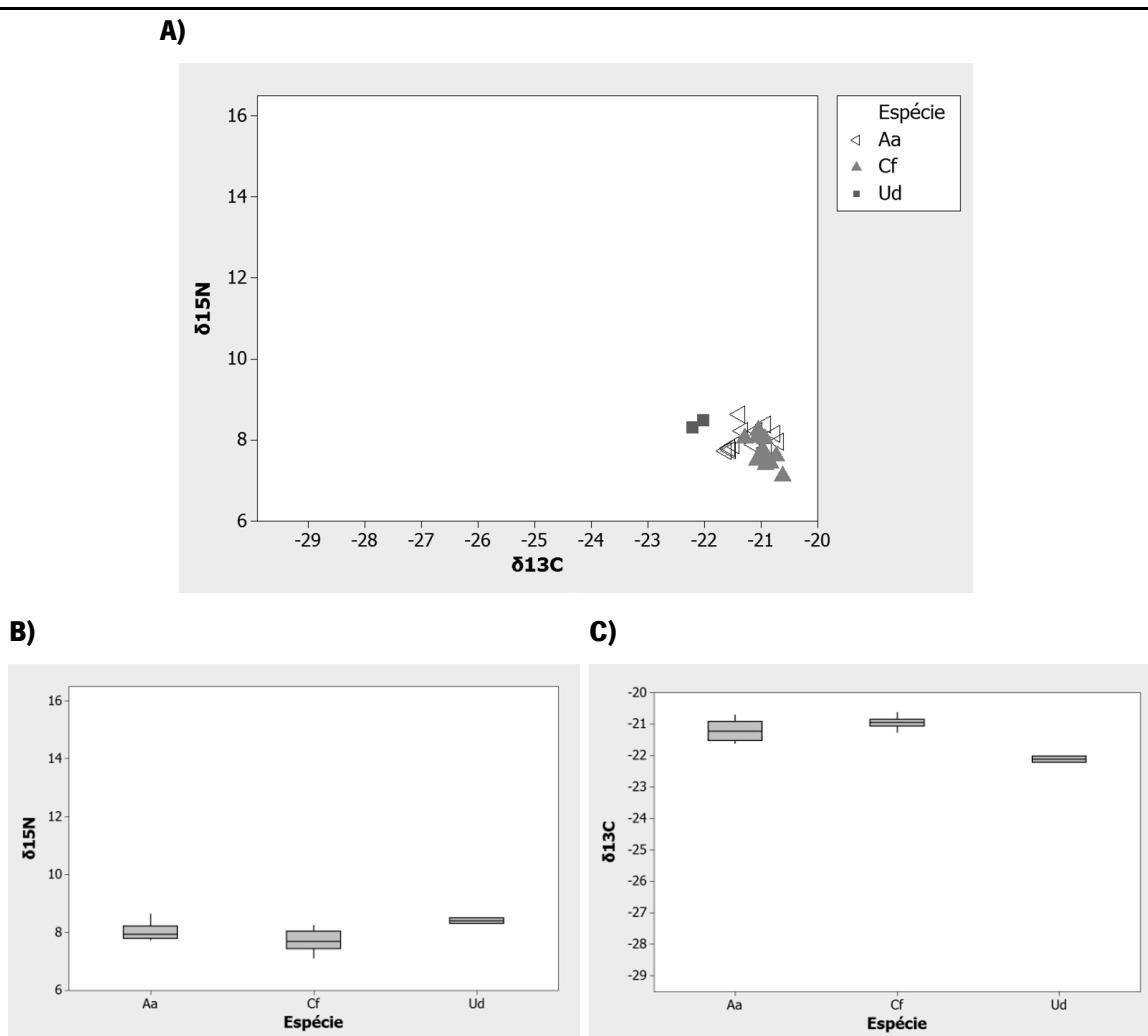
*delphinus* (valor- $p = 0.1352$ ), sendo que os valores médios ( $\pm DP$ ) de  $\delta^{15}N$  foram de  $11.1 \pm 0.2$ ,  $10.5 \pm 0.3$ ,  $9.0 \pm 0.4$ ,  $11.3 \pm 0.2$  e  $11.3 \pm 0.2$  e de  $\delta^{13}C$  foram de  $-27.6 \pm 0.2$ ,  $-27.9 \pm 0.2$ ,  $-25.7 \pm 0.5$ ,  $-27.1 \pm 0.2$  e  $-27.5 \pm 0.2$ , respetivamente para as espécies *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. amnicum*, *P. littoralis* e *U. delphinus*.



**Figura 6. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}N$  e  $\delta^{13}C$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Minho. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}N$  (**B**) e  $\delta^{13}C$  (**C**) das diversas espécies recolhidas no rio Minho. (Cf - *C. fluminea*, Aa - *A. anatina*, Pl - *P. littoralis*, Ud - *U. delphinus* e Pa - *P. amnicum*)

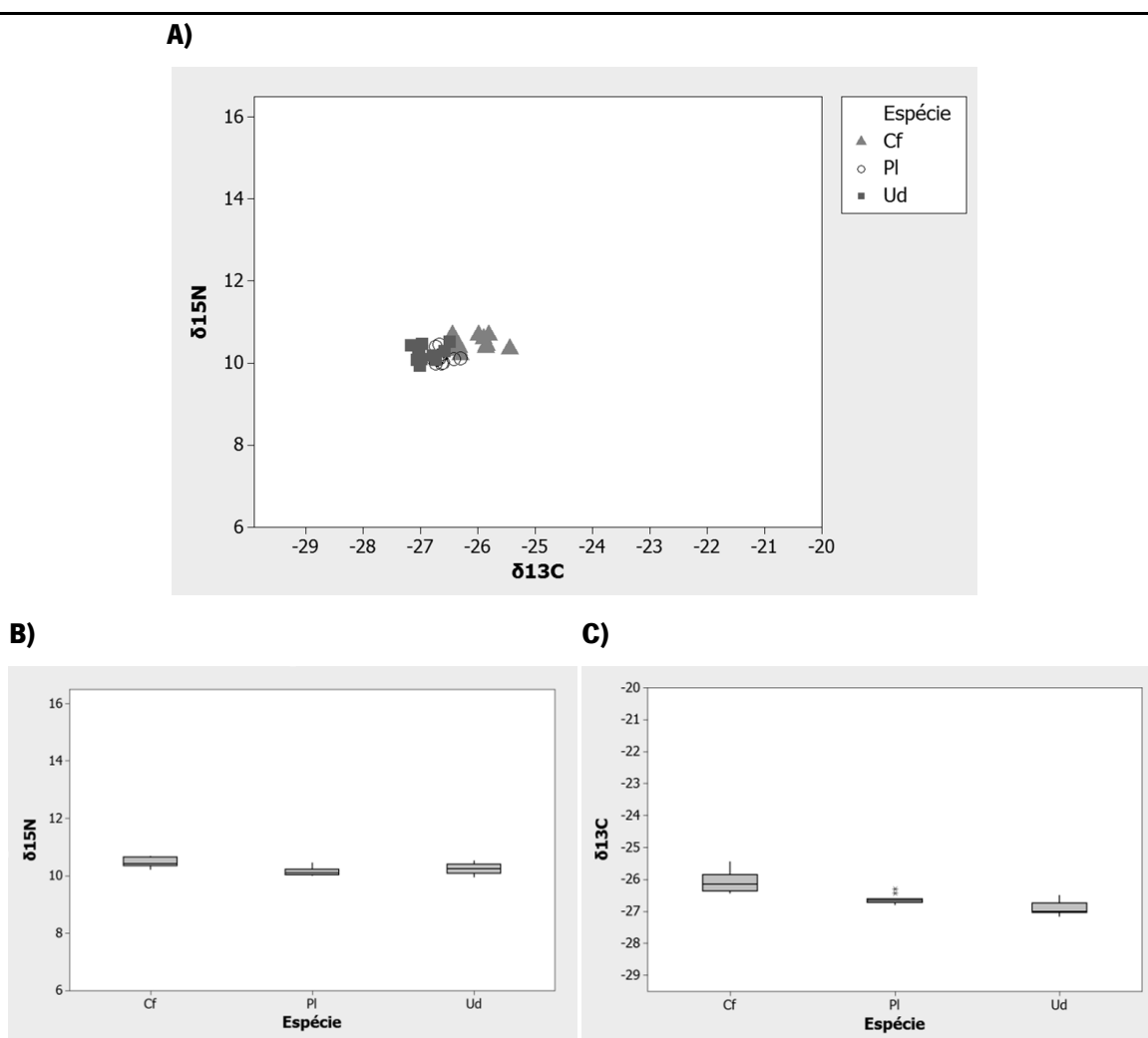


No rio Paiva foi possível verificar que as três espécies presentes, *C. fluminea*, *A. anatina* e *U. delphinus*, apresentaram assinaturas isotópicas semelhantes (Figura 7 A). No entanto, após análise estatística, verificou-se que as assinaturas isotópicas das três espécies, utilizando  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em conjunto, foram estatisticamente diferentes entre si (Tabela 4), e o mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 7 B, Tabela 1 em anexo), com exceção na comparação entre *U. delphinus* e *A. anatina* (valor- $p=0.1078$ ), e de  $\delta^{13}\text{C}$  (Figura 7 C, Tabela 2 em anexo), sendo que os valores médios ( $\pm\text{DP}$ ) de  $\delta^{15}\text{N}$  foram de  $7.7\pm 0.3$ ,  $8.0\pm 0.3$  e  $8.4\pm 0.1$  e de  $\delta^{13}\text{C}$  foram de  $-21\pm 0.2$ ,  $-21.2\pm 0.3$  e  $-22.1\pm 0.1$ , respetivamente para as espécies *C. fluminea*, *A. anatina* e *U. delphinus*.



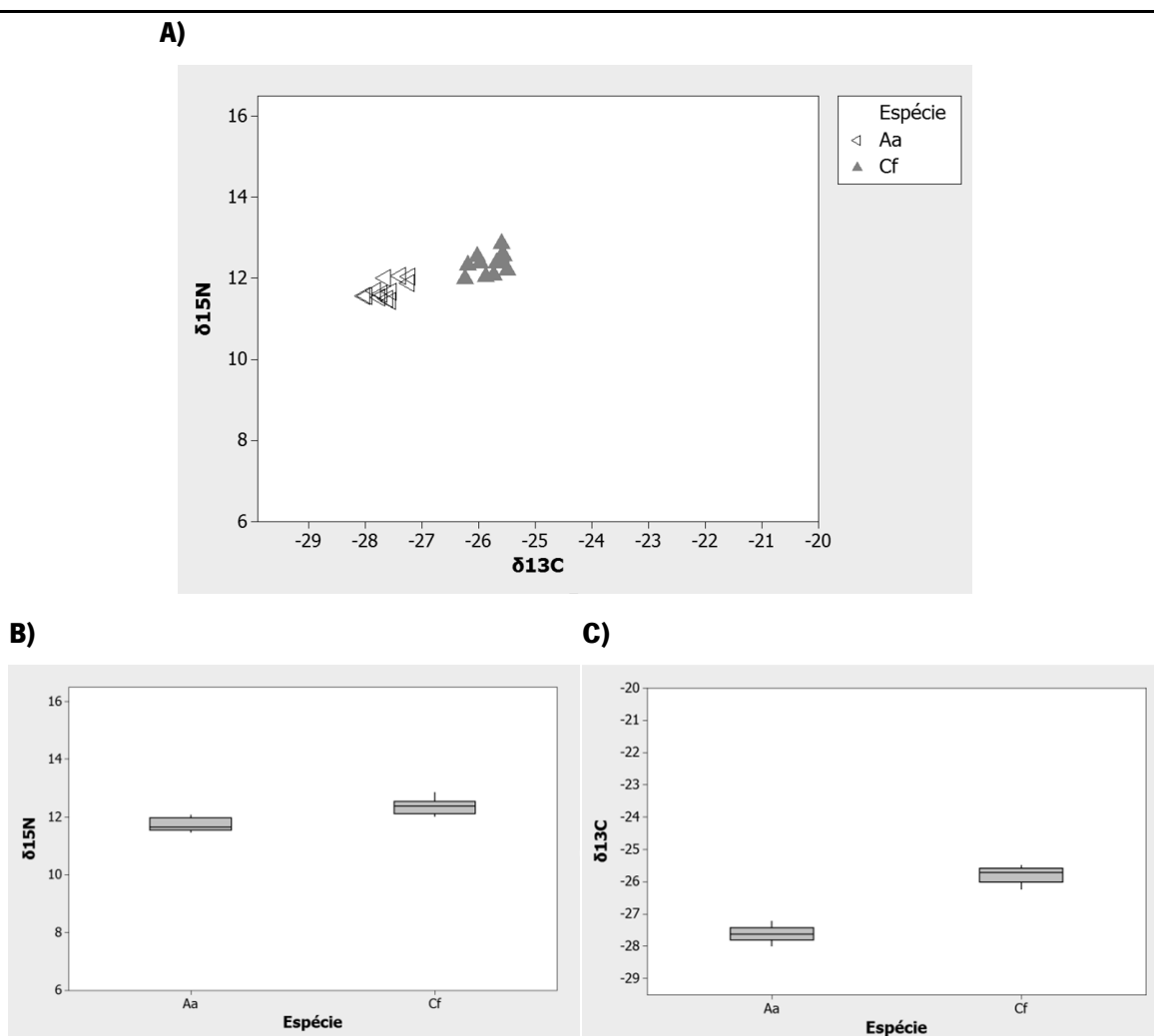
**Figura 7. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Paiva. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (**B**) e  $\delta^{13}\text{C}$  (**C**) das diversas espécies recolhidas no rio Paiva. (Cf - *C. fluminea*, Aa - *A. anatina* e Ud - *U. delphinus*)

De acordo com os resultados obtidos para o rio Sabor foi possível verificar que, tal como aconteceu com os outros ecossistemas analisados, as assinaturas das três espécies presentes, *C. fluminea*, *P. littoralis* e *U. delphinus*, aparentaram estar relacionadas, uma vez que foi observável uma notória sobreposição nos valores obtidos (Figura 8 A). Contudo, os valores dos isótopos estáveis ( $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em simultâneo) diferiram significativamente entre si (Tabela 4). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 8 B, Tabela 1 em anexo), com exceção na comparação entre *U. delphinus* e *P. littoralis* (valor- $p=0.2365$ ), e de  $\delta^{13}\text{C}$  (Figura 8 C, Tabela 2 em anexo), sendo que os valores médios ( $\pm\text{DP}$ ) de  $\delta^{15}\text{N}$  foram de  $10.5\pm 0.2$ ,  $10.1\pm 0.2$  e  $10.2\pm 0.2$  e de  $\delta^{13}\text{C}$  foram de  $-26.1\pm 0.3$ ,  $-26.6\pm 0.1$  e  $-26.9\pm 0.2$ , respetivamente para as espécies *C. fluminea*, *P. littoralis* e *U. delphinus*.



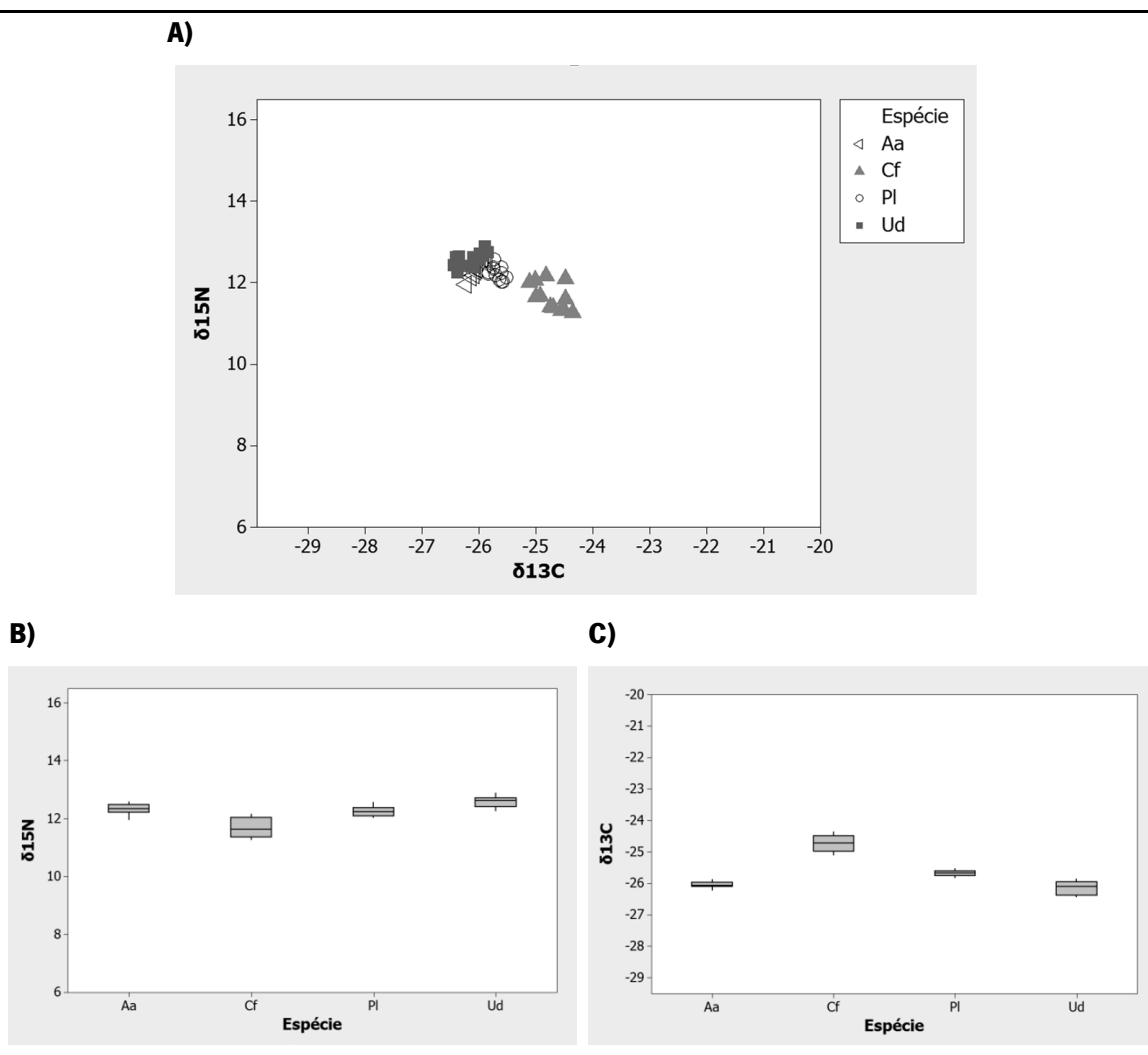
**Figura 8. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Sabor. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (**B**) e  $\delta^{13}\text{C}$  (**C**) das diversas espécies recolhidas no rio Sabor. (Cf - *C. fluminea*, Pl - *P. littoralis* e Ud - *U. delphinus*)

No que diz respeito aos resultados referentes ao rio Tâmega, as assinaturas isotópicas de *C. fluminea* e de *A. anatina* foram distintas, apresentando *A. anatina* valores ligeiramente mais baixos em  $^{15}\text{N}$  ( $\approx 12\%$ ) e em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx -28\%$ ) (Figura 9 A). De facto, existiram diferenças estatisticamente significativas entre as assinaturas isotópicas, utilizando  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em simultâneo, nas duas espécies presentes no rio Tâmega (valor- $p=0.0001$ ) (Tabela 4). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 9 B, Tabela 1 em anexo) e de  $\delta^{13}\text{C}$  (Figura 9 C, Tabela 2 em anexo), sendo que os valores médios ( $\pm\text{DP}$ ) de  $\delta^{15}\text{N}$  foram de  $12.4\pm 0.2$  e  $11.7\pm 0.2$  e de  $\delta^{13}\text{C}$  foram de  $-25.8\pm 0.2$  e  $-27.6\pm 0.3$ , respetivamente para as espécies *C. fluminea* e *A. anatina*.



**Figura 9. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às duas espécies recolhidas no rio Tâmega. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (B) e  $\delta^{13}\text{C}$  (C) das duas espécies recolhidas no rio Tâmega. (Cf - *C. fluminea* e Aa - *A. anatina*)

Por fim, nos resultados referentes ao rio Tua foi possível verificar que os valores dos isótopos estáveis pertencentes a cada espécie (*C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus*), embora estivessem muito próximos (Figura 10 A), quando comparados estatisticamente, utilizando  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em conjunto, mostraram diferenças significativas entre si (Tabela 4). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 10 B, Tabela 1 em anexo), com exceção na comparação entre *A. anatina* e *P. littoralis* (valor- $p$  = 0.1957), e de  $\delta^{13}\text{C}$  (Figura 10 C, Tabela 2 em anexo), com exceção na comparação entre *A. anatina* e *U. delphinus* (valor- $p$  = 0.1909); sendo que os valores médios ( $\pm$ DP) de  $\delta^{15}\text{N}$  foram de  $11.7 \pm 0.3$ ,  $12.3 \pm 0.2$ ,  $12.2 \pm 0.2$  e  $12.6 \pm 0.2$  e de  $\delta^{13}\text{C}$  foram de  $-24.7 \pm 0.2$ ,  $-26.1 \pm 0.1$ ,  $-25.7 \pm 0.1$  e  $-26.1 \pm 0.2$ , respectivamente para as espécies *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus*.



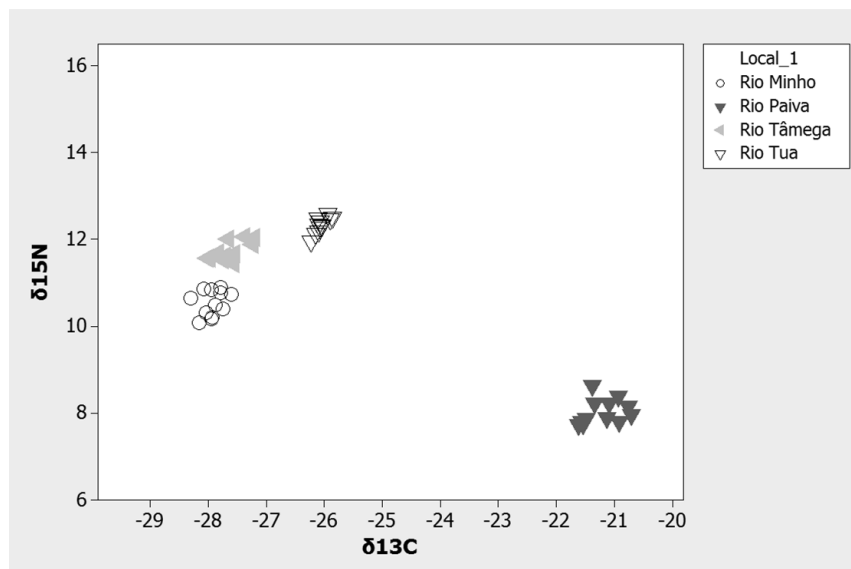
**Figura 10. A)** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes às diversas espécies recolhidas no rio Tua. *Boxplots* mostram os valores médios (linha central), extensão entre o primeiro e terceiro quartil (caixa), *Tuckey whiskers* e *outliers* (pontos) dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  (**B**) e  $\delta^{13}\text{C}$  (**C**) das diversas espécies recolhidas no rio Tua. (Cf - *C. fluminea*, Aa - *A. anatina*, Pl - *P. littoralis* e Ud - *U. delphinus*)

**Tabela 4.** Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) entre as diversas espécies nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados.

	T	Valor-p
<b>Lagoa de Mira</b>		
<i>A. cygnea</i> vs <i>C. fluminea</i>	5.488	0.0001
<i>A. cygnea</i> vs <i>U. delphinus</i>	3.764	0.0002
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	3.247	0.009
<b>Rio Minho</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	2.875	0.0028
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	4.928	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. amnicum</i>	14.517	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	5.792	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	6.976	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. amnicum</i>	14.861	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	3.992	0.0001
<i>A. anatina</i> vs <i>P. amnicum</i>	12.612	0.0001
<i>A. anatina</i> vs <i>P. littoralis</i>	8.786	0.0001
<i>P. amnicum</i> vs <i>P. littoralis</i>	13.512	0.0001
<b>Rio Paiva</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	4.790	0.0005
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	2.445	0.0054
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	3.069	0.0016
<b>Rio Sabor</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	6.515	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	5.252	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	2.903	0.0006
<b>Rio Tâmega</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	13.440	0.0001
<b>Rio Tua</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	11.557	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	10.902	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	8.326	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	2.694	0.0034
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	5.816	0.0001
<i>A. anatina</i> vs <i>P. littoralis</i>	4.539	0.0001

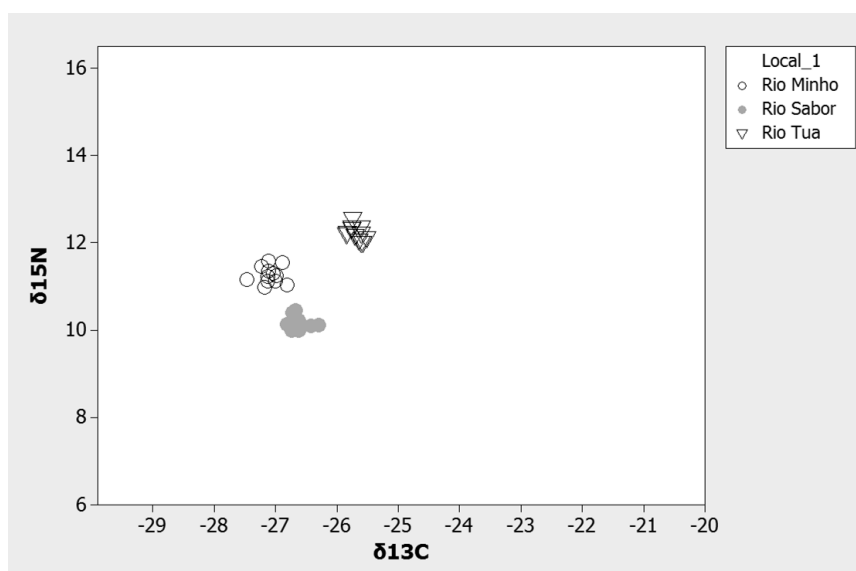


No que se refere aos valores de isótopos estáveis observados para a espécie *A. anatina* nos diversos ecossistemas, foi possível verificar que, tal como aconteceu na espécie *C. fluminea*, existiu grande variação na assinatura isotópica, tanto nos valores de  $^{15}\text{N}$  como de  $^{13}\text{C}$ , dependendo do local onde foram recolhidos os organismos (Figura 12). Para além do referido, foi evidente que os indivíduos pertencentes ao rio Paiva foram os que apresentaram assinaturas isotópicas mais distintas em comparação com os outros locais analisados. Através da análise estatística, utilizando os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em conjunto, foi possível verificar que todos estes valores apresentaram diferenças significativas entre si (valor- $p < 0.001$ ) (Tabela 5). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Tabela 3 em anexo) e de  $\delta^{13}\text{C}$  (Tabela 4 em anexo).



**Figura 12.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *A. anatina* nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados (rios Minho, Paiva, Tâmega e Tua).

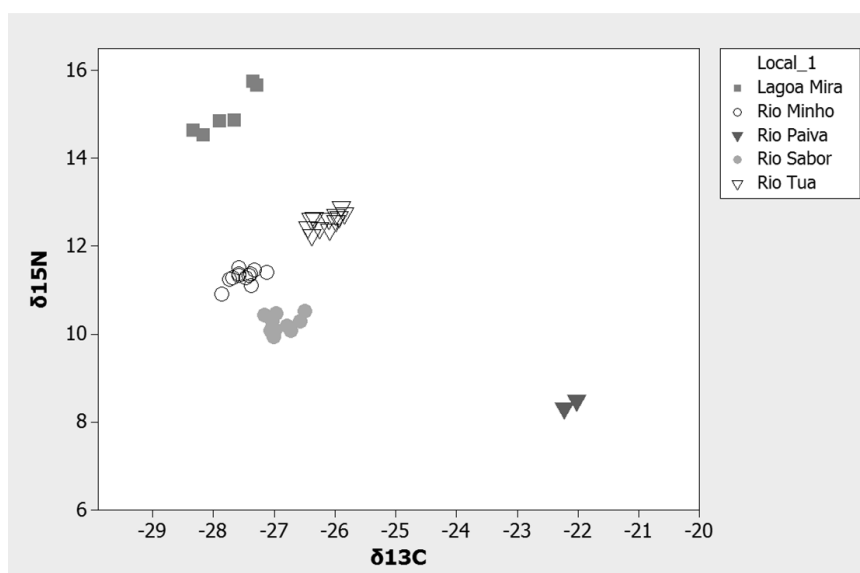
Quando observados os resultados obtidos para a espécie *P. littoralis* foi possível verificar alguma variação na assinatura isotópica destes indivíduos, tanto nos valores de  $^{15}\text{N}$  como de  $^{13}\text{C}$ , dependendo do local onde a espécie foi recolhida (Figura 13). Além disso, foi notório que os indivíduos pertencentes ao rio Minho e ao rio Sabor estavam mais próximos entre si e mais afastados dos indivíduos pertencentes ao rio Tua. Após análise estatística, utilizando os  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em simultâneo, verificou-se que, tal como aconteceu com a espécie anterior, esta também apresentou diferenças significativas (valor- $p < 0.001$ ) nas assinaturas isotópicas observadas (Tabela 5). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Tabela 3 em anexo) e de  $\delta^{13}\text{C}$  (Tabela 4 em anexo).



**Figura 13.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *P. littoralis* nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados (rios Minho, Sabor e Tua).



Por fim, ao analisar os resultados obtidos de *U. delphinus*, foi possível verificar que existiu uma grande variação na assinatura isotópica, tanto nos valores de  $^{15}\text{N}$  como de  $^{13}\text{C}$ , dependendo do local onde a espécie foi recolhida (Figura 14). Para além disso, foi evidente que os indivíduos pertencentes à Lagoa de Mira e ao rio Paiva foram os que apresentaram assinaturas isotópicas mais distintas. A análise estatística, utilizando os  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  em simultâneo, veio confirmar que a maioria destes valores das assinaturas isotópicas de *U. delphinus* foi diferente entre si (valor- $p < 0.001$ ) (Tabela 5). O mesmo se verificou para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  (Tabela 3 em anexo) e  $\delta^{13}\text{C}$  (Tabela 4 em anexo), com exceção na comparação entre a Lagoa de Mira e o rio Minho (valor- $p = 0.0751$ ).



**Figura 14.** Valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *U. delphinus* nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados (Lagoa de Mira e rios Minho, Paiva, Sabor e Tua).

**Tabela 5.** Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰) de cada espécie entre os diferentes ecossistemas aquáticos amostrados.

	T	Valor-p
<i>Corbicula fluminea</i>		
Lagoa Mira vs Afluente Mira	36.373	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Minho	44.519	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Paiva	63.696	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Sabor	36.533	0.0002
Lagoa Mira vs Rio Tâmega	26.181	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Tua	29.063	0.0002
Afluente Mira vs Rio Minho	24.790	0.0001
Afluente Mira vs Rio Paiva	54.877	0.0001
Afluente Mira vs Rio Sabor	17.403	0.0001
Afluente Mira vs Rio Tâmega	1.9171	0.0306
Afluente Mira vs Rio Tua	10.998	0.0001
Rio Minho vs Rio Paiva	57.959	0.0001
Rio Minho vs Rio Sabor	13.403	0.0001
Rio Minho vs Rio Tâmega	18.424	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	21.386	0.0001
Rio Paiva vs Rio Sabor	38.464	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tâmega	44.569	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	33.439	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tâmega	13.300	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tua	11.406	0.0001
Rio Tâmega vs Rio Tua	8.0265	0.0001
<i>Anodonta anatina</i>		
Rio Minho vs Rio Paiva	44.044	0.0001
Rio Minho vs Rio Tâmega	8.693	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	21.981	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tâmega	46.146	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	46.564	0.0001
Rio Tâmega vs Rio Tua	14.519	0.0001
<i>Potomida littoralis</i>		
Rio Minho vs Rio Sabor	12.702	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	18.286	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tua	28.094	0.0001

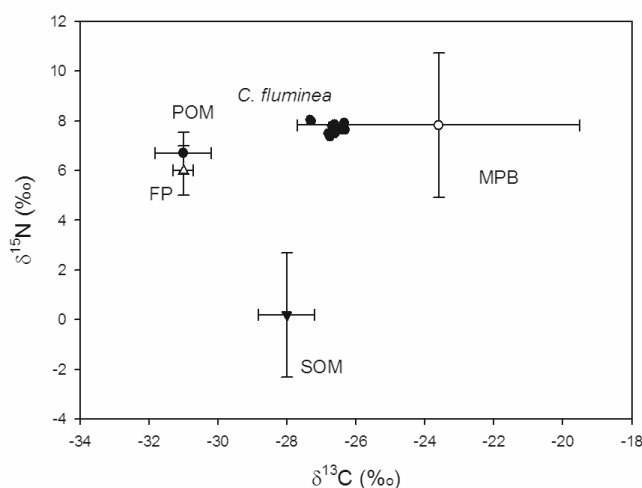
	T	Valor-p
<i>Unio delphinus</i>		
Lagoa Mira vs Rio Minho	17.443	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Paiva	17.112	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Sabor	17.112	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Tua	13.392	0.0002
Rio Minho vs Rio Paiva	31.675	0.0001
Rio Minho vs Rio Sabor	11.364	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	17.152	0.0001
Rio Paiva vs Rio Sabor	24.687	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	27.816	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tua	22.002	0.0001

\*Continuação da Tabela 5.

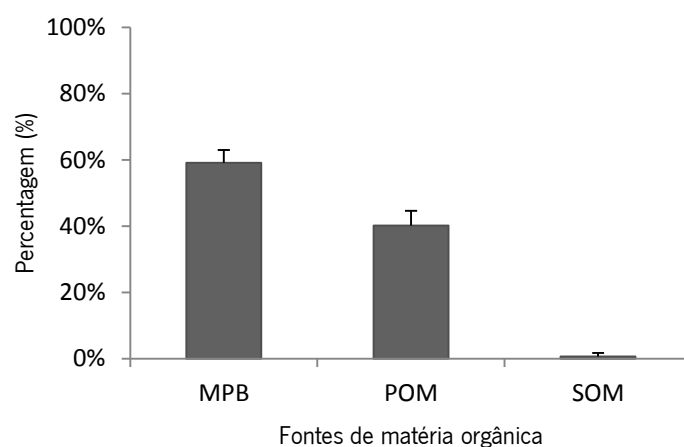
### 3.2.2. Contribuição das diferentes fontes de matéria orgânica para os bivalves de água doce presentes no rio Minho

Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  da espécie *C. fluminea* estavam mais próximos dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  de MPB e POM do que das restantes fontes de MO. Além disso, SOM contribuiu apenas com  $0.7 \pm 1.0\%$  para a biomassa total, pelo que não foi uma fonte relevante, sugerindo que MPB e POM deverão ser as principais fontes de MO (Figura 15 A). Tal foi confirmado com os resultados do modelo de cadeia trófica onde a contribuição média de MPB e POM foi de  $59.1 \pm 3.9\%$  e  $40.2 \pm 4.4\%$ , respetivamente (Figura 15 B).

**A)**



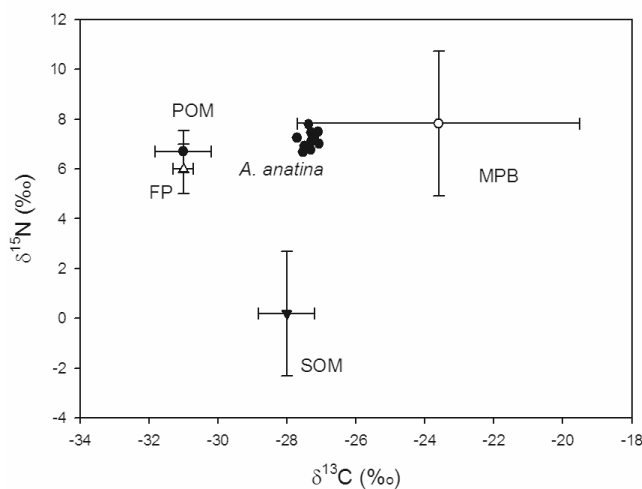
**B)**



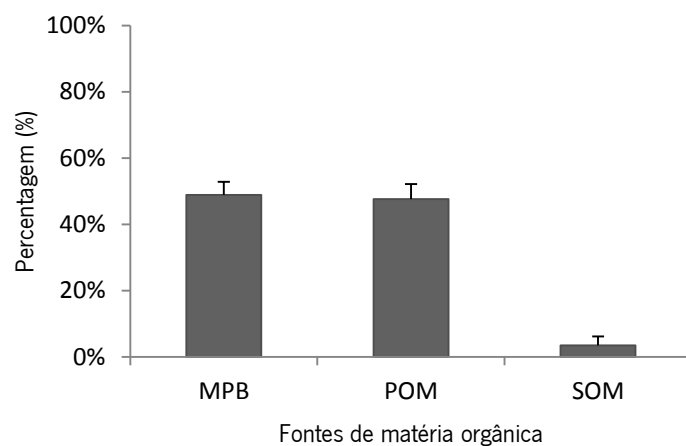
**Figura 15. A)** Relação entre os valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *C. fluminea* e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); **B)** Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB, POM e SOM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie *C. fluminea* presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento)

No que se refere aos valores de isótopos estáveis observados para a espécie *A. anatina* e para as diferentes fontes de MO, foi possível observar que, tal como aconteceu na espécie anterior, a assinatura isotópica dos indivíduos desta espécie estava mais próxima das assinaturas isotópicas de MPB e POM do que das restantes fontes de MO (Figura 16 A). O mesmo se verificou quando observado o modelo referente à contribuição das possíveis fontes de MO na alimentação dos indivíduos de *A. anatina* (Figura 16 B). De facto, a alimentação desta espécie baseou-se em MPB ( $48.9 \pm 3.9\%$ ), em POM ( $47.6 \pm 4.5\%$ ) sendo SOM, uma fonte menos importante ( $3.5 \pm 2.7\%$ ).

**A)**



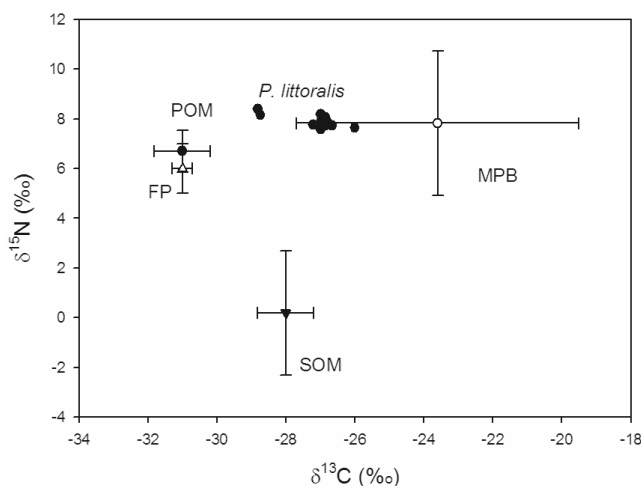
**B)**



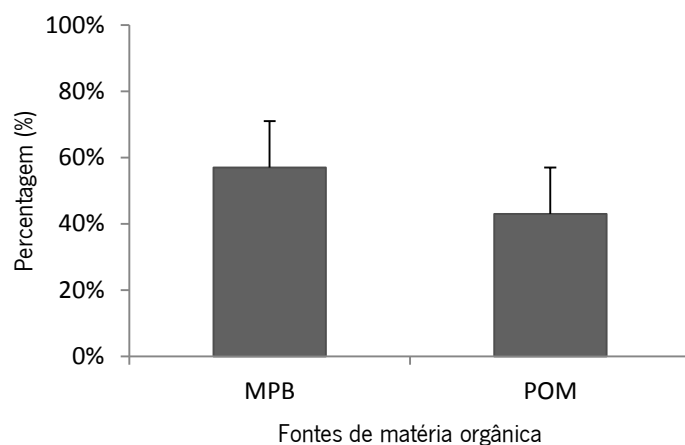
**Figura 16. A)** Relação entre os valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *A. anatina* e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); **B)** Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB, POM e SOM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie *A. anatina* presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfitobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento)

No que diz respeito aos resultados referentes à espécie *P. littoralis*, foi possível observar que, tal como aconteceu com as espécies *C. fluminea* e *A. anatina*, a assinatura isotópica dos indivíduos desta espécie estava mais próxima das assinaturas isotópicas de MPB e POM do que das restantes fontes de MO, indicando que estas poderão ser as suas principais fontes de MO (Figura 17 A). Quando observado o modelo da contribuição das possíveis fontes de MO para os indivíduos da espécie *P. littoralis*, foi possível verificar que de facto MPB e POM foram as únicas fontes de MO desta espécie, sendo que se baseou  $57.0 \pm 14.0\%$  em MPB e  $43.0 \pm 14.0\%$  em POM (Figura 17 B).

**A)**



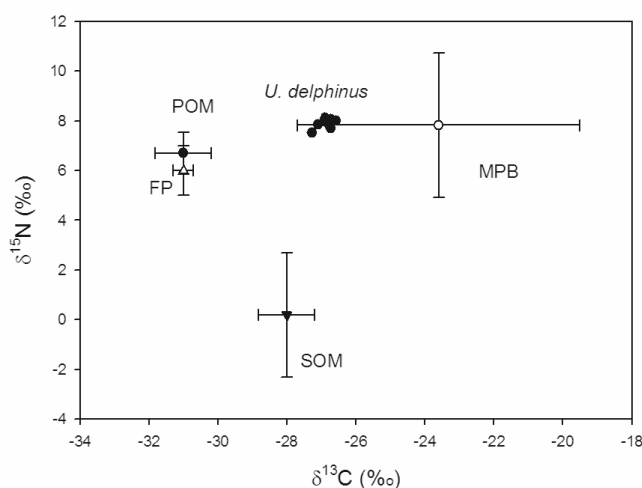
**B)**



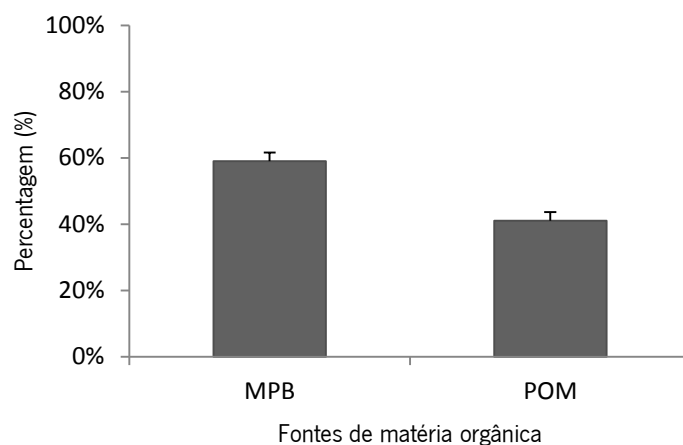
**Figura 17. A)** Relação entre os valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *P. littoralis* e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); **B)** Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB e POM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie *P. littoralis* presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfítobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento)

No que concerne aos resultados referentes à espécie *U. delphinus*, foi possível observar que a assinatura isotópica dos indivíduos desta espécie também estava mais próxima das assinaturas isotópicas de MPB e POM do que das restantes fontes de MO (Figura 18 A). O mesmo se verificou quando observado o modelo da contribuição das possíveis fontes de MO para os indivíduos da espécie *U. delphinus*, onde se observou a contribuição diferencial das duas fontes de MO mencionadas acima (Figura 18 B). Assim, a alimentação desta espécie baseou-se  $59.0 \pm 2.6\%$  em MPB e  $41.0 \pm 2.6\%$  em POM.

**A)**



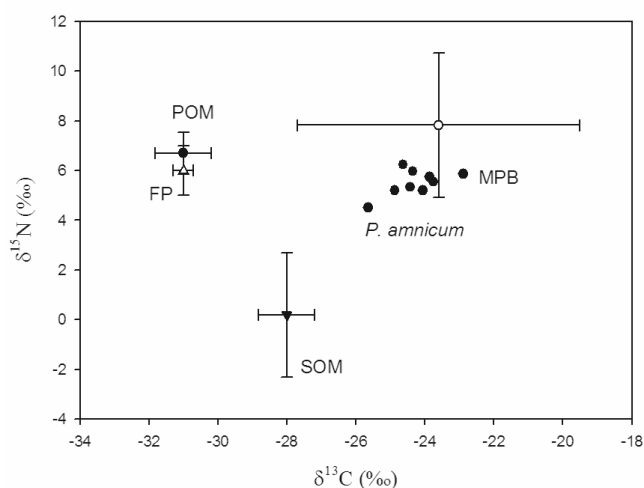
**B)**



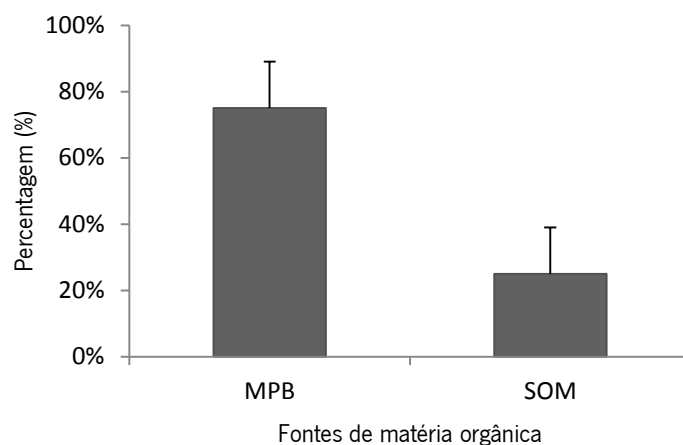
**Figura 18. A)** Relação entre os valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *U. delphinus* e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); **B)** Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB e POM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie *U. delphinus* presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfítobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento)

Por fim, ao analisar os resultados obtidos para *P. amnicum*, foi possível verificar que, ao contrário das espécies anteriores, os indivíduos desta espécie apresentaram assinaturas isotópicas ligeiramente empobrecidas em  $^{15}\text{N}$  e enriquecidos em  $^{13}\text{C}$ , estando assim mais próximos da assinatura isotópica de SOM (Figura 19 A). Quando observado o modelo da contribuição das possíveis fontes de MO para os indivíduos da espécie *P. amnicum*, foi possível verificar que, para além de MPB, SOM foi também uma fonte importante. Assim, a alimentação desta espécie baseou-se  $75.0 \pm 14.0\%$  em MPB e  $25.0 \pm 14.0\%$  em SOM (Figura 19 B).

**A)**



**B)**



**Figura 19. A)** Relação entre os valores dos isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰), referentes à espécie *P. amnicum* e às fontes de matéria orgânica (FP, MPB, POM e SOM) (Tabela 3); **B)** Modelo referente à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB e SOM), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos da espécie *P. amnicum* presentes no rio Minho. (FP - fitoplâncton, MPB - microfotobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento)



Em suma, os indivíduos das espécies *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus* apresentaram assinaturas isotópicas semelhantes e alimentaram-se essencialmente de MBP e POM, já os indivíduos da espécie *P. amnicum* apresentaram assinaturas isotópicas distintas e SOM foi uma fonte de MO importante (Tabela 6).

**Tabela 6.** Valores referentes à contribuição das possíveis fontes de matéria orgânica (MPB, POM, SOM) ( $\pm$ Desvio Padrão), em percentagem (%), na alimentação dos indivíduos das diversas espécies presentes no rio Minho (*C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis*, *U. delphinus* e *P. amnicum*). (MPB - microfítobentos, POM - matéria orgânica particulada e SOM - matéria orgânica do sedimento)

	MPB	POM	SOM
<i>C. fluminea</i>	59.1 $\pm$ 3.9	40.2 $\pm$ 4.4	0.7 $\pm$ 1.0
<i>A. anatina</i>	48.9 $\pm$ 3.9	47.6 $\pm$ 4.5	3.5 $\pm$ 2.7
<i>P. littoralis</i>	57 $\pm$ 14.0	43 $\pm$ 14.0	—
<i>U. delphinus</i>	59 $\pm$ 2.6	41 $\pm$ 2.6	—
<i>P. amnicum</i>	75 $\pm$ 14.0	—	25 $\pm$ 14.0

## 4. DISCUSSÃO

---



## 4.1. Assinaturas isotópicas das diferentes espécies de bivalves em distintos ecossistemas de água doce

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a assinatura isotópica dos indivíduos das diferentes espécies de bivalves varia de local para local. Por outro lado, tornou-se evidente que diferentes espécies presentes no mesmo local têm assinaturas isotópicas mais próximas entre si do que tem a mesma espécie mas em locais diferentes (i.e., as assinaturas isotópicas das espécies agrupam-se de acordo com o local de origem). No entanto, e para o mesmo local, existem diferenças significativas nas assinaturas isotópicas entre espécies. Concluindo-se ainda que, na generalidade os ecossistemas estudados são muito diferentes uns dos outros, dada a variabilidade das assinaturas descritas.

Assim, e em primeira análise, poder-se-á supor que os resultados obtidos neste estudo indicam que indivíduos da mesma espécie não se alimentam das mesmas fontes de MO nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados. Pode acontecer que os bivalves não se limitem unicamente ao consumo de produtores primários. Estudos recentes têm mostrado que os bivalves alimentam-se e assimilam o FP, mas também dependem de outros tipos de recursos como MPB, perifiton, bactérias, zooplâncton, detritos e MO dissolvida (glucose e  $\text{NH}_3$ ) para atender às suas necessidades nutricionais (Silverman *et al.*, 1997; Vaughn *et al.*, 2008). Este comportamento tem-se observado principalmente em ecossistemas oligotróficos onde o crescimento do FP é limitado devido à baixa concentração de nutrientes presentes nestes sistemas (Dias *et al.*, in press). Por exemplo, Dias *et al.* (in press) realizou um estudo no estuário do rio Minho onde observou que indivíduos da espécie *C. fluminea* para além de filtrarem FP consumiram outras fontes de MO (e.g., MO de origem terrestre, SOM e MPB) para suportar a sua elevada abundância neste ecossistema pobre em FP. Por outro lado, em grandes rios produtivos como o Mississippi, os bivalves alimentaram-se exclusivamente de FP (Thorp *et al.*, 1998). Por conseguinte, e tendo em consideração a variação observada nos valores das assinaturas isotópicas nos ecossistemas amostrados, a diferença no comportamento alimentar entre sistemas mais ou menos enriquecidos deverá ser uma justificação necessária a ter em conta (ver discussão em detalhe nas secções seguintes: 4.1.1. e 4.1.2.).

Para além das possíveis diferenças nas fontes utilizadas, outras justificações para esta discrepância nos valores das assinaturas isotópicas das espécies nos diferentes locais amostrados são possíveis. Assim, alguma da variabilidade pode ser explicada tendo por base o pressuposto de que, mesmo que os indivíduos da mesma espécie se alimentem das mesmas fontes de MO, as assinaturas isotópicas dos recursos basais (i.e., produtores primários) são diferentes de acordo com o ecossistema de água doce em que estão inseridos. Segundo a bibliografia, as assinaturas isotópicas ( $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ ) dos produtores primários em ecossistemas aquáticos apresentam grandes variações temporais, o que dificulta a sua utilização em longos períodos de tempo, mas sobretudo apresentam variações espaciais tanto nos ecossistemas aquáticos (e.g., locais próximos com velocidades de corrente diferentes podem ter assinaturas isotópicas bastante distintas) como terrestres (Cabana & Rasmussen, 1996; Finlay *et al.*, 1999; Vander Zanden & Rasmussen, 1999; Post, 2002; McNeely *et al.*, 2006; Atkinson *et al.*, 2009).

Para além do mencionado, tais resultados poderão também ser explicados tendo por base o pressuposto de que os indivíduos da mesma espécie alimentam-se das mesmas (ou muito semelhantes) fontes de MO nos diferentes ecossistemas. Contudo, as proporções em que as fontes são assimiladas podem variar de local para local (i.e., alimentação seletiva), e esta situação ser importante na explicação da disparidade nos valores obtidos. Na verdade, alguns investigadores encontraram evidências de que os bivalves podem alimentar-se de forma seletiva (Bastviken *et al.*, 1998; Raikow & Hamilton, 2001; Naddafi *et al.*, 2007). Por exemplo, Naddafi *et al.* (2007) mostrou que o mexilhão-zebra alterou o seu comportamento alimentar em relação à composição de FP de forma a capturar e ingerir apenas FP que está dentro do intervalo de tamanhos preferenciais, e que consequentemente a sua alimentação varia em relação à dinâmica sazonal deste recurso. Este comportamento alimentar, segundo Bastviken *et al.* (1998), conduz a alterações na comunidade fitoplanctónica que poderão ter consequências importantes para os ecossistemas invadidos por estes bivalves.

Além disso, a quantidade de água que um indivíduo pode filtrar varia em função de vários fatores abióticos (temperatura da água, velocidade da corrente e concentração/tamanho das partículas) e bióticos (espécie, tamanho do organismo, densidade populacional e interações bióticas como predação e parasitismo), podendo afetar igualmente as assinaturas isotópicas observadas (Vaughn & Hakenkamp, 2001). Para além do referido, o tamanho das brânquias, o número e a complexidade estrutural dos cílios também influenciam a capacidade de filtração dos

bivalves (Payne *et al.*, 1995; Lei *et al.*, 1996; Silverman *et al.*, 1995, 1997). Por exemplo, Silverman *et al.* (1997) comparou as taxas de filtração de *Escherichia coli* por parte de indivíduos de *C. fluminea* e por indivíduos de espécies nativas de unionídeos provenientes de ecossistemas lóticos e lênticos e mostrou que as taxas de filtração foram semelhantes nos indivíduos pertencentes ao mesmo grupo mas bastante diferentes entre os bivalves dos diferentes ecossistemas. Os bivalves de ecossistemas lóticos filtraram mais bactérias do que os bivalves pertencentes a ecossistemas lênticos. Quando observada a estrutura branquial verificaram que as espécies oriundas de sistemas lóticos tinham uma estrutura mais complexa e maior número de cílios ( $\geq 25$ ) do que as espécies de sistemas lênticos ( $\leq 16$ ). Relativamente a *C. fluminea*, que ocorreu em ambos os ecossistemas, o referido estudo mostrou que este bivalve filtrou a uma taxa muito maior do que qualquer uma das outras espécies e que tinha uma estrutura branquial mais complexa (32-42) (Silverman *et al.*, 1995).

Uma outra explicação possível para estas diferenças espaciais prende-se com o facto de as bacias hidrográficas apresentarem características distintas, tanto em termos da história do uso do solo como da hidro/geomorfologia, e estas características distintas podem também fazer variar as assinaturas isotópicas dos bivalves (Howard *et al.*, 2005). Um exemplo é a contribuição relativa das fontes de energia de origem terrestre (alóctones) ou aquática (autóctones) que varia conforme o sistema analisado e portanto, as fontes de energia primária poderão ser isotopicamente distintas dependendo do local (Doucett *et al.*, 1996).

#### 4.1.1. Assinatura de $\delta^{13}\text{C}$

No que concerne aos valores das assinaturas isotópicas referentes ao  $\delta^{13}\text{C}$  das mesmas espécies nos diferentes locais amostrados foi evidente que estes foram muito distintos. Os indivíduos pertencentes à Lagoa de Mira e ao rio Paiva foram os que apresentaram assinaturas isotópicas mais distintas possuindo valores mais extremos. De facto, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  medidos na Lagoa de Mira foram os mais empobrecidos em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx -29\text{‰}$ ) e os do rio Paiva foram os mais enriquecidos em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx -21\text{‰}$ ), quando comparados com os restantes locais de amostragem. Estas diferenças encontradas nos valores das assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  poder-se-ão dever em grande parte ao facto de os bivalves se limitarem ao consumo de produtores primários sobretudo em sistemas produtivos (Thorp *et al.*, 1998) e em sistemas oligotróficos alimentarem-se de outras fontes de MO para além de FP (Dias *et al.*, in press). Em geral, o MPB é mais enriquecido em  $^{13}\text{C}$  do que o FP devido à existência de uma camada limite difusa na interface sedimento-água que reduz o fracionamento isotópico (France, 1995). Além disso, também a POM, a SOM e a MO de origem terrestre (e.g., plantas ribeirinhas  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$ ) são mais enriquecidas em  $^{13}\text{C}$  do que o FP (Dias *et al.*, in press). Por conseguinte, e dada a variação nas assinaturas isotópicas encontradas nos diferentes ecossistemas aquáticos, possivelmente no rio Paiva (sistema oligotrófico; Tabela 2), os bivalves para além de filtrarem FP deverão consumir outras fontes presentes na coluna de água, daí os valores das assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  serem muito mais enriquecidos ( $\approx -21\text{‰}$ ). Pelo contrário, e sendo a Lagoa de Mira um ecossistema eutrofizado (Tabela 2), os bivalves presentes neste sistema deverão consumir sobretudo FP, comportando-se assim unicamente como consumidores primários, daí as assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  serem muito mais empobrecidas ( $\approx -29\text{‰}$ ). Assim, esta clara diferença nos valores das assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  entre a Lagoa de Mira e o rio Paiva deverá estar relacionada com diferentes recursos utilizados pelas espécies nas diferentes condições, sendo que possivelmente na Lagoa de Mira o FP deverá ser a principal fonte de MO, enquanto no rio Paiva o contributo de outras fontes de MO deverá ser substancial. Especificamente no que respeita às assinaturas observadas para o rio Minho, e segundo os modelos de contribuição das diferentes fontes de MO obtidos para as diversas espécies (Figuras 15 à 19), MPB e POM foram duas fontes importantes na alimentação dos bivalves em comparação com o FP, sendo assim uma evidência que apoia esta hipótese. No que trata às assinaturas encontradas nos restantes locais amostrados (rios Sabor, Tâmega e Tua), que foram semelhantes às encontradas para o rio Minho, poder-se-á supor que também nestes sistemas os

bivalves complementam a sua dieta recorrendo a outras fontes de MO mais enriquecidas, daí os valores serem mais positivos que os observados na Lagoa de Mira. Infelizmente, este estudo somente confirmou as fontes de MO utilizadas pelas diferentes espécies no rio Minho (ver secção abaixo: 4.2.) e, assim sendo, futuros estudos terão de avaliar esta situação principalmente na Lagoa de Mira e no rio Paiva.

Esta diferença nos valores observados poder-se-á dever também às alterações nas concentrações de fósforo (P) associadas com atividades antrópicas e que estão relacionadas com o uso de detergentes e fertilizantes, ou principalmente descargas de efluentes que modificam a produtividade das algas (i.e., produtividade primária), e consequentemente a assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  (Church *et al.*, 2006). A assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  da MO sofre alterações em função dos processos de produção primária e eutrofização (Schelske & Hodell, 1991, 1995). Em plantas aquáticas, os isótopos de C são fracionados durante a fotossíntese, porque a enzima ribulose 1,5-bifosfato (RuBP) remove preferencialmente o isótopo mais leve ( $^{12}\text{C-CO}_2$ ) a partir do DIC (Vogel, 1980; Estep, 1984; Raven *et al.*, 1994). A variabilidade e enriquecimento de algas em  $^{13}\text{C}$  são influenciados por uma série de fatores, incluindo a temperatura, a composição de espécies, composição e concentração do C inorgânico, produtividade e  $\delta^{13}\text{C}$  do C inorgânico (Sackett *et al.*, 1964; Rau *et al.*, 1989; Fogel *et al.*, 1992). Por exemplo, com o aumento da produtividade, há menos fracionamento entre os dois isótopos, resultando em algas/células de plantas e MO mais enriquecida em  $^{13}\text{C}$ . Assim, valores mais positivos de  $\delta^{13}\text{C}$  retratam ambientes de maior produtividade, que podem ser o reflexo de ecossistemas poluídos (Church *et al.*, 2006). Porém, esta fundamentação não pode ser utilizada para explicar a disparidade de resultados obtidos visto que, as assinaturas isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  mais enriquecidas, que neste estudo dizem respeito ao rio Paiva, deveriam pertencer à Lagoa de Mira, dado ser este o ecossistema com valores de nutrientes mais elevados (Figura 4). Na verdade, os valores das assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  variam de forma inversa ao que seria de esperar segundo este pressuposto. Assim, pensa-se que a diferença observada nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  não poderá ser explicada pelas diferentes concentrações de nutrientes existentes nos diferentes ecossistemas amostrados. Na verdade, este facto é mais uma razão para suportar a hipótese de que os indivíduos pertencentes aos rios oligotróficos para além do FP têm necessariamente de alimentar-se de outras fontes de MO.

Para além do referido, outros investigadores mostraram que ao longo da progressão longitudinal de um rio há assimilação variável entres as fontes de C alóctone e autóctone e que



indivíduos (coletores, filtradores e predadores) pertencentes a locais próximos da nascente estão mais dependentes de fontes de C alóctones (i.e., detritos terrestres) do que aqueles encontrados em locais a jusante. Por outras palavras, à medida que se caminha para jusante (aumenta o tamanho do rio) estes três grupos funcionais vão passar a refletir uma assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  mais próxima da do FP, tal como era espectável pela teoria do rio contínuo (Doucett *et al.*, 1996; Finlay, 2001). De acordo com Vannote *et al.* (1980), as cadeias tróficas em rios baseiam-se num gradiente de fontes de energia primária alóctone e autóctone desde a nascente até à foz, sugerindo que as características estruturais e funcionais das comunidades devem ajustar-se ao gradiente fluvial, estando condicionadas aos padrões de entrada, transporte, utilização e armazenamento da MO. Desta forma e tendo em consideração que os pontos amostrados nos diferentes rios poderão estar localizados ligeiramente em partes diferentes da progressão longitudinal, este pressuposto poderá contribuir para alguma da variabilidade encontrada nos valores das assinaturas, mas certamente não será a causa maior.

Além do referido, a variabilidade nos valores das assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  também poderá ser atribuída à diferente contribuição terrestre nos ecossistemas aquáticos. Por exemplo, a diferente cobertura vegetal encontrada em cada ecossistema aquático, que por escoamento chega ao rio e faz parte da POM na coluna de água, conduz a alterações nas assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  (Howard *et al.*, 2005). Segundo O'Leary (1988) plantas ribeirinhas  $\text{C}_3$  apresentam assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  que podem variar entre -32 e -22‰, com média de -27‰, sendo desta forma distintas de plantas  $\text{C}_4$  (e.g., *Spartina* spp.) que exibem assinaturas mais enriquecidas em  $^{13}\text{C}$  e que podem variar de -17 a -9‰, com média de -13‰. Existem ainda outros fatores que poderão fazer variar as assinaturas de produtores primários em rios. A assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  do FP apresenta grande variabilidade e está relacionada positivamente com a taxa de fotossíntese (Peterson *et al.*, 1993; MacLeod & Barton, 1998). A origem desta variabilidade tem sido atribuída às diferentes assinaturas isotópicas do DIC disponível para as plantas aquáticas e para o FP (i.e., o  $\text{CO}_2$  atmosférico,  $\text{CO}_2$  biogénico e bicarbonato), no entanto estas diferenças não explicam a grandeza de valores encontrados muitas vezes em rios (Rounick & James, 1984). Outros investigadores relataram que o valor de  $\delta^{13}\text{C}$  pode ser relacionado positivamente com a taxa de crescimento do FP (Degens *et al.*, 1968; Burkhardt *et al.*, 1999). Além disso, existem indícios de que a taxa de crescimento também influencia o  $\delta^{13}\text{C}$  de plantas macroscópicas aquáticas (Wefer & Killingley, 1986; Carvalho *et al.*, 2008; Tanaka *et al.*, 2008). Este raciocínio baseia-se na premissa de que a assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  do C orgânico produzido fotossinteticamente é controlada pela produtividade

primária na coluna de água. A relação isotópica do C ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) é enriquecida ou empobrecida com aumentos ou reduções na produção primária (Verburg, 2007).

Segundo Finlay *et al.* (1999), uma das causas que poderá estar na base da variação espacial destas assinaturas dentro de ecossistemas aquáticos é a velocidade da corrente. Este investigador descobriu uma forte relação negativa entre a assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  de um herbívoro (que reflete a assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  das algas) e a velocidade da água em três rios no norte da Califórnia. Nesse estudo, a velocidade do fluxo afeta a assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  das algas mais fortemente, quando a disponibilidade de  $\text{CO}_2$  é baixa em relação às taxas fotossintéticas. Por outras palavras, as assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  das algas bem como dos herbívoros foram mais enriquecidas (5-8‰) nos locais onde a velocidade da corrente foi baixa em comparação com locais onde a velocidade foi maior (Finlay *et al.*, 1999; Trudeau & Rasmussen, 2003). Esta alteração das assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  das algas em função da velocidade da corrente pode ser atribuída ao aumento da disponibilidade de  $\text{CO}_2$  para as algas bentónicas com o aumento da velocidade da água, porque a discriminação de  $^{13}\text{CO}_2$  durante a fotossíntese aumenta com a disponibilidade de  $\text{CO}_2$  (Calder & Parker, 1973; Pardue *et al.*, 1976). Desta forma, a velocidade da corrente pode desempenhar um papel importante na determinação da disponibilidade de C inorgânico e na razão de isótopos de C de macrófitas e macroalgas (Keeley & Sandquist, 1992). Contudo, e visto que a Lagoa de Mira é de todos os ecossistemas aquáticos amostrados o mais empobrecido em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx -29\text{‰}$ ), pensa-se que as diferenças nas assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$  em função da velocidade da corrente por si só não expliquem estes valores. Assim, mais uma vez e dadas as diferenças tão marcadas entre as assinaturas isotópicas, seguramente deverão existir diferenças nas fontes consumidas pelos bivalves nos diversos ecossistemas amostrados.

#### 4.1.2. Assinatura de $\delta^{15}N$

Quando observados os valores das assinaturas referentes ao  $\delta^{15}N$  das espécies nos diferentes locais amostrados foi também notório que estes foram muito distintos. Mais uma vez os indivíduos pertencentes à Lagoa de Mira e ao rio Paiva foram os que apresentaram assinaturas isotópicas mais distintas e com valores mais extremos. De facto, os valores de  $\delta^{15}N$  determinados na Lagoa de Mira foram os mais enriquecidos em  $^{15}N$  ( $\approx 16\%$ ) e os do rio Paiva foram os mais empobrecidos em  $^{15}N$  ( $\approx 8\%$ ), quando comparados com os restantes locais de amostragem. Esta diferença nos valores observados poder-se-á dever a diferenças no fracionamento do N por parte das espécies, a diferenças no *input* de fontes de N nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados ou a diferenças nos padrões de alimentação exibidos pelas diversas espécies (Howard *et al.*, 2005).

Os bivalves de água doce como consumidores primários são muitas vezes utilizados para traçar as condições basais de um ecossistema, permitindo desta forma fazer inferências acerca das posições tróficas (Cabana & Rasmussen, 1996; Post, 2002). Na atribuição do estado trófico, assume-se que os consumidores primários terão uma proporção de  $\delta^{15}N$  de cerca de 3-4‰ superior aos produtores primários. Já nos consumidores secundários essa proporção será 6-8‰ superior aos produtores primários e os omnívoros cairão no meio (Kling *et al.*, 1992; Vander Zanden *et al.*, 1997). Assim, os valores das assinaturas de  $\delta^{15}N$  do rio Paiva ( $\approx 8\%$ ) e da Lagoa de Mira ( $\approx 16\%$ ) variam de forma inversa ao que seria expectável segundo a bibliografia, ou seja, os valores enriquecidos que poderiam refletir assinaturas mais próximas de consumidores secundários foram os observados na Lagoa de Mira, sistema onde possivelmente os bivalves se alimentam essencialmente de FP (Thorp *et al.*, 1998; Dias *et al.*, in press). No entanto, dado que não se conhecem as assinaturas isotópicas dos recursos basais de todos os ecossistemas, esta suposição não deve ser feita. O que não deixa de ser um facto é que os valores observados para as assinaturas de  $\delta^{15}N$  na Lagoa de Mira são o dobro das encontradas no rio Paiva. Na verdade, os valores muito mais enriquecidos observados na Lagoa de Mira deverão ser influenciados pelas atividades antropogénicas, pois segundo Wainright *et al.* (1996) a poluição orgânica aumenta os valores das assinaturas de  $\delta^{15}N$  em toda a cadeia trófica.

De facto, a eutrofização é um importante fenómeno que afeta os ecossistemas aquáticos, sobretudo por estes serem os recetores finais de excedentes de N provenientes de fontes

antropogénicas (resíduos domésticos, industriais e agrícolas), que chegam por escorrência ou através de descargas diretas de efluentes não tratados (Capone & Slater, 1990; Valiela *et al.*, 1990; LaBaugh *et al.*, 1995; Hagerthey & Kerfoot, 1998). Ao longo do tempo, as descargas de estações de tratamento de águas residuais e agrícolas variam, e dado que apresentam assinaturas isotópicas distintas, afetam os valores observados (Kendall, 1998). Além de diferentes fontes (composições isotópicas diferentes), durante estas descargas, os compostos de N são sujeitos a uma variedade de reações complexas dentro da coluna de água e nos sedimentos, muitas das quais envolvem fracionamento isotópico cinético, modificando a composição isotópica do N antes da sua deposição. Esses processos incluem: (a) a absorção pelas algas de N residual pesado ou de amónia formada a partir da absorção sequencial e fracionamento de N pelas algas (Wada, 1980; Pennock *et al.*, 1996); (b) a quebra de N orgânico particulado por bactérias que podem preferencialmente libertar  $^{14}\text{N}$  orgânico e N inorgânico, deixando para trás partículas mais enriquecidas (Wada, 1980; Sachs & Repta, 1999; Lehmann *et al.*, 2002); (c) a redução de N através de reações de desnitrificação, processo pelo qual o N volta à atmosfera sob a forma de gás quase inerte ( $\text{N}_2$ ) devido à ação de algumas espécies de bactérias (tais como *Pseudomonas* e *Clostridium*) em ambiente anaeróbio. Durante esta reação, há um fracionamento isotópico em que, no final, o N que volta ao ambiente tem uma assinatura de  $\delta^{15}\text{N}$  mais enriquecida ( $\approx 15\%$ ) (Cline & Kaplan, 1975; Heaton, 1986). As concentrações de N e os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  nas águas refletem o uso do solo. Por conseguinte, bacias hidrográficas com problemas de poluição apresentam usualmente maiores concentrações de N e valores de  $\delta^{15}\text{N}$  mais enriquecidos do que ecossistemas sem estes problemas (Cole *et al.*, 2004, 2006). Desta forma, o  $\delta^{15}\text{N}$  pode ser utilizado para clarificar suspeitas da existência de poluição em ecossistemas aquáticos (Heaton, 1986). Segundo este raciocínio, os ecossistemas aquáticos amostrados estão dispostos segundo um gradiente de N, no qual a Lagoa de Mira será o sistema mais eutrofizado ( $\approx 16\%$ ), seguindo-se o afluente da Lagoa de Mira, o rio Tâmega e Tua ( $\approx 12\%$ ), depois o rio Minho e Sabor ( $\approx 10\%$ ) e, por fim o rio Paiva ( $\approx 8\%$ ). Tendo em consideração os valores de nutrientes obtidos em cada ecossistema amostrado (Tabela 2), o pressuposto de que a poluição orgânica aumenta os valores das assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$ , é a hipótese mais plausível para explicar as diferenças observadas (Wainright *et al.*, 1996). Na verdade, a Lagoa de Mira foi o ecossistema com características abióticas mais distintas dos demais ecossistemas, em muito devido aos valores mais elevados de nutrientes. Para além disso, o valor referente à Lagoa de Mira poderá estar inflacionado devido ao facto de este ecossistema ser um corpo de água

distinto dos de mais particularmente no que toca à velocidade da corrente. Enquanto nos rios a água flui no sentido da nascente para a foz com mais ou menos velocidade dependendo da geomorfologia do terreno, as lagoas e lagos são um corpo de água com pouca corrente, possuindo apenas microcorrentes de origem térmica e provocadas pelo vento.

Por outro lado, as diferenças observadas nos valores das assinaturas entre indivíduos da mesma espécie nos diferentes sistemas de água doce amostrados poderão também estar relacionadas com o facto de os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  aumentarem em função da idade dos bivalves (Howard *et al.*, 2005). Segundo Howard *et al.* (2005), indivíduos mais velhos são mais enriquecidos em  $^{15}\text{N}$  ( $\approx 2\%$ ) do que indivíduos mais jovens. Embora o mecanismo para esta relação não seja conhecido, uma possível explicação poderá estar relacionada com o tamanho dos sifões dos organismos, sendo que indivíduos maiores e mais velhos apresentam sifões maiores e, por isso, podem alimentar-se de organismos de níveis tróficos superiores, como por exemplo zooplâncton ou invertebrados à deriva na coluna de água (Howard *et al.*, 2005). Mecanismo semelhante foi também documentado num estudo de MacIsaac *et al.* (1995) que envolvia o mexilhão-zebra (*D. polymorpha*). Neste estudo, os investigadores mostraram uma relação significativa entre o comprimento da concha (que reflete a idade do organismo) e o diâmetro do sifão, sendo que os mexilhões-zebra de maiores dimensões eram capazes de diminuir drasticamente a abundância do zooplâncton, principalmente do Filo Rotifera (MacIsaac *et al.*, 1995). No entanto, no decorrer do presente estudo, fez-se por recolher indivíduos com comprimentos semelhantes, numa tentativa de garantir similaridade de idades de modo a minimizar o viés introduzido. Assim, e dada a magnitude das diferenças observadas nos distintos ecossistemas, é de supor que possíveis diferenças na idade não expliquem por si só os valores observados, mesmo que não se tenha procedido à medição exata da idade dos organismos.

Outro fator que poderá contribuir para as diferenças observadas nas assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  é o grau de contribuição terrestre nos ecossistemas aquáticos. Na generalidade, a assinatura de  $\delta^{15}\text{N}$  da vegetação terrestre é mais empobrecida do que a do FP e da matéria orgânica particulada fina (FPOM) (Dawson *et al.*, 2002; Christian *et al.*, 2004). Os valores das assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  entre as plantas podem variar até 10‰ e refletem o efeito de uma série de processos. A presença de múltiplas fontes de N com diferentes valores isotópicos, associações micorrízicas, variação temporal e espacial na disponibilidade de N e mudanças na absorção por parte das plantas podem influenciar a assinatura de  $\delta^{15}\text{N}$  (Handley & Scrimgeour, 1997; Robinson, 2001;

Evans, 2001). Apesar do referido, pensa-se que esta diferença nas assinaturas das fontes de origem terrestre por si só não explique a variabilidade dos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  nos ecossistemas amostrados. No entanto, esta situação deverá ser estudada no futuro com mais detalhe já que os ecossistemas amostrados podem estar sujeitos a diferenças importantes na quantidade de *inputs* de origem terrestre.

Em suma, as fontes prováveis para a introdução de variabilidade nas assinaturas de cada isótopo foram várias e todas deverão contribuir, embora umas mais do que outras, para a justificação das assinaturas observadas. Por outro lado, quando observadas as assinaturas de  $\delta^{13}\text{C}$ , o pressuposto de que os bivalves exibem um comportamento alimentar distinto consoante o tipo de meio em que estão inseridos, parece ser o mais plausível para explicar os resultados obtidos. Já no que toca à variação encontrada para as assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$ , a poluição orgânica mostrou ser o fator mais importante para explicar estes resultados. No entanto, novos estudos deverão explorar estas hipóteses utilizando abordagens adicionais como, por exemplo, a determinação das assinaturas isotópicas das possíveis fontes de MO, bem como esclarecer o estado de eutrofização para todos os ecossistemas aquáticos amostrados.

## 4.2. Contribuição das diferentes fontes de matéria orgânica para os bivalves de água doce presentes no Rio Minho

Os resultados obtidos para o rio Minho mostraram uma clara separação entre as espécies analisadas, onde foi possível observar que os valores dos isótopos estáveis dos indivíduos da espécie *P. amnicum* são claramente distintos dos das restantes espécies (Figura 6). Os valores para *P. amnicum* foram ligeiramente empobrecidos em  $^{15}\text{N}$  ( $\approx 8\text{‰}$ ) e enriquecidos em  $^{13}\text{C}$  ( $\approx 25\text{‰}$ ). Foi igualmente evidente que as assinaturas isotópicas dos indivíduos pertencentes às espécies *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus* apresentaram assinaturas isotópicas mais próximas entre si quando comparados com os indivíduos da espécie *P. amnicum*; no entanto, existiram diferenças significativas nas assinaturas isotópicas entre todas as espécies. Por conseguinte, é possível afirmar que de todas as espécies amostradas no rio Minho, *P. amnicum* foi a espécie que apresentou um espaço do nicho trófico mais distinto. O mesmo pode ser concluído quando observados os resultados dos modelos de cadeia trófica (Tabela 6). Nestes modelos foi notório que os indivíduos das espécies *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus* alimentaram-se essencialmente de MBP e POM, embora as duas primeiras espécies se possam alimentar também de SOM mas em muito menor percentagem (0.7 e 3.5%, respetivamente). Assim, é possível afirmar que, pelo menos nesta época do ano (i.e., verão), as espécies anteriormente mencionadas são fundamentalmente filtradoras. Já quando observado o modelo relativo à espécie *P. amnicum*, SOM foi uma fonte de MO importante, constituindo aproximadamente 25% da alimentação desta espécie, e os restantes 75% dizem respeito ao MBP. Tais resultados são suportados pela bibliografia que relata que os bivalves são organismos naturalmente filtradores com capacidade de filtrar FP, bactérias e POM a partir da coluna de água e que indivíduos pertencentes à família Sphaeriidae, para além de filtrarem, conseguem remover SOM através de *pedal feeding* (Raikon & Hamilton, 2001; Vaughn & Hakenkamp, 2001). Embora na generalidade da bibliografia seja enfatizada a alimentação por filtração, induzindo erroneamente que estes organismos se alimentam exclusivamente de partículas em suspensão na coluna de água, recentemente tem-se tornado claro que os bivalves também consomem partículas presentes no sedimento (Dame, 1996; Raikon & Hamilton, 2001). Na verdade, algumas espécies de bivalves de água doce, estando semienterradas, com o pé ancorando no sedimento e os sífoes distendidos para a coluna de água, adquirem a MO tanto através da filtração na coluna de água como pela filtração da água intersticial. Estas situações

podem acontecer quando os bivalves alongam os sifões inalantes até à superfície do sedimento ou quando ocorre assimilação de partículas presentes nos sedimentos por *pedal feeding* (McMahon, 1991). Por exemplo, a filtração de água intersticial foi observada em espécies da família Sphaeriidae, incluindo muitas espécies de *Pisidium* que filtram e consomem bactérias intersticiais e em *Musculium transversum* que utiliza um sifão inalante alongado para aspirar partículas detríticas (Lopez & Holopainen, 1987; Way, 1989). Na assimilação de partículas presentes no sedimento por *pedal feeding* os bivalves usam o pé para varrer as partículas do sedimento para o interior da concha (Vaughn & Hakenkamp, 2001; Vaughn *et al.*, 2008). Segundo Reid *et al.* (1992), a alimentação por *pedal feeding* é uma função primitiva dos bivalves que é quase universal em indivíduos na fase juvenil (Yeager *et al.*, 1994) e comum nas formas adultas de espécies de pequeno tamanho, como em espécies da família Sphaeriidae (Way, 1989; Way *et al.*, 1990). Num estudo de laboratório, Nichols *et al.* (2005) descreveu que os mexilhões adultos não se alimentam ativamente por *pedal feeding*, mas são capazes de aceder aos recursos bentónicos através de correntes de água gerados pelos cílios do pé que puxam o material através da porção anterior da concha, enquanto o pé está estendido. Já Raikow & Hamilton (2001) mostraram que este tipo de alimentação pode ocorrer em condições naturais em bivalves adultos, pois as partículas presentes nos sedimentos foram assimiladas.

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que há sobreposição entre as fontes de MO utilizadas pela amêijoia invasora *C. fluminea* e as espécies nativas *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus*. Estes resultados mostraram ainda que os indivíduos da espécie *C. fluminea* suprem a quase totalidade das suas necessidades nutricionais utilizando fontes de MO presentes na coluna de água (aproximadamente 99%) pelo menos durante o verão. Além disso, estes resultados não apontaram para que estes indivíduos tenham a capacidade de se alimentar também de SOM, dado que a percentagem observada durante o verão foi muito baixa (0.7%). Embora não tenha sido possível comprovar que *C. fluminea* exiba os dois tipos de alimentação neste ecossistema e época de amostragem, não invalida a possibilidade de poder observar-se tal facto em outras alturas do ano ou em condições ambientais diferentes. Segundo a bibliografia, indivíduos desta espécie também removem MO presente no sedimento para além de filtrarem na coluna de água (Vaughn & Hakenkamp, 2001). Portanto, os indivíduos de *C. fluminea* alimentam-se na coluna de água podendo assim causar efeitos negativos nas espécies nativas filtradoras; mas poderiam igualmente, em períodos de menor quantidade de alimento na coluna de água, alimentar-se de MO contida no sedimento e assim atingir densidades e biomassas



elevadas. Por conseguinte, tal comportamento poderia explicar e/ou estar na base do seu sucesso invasor, uma vez que esta plasticidade é uma grande vantagem em sistemas oligotróficos mas onde o sedimento é muito rico em MO, como é o caso do rio Minho (Sousa *et al.*, 2008e). Esta suposição é suportada por um estudo recente realizado neste mesmo ecossistema aquático. Este estudo mostrou que, embora a maioria das fontes de MO identificadas sejam filtradas a partir da coluna de água (70-90%), a dependência observada de SOM e de MPB é uma evidência de que *C. fluminea* também pode alimentar-se de partículas presentes no sedimento (Dias *et al.*, in press). Na verdade, *C. fluminea* beneficia de diversas estratégias de alimentação que lhe permite, em teoria, competir com as espécies nativas. Esta espécie tem uma capacidade de filtração elevada podendo em ecossistemas onde ocorre em biomassas elevadas influenciar a abundância de FP e a claridade da água (Cohen *et al.*, 1984; Phelps, 1994). De facto, Strayer *et al.* (1999) e Dame (1996) sugeriram que as assembleias de bivalves podem influenciar significativamente a concentração de FP, quando as taxas de filtração são grandes relativamente ao fornecimento de alimento. Para além disso, esta espécie pode ajustar fisiologicamente a sua taxa de filtração em resposta à disponibilidade de alimento de forma a otimizar a taxa de filtração de acordo com a gama e concentração de partículas disponíveis. Ou seja, esta espécie é generalista e ajusta-se à disponibilidade de recursos existentes (Way *et al.*, 1990, Boltovskoy *et al.*, 1995). Segundo Atkinson *et al.* (2010), *C. fluminea* pode também selecionar os componentes presentes, mas apresenta baixa fidelidade trófica. Por outro lado, os indivíduos desta espécie têm a capacidade de se alimentarem no sedimento, quando há escassez de recursos em suspensão (Hakenkamp & Palmer, 1999; Vaugh & Hakenkamp, 2001). Por conseguinte, todas estas estratégias de alimentação contribuem para que *C. fluminea* tenha uma grande capacidade de adaptação em ecossistemas não nativos, conduzindo a invasões bem-sucedidas que, conseqüentemente, podem afetar negativamente as espécies nativas presentes. Na verdade, no rio Minho tem-se observado um grande declínio em várias espécies de moluscos, nomeadamente bivalves, após a invasão de *C. fluminea*. Esta amêijoia invasora foi identificada pela primeira vez no estuário do rio Minho em 1989 e é hoje em dia o maior componente da fauna bentónica em termos de densidade e biomassa, contribuindo em mais de 95% para a totalidade de biomassa existente (Araujo *et al.*, 1993; Sousa *et al.*, 2005, 2007, 2008a, 2008b). Segundo Sousa *et al.* (2008c), anteriormente à invasão, este ecossistema era composto por uma assembleia rica em moluscos, contendo várias espécies de mexilhões de água doce das famílias Margaritiferidae, Unionidae, amêijoas da

família Sphaeriidae e espécies de gastrópodes. Desde então tem-se observado um declínio significativo na diversidade, abundância e biomassa destas espécies e a comunidade de moluscos é, presentemente, completamente dominada por *C. fluminea* (Araujo *et al.*, 1993; Sousa *et al.*, 2005, 2007, 2008a, 2008b). Embora neste estudo não se tenha notado que as fontes de MO de *C. fluminea* e *P. amnicum* sejam tão coincidentes como para as restantes espécies, é um facto que desde a introdução de *C. fluminea* no rio Minho, a população de *P. amnicum* sofreu uma redução considerável tanto na distribuição espacial como no número de efetivos (Sousa *et al.*, 2008d). Isto demonstra que não só para *P. amnicum* mas também para as restantes espécies, a competição pelos mesmos recursos não deverá ser a única explicação responsável pelo declínio das espécies nativas. Na realidade, os bivalves são usualmente descritos como muito adaptáveis no que concerne à variedade de fontes de MO utilizadas (Nichols *et al.*, 2005). Assim, para além da possível competição pelas mesmas fontes de MO outras pressões mediadas por *C. fluminea* podem também estar na base do declínio das espécies nativas e em particular de *P. amnicum* neste ecossistema aquático. No rio Minho esta espécie invasora como atinge densidades elevadas ocupa grande parte do sedimento disponível o que, conseqüentemente, reduz o habitat disponível para as restantes espécies e afeta o recrutamento e quantidade de juvenis das espécies nativas (McMahon, 1991; Hakenkamp & Palmer, 1999; Strayer *et al.*, 1999; Vaughn & Hakenkamp, 2001). Além disso, *C. fluminea* sendo reconhecida como um engenheiro de ecossistemas (organismos capazes de criar, modificar ou manter habitats ou micro-habitats ao causarem mudanças no estado físico de materiais bióticos e abióticos que, direta ou indiretamente, modulam a disponibilidade de recursos para outras espécies; Jones *et al.*, 1994, 1997) importante pode levar a mudanças significativas nas condições abióticas por alterar a turbidez da água, a granulometria do sedimento via bioturbação, o oxigénio dissolvido, a velocidade do corrente e a complexidade do habitat de forma a torná-las mais favoráveis para a sua permanência e desfavoráveis para as espécies de bivalves nativas (Sousa *et al.*, 2009; Ilarri & Sousa, 2011). Uma outra pressão está relacionada com o facto de nos últimos anos ter-se observado grandes mortalidades de *C. fluminea* em resposta a eventos climáticos extremos (cheias ou secas). Estes indivíduos que ficam em zonas pouco profundas junto às margens entram em decomposição e conseqüentemente conduzem a mortalidades elevadas nas espécies de bivalves nativas. Se, por um lado, a espécie invasora consegue recuperar rapidamente para os níveis de densidade que exibiam anteriormente, as espécies nativas, tendo um ciclo de vida diferente, demoram muito

mais tempo a recuperar (Sousa *et al.*, 2012). Esta capacidade aliada às características naturais de *C. fluminea* (crescimento rápido, maturidade sexual precoce, tempo de vida curto, alta fecundidade e grande capacidade de dispersão) e às consequências geradas pelas atividades humanas tornam este bivalve uma severa ameaça para a biodiversidade nativa (McMahon, 2002; Sousa *et al.*, 2008). Caso *C. fluminea* exerça funções similares às desempenhadas por unionídeos e esferídeos nativos, a diminuição pode ter pouco impacto no que toca aos papéis funcionais dos moluscos neste ecossistema. Por outro lado, se as espécies desempenham papéis distintos, deve ser mantida a diversidade de moluscos presentes de forma a manter os processos e funções do ecossistema. Contudo, mesmo que compartilhem alguns aspetos funcionais, as diferenças na gama de processos e as taxas em que são realizados podem levar a uma mudança drástica no papel funcional dos ecossistemas (Vaugh & Hakenkamp, 2001).

Em suma, estes resultados vêm enfatizar que os indivíduos pertencentes à amêijoia asiática *C. fluminea* e às espécies nativas *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus* são fundamentalmente filtradoras. Já os indivíduos pertencentes a *P. amnicum*, para além de filtrarem na coluna de água e/ou água intersticial do sedimento, são igualmente capazes de se alimentarem da MO presente no sedimento por *pedal feeding*. Para além do referido, sugerem que haja uma sobreposição na utilização das fontes de MO entre os indivíduos invasores e os indivíduos das espécies *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus*, podendo este fato causar efeitos negativos nas espécies nativas filtradoras. O mesmo raciocínio não pode ser aplicado na totalidade para justificar o decréscimo no efetivo populacional de *P. amnicum*, dado que os resultados não mostraram que *C. fluminea* também se pode alimentar de MO presente no sedimento da mesma forma que esta espécie nativa. Segundo estes resultados, a hipótese de que *C. fluminea* beneficia de maior plasticidade, como forma única para justificar o seu sucesso invasor, não pode ser tomada como certa pelo menos nesta altura do ano (i.e., verão). No entanto, é de salvaguardar que os valores utilizados para as fontes de MO foram os obtidos pela média dos dados recolhidos em dois anos anteriores consecutivos. Este facto poderá ter de alguma forma introduzido algum viés na interpretação dos resultados obtidos visto que estes mesmos valores das fontes comprovaram num estudo anterior (Dias *et al.*, in press) que *C. fluminea* também pode alimentar-se de partículas presentes no sedimento num maior grau (10-30%) do que obtido nos resultados da presente tese. Por conseguinte, em estudos futuros que tenham como objetivo elucidar quais as fontes de MO utilizadas pelas diversas espécies é imprescindível fazer amostras dessas possíveis fontes.

## 5. IMPLICAÇÕES DE CONSERVAÇÃO E DIREÇÕES FUTURAS

---



A análise de isótopos estáveis é uma ferramenta poderosa que permite avaliar os recursos utilizados pelas espécies e é, por isso, hoje em dia um utensílio importante nos estudos relacionados com ecologia trófica. No entanto, esta ferramenta raramente foi utilizada em bivalves de água doce, sendo este estudo um dos primeiros a avaliar populações de espécies nativas e invasoras que vivem em simpatria. Por conseguinte, esta ferramenta possibilitou perceber que diferentes espécies presentes no mesmo local têm assinaturas isotópicas mais próximas entre si do que tem a mesma espécie mas em locais diferentes (i.e., as assinaturas isotópicas das espécies agrupam-se de acordo com o local de origem). Para além disso, as assinaturas dos indivíduos das diversas espécies variam de local para local e são claramente distintas em ecossistemas lênticos e lóticos. As diferenças nas assinaturas isotópicas são explicadas tendo em consideração um conjunto complexo de fatores que podem em última instância interagir entre eles. E, cada ecossistema amostrado tem uma assinatura particular o que possibilita, com base nestes dados, discriminar a origem das populações de bivalves. Estes resultados podem ter assim diversas implicações: (1) não se deve supor que todas as espécies de bivalves de água doce possuem mecanismos semelhantes de filtração e de comportamento e (2) a mesma espécie pode utilizar diferentes fontes de MO em diferentes ecossistemas sujeitos a condições abióticas distintas. Além disso, estes resultados podem acarretar importantes implicações de gestão, conservação e restauração de ecossistemas, particularmente atividades que envolvam propagação ou translocações de organismos. Na verdade, para que organismos translocados se possam estabelecer com sucesso num novo local, as condições ambientais fornecidas a longo prazo precisam ser adequadas. Segundo Vaughn *et al.* (2008), essas condições ambientais vão desde fontes de MO apropriadas até interações entre espécies passando por condições abióticas apropriadas. O insucesso que ocorre muitas vezes em esforços de propagação e de translocação pode ser assim explicado pelas diferenças existentes nas assinaturas isotópicas dos bivalves de local para local, que como foi mencionado podem ser influenciadas por um conjunto de fatores que vão desde aspetos intrínsecos de seletividade até às características abióticas de cada local. Assim, uma mudança radical nas características abióticas como, por exemplo, nos componentes das assembleias microbianas, FP, sedimento ou mesmo na velocidade da corrente durante um processo de propagação ou translocação pode comprometer a adaptação dos organismos ao novo local. Por exemplo, Englund & Heino (1996) realizaram uma translocação recíproca entre as populações lênticas e lóticas de *A. anatina*, em que o movimento das valvas foi monitorizado como um indicador da filtração. Estes autores

verificaram que em condições lênticas esta espécie tem um padrão diurno no movimento das valvas, mas em condições lólicas estes movimentos são mais variáveis. Estes resultados parecem indicar que tanto o fluxo variável como a disponibilidade de recursos podem influenciar significativamente o processo de filtração. Desta forma, ações de propagação e de translocação terão potencialmente maior sucesso, quando efetuados em locais com características adequadas, possibilitando a análise de isótopos estáveis uma ferramenta poderosa para avaliar o grau de sucesso ou insucesso destas ações.

No que concerne aos resultados referentes ao modelo do rio Minho, esta ferramenta possibilitou compreender que os indivíduos pertencentes às espécies *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus* são fundamentalmente filtradores e que indivíduos pertencentes a *P. amnicum* dependem também de partículas associadas ao sedimento. Além disso, *C. fluminea*, *A. anatina*, *P. littoralis* e *U. delphinus* alimentam-se de fontes de MO semelhantes o que pode implicar que estas espécies estejam a competir pelo mesmo tipo de recursos. Tendo em consideração que os indivíduos da espécie *C. fluminea* têm um ciclo de vida mais oportunista (tempo de vida curto, maturidade sexual precoce, crescimento rápido e alta fecundidade) que os das restantes espécies, a espécie invasora poderá estar em vantagem competitiva. Tal pressuposto é suportado pelos dados de densidade e biomassa existentes no rio Minho referentes a estas espécies, que mostram que desde a invasão de *C. fluminea* esta espécie sofreu uma expansão massiva tornando-se no maior componente da fauna bentónica (embora sofrendo recorrentes oscilações na densidade ao longo dos anos) e as espécies de bivalves nativas sofreram uma redução considerável na sua distribuição espacial e densidade. Logicamente, outros fatores podem também estar na base deste declínio, mas este estudo abre portas para a importância da competição pelas mesmas fontes de MO como um mecanismo importante para explicar estas possíveis mudanças. Por conseguinte, novos estudos deverão explorar esta hipótese utilizando não só esta ferramenta mas outras que possam estimar a possível importância da competição. Tais estudos serão de extrema importância, tendo em conta que os bivalves de água doce são um dos grupos faunísticos mais ameaçados do planeta e a interação entre espécies nativas e invasoras é um dos possíveis fatores responsáveis por estes declínios. Muitas destas interações entre espécies nativas vs. invasoras permanecem altamente especulativas (particularmente as interações tróficas) e estudos como os realizados nesta tese são necessários para aumentar o conhecimento sobre o assunto bem como para aumentar o

leque de possíveis soluções para mitigar os problemas gerados pela introdução de *C. fluminea* em ecossistemas aquáticos.





## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allendorf FW, Lundquist LL (2003) Introduction: population, biology, evolution, and control of invasive species. *Conservation Biology* 17: 24-30.
- Alves AM (1996) Causas e processos da dinâmica sedimentar na evolução actual do litoral do Alto Minho. Tese de doutoramento, Universidade do Minho, Portugal.
- Anderson MJ (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26: 32-46.
- Anderson MJ (2005) PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance. Department of Statistics, University of Auckland, New Zealand.
- Antunes C, Araújo MJ, Braga C, Roleira A, Carvalho R, Mota M (2011) Valorização dos recursos naturais da bacia hidrográfica do rio Minho. Relatório final de projeto Natura Miño-Minho, Centro interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Portugal.
- Araujo R, Moreno D, Ramos MA (1993) The asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *American Malacological Bulletin* 10: 39-49.
- Atkinson CL, Golladay SW, Opsahl SP, Covich AP (2009) Stream discharge and floodplain connections affect seston quality and stable isotopic signatures in a coastal plain stream. *Journal of the North American Benthological Society* 28: 360-370.
- Atkinson CL, Opsahl SP, Covich AP, Golladay SW, Conner LM (2010) Stable isotopic signatures, tissue stoichiometry, and nutrient cycling (C and N) of native and invasive freshwater bivalves. *Journal of the North American Benthological Society* 29: 496-505.
- Bartz KK, Naiman RJ (2005) Effects of Salmon-Born Nutrients on Riparian Soils and Vegetation in Southwest Alaska. *Ecosystems* 8: 529-545.
- Bastviken DTE, Caraco NF, Cole JJ (1998) Experimental measurements of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) impacts on phytoplankton community composition. *Freshwater Biology* 39: 375-386.
- Bearhop S, Adams CE, Waldron S, Fuller RA, Macleod H (2004) Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* 73: 1007-1012.
- Bilby RE, Beach EW, Fransen BR, Walter JK (2003) Transfer of Nutrients from Spawning Salmon to Riparian Vegetation in Western Washington. *American Fisheries Society* 132: 733-745.
- Boltovskoy D, Izaguirre I, Correa N (1995) Feeding selectivity of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) on natural phytoplankton. *Hydrobiologia* 312: 171-182.
- Burkhardt S, Riebesell U, Zondervan I (1999) Effects of growth rate, CO<sub>2</sub> concentration, and cell size on the stable isotope fractionation in marine phytoplankton. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63: 3729-3741.
- Cabana G, Rasmussen JB (1996) Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 93: 10844-10847.
- Calder JA, Parker PL (1973) Geochemical implications of induced changes in <sup>13</sup>C fractionation by blue-green algae. *Geochim. Cosmochim. Acta* 37:133-140.

- Capone DG, Slater JM (1990) Interannual patterns of water table height and groundwater derived nitrate in nearshore sediments. *Biogeochemistry* 10: 277-288.
- Carvalho MC, Hayashizaki K, Ogawa H (2008) Sulfur stable isotopes indicate the source of sinking materials in a coastal bay: Otsuchi Bay, Sanriku, Japan. *Journal of Oceanography* 64: 705-712.
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2009) Variation in discrimination factors (Delta N-15 and Delta C-13): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology* 46: 443-453.
- Christian AD, Smith BN, Berg DJ, Smoot JC, Findlay RH (2004) Trophic position and potential food sources of 2 species of unionid bivalves (Mollusca: Unionidae) in 2 small Ohio streams. *Journal of the North American Benthological Society* 23: 101-113.
- Church TM, Sommerfield CK, Velinsky DJ, Point D, Benoit C, Amouroux D, Plaa D, Donard OFX (2006) Marsh sediments as records of sedimentation, eutrophication and metal pollution in the urban Delaware Estuary. *Marine Chemistry* 102: 72-95.
- Clark I, Fritz P (1997) Environmental Isotopes in Hydrogeology. *CRC Press*, New York.
- Clavero M, Araújo R, Calzada J, Delibes M, Fernández N, Gutiérrez-Expósito C, Revilla E, Román J (2012) The first invasive bivalve in African freshwaters: invasion portrait and management options. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 22: 277-280.
- Cline JD, Kaplan IR (1975) Isotopic fractionation of dissolved nitrate during denitrification in the eastern tropical North Pacific Ocean. *Marine Chemistry* 38: 453-477.
- Cloern JE, Canuel EA, Harris D (2002) Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. *American Society of Limnology and Oceanography* 47: 713-729.
- Cohen RRH, Dresler PV, Phillips EJP, Cory RL (1984) The effect of the Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, on phytoplankton on the Potomac River, Maryland. *American Society of Limnology and Oceanography* 29: 170-180.
- Cohen AN, Carlton JT (1998) Accelerating invasion rate in a highly invaded estuary. *Science* 279: 555-558.
- Coimbra J, Antunes JC, Damasceno-Oliveira A, Dias S (2005) INDICANG: Relatório de Etapa – Bacia Hidrográfica do Minho, CIIMAR, Portugal.
- Cole ML, Valiela I, Kroeger KD, Tomasky GL, Cebrian J, Wigand C, McKinney RA, Grady SP, Carvalho da Silva MH (2004) Assessment of a  $\delta^{15}\text{N}$  Isotopic Method to Indicate Anthropogenic Eutrophication in Aquatic Ecosystems. *Journal of Environmental Quality* 33: 124-132.
- Cole ML, Kroeger KD, McClelland, Valiela I (2006) Effects of watershed land use on nitrogen concentrations and  $\delta^{15}\text{N}$  Nitrogen in groundwater. *Biogeochemistry* 77: 199-215.
- Correa C, Bravo AP, Hendry AP (2012) Reciprocal trophic niche shifts in native and invasive fish: salmonids and galaxiids in Patagonian lakes. *Freshwater Biology* 57: 1769-1781.
- Cox GW (ed) (2004) Alien Species and Evolution: the evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes, and interacting native species. Island Press, Washington, 377.

- Cruz TMR (2011) Censo de Aves Aquáticas em Mira e Nidificação de *Anas platyrhynchos*. Dissertação apresentada ao Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro para obtenção do grau de Mestre em Biologia Aplicada, Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro, Portugal.
- Chucherousset J, Boulêtreau S, Azémar F, Compin A, Guillaume M, et al. (2012) “Freshwater Killer Whales”: Beaching Behavior of an Alien Fish to Hunt Land Birds. *PLoS ONE* 7(12): e50840. doi:10.1371/journal.pone.0050840.
- Dame RF (ed) (1996) *Ecology of Marine Bivalves: An Ecosystem Approach*. CRC Press, New York.
- Dawson TE, Mambelli S, Plamboeck AH, Templer PH, Tu KP (2002) Stable Isotopes in Plant Ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 507-559.
- Degens ET, Guillard RRL, Sackett WM, Hellebust JA (1968) Metabolic fractionation of carbon isotopes in marine plankton, part I: temperature and respiratory experiments. *Deep Sea Research* 15: 1-9.
- DeNiro MJ, Epstein S (1977) Mechanism of carbon isotope fractionation associated with lipid synthesis. *Science* 197: 261–263.
- Dias E, Morais P, Antunes C, Hoffman JC (in press) Linking terrestrial and benthic estuarine ecosystems: organic matter sources supporting the high secondary production of a non-indigenous bivalve. *Biological Invasions*.
- Doucett RR, Power G, Barton DR, Drimmie RJ, Cunjak RA (1996) Stable isotope analysis of nutrient pathways leading to Atlantic salmon. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 2058-2066.
- Ehrenfeld JG (2011) Ecosystem consequences of biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41: 59–80.
- EIONET (2012) Disponível em: [http://bd.eionet.europa.eu/activities/Natura\\_2000](http://bd.eionet.europa.eu/activities/Natura_2000). Acedido em 15 de Maio de 2013.
- Englund VPM, Heino MP (1996) Valve movement of the freshwater mussel *Anodonta anatina*: a reciprocal transplant experiment between lake and river. *Hydrobiologia* 328: 49-56.
- Estep MLF (1984) Carbon and hydrogen isotopic compositions of algae and bacteria from hydrothermal environments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48: 59-599.
- Evans RD (2001) Physiological mechanisms influencing plant nitrogen isotope composition. *Trends in Plant Science* 6:121-26.
- Ferreira JG, Simas T, Nobre A, Silva MC, Schifferegger K, Lencart-Silva J (2003) Identification of sensitive areas and vulnerable zones in transitional and coastal Portuguese systems. Application of the United States National Estuarine Eutrophication Assessment to the Minho, Lima, Douro, Ria de Aveiro, Mondego, Tagus, Sado, Mira, Ria Formosa and Guadiana systems, INAG/IMAR Technical Report.
- Ferreiro N (2007) Caracterização da qualidade ecológica do rio Tua. Dissertação submetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para a obtenção do grau de Mestre em Hidrobiologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal.
- Finlay JC (2001) Stable carbon isotope ratios of river biota: implications for energy flow in lotic food webs. *Ecology* 82:1052-1064.
- Finlay JC, Power ME, Cabana G (1999) Effects of water velocity on algal carbon isotope ratios: Implications for river food web studies. *American Society of Limnology and Oceanography* 44: 1198-1203.

- Flaherty EA, Ben-David M (2010) Overlap and partitioning of the ecological and isotopic niches. *Oikos* 119: 1409-1416.
- Fogel ML, Cifuentes LA, Velinsky DJ, Sharp JH (1992) Carbon limitation during photosynthesis by estuarine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 82: 291-300.
- France RL (1995) Carbon-13 enrichment in benthic compared to planktonic algae: foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series* 124: 307-312.
- Fry B, Sherr EB (1984)  $\delta^{13}\text{C}$  measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. *Contribution in Marine Science* 27: 13-47.
- Garcia CMT (2001) Isolamento, cultura e avaliação de toxicidade de estirpes de cianobactérias da Lagoa de Mira. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para obtenção do grau de Mestre em Hidrobiologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal.
- Goldschmidt T, Witte F, Wanink J (1993) Cascading effects of the introduced Nile Perch on the detritivorous/phytoplanktivorous species in the sub-littoral areas of Lake Victoria. *Conservation Biology* 7: 686-700.
- Grosholz E (2002) Ecological and evolutionary consequences of coastal invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 22-27.
- Hagerthey SE, Kerfoot WC (1998) Groundwater flow influences the biomass and nutrient ratios of epibenthic algae in a north temperate seepage lake. *American Society of Limnology and Oceanography* 43: 1227-1242.
- Hakenkamp CC, Palmer MA (1999) Introduced bivalves in freshwater ecosystems: the impact of *Corbicula* on organic matter dynamics in a sandy stream. *Oecologia* 119: 445-451.
- Handley LL, Scrimgeour CM (1997) Terrestrial plant ecology and  $^{15}\text{N}$  natural abundance: The present limits to interpretation for uncultivated systems with original data from a Scottish old field. *Advances in Ecological Research* 27:133-212.
- Heaton THE (1986) Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: a review. *Chemical Geology* 59: 87-102.
- Hesslein RH, Hallard KA, Ramlal P (1993) Replacement of sulfur, carbon, and nitrogen, in tissue of growing broad whitefish (*Coregonus nasus*) in response to a change in diet traced by  $^{34}\text{S}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{15}\text{N}$ . *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50: 2071-2076.
- Hobson KA, Ambrose WG, Renaud PE (1995) Sources of primary production, benthic-pelagic coupling, and trophic relationships within the Water Polynya: insights from  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis. *Marine Ecology Progress Series* 128: 1-10.
- Hobson KA, Schell D, Renouf D, Noseworthy E (1996) Stable-carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 53: 528-533.
- Hoffman JC, Bronk DA, Olney JE (2008) Organic matter sources supporting lower food web production in the tidal freshwater portion of the York river estuary, Virginia. *Estuaries and Coast* 31: 898-911.
- Hoffman JC, Sutton TT (2010) Lipid correction for carbon stable isotope analysis of deep-sea fishes. *Deep-Sea Research* 57: 956-964.

- Holeck KT, Mills EL, Maclsaac HJ, Dochoda MR, Colautti RI, Ricciardi A (2004) Bridging troubled waters: biological invasions, transoceanic shipping, and the Laurentian Great Lakes. *BioScience* 54: 919-929.
- Howard JK, Cuffey KM, Solomon M (2005) Toward using *Margaritifera falcata* as an indicator of base level nitrogen and carbon isotope ratios: insights from two California Coast Range rivers. *Hydrobiologia* 541: 229-236.
- IDAD – Instituto do Ambiente e Desenvolvimento (2002) Captação no rio Paiva e Adução até à ETA de Lever: Estudo de Impacte Ambiental, Volume VI - Resumo Não Técnico.
- Ilarri M, Antunes C, Guilhermino L, Sousa R (2011) Massive mortality of the Asian clam *Corbicula fluminea* in a highly invaded area. *Biological Invasions* 13: 277-280.
- Ilarri M, Sousa R (2012) *Corbicula fluminea* Müller (Asian Clam). Em: Francis RA (ed), A Handbook of Global Freshwater Invasive Species, 1ª ed, Earthscan, London · New York, 173-183.
- Ituarte CF (1994) *Corbicula* and *Neocorbicula* (Bivalvia: Corbiculidae) in the Paraná, Uruguay, and Río de la Plata Basins. *Nautilus* 107: 129-135.
- Jones CG, Lawton JH, Shachaak M (1994) Organisms as ecosystem engineers. *Oikos* 69: 373-386.
- Jones CG, Lawton JH, Shachaak M (1997) Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. *Ecology* 78: 1946-1957.
- Kaufman L (1992) Catastrophic change in species-rich freshwater ecosystems: the lessons of Lake Victoria. *Bioscience* 42: 846-858.
- Keeley JE, Sandquist DR (1992) Carbon: Freshwater plants. *Plant, Cell & Environment* 15: 1021-1035.
- Kendall C (1998) Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. Em: Kendall C, McDonnell JJ (Eds.) Isotope Tracers in Catchment Hydrology. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands (Capítulo 16).
- Kling GW, Fry B, O'Brien WJ (1992) Stable isotopes and planktonic trophic structure in arctic lakes. *Ecology* 73:561-566.
- LaBaugh JW, Rosenberry DO, Winter TC (1995) Groundwater contribution to the water and chemical budgets of Williams Lake, Minnesota, 1980-1991. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52: 754-767.
- Lajtha K, Marshall JD (1994) Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. Em: Lajtha K, Michener RH (Eds.) Stable isotopes in ecology and environmental science. Oxford: Blackwell Scientific Publications (Capítulo 1).
- Layman CA, Quattrochi JP, Peyer CM, Allgeier JE (2007) Niche width collapse in a resilient top predator following ecosystem fragmentation. *Ecology Letters* 10: 937-944.
- Layman CA, Araujo MS, Boucek R, Hammerschlag-Peyer CM, Harrison E, Jud ZR, Matich P, Rosenblatt AE, Vaudo JJ, Yeager LA, Post DM, Bearhop S (2012) Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews* 87: 545-562.
- Lehmann MF, Bernasconi SM, Barbieri A, McKenzie JA (2002) Preservation of organic matter and alteration of its carbon and nitrogen isotope composition during simulated and in situ early sedimentary diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66: 3573–3584.

- Lei J, Payne BS, Wang SY (1996) Filtration dynamics of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 29-37.
- Lopez GR, Holopainen IJ (1987) Interstitial suspension-feeding by *Pisidium* spp. (Pisidiidae: Bivalvia): a new guild in the lentic benthos?. *American Malacological Bulletin* 5: 21-30.
- MacIsaac HJ, Lonner CJ, Leach JH (1995) Suppression of microzooplankton by zebra mussels – importance of mussel size. *Freshwater Biology* 34: 379-387.
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M, Bazzaz FA (2000) Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10: 689-710.
- Macleod NA, Barton DR (1998) Effects of light intensity, water velocity, and species composition on carbon and nitrogen stable isotope ratios in periphyton. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55: 1919-1925.
- Martinez del Rio C, Wolf N, Carleton SA, Gannes LZ (2009) Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews* 84: 91-111.
- McArdle BH, Anderson MJ (2001) Fitting multivariate models to community data: a comment on distancebased redundancy analysis. *Ecology* 82: 290-297.
- McMahon RF (1991) Mollusca: bivalvia. Em: Thorp JH, Covich AP (eds) *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, Academic Press, New York, 315-390.
- McMahon RF (2000) Invasive characteristics of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. Em: Claudi R & Leach J (eds), *Nonindigenous Freshwater Organisms: Vectors, Biology and Impacts*. Lewis Publishers, Boca Raton, 315-343.
- McMahon RF (2002) Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: selection versus resistance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1235-1244.
- McNeely C, Clinton SM, Erbe JM (2006) Landscape variation in C sources of scraping primary consumers in streams. *Journal of the North American Benthological Society* 25: 787-799.
- Mook WG, Tan FC (1991) Stable carbon isotopes in rivers and estuaries. Em: Degens ET, Kempe S, Richey JE (Eds.) *Biogeochemistry of Major World Rivers*. Wiley, New York, 245-264.
- Moore JW, Semmens BX (2008) Incorporating uncertainty and prior information into stable isotope mixing models. *Ecology Letters* 11: 470-480.
- Mouthon J (1981) Sur la présence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidae) originaire d'Asie. *Basteria* 45: 109-116.
- Moyle PB, Light T (1996) Biological invasions of freshwater: empirical rules and assembly theory. *Biological Conservation* 78: 149-161.
- Naddafi R, Pettersson K, Eklöv P (2007) Seasonal variation in selective feeding by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on phytoplankton community composition. *Freshwater Biology* doi:10.1111/j.1365-2427.2007.01732.x
- Nalepa TF, Schloesser DW (1993) *Zebra Mussels: Biology, Impacts and Control*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.

- Nichols S, Garling D (2000) Food-web dynamics and trophic-level interactions in a multispecies community of freshwater unionids. *Canadian Journal of Zoology* 78: 871–882.
- Nichols SJ, Silverman H, Dietz TH, Lynn JW, Garling DL (2005) Pathways of food uptake in native (Unionidae) and introduced (Corbiculidae and Dreissenidae) freshwater bivalves. *Journal of Great Lakes Research* 31: 87-96.
- O'Leary MH (1988) Carbon isotopes in photosynthesis. *BioScience* 38: 328-336.
- Olden JD (2006) Biotic homogenization: a new research agenda for conservation biogeography. *Journal of Bio-geography* 33: 2027-2039.
- Oliveira D, Fernandes A, Rapazote J, Teixeira L, Brioso R, Valente C, Teixeira F, Medeiros M, Cortes R (2004) A Utilização do “*River Habitat Survey*” na Gestão Ambiental de Ecossistemas Fluviais. Potencialidades e Limitações. Associação Portuguesa de Recursos Hídricos – 7º Congresso da água.
- Páez-Rosas D, Auriolles-Gamboa D, Alava JJ, Palacios DM (2012) Stable isotopes indicate differing foraging strategies in two sympatric otariids of the Galapagos Islands. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 424-425: 44-52.
- Pardue JP, Scalan RS, Baalen CV, Parker PL (1976) Maximum carbon isotope fractionation in photosynthesis by blue-green algae and a green algae. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 40: 309-312.
- Pasquaud S, Lobry J, Elie P (2007) Facing the necessity of describing estuarine ecosystems: a review of food web ecology study techniques. *Hydrobiologia* 588: 159-172.
- Payne BS, Lei J, Miller AC, Hubertz ED (1995) Adaptive variation in palp and gill size of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and Asian clam (*Corbicula fluminea*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52: 1130-1134.
- Pennock JR, Velinsky DJ, Ludlam JL, Sharp JH, Fogel ML (1996) Isotopic fractionation of nitrogen during the uptake of ammonium and nitrate by *Skeletonema costatum*. *American Society of Limnology and Oceanography* 41: 451-459.
- Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 293-320.
- Peterson BJ, Fry B, Deegan L, Hershey A (1993) The trophic significance of epilithic algal production in a fertilized tundra river ecosystem. *American Society of Limnology and Oceanography* 38: 872-878.
- Peterson BJ (1999) Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: A review. *Acta Oecologica* 20: 479-487.
- Phelps HL (1994) The Asian clam (*Corbicula fluminea*) invasion and system-level ecological change in the Potomac River estuaries near Washington, DC. *Estuaries* 17: 614-621.
- Phillips DL, Gregg JW (2003) Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* 136: 261-269.
- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrisson D (2000) Environmental and economic costs of nonindigenous species in the United States. *BioScience* 50: 53-65.
- Post DM, Pace ML, Hairston NGJ (2000) Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature* 405: 1047-1049.



- Post DM (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703-718.
- Raikow DF, Hamilton SK (2001) Bivalves diets in a midwestern U.S. stream: A stable isotope enrichment study. *American Society of Limnology and Oceanography* 46: 514-522.
- Rau GH, Takahashi T, DeMarais DJ (1989) Latitudinal variations in plankton  $\delta^{13}\text{C}$ : implications for  $\text{CO}_2$  and productivity in past oceans. *Nature* 341: 516-518.
- Raven JA, Johnston AM, Newman JR, Scrimgeour CM (1994) Inorganic carbon acquisition by aquatic photolithotrophs of Dighty Burn, Angus, UK: uses and limitations of natural abundance measurements of carbon isotopes. *New Phytologist* 127: 271-286.
- Reid RGB, McMahon RF, Foighil DO, Finnigan R (1992) Anterior inhalant currents and pedal feeding in bivalves. *Veliger* 35: 93-104.
- Ricciardi A, Rasmussen JB (1999) Extinction rates of North American freshwater fauna. *Conservation Biology* 13: 1220-1222.
- Ricciardi A, Maclsaac HJ (2000) Recent mass invasion of the North American Great Lakes by Ponto-Caspian species. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 62-65.
- Ricciardi A (2003) Predicting the impacts of an introduced species from its invasion history: an empirical approach applied to zebra mussel invasions. *Freshwater Biology* 48: 972-981.
- Robinson D (2001)  $\delta^{15}\text{N}$  as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology & Evolution* 16:153-62.
- Rounick JS, James MR (1984) Geothermal and cold springs faunas: Inorganic carbon sources affect isotopic values. *American Society of Limnology and Oceanography* 29: 386-389.
- Sachs JP, Repta DJ (1999) Oligotrophy and nitrogen fixation during eastern Mediterranean sapropel events. *Science* 286: 2485-2488.
- Sackett WM, Echelmann WR, Bender ML, Be AWH (1964) Temperature dependence of carbon isotope composition in marine plankton and sediments. *Science* 148: 235-237.
- Schelske CL, Hodell DA (1991) Recent changes in productivity and climate of Lake Ontario detected by isotopic analysis of sediments. *American Society of Limnology and Oceanography* 36: 961-975.
- Schelske CL, Hodell DA (1995) Using carbon isotopes of bulk sedimentary organic matter to reconstruct the history of nutrient loading and eutrophication in Lake Erie. *American Society of Limnology and Oceanography* 40: 918-929.
- Semmens BX, Ward EJ, Moore JW, Darimont CT (2009) Quantifying inter- and intra-population niche variability using hierarchical Bayesian stable isotope mixing models. *Plos One* 4, e6187.
- Silva L (2010) Avaliação da Qualidade Ecológica de Sistemas Lóticos da Bacia Hidrográfica do Rio Sabor (Bacia do Douro). Dissertação apresentada à Escola Agrária de Bragança para obtenção do grau de Mestre em Gestão de Recursos Florestais, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Portugal.
- Silverman H, Archberger EE, Lynn JW, Dietz TH (1995) Filtration and utilization of laboratory-cultured bacteria by *Dreissena polymorpha*, *Corbicula fluminea* and *Carunculina texasensis*. *Biological Bulletin* 189: 308-319.

- Silverman H, Nichols SJ, Cherry JS, Achberger E, Lynn JW, Dietz TH (1997) Clearance of laboratory-cultured bacteria by freshwater bivalves: differences between lentic and lotic unionids. *Canadian Journal of Zoology* 75:1857-1866.
- Simberloff D, Martin J-L, Genovesi P, Maris V, Wardle DA, Aronson J, Courchamp F, Galil B, García-Berthou E, Pascal M, Pyšek P, Sousa R, Tabacchi E, Vilà M (2013) Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in Ecology & Evolution* 28: 58-66.
- Simon KS, Townsend CR (2003) Impacts of freshwater invaders at different levels of ecological organisation, with emphasis on salmonids and ecosystem consequences. *Freshwater Biology* 48: 982-994.
- Sousa R, Guilhermino L, Antunes C (2005) Molluscan fauna in the freshwater tidal area of the River Minho estuary, NW of Iberian Peninsula. *Annales de Limnologie – International Journal of Limnology* 41: 141-147.
- Sousa R, Antunes C, Guilhermino L (2007) Species composition and monthly variation of the Molluscan fauna in the freshwater subtidal area of the River Minho estuary. *Estuarine Coastal Shelf Science* 75: 90-100.
- Sousa R, Antunes C, Guilhermino L (2008) Ecology of the invasive Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in aquatic ecosystems: an overview. *Annales de Limnologie – International Journal Limnology* 44: 85-94.
- Sousa R, Rufino M, Gaspar M, Antunes C, Guilhermino L (2008a) Abiotic impacts on spatial and temporal distribution of *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the River Minho Estuary, Portugal. *Aquatic Conservation: Marine Freshwater Ecosystems* 18: 98-110.
- Sousa R, Dias S, Freitas V, Antunes C (2008b) Subtidal macrozoobenthic assemblages along the River Minho estuarine gradient (northwest Iberian Peninsula). *Aquatic Conservation: Marine Freshwater Ecosystems* 18: 1063-1077.
- Sousa R, Dias SC, Guilhermino L, Antunes C (2008c) Minho River tidal freshwater wetlands: treats to faunal biodiversity. *Aquatic Biology* 3: 237-250.
- Sousa R, Nogueira AJA, Antunes C, Guilhermino L (2008d) Growth and production of *Pisidium amnicum* in the freshwater tidal area of the River Minho estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 79: 467-474.
- Sousa R, Nogueira AJA, Gaspar M, Antunes C, Guilhermino L (2008e) Growth and extremely high production of the non-indigenous invasive species *Corbicula fluminea* (Müller, 1774): possible implications for ecosystem functioning. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 80: 289-295.
- Sousa R, Guitiérrez JL, Alldridge DC (2009) Non-indigenous invasive bivalves as ecosystem engineers. *Biological Invasions* 11: 2367-2385.
- Sousa R, Morais P, Dias E, Antunes C (2011) Biological invasions and ecosystem functioning: time to merge. *Biological Invasions* 13: 1055-1058.
- Sousa R, Varandas S, Cortes R, Teixeira A, Lopes-Lima M, Machado J, Guilhermino L (2012) Massive die-offs of freshwater bivalves as resource pulses. *Annales de Limnologie – International Journal Limnology* 48: 105-112.

- Sousa R, Novais A, Costa R, Strayer DL (in press a) Invasive bivalves in fresh waters: impacts from individuals to ecosystems and possible control strategies. *Hydrobiologia* DOI 10.1007/s10750-012-1409-1.
- Sousa R, Amorim A, Sobral C, Froufe E, Varandas S, Teixeira A, Lopes-Lima M (in press b) Ecological status of a *Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758) population at the southern edge of its distribution (River Paiva, Portugal). *Environmental Management*.
- Spencer CN, McLelland BR, Stanford JA (1991) Shrimp stocking, salmon collapse, and eagle displacement: cascading interactions in the food web of a large aquatic ecosystem. *Bioscience* 41: 14-21.
- Strayer DL, Caraco NF, Cole JJ, Findlay S, Pace ML (1999) Transformation of freshwater ecosystems by bivalves: a case study of zebra mussels in the Hudson River. *BioScience* 49: 19-27.
- Strayer DL (2010) Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology* 55: 152-174.
- Tanaka Y, Miyajima T, Yamada K, Hori M, Hasegawa N, Umezawa Y, Koik I (2008) Specific growth rate as a determinant of the carbon isotope composition of the temperate seagrass *Zostera marina*. *Aquatic Botany* 89: 331-336.
- Thorp JH, DeLong MD, Greenwood KS, Casper AF (1998) Isotopic analysis of three food web theories in constricted and floodplain regions of a large river. *Oecologia* 117: 551-563.
- Trudeau V, Rasmussen JB (2003) The effect of water velocity on stable carbon and nitrogen isotope signatures of periphyton. *American Society of Limnology and Oceanography* 48: 2194-2199.
- Valiela I, Costa J, Foreman K, Teal JM, Howes BL, Aubrey D (1990) Transport of groundwater-borne nutrients from watersheds and their effects on coastal waters. *Biogeochemistry* 10: 177-197.
- Vander Zanden MJ, Cabana G, Rasmussen JB (1997) Comparing trophic position of freshwater littoral fish species using stable nitrogen isotopes ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54:1142-1158.
- Vander Zanden MJ, Rasmussen JB (1999) Primary consumer  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology* 80: 1395-1404.
- Vander Zanden MJ, Rasmussen, JB (2001) Variation in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *American Society of Limnology and Oceanography* 46: 2061-2066.
- Vannote RL, Minshall GW, Cummins KW, Sedell JR, Cushing CE (1980) The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 130-137.
- Vaughn CC, Hakenkamp CC (2001) The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology* 46: 1431-1446.
- Vaughn CC, Nichols SJ, Spooner DE (2008) Community and foodweb ecology of freshwater mussels. *The North American Benthological Society* 27:409-423.
- Verburg P (2007) The need to correct for the Suess effect in the application of  $\delta^{13}\text{C}$  in sediment of autotrophic Lake Tanganyika, as a productivity proxy in the Anthropocene. *Journal of Paleolimnology* 37: 591-602.

- Vogel JC (1980) Fractionation of carbon isotopes during photosynthesis. *Stizungsber. Heidelb. Akad. Wiss. Math.-Naturwiss.* 3: 11-135.
- Wada E (1980) Ed: Goldberg E, Horibe Y, Saruhaski K (Eds.) Nitrogen Isotope Fractionation and its Significance in Biogeochemical Processes Occurring in Marine Environments. Uchida Rokakuho, Isotope Marine Chemistry, Japan, 375-398.
- Wainright S, Fuller C, Michener R, Richards A (1996) Spatial variation of trophic position and growth rate of juvenile striped bass (*Morone saxatilis*) in the Delaware River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 685-692.
- Way CM (1989) Dynamics of filter feeding in *Musculium transversum* (Bivalvia: Sphaeriidae). *Journal of the North American Benthological Society* 8: 243-249.
- Way CM, Hornbach DJ, Miller-Way CA, Payne BS, Miller AC (1990) Dynamics of filter feeding in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae). *Canadian Journal of Zoology* 68: 115-120.
- Wefer G, Killingley JS (1986) Carbon isotopes in organic matter from a benthic alga *Halimeda incrassata* (Bermuda): effects of light intensity. *Chemical Geology* 59: 321-326.
- Yeager MM, Cherry DS, Neves RJ (1994) Feeding and burrowing behaviors of juvenile rainbow mussels *Villosa iris* (Bivalvia: Unionidae). *Journal of the North American Benthological Society* 13: 217-222.
- Zanden MJV, Rasmussen JB (1999) Primary consumer  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  and trophic position of aquatic consumers. *Ecology* 80: 1395-1404.



# ANEXOS



**Tabela 1.** Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , em partes por mil (‰), entre as diversas espécies nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados.

	T	Valor-p
<b>Lagoa de Mira</b>		
<i>A. cygnea</i> vs <i>C. fluminea</i>	5.071	0.0003
<i>A. cygnea</i> vs <i>U. delphinus</i>	1.821	0.0845
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	4.100	0.0027
<b>Rio Minho</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	3.868	0.0009
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	5.228	0.0002
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. amnicum</i>	17.928	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	2.961	0.0073
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	7.942	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. amnicum</i>	20.325	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	0.528	0.6016
<i>A. anatina</i> vs <i>P. amnicum</i>	11.082	0.0001
<i>A. anatina</i> vs <i>P. littoralis</i>	7.156	0.0001
<i>P. amnicum</i> vs <i>P. littoralis</i>	19.007	0.0001
<b>Rio Paiva</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	2.795	0.0097
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	2.524	0.0189
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	1.744	0.1078
<b>Rio Sabor</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	3.320	0.0052
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	4.916	0.0003
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	1.222	0.2365
<b>Rio Tâmega</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	6.645	0.0001
<b>Rio Tua</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	8.378	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	6.081	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	5.310	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	3.461	0.0026
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	4.910	0.0004
<i>A. anatina</i> vs <i>P. littoralis</i>	1.327	0.1957



**Tabela 2.** Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , em partes por mil (‰), entre as diversas espécies nos diferentes ecossistemas aquáticos amostrados.

	T	Valor-p
<b>Lagoa de Mira</b>		
<i>A. cygnea</i> vs <i>C. fluminea</i>	5.740	0.0001
<i>A. cygnea</i> vs <i>U. delphinus</i>	4.975	0.0004
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	0.399	0.6835
<b>Rio Minho</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	1.554	0.1352
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	4.278	0.0003
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. amnicum</i>	12.199	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	8.153	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	5.190	0.0002
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. amnicum</i>	11.074	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	5.577	0.0002
<i>A. anatina</i> vs <i>P. amnicum</i>	13.695	0.0001
<i>A. anatina</i> vs <i>P. littoralis</i>	11.346	0.0001
<i>P. amnicum</i> vs <i>P. littoralis</i>	8.733	0.0001
<b>Rio Paiva</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	8.943	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	2.321	0.0286
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	3.820	0.0024
<b>Rio Sabor</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	7.466	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	5.388	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	3.838	0.0013
<b>Rio Tâmega</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	17.414	0.0001
<b>Rio Tua</b>		
<i>C. fluminea</i> vs <i>U. delphinus</i>	14.859	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>A. anatina</i>	16.915	0.0001
<i>C. fluminea</i> vs <i>P. littoralis</i>	12.318	0.0001
<i>U. delphinus</i> vs <i>A. anatina</i>	1.3486	0.1909
<i>U. delphinus</i> vs <i>P. littoralis</i>	6.664	0.0001
<i>A. anatina</i> vs <i>P. littoralis</i>	8.704	0.0001

**Tabela 3.** Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , em partes por mil (‰), de cada espécie entre os diferentes ecossistemas aquáticos amostrados.

	T	Valor-p
<i>Corbicula fluminea</i>		
Lagoa Mira vs Afluente Mira	47.414	0.0002
Lagoa Mira vs Rio Minho	57.865	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Paiva	55.796	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Sabor	65.498	0.0002
Lagoa Mira vs Rio Tâmega	31.502	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Tua	29.291	0.0001
Afluente Mira vs Rio Minho	24.689	0.0001
Afluente Mira vs Rio Paiva	46.460	0.0001
Afluente Mira vs Rio Sabor	34.693	0.0001
Afluente Mira vs Rio Tâmega	2.161	0.0457
Afluente Mira vs Rio Tua	8.430	0.0001
Rio Minho vs Rio Paiva	30.740	0.0001
Rio Minho vs Rio Sabor	8.580	0.0001
Rio Minho vs Rio Tâmega	15.198	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	5.752	0.0001
Rio Paiva vs Rio Sabor	25.518	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tâmega	38.424	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	28.847	0.0002
Rio Sabor vs Rio Tâmega	21.997	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tua	11.146	0.0001
Rio Tâmega vs Rio Tua	5.775	0.0001
<i>Anodonta anatina</i>		
Rio Minho vs Rio Paiva	21.028	0.0001
Rio Minho vs Rio Tâmega	11.054	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	18.087	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tâmega	34.934	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	44.013	0.0001
Rio Tâmega vs Rio Tua	7.416	0.0001
<i>Potomida littoralis</i>		
Rio Minho vs Rio Sabor	15.588	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	13.176	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tua	32.193	0.0001

	T	Valor-p
<i>Unio delphinus</i>		
Lagoa Mira vs Rio Minho	23.137	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Paiva	16.749	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Sabor	29.080	0.0003
Lagoa Mira vs Rio Tua	14.949	0.0001
Rio Minho vs Rio Paiva	24.027	0.0001
Rio Minho vs Rio Sabor	15.353	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	18.521	0.0001
Rio Paiva vs Rio Sabor	13.559	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	31.315	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tua	32.112	0.0001

\*Continuação da Tabela 3.

**Tabela 4.** Valores de teste PERMANOVA referentes à comparação das assinaturas de isótopos estáveis usando valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , em partes por mil (‰), de cada espécie entre os diferentes ecossistemas aquáticos amostrados.

	T	Valor-p
<i>Corbicula fluminea</i>		
Lagoa Mira vs Afluente Mira	23.463	0.0003
Lagoa Mira vs Rio Minho	3.191	0.0069
Lagoa Mira vs Rio Paiva	86.245	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Sabor	12.942	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Tâmega	18.510	0.0002
Lagoa Mira vs Rio Tua	28.624	0.0001
Afluente Mira vs Rio Minho	24.873	0.0001
Afluente Mira vs Rio Paiva	69.945	0.0001
Afluente Mira vs Rio Sabor	1.296	0.2061
Afluente Mira vs Rio Tâmega	1.681	0.1036
Afluente Mira vs Rio Tua	13.861	0.0001
Rio Minho vs Rio Paiva	100.070	0.0001
Rio Minho vs Rio Sabor	15.085	0.0001
Rio Minho vs Rio Tâmega	21.333	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	34.321	0.0001
Rio Paiva vs Rio Sabor	48.947	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tâmega	54.525	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	42.961	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tâmega	2.434	0.0235
Rio Sabor vs Rio Tua	11.631	0.0001
Rio Tâmega vs Rio Tua	10.434	0.0001
<i>Anodonta anatina</i>		
Rio Minho vs Rio Paiva	61.498	0.0001
Rio Minho vs Rio Tâmega	3.351	0.0023
Rio Minho vs Rio Tua	29.700	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tâmega	53.486	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	49.022	0.0001
Rio Tâmega vs Rio Tua	19.584	0.0001
<i>Potomida littoralis</i>		
Rio Minho vs Rio Sabor	7.3101	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	24.907	0.0001
Rio Sabor vs Rio Tua	18.900	0.0001

	T	Valor-p
<i>Unio delphinus</i>		
Lagoa Mira vs Rio Minho	1.881	0.0751
Lagoa Mira vs Rio Paiva	17.678	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Sabor	5.972	0.0001
Lagoa Mira vs Rio Tua	11.068	0.0001
Rio Minho vs Rio Paiva	35.912	0.0001
Rio Minho vs Rio Sabor	7.237	0.0001
Rio Minho vs Rio Tua	16.144	0.0001
Rio Paiva vs Rio Sabor	30.679	0.0001
Rio Paiva vs Rio Tua	25.003	0.0094
Rio Sabor vs Rio Tua	8.854	0.0001

\*Continuação da Tabela 4.