# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 19/02/2017.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

# Mudanças climáticas previstas para o final do século afetam o desempenho e o desenvolvimento esquelético de larvas de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

**Ivã Guidini Lopes**

Jaboticabal, São Paulo

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

# Mudanças climáticas previstas para o final do século afetam o desempenho e o desenvolvimento esquelético de larvas de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

**Ivã Guidini Lopes**

**Orientador: Maria Célia Portella**

**Co-orientador: Adalberto Luis Val**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal, São Paulo

2016

Lopes, Ivã Guidini
L864m Mudanças climáticas previstas para o final do século afetam o desempenho e o desenvolvimento esquelético de larvas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) / Ivã Guidini Lopes. – – Jaboticabal, 2016
62 p. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Maria Célia Portella
Banca examinadora: Alzira Miranda de Oliveira, Lizandra Amoroso
Bibliografia

1. Microcosmos. 2. Larvas-temperatura 3. Deformidades esqueléticas. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 639.3.034

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

unesp

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**Unidade Complementar - Jaboticabal**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO: **"Mudanças climáticas previstas para o final do século afetam o desempenho e o desenvolvimento esquelético de larvas de tambaqui (*Colossoma macropomum*)"**

**AUTOR: IVÃ GUIDINI LOPES**
**ORIENTADORA: MARIA CÉLIA PORTELLA**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AQUICULTURA, área: Biologia Aquática, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. MARIA CÉLIA PORTELLA
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

p/ Profa. Dra. ALZIRA MIRANDA DE OLIVEIRA
Universidade Nilton Lins, Manaus-AM

Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Jaboticabal, 19 de fevereiro de 2016.

## AGRADECIMENTOS

*Aos meus pais Angela Guidini e Antônio Sebastião Lopes pelo amor incondicional, carinho em suas palavras, apoio e dedicação de corpo e alma para que eu conseguisse atingir meus objetivos. À vocês sou eternamente grato.*

*À Dra. Maria Célia Portella pelo incentivo, orientação, dedicação e suporte pessoal desde os primeiros dias dessa jornada. Sem seu auxílio e amparo essa realização não seria possível.*

*Ao Dr. Adalberto Luis Val pela calorosa recepção, compreensão, auxílio e investimento profissional e pessoal ao longo da minha estadia em Manaus. Um exemplo a ser seguido! Foi um prazer imenso poder trabalhar ao seu lado.*

*À MSc. Nazaré Paula por toda a paciência, pelo carinho em suas palavras e ricos ensinamentos pessoais e profissionais ao longo da minha jornada no LEEM. Todos precisamos de uma mãezona como a Naza!*

*Ao Prof. Dr. Francisco Langeani por ter me recebido em seu laboratório e por ter pacientemente me ensinado o processo de diafanização.*

*À minha querida família por todo o apoio que me dão e pela compreensão de minha ausência ao longo dessa jornada. O valor que a família exerce sobre o indivíduo é inestimável.*

*À minha querida Lara Zácari Fanali pela compreensão em meus momentos de ausência e pelo amor incondicional demonstrado e praticado ao longo desses dois anos.*

*Às amigas Thyssia Bomfim e Juliana Tomomi por me acompanharem no momento mais importante ao longo do mestrado e por enfrentarem todos os desafios que nos pareciam impossíveis de vencer. Sou eternamente grato a vocês.*

*Aos amigos do mestrado, Frederico Werneck, Juliano Coutinho, Ligia Neira, Rudney Weber, Lidiane Sandre, Caroline Nebo, Jesaias Ismael, Thiago Mendes, Thiago Torres, Natália Leitão, Thalys Vinícius, Andressa Innocente, Amanda Halum, Rodrigo Gimbo, Rafael Serafini, Ximena e Alejandra pelos momentos de apoio, compreensão e amizade.*

*Aos meus grandes amigos do LEEM, Renan Amanajás, Arlan Paz, Frederico Delunardo, Luciana Bastos, Vivianne Fonseca, Alzira Miranda, Luciana Fé e Jéssica Oliveira pelo companheirismo, apoio emocional e ajuda para o desenvolvimento do trabalho. Muita admiração por esse grupo.*

*Aos meus parceiros de casa Luis Patrone e William Bruno pela amizade, boas risadas e pela paciência em situações de desespero.*

*Aos todos meus amigos de Rio Preto que, mesmo à distância sempre demonstraram total apoio, amizade e amor ao longo desse tempo.*

*Ao Centro de Aquicultura da UNESP pelo mestrado e ao INPA pela colaboração e parceria. Ao Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos pelo apoio logístico, financeiro e por ser minha casa ao longo desses dois anos.*

*À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado, à PROPG pelo apoio financeiro e ao Projeto INCT/ADAPTA pelo apoio logístico e financeiro deste trabalho.*

*A todos que de alguma forma me possibilitaram chegar até aqui, meus sinceros agradecimentos!*

## DEDICATÓRIA

A Angela Guidini pelo amor e apoio incondicional

A Antônio Sebastião Lopes pelo exemplo de vida a ser seguido

**DEDICO**

# SUMÁRIO

RESUMO ..... 6
ABSTRACT ..... 7
1 INTRODUÇÃO ..... 8
1.1 Causas e Consequências das Mudanças Climáticas ..... 8
1.2 O IPCC: Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas ..... 11
1.3 Mudanças Climáticas, Amazônia e Organismos Aquáticos ..... 12
1.4 Desenvolvimento Inicial de Peixes Neotropicais e Esqueletogênese ..... 15
1.5 O Tambaqui ..... 20
2 OBJETIVOS ..... 21
2.1 Objetivo Geral ..... 21
2.2 Objetivos Específicos ..... 21
3 MATERIAL E MÉTODOS ..... 21
3.1 Obtenção das Larvas e Local do Estudo ..... 21
3.2 Delineamento Experimental ..... 22
3.3 Obtenção das Amostras ..... 23
3.4 Acompanhamento da Qualidade de Água ..... 24
3.5 Análises Estatísticas ..... 24
4 RESULTADOS ..... 25
4.1 Simulação dos Cenários Climáticos em Microcosmos ..... 25
4.2 Parâmetros Físico-Químicos da Água ..... 25
4.3 Desempenho Zootécnico ..... 26
4.4 Osteogênese e Incidência de Anomalias Esqueléticas ..... 27
4.5 Análises Exploratórias dos Dados ..... 29
5. DISCUSSÃO ..... 30
5.1 Estudos de mudanças climáticas em microcosmos ..... 30
5.2 Consequências das Mudanças Climáticas sobre o Desempenho Zootécnico do Tambaqui .. 31
5.3 Desenvolvimento esquelético e anomalias ..... 35
6 CONCLUSÕES ..... 39
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ..... 40
8. LEGENDAS DE TABELAS ..... 52
9. LEGENDAS DE FIGURAS ..... 53
10. FIGURAS E TABELAS ..... 55

## RESUMO

O aumento das emissões de gases de efeito estufa compõe uma das principais causas do aquecimento global. As mudanças no clima decorrentes de tal fator vêm ocorrendo em grau cada vez mais acelerado, afetando a dinâmica ambiental e, consequentemente, as espécies viventes. Dentre os biomas afetados, a região Amazônica está especialmente sujeita a impactos negativos, haja visto o desmatamento, o regime de chuvas sazonal e as ingerências antropogênicas locais. Logo, as espécies aquáticas nessa região poderão ser afetadas devido ao aumento das temperaturas médias e acidificação dos corpos d'água. O presente estudo teve por objetivo avaliar possíveis impactos das mudanças climáticas previstas para o final do século sobre o crescimento e o desenvolvimento inicial de uma importante espécie íctica Amazônica, o tambaqui, por meio de avaliações de desempenho zootécnico e do acompanhamento inicial do processo de osteogênese e aparecimento de anomalias esqueléticas. Larvas recém-eclodidas foram dispostas em aquários com capacidade para nove litros (densidade inicial de 35 larvas/L), em sistema de recirculação de água. Cada conjunto de 10 aquários estava localizado em quatro salas climatizadas com controle em tempo real de temperatura, umidade e concentração de $CO_2$, representando três cenários de mudanças climáticas previstos pelo IPCC: brando (B1), moderado (A1B) e drástico (A2), além da sala controle, a qual representava o cenário atual (Atual). O experimento teve duração de 16 dias, nos quais foram realizadas amostragens periódicas das larvas. Após aquisição dos dados biométricos, as larvas passaram pelo processo de diafanização, de modo a avaliar o desenvolvimento ósseo inicial e o aparecimento de anomalias esqueléticas. A exposição aos cenários de mudança climática resultou em baixa sobrevivência das larvas, principalmente nos cenários A1B e A2. Os índices de desempenho zootécnico das larvas dos cenários B1 e A1B foram superiores quando comparadas às dos cenários Atual e A2, com exceção do fator de condição alométrico, superior nos cenários Atual e A1B. No entanto, as análises esqueléticas revelaram alta incidência de anomalias esqueléticas nas larvas submetidas aos cenários A1B e A2, como resultado da combinação entre o aumento da temperatura e a acidificação da água. Além disso, o processo de coloração óssea revelou que aos 16 dias pós eclosão, o sistema esquelético das larvas era ainda cartilaginoso, não apresentando mineralização óssea. Os resultados de desempenho zootécnico apontam que o tambaqui é uma espécie bem adaptada a temperaturas elevadas e que poderá sobreviver às alterações climáticas mais amenas. Porém, frente à condições mais severas, o desenvolvimento inicial da espécie poderá ser comprometido, como observado nos resultados de anomalias esqueléticas.

**Palavras-Chave:** microcosmos; alterações climáticas; anomalias esqueléticas; temperatura

## ABSTRACT

Increasing greenhouse gases emissions make up one of the main causes of global warming. Climatic changes arising from such factors have been occurring in an accelerated degree, affecting environmental dynamics and, consequently, the living species. Among all affected biomes, the Amazon region is particularly subjected to adverse impacts, such as deforestation, seasonal precipitation and negative anthropogenic interferences present locally. Hence, Amazonian aquatic species may be affected due to the increase in average temperatures and water acidification. This study aimed at evaluating possible impacts of predicted climate change on the initial growth and development of an important Amazonian fish, the tambaqui, by means of growth performance and by monitoring the initial osteogenic process and the emergence of skeletal abnormalities. Newly hatched tambaqui larvae were placed in 9L tanks (initial density of 35 larvae/L), displayed in water recirculation system. Each system containing 10 tanks was located in four conditioned rooms with real-time control of temperature, humidity and $CO_2$ concentration, representing three climate change scenarios predicted by the IPCC: mild (B1), moderate (A1B) and drastic (A2), besides the control room, representing the current scenario (Atual). The experiment lasted for 16 days, in which periodic samplings were taken. After biometric data acquisition, the larvae underwent a bone staining process, in order to access osteogenesis process and to verify skeletal abnormalities. The exposure to climate change scenarios resulted in low survival, mainly in A1B and A2. Productive performance of B1 and A1B larvae were higher when compared to Atual and A2 scenarios, with the exception of allometric condition factor, higher in Atual and A1B. However, skeletal analysis revealed high incidence of abnormalities in larvae subjected to A1B and A2 scenarios, due to the combination between temperature rise and water acidification. Furthermore, bone-staining process revealed that after 16 days post-hatch, larvae skeletal structures were still cartilaginous, displaying no mineralization. By means of the productive performance data, we observe that the tambaqui is a well-adapted species to high temperatures that may survive in milder climate change. However, facing more severe climate conditions, initial development may be compromised, as observed in skeletal abnormalities results.

**Key Words:** microcosms; climate change; skeletal anomalies; temperature.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Causas e Consequências das Mudanças Climáticas

Modificações nos padrões climáticos globais têm sido registradas há décadas (FAO, 2014) e, cada vez mais, a comunidade científica direciona recursos e investe em pesquisas sobre o tema, visando a compreensão de tais alterações e como estas atuam nos sistemas climáticos e biológicos. O conhecimento gerado sobre as mudanças climáticas deve ser divulgado a fim de se buscar a mitigação de seus possíveis efeitos deletérios na população humana e na diversidade biológica.

As causas e consequências das mudanças climáticas compõem tópico interessante de discussão, principalmente entre a população e a comunidade científica. Uma expressiva amostra da população não acredita na influência antropogênica sobre o clima, creditando tais mudanças singularmente às causas naturais. No entanto, a comunidade científica de maneira geral contesta que tais modificações sejam causadas somente por fatores naturais, e muitas pesquisas comprovam que o homem participa efetivamente da modificação do clima (Karl e Trenberth, 2003; Rosenzweig et al., 2008; Friedlingstein et al., 2010).

Podemos citar diversas causas naturais que contribuem para o aquecimento global, como, por exemplo, registros do aumento da atividade na superfície do Sol (Friis-Christensen e Lassen, 1991), que provocam maiores emissões de raios ultravioleta, ou incêndios florestais de ocorrência natural, responsáveis pela liberação de grandes quantidades de carbono na atmosfera (Page et al., 2002). Outro evento natural é o derretimento do *permafrost* - tipo de solo permanentemente congelado presente na região do Ártico - o qual possui grande quantidade de carbono armazenado. O derretimento desta camada de solo em larga escala libera carbono na água e na atmosfera, contribuindo para o aumento das temperaturas globais (Schaefer et al., 2011; Koven et al. 2015).

Ademais, erupções vulcânicas liberam grandes quantidades de gases na atmosfera, os quais são potencialmente prejudiciais para o clima (Self e Rampino,1988; Mass e Portman,1989) e para a saúde, como dióxido de carbono ($CO_2$), metano ($CH_4$), dióxido de enxofre ($SO_2$), dentre outros. Entretanto, em alguns casos, o gás predominantemente liberado durante uma erupção vulcânica é o vapor de água ($H_2O$) e, de maneira geral, os vulcões são responsáveis por

pequena parcela da quantidade total de gases de efeito estufa (GHG, pela sigla em inglês) liberados na atmosfera (Gerlach, 2011). Constata-se que as emissões de $CO_2$ por atividades humanas compõem a principal contribuição para o aquecimento global (Friedlingstein et al., 2010).

As influências que as atividades humanas exercem no ambiente e que contribuem para a mudança do clima são claras e permanecerão ocorrendo por séculos (Karl e Trenberth, 2003) (Figura 1). Segundo estimativas feitas a partir de modelos climáticos, caso as emissões de GHG (principalmente pela queima de combustíveis fósseis e processos industriais) se mantiverem pelas próximas décadas, algumas regiões do planeta poderão sofrer aquecimento de até 6 °C até o final do século (Nobre et al., 2007). Segundo dados do quinto relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas - *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC), aumentos tão drásticos da temperatura média global podem gerar consequências como a extinção de espécies e o comprometimento da segurança alimentar (IPCC, 2014).

Registros antigos da temperatura mundial, quando confrontados com os atuais, revelam que nas últimas décadas houve aumento expressivo da média global. A combinação entre a temperatura dos continentes e oceanos revela aumento médio de 0,85 °C entre 1880 e 2012 (IPCC, 2014). Tais registros são variáveis entre regiões, sendo que as taxas de aquecimento global (geralmente calculadas por década) são diretamente afetadas por eventos naturais locais como o El Niño ou por ingerências antropogênicas expressivas (IPCC, 2014).

O fenômeno El Niño é caracterizado pelo aquecimento anormal das águas superficiais do Oceano Pacífico, influenciando no clima regional e global devido às trocas de energia e umidade entre o oceano e a atmosfera, podendo afetar também a dinâmica dos ventos na região equatorial. Por conta de tais modificações nos ventos e na umidade, mudanças tanto na temperatura quanto na distribuição de chuvas são passíveis de ocorrer, causando problemas climáticos locais. Este fenômeno geralmente ocorre em intervalos de até 10 anos, chegando a durar até mais de 12 meses.

Os eventos El Niño mais intensos ocorreram nos anos de 1982/83 e 1997/98 e foram marcados por alterações significativas nos padrões climáticos globais

(McPhaden, 1999). Tais modificações foram responsáveis por eventos extremos de chuvas, de seca e de aumento da temperatura atmosférica, levando a grandes perdas financeiras e efeitos negativos na biodiversidade local (Jaksic, 2001). Existem evidências de que aumentos na emissão de GHG podem ser responsáveis pela ocorrência mais frequente de eventos mais severos (Cai et al., 2014), destacando uma das causas antropogênicas sobre a mudança do clima.

Além de efeitos naturais, o homem também é diretamente responsável por modificações nos padrões climáticas globais. A derrubada de florestas, por exemplo, traz consequências quase irreparáveis para o meio ambiente. Dezenas ou centenas de anos são necessários para que uma área desmatada se recupere, enquanto em alguns casos, como o da floresta amazônica, este é um processo mais árduo por conta do solo arenoso desfavorável, pobre em nutrientes (Werth e Avissar, 2002). A substituição de áreas florestais por campos de plantio ou pastos gera uma problemática para o equilíbrio do ciclo do carbono, concentrando cada vez mais este gás na atmosfera.

Desde meados do século XVI o desmatamento no Brasil vem crescendo. Segundo levantamento realizado em 2008, a cobertura vegetal remanescente no Estado de São Paulo não representa mais de 13% da original (Nalon et al., 2008). Já na região Amazônica, a derrubada de áreas florestais é mais intensa e de difícil controle, visto a grandeza do território e a presença de áreas mais afastadas. Segundo Zhao et al. (2001), padrões climáticos regionais são afetados pela modificação na cobertura vegetal local, podendo comprometer sistemas físicos e biológicos.

Seja por causas naturais ou antropogênicas, a mudança do clima traz diversas outras consequências além do aumento da temperatura atmosférica. Os ciclos hidrológicos também estão sendo afetados por mudanças na precipitação, pelo derretimento das calotas polares e pela elevação da temperatura dos oceanos. Segundo previsões climáticas para o final do século, regiões áridas sofrerão secas mais intensas, enquanto regiões mais úmidas (como a Amazônia) enfrentarão eventos de precipitação intensa com maior frequência (IPCC, 2014).

## 1.2 O IPCC: Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas

A crescente preocupação com questões ambientais despertou a ideia de que o ser humano deve conservar, preservar e prezar pela sustentabilidade, para reduzir o impacto ambiental antropogênico. Uma série de ações governamentais têm sido promovidas para discussão e tomadas de decisão sobre o futuro do planeta. A primeira iniciativa, por parte da ONU, foi a Conferência sobre Meio Ambiente Humano, realizada em Estocolmo/Suécia em 1972, durante a qual foi criado o PNUMA - Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, assim como a Declaração de Estocolmo, a qual elevou o Direito Ambiental ao rol dos Direitos Humanos.

Diversas outras iniciativas para a preservação do meio ambiente, como a ECO-92, quando inúmeros tratados internacionais foram assinados, a Rio + 10, a Rio + 20 e a assinatura do Protocolo de Kyoto, foram tomadas na tentativa - parcialmente em vão - de fazer com que países desenvolvidos assumissem o compromisso de reduzir a emissão de gases que agravam o efeito estufa, dentre outras. Uma das mais importantes ações foi a criação do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas, ou IPCC.

O IPCC foi criado em 1988 por uma iniciativa da Organização Meteorológica Mundial (OMM) e do PNUMA, com o objetivo de compilar informações científicas e avaliar todos os aspectos da mudança climática e seus impactos, visando a formulação de estratégias de ação. Essas informações são divulgadas por meio de relatórios abertos, disponíveis nas redes de informação.

O primeiro relatório do IPCC foi divulgado em 1990 e revelou a importância das mudanças climáticas como desafio a ser enfrentado por diversas frentes governamentais em cooperação internacional. Os próximos relatórios vieram nos anos de 1995 (AR2), 2001 (AR3) e 2007 (AR4). O mais recente relatório - *Fifth Assessment Report* (AR5) - foi divulgado entre 2013 e 2014 e trouxe o estado da arte do conhecimento científico sobre mudanças climáticas, além de possíveis medidas de mitigação e adaptação.

Ao longo dos sete anos passados entre o quarto e quinto relatórios, novas informações surgiram e foram acrescidas à última publicação. No entanto, as causas e consequências apresentadas foram muito similares, apenas com

atualizações de valores (e.g. valores em gigatons de $CO_2$ liberadas na atmosfera por atividades humanas). Ambos os relatórios apresentaram cenários de previsões futuras, estimadas a partir de modelos climáticos e ambientais, utilizando dados climáticos históricos e atuais, além de dados socioambientais.

Os cenários determinam que a concentração de $CO_2$ atmosférico poderá variar até o final do século, dependendo de como os recursos naturais estiverem sendo utilizados e os processos industriais estiverem sendo manejados. Caso a queima de combustíveis fósseis continue com a magnitude atual, o desmatamento não cesse e a negligência frente a leis e acordos de conservação e emissão de GHG continue, os cenários previstos são bastante severos, revelando estimativas de grandes aumentos da concentração de $CO_2$ e da temperatura média global. As diferenças entre os cenários previstos nos relatórios AR4 e AR5 são pequenas e estão apresentadas na Tabela 1.

### 1.3 Mudanças Climáticas, Amazônia e Organismos Aquáticos

Aumentos das concentrações de GHG na atmosfera compõem o problema chave no que tange às mudanças no clima. Além do consequente aumento na temperatura, maiores concentrações de $CO_2$ resultam também em maior captação deste gás pelos oceanos, fazendo com que ocorra acidificação da água. Desde o início da era industrial (meados do século XVIII) a captação oceânica de $CO_2$ resultou em diminuição de 0.1 no pH da água, o que corresponde em 26% de aumento da acidez, medida pela concentração de íons hidrogênio ($H^+$) disponíveis (IPCC, 2014). Não obstante, previsões feitas com base em dados ambientais sugerem aumentos na concentração de $CO_2$ atmosférico de até 800 ppm (Feely et al., 2004), o que pode resultar em maiores índices de acidificação de corpos d'água em longo prazo.

A acidificação dos mares e oceanos pode resultar em problemas graves para a biodiversidade marinha. Segundo Hoegh-Guldberg et al. (2007), caso a concentração de $CO_2$ exceda 500 ppm até o final do século, a diversidade das comunidades de recifes sofrerá forte redução, trazendo consequências para comunidades de peixes, estoques pesqueiros, na proteção das áreas costeiras e para a população humana. Outras pesquisas demonstraram que a acidificação oceânica prejudica comportamentos naturais de espécies de peixes, como a fuga

de predadores (Dixson et al., 2010), especialmente em estágios iniciais do desenvolvimento (Munday et al., 2009).

Não obstante, organismos de água doce também sofrem influências da acidificação dos corpos d'água (Ou et al., 2015). Águas ácidas podem levar ao desequilíbrio na homeostase dos organismos, seja por meio dos sistemas de trocas iônicas (McDonald, 1983), modificações comportamentais (Beggs e Gunn, 1986) ou fisiológicas (Chippari-Gomes et al., 2005). Ao longo do tempo evolutivo, os organismos aquáticos desenvolveram uma série de adaptações as quais os permitem sobrepujar desafios ambientais que ocorrem naturalmente (Almeida-Val e Val, 1990; Beitinger et al., 2000).

Na região Amazônica, os desafios são tanto naturais quanto antropogênicos. Nas planícies alagadas da região amazônica, por exemplo, as variações naturais das condições ambientais são nítidas. De acordo com a estação do ano (seca ou chuvosa), os rios principais e seus afluentes são caracterizados pela ocorrência de grandes inundações em áreas de floresta. Com o alto nível das águas e grandes quantidades de matéria orgânica submersa, a decomposição desta aumenta, reduzindo os níveis de oxigênio dissolvido na água (Junk et al.,1989). Este é um evento natural que ocorre anualmente e pode ser considerado como agente de seleção, em termos evolutivos.

Não somente os desafios naturais mas também os impactos que o homem exerce sobre a região Amazônica compõem desafios para as espécies lá viventes. Em recente publicação, Castello e Macedo (2015) destacaram quatro principais causas de degradação ambiental: áreas represadas por conta de hidrelétricas, mineradoras, desmatamento e as mudanças do clima, às quais derivam principalmente do aumento dos GHG. Esses fatores influenciam negativamente os ciclos e a conectividade hidrológica da região, prejudicando os organismos aquáticos.

Tais desafios poderão ficar ainda mais intensos caso as previsões climáticas previstas venham a se concretizar. Segundo modelos regionais de mudanças climáticas, além do aumento da temperatura, a precipitação no leste da Amazônia deverá diminuir (Ambrizzi et al., 2007; Salazar et al., 2007), trazendo mudanças nos ciclos hidrológicos da região e, possivelmente, resultando no desaparecimento ou

na “savanização” de partes da Amazônia (Nobre et al., 2007). Segundo o IPCC, essa transição de ambientes tipicamente florestais por ambientes que se assemelham às savanas ou ao cerrado já está ocorrendo e pode ser extremamente problemático para a biodiversidade local, tendo como principais causas o aquecimento atmosférico e o desmatamento (IPCC, 2014).

Ao longo do tempo, algumas espécies de peixes amazônicos desenvolveram adaptações específicas para superar desafios ambientais, permitindo que as mesmas explorassem esses ambientes, os quais possuem grandes quantidades de alimento disponível, pouca competição por alimento e poucos predadores. Essas adaptações ocorreram em níveis fisiológicos (Chippari-Gomes et al., 2005), morfológico (Saint-Paul, 1988), bioquímicos (Almeida-Val e Val, 1990; Almeida-Val et al., 2011) e até comportamentais (Saint-Paul e Soares, 1987), sendo que a migração para ambientes mais favoráveis durante eventos desse tipo também é observada em espécies que não suportam a permanência em ambientes tão limitantes.

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie adaptada a viver nos ambientes desafiadores da Amazônia. A espécie é altamente resistente à hipóxia (Sundin et al. 2000), tolera amplas faixas de temperatura ao longo da vida (Gomes et al. 2013) e apresenta adaptações favoráveis à sua sobrevivência frente à desafios ambientais (Florindo et al. 2006). No entanto, mesmo para espécies bem adaptadas como o tambaqui, os desafios climáticos futuros poderão exercer influências negativas em suas diferentes fases de vida.

Historicamente, as mudanças climáticas têm sido responsáveis pelo aumento da temperatura global e da concentração de GHG (principalmente o $CO_2$), pela acidificação dos oceanos e de corpos d’água. As melhores previsões para os cenários futuros são de aumentos de até 1.7 °C da temperatura média global e elevação da concentração de $CO_2$ ao nível de 450 ppm (IPCC, 2014). Isso já representaria, para muitas espécies, grande desafio ambiental a ser superado.

Espécies endêmicas ou especialistas podem ser as mais afetadas, caso seus ambientes sofram grandes modificações, enquanto outras, generalistas, podem estar melhor preparadas para as mudanças ambientais, pois já exploram maior variedade de ambientes e condições diversas, ou possuem mecanismos

fisiológicos que os permitem regular seu metabolismo para melhor adaptar-se às condições adversas (Fé, 2014). Porém, quando consideramos os estágios iniciais do desenvolvimento, geralmente mais sensíveis às variações ambientais, a maior parte das espécies poderá ser afetada.

Em recente estudo com as espécies amazônicas *Paracheirodon axelrodi* e *P. simulans*, foi demonstrado que a primeira, considerada especialista, apresentou baixa resistência quando submetida à condições climáticas adversas (cenários B1, A1B e A2 previstos pelo IPCC em 2007), enquanto a segunda espécie, generalista, foi capaz de sobreviver mesmo em condições extremas, por mecanismos de regulação metabólica relacionados à expressão diferencial de genes relacionados ao metabolismo anaeróbio, indicando uma estratégia de sobrevivência em ambientes mais quentes e ácidos (Fé, 2014).

Utilizando os mesmos cenários de mudanças climáticas simulados em microcosmos, Oliveira (2014) verificou que juvenis de tambaqui com cerca de 15g apresentaram desempenho zootécnico variável quando expostos aos diferentes cenários, sendo inferior no cenário mais drástico (A2), além de maiores taxas de mortalidade. No entanto, as respostas de organismos da mesma espécie em diferentes fases do desenvolvimento, podem ser diferentes.

### 1.4 Desenvolvimento Inicial de Peixes Neotropicais e Esqueletogênese

A fase inicial do desenvolvimento dos peixes constitui um período dinâmico, no qual uma série de eventos morfofisiológicos ocorrem simultaneamente, quando todos os sistemas orgânicos se formam e o organismo consegue crescer e atingir o estágio juvenil e, posteriormente, de adulto. Ao mesmo tempo, a fase larval pode ser considerada o período mais crítico no ciclo de vida dos peixes, seja por questões nutricionais (Portella et al., 2012), ecológicas ou ambientais (Munday et al., 2009).

As disparidades observadas em peixes da mesma espécie quanto ao tamanho, taxas de crescimento e idade reprodutiva, além de outros aspectos, seja em ambientes naturais ou artificiais, demonstram o quanto as características ambientais externas (e.g. temperatura, alimentação) ou mesmo internas (e.g. componentes genéticos) influenciam a história de vida do organismo (Pittman et al., 2013). Dentre uma série de fatores hoje estudados, questões nutricionais reúnem

a grande maioria das pesquisas realizadas com larvas de peixes (Cahu et al., 2003; Leitão et al., 2011; Georga et al., 2011; Menossi et al., 2012; Portella et al., 2012, 2014).

Outro fator ambiental amplamente estudado é a temperatura, considerada crítica para o desenvolvimento embrionário e larval normal dos peixes, assim como para o crescimento (Nicieza e Metcalfe, 1997), para a diferenciação orgânica (Koumoundouros et al., 2001) e para a sobrevivência das espécies (Pittman et al., 2013). Segundo Kovac (2002), os processos ontogenéticos em peixes acontecem em sequência, segundo um *timing* específico para cada espécie. Esses processos são plásticos (Pittman et al., 2013), porém susceptíveis à modificações ambientais, podendo alterar as taxas do desenvolvimento ontogenético, encurtando ou alongando o tempo de desenvolvimento. O desenvolvimento ósseo também segue esse *timing*, sendo que cada estrutura se diferencia e sofre ossificação em diferentes momentos, sendo que estes processos podem ser afetados por condições externas.

A diferenciação e o desenvolvimento normal dos sistemas orgânicos nos estágios iniciais de vida são relevantes para o pleno desempenho dos animais. O desenvolvimento normal do sistema esquelético dos peixes - essencial para a sustentação e primeiras atividades de natação e alimentação das larvas - é afetado também por questões genéticas (Boglione et al., 2013[b]; Lopes et al., 2014), nutricionais (Cahu et al., 2003; Georga et al., 2011) e ambientais (Polo et al., 1991; Wargelius et al., 2005), podendo comprometer o desempenho do organismo no ambiente (Green e Fisher, 2004). O esqueleto dos peixes pode ser dividido em três porções: cranial, axial (coluna vertebral associada às nadadeiras ímpares - dorsal, anal e caudal) e apendicular (nadadeiras pares) (Cubbage e Mabee, 1996).

A primeira estrutura de sustentação que surge nos peixes é a notocorda, um tecido essencial que sustenta o corpo e influencia na formação da coluna vertebral (Azevedo et al., 2012). Nos primeiros dias de vida, uma camada colágena é formada em volta da notocorda conferindo mais rigidez a estrutura, e posteriormente esta camada é mineralizada, quando se formam os corpos vertebrais (Boglione et al., 2013[a]). Assim sendo, má formações notocordais podem provocar efeitos deletérios diretos nos futuros corpos vertebrais (Morin-Kensicki et al., 2002).

Outras estruturas desempenham importante papel nos primeiros dias de vida dos peixes, como as estruturas do esqueleto craniofacial. Quando a larva infla a bexiga natatória e abre a boca para iniciar a alimentação exógena, a região cranial possui diversas estruturas cartilaginosas (e.g. ossos infraorbitais, nasal, dentário e opercular), as quais suportam órgãos de diferentes sistemas (e.g. olhos e futuros rastros branquiais). Além disso, as primeiras estruturas esqueléticas, precursoras dos ossos mineralizados, desempenham funções vitais como a natação inicial, a captura do primeiro alimento e a fuga de predadores (Noble et al., 2012).

Recentemente foi demonstrado em larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), espécie da mesma família do tambaqui (Serrasalmidae), que o osso dentário começa a se mineralizar no início da alimentação exógena (Lopes et al., 2014; Portella et al., 2014), melhorando a habilidade de captura do alimento pelo organismo e, consequentemente, promovendo o crescimento das larvas (Gisbert et al., 2002). Ademais, outras estruturas acompanham o tempo de ossificação do dentário, como a maxila e estruturas do esqueleto axial, fundamentais para outras funções como a natação e a fuga de predadores, sendo que o tempo de ossificação pode variar de acordo com o padrão genético, necessidades fisiológicas e comportamentos das espécies (Portella et al., 2014).

Em relação aos tecidos esqueléticos, os teleósteos mais derivados (e.g. Perciformes), em sua maioria, possuem ossos acelulares (sem a presença de osteócitos, mas sim de outros tipos celulares, responsáveis pela manutenção óssea), diferentemente de grupos como os salmonídeos ou ciprinídeos (Boglione et al., 2013ª). Essa especialização com outros tipos celulares (e.g. osteoblastos e osteoclastos) conferiu alta capacidade de reabsorção e remodelação óssea aos grupos (Dean e Shahar, 2012).

Existem três principais tipos de ossificação que ocorrem em peixes teleósteos, a depender do elemento esquelético considerado: endocondral e pericondral, as quais envolvem peças (ou moldes) de cartilagem hialina e são responsáveis pela formação da maior parte dos ossos; e intramembranosa, responsável pela formação de ossos craniais (Bird e Mabee, 2003; Boglione et al., 2013ª), a qual ocorre no interior de membranas de tecido conjuntivo. Segundo Hall (2005), os processos de diferenciação e ossificação podem ser prejudicados por condições ambientais adversas, originando deformidades esqueléticas. Alguns

ossos, como os corpos das vértebras, sofrem dois tipos de ossificação, a depender da região do osso considerada.

Referente à ossificação endocondral, a partir do molde de cartilagem hialina é formada uma placa inicial de matriz óssea. Nesse momento, vasos sanguíneos invadem a cartilagem, modificando o microambiente ósseo, trazendo íons, nutrientes e oxigênio (Junqueira e Carneiro, 2008). Essa modificação do microambiente ósseo permite que a mineralização óssea ocorra. Caso o microambiente ósseo não esteja homeostático, como em situações de baixa tensão de $O_2$ (por déficit sanguíneo ou pH ácido), as células presentes no tecido cartilaginoso se tornam células condrogênicas e não osteogênicas, prejudicando a mineralização (Gartner e Hiatt, 2007).

Outras regiões do esqueleto (e.g. ossos longos) sofrem ossificação pericondral, também a partir de um molde de cartilagem precursor, na qual o pericôndrio determina o início da ossificação. Ao longo do processo de ossificação, diversos fatores são essenciais tanto para a formação dos moldes de cartilagem quanto para a mineralização das estruturas. A presença de vasos sanguíneos no microambiente ósseo mantém a pressão de $O_2$ adequada e traz íons importantes para o processo de ossificação (e.g. $CaCO_3$, $Ca^{+2}$ e $Ca_3(PO_4)_2$), além do transporte de células importantes como os condroclastos (responsáveis pela absorção da cartilagem e formação de lacunas a serem mineralizadas) e minerais para serem depositados na osteoide ainda não calcificada (Junqueira e Carneiro, 2008). Assim, quando as condições do microambiente ósseo não estão favoráveis ao desenvolvimento, podem ocorrer má formações no esqueleto. Por exemplo, caso as condições de irrigação sanguínea e oxigenação nos corpos vertebrais não estejam adequadas, casos de lordose, cifose ou escoliose podem ocorrer, enquanto outros eventos podem agir no dentário ou na maxila, desfavorecendo a ossificação normal, comprometendo os ossos (Lopes et al., 2014).

A incidência de anomalias esqueléticas em peixes pode compor um grande problema para a produção animal. No ambiente natural são eventos pouco usuais que ocorrem ao acaso e a baixa frequência observada é devido à menor chance de sobrevivência dos peixes que apresentam deformidades. Porém, em ambientes artificiais, uma série de fatores causativos favorecem o aparecimento de deformidades, mas a menor competição por alimento e a ausência de predadores

aumentam as chances de sobrevivência desses animais. Por exemplo, eventos de endogamia (comuns em pisciculturas) podem estar relacionados ao aparecimento de deformidades na coluna vertebral, como a lordose (Izquierdo et al., 2010), enquanto o fornecimento inadequado de nutrientes na dieta relacionam-se com o aparecimento de outras deformidades.

As vitaminas são essenciais para que o desenvolvimento ósseo ocorra normalmente. A homeostase do cálcio plasmático, importante na conservação da integridade óssea, é dependente da vitamina D, a qual relaciona-se com a absorção deste íon na luz intestinal (Tacon, 1995). Portanto, essa vitamina deve ser adequadamente ofertada na dieta. O mesmo autor observou que para salmonídeos, níveis inadequados de vitamina D correlacionaram-se com crescimento reduzido e baixo aproveitamento nutricional.

A vitamina A é um nutriente necessário, visto que por meio do ácido retinóico, regula tanto a mineralização óssea quanto os processos de formação da cartilagem, agindo diretamente nos condrócitos e na maturação das células de remodelação óssea (Lall e Lewis-McCrea, 2007). Da mesma maneira, a vitamina C é um outro nutriente essencial para os peixes, visto que também atua no crescimento e desenvolvimento esquelético (Linnea et al., 1998), assim como no metabolismo do colágeno.

O colágeno compõe a maior parte da matriz extracelular, além de ser encontrado em todos os tecidos do corpo. A vitamina C está diretamente relacionada com as etapas de formação dos diversos tipos de colágeno e seu metabolismo e, consequentemente, com a homeostase do tecido ósseo. Esta, quando administrada em doses ideais nas dietas de tambaqui, melhora o ganho em massa e o desempenho dos organismos (Chagas e Val, 2003).

Além da nutrição, outros fatores ambientais podem causar anomalias esqueléticas, tais como densidade de estocagem, manejo inadequado, fluxo de água, qualidade de água, pH, níveis de oxigênio e gás carbônico, salinidade, presença de parasitos ou variações da temperatura (Boglione et al., 2013[b]). Em larvas vitelínicas da espécie *Sparus aurata* foi observado que variações na temperatura causam deformidades na mandíbula e maxila (Polo et al., 1991), além do aparecimento de lordose (Georgakopoulou et al., 2010).

A adoção de temperaturas mais altas na criação de peixes é uma prática comum entre produtores, pois os organismos podem desempenhar melhor em tais condições. Porém, a faixa de tolerância térmica de uma espécie deve ser respeitada, para evitar efeitos deletérios como o aparecimento de anomalias esqueléticas e altas taxas de mortalidade em um lote.

Ainda que apresentem sérias deformidades, os peixes em sistemas de criação podem permanecer vivos e se alimentando, porém não crescem de maneira satisfatória e desenvolvem um formato corporal que não é desejado pelo consumidor. As taxas de mortalidade observadas em lotes com peixes deformados são geralmente altas e podem trazer grandes prejuízos financeiros, justificando a necessidade de se estudar possíveis fatores causativos de deformidades, importantes na mitigação de tais efeitos. O estudo de tais ocorrências também se faz necessário porque a presença de anomalias esqueléticas compõe um problema ético, pois esses indivíduos demonstram problemas para se alimentar, para nadar e se reproduzir, experimentando frequentemente situações de estresse, ou seja, não pode-se dizer que esses se encontram em condições de bem-estar adequadas.

**1.5 O Tambaqui**

Pertencente à Ordem Characiformes, Subfamília Sarrasalmidae (FISHBASE, 2016), o tambaqui é um peixe altamente desejado no Brasil, estando presente em diversas pisciculturas e com grande aceitação de mercado. Segundo dados do MPA, no ano de 2010 foi o segundo peixe mais produzido no país e hoje é o primeiro entre os nativos, com mais de 120 mil toneladas sendo produzidas anualmente (BRASIL, 2011).

O tambaqui habita as planícies aluviais da Bacia Amazônica, locais estes que sofrem amplas variações ambientais ao longo do ano. A temperatura pode variar muito ao longo do dia, assim como a quantidade de oxigênio dissolvido na água (Saint-Paul, 1988), desafiando as espécies que exploram tais ambientes. O tambaqui é uma espécie que apresenta ampla tolerância térmica (Gomes et al., 2013) e resistência à hipóxia prolongada (Florindo et al., 2006), podendo ser considerado bem adaptado e resistente à essas situações adversas.

Apesar de uma série de estudos reunirem informações sobre efeitos da temperatura, da disponibilidade de oxigênio e de outros desafios ambientais, a

literatura sobre o desenvolvimento larval da espécie é incipiente, especialmente no que diz respeito à efeitos de modificações ambientais sobre a ontogenia desses organismos. Apesar do tambaqui habitar ambientes muito desafiadores, as respostas dos estágios iniciais da espécie aos desafios ambientais como as iminentes mudanças climáticas globais previstas não são claras. Elucidar tais questões torna-se importante para o embasamento de futuras ações mitigadoras que visem a manutenção e melhor preservação da biodiversidade Amazônica.

## 6 CONCLUSÕES

Na fase larval, o tambaqui se mostrou parcialmente resistente à condições ambientais adversas, porém dentro de um limite de tolerância, visto que em condições climáticas extremas, o desempenho zootécnico e o desenvolvimento normal da espécie foram comprometidos.

Os efeitos das mudanças climáticas sobre o desenvolvimento esquelético de larvas de tambaqui foram negativos, haja visto a maior incidência de deformidades registradas, especialmente nas larvas submetidas ao cenário mais drástico.

As larvas da espécie *Colossoma macropomum*, quando submetidas à temperaturas mais elevadas, podem apresentar melhor desempenho zootécnico, porém quando este aumento acompanha a redução do pH da água, efeitos deletérios podem surgir, como anomalias esqueléticas e altas taxas de mortalidade. No entanto, a espécie parece estar suficientemente adaptada caso as mudanças no clima que venham a ocorrer não sejam tão severas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA-VAL, V.M.F.; OLIVEIRA, A.R.; SILVA, M.N.P.; FERREIRA-NOZAWA, M.S.; ARAÚJO, R.M.; VAL, A.L; NOZAWA, S.R. Anoxia and hypoxia-induced expression of LDH-A in the Amazon oscar, *Astronotus crassipinis*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 2, p. 315-322, 2011.

ALMEIDA-VAL, V.M.F.; VAL, A.L. Adaptação bioquímica em peixes da Amazônia. **Ciência Hoje**, v. 11, p. 62-67, 1990.

AMBRIZZI, T.; ROCHA, R.P.; MARENGO, J.A.; PISNITCHENCO, I.; NUNES, L.A.; FERNANDEZ, J.P.R. 2007. Cenários regionalizados de clima no Brasil e América do Sul para o século XXI: Projeções de clima futuro usando três modelos regionais. Relatório 3, Ministério do Meio Ambiente, 68. Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Diretoria de Conservação da Biodiversidade. São Paulo, SP. 108 pp.

ARUL, V. Effect of temperature on yolk utilization of *Channa striatus*. **Journal of Thermal Biology**, v. 16, n. 1, p. 1-5, 1991.

AZEVEDO, T.P.; WITTEN, P.E.; HUYSSEUNE, A.; BENSIMON-BRITO, A.; WINKLER, C.; TO, T.T.; PALMEIRIN, I. Interrelationship and modularity of notochord and somites: a comparative view on zebrafish and chicken vertebral body development. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, n. 3, p. 316-319, 2012.

BEGGS, G.L.; GUNN, J.M. Response of lake trout (*Salvelinus namaycush*) and brook trout (*S. fontinalis*) to surface water acidification in Ontario. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 30, n. 3, p. 711-717, 1986.

BEITINGER, T.L.; BENNETT, W.A.; MCCAULEY, R.W. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. **Environmental Biology of Fishes**, v. 58, n. 3, p. 237-275, 2000.

BIRD, C.B.; MABEE, P.M. Developmental morphology of the axial skeleton of the zebrafish, *Danio rerio* (Ostariophysi: Cyprinidae). **Developmental Dynamis**, v. 228, p. 337-357, 2003.

BOGLIONE, C.; GAVAIA, P.; KOUMOUNDOUROS, G.; GISBERT, E.; MOREN, M.; FONTAGNÉ, S.; WITTEN, P.E. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 1: normal and anomalous skeletogenic processes. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, n. S1, p. S99-S120, 2013ª.

BOGLIONE, C.; GISBERT, E.; GAVAIA, P.; WITTEN, P.E.; MOREN, M.; FONTAGNÉ, S.; KOUMOUNDOUROS, G. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, n. S1, p. S121-S167, 2013[b].

BOGLIONE, C.; MARINO, G.; GIGANTI, M.; LONGOBARDI, A.; DE MARZI, P.; CATAUDELLA, S. Skeletal anomalies in dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) juveniles reared with different methodologies and larval densities. **Aquaculture**, v. 291, n. 1-2, p. 48-60, 2009.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. 1992. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Auburn, Auburn University, 183 p.

BRASIL, Ministério da Pesca e Aquiultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011. Ministério da Pesca e Aquicultura, Brasil, 2011.

CAHU, C.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; TAKEUCHI, T. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. **Aquaculture**, v. 227, p. 245-258, 2003.

CAI, W.; BORLACE, S.; LENGAIGNE, M.; VAN RENSCH, P.; COLLIN, M.; VECCHI, G.; TIMMERMANN, A.; SANTOSO, A.; MCPHADEN, M.J.; WU, L.; ENGLAND, M.H.; WANG, G.; GUILYARDI, E.; JIN, F.F. Increasing frequency of extreme El Niño events due to greenhouse warming. **Nature Climate Change**, v. 4, p. 111-116, 2014.

CAMARA, E.M.; CARAMASCHI, E.P.; PETRY, A.C. Fator de condição: bases conceituais, aplicações e perspectivas de uso em pesquisas ecológicas com peixes. **Oecologia Australis**, v. 15, n. 2, p. 249-274, 2011.

CASTELLO, L.; MACEDO, M.N. Large-scale degradation of Amazonian freshwater ecosystems. **Global Change Biology**, 2015. Artigo aceito para publicação.

CHAGAS, E.C.; VAL, A.L. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 397-402, 2003.

CHIPPARI-GOMES, A.R.; GOMES, L.C.; LOPES, N.P.; VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F. Metabolic adjustments in two Amazonian cichlids exposed to hypoxia and

anoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 141, p. 347-355, 2005.

CUBBAGE, C.C.; MABEE P.M. Development of the Cranium and Paired Fins in the Zebrafish *Danio rerio* (Ostariophysi, Cyprinidae). **Journal of Morphology**, v. 229, p. 121-160, 1996.

DEAN, M.N.; SHAHAR, R. The structure - mechanics relationship and the response to load of the acellular bone of neoteleost fish: a review. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, n. 3, p. 320-329, 2012.

DIONÍSIO, G.; CAMPOS, C.; VALENTE, L.M.P.; CONCEIÇÃO, L.E.C.; CANCELA, M.L.; GAVAIA, P.J. Effect on egg incubation temperature on the occurrence of skeletal deformities in *Solea senegalensis*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, n. 3, p. 471-476, 2012.

DIXSON, D.L.; MUNDAY, P.L.; JONES, G.P. Ocean acidification disrupts the innate ability of fish to detect predator olfactory cues. **Ecology Letters**, v. 13, n. 1, p. 68-75, 2010.

FÉ, L.M.L. **Expressão gênica e atividade enzimática da L-Lactato Desidrogenase (LDH) de *Paracheirodon axelrodi* (Schultz 1956) e *Paracheirodon simulans* (Géry 1963) expostos aos cenários climáticos previstos pelo IPCC para o ano de 2100**. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA, Manaus, 2014.

FEELY, R.A.; SABINE, C.L.; LEE, K.; BERELSON, W. KLEYPAS, J.; FABRY, V.J.; MILLERO, F.J. Impact of Anthropogenic $CO_2$ on the $CaCO_3$ system in the oceans. **Science**, v. 305, n. 5682, p. 362-366, 2004.

FISHBASE. *Colossoma* macropomum (http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/819d6a87a748f6d1bf45619ce1dc03ab). Acesso em: 13/01/2016.

FLORINDO, L.H.; LEITE, C.A.C.; KALININ, A.L.; REID, S.G.; MILSOM, W.K.; RANTIN, F.T. The role of branchial and orobranchial $O_2$ chemoreceptors in the control of aquatic surface respiration in the Neotropical fish tambaqui (*Colossoma macropomum*): progressive responses to prolonged hypoxia. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 9, p. 1709-1715, 2006.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture. 243 pp, 2014.

FOSTER, T.; FALTER, J.L.; MCCULLOCH, M.T.; CLODE, P.L. Ocean acidification causes structural deformities in juvenile coral skeletons. **Science Advances**, v. 2 (2), p. 1-7, 2016.

FRIEDLINGSTEIN, P.; HOUGHTON, R.A.; MARLAND, G.; HACKLER, J.; BODEN, T.A.; CONWAY, T.J.; CANADELL, J.G.; RAUPACH, M.R.; CIAIS, P.; LE QUÉRÉ, C. Update on $CO_2$ emissions. **Nature Geoscience**, v. 3, n. 12, p. 811-812, 2010.

FRIIS-CHRISTENSEN, E.; LASSEN, K. Length of the solar cycle: an indicator of solar activity closely associated with climate. **Science**, v. 254, n. 5032, p. 698-700, 1991.

FROESE, R. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 22, n. 4, p. 241-253, 2006.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. Cartilagem e Tecido Ósseo. Em: GARTNER, L.P.; HIATT, J.L (Eds.). Tratado de Histologia em Cores. Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 2007, p. 133-161.

GEORGA, J.; GLYNATSI, N.; BALTZOIS, A.; KARAMANOS, D.; MAZURAIS, D.; DARIAS, M.J.; CAHU, C.L.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; KOUMOUNDOUROS, G. Effect of vitamin A on the skeletal morphogenesis of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). **Aquaculture Research**, v. 42, n. 5, p. 684-692, 2011.

GEORGAKOPOULOU, E.; KATHARIOS, P.; DIVANACH, P.; KOUMOUNDOUROS, G. Effect of temperature on the development of skeletal deformities in Gilthead seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). **Aquaculture**, v. 308, n. 1-2, p. 13-19, 2010.

GERLACH, T. Volcanic versus anthropogenic carbon dioxide. **Eos**, v. 92, n. 24, p. 201-202, 2011.

GISBERT, E.; MERINO, G.; MUGUET, J.B.; BUSH, D.; PIEDRAHITA, R.H.; CONKLIN, D.E. Morphological development and Allometric growth patterns in

hatchery-reared California halibut larvae. **Journal of Fish Biology**, v. 61, n. 5, p. 1217-1229, 2002.

GOMES, L.C.; SIMÕES, L.N.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Orgs.) Espécies Nativas para Piscicultura no Brasil. Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, Editora UFSM, 2013, p. 175-204.

GREEN, B.S.; FISHER, R. Temperature influences swimming speed, growth and larval duration in coral reef fish larvae. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 299, n. 1, p. 115-132, 2004.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Transporte de Oxigênio e de Dióxido de Carbono no Sangue e em Outros Líquidos Corporais. Em: Guyton, A.C.; HALL, J.E. (Eds.) **Tratado de Fisiologia Médica**. Nona Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 1996. p. 377-385.

HAINES, T.A. Acidic precipitation and its consequences for aquatic ecosystems: a review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 110, n. 6, p. 669-707, 1981.

HALL, B.K. Bones and Cartilage: Developmental Skeletal Biology. 760 p. Elsevier, London, 2005.

HARDY, R.S.; LITVAK, M.K. Effects of temperature on the early development, growth, and survival of shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, and Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrhynchus*, yolk-sac larvae. **Environmental Biology of Fishes**, v. 70, n. 2, p. 145-154, 2004.

HAYASHI, M.; KITA, J.; ISHIMATSU, A. Acid-base responses to lethal aquatic hypercapnia in three marine fishes. **Marine Biology**, v. 144, n. 1, p. 153-160, 2003.

HILL, D.K.; MAGNUSON, J.J. Potential effects of global climate warming on the growth and prey consumption of great lakes fish. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 119, p. 265-275, 2011.

HILL, R.W.; WYSE, G.A.; ANDERSON, M. Introdução à Fisiologia do Oxigênio e do Dióxido de Carbono. Em: HILL, R.W.; WYSE, G.A.; ANDERSON, M. (Eds.) Fisiologia Animal (2ª Ed.), pp. 531-545, 2012.

HOEGH-GULDBERG, O.; MUMBY, P.J.; HOOTEN, A.J.; STENECK, R.S.; GREENFIELD, P.; GOMEZ, E.; HARVELL, C.D.; SALE, P.F.; EDWARDS, A.J.; CALDEIRA, K.; KNOWLTON, N.; EAKIN, C.M.; IGLESIAS-PRIETO, R.; MUTHIGA, N.; BRADBURY, R.H.; DUBI, A.; HATZIOLOS, M.E. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. **Science**, v. 318, p. 1737-1742, 2007.

IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*) 2007. Synthesis Report: An Assessment of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 73 p.

IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*) 2014. Synthesis Report: Summary for Policymakers, 31 p.

ISHIMATSU, A.; HAYASHI, M.; KIKKAWA, T. Fishes in high-$CO_2$, acidified oceans. **Marine Ecology Progress Series**, v. 373, p. 295-302, 2008.

ISHIMATSU, A.; HAYASHI, M.; LEE, K.S.; KIKKAWA, T.; KITA, J. Physiological effects on fishes in a high-$CO_2$ world. **Journal of Geophysical Research**, v. 110, n. C9, p. 1-8, 2005

ISHIMATSU, A.; KIKKAWA, T; HAYASHI, M.; LEE, K.S.; KITA, J. Effects of $CO_2$ on marine fish: larvae and adults. **Journal of Oceanography**, v. 60, n. 4, p. 731-741, 2004.

IZQUIERDO, M.S.; SOCORRO, J.; ROO, J. Studies on the appearance of skeletal anomalies in red porgy: effect of culture intensiveness, feeding habits and nutritional quality of live preys. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 26, n. 2, p. 320-326, 2010.

JAKSIC, F.M. Ecological effects of El Niño in terrestrial ecosystems of western South America. **Ecography**, v. 24, n. 3, p. 241-250, 2001.

JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J.; MALHEIROS, E.B.; PORTELLA, M.C. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, v. 221, n. 1-4, p. 277-287, 2003.

JUNK, W.J.; BAILEY, P.B.; SPARKS, R.E. The flood pulse concept in river-floodplain systems. In: DODGE, D.P. (ed.) **Proceedings of the International Large River Symposium**, p.110-127, 1989.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Tecido Ósseo. Em: JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. (Eds.) Histologia Básica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, p. 135-152.

KARL, T.R.; TRENBERTH, K.E. Modern Global Climate Change. **Science**, v. 302, p. 1719-1723, 2003.

KOUMOUNDOUROS, G.; DIVANACH, P.; ANEZAKI, L.; KENTOURI, M. Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Marine Biology**, v. 139, n. 5, p. 817-830, 2001.

KOVAK, V. Synchrony and heterochrony in ontogeny (of fish). **Journal of Theoretical Biology**, v. 217, n. 4, p. 499-507, 2002.

KOVEN, C.D.; SCHUUR, E.A.G.; SCHADEL, C.; BOHN, T.J.; BURKE, E.J.; CHEN, G.; CHEN, X.; CIAIS, P.; GROSSE, G.; HARDEN, J.W. et al. A simplified, data-constrained approach to estimate the permafrost carbon-climate feedback. **Philosophical Transactions A**, v. 373, p. 1-23, 2015.

LALL, S.P.; LEWIS-MCCREA, L.M.L. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish - an overview. **Aquaculture**, v. 267, p. 3-19, 2007.

LEE, K.S.; KITA, J.; ISHIMATSU, A. Effects of lethal levels of environmental hypercapnia on cardiovascular and blood-gas status in yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. **Zoological Science**, v. 20, n. 4, p. 417-422, 2003.

LEITÃO, N.J.; PAI-SILVA, M.D.; ALMEIDA, F.L.A.; PORTELLA, M.C. The influence of initial feeding on muscle development and growth in pacu *Piaractus mscopotamicus* larvae. **Aquaculture**, v. 315, n. 1-2, p. 78-85, 2011.

LIMA-JUNIOR, S.E.; CARDONE, I.B.; GOITEIN, R. Determination of a method for calculation of Allometric Condition Factor of fish. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 2, p. 397-400, 2002.

LINNEA, A.; DIBBLE, M.V.; TURKIKI, P.R.; MITCHELL, H.S.; RYNBERGEN, H.J. **Nutrição**, Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1998.

LOPES, T.S.; FREITAS, T.M.; JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J.; PORTELLA, M.C. Skeletal anomalies of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, larvae from a wild-caught broodstock. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 1, p. 15-27, 2014.

MACKIE, E.J.; AHMED,Y.A.; TATARCZUCH, L.; CHEN, K.-S.; MIRAMS, M. Endochondral ossification: How cartilage is converted into bone in the developing skeleton. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 40, p. 46-62, 2008.

MASS, C.F.; PORTMAN, D.A. Major volcanic eruptions and climate: a critical evaluation. **Journal of Climate**, v. 2, p. 566-593, 1989.

MCDONALD, D.G. The effects of $H^+$ upon the gills of freshwater fish. **Canadian Journal of Zoology**, v. 61, n. 4, p. 691-703, 1983.

MCPHADEN, M.J. The child prodigy of 1997-98. **Nature**, v. 398, p. 559-562, 1999.

MENOSSI, O.C.C.; TAKATA, R.; SÁNCHEZ-AMAYA, M.I.; FREITAS, T.M.; YÚFERA, M.; PORTELLA, M.C. Crescimento e estruturas do sistema digestório de larvas de pacu alimentadas com dieta microencapsulada produzida experimentalmente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 1, p. 1-10, 2012.

MORIN-KENSICKI, E.M.; MELANCON, E.; EISEN, J.S. Segmental relationship between somites and vertebral column in zebrafish. **Development**, v. 129, n. 16, p. 3851-3860, 2002.

MUNDAY, P.L.; DIXSON, D.L.; DONELSON, J.M.; JONES, G.P.; PRATCHETT, M.S.; DEVITSINA, G.V.; DØVING, K.B. Ocean acidification impairs olfactory discrimination and homing ability of a marine fish. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 6, p. 1848-1852, 2009.

NALON, M.A.; MATTOS, I.F.A.; FRANCO, G.A.D.C. Meio físico e aspectos da fragmentação da vegetação. Em: Diretrizes para a Conservação e Restauração da Biodiversidade no Estado de São Paulo. Programa BIOTA/FAPESP, São Paulo - Brasil, 2008.

NICIEZA, A.G.; METCALFE, N.B. Growth compensation in juvenile Atlantic salmon: responses to depressed temperature and food availability. **Ecology**, v. 78, n. 8, p. 2385-2400, 1997.

NOBLE, C.; JONES, H.A.C.; DAMSGARD, B.; FLOOD, M.J.; MIDLING, K.Ø.; ROQUE, A.; SÆTHER, B.S.; COTTEE, S.Y. Injuries and deformities in fish: their

potential impacts upon aquacultural production and welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 61-83, 2012.

NOBRE, C.A.; SAMPAIO, G.; SALAZAR, L. Mudanças Climáticas e Amazônia. **Ciência e Cultura**, v. 59, p. 22-27, 2007.

OLIVEIRA, A.M. **Influência da temperatura ambiental e dos cenários climáticos futuros sobre os ácidos graxos ω-3 e ω-6 e desempenho zootécnico do tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 2014. 138 f. Tese (Doutorado). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA, Manaus, 2014.

OU, M.; HAMILTON, T.J.; EOM, J.; LYALL, E.M.; GALLUP, J.; JIANG, A.; LEE, J.; CLOSE, D.A.; YUN, S.S.; BRAUNER, C.J. Responses of pink salmon to $CO_2$-induced aquatic acidification. **Nature Climate Change**, v. 5, p. 950-957, 2015.

PAGE, S.E.; SIEGERT, F.; RIELEY, J.O.; BOEHM, H.D.V.; JAYA, A.; LIMIN, S. The amount of carbon released from peat and forest fires in Indonesia during 1997. **Nature**, v. 420, p. 61-65, 2002.

PARRA, G.; YÚFERA, M. Feeding, physiology and growth responses in first-feeding gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae in relation to prey density. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 243, n. 1, p. 1-15, 2000.

PITTMAN, K.; YÚFERA, M.; PAVLIDIS, M.; AUDREY, A.J.; KOVEN, W.; RIBEIRO, L.; ZAMBONINO-INFANTE, J.L.; TANDLER, A. Fantastically plastic: fish larvae equipped for a new world. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, n. S1, p. S224-S267, 2013.

POLO, A.; YÚFERA, M.; PASCUA, E. Effects of temperature on egg and larval development of *S. aurata* L. **Aquaculture**, v. 92, p. 367-375, 1991.

PORTELLA, M.C.; JOMORI, R.K.; LEITÃO, N.J.; MENOSSI, O.C.C.; FREITAS, T.M.; KOJIMA, J.T.; LOPES, T.S.; CLAVIJO-AYALA, J.A.; CARNEIRO, D.J. Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. **Aquaculture**, v. 432, p. 402-417, 2014.

PORTELLA, M.C.; LEITÃO, N.J.; TAKATA, R.; LOPES, T.S. Alimentação e Nutrição de Larvas. In: FRACALOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. (Eds.) NUTRIAQUA: Nutrição

e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis, Santa Catarina, Brasil: Ministério da Pesca e Aquicultura, 2012, 185-216.

PORTNER, H.O.; KNUST, R. Climate change affects marine fishes through the oxygen limitation of thermal tolerance. **Science**, v. 315, p. 95-97, 2007.

PORTNER, H.O.; LANGENBUCH, M. Synergistic effects of temperature extremes, hypoxia, and increases in $CO_2$ on marine animals: from Earth history to global change. **Journal of Geophysical Research**, v. 110, p. 1-15, 2005.

POTTHOFF, T. Clearing and staining techniques. In: MOSER, H.G.; RICHARDS, W.J.; COHEN, D.M.; FAHAY, M.P.; KENDALL JR., A.W.; RICHARDSON, S.L. (Eds.) Ontogeny and Systematics of Fishes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Special Publication, p. 35-37, 1984.

REYNAUD, S.; LECLERCQ, N.; ROMAINE-LIOUD, S.; FERRIER-PAGÉS, C.; JAUBERT, J.; GATTUSO, J.P. Interacting effects of $CO_2$ partial pressure and temperature on photosynthesis and calcification in a scleractinian coral. **Global Change Biology**, v. 9, p. 1660-1668, 2003.

ROSENZWEIG, C.; KAROLY, D.; VICARELLI, M.; NEOFOTIS, P.; WU, Q.; CASASSA, G.; MENZEL, A.; ROOT, T.L.; ESTRELLAS, N.; SEGUIN, B.; TRYJANOWSKI, P.; LIU, C.; RAWLINS, S.; IMESON, A. Attributing physical and biological impacts to anthropogenic climate change. **Nature**, v. 453, p. 353-358, 2008.

SAINT-PAUL, U. Diurnal routine $O_2$ consumption at different $O_2$ concentrations by *Colossoma macropomum* and *Colossoma brachypomum* (Teleostei: Serrasalmidae). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 89, n. 4, p. 675-682, 1988.

SAINT-PAUL, U.; SOARES, G.M. Diurnal distribution and behavioral responses of fishes to extreme hypoxia in an Amazon floodplain lake. **Environmental Biology of Fishes**, v. 20, n. 2, p. 91-104, 1987.

SALAZAR, L.F.; NOBRE, C.A.; OYAMA, M.D. Climate change consequences on the biome distribution in tropical South America. **Geophysical Research Letters**, v. 34, p. 1-6, 2007.

SAYER, M.D.J.; READER, J.P.; DALZIEL, T.R.K. Freshwater acidification: effects on the early life stages of fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 3, n. 2, p. 95-132, 1993.

SCHAEFER, K.; ZHANG, T.; BRUHWILLER, L.; BARRETT, A.P. Amount and timing of permafrost carbon release in response to climate warming. **Tellus B**, v. 63, p. 165-180, 2011.

SELF, S.; RAMPINO, M.R. The relationship between volcanic eruptions and climate change: still a conundrum? **Eos**, v. 69, n. 6, p. 74-86, 1988.

SUNDIN, L.; REID, S.G.; RANTIN, F.T.; MILSOM, W.K. Branchial receptors and cardiorespiratory reflexes in a neotropical fish, the tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal of Experimental Biology**, v. 203, p. 1225-1239, 2000.

TACON, A.G.J. Application of nutrient requirement data under practical conditions: special problems of intensive and semi-intensive fish farming systems. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 11, n. 3-4, p. 205-214, 1995.

TESCH, F.W. Age and growth. In: RICKER, W.E. (Ed.) Methods for assessment of fish production in fresh waters. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1968 p. 93-123.

TSENG, Y.C.; HU, M.Y.; STUMPP, M.; LIN, L.Y.; MELZNER, F.; HWANG, P.P $CO_2$-driven seawater acidification differentially affects development and molecular plasticity along life history of fish (*Oryzias latipes*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v. 165, n. 2, p. 119-130, 2013.

VIEIRA, V.L.A.; JOHNSTON, I.A. Muscle development in the tambaqui, an important Amazonian food fish. **Journal of Fish Biology**, v. 49, p. 842-853, 1996.

VIEIRA, V.L.A.; JOHNSTON, I.A. Temperature and neuromuscular development in the tambaqui. **Journal of Fish Biology**, v. 55, n. SA, p. 66-83, 1999.

VILLACORTA-CORREA, M.A.; SAINT-PAUL, U. Structural indexes and sexual maturity of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) in central Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, n. 4, 1999.

WARGELIUS, A.; FJELLDAL, P.G.; HANSEN, T. Heat shock during early somitogenesis induces caudal vertebral column defects in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Development Genes and Evolution**, v. 215, n. 7, p. 350-357, 2005.

WERTH, D.; AVISSAR, R. The local and global effects of Amazon deforestation. **Journal of Geophysical Research**, v. 107, n. D20, 8087, 2002.

WILLEMSEN, H.; KAMERS, B.; DAHLKE F.; HAN, H.; SONG, Z.; PIRSARAEI, Z.A.; TONA, K.; DECUYPERE, E.; EVERAERT, N. High and low temperature manipulation during late incubation: effects on embryonic development, the hatching process, and metabolism in broilers. **Poultry Science**, v. 89, p. 2678-2690, 2010.

WILSON, S.M.; NAGLER, J.J. Age, but not salinity, affects the upper lethal temperature limits for juvenile walleye (*Sander vitreus*). **Aquaculture**, v. 257, n. 1-4, p. 184-193, 2006

YÚFERA, M.; DARIAS, M.J. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. **Aquaculture**, v. 268, n. 1-4, p. 53-63, 2007.

ZANIBONI-FILHO, E.; MEURER, S. Limitações e potencialidades do cultivo de tambaqui (*Colossoma macropomum*) na região subtropical brasileira. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 24 (edição especial), p. 169-172, 1997.

ZHAO, M.; PITMAN, A.J.; CHASE, T. The impact of land cover change on the atmospheric circulation. **Climate Dynamics**, v. 17, p. 467-477, 2001.