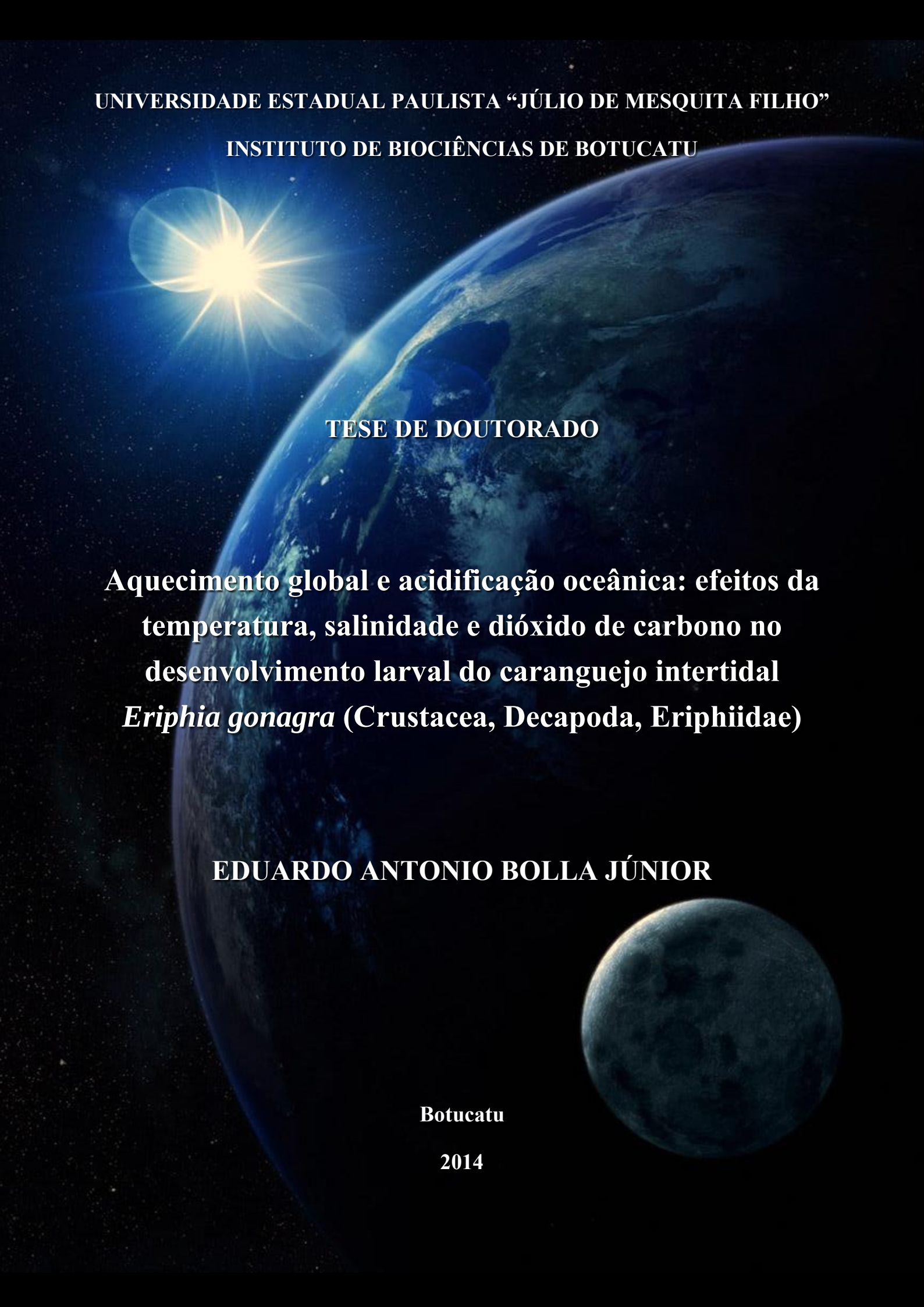




UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

TESE DE DOUTORADO

**Aquecimento global e acidificação oceânica: efeitos da
temperatura, salinidade e dióxido de carbono no
desenvolvimento larval do caranguejo intertidal
Eriphia gonagra (Crustacea, Decapoda, Eriphiidae)**

EDUARDO ANTONIO BOLLA JÚNIOR

Botucatu

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS**

TESE DE DOUTORADO

Aquecimento global e acidificação oceânica: efeitos da temperatura, salinidade e dióxido de carbono no desenvolvimento larval do caranguejo intertidal *Eriphia gonagra* (Crustacea, Decapoda, Eriphiidae)

Eduardo Antonio Bolla Júnior

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Lucia Negreiros Fransozo

Coorientador: Prof. Dr. Álvaro Montenegro Neto

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – *Campus* Botucatu, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciências, curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração: Zoologia.

**Botucatu – SP
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Bolla Júnior, Eduardo Antonio.

Aquecimento global e acidificação oceânica : efeitos da temperatura, salinidade e dióxido de carbono no desenvolvimento larval do caranguejo intertidal *Eriphia gonagra* (Crustacea, Decapoda, Eriphiidae) / Eduardo Antonio Bolla Júnior. - Botucatu, 2014

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Maria Lucia Negreiros Fransozo

Coorientador: Alvaro Montenegro Neto

Capes: 20406010

1. Variações climáticas. 2. Efeito estufa (Atmosfera). 3. Aquecimento global. 4. Caranguejo - Larva - Crescimento. 5. Biologia do desenvolvimento.

Palavras-chave: Alterações climáticas; Efeito estufa; Larvicultura; Morfologia; Sistema recirculante.



NEBECC

Núcleo de Estudos em Biologia,
Ecologia e Cultivo de Crustáceos

“Sabemos que todas as coisas cooperam para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito”

Romanos 8:28

Dedico este trabalho aos meus pais **Eduardo Antonio Bolla e Cleide Lucia do Carmo Bolla**, e ao meu filho **Mateus de Matos Bolla**. Sem o incomparável apoio, incentivo, carinho e compreensão de todos vocês, em todos os momentos da minha vida, eu não teria chegado até aqui. É POR e PARA vocês que nunca desistirei. Amo todos vocês!

Agradecimentos

A Deus, primeiramente, por mais esta etapa cumprida em minha vida, e por sempre estar comigo em todos os momentos!

À prof^a. Dr^a. Maria Lucia Negreiros Fransozo pela orientação, dedicação, amizade, ensinamentos, conselhos e pela confiança depositada em mim durante este trabalho. Agradeço por moldar minhas idéias, compartilhar todo o seu conhecimento sobre os crustáceos, e pelo exemplo de profissionalismo, o qual tentarei empregar durante toda minha carreira.

Ao prof. Dr. Álvaro Montenegro Neto pela coorientação que, mesmo à distância, sempre esteve presente e disposto a ajudar. Agradeço por me incentivar, me apoiar e me oferecer todo o suporte na busca das soluções dos problemas enfrentados para a realização deste trabalho.

Ao prof. Dr. Adilson Fransozo por todos os ensinamentos sobre os crustáceos e a vida marinha, amizade e confiança, além do auxílio no desenvolvimento deste trabalho. Obrigado também pelos conselhos que me ajudaram a decidir qual o melhor caminho a seguir.

À agência financiadora FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela bolsa de estudo concedida e pelo fornecimento de verbas necessárias para a montagem do laboratório, coletas e análises dos materiais, essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências, UNESP campus de Botucatu, pelas facilidades obtidas e aos seus funcionários: Flávio da Silva, Hamilton A. Rodrigues, Silvio Almeida, Carolina Lopes e, em especial, Juliana Ramos por sua supercompetência.

Ao curso de pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Concentração Zoologia), deste Instituto, pelas facilidades concedidas e aos funcionários, em especial Herivaldo, David e Luciana, por sempre estarem dispostos a ajudar.

Ao companheiro Rafael Augusto Gregati (Xuxa), pela amizade, pelas dicas e conselhos durante a elaboração deste trabalho, pela ajuda com a elaboração do sistema e por todos os momentos de descontração. Valeu mano!

Aos amigos Douglas, Samara, Mariana (Magrela) e Tiago (Xuxu) por me ajudarem durante as criações larvais na limpeza dos recipientes, alimentação das larvas, procura pelas exúvias etc., e também pelas dicas, conselhos e conversas durante o café.

Aos companheiros “antigos” e atuais do NEBECC, por compartilhar o conhecimento dos crustáceos e pelos momentos de descontração: Ariádine, Gustavo Teixeira (Guga), Kátia, Michele, Vivian, Douglas, Samara, Daniel, Mariana (Magrela), Paloma, Luciana, Israel,

Rafaela, Tiago (Cabelo), Tiago (Xuxu), Eduardo Degani, Gustavo (Gari), Augusto, Felipe, Manu, Bárbara, Marciano, Geslaine, Raphael, Milena, Joyce, Ana Karolyne, Dino, Gilson, Laura, Dani (Valderrama), Rafael Gregati, Gustavo Hirose (Japa), Bruno Pralon (Pessoa), Juliana Moraes (Toninha), enfim, e mais todos àqueles que minha memória falha em lembrar, mas que foram importantes para minha aprendizagem, durante todo este trabalho.

Às amigas Juliana (Leg) e Suzana (Urucu) pela amizade, pelos momentos de alegria e descontração, pelos conselhos pessoais e pela ajuda nos momentos mais difíceis.

Ao amigo Vinícius (Bauduku) pela amizade, companheirismo, pelas risadas, por estar sempre disposto a ajudar e a aconselhar, por escutar meus desabafos e por me ajudar a atravessar todos os momentos difíceis que enfrentei desde a graduação.

Ao meu filho Mateus, pelo amor e carinho incondicionais que me dão forças para enfrentar o que vier. Obrigado pelos abraços que me proporcionam felicidade e alegria por você ser meu filho. Tenho muito orgulho de você!

Em especial, à minha namorada Geslaine Gonçalves, pelo amor e cuidados dispensados durante todo este período que estamos juntos. Obrigado por sempre ter me ajudado, seja durante meus experimentos, seja na vida pessoal, por me apoiar, escutar, aconselhar, não ter desistido, me suportar (principalmente nos momentos de mau humor, que não foram poucos...) e sempre estar disposta a me receber com um sorriso! Você é muito importante para mim...

À minha mãe Cleide, pai Eduardo e irmão Ericson, por todo amor, carinho e dedicação que proporcionaram em minha vida. Obrigado por me ajudarem a formar o que sou hoje, e por não medirem esforços para que eu tivesse a melhor educação possível. Que sorte ter nascido nesta família!

E por último, mas não menos importante, à você, leitor deste trabalho, que escolheu lê-lo entre tantos outros. Sem você, este trabalho não teria sentido. Obrigado!

SUMÁRIO

Considerações Iniciais	1
Apresentação	3
Referências	5
Capítulo 1: Novo modelo de sistema recirculante para criação individual na investigação dos efeitos das alterações climáticas sobre organismos marinho	7
Resumo	9
Introdução	10
Material e Métodos	12
Análise dos resultados e avaliação do sistema	25
Referências	33
Capítulo 2: Efeitos da acidificação por CO₂, aquecimento e variações de salinidade no desenvolvimento larval de <i>Eriphia gonagra</i> (Fabricius, 1781)	38
Resumo	40
Introdução	41
Material e Métodos	46
Resultados	53
Discussão	104
Referências	120
Considerações Finais	133
Apêndice	136



Considerações Iniciais

Mudanças climáticas e seus impactos sobre os oceanos

Há cerca de 250 anos, durante o início da revolução industrial, a concentração de CO₂ atmosférico era cerca de 280 ppm. Atualmente, esta concentração aumentou para mais de 390 ppm (Widdicombe & Needham, 2007; Fabry *et al.*, 2008; Tans, 2014). Este aumento, causado primariamente pela queima de combustíveis fósseis (Wood *et al.*, 2008), é, muito provavelmente, o principal responsável pelo acréscimo da temperatura global e vem sendo relacionado aos impactos ambientais associados às mudanças climáticas (IPCC, 2007a; Widdicombe & Needham, 2007).

Os oceanos, até agora, têm absorvido um pouco menos de 50% de todas as emissões antropogênicas (Siegenthaler & Sarmiento, 1993; Lackner, 2003; Sabine *et al.*, 2004; Feely *et al.*, 2004). Ao entrar em contato com a superfície oceânica, o CO₂ atmosférico reage com a água marinha formando um ácido fraco, o ácido carbônico (H₂CO₃). Este ácido rapidamente dissocia-se nos íons [HCO₃⁻] (bicarbonato) e [H⁺] (Fabry *et al.*, 2008; Widdicombe & Spicer, 2008), em um processo que também leva à redução das concentrações do íon [CO₃⁻²] (carbonato). Um dos resultados finais é a redução do pH (acidificação) dos oceanos (Zeebe & Wolf-Gladrow, 2001; Caldeira & Wickett, 2003; Turley *et al.*, 2006; Arnold *et al.*, 2009).

Este aumento do CO₂, desde o início da revolução industrial, causou tanto a elevação da temperatura média de superfície marinha global em torno de 0,76°C (variando entre 0,57 e 0,95°C), como o decaimento de 0,1 unidades do pH superficial marinho global (pH médio atual: 8,1) (Caldeira & Wickett, 2003; Orr *et al.*, 2005; IPCC, 2007a). Além disso, alguns estudos atuais têm demonstrado um padrão sincrônico global de aumento acelerado na temperatura de superfície oceânica, no qual o calor de mares tropicais está sendo movido de uma forma pulsante em direção aos polos, podendo trazer inúmeras implicações para a humanidade, como maior intensidade de eventos extremos, incêndios florestais, ondas de calor, secas, derretimento de geleiras, entre outros (Reid & Beaugrand, 2012).

Quanto à salinidade, algumas estimativas apontam uma diminuição global (ver Antonov *et al.*, 2002), porém, limitações de amostragem em algumas regiões, principalmente no hemisfério sul, impedem a quantificação das incertezas associadas a essas estimativas (IPCC, 2007b). Contudo, verifica-se atualmente um aumento da salinidade em regiões de baixa latitude (devido às altas taxas de evaporação), e o inverso em regiões de altas latitudes (devido principalmente às altas taxas de precipitação e derretimento de geleiras) (IPCC, 2007b).

Considerando que futuras emissões de CO₂ são inevitáveis, não é irracional assumir que as concentrações de CO₂ atmosférico irão continuar a aumentar (Widdicombe & Needham, 2007). Segundo as projeções do IPCC (Painel Intergovernamental sobre Mudança Climática) (2007a), mesmo que as concentrações de CO₂ fossem estabilizadas imediatamente, o aquecimento global iria continuar por décadas. Simulações com modelos numéricos sugerem que, até o final deste século, dadas as incertezas quanto os níveis futuros de CO₂ atmosférico, o pH marinho poderá decrescer em até 0,4 unidades (pH 7,7) e a temperatura de superfície oceânica poderá aumentar entre 1 e 3°C, em média (Orr *et al.*, 2005; IPCC, 2007a). De acordo com Caldeira & Wickett (2003), ao redor do ano 2300, a concentração de CO₂ atmosférico pode chegar a 1900 ppm, acarretando o decaimento do pH marinho em até 0,77 unidades (pH 7,33). Tais mudanças drásticas no pH oceânico, provavelmente, ainda não tenham sido observadas durante os últimos 300 milhões de anos na história da Terra, com exceção de possíveis e raros eventos extremos (Pearson & Palmer, 2000; Caldeira & Wickett, 2003).

Uma técnica já bem desenvolvida, denominada armazenamento geológico de CO₂, consiste em injetar CO₂ no subsolo de reservatórios porosos rochosos e representa uma alternativa contra o aumento de CO₂ atmosférico (Holloway, 2005). Atualmente, este reconhecimento do potencial de armazenamento geológico é global, e diversos países estão em fase de implantação desta técnica, como EUA, Canadá, Austrália e Reino Unido (Widdicombe & Needham, 2007). No entanto, se aceita ser possível que ocorram vazamentos de reservatórios no leito oceânico ao longo do tempo (Hawkins, 2004) e, caso estes provem ser análogos aos vazamentos naturais de CO₂, poderá haver drásticas reduções do pH marinho nestas áreas (Widdicombe & Needham, 2007). Atualmente, os efeitos ambientais em pH marinho baixo são pouco conhecidos, portanto é extremamente necessário que se proceda estudos para avaliar e quantificar os possíveis impactos destes vazamentos em organismos e processos marinhos (Raven *et al.*, 2005).

Apresentação

A realização deste trabalho somente foi possível devido ao suporte técnico e infraestrutura disponível no Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos (NEBECC). Este consolidado grupo atua, desde sua formação, no estudo de inúmeros aspectos biológicos, ecológicos e reprodutivos de crustáceos decápodos, com ênfase aos ecossistemas existentes no litoral paulista. As instalações são excelentes, em razão dos suportes financeiros obtidos junto aos projetos financiados anteriormente pela

FAPESP (Infra II e IV, Biota/FAPESP e projetos individuais) e, também, pelo CNPq e CAPES, contando com laboratório de manutenção de decápodos adultos (96 m²) (FAPESP nº1998/9426-9 - Infra IV), laboratório de cultivo de larvas/juvenis e produção de alimentos vivos (30 m²) (FAPESP nº 1998/9426-9 - Infra IV), sala de microscopia (35 m²) com três microscópios (sendo um invertido) e cinco microscópios estereoscópicos (FAPESP BIOTA nº 98/07090-3 e FAPESP nº 98/3134-6), sala de coleção científica (24 m²) para o armazenamento das fêmeas reprodutivas e das larvas (FAPESP nº 95/08520-3 - Infra II), sala de preparação de material (triagem e fixação) (CAPES), um veículo Chevrolet S10 cabine dupla diesel para o transporte da equipe nos trabalhos de campo (FAPESP nº 1998/3134-6) e acervo bibliográfico com cerca de 3500 separatas sobre vários aspectos biológicos dos crustáceos decápodos.

No entanto, apesar dos inúmeros trabalhos desenvolvidos desde 1988 pelos pesquisadores do NEBECC, este é o primeiro estudo que visa avaliar o efeito combinado do aumento da temperatura, da variação da salinidade e da diminuição do pH, a partir de cenários realistas previstos para o futuro, no desenvolvimento larval de crustáceos decápodos, além de verificar a influência do aumento do CO₂ (hipercapnia) e consequente diminuição do pH (acidose) em larvas de braquiúros.

A presente tese foi organizada em 2 capítulos. Com o objetivo de reproduzir, em laboratório, as condições previstas pelos cenários futuros, foi necessário desenvolver um sistema aquático que aliasse o controle e a manutenção dos fatores abióticos, relacionados às mudanças climáticas no ambiente marinho, com a possibilidade de manter criações individuais das larvas nessas condições. No Capítulo 1, este sistema desenvolvido encontra-se descrito e avaliado, com base em sua estabilidade, eficiência, limitações e adaptações a outras condições. O segundo capítulo apresenta os resultados obtidos a partir das criações larvais do caranguejo *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781) nesse sistema, em condições estressantes de temperatura, acidez e salinidade, avaliando-se vários aspectos de seu desenvolvimento larval, entre os quais, sobrevivência, período de intermuda, massa corpórea, conteúdo de cálcio e magnésio, crescimento e morfologia.

Referências

- Antonov, J.I.; Levitus, S. & Boyer, T.P. 2002. Steric sea level variations during 1957-1994: Importance of salinity. *J. Geophys. Res.*, 107: 8013.
- Arnold, K.E.; Findlay, H.S.; Spicer, J.I.; Daniels, C.L. & Boothroyd, D. 2009. Effect of CO₂-related acidification on aspects of the larval development of the European lobster, *Homarus gammarus* (L.). *Biogeosciences Discuss.*, 6: 3087-3107.
- Caldeira, K. & Wickett, M.E. 2003. Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425: 365.
- Fabry, V.J.; Seibel, B.A.; Feely, R.A. & Orr, J.C. 2008. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *J. Mar. Sci.*, 65: 414-432.
- Feely, R.A.; Sabine, C.L.; Lee, K.; Berelson, W.; Kleypas, J.; Fabry, V.J. & Millero, F.J. 2004. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the ocean. *Science*, 305, 362-366.
- Hawkins, D.G. 2004. No exit: thinking about leakage from geologic carbon storage sites. *Energy*, 29: 1571-1578.
- Holloway, S. 2005. Underground sequestration of carbon dioxide – a viable greenhouse gas mitigation option. *Energy*, 30: 2318-2333.
- IPCC, 2007a. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Parry, M.L.; Canziani, O.F.; Palutikof, J.P.; van der Linden, P.J. & Hanson, C.E. (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, 976pp.
- IPCC, 2007b. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M.; Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.B.; Tignor, M. & Miller, H.L. (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 996pp.
- Lackner, L.S. 2003. A guide to CO₂ sequestration. *Science*, 300: 1677-1678.
- Orr, J.C.; Fabry, V.J.; Aumont, O.; *et al.* 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*, 437: 681-686.
- Pearson, P.N. & Palmer, M.R. 2000. Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years. *Nature*, 406: 695-699.
- Raven, J.; Caldeira, K.; Elderfield, H.; Hoegh-Guldberg, O.; Liss, P.; Riebesell, U.;

- Shepherd, J.; Turley, C. & Watson, A. 2005. *Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide*. The Royal Society policy document 12/05, Clyvedon Press, Cardiff, 68p.
- Reid, P.C. & Beaugrand, G. 2012. Global synchrony of an accelerating rise in sea surface temperature. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 92(7): 1435-1450.
- Sabine, C.L.; Feely, R.A.; Gruber, N.; Key, R.M.; Lee, K.; Bullister, J.L.; Wanninkhof, R.; Wong, C.S.; Wallace, D.W.R.; Tilbrook, B.; Millero, F.J.; Peng, T.H.; Kozyr, A.; Ono, T. & Rios, A.F. 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305: 367-371.
- Siegenthaler, U. & Sarmiento, J L. 1993. Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature*, 365: 119-125.
- Tans, P. 2014. Recent monthly average Mauna Loa CO₂. NOAA/ESRL. Disponível em: <<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. Acesso em: 03 jan. 2014.
- Turley, C.; Blackford, J.C.; Widdicombe, S.; Lowe, D.; Nightingale, P.D. & Rees, A.P. 2006. Reviewing the impact of increased atmospheric CO₂ on oceanic pH and the marine ecosystem. *In*: Schellnhuber, H.J.; Cramer, W.; Nakjencovic, N.; Wigley, T. & Yohe, G. (eds), *Avoiding dangerous climate change*, Chapter 8. Cambridge University Press, Cambridge, p 65-70.
- Widdicombe S. & Needham, H.R. 2007. Impact of CO₂-induced seawater acidification on the burrowing activity of *Nereis virens* and sediment nutrient flux. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 341: 111-122.
- Widdicombe, S. & Spicer, J.I. 2008. Predicting the impact of ocean acidification on benthic biodiversity: What can animal physiology tell us? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 366: 187-197.
- Wood, H.L.; Spicer, J.I. & Widdicombe, S. 2008. Ocean acidification may increase calcification, but at a cost. *Proc. Roy. Soc. B.*, 275: 1767-1773.
- Zeebe R.E. & Wolf-Gladrow, D.A. 2001. CO₂ in seawater: equilibrium, kinetics, isotopes. Elsevier Oceanography Series, 65: 346.



Capítulo 1

**Novo modelo de sistema recirculante para criação
individual na investigação dos efeitos das alterações
climáticas sobre organismos marinhos**

Resumo

Avaliações sobre os possíveis impactos das crescentes emissões de CO₂, por ação antrópica, nos oceanos e as consequentes alterações sobre a biota marinha, são indispensáveis para elaboração de medidas mitigatórias. Deste modo, torna-se imprescindível o desenvolvimento de sistemas aquáticos, cujas variáveis abióticas se assemelhem ao máximo às condições marinhas previstas para o futuro. Apresenta-se aqui a descrição de um novo modelo de sistema recirculante, capaz de proporcionar controle e estabilidade de condições pré-estabelecidas para o pH, temperatura e salinidade, em conjunto com a manutenção individual de organismos para investigações experimentais de curta ou longa duração. Este sistema apresenta 2 aquários interligados ao sistema de filtragem, perfazendo um total de 70 litros de água marinha. Para avaliação da estabilidade e eficiência do sistema, foram utilizados os resultados obtidos nas criações larvais do caranguejo *Eriphia gonagra*, durante toda fase zoeal (~30 dias), em diferentes cenários realísticos previstos pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas – IPCC. Verificou-se que o sistema manteve a temperatura, pH, salinidade, oxigênio dissolvido, amônia, nitrito e variáveis do sistema carbonato estáveis e nos níveis desejados. Verificou-se que a independência dos componentes deste sistema permite sua fácil adaptação para outros tipos de estudo ou organismos. O sistema demonstrou ser útil em experimentos laboratoriais de pequena escala e possibilita estudos adicionais com grande replicação, principalmente nesta área de pesquisa ainda com alta carência de dados fundamentais.

Palavras-chave: acidificação oceânica, aquecimento global, microcosmo, larvicultura, caranguejo.

Introdução

A maioria das avaliações dos impactos ambientais, associados às mudanças climáticas como efeito da ação antrópica (maiores detalhes em “Considerações Iniciais”), iniciou-se com estudos a partir de modelagem numérica (Byron & Goldman, 1990; Regier *et al.*, 1990), monitoramento a longo prazo (Schindler *et al.*, 1990; George & Taylor, 1995; Güss *et al.*, 2000; Scheffer *et al.*, 2001), ou ainda estudos paleoecológicos (Leavitt *et al.*, 1997; Vinebrooke *et al.*, 1998; Finney *et al.*, 2000). Tais estudos contribuíram consideravelmente no avanço do conhecimento das potenciais condições e consequências das alterações climáticas previstas.

Entretanto, a necessidade de se avaliar os possíveis efeitos destas mudanças, em condições específicas e pré-controladas, em momentos particulares e/ou cruciais, durante um curto período ou em todo o ciclo de vida de determinadas espécies, levou os pesquisadores a se interessarem em tentar reproduzir tais condições em laboratório. Os primeiros sistemas aquáticos criados para elucidar as respostas fisiológicas dos organismos marinhos às misturas de vários gases, entre eles, o dióxido de carbono (CO₂), valiam-se de técnicas relativamente simples de saturação da água com os gases, e não havia a tentativa de replicar condições ambientais realísticas, pois a resposta biológica era o principal objetivo. Como resultado, frequentemente obtinha-se consumo excessivo dos gases e não havia monitoramento acurado de seus níveis (ver Dales *et al.*, 1970). Os sistemas aquáticos desenvolvidos, em seguida, passaram a utilizar técnicas mais rigorosas de injeção de CO₂, particularmente por meio de bombas de mistura precisa de gases, antes de este ser borbulhado na água marinha (Pörtner, 1987; Cameron & Iwama, 1987). No entanto, o alto custo apresentado por estas bombas, caso fossem utilizadas apenas por curtos períodos de tempo ou para poucos tratamentos, acabava limitando a aplicabilidade dessa técnica.

Considerando que um dos efeitos esperados das mudanças climáticas no ambiente marinho é a acidificação oceânica pelo aumento de CO₂ dissolvido (IPCC, 2007), uma das técnicas mais utilizadas para acidificação, atualmente, é o borbulhamento de CO₂ diretamente em água marinha, cujo pH é ajustado por meio de sensores conectados a sistemas eletrônicos, que controlam diretamente a injeção do gás via retroalimentação (*feedback*) (ver Kurihara & Shirayama, 2004; Kurihara *et al.*, 2004; Berge *et al.*, 2005; Michaelidis *et al.*, 2005; Metzger *et al.*, 2007; Widdicombe & Needham 2007; Findlay *et al.*, 2008; Arnold *et al.*, 2009; Walther *et al.*, 2010; Walther *et al.*, 2011). Da mesma forma, tais

sistemas eletrônicos de controle também possuem custo elevado, ficando sua utilização restrita aos grandes centros de pesquisa.

Os sistemas desenvolvidos e amplamente utilizados atualmente, ora não apresentam sistemas recirculantes com filtragem para criação dos organismos (ver Arnold *et al.*, 2009), o que implicaria em altos custos com relação à produção ou coleta de água para trocas regulares, ora apresentam reduzidos espaços disponíveis para os organismos (ver Findlay *et al.*, 2008) devido à necessidade dos sistemas serem selados para reproduzir condições atmosféricas previstas, ou ainda, uma das características de maior importância, não permitem a criação para a avaliação individual de organismos não sésseis, dificultando estudos que envolvam sobrevivência, crescimento e/ou duração de fases de vida.

Neste sentido, desenvolver um sistema recirculante de baixo custo com filtragem, fácil manutenção, estável, que permita tanto o controle de vários fatores abióticos (facilitando estudos, por exemplo, sobre os efeitos das mudanças climáticas) quanto à avaliação individual de vários aspectos biológicos (sobrevivência, crescimento, desenvolvimento de larvas, juvenis e adultos de espécies alvo) torna-se necessário.

O sistema aqui proposto foi desenvolvido para manutenção de larvas do caranguejo *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781), durante toda a fase zoeal, em diferentes condições de acidez, temperatura e salinidade, em conformidade com cenários realísticos futuros (detalhes no capítulo 2). Serão apresentados aspectos sobre a estabilidade, precisão, eficiência e reprodutibilidade do sistema, bem como alguns detalhes sobre possíveis melhorias ou adaptações do mesmo para outros tipos de estudos.

Material e Métodos

Design do sistema experimental

O sistema experimental, elaborado para avaliar os possíveis efeitos das alterações climáticas nas criações larvais do caranguejo *E. gonagra*, está representado na figura 1. Este sistema consiste de três módulos interligados (dois aquários com 0,40 m × 0,23 m × 0,25 m, e um reservatório [caixa plástica tipo Marfinite®] com 0,70 m × 0,50 m × 0,40 m), formando um sistema com recirculação de água que totaliza cerca de 70 litros de água do mar, dispostos da seguinte forma:

- Aquários A e B, utilizado para manutenção dos organismos;
- Reservatório C, onde ocorre o controle da acidez, temperatura, salinidade e filtragem da água de todo o sistema.

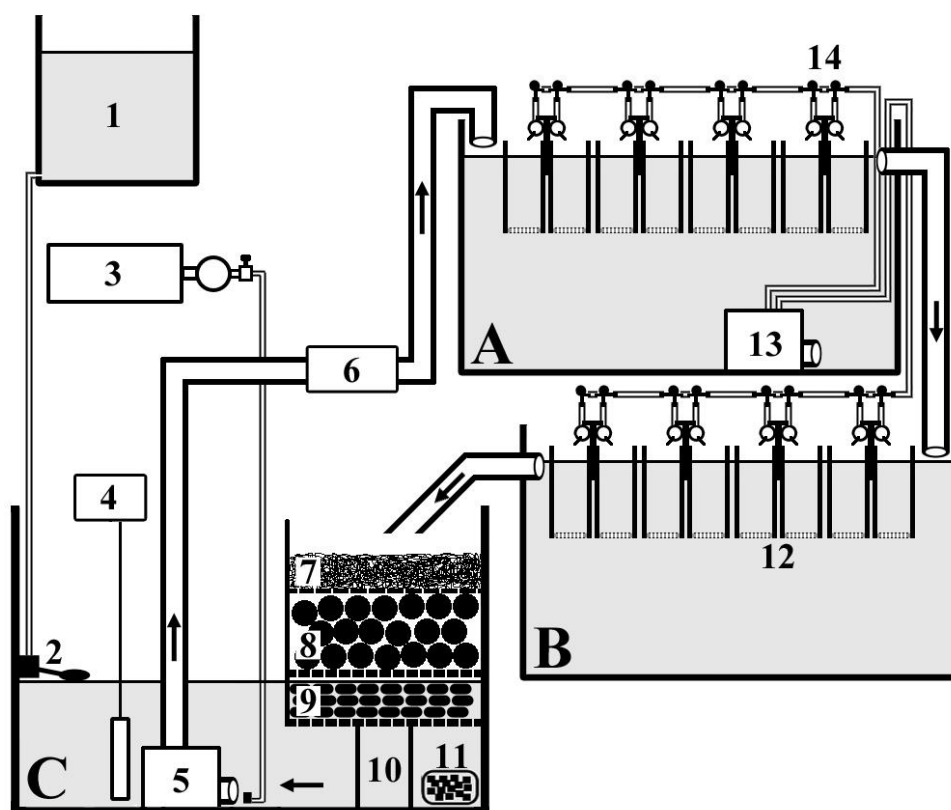


Figura 1. Sistema experimental recirculante para a manutenção larval, em laboratório. A e B, aquários com 0,45 m × 0,20 m × 0,30 m para manutenção das larvas; C, reservatório com 0,70 m × 0,50 m × 0,40 m para o sistema de filtragem; 1= reservatório de água doce; 2= boia plástica para reposição de água doce; 3= cilindro de CO₂; 4= aquecedor com termostato; 5= bomba de recalque; 6= lâmpada UV; 7= lã acrílica; 8= *bio balls*; 9= cerâmica porosa; 10= suporte do sistema de filtragem; 11= carvão ativado; 12= recipientes (“R1”) com fundo de tela; 13= bomba de recalque do sistema de gotejamento; 14= sistema para gotejamento dentro dos recipientes. Flechas pretas indicam o sentido do fluxo de água.

No sistema experimental (Fig. 2), a circulação é iniciada por meio da subida da água por uma bomba de recalque (650 L/h) (Fig. 1, nº 5), que é irradiada por uma lâmpada UV (ultravioleta de 15 W) (Fig. 1, nº 6), até o aquário A. Em seguida, a água passa para o aquário B por gravidade (o aquário B é posicionado em um nível ligeiramente inferior – cerca de 90 mm – ao nível do aquário A), a qual também age para retornar a água ao reservatório C (localizado em nível inferior ao aquário B). Durante a queda d'água para o reservatório C, esta atravessa o filtro do sistema, do tipo “dry-wet” (Fig. 3).

No processo de filtração, a água passa de modo ativo por uma malha grossa de lã acrílica (“perlon”) (Fig. 1, nº 7) (lavada para remoção de detritos semanalmente e substituída mensalmente), por *bio balls* (Fig. 1, nº 8) e cerâmica porosa (Fig. 1, nº 9). Estes componentes são colocados, respectivamente, em 3 recipientes de plástico (Tupperware®) sobrepostos, com inúmeras perfurações (~3 mm) em todo fundo. É importante ressaltar que neste tipo de filtro, as *bio balls* não devem ficar submersas, ao contrário da cerâmica porosa. Para isto, é colocado um suporte sob os recipientes de plástico (Fig. 1, nº 10), feito com tubo de PVC (4 polegadas de diâmetro e 200 mm de comprimento) previamente furado por toda sua extensão para permitir circulação de água. Como parte do processo de filtração, há ainda, dentro do reservatório, uma bolsa de malha fina (~2 mm) contendo carvão ativado (Fig. 1, nº 11) (substituído a cada 18 dias, aproximadamente).



Figura 2. Sistema de manutenção larval em vista geral, com reservatório (C na Fig. 1) à esquerda e aquários de criação (A e B na Fig. 1) à direita.



Figura 3. Detalhe do filtro no reservatório, utilizado no sistema de manutenção larval. A, lã acrílica (perlon); B, “bio balls”; C, cerâmica porosa; D, carvão ativado. Seta branca = boia plástica para reposição de água deionizada no sistema (Fig. 1, nº 2).

As larvas são mantidas, neste sistema, dentro de recipientes (denominados como “R1”) com fundo de tela (Fig. 1, nº 12) de diâmetro de 125 μm , material que é comumente utilizado para redes de plâncton. Para a montagem destes recipientes, um quadrado (55 mm de lado) de tela é preso a um tubo de PVC (1,5 polegadas de diâmetro e 60 mm de comprimento) utilizando anéis com 5 mm de largura cortados a partir de luvas de PVC próprias para o diâmetro dos tubos (Fig. 4).

Duas placas de vidro, “1” (180 mm $\times$ 50 mm) e “2” (220 mm $\times$ 20 mm), são unidas, pelas suas maiores dimensões, com cola de silicone neutro (próprio para aquários), de forma que apresentem o aspecto da letra “T”, com a placa “1” disposta na vertical e a “2” na horizontal (deixa-se uma margem de 20 mm de cada lado da placa “2”, ou seja, a placa “1” é colada na região central da placa “2”). A placa “1” serve de suporte a cada recipiente de criação larval “R1” (também aderidos à placa com cola de silicone neutra), e a placa “2” mantém todo o conjunto de recipientes sobre a borda dos aquários de manutenção (Fig. 5). Os recipientes “R1” são aderidos à placa “1” de modo que, no final da montagem, a borda do lado aberto (oposto à tela) permaneça entre 5 e 10 mm acima do nível da água do aquário. Em cada placa “1” podem ser aderidos 10 recipientes “R1” (5 de cada lado), com exceção

das placas que permanecerão próximas à queda d'água do aquário A ao B, as quais podem conter 8 recipientes. Dessa forma, cada sistema totaliza 76 recipientes de criação larval (38 por aquário A e B).

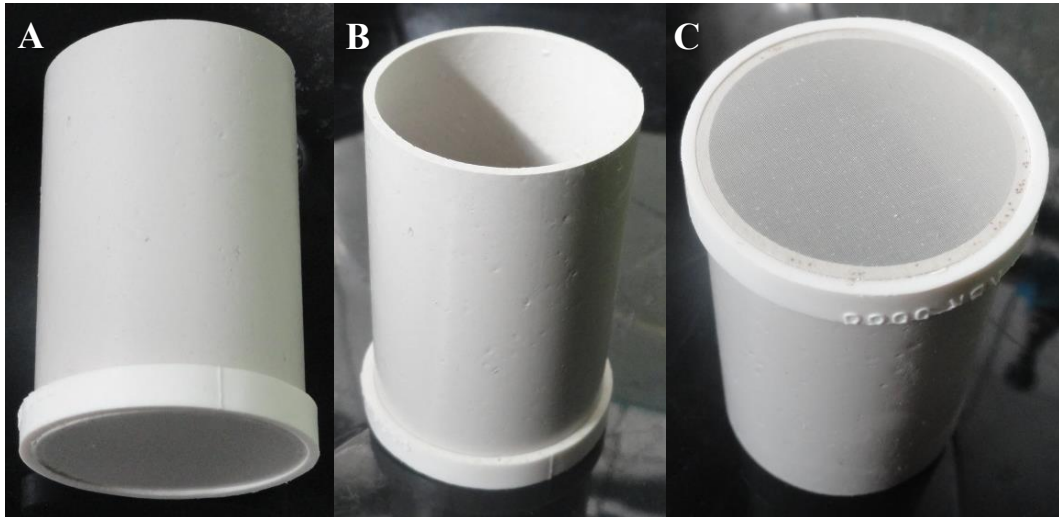


Figura 4. Recipiente de criação larval (R1). A, vista látero-inferior; B, vista látero-superior, C, detalhe do posicionamento da tela (malha 125µm) na parte inferior do recipiente.



Figura 5. Conjunto de recipientes (R1) de criação individual. A, vista superior; B, vista lateral; 1= placa de vidro “1”; 2= placa de vidro “2”.

Para certificar-se de que todos os recipientes de criação “R1” apresentem as mesmas condições ambientais, a taxa de circulação de água dentro dos mesmos foi aumentada por meio de um sistema de gotejamento (Fig. 1, nº 14). O desenho esquemático e as fotografias deste sistema já instalado são apresentados nas figuras de 6 a 9.

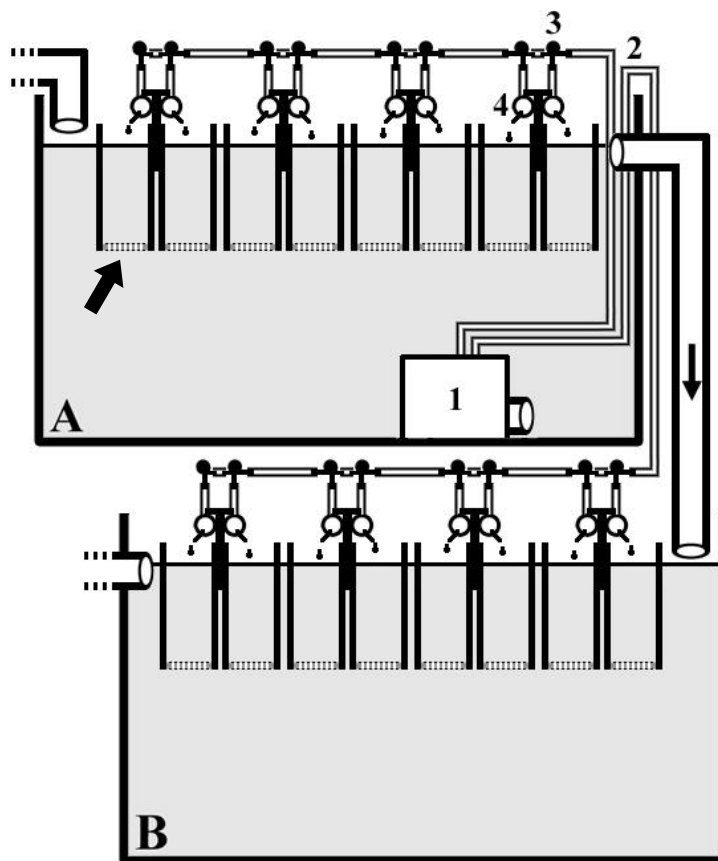


Figura 6. Detalhe dos aquários de manutenção larval e sistema de gotejamento. A, B= aquário para manutenção das larvas. Sistema de gotejamento: 1= bomba de recalque; 2= mangueiras de silicone; 3= divisores de ar (funcionam como “torneiras” para controle da vazão); 4= tubos de plástico com furos para queda das gotas. Seta = tela (malha 125µm) do fundo dos recipientes de criação larval (R1).

Este sistema consiste de uma bomba de recalque (Fig. 6, nº 1) (250 L/h) no primeiro aquário de manutenção larval, da qual partem duas mangueiras de silicone (Fig. 6, nº 2) que levam água do próprio aquário, passando por uma série de divisores de ar (Fig. 6, nº 3) (que funcionam como “torneiras” para controle de vazão), até tubos de plástico (0,5 polegadas de diâmetro) presos em ambos os ângulos retos formados pelas placas de vidro “1” e “2” de cada conjunto de recipientes larvais (Fig. 6, nº 4). Estes tubos de plástico possuem suas extremidades vedadas com silicone neutro, e 5 pequenos furos são feitos no lado voltado

para os recipientes de criação. Por sua vez, nestes pequenos furos são introduzidas pequenas cânulas (1,5 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento), de forma que a água que entra no tubo de plástico sai pelas cânulas na forma de gota (~ 2 gotas por segundo), caindo dentro dos recipientes “R1” de criação e formando, assim, o gotejamento. O controle do fluxo de água é feito por meio das “torneiras” (divisores de ar).



Figura 7. Detalhe do sistema de gotejamento em cada conjunto de recipiente de criação larval. Note que, sobre cada recipiente, há uma caída de água, promovendo circulação contínua e individual. Seta= divisor de ar, com função de “torneira”.



Figura 8. Detalhe da bomba de recalque (seta) que fornece circulação de água para o sistema de gotejamento.



Figura 9. Detalhe do gotejamento nos recipientes de criação larval.

Além disso, outro aparato pode ser adicionado ao sistema experimental de modo a aumentar a capacidade de manutenção larval. Dentro do reservatório (C na Fig. 1), são adicionados dois tubos de PVC, de 4 polegadas de diâmetro e 150 mm de comprimento, nos quais em uma das extremidades é colocada uma tela de malha 125 μm , da mesma forma que nos recipientes “R1” de criação larval. Em torno destes tubos coloca-se uma tira de Isopor[®], que os mantém suspensos verticalmente com a outra extremidade a cerca de 20 mm acima do nível da água no reservatório, formando recipientes de criação massiva (denominados como “R2”). Uma mangueira de silicone, acoplada na saída de água da bomba de recalque do reservatório, leva água do sistema para dentro deste recipiente “R2” por meio de um orifício em sua borda superior, promovendo circulação interna e oxigenação e, ainda, mantendo a água nas mesmas condições físicas e químicas dos outros recipientes “R1” de criação. As figuras 10 e 11 apresentam em detalhes estes recipientes “R2”.

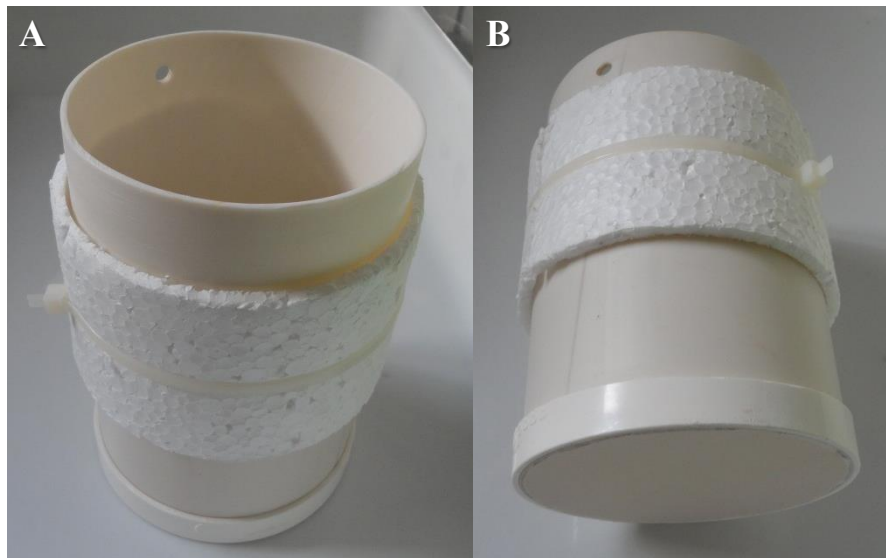


Figura 10. A, vista látero-superior e B, vista látero-inferior do recipiente de criação massiva “R2”.



Figura 11. A, vista geral dos recipientes de criação massiva “R2” dentro do reservatório; B, detalhe do recipiente “R2”, com circulação contínua de água.

Design do sistema berçário

Além do sistema experimental, elaborou-se outro sistema com a função de manutenção de fêmeas ovígeras até o momento da eclosão larval, denominado de sistema “berçário”. Este sistema, cuja representação esquemática está apresentada na figura 12,

consiste de 2 módulos interligados (dois aquários com $0,45\text{ m} \times 0,20\text{ m} \times 0,30\text{ m}$), formando um sistema de recirculação com cerca de 40 litros de água do mar, dispostos da seguinte maneira:

- Aquário D, utilizado para a manutenção das fêmeas ovígeras, com rochas para acesso a parte seca (refúgio), além do sistema de captação larval (adaptado de Calado *et al.*, 2007 e Gregati *et al.*, 2010);
- Aquário E, utilizado para captação e manutenção das larvas até a transferência das mesmas para o sistema experimental.

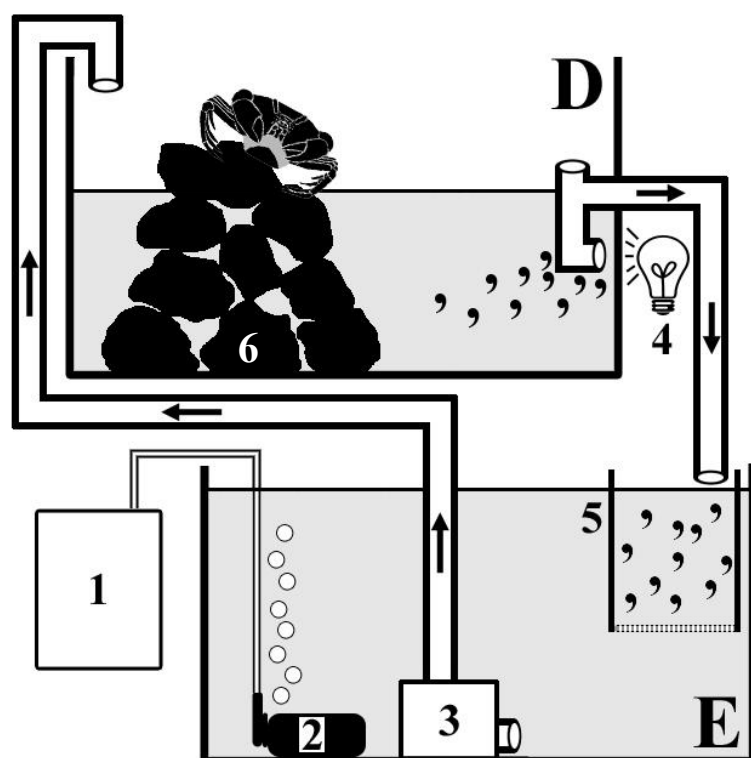


Figura 12. Sistema “berçário” para eclosão dos ovos em laboratório. D, aquário com $0,45\text{ m} \times 0,20\text{ m} \times 0,30\text{ m}$ para manutenção das fêmeas ovígeras; E, aquário com $0,45\text{ m} \times 0,20\text{ m} \times 0,30\text{ m}$ para captação das larvas; 1, bomba de aeração; 2, filtro de espuma; 3, bomba de recalque; 4, fonte luminosa; 5, recipiente de captação larval; 6, rochas (filtro do tipo “rocha viva”) para acesso à parte seca; ♀ larvas.

No sistema “berçário”, a circulação inicia-se pela subida da água do aquário E ao D, por meio de uma bomba de recalque (Fig. 12, nº 3) (250 l/h). A água retorna ao aquário E por gravidade, passando pelo sistema de captação larval. Este sistema é formado por tubos de PVC ($\frac{3}{4}$ de polegada), utilizando-se uma conexão 90° (cotovelo) inicial, ligado a um tubo

de 40 mm de comprimento, seguido por uma conexão “T” ligada a um flange de PVC. A queda da água ao aquário E ocorre por uma conexão 45°, seguido por um tubo de 60 mm de comprimento, que despeja a água dentro de um recipiente de plástico retangular com tela de malha 125 µm nas 4 laterais (Fig. 12, nº 5). Este recipiente é utilizado para concentrar as larvas.

Após a eclosão, as larvas são atraídas por fonte luminosa (Fig. 12, nº 4) disposta externamente ao aquário D, próximo à conexão 90° (cotovelo) e, por gravidade, levadas ao recipiente de plástico que contém, previamente, nauplii recém-eclodidos de *Artemia* sp., renovados diariamente. A filtragem deste sistema “berçário” ocorre em ambos os aquários D e E, por meio de filtro do tipo espuma (aquário E) (Fig. 12, nº 2) e filtro biológico do tipo “rocha viva” (aquário D), o qual também é utilizado como rampa de acesso à parte seca pelas fêmeas. As Figuras 13 e 14 apresentam o sistema “berçário” em detalhe após montagem completa.



Figura 13. Sistema “berçário”, em vista geral.



Figura 14. Detalhe do sistema de captação larval no “berçário”. As larvas são atraídas por fonte luminosa (1), e mantidas no recipiente (2) até a transferência para o sistema de manutenção larval.

Medição e controle dos fatores abióticos

A acidificação da água ocorre por meio da injeção ativa de gás carbônico no reservatório do sistema experimental, utilizando-se um cilindro de reservatório de gás CO₂ (4 Kg) com regulador (1º estágio) e manômetro, válvula solenoide, divisor de gás para ajuste fino (kit de CO₂ Aquamazon[®] A-3000) e conta-bolha (ajuste do CO₂ para cada tratamento) (Figura 15).

Neste processo, o CO₂ que sai do cilindro passa pela válvula solenoide (cuja função é interromper o fluxo do gás em caso de queda de energia), é distribuído pelos divisores de gás (o número de divisores utilizados é calculado de acordo com o número de sistemas que serão acidificados, sendo uma saída do divisor para cada sistema), passando por conta-bolhas. Estes foram confeccionados a partir de tubos de plástico de tampa com vedação. Cada tubo é perfurado no fundo e na tampa para introduzir as mangueiras de silicone com CO₂ e no interior do tubo adiciona-se água doce, permitindo a contagem das bolhas de gás. A partir dos conta-bolhas, mangueiras de silicone levam o CO₂ para dentro do reservatório do sistema experimental, diretamente para a entrada de água da bomba de recalque. Na porção final das mangueiras de silicone coloca-se uma pequena pedra porosa que, aliada à rotação das pás da bomba de recalque, libera o gás na forma de micro bolhas, facilitando a dissolução do CO₂ na água, além de proporcionar economia do mesmo. De modo geral, adotou-se a técnica de acidificação descrita por Widdicombe & Needham (2007).

O controle do pH, em cada sistema, é realizado pelo ajuste manual dos divisores de ar e contagem de bolhas por minuto. Diariamente, aferiu-se o pH dentro dos recipientes larvais dos sistemas, utilizando-se pHmetro portátil digital com compensação de temperatura, marca Hanna[®], Misura Line modelo ML-1010, provido de sensor de pH (precisão $\pm 0,01$ pH) e de temperatura (precisão $\pm 0,4^{\circ}\text{C}$).

O controle da temperatura ocorre por meio de aquecedor (200 W) com termostato (precisão de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$) disposto dentro do reservatório do sistema experimental e, diariamente, realizou-se a medição com o mesmo sensor de temperatura do pHmetro.

Com relação à salinidade, uma vez ajustada para cada tratamento (utilizando refratômetro de mão convencional), esta é controlada por meio de acréscimos de água deionizada no sistema, por meio de reservatório de água doce conectado a uma boia plástica, que mantém o nível da água no reservatório do sistema (Fig. 3, seta branca). A salinidade foi verificada semanalmente por refratômetro convencional.

Semanalmente, verificou-se a taxa de oxigênio dissolvido, após a estabilização dos parâmetros definidos para cada tratamento, utilizando-se sonda multiparâmetros, marca EUREKA, modelo manta 2 (4.0"). Os sistemas também foram avaliados semanalmente, quanto aos teores de amônia e nitrito, utilizando-se “kits” comerciais de escala colorimétrica.

A alcalinidade total (A_T) do sistema foi obtida pelo método de titulação proposto por Mackereth *et al.* (1978). As variáveis do sistema carbonato (carbono inorgânico dissolvido [CID], concentração de carbonato [CO_3^{2-}] e saturação de calcita [Ω_{cal}] e aragonita [Ω_{arag}]) foram calculadas a partir das medições de pH e A_T , utilizando-se a macro CO2sys para Microsoft Office Excel[®] (Pierrot *et al.*, 2006), versão 2.1, com as constantes de dissociação de Mehrbach *et al.* (1973) reajustadas por Dickson & Millero (1987), e KSO_4 usando Dickson (1990).

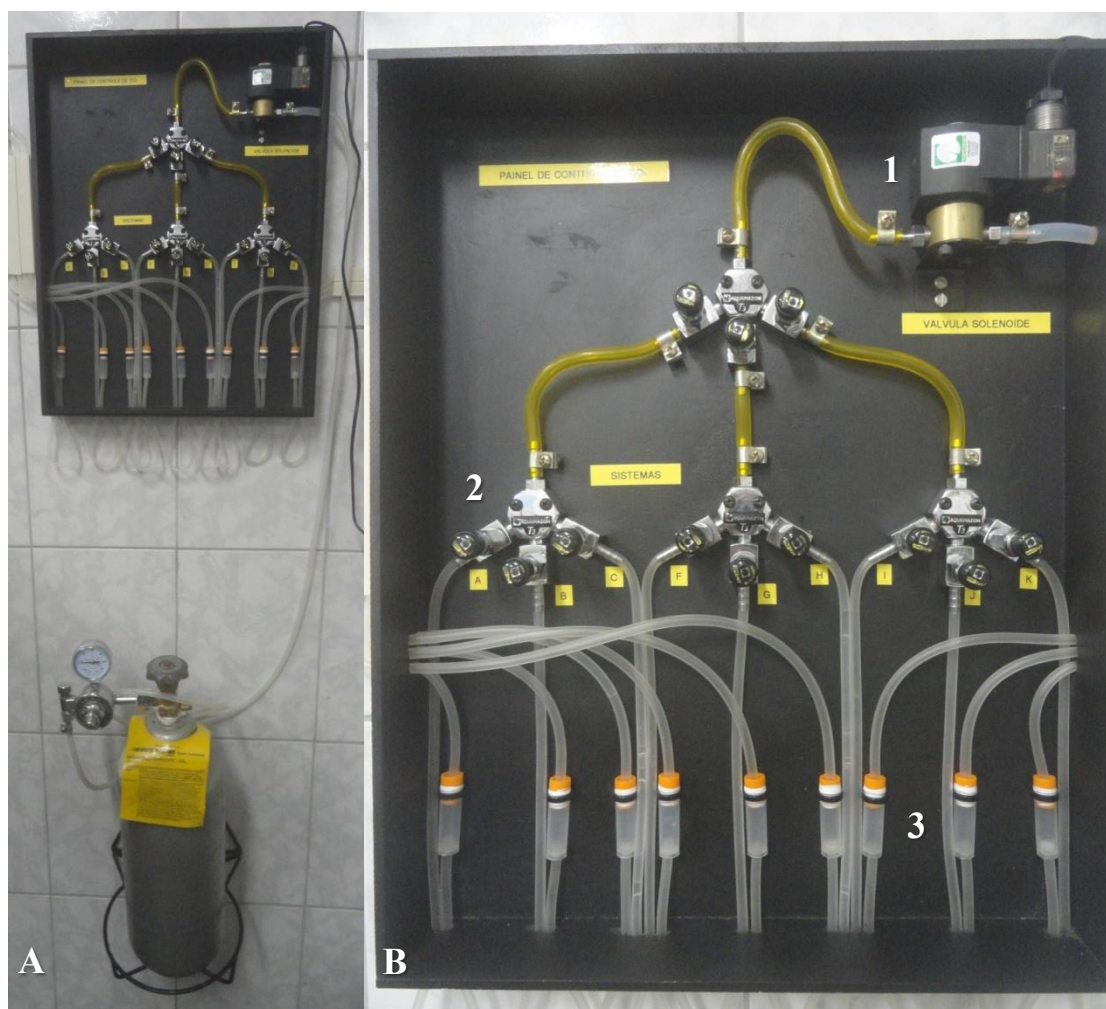


Figura 15. Aparato de distribuição de CO₂ para os sistemas de manutenção larval. A, sistema completo, com cilindro de CO₂ (4,0 Kg) abaixo e painel de controle acima; B, detalhe do painel de controle com válvula solenoide (1), divisores de gás com ajuste fino (2) e conta-bolhas (3).

Análise dos resultados e avaliação do sistema

Os sistemas permaneceram em funcionamento durante todo período de experimentação das criações larvais (cerca de 30 dias), mantendo-se os níveis de pH, temperatura e salinidade nos valores estabelecidos para cada experimento (36 tratamentos resultantes da combinação entre 4, 3 e 3 valores de pH, temperatura e salinidade, respectivamente; maiores detalhes do Capítulo 2). Os fatores abióticos aferidos e os calculados para o sistema carbonato estão apresentados na tabela 1. Os baixos valores de desvio padrão observados, de modo geral, demonstram a capacidade de estabilização do sistema, como um todo.

Em relação à acidificação, observou-se que esta se manteve estável durante todo funcionamento do sistema, demonstrando que é possível a regulação manual dos divisores de gás em conjunto com o sistema de conta-bolhas, sem a necessidade de um controle eletrônico. Verificou-se que o pH do sistema alcança a estabilidade por volta de 6 a 8 horas após o início da injeção de gás CO₂ (nos tratamentos que requereram maior acidez – pH 6,7). De modo geral, o consumo de gás variou pouco e foi proporcional à salinidade, ou seja, os tratamentos de menor e maior salinidade exigiram menores e maiores injeções de gás CO₂ para atingir os valores dos tratamentos, respectivamente. O cilindro reservatório de gás CO₂ utilizado neste sistema (4 Kg) foi capaz de manter os níveis de pH de 9 tratamentos (3 em pH 6,7; 3 em pH 7,3 e 3 em pH 7,7) estáveis entre 17 e 21 dias (dependendo da salinidade dos experimentos). Dessa forma, recomenda-se utilizar um cilindro de maior capacidade ou manter um cilindro sobressalente para eventuais estudos com estimativa de duração superior a 15 dias.

O sistema de aquecimento também mostrou-se eficiente em estabilizar a temperatura dos tratamentos. Durante os experimentos, mantinha-se a temperatura ambiente abaixo dos 25°C (menor temperatura dos tratamentos), justamente para permitir que a temperatura dos sistemas fosse controlada unicamente pelos aquecedores. A relação de quase 3 watts de potência por litro de água dos mesmos foi suficiente para garantir estabilidade e segurança mesmo entre os tratamentos com temperatura mais elevada (32°C), principalmente nos períodos de criação realizados durante as estações frias (outono e inverno).

Tabela 1. Valores (média $\pm$ desvio padrão) dos fatores abióticos observados no sistema experimental desenvolvido. Sal = salinidade; Temp = temperatura ($^{\circ}\text{C}$); OD = oxigênio dissolvido (mg/L); %SatOD = percentagem de saturação de OD; A_T = alcalinidade total ($\mu\text{Eq/Kg}$); CID = carbono inorgânico dissolvido ($\mu\text{mol/Kg}$); $[\text{HCO}_3^-]$ = concentração de bicarbonato ($\mu\text{mol/Kg}$); $[\text{CO}_3^{2-}]$ = concentração de carbonato ($\mu\text{mol/Kg}$).

Tratamentos			Fatores abióticos aferidos						Fatores abióticos calculados*		
Sal	Temp	pH	Sal	Temp	pH	OD	%SatOD	A_T	CID	$[\text{HCO}_3^-]$	$[\text{CO}_3^{2-}]$
25	25	8,1	28 $\pm$ 0,1	25,0 $\pm$ 0,1	8,11 $\pm$ 0,08	5,80 $\pm$ 0,54	83,34 $\pm$ 5,43	2220 $\pm$ 13,7	2022 $\pm$ 17,6	1854 $\pm$ 24,6	153 $\pm$ 10,8
		7,7	28 $\pm$ 0,2	25,0 $\pm$ 0,1	7,72 $\pm$ 0,05	5,78 $\pm$ 0,32	78,41 $\pm$ 5,92	2213 $\pm$ 11,6	2156 $\pm$ 21,1	2044 $\pm$ 22,9	70 $\pm$ 8,5
		7,3	28 $\pm$ 0,2	25,0 $\pm$ 0,1	7,29 $\pm$ 0,09	5,80 $\pm$ 0,65	83,98 $\pm$ 6,23	2221 $\pm$ 8,5	2298 $\pm$ 21,7	2155 $\pm$ 11,3	28 $\pm$ 3,3
		6,7	28 $\pm$ 0,2	25,0 $\pm$ 0,2	6,74 $\pm$ 0,06	5,83 $\pm$ 0,60	86,4 $\pm$ 5,69	2219 $\pm$ 11,3	2666 $\pm$ 79,9	2201 $\pm$ 11,2	7 $\pm$ 1,5
	28	8,1	28 $\pm$ 0,2	28,0 $\pm$ 0,1	8,13 $\pm$ 0,08	5,48 $\pm$ 0,51	83,76 $\pm$ 5,86	2207 $\pm$ 3,7	1991 $\pm$ 15,3	1812 $\pm$ 21,7	165 $\pm$ 7,5
		7,7	28 $\pm$ 0,1	28,0 $\pm$ 0,2	7,74 $\pm$ 0,09	5,45 $\pm$ 0,66	82,76 $\pm$ 6,15	2222 $\pm$ 13,8	2158 $\pm$ 25,3	2043 $\pm$ 27,7	75 $\pm$ 9,1
		7,3	28 $\pm$ 0,1	28,0 $\pm$ 0,2	7,32 $\pm$ 0,12	5,49 $\pm$ 0,57	86,11 $\pm$ 6,18	2214 $\pm$ 11,3	2283 $\pm$ 38,3	2140 $\pm$ 20,4	31 $\pm$ 6,6
		6,7	28 $\pm$ 0,2	28,0 $\pm$ 0,2	6,73 $\pm$ 0,05	5,50 $\pm$ 0,53	86,87 $\pm$ 5,75	2216 $\pm$ 10,4	2646 $\pm$ 66,4	2196 $\pm$ 10,3	8 $\pm$ 1,4
	32	8,1	28 $\pm$ 0,1	32,0 $\pm$ 0,2	8,09 $\pm$ 0,06	5,17 $\pm$ 0,43	82,65 $\pm$ 6,04	2212 $\pm$ 8,7	1978 $\pm$ 24,5	1786 $\pm$ 38,1	178 $\pm$ 16,1
		7,7	28 $\pm$ 0,1	32,0 $\pm$ 0,2	7,68 $\pm$ 0,09	5,16 $\pm$ 0,41	81,08 $\pm$ 5,49	2214 $\pm$ 11,4	2138 $\pm$ 25,5	2017 $\pm$ 30,1	82 $\pm$ 11,7
		7,3	28 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,2	7,31 $\pm$ 0,11	5,20 $\pm$ 0,61	84,93 $\pm$ 6,02	2218 $\pm$ 13,9	2268 $\pm$ 22,8	2133 $\pm$ 17,3	36 $\pm$ 3,5
		6,7	28 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,1	6,71 $\pm$ 0,10	5,20 $\pm$ 0,43	85,86 $\pm$ 5,74	2214 $\pm$ 11,1	2619 $\pm$ 60,2	2192 $\pm$ 11,4	9 $\pm$ 1,2
35	25	8,1	35 $\pm$ 0,1	25,0 $\pm$ 0,1	8,07 $\pm$ 0,07	5,57 $\pm$ 0,38	85,98 $\pm$ 5,63	2479 $\pm$ 14	2230 $\pm$ 38,8	2026 $\pm$ 57,6	187 $\pm$ 22,7
		7,7	35 $\pm$ 0,2	25,0 $\pm$ 0,2	7,67 $\pm$ 0,10	5,56 $\pm$ 0,64	85,69 $\pm$ 5,65	2480 $\pm$ 8,2	2409 $\pm$ 32,6	2277 $\pm$ 38,5	84 $\pm$ 15
		7,3	35 $\pm$ 0,1	25,0 $\pm$ 0,2	7,27 $\pm$ 0,08	5,56 $\pm$ 0,69	85,29 $\pm$ 5,74	2472 $\pm$ 11,4	2549 $\pm$ 48	2386 $\pm$ 24,2	36 $\pm$ 7,7
		6,7	35 $\pm$ 0,2	25,0 $\pm$ 0,1	6,73 $\pm$ 0,09	5,59 $\pm$ 0,44	86,96 $\pm$ 6,22	2473 $\pm$ 10,6	2909 $\pm$ 94	2448 $\pm$ 10,8	11 $\pm$ 2,4
	28	8,1	35 $\pm$ 0,2	28,0 $\pm$ 0,2	8,07 $\pm$ 0,10	5,29 $\pm$ 0,58	86,96 $\pm$ 5,08	2479 $\pm$ 18,3	2188 $\pm$ 33,4	1959 $\pm$ 42,7	215 $\pm$ 11,8
		7,7	35 $\pm$ 0,1	28,0 $\pm$ 0,1	7,70 $\pm$ 0,07	5,32 $\pm$ 0,36	87,25 $\pm$ 6,02	2478 $\pm$ 13,5	2381 $\pm$ 33,1	2240 $\pm$ 39,7	99 $\pm$ 14,2
		7,3	35 $\pm$ 0,1	28,0 $\pm$ 0,2	7,30 $\pm$ 0,08	5,32 $\pm$ 0,63	86,86 $\pm$ 5,96	2473 $\pm$ 11,1	2528 $\pm$ 47,7	2372 $\pm$ 27,7	42 $\pm$ 9,2
		6,7	35 $\pm$ 0,2	28,0 $\pm$ 0,1	6,72 $\pm$ 0,09	5,26 $\pm$ 0,58	81,58 $\pm$ 5,84	2472 $\pm$ 9,4	2904 $\pm$ 130,9	2445 $\pm$ 13,7	11 $\pm$ 3
	32	8,1	35 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,1	8,08 $\pm$ 0,09	4,98 $\pm$ 0,50	83,74 $\pm$ 5,27	2481 $\pm$ 6,8	2171 $\pm$ 28,4	1928 $\pm$ 49,4	229 $\pm$ 23,3
		7,7	35 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,1	7,68 $\pm$ 0,06	5,00 $\pm$ 0,64	82,63 $\pm$ 5,47	2477 $\pm$ 10,9	2373 $\pm$ 23,4	2228 $\pm$ 30,5	104 $\pm$ 14,1
		7,3	35 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,1	7,34 $\pm$ 0,05	5,00 $\pm$ 0,47	82,56 $\pm$ 5,49	2480 $\pm$ 13,3	2505 $\pm$ 10,9	2359 $\pm$ 7,8	50 $\pm$ 5,3
		6,7	35 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,2	6,70 $\pm$ 0,08	5,01 $\pm$ 0,41	83,64 $\pm$ 6,08	2474 $\pm$ 13,3	2896 $\pm$ 100,7	2445 $\pm$ 12,6	12 $\pm$ 2,9
42	25	8,1	42 $\pm$ 0,1	25,0 $\pm$ 0,1	8,09 $\pm$ 0,07	5,28 $\pm$ 0,39	84,24 $\pm$ 5,73	2958 $\pm$ 5,1	2610 $\pm$ 54,2	2331 $\pm$ 84,7	261 $\pm$ 34,2
		7,7	42 $\pm$ 0,1	25,0 $\pm$ 0,1	7,71 $\pm$ 0,12	5,30 $\pm$ 0,39	83,91 $\pm$ 5,77	2953 $\pm$ 11,2	2822 $\pm$ 24,4	2648 $\pm$ 28,6	128 $\pm$ 9,4
		7,3	42 $\pm$ 0,1	25,0 $\pm$ 0,2	7,33 $\pm$ 0,09	5,29 $\pm$ 0,53	81,72 $\pm$ 5,54	2945 $\pm$ 11,2	2995 $\pm$ 37,1	2815 $\pm$ 24,9	54 $\pm$ 7
		6,7	42 $\pm$ 0,2	25,0 $\pm$ 0,2	6,68 $\pm$ 0,07	5,30 $\pm$ 0,59	82,99 $\pm$ 5,75	2949 $\pm$ 12,9	3423 $\pm$ 26,2	2914 $\pm$ 12,4	15 $\pm$ 0,9
	28	8,1	42 $\pm$ 0,2	28,0 $\pm$ 0,2	8,13 $\pm$ 0,09	5,04 $\pm$ 0,44	81,03 $\pm$ 5,86	2948 $\pm$ 11,9	2559 $\pm$ 25,2	2254 $\pm$ 39,4	290 $\pm$ 16,9
		7,7	42 $\pm$ 0,1	28,0 $\pm$ 0,1	7,69 $\pm$ 0,09	5,06 $\pm$ 0,68	83,79 $\pm$ 5,53	2943 $\pm$ 13,5	2794 $\pm$ 15,2	2612 $\pm$ 17,7	138 $\pm$ 7,4
		7,3	42 $\pm$ 0,2	28,0 $\pm$ 0,1	7,30 $\pm$ 0,11	5,03 $\pm$ 0,48	82,9 $\pm$ 5,8	2952 $\pm$ 5,5	2984 $\pm$ 32,5	2806 $\pm$ 21,5	61 $\pm$ 8,9
		6,7	42 $\pm$ 0,2	28,0 $\pm$ 0,1	6,73 $\pm$ 0,12	5,01 $\pm$ 0,59	79,4 $\pm$ 5,34	2950 $\pm$ 14,9	3430 $\pm$ 44,5	2914 $\pm$ 14,7	15 $\pm$ 1,5
	32	8,1	42 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,2	8,10 $\pm$ 0,06	4,84 $\pm$ 0,38	80,53 $\pm$ 6,13	2954 $\pm$ 6,6	2543 $\pm$ 49,7	2222 $\pm$ 78,7	306 $\pm$ 32
		7,7	42 $\pm$ 0,1	32,0 $\pm$ 0,2	7,73 $\pm$ 0,09	4,83 $\pm$ 0,36	81,98 $\pm$ 6,05	2940 $\pm$ 13,7	2765 $\pm$ 15,3	2568 $\pm$ 17,1	156 $\pm$ 6,1
		7,3	42 $\pm$ 0,1	32,0 $\pm$ 0,2	7,31 $\pm$ 0,08	4,86 $\pm$ 0,52	83,05 $\pm$ 5,74	2942 $\pm$ 8,8	2958 $\pm$ 25,9	2781 $\pm$ 20,6	68 $\pm$ 6,7
		6,7	42 $\pm$ 0,2	32,0 $\pm$ 0,2	6,69 $\pm$ 0,11	4,86 $\pm$ 0,34	83,23 $\pm$ 5,41	2953 $\pm$ 9,9	3358 $\pm$ 27,7	2909 $\pm$ 9,4	19 $\pm$ 1,1

*valores calculados a partir do pH e A_T utilizando-se a macro CO2sys (Pierrot *et al.*, 2006), com as constantes de dissociação de Mehrbach *et al.* (1973) reajustadas por Dickson & Millero (1987), e KSO_4 usando Dickson (1990).

No que diz respeito à salinidade, o sistema de reposição de água doce foi extremamente eficaz garantindo as mínimas variações no sistema, comprovado pelos mínimos valores do desvio padrão. Dois reservatórios, com capacidade de 20 litros cada, foram utilizados para reposição de água doce, sendo um reservatório exclusivo para abastecer 4 tratamentos à temperatura de 32°C e o outro para abastecer os demais tratamentos (8 no total, sendo 4 a 25°C e 4 a 28°C). A quantidade de água que evapora de um sistema depende basicamente da superfície evaporante, da diferença de temperatura entre o sistema e o ambiente e da umidade relativa do ar (Valenti *et al.*, 2009). Como o ambiente de realização dos experimentos comumente estava bem úmido, a perda de água por evaporação foi pequena, com exceção dos tratamentos a 32°C. Verificou-se a necessidade diária de reposição total de água doce dos reservatórios. Sendo assim, calcula-se que a taxa de reposição diária é de cerca de 2, 3 e 5 litros de água doce entre os sistemas a 25, 28 e 32°C, respectivamente.

Sabe-se que a temperatura influencia inversamente no teor de oxigênio dissolvido em água (Murray & Riley, 1969; Weiss, 1970). Contudo, mesmo nos tratamentos de maior temperatura (32°C), os sistemas apresentaram eficientes valores de oxigênio dissolvido e de percentagem de saturação (Tabela 1), proporcionado pelo sistema de gotejamento e pelo filtro utilizado nos sistemas (do tipo “dry-wet”). A grande maioria dos estudos sobre acidificação e aquecimento oceânicos não apresenta informações sobre taxa de oxigênio dissolvido dos sistemas utilizados (mesmo sendo este um importante fator fisiológico), inviabilizando comparações entre sistemas sob este aspecto (ver Widdicombe & Needham 2007; Beesley *et al.*, 2008; Findlay *et al.*, 2008; Arnold *et al.*, 2009; Walther *et al.*, 2010; Walther *et al.*, 2011). Apenas Berge *et al.* (2005) cita que a percentagem de saturação de oxigênio em todos os tratamentos efetuados estava acima de 50%, corroborando os resultados obtidos no presente sistema, os quais também são equiparáveis a outros sistemas desenvolvidos para larviculturas comerciais (ver Valenti *et al.*, 2009).

Verificou-se que, somente entre os tratamentos com diferentes salinidades, houve grandes variações na alcalinidade e nos valores de carbono inorgânico dissolvido (CID) (Tabela 1). Tais variações, de fato, são esperadas, uma vez que a alcalinidade depende primariamente da quantidade de carbonatos e bicarbonatos presentes no sal marinho, e este estava em diferentes concentrações nos tratamentos. No entanto, tais valores estão dentro da faixa encontrada em outros estudos (ver Findlay *et al.*, 2008; Clark *et al.*, 2009; Walther *et al.*, 2010; Findlay *et al.*, 2011; Moulin *et al.*, 2011; Pistevos *et al.*, 2011; Carter *et al.*, 2013; Frommel *et al.*, 2013). Observou-se que alterações no pH e na temperatura também

provocam deslocamentos na proporção entre bicarbonato e carbonato, ou seja, a concentração de carbonatos é máxima em maior temperatura e pH enquanto que a de bicarbonatos é máxima em menor temperatura e pH.

Os estados de saturação da calcita (Ω_{cal}) e aragonita (Ω_{ara}) também variaram em todos os tratamentos efetuados (Figura 16). Considerando os tratamentos apenas em pH 7,3, verificou-se que a elevação da salinidade e temperatura alteram os sistemas de um estado insaturado para um saturado, tanto em relação à calcita quanto à aragonita. No entanto, este estado de saturação observado ainda é próximo à fronteira da dissolução do carbonato de cálcio. Nos demais tratamentos, em todas as temperaturas e salinidades, os sistemas em pH 8,1 e 7,7 permaneceram saturados a estes minerais, enquanto que em pH 6,7, todos estavam insaturados. Os valores observados no presente sistema estão de acordo com os encontrados em outros estudos: Beesley *et al.* (2008), Moulin *et al.* (2010), Pistevos *et al.* (2011) e Long *et al.* (2013) constaram insaturação de Ω_{cal} e Ω_{ara} nos experimentos realizados em menores temperaturas e pH (com valores abaixo de 7,6), e Egilsdottir *et al.* (2009) verificaram esta insaturação nos tratamentos com baixa salinidade, inclusive nos experimentos sem injeção de CO₂ (pH 8,0). A tabela 2 apresenta os valores de pH obtidos relativos às concentrações de CO₂ injetados, neste e em vários outros estudos disponíveis na literatura. No presente estudo, os desvios padrões calculados do pH variaram de 0,05 a 0,12 unidades, os quais estão dentro da amplitude observada nos demais estudos (desvio padrão entre 0,00 e 0,25).

O controle dos subprodutos nitrogenados, resultantes da excreção larval e da decomposição da matéria orgânica, é uma das preocupações em larviculturas (Valenti *et al.*, 1998). Tais subprodutos são lançados no meio sob a forma de amônia, principal produto de excreção de organismos aquáticos (Corpron & Armstrong, 1983), a qual é altamente tóxica sob a forma não ionizada (Chen & Kou, 1993). Em sistemas aquáticos fechados, os biofiltros transformam a amônia em nitrito, que é convertido em nitrato (forma atóxica), em um processo denominado nitrificação (Valenti & Daniels, 2000).

O processo de nitrificação envolve reações com alto consumo de oxigênio (Valenti *et al.*, 1998). Kaiser & Wheaton (1983) verificaram que altas concentrações de oxigênio na água levam a máximos potenciais de nitrificação. Dessa forma, o tipo de filtro utilizado no sistema (tipo “dry-wet”) mostrou-se bastante adequado, comprovado pelas altas taxas observadas de oxigênio dissolvido. Além disso, um biofiltro deve ser compacto, de construção simples e barata, difícil de entupir, independente de aeração suplementar e perfeitamente adaptado ao sistema de recirculação utilizado (Kaiser & Wheaton, 1983). O filtro utilizado apresenta todas estas características.

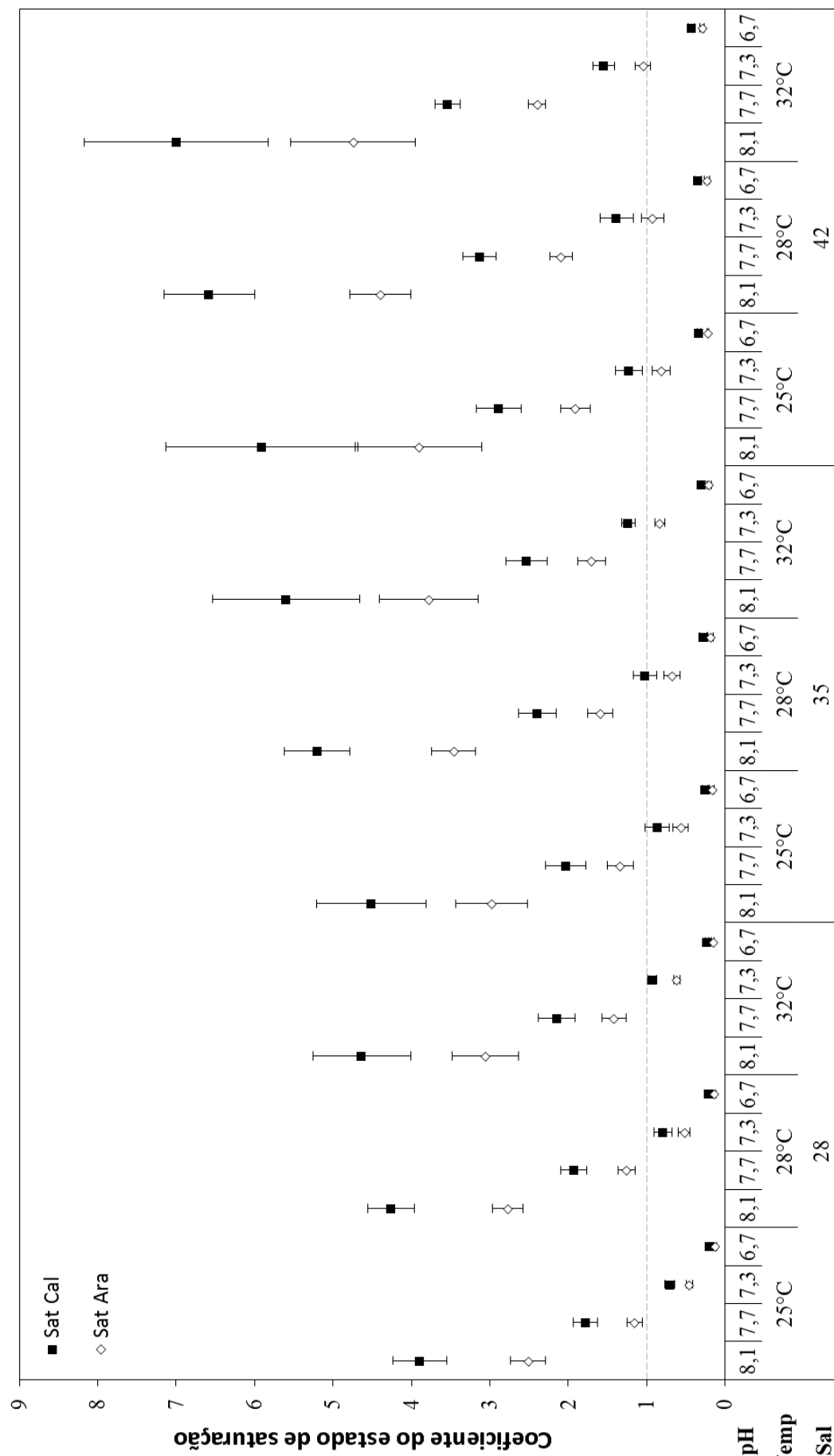


Figura 16. Média dos estados de saturação (Sat) da calcita (Cal) e aragonita (Ara) para cada tratamento experimental realizado; Barras de erro: Intervalo de Confiança de 95%; Linha tracejada: estado de saturação de 1 – abaixo desta linha, calcita e aragonita serão insaturadas.

Tabela 2. Valores de pH observados sob determinadas concentrações de CO₂ ([CO₂]). Os valores foram obtidos na literatura para comparação com o presente sistema experimental. [CO₂] em µatm.

	Controle pH	[CO ₂] < 1000		1000 < [CO ₂] < 2000		2000 < [CO ₂] < 3000		3000 < [CO ₂] < 5000		5000 < [CO ₂] < 10000		[CO ₂] > 10000	
		pH	[CO ₂]	pH	[CO ₂]	pH	[CO ₂]	pH	[CO ₂]	pH	[CO ₂]	pH	[CO ₂]
Presente estudo	8,09 ± 0,05			7,70 ± 0,06	1620			7,31 ± 0,07	4260			6,71 ± 0,08	16980
K04 (<i>H.p.</i>)a	7,99 ± 0,10	7,74 ± 0,02	860	7,59 ± 0,00	1860			7,35 ± 0,04	3860	7,03 ± 0,07	8860	6,83 ± 0,01	18860
K04 (<i>H.p.</i>)d	7,97 ± 0,16	7,73 ± 0,13	860	7,56 ± 0,11	1860			7,33 ± 0,08	3860	7,16 ± 0,06	8860	6,95 ± 0,10	18860
K04 (<i>E.m.</i>)a	8,11 ± 0,00	7,80 ± 0,01	860	7,68 ± 0,04	1860			7,34 ± 0,02	3860	7,13 ± 0,01	8860	6,78 ± 0,00	18860
S05 1	7,945	7,899	560										
S05 2	7,937	7,902	560										
S05 3	7,936	7,897	560										
Miles07	7,96 ± 0,07												
Mich07	8,05 ± 0,02												
Fin08	8,05 ± 0,06			7,72 ± 0,04	1250								
Bees08 tp	8,08 ± 0,09	7,72 ± 0,12	740	7,54 ± 0,09	1190							6,63 ± 0,11	22470
Arn09	8,39 ± 0,006			8,10 ± 0,009	1200								
Wall0 1	8,11 ± 0,05	7,81 ± 0,03	750										
Wall0 2	8,12 ± 0,07	7,81 ± 0,03	790										
Wall0 3	8,05 ± 0,04	7,79 ± 0,04	850										
Pist11 1	8,21 ± 0,00							7,32 ± 0,01	4400				
Pist11 2	8,25 ± 0,00			7,62 ± 0,00	1790			7,41 ± 0,01	3800				
Pist11 3	8,34 ± 0,01							7,41 ± 0,00	3090				
Wolfe12 1	8,03 ± 0,01	7,71 ± 0,02	930	7,51 ± 0,02	1520			7,15 ± 0,01	3850				
Wolfe12 2	8,03 ± 0,01	7,73 ± 0,01	990	7,55 ± 0,08	1530			7,17 ± 0,25	3880				
Long13	8,04 ± 0,003	7,80 ± 0,002	790	7,50 ± 0,003	1640								
Carter13	7,93 ± 0,06			7,58 ± 0,06	1360								

K04: Kurihara *et al.* (2004) [*H.p.*: *Hemicentrotus pulcherrimus*; *E.m.*: *Echinometra malhaei* (a: antes; d: depois do experimento)]; S05: Shiryama & Thornton (2005) (1, 2 e 3: 3 tanques de réplica; desvio padrão não fornecido); Miles07: Miles *et al.* (2007); Mich07: Michaelidis *et al.* (2007); Fin08: Findlay *et al.* (2008); Bees08: Beesley *et al.* (2008) (tp: tanques primários); Arn09: Arnold *et al.* (2009); Wall0: Walther *et al.* (2010) (1, 2 e 3: 3 experimentos em diferentes temperaturas); Pist11: Pistevos *et al.* (2011) (1, 2 e 3: 3 experimentos em diferentes temperaturas); Wolfe12: Wolfe *et al.* (2012) (1 e 2: 2 experimentos em diferentes temperaturas); Long13: Long *et al.* (2013); Carter13: Carter *et al.* (2013).

Não foram utilizadas técnicas quantitativas para detecção dos níveis de excretas nitrogenadas devido à baixa quantidade de organismos adicionados ao sistema (cerca de 1,5 larvas/litro) e tamanho reduzido dos mesmos, frente à alta taxa de circulação da água pelo filtro (todo o volume de água do sistema passa pelo biofiltro cerca de 120 vezes ao dia). Mesmo assim, os testes de escala colorimétricos utilizados indicaram que os níveis estavam abaixo dos prejudiciais ($<0,25$ ppm), em todos os sistemas e tratamentos.

Considerando os recipientes de manutenção larval, verificou-se que cada recipiente “R1” apresenta volume útil de água de 60 ml, aproximadamente. A boa taxa de sobrevivência, até o último estágio larval observado (ver Capítulo 2), demonstra a viabilidade deste sistema de criação, quando comparada com criações anteriores, para a mesma espécie, utilizando-se larvas isoladas em placas de Petri de 20 ml (ver Fransozo & Negreiros-Fransozo, 1986). No entanto, no que diz respeito à limpeza dos recipientes, esta requer maior tempo de manipulação diária, quando comparado ao uso de placas de Petri, uma vez que neste sistema experimental, os recipientes estão aderidos a todo o conjunto, inviabilizando a retirada de um ou mais recipientes para descarte de detritos e limpeza em água corrente. Dessa forma, neste sistema de criação, a remoção de detritos e dos nauplii não consumidos foram realizados por meio de pipetas Pasteur de grande volume (20 ml).

Todavia, a grande vantagem deste sistema é a possibilidade de controlar e manter os parâmetros abióticos estáveis sem a necessidade de trocas parciais ou totais de água, o qual é o grande problema enfrentado ao utilizar recipientes individuais (placas de Petri). Além disso, outro benefício é a possibilidade de adição de 2 (ou mais) grandes recipientes de criação massiva dentro do reservatório. Estes recipientes “R2”, de cerca de 1000 ml de volume útil de água (depende do comprimento do recipiente utilizado; neste caso a parte imersa do recipiente possuía 130 mm de comprimento), apresentam as mesmas características dos recipientes de criação individual e permitem a adição de dezenas a centenas de larvas (dependendo da densidade requerida) para cultivos em massa, com a vantagem de poder ser retirado do sistema para limpeza, simplesmente acoplando um *cap* de PVC (proporcional ao diâmetro do tubo) no momento da retirada, evitando escoamento da água e exposição das larvas à atmosfera.

Adicionalmente, outro importante fator deste sistema experimental é sua versatilidade de adaptações a outros estudos, não somente aqueles relacionados com as mudanças climáticas. Pode-se alterar o tamanho dos tubos de PVC utilizados nas criações individuais e, assim, manter criações de animais maiores (juvenis); ou retirar todo sistema de criação para manter animais adultos diretamente nos aquários, inclusive adicionando

substrato; ou ainda retirar o sistema de criação somente de um dos aquários para manter animais adultos, juvenis e larvas no mesmo sistema experimental, particularmente, naqueles estudos considerando efeitos de coespecíficos sobre o desenvolvimento. No caso de utilização de adultos, a carga de subprodutos nitrogenados (oriundos de excretas e decomposição de alimentos) pode elevar-se rapidamente, sendo recomendadas outras formas de medições dos níveis de amônia e nitrito, ou mesmo considerar acréscimos de outros aparatos de filtragem, como por exemplo, *skimmers* (os quais podem ser facilmente introduzidos no reservatório).

Em relação ao sistema desenvolvido para manutenção das fêmeas ovígeras, este se mostrou eficiente para obtenção das larvas. Devido ao habitat ocupado pela espécie *E. gonagra* (região intertidal), o refúgio para a parte seca e a grande quantidade de tocas (proporcionada pelas rochas) contribuíram na diminuição do estresse das fêmeas ovígeras, sendo possível a manutenção de até 5 fêmeas ovígeras no aquário D (Fig. 12), sem a ocorrência de comportamentos agonísticos. A presença prévia de alimento para as larvas dentro do recipiente de captação larval garantiu que estas recebessem alimento em concentrações ideais (>5 nauplius/ml) logo após a eclosão, o que, segundo Rice & Williamson (1970), é fundamental para um bom desenvolvimento larval nos estágios subsequentes.

Em suma, o sistema experimental desenvolvido ocupa pouco espaço (aproximadamente $0,5\text{ m}^2$), permite grande qualidade de água e conservação do calor, possibilita a manutenção das variáveis estáveis, proporciona criações individuais ou coletivas, além de permitir a condução de experimentos em condições controladas, sendo vantajoso para utilização em laboratórios, tanto para experimentos a curto quanto em longo prazo. Adicionalmente, a fácil desmontagem das partes do sistema possibilita sua locomoção para outros locais, diminuindo possíveis artefatos experimentais resultantes do manuseio e transporte de animais de longas distâncias.

Referências

- Arnold, K.E.; Findlay, H.S.; Spicer, J.I.; Daniels, C.L. & Boothroyd, D. 2009. Effect of CO₂-related acidification on aspects of the larval development of the European lobster, *Homarus gammarus* (L.). *Biogeosciences Discuss.*, 6: 3087-3107.
- Beesley, A.; Lowe, D.M.; Pascoe, C.K. & Widdicombe, S. 2008. Impact of CO₂ induced seawater acidification on the health of *Mytilus edulis*. *Clim. Res.*, 37: 215-225.
- Berge, J.A.; Bjerkeng, B.; Pettersen, O.; Schaanning, M.T. & Øxnevad, S. 2005. Effects of increased sea water concentrations of CO₂ on growth of the bivalve *Mytilus edulis* L. *Chemosphere*, 62(2006): 681-687.
- Byron, E.R. & Goldman, C.R. 1990. The potential effects of global warming on the primary productivity of a subalpine lake. *Water Resour. Bull.*, 26: 983-989.
- Calado, R.; Vitorino, A.; Dionisio, G. & Dinis, M.T. 2007. A recirculated maturation system for marine ornamental decapods. *Aquaculture*, 263: 68-74.
- Cameron, J.N. & Iwama, G.K. 1987. Compensation of progressive hypercapnia in channel catfish and blue crabs. *J. Exp. Biol.*, 133: 183-197.
- Carter, H.A.; Ceballos-Osuna, L.; Miller, N.A. & Stillman, J.H. 2013. Impact of ocean acidification on metabolism and energetics during early life stages of the intertidal porcelain crab *Petrolisthes cinctipes*. *J. Exp. Biol.*, 216(8): 1412-1422.
- Chen, J.C. & Kou, Y.Z. 1993. Accumulation of ammonia in the haemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. *Aquaculture*, 109: 177-185.
- Clark, D.; Lamare, M. & Barker, M. 2009. Response of sea urchin pluteus larvae (Echinodermata: Echinoidea) to reduced seawater pH: a comparison among a tropical, temperate, and a polar species. *Mar. Biol.*, 156(6), 1125-1137.
- Corpron, K.E. & Armstrong, D.A. 1983. Removal of nitrogen by an aquatic plant *Elodea densa*, in recirculating *Macrobrachium* culture systems. *Aquaculture*, 32(3-4): 347-360.
- Dales, R.P.; Mangum, C.P. & Tichy, J.C. 1970. Effects of changes in oxygen and carbon dioxide concentrations on ventilation rhythms in onuphid polychaetes. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 50: 365-380.
- Dickson, A.G. & Millero, F.J. 1987. A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. *Deep-Sea Res.*, 34: 1733-1743.
- Dickson, A.G. 1990. Standard potential of the reaction: $\text{AgCl(s)} + 1/2 \text{H}_2\text{(g)} = \text{Ag(s)} + \text{HCl(aq)}$, and the standard acidity constant of the ion HSO_4^- in synthetic seawater from

- 273.15 to 318.15 K. J. Chem. Therm., 22: 113-127.
- Egilsdottir, H.; Spicer, J.I. & Rundle, S.D. 2009. The effect of CO₂ acidified sea water and reduced salinity on aspects of the embryonic development of the amphipod, *Echinogammarus marinus* (Leach). Mar. Poll. Bull., 58(8): 1187-1191.
- Findlay, H.S.; Kendall, M.A.; Spicer, J.I.; Turley, C. & Widdicombe, S. 2008. A novel microcosm system for investigating the impacts of elevated carbon dioxide and temperature on intertidal organisms, Aquat. Biol., 3: 51-62.
- Finney, B.P.; Gregory-Eaves, I.; Sweetman, J.; Douglas, M.S.V. & Smol, J.P. 2000. Impacts of climatic change and fishing on Pacific salmon abundance over the past 300 years. Science, 290: 795-799.
- Fransozo, A. & Negreiros-Fransozo, M.L. 1986. Influência da salinidade no desenvolvimento larval de *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781) e *Sesarma (Holometopus) rectum* Randall, 1840 (Crustacea, Decapoda) em laboratório. Rev. Brasil. Biol., 46(2): 439-446.
- Frommel, A.Y.; Schubert, A.; Piatkowski, U. & Clemmesen, C. 2012. Egg and early larval stages of Baltic cod, *Gadus morhua*, are robust to high levels of ocean acidification. Mar. Biol., 160: 1825-1834.
- George, D.G. & Taylor, A.H. 1995. UK lake plankton and the Gulf Stream. Nature, 378: 139.
- Gregati, R.A.; Fransozo, V.; López-Greco, L.S. & Negreiros-Fransozo, M.L. 2010. Reproductive cycle and ovarian development of the marine ornamental shrimp *Stenopus hispidus* in captivity. Aquaculture 306(2010): 185-190.
- Güss, S.; Albrecht, D.; Krambeck, H.-J.; Müller-Navarra, D.C. & Mumm, H. 2000. Impact of weather on a lake ecosystem, assessed by cyclo-stationary MCCA of long-term observations. Ecology, 81: 1720-1735.
- IPCC, 2007. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Parry, M.L.; Canziani, O.F.; Palutikof, J.P.; van der Linden, P.J. & Hanson, C.E. (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, 976pp.
- Kaiser, G.E. & Wheaton, F.W. 1983. Nitrification filters for aquatic culture systems: state of the art. J. World Maric. Soc., 14: 302-324.
- Kurihara, H. & Shirayama, Y. 2004. Effects of increased atmospheric CO₂ on sea urchin early development. Mar. Ecol. Prog. Ser., 274: 161-169.
- Kurihara, H.; Shimode, S. & Shirayama, Y. 2004. Sub-lethal effects of elevated

- concentration of CO₂ on planktonic copepods and sea urchins. *J. Oceanogr.*, 60: 743-750.
- Leavitt, P.R.; Donald, D.B.; Smol, J.P. & Schindler, D.W. 1997. Past ultraviolet radiation environments revealed using fossil pigments in lakes. *Nature*, 388: 457-459.
- Long, W.C.; Swiney, K.M.; Harris, C.; Page, H.N. & Foy, R.J. 2013. Effects of ocean acidification on juvenile Red King Crab (*Paralithodes camtschaticus*) and Tanner Crab (*Chionoecetes bairdi*) growth, condition, calcification, and survival. *PLoS ONE*, 8(4): e60959.
- Mackereth, F.J.H.; Heron, J. & Talling J.F. 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. Far Sawrey, Ambleside: Freshwater Biological Association, Scientific Publication n° 36, 120p.
- Mehrbach, C.; Culberson, C.H.; Hawley, J.E. & Pytkowicz, R.M. 1973. Measurements of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnol. Oceanogr.*, 18: 897-907.
- Metzger, R.; Sartoris, F.J.; Langenbuch, M. & Pörtner, H.O. 2007. Influence of elevated CO₂ concentrations on thermal tolerance of the edible crab *Cancer pagurus*. *J. Therm. Biol.*, 32: 144-151.
- Michaelidis, B.; Ouzounis, C.; Paleras, A. & Pörtner, H.O. 2005. Effects of long-term moderate hypercapnia on acid–base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 293: 109-118.
- Michaelidis, B.; Spring, A. & Pörtner, H.O. 2007. Effects of long-term acclimation to environmental hypercapnia on extracellular acid-base status and metabolic capacity in Mediterranean fish *Sparus aurata*. *Mar. Biol.*, 150: 1417-1429.
- Miles, H.; Widdicombe, S.; Spicer, J.I. & Hall-Spencer, J. 2007. Effects of anthropogenic seawater acidification on acid–base balance in the sea urchin *Psammechinus miliaris*. *Mar. Poll. Bull.*, 54: 89-96.
- Moulin, L.; Catarino, A.I.; Claessens, T. & Dubois, P. 2011. Effects of seawater acidification on early development of the intertidal sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816). *Mar. Poll. Bull.*, 62(1), 48-54.
- Murray, C.N. & Riley, J.P. 1969. The solubility of gases in distilled water and sea water – II. Oxygen. *Deep-Sea Res.*, 16: 311-320.
- Pierrot, D.; Lewis, E. & Wallace, D.W.R. 2006. MS Excel program developed for CO₂ system calculations. ORNL/CDIAC-105, Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, TN.

- Pistevos, J.C.; Calosi, P.; Widdicombe, S. & Bishop, J.D. 2011. Will variation among genetic individuals influence species responses to global climate change?. *Oikos*, 120(5): 675-689.
- Pörtner, H.O. 1987. Anaerobic metabolism and changes in acid-base status: quantitative interrelationships and pH regulation in the marine worm *Sipunculus nudgeus*. *J. Exp. Biol.*, 131: 89-105.
- Regier, H.A.; Holmes, J.A.; & Pauly, D. 1990. Influence of temperature changes on aquatic ecosystems: An interpretation of empirical data. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 119: 374-389.
- Rice, A.L. & Williamson, D.I. 1970. Methods for rearing larval decapod Crustacea. *Helgoländer Wiss. Meeresunters.*, 20(1-4), 417-434.
- Scheffer, M.; Straile, D.; Van Nes, E.H. & Hosper, H. 2001. Climatic warming causes regime shifts in lake food webs. *Limnol. Oceanogr.*, 46: 1780-1783.
- Schindler, D.W.; Beaty, K.G.; Fee, E.J.; Cruikshank, D.R.; DeBruyn, E.R.; Findlay, D.L.; Linsey, G.A.; Shearer, J.A.; Stainton, M.P. & Turner, M.A. 1990. Effects of climatic warming on lakes of the central boreal forest. *Science*, 250: 967-970.
- Shirayama, Y. & Thornton, H. 2005. Effect of increased atmospheric CO₂ on shallow water marine benthos. *J. Geophys. Res.*, 110: C09S08.
- Valenti, W.C. & Daniels, W.H. 2000. Recirculation hatchery systems and management. In: New, M.B. & Valenti, W.C. (Eds.), *Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii**. Oxford: Blackwell Science, p. 69-90.
- Valenti, W.C.; Mallasen, M. & Silva, C.A. 1998. Larvicultura em sistema fechado dinâmico. In: Valenti, W.C. (Ed.), *Carcinicultura de água doce: tecnologia para a produção de camarões*. Brasília: FAPESP/IBAMA, p. 112-139.
- Valenti, W.C.; Mallasen, M. & Barros, H.P. 2009. Sistema de recirculação e rotina de manejo para larvicultura de camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii* em pequena escala. *Bol. Inst. Pesca*, 35(1): 141-151.
- Vinebrooke, R.D.; Hall, R.I.; Leavitt, P.R. & Cumming, B.F. 1998. Fossil pigments as indicators of phototrophic response to salinity and climatic change in lakes of western Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 55: 668-681.
- Walther, K.; Anger, K. & Pörtner, H.O. 2010. Effects of ocean acidification and warming on the larval development of the spider crab *Hyas araneus* from different latitudes (54° vs. 79° N). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 417: 159-170.
- Walther, K.; Sartoris, F.J. & Pörtner, H.O. 2011. Impacts of temperature and acidification on larval calcium incorporation of the spider crab *Hyas araneus* from different latitudes

- (54° vs. 79°N). Mar. Biol., 158: 2043-2053.
- Weiss, R.F. 1970. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. Deep-Sea Res., 17: 721-735.
- Widdicombe S. & Needham, H.R. 2007. Impact of CO₂-induced seawater acidification on the burrowing activity of *Nereis virens* and sediment nutrient flux. Mar. Ecol. Prog. Ser., 341: 111-122.
- Wolfe, K.; Smith, A.M.; Trimby, P. & Byrne, M. 2012. Vulnerability of the Paper Nautilus (*Argonauta nodosa*) shell to a climate-change ocean: potential for extinction by dissolution. Biol. Bull., 223(2): 236-244.



Capítulo 2

**Efeitos da acidificação por CO₂, aquecimento e
variações de salinidade no desenvolvimento larval de
Eriphia gonagra (Fabricius, 1781)**

Resumo

As alterações climáticas atuais têm causado visíveis impactos sobre a biota marinha, afetando principalmente organismos calcificadores e, em consequência, todas as redes ecológicas que estes seres fazem parte. Dessa forma, estudos que avaliem os possíveis impactos destas alterações sobre a comunidade marinha são importantes por fornecerem subsídios para possíveis medidas mitigatórias. A fase de zoea do caranguejo entremarés *Eriphia gonagra* foi analisado, em laboratório, quanto à sobrevivência, duração, condição física e morfologia, sob diferentes níveis de salinidade, temperatura e pH previstos para o ambiente marinho no final deste e dos próximos séculos. Fêmeas ovígeras de *E. gonagra* foram coletadas e mantidas vivas em laboratório até a eclosão dos ovos. As larvas foram transferidas para recipientes de criação dentro dos tratamentos experimentais resultantes da combinação das salinidades 28, 35 e 42, temperaturas 25, 28 e 32°C e pH 8,1, 7,7, 7,3 e 6,7. A inspeção e limpeza dos recipientes de criação foram realizadas diariamente e a alimentação das larvas consistiu de nauplii de *Artemia* sp. recém-eclodidos. Observou-se redução da sobrevivência larval nos tratamentos mais ácidos e com temperatura mais elevada. O período de intermuda aumentou com diminuição do pH e da salinidade, mas diminuiu com incrementos de temperatura e salinidade. As larvas foram negativamente afetadas em relação ao crescimento e massa corpórea nos tratamentos mais ácidos e de maior temperatura, em contraste com o conteúdo mineral, que se manteve constante ou aumentado nos tratamentos de menor pH e salinidade. A morfologia larval foi alterada, inclusive ao nível ultraestrutural, principalmente sob influência dos menores valores de pH. No entanto, as pequenas diferenças observadas entre o grupo controle e os expostos aos valores de pH e temperatura previstos para o final deste século indicam pouca influência das alterações destes parâmetros sobre os estágios iniciais do ciclo de vida de *E. gonagra*, a curto prazo. Contudo, deve ser considerada a plasticidade fenotípica desta espécie envolvendo as outras fases do ciclo de vida, tendo em vista que o ambiente entremarés está sujeito à constante variação dos fatores ambientais no decorrer do dia.

Palavras-chave: alterações climáticas, pH, temperatura, caranguejo, zoea.

Introdução

As alterações oceânicas e a biota marinha

O aquecimento e acidificação oceânica estão provocando efeitos significativos sobre a biota e ecossistemas marinhos (Raven *et al.*, 2005). Alguns efeitos diretos já são visíveis, contudo outros ainda necessitam de maiores observações, análises e modelagem (Valdés *et al.*, 2009).

A redução na disponibilidade de íons carbonato (CO_3^{2-}), decorrente do acréscimo do CO_2 e da redução do pH, pode levar ao aumento da dissolução de estruturas de carbonato de cálcio (CaCO_3), afetando significativamente algumas espécies que possuem esqueleto calcário, tais como corais, algumas espécies do fitoplâncton, foraminíferos, moluscos, crustáceos e equinodermos (Arnold *et al.*, 2009).

Estudos recentes têm demonstrado que reduções no pH marinho prejudicam processos fisiológicos e de desenvolvimento de um grande número de organismos, seja por meio da redução do pH interno (acidose) ou pelo aumento do CO_2 (hipercapnia) (Wood *et al.*, 2008), aumentando a possibilidade de que, não apenas espécies, mas também ecossistemas sejam afetados (Widdicombe & Spicer, 2008). Entre estes efeitos potencialmente importantes da acidificação, podemos citar dissolução da concha (Bamber, 1990), redução do sucesso reprodutivo (Kurihara *et al.*, 2004a), aumento da susceptibilidade à infecção (Holman *et al.*, 2004), taxas de crescimento reduzidas (Gazeau *et al.*, 2007), acidificação de fluídos internos (Spicer *et al.*, 2007), comprometimento das defesas induzidas (Bibby *et al.*, 2007), estreitamento da janela termal (Metzger *et al.*, 2007; Walther *et al.*, 2009), prejuízo da função imune (Bibby *et al.*, 2008) e até mesmo aumento da taxa de calcificação e do metabolismo, porém com um alto custo: perda muscular (Wood *et al.*, 2008).

Em contraste a estes efeitos, alguns estudos têm demonstrado que para certas espécies de cocolitoforídeos, o aumento do CO_2 e a consequente acidificação pode não surtir efeito (como para *Coccolithus pelagicus*, estudado por Langer *et al.*, 2006) ou, ainda, melhorar a taxa de calcificação e de crescimento destes animais (como para *Emiliania huxleyi*, estudado por Iglesias-Rodriguez *et al.*, 2008). Contudo, tais resultados têm sido bastante debatidos perante a comunidade científica, considerando que outros estudos têm encontrado resultados opostos para *E. huxleyi* (ver Riebesell *et al.*, 2000; Zondervan *et al.*, 2002; Sciandra *et al.*, 2003; Gao *et al.*, 2009), o que evidencia como o tema ainda é bastante controverso e como é necessária a realização de investigações mais detalhadas.

Infelizmente, a maioria dos trabalhos sobre os efeitos do aumento de CO₂ tem investigado respostas em curto prazo, com a maior parte destas investigações voltada aos organismos adultos. Dessa maneira, há uma necessidade urgente de estudos tanto para longo prazo, quanto para diferentes estágios do desenvolvimento larval (Widdicombe & Spicer, 2008). Formas larvais parecem ser mais sensíveis a estressores ambientais do que adultos (Kikkawa *et al.*, 2003; Ishimatsu *et al.*, 2004), especialmente em espécies bênticas que possuem estágios larvais pelágicos, os quais ocorrem em águas superficiais onde o aumento da temperatura e da acidificação está ocorrendo primariamente (Caldeira & Wickett, 2003). Investigações anteriores de como os estágios larvais seriam impactados pela acidificação, gerada pelos níveis de CO₂ previstos para o final deste século, sugerem que o desenvolvimento da fase inicial de vida pode ser retardado (Egilsdottir *et al.*, 2009; Findlay *et al.*, 2009), ou até mesmo completamente interrompido (Dupont *et al.*, 2008; Havenhand *et al.*, 2008). Entretanto, tais pesquisas têm sido focadas principalmente em equinodermos (Kurihara & Shirayama, 2004; Dupont *et al.*, 2008; Havenhand *et al.*, 2008; Byrne *et al.*, 2011a; Byrne *et al.*, 2011b; Nguyen *et al.*, 2012; LaVigne *et al.*, 2012; Chan *et al.*, 2012; Gonzalez-Bernat *et al.*, 2012), peixes (Ishimatsu *et al.*, 2004; Munday *et al.*, 2011; Frommel *et al.*, 2012), moluscos (Ellis *et al.*, 2009; Byrne *et al.*, 2011b; Crim *et al.*, 2011; Parker *et al.*, 2012; Gobler & Talmage, 2012), cnidários (Nakamura *et al.*, 2011; Anlauf *et al.*, 2011; Kipson *et al.*, 2012; Cumbo *et al.*, 2012) e tunicados (Troedsson *et al.*, 2012).

Entre os crustáceos, Salma *et al.* (2012) demonstraram que a diminuição do pH e da salinidade leva a uma diminuição na taxa de eclosão de larvas de *Artemia franciscana* Kellog, 1906 (Branchiopoda, Anostraca). Além disso, podemos citar alguns outros estudos larvais para copépodes (Kurihara *et al.*, 2004a; Kurihara *et al.*, 2004b), anfípodes (Egilsdottir *et al.*, 2009) e cirripédios (Pansch *et al.*, 2012).

Para os crustáceos decápodos, os efeitos a longo prazo da acidificação por CO₂ na sobrevivência, crescimento, calcificação, entre outros foram avaliados por Kurihara *et al.* (2008) para o camarão *Palaemon pacificus* (Stimpson, 1860) e por Long *et al.* (2013) para juvenis do anomuro *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) e do braquiúro *Chionoecetes bairdi* Rathbun, 1893.

Poucos estudos trataram de larvas de crustáceos decápodos: Arnold *et al.* (2009) examinaram a massa e o conteúdo mineral do exoesqueleto da lagosta europeia *Homarus gammarus* (Linnaeus, 1758) durante quatro estágios da fase larval, sob influência de água marinha acidificada por CO₂; Walther *et al.* (2010) estudaram a duração larval,

crescimento e condição física das larvas do caranguejo aranha *Hyas araneus* (Linnaeus, 1758) durante toda a fase larval, sob água marinha aquecida e acidificada por CO₂; Walther *et al.* (2011) analisaram a taxa de incorporação de cálcio em diferentes temperaturas e concentrações de CO₂ durante o desenvolvimento larval do mesmo caranguejo *H. araneus*; e Keppel *et al.* (2012) avaliaram o crescimento e período de intermuda dos quatro primeiros estágios larvais da lagosta americana *Homarus americanus* H. Milne-Edwards, 1837 em diferentes concentrações de CO₂. Em tais estudos, os autores verificaram influências negativas (em maior ou menor grau) da acidificação e do aumento da temperatura, em todos ou somente alguns processos fisiológicos, demonstrando que os efeitos das alterações ambientais também podem ser espécie-específicos. Dessa forma, há a necessidade urgente de novos estudos com larvas de crustáceos decápodos, principalmente, por se tratar de um grupo com grande interesse econômico, além de ecológico.

Em relação à composição mineral, o exoesqueleto dos crustáceos possui em sua composição carbonato de cálcio (CaCO₃), em formas polimórficas de diferentes rigidez (aragonita, calcita e magnésio-calcita), que variam bastante entre as espécies e entre partes do corpo na mesma espécie, dependendo da necessidade de cada estrutura (rigidez e/ou flexibilidade) (Boßelmann *et al.*, 2007). De maneira geral, a forma polimórfica mais solúvel, magnésio-calcita (Mg-CaCO₃), tende a ser a predominante (Boßelmann *et al.*, 2007). Além disso, acredita-se que crustáceos não utilizam carbonato (CO₃²⁻), mas sim CO_{2(aq)} ou bicarbonato (HCO₃⁻) como fonte primária de carbono para a formação de suas estruturas de CaCO₃ (Cameron, 1989). Dessa maneira, nem sempre podem ser esperados impactos diretos (decorrentes das reduções do íon CO₃²⁻, como resultado da acidificação oceânica) sobre a habilidade destes crustáceos em produzir CaCO₃. Ainda, como Mg-CaCO₃ é mais solúvel do que outros polimorfos de CaCO₃ comumente precipitados pela biota (como calcita e aragonita), pode ser menos vantajoso formar Mg-CaCO₃ em suas estruturas esqueléticas sob baixo pH, uma vez que essa forma será a primeira a dissolver (Feely *et al.*, 2004, Kleypas *et al.*, 2006).

Em suma, determinar como o aquecimento, a acidificação e a variação de salinidade oceânica podem afetar o desenvolvimento larval de espécies bentônicas (particularmente aquelas que iniciam seu processo de calcificação enquanto ainda estão na sua fase planctônica), além de identificar potenciais sinergias entre estes efeitos sobre as larvas, é crítico para prever como estes impactos podem propagar-se através do ecossistema. Da mesma forma, exposições à hipercapnia, por longo prazo, podem ser energeticamente custosas para organismos marinhos e, portanto, danosos a processos de

desenvolvimento, tais como crescimento, reprodução, recrutamento e sobrevivência (Barry *et al.*, 2005; Wood *et al.*, 2008).

Considerações sobre o desenvolvimento larval não relacionado às alterações marinhas

Diversos são os estudos que analisam a influência da temperatura e/ou salinidade sobre o desenvolvimento larval de Brachyura. Dentre estes trabalhos, podemos destacar os realizados por Costlow *et al.* (1960, 1962, 1966), Vinuesa *et al.* (1985), Fransozo & Negreiros-Fransozo (1986), Negreiros-Fransozo & Fransozo (1990), Anger *et al.* (1990), Anger (1991), Pinheiro *et al.* (1994), Sulkin *et al.* (1996), Ismael *et al.* (1997), Lárez *et al.* (2000), Luppi *et al.* (2003), Paula *et al.* (2003), Barría *et al.* (2005), Li & Hong (2007), Nurdiani & Zeng (2007) e Simith & Diele (2008).

De acordo com tais estudos, observa-se que esta influência pode variar consideravelmente entre as espécies, principalmente entre as que possuem tipos de habitat e distribuição latitudinais distintos. Mesmo assim, verifica-se que a temperatura comumente desempenha papel mais importante que a salinidade sobre o desenvolvimento larval. Acréscimos de temperatura, em geral, estão associados a um menor tempo de desenvolvimento e à maior taxa de sobrevivência das larvas, além de ainda elevarem a amplitude de suporte à salinidade. Entretanto, alguns estudos (Sulkin *et al.*, 1996; Barría *et al.*, 2005; Anger, 2001) apontam que o aumento de temperatura, apesar de abreviar a fase larval, gera como custo o pouco incremento de tamanho a longo prazo, ou seja, larvas que se desenvolvem a temperaturas ideais geram juvenis mais competitivos do que as que se desenvolvem em temperaturas mais altas.

De modo geral, observa-se que as maiores salinidades, dentro da amplitude suportada pela espécie, levam a um aumento da taxa de sobrevivência larval, podendo ainda aumentar, diminuir ou não afetar a duração dos estágios. No entanto, algumas espécies podem apresentar diferentes necessidades de salinidade de acordo com o estágio de desenvolvimento larval (ver Anger *et al.*, 1990; Anger, 1991). No que diz respeito a outros fatores ambientais (energia radiante, densidade, pressão, matéria orgânica dissolvida e particulada, oxigênio dissolvido, entre outros), pouco se sabe sobre suas influências no desenvolvimento larval de caranguejos.

Com referência ao caranguejo *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781), seu desenvolvimento larval foi estudado por Fransozo (1987), em condições laboratoriais, obtendo quatro estágios de zoea e um de megalopa. Adicionalmente, Fransozo & Negreiros-Fransozo (1986) analisaram a influência da salinidade sobre o desenvolvimento

larval de *E. gonagra*. Estes autores verificaram que a variação da salinidade não altera significativamente a duração dos estágios (duração média de 55 dias entre a eclosão dos ovos até o primeiro estágio juvenil), porém afeta acentuadamente a sobrevivência (apenas larvas criadas em salinidade 36‰ atingiram o estágio juvenil). De acordo com Costlow & Bookhout (1962), as espécies cujos adultos estão confinados a águas essencialmente oceânicas só completam a sua metamorfose em uma faixa de altas salinidades, o que parece ser o caso de *E. gonagra*.

Em suma, estudos que busquem compreender como esses fatores interferem no desenvolvimento larval e, como consequência, quais os futuros impactos previstos sobre a dinâmica populacional e os ecossistemas marinhos, podem ser a chave para o desenvolvimento de novas políticas de sustentabilidade, fundamentais para preservação das espécies nestes novos cenários, particularmente àquelas que têm sido mais exploradas pelo homem.

Desta forma, o presente estudo investigou o efeito combinado da acidificação induzida pelo dióxido de carbono, do aumento da temperatura e da variação da salinidade durante a fase zoeal do caranguejo intertidal *E. gonagra*, em laboratório. Neste sentido, os aspectos analisados foram: sobrevivência, duração, condição física (incremento de massa corpórea, tamanho e composição de cálcio e magnésio), além da morfologia dos apêndices e cerdas.

Material e Métodos

Obtenção da espécie

O caranguejo *E. gonagra* (Fig. 17), de acordo com Ng *et al.* (2008), pertence à família Eriphiidae MacLeay, 1838 e apresenta ampla distribuição no Atlântico Ocidental: da Carolina do Norte (EUA) à costa do Brasil (Pará até Santa Catarina) (Melo, 1996). Este crustáceo habita regiões intertidais de costões rochosos, onde é comumente encontrado entre fendas de rochas e tocas naturais criadas pela sobreposição de rochas no ambiente. É um crustáceo que fica ocasionalmente exposto por consequência das marés, sendo também, comumente encontrado associado aos recifes de areia, formado por poliquetas do gênero *Phragmatopoma* Mörch, 1863.



Figura 17. O caranguejo intertidal *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781) em seu ambiente natural.

Esta espécie foi escolhida para este estudo devido a diversas razões, entre elas: (1) desenvolvimento larval bem conhecido, (2) apresenta vários estágios larvais, podendo potencializar o efeito dos tratamentos, (3) as larvas são relativamente grandes (quando comparadas às larvas de portunídeos, por exemplo), o que facilita sua alimentação desde os primeiros estágios, (3) adapta-se bem às condições laboratoriais, (4) as fêmeas ovígeras podem ser encontradas facilmente, e (5) produzem um grande número de ovos.

Fêmeas ovígeras em estágio final de desenvolvimento da massa de ovos, observadas através da membrana envoltória dos ovos (conforme Costa & Negreiros-Fransozo, 1998) (Fig. 18), foram coletadas no costão rochoso da Praia Grande (23°28' S; 45°03' O), Ubatuba, litoral norte do Estado de São Paulo (Fig. 19). Cada fêmea ovígera foi individualizada em potes plásticos com tampa (Tupperware[®]), contendo cerca de 10 mm de água do mar do local de coleta. Os potes foram acondicionados em caixas de isopor e transportados imediatamente para o laboratório de cultivo do NEBECC (Núcleo de Estudos em Biologia, Ecologia e Cultivo de Crustáceos), em Botucatu/SP.



Figura 18. Detalhe da coloração da massa de ovos em estágio final de desenvolvimento em uma fêmea ovígera de *Eriphia gonagra*.



Figura 19. Costão rochoso da Praia Grande, Ubatuba/SP, local da coleta das fêmeas ovígeras de *Eriphia gonagra*.

Preparação dos sistemas experimentais

Em laboratório, foram instalados doze sistemas de criação larval e um sistema berçário. As descrições detalhadas destes sistemas são apresentadas no Capítulo 1.

Neste estudo, foram realizados 36 experimentos resultantes da combinação entre quatro diferentes valores de pH (8,1 [controle]; 7,7; 7,3; 6,7), três temperaturas (25°C [controle]; 28°C; 32°C) e três salinidades (28‰; 35‰ [controle]; 42‰). Os 36 experimentos foram conduzidos em 3 etapas (devido aos 12 sistemas que o laboratório comporta), fixando-se um valor de salinidade e variando-se os valores de pH e temperatura para cada etapa. Os valores definidos para cada tratamento foram baseados nos seguintes critérios:

- pH: valor controle (pH 8,1) baseado na média previamente obtida para a região de coleta das fêmeas, utilizando pHmetro portátil digital com compensação de temperatura, marca Hanna[®], modelo ML-1010. Os valores restantes representam cenários realísticos para a acidificação oceânica, preditos pelo cenário A1F1 do IPCC (2007a) para o final do século 21 (pH 7,7), por Caldeira & Wickett (2003) para 2300 (pH 7,3) e para possíveis vazamentos de reservatórios de CO₂ (pH 6,7) (Blackford *et al.*, 2008);
- Temperatura: valor controle (25°C) baseado na média de verão da região de coleta das fêmeas, conforme Bertini *et al.* (2001) e Silva *et al.* (2004). Uma vez que se prevê aumento de 1 a 3° C na temperatura de superfície oceânica (IPCC, 2007a), os dois valores restantes definidos, 28 e 32°C, são referentes à [média + 3°C] e à [maior temperatura de superfície

registrada para a região ($29^{\circ}\text{C} + 3^{\circ}\text{C}$], respectivamente;

- Salinidade: valor controle (35) também baseado na média de verão da região de coleta das fêmeas (Bertini *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2004). Como ainda não são quantificadas as variações de salinidade para os cenários futuros (IPCC, 2007b), apenas previsto que esta pode aumentar ou diminuir dependendo da região do globo terrestre, os dois valores restantes, 42 e 28, foram baseados em experimentos anteriores para esta espécie (Fransozo & Negreiros-Fransozo, 1986), sendo equivalentes à [média + 7] e à [média - 7], respectivamente.

A água marinha utilizada no sistema de manutenção dos animais foi obtida em alto mar, com uso de embarcação, próximo à região de coleta das fêmeas ovígeras. A água captada foi transportada para o laboratório em bombonas opacas com capacidade para 200 litros cada. Antes do uso, a água do mar foi irradiada por luz ultravioleta (15 watts) durante 48 horas.

A medição e controle do pH, temperatura e salinidade, bem como dos demais fatores abióticos, foram realizados conforme exposto em detalhes no Capítulo 1. Vale salientar que, pelo menos 48 horas antes do início de cada experimento, o sistema foi estabilizado de acordo com os valores de cada tratamento.

Delineamento do experimento

Para cada uma das três etapas dos experimentos, 4 fêmeas ovígeras de *E. gonagra*, em estágio final de desenvolvimento embrionário, foram coletadas e mantidas no sistema berçário até a eclosão das larvas. Estas fêmeas foram inspecionadas e alimentadas, diariamente, com pedaços de camarão, músculo de peixe e ração para peixes ornamentais marinhos. À medida que ocorria a eclosão dos ovos, as larvas atraídas pela fonte luminosa (fototropismo positivo) foram individualizadas, com o uso de uma pipeta (Pasteur), para os recipientes de criação em cada aquário de manutenção larval (Capítulo 1, Figura 1, nº 10), sendo utilizadas 19 larvas por fêmea para totalizar os 76 recipientes disponíveis em cada sistema.

As larvas foram inspecionadas diariamente para a remoção dos detritos e retirada das prováveis exúvias e indivíduos mortos. A alimentação consistiu de nauplii recém-eclodidos de *Artemia* sp., oferecidos *ad libitum* (os cistos de *Artemia* sp. utilizados foram adquiridos na empresa Bioartemia, Grossos, RN). As mortes e durações dos estágios de cada indivíduo foram anotadas em tabela própria, de acordo com a numeração de cada larva.

Além disso, durante as criações, 200 larvas foram adicionadas a dois grandes recipientes de criação dentro do reservatório do sistema, em cada tratamento, como em um cultivo massivo. Foram sacrificadas 25 larvas por estágio larval atingido, no decorrer de cada criação, para serem utilizadas nas análises de massa corpórea, conteúdo de cálcio e magnésio, crescimento e morfologia. Desta forma, apenas larvas saudáveis foram utilizadas nestas análises, sem interferir nas larvas criadas individualmente e utilizadas nas análises de sobrevivência e período de intermuda.

Métodos de análise

As análises de sobrevivência, número de estágios alcançados e período de intermuda de cada estágio larval foram realizadas a partir de tabelas comparativas entre os tratamentos efetuados. Também foram anotadas observações qualitativas do comportamento e condição larval entre todos os tratamentos efetuados.

Para a avaliação da massa corpórea (peso seco), larvas iniciais (logo após a eclosão) e em intermuda nos estágios seguintes (separadas por tratamento) foram fixadas em álcool 80%, mantidas em estufa a 60°C por 48h e, em seguida, pesadas em balança analítica Mettler Toledo® (precisão $\pm 1 \mu\text{g}$). Posteriormente, estas mesmas larvas foram submetidas às análises de conteúdo de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) por espectrofotometria de absorção atômica (AAS), seguindo protocolos do Laboratório de Metais Pesados do Departamento de Ciências do Solo, FCA, UNESP – campus Lageado, Botucatu/SP.

Nas análises de crescimento, foram utilizados exemplares fixados em álcool 80% das larvas em intermuda de todos os estágios e tratamentos realizados, as quais foram medidas utilizando microscópio estereoscópio Zeiss Stemi 2000-C, equipado com sistema de imagem AxioVision, versão 4.8.2.0. Nesta análise, as seguintes medições foram utilizadas: comprimento da carapaça desde a protuberância frontal (PF) até a margem posterior (MP); distância da base do espinho rostral (BER) até o ângulo posterior da base do espinho dorsal (BED); e distância entre as bases dos espinhos laterais (BEL) (Fig. 20). Optou-se por não escolher nenhuma medida que incluísse os espinhos, pois estes são passíveis de desgastes e rupturas, o que poderia interferir nos resultados.

As avaliações morfológicas incluíram análises ultraestruturais (por microscopia eletrônica de varredura – MEV) e por microscopia óptica. Para a MEV, as larvas dos estágios e tratamentos utilizados foram fixadas em glutaraldeído, levadas até o Centro de Microscopia Eletrônica (CME-IBB) e processadas seguindo protocolos de metalização próprios do CME, para observação em microscópio eletrônico de varredura FEI® Quanta

200. As variações morfológicas dos apêndices e cerdas (número e tipos) foram verificadas utilizando-se exúvias e exemplares das larvas (ambos fixados em álcool 80%) de todos os estágios e tratamentos realizados, as quais foram dissecadas, desenhadas e descritas utilizando microscópio estereoscópio Zeiss® SV6 e microscópio Zeiss® Axioskop2, equipados com câmara clara e ocular micrométrica.

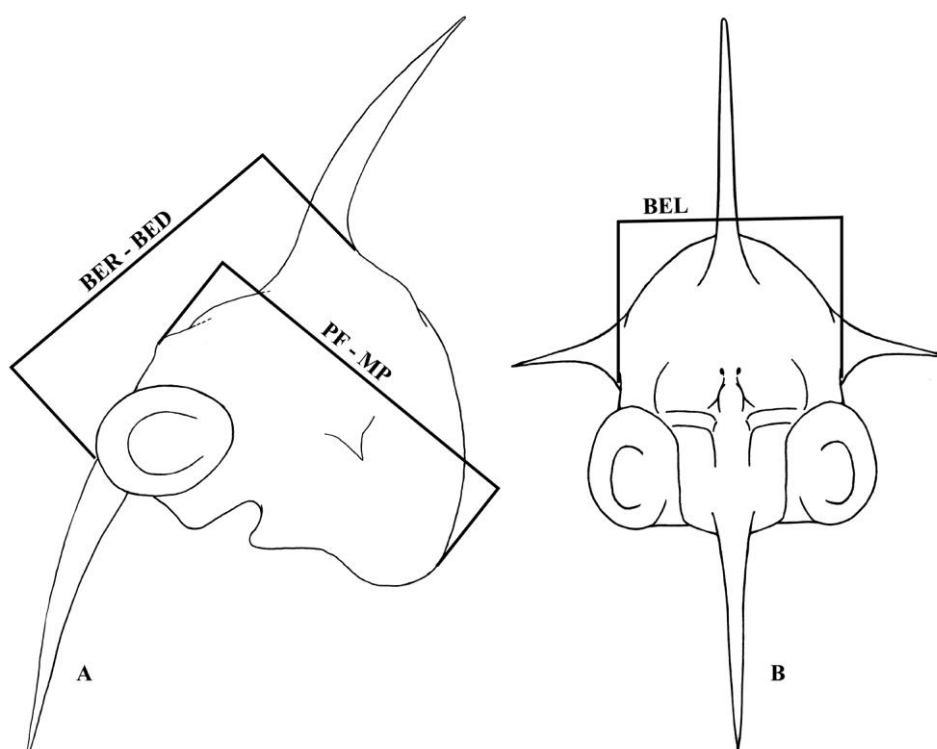


Figura 20. Posição das medidas utilizadas nas análises de crescimento. A, vista lateral; B, vista frontal; BER – BED = Base do Espinho Rostral até a Base do Espinho Dorsal; PF – MP = Protuberância Frontal até a Margem Posterior; BEL, distância entre as Bases dos Espinhos Laterais.

Estatística

As proporções finais de sobrevivência (porcentagem) e do peso seco de cada tratamento foram comparadas entre os cruzamentos de salinidade, temperatura e pH, utilizando as análises de contraste entre e dentro de proporções multinomiais, proposto por Goodman (1964; 1965) *apud* Curi & Moraes (1981). Nesta análise, pode-se ou fixar a classe e verificar o contraste entre as combinações lineares das proporções multinomiais, ou fixar a multinomial e estudar os intervalos de confiança para contrastes entre as proporções das classes. No primeiro caso, utiliza-se a estatística G para verificar a significância dos contrastes, pela comparação do valor calculado de G com o respectivo valor crítico (dependente do número de multinomiais e de classes). Se o valor calculado de

G for maior que o seu valor crítico, rejeita-se a hipótese nula, que é a igualdade entre as proporções das multinomiais combinadas par a par. No segundo caso, são obtidos intervalos de confiança para cada combinação linear entre as proporções das classes, cujos limites inferior e superior são calculados utilizando valores críticos baseados no número de classes. Neste caso, a hipótese nula (igualdade das proporções) é rejeitada caso o intervalo de confiança não inclua o valor zero.

Nas análises do período de intermuda, crescimento e conteúdo mineral, as variáveis dependentes foram transformadas para a forma de logaritmo natural (“ln(x)”) para satisfazer os pressupostos da distribuição normal (teste de Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk, $p > 0,05$) e homogeneidade de variâncias (teste de Bartlett ou Levene, $p > 0,05$), necessários para as análises paramétricas realizadas (ANOVA, para análise de fatores isolados ou cruzamento entre os estágios, salinidade, temperatura e pH, seguido por teste *a posteriori* de Tukey para comparação aos pares). Nos casos em que não foram constatados parametricidade dos dados, a alternativa não paramétrica foi utilizada (teste de Kruskal-Wallis, seguido de teste *a posteriori* por comparação múltipla dos *ranks* médios para todos os grupos). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software STATISTICA (versão 8.0, StatSoft Inc.).

Nas análises de crescimento, as duas dimensões mais correlacionadas, pelo teste de Correlação de Spearman, foram relacionadas entre si para verificar possíveis diferenças entre todos os tratamentos. Na avaliação desta relação, utilizou-se a análise de variância multivariada (MANOVA) ou a análise de variância multivariada não paramétrica (One-way NPMANOVA, com a medida de distância Euclideana), nos casos de não parametricidade dos dados (comprovados pelo teste de normalidade multivariada e pelo teste M de Box). Os valores de significância de ambas as análises foram corrigidos por Bonferroni, e as mesmas foram realizadas pelo software PAST (Paleontological Statistics, versão 2.17c).

Vale ressaltar que em todas as análises foi utilizado o nível de significância de 5% (Zar, 1996).

Resultados

Sobrevivência

Observou-se que houve variação na sobrevivência larval durante a fase zoeal entre todos os tratamentos realizados (Figs. 21 e 22, Tab. 3). Considerando a salinidade, verifica-se que o valor controle desta (35) proporciona as melhores taxas de sobrevivência até o último estágio larval (megalopa), comparando-se entre os tratamentos de mesma temperatura e pH. Constatou-se que as larvas suportam melhor uma diminuição do que um aumento na salinidade, como pode ser comprovado pelas taxas de sobrevivência semelhantes entre os tratamentos em salinidade 28 e 35, consideravelmente diferentes das sobrevivências observadas no tratamentos em salinidade 42 (menos de 10% das larvas atingiram o estágio de megalopa, mesmo nos tratamentos controle de temperatura e pH).

Com relação à temperatura, observa-se que o maior aumento desta tende a diminuir a sobrevivência larval. No entanto, verificaram-se sobrevivências semelhantes entre os tratamentos a 25 e 28°C, sendo que, entre todos os tratamentos realizados, as maiores sobrevivências foram em salinidade 35 e temperatura 28°C. Porém, em conjunto com o pH, um grande aumento na temperatura torna-se letal nos menores valores deste, pois, como pode ser observado, a 32°C somente nos tratamentos em pH 8,1 e 7,7 as larvas atingem a megalopa (com exceção do tratamento em pH 7,3 e salinidade 35, onde apenas 1% das larvas atingem tal estágio).

Verificou-se que a diminuição do pH leva a menores taxas de sobrevivência. Em pH 6,7, nenhuma larva atinge o terceiro (salinidade 35) ou o quarto estágio de zoea (salinidades 28 e 42), independente da temperatura. Em conjunto com a salinidade, observa-se que menores valores de pH são melhor suportados também em menores salinidades.

A tabela 4 apresenta os resultados das comparações estatísticas entre as curvas de sobrevivência de todos os tratamentos. As figuras de 23 a 28 apresentam as curvas de sobrevivência de cada tratamento por estágio larval atingido.

Tabela 3. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Sobrevivência (%) até o último estágio larval (megalopa) em cada tratamento realizado. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

Sal	Temp (°C)	pH			
		6,7	7,3	7,7	8,1
28	25	0,00%	36,84%	43,42%	44,74%
	28	0,00%	36,84%	42,11%	43,42%
	32	0,00%	0,00%	26,32%	35,53%
35	25	0,00%	42,11%	51,32%	53,95%
	28	0,00%	38,16%	57,89%	56,58%
	32	0,00%	1,32%	38,16%	43,42%
42	25	0,00%	0,00%	6,58%	9,21%
	28	0,00%	0,00%	6,58%	7,89%
	32	0,00%	0,00%	1,32%	2,63%

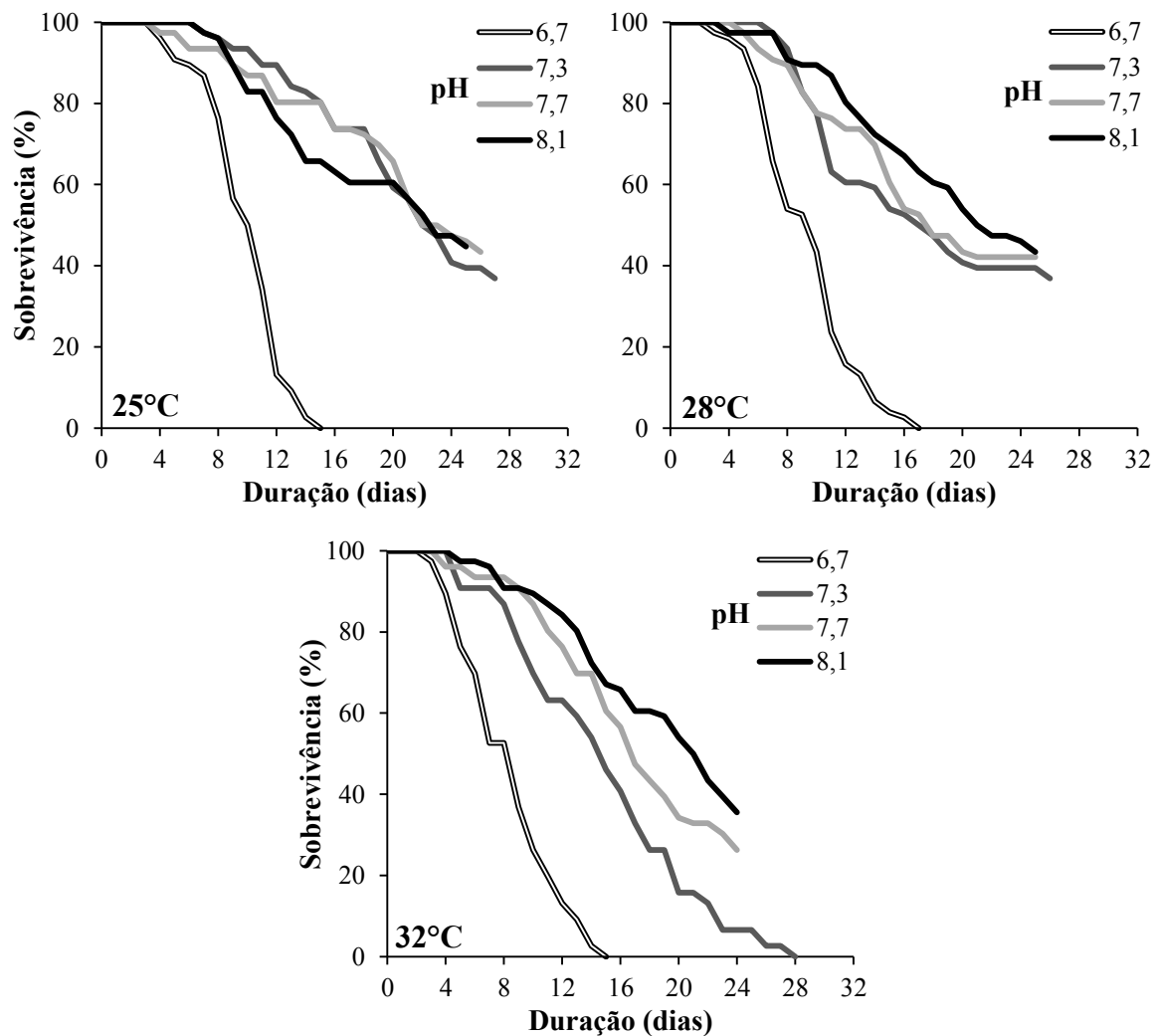


Figura 21. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Curvas de sobrevivência entre os diferentes valores de pH e temperatura até o último estágio larval, em salinidade 28.

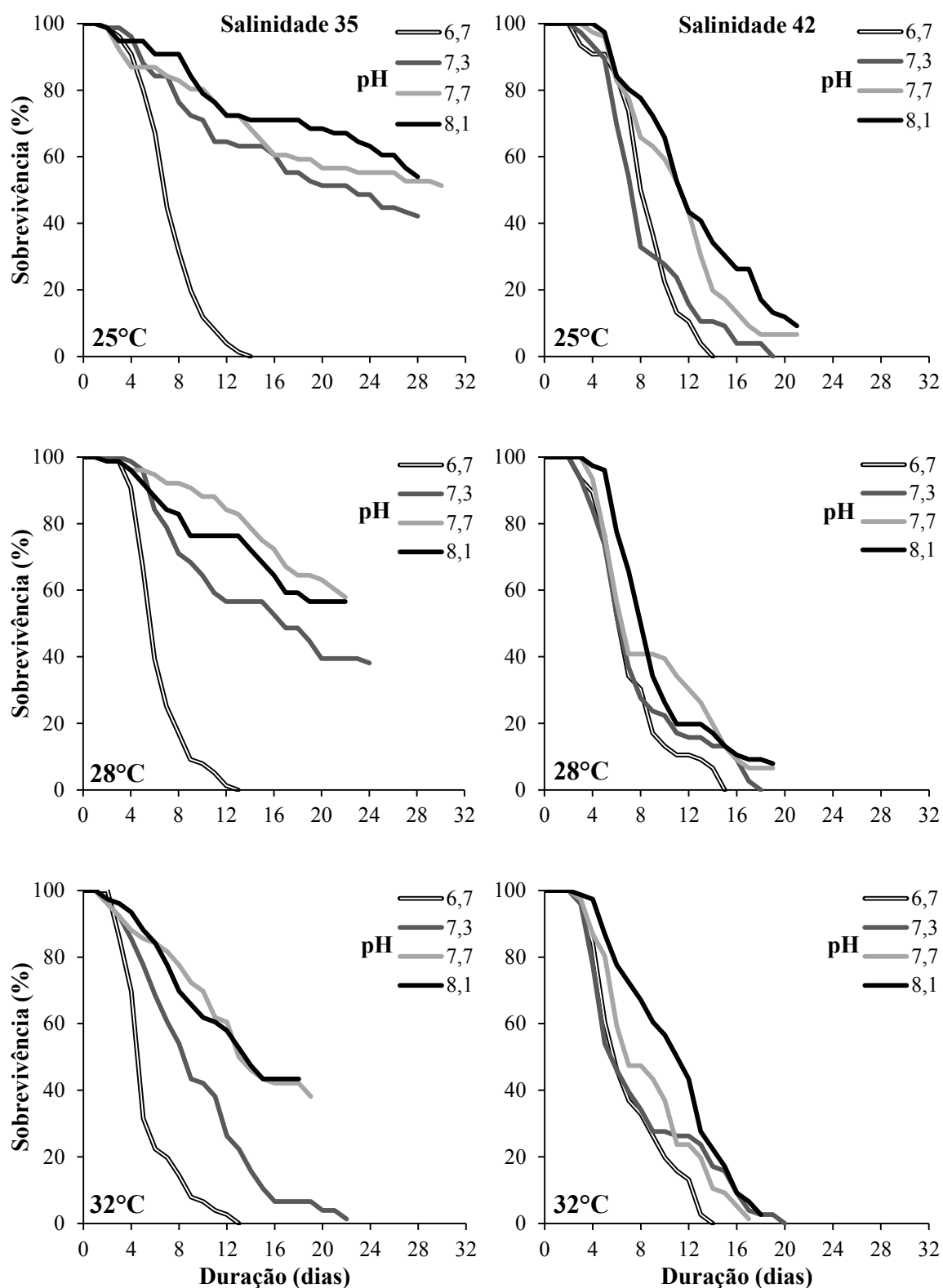


Figura 22. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Curvas de sobrevivência entre os diferentes valores de pH e temperatura até o último estágio larval, em salinidade 35 (coluna à esquerda) e 42 (coluna à direita).

Tabela 4. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Resultado das comparações estatísticas entre as curvas de sobrevivência de cada tratamento efetuado (contraste entre proporções multinomiais, proposto por Goodman [1964] *apud* Curi & Moraes [1981]). Valores em negrito indicam diferenças significativas (valores acima do G crítico = 3,946). Sal = salinidade; Temp = temperatura.

Sal	28										35										42																	
	25°C					28°C					32°C					25°C					28°C					32°C												
Temp	pH	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1					
28	25°C	6.7	-	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.3	6.7	-	0.8	1.0	6.7	0.0	0.7	0.8	6.7	6.7	1.4	0.2	6.7	0.7	1.8	2.1	6.7	0.2	2.7	2.5	6.7	6.2	0.2	0.8	6.7	6.7	4.9	4.3	6.7	6.7	4.9	4.6	6.7	6.7	6.2	5.9
		7.7	7.6	0.8	-	0.2	7.6	0.8	0.2	0.0	7.6	7.6	2.2	1.0	7.6	0.2	1.0	1.3	7.6	0.7	1.8	1.6	7.6	7.2	0.7	0.0	7.6	7.6	5.8	5.2	7.6	7.6	5.8	5.5	7.6	7.6	7.2	6.8
		8.1	7.8	1.0	0.2	-	7.8	1.0	0.3	0.2	7.8	7.8	2.4	1.2	7.8	0.3	0.8	1.1	7.8	0.8	1.6	1.5	7.8	7.4	0.8	0.2	7.8	7.8	6.0	5.4	7.8	7.8	6.0	5.7	7.8	7.8	7.4	7.0
		6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	-	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.3	6.7	0.0	0.8	1.0	6.7	-	0.7	0.8	6.7	6.7	1.4	0.2	6.7	0.7	1.8	2.1	6.7	0.2	2.7	2.5	6.7	6.2	0.2	0.8	6.7	6.7	4.9	4.3	6.7	6.7	4.9	4.6	6.7	6.7	6.2	5.9
		7.7	7.4	0.7	0.2	0.3	7.4	0.7	-	0.2	7.4	7.4	2.1	0.8	7.4	0.0	1.1	1.5	7.4	0.5	2.0	1.8	7.4	7.0	0.5	0.2	7.4	7.4	5.6	5.0	7.4	7.4	5.6	5.3	7.4	7.4	7.0	6.6
		8.1	7.6	0.8	0.0	0.2	7.6	0.8	0.2	-	7.6	7.6	2.2	1.0	7.6	0.2	1.0	1.3	7.6	0.7	1.8	1.6	7.6	7.2	0.7	0.0	7.6	7.6	5.8	5.2	7.6	7.6	5.8	5.5	7.6	7.6	7.2	6.8
		6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	-	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.3	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	-	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
	7.7	5.2	1.4	2.2	2.4	5.2	1.4	2.1	2.2	5.2	5.2	-	1.2	5.2	2.1	3.3	3.6	5.2	1.6	4.2	4.0	5.2	4.8	1.6	2.2	5.2	5.2	3.4	2.8	5.2	5.2	3.4	3.1	5.2	5.2	4.8	4.4	
35		8.1	6.5	0.2	1.0	1.2	6.5	0.2	0.8	1.0	6.5	6.5	1.2	-	6.5	0.8	2.0	2.3	6.5	0.3	2.8	2.7	6.5	6.1	0.3	1.0	6.5	6.5	4.7	4.1	6.5	6.5	4.7	4.4	6.5	6.5	6.1	5.7
		6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	-	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.3	7.4	0.7	0.2	0.3	7.4	0.7	0.0	0.2	7.4	7.4	2.1	0.8	7.4	-	1.1	1.5	7.4	0.5	2.0	1.8	7.4	7.0	0.5	0.2	7.4	7.4	5.6	5.0	7.4	7.4	5.6	5.3	7.4	7.4	7.0	6.6
		7.7	9.0	1.8	1.0	0.8	9.0	1.8	1.1	1.0	9.0	9.0	3.3	2.0	9.0	1.1	-	0.3	9.0	1.6	0.8	0.7	9.0	8.5	1.6	1.0	9.0	9.0	7.0	6.4	9.0	9.0	7.0	6.7	9.0	9.0	8.5	8.1
		8.1	9.4	2.1	1.3	1.1	9.4	2.1	1.5	1.3	9.4	9.4	3.6	2.3	9.4	1.5	0.3	-	9.4	2.0	0.5	0.3	9.4	9.0	2.0	1.3	9.4	9.4	7.4	6.8	9.4	9.4	7.4	7.1	9.4	9.4	9.0	8.5
		6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	-	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.3	6.8	0.2	0.7	0.8	6.8	0.2	0.5	0.7	6.8	6.8	1.6	0.3	6.8	0.5	1.6	2.0	6.8	0.0	2.5	2.3	6.8	6.4	0.0	0.7	6.8	6.8	5.0	4.5	6.8	6.8	5.0	4.7	6.8	6.8	6.4	6.1
		7.7	10.2	2.7	1.8	1.6	10.2	2.7	2.0	1.8	10.2	10.2	4.2	2.8	10.2	2.0	0.8	0.5	10.2	2.5	-	0.2	10.2	9.7	2.5	1.8	10.2	10.2	8.1	7.4	10.2	10.2	8.1	7.7	10.2	10.2	9.7	9.3
		8.1	10.0	2.5	1.6	1.5	10.0	2.5	1.8	1.6	10.0	10.0	4.0	2.7	10.0	1.8	0.7	0.3	10.0	2.3	0.2	-	10.0	9.5	2.3	1.6	10.0	10.0	7.9	7.2	10.0	10.0	7.9	7.5	10.0	10.0	9.5	9.0
		6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	-	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
	7.3	1.0	6.2	7.2	7.4	1.0	6.2	7.0	7.2	1.0	1.0	4.8	6.1	1.0	7.0	8.5	9.0	1.0	6.4	9.7	9.5	1.0	-	6.4	7.2	1.0	1.0	1.7	2.2	1.0	1.7	2.0	1.0	1.0	0.0	0.6		
42		7.7	6.8	0.2	0.7	0.8	6.8	0.2	0.5	0.7	6.8	6.8	1.6	0.3	6.8	0.5	1.6	2.0	6.8	0.0	2.5	2.3	6.8	6.4	-	0.7	6.8	6.8	5.0	4.5	6.8	6.8	5.0	4.7	6.8	6.8	6.4	6.1
		8.1	7.6	0.8	0.0	0.2	7.6	0.8	0.2	0.0	7.6	7.6	2.2	1.0	7.6	0.2	1.0	1.3	7.6	0.7	1.8	1.6	7.6	7.2	0.7	-	7.6	7.6	5.8	5.2	7.6	7.6	5.8	5.5	7.6	7.6	7.2	6.8
		6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.3	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.7	2.3	4.9	5.8	6.0	2.3	4.9	5.6	5.8	2.3	2.3	3.4	4.7	2.3	5.6	7.0	7.4	2.3	5.0	8.1	7.9	2.3	1.7	5.0	5.8	2.3	2.3	0.0	0.6	2.3	2.3	0.3	2.3	2.3	1.7	1.2	
		8.1	2.8	4.3	5.2	5.4	2.8	4.3	5.0	5.2	2.8	2.8	2.8	4.1	2.8	5.0	6.4	6.8	2.8	4.5	7.4	7.2	2.8	2.2	4.5	5.2	2.8	2.8	0.6	-	2.8	2.8	0.6	0.3	2.8	2.8	2.2	1.7
		6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	-	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.3	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	0.0	1.0	1.4
		7.7	2.3	4.9	5.8	6.0	2.3	4.9	5.6	5.8	2.3	2.3	3.4	4.7	2.3	5.6	7.0	7.4	2.3	5.0	8.1	7.9	2.3	1.7	5.0	5.8	2.3	2.3	0.0	0.6	2.3	2.3	0.3	2.3	2.3	1.7	1.2	
		8.1	2.6	4.6	5.5	5.7	2.6	4.6	5.3	5.5	2.6	2.6	3.1	4.4	2.6	5.3	6.7	7.1	2.6	4.7	7.7	7.5	2.6	2.0	4.7	5.5	2.6	2.6	0.3	0.3	2.6	2.6	0.3	-	2.6	2.6	2.0	1.5
	6.7	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	-	0.0	1.0	1.4	
	7.3	0.0	6.7	7.6	7.8	0.0	6.7	7.4	7.6	0.0	0.0	5.2	6.5	0.0	7.4	9.0	9.4	0.0	6.8	10.2	10.0	0.0	1.0	6.8	7.6	0.0	0.0	2.3	2.8	0.0	0.0	2.3	2.6	0.0	-	1.0	1.4	
	7.7	1.0	6.2	7.2	7.4	1.0	6.2	7.0	7.2	1.0	1.0	4.8	6.1	1.0	7.0	8.5	9.0	1.0	6.4	9.7	9.5	1.0	0.0	6.4	7.2	1.0	1.0	1.7	2.2	1.0	1.7	2.0	1.0	1.0	-	0.6		

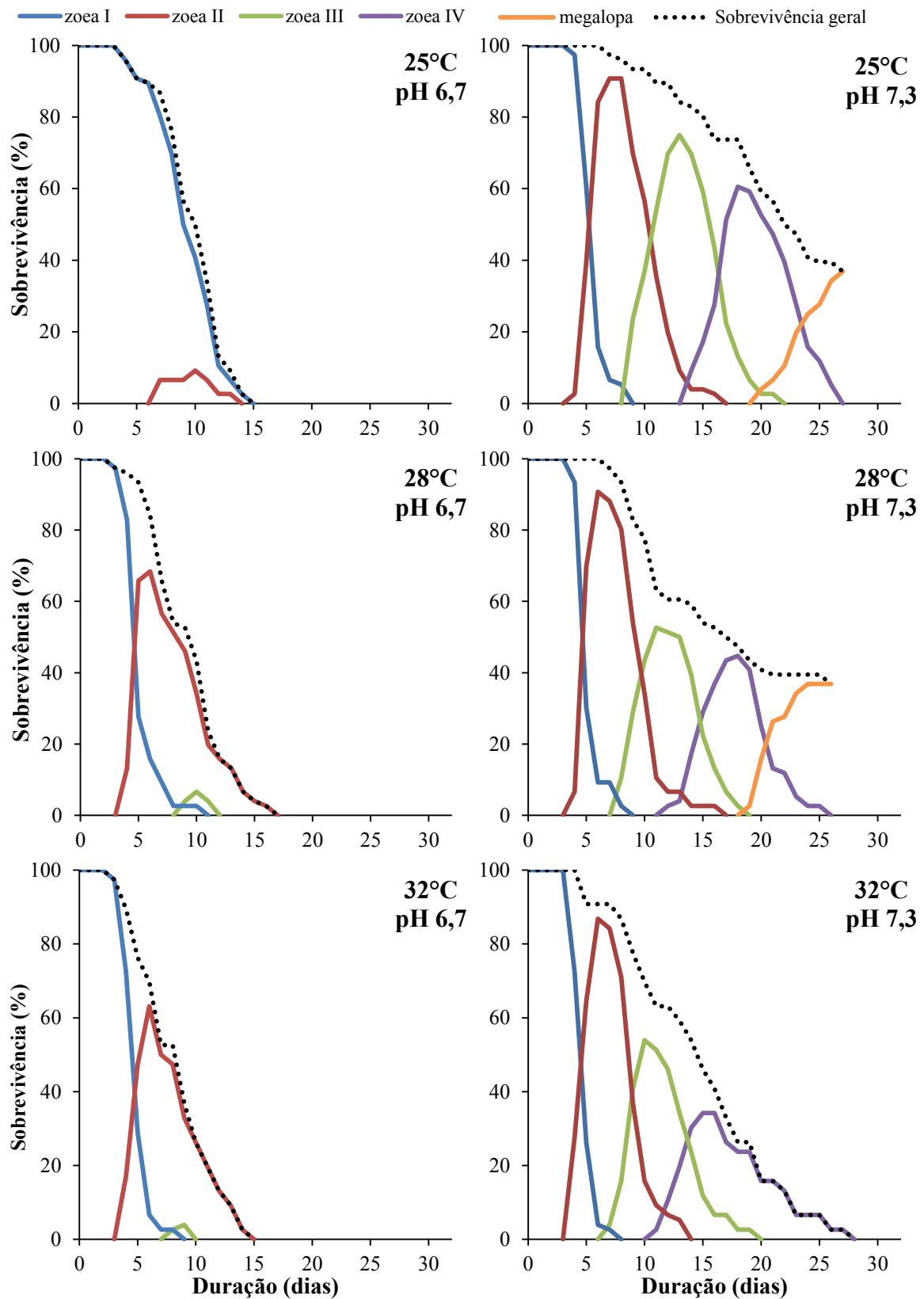


Figura 23. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Sobrevivência de cada estágio atingido entre os tratamentos em pH 6,7 (coluna à esquerda) e pH 7,3 (coluna à direita), em salinidade 28.

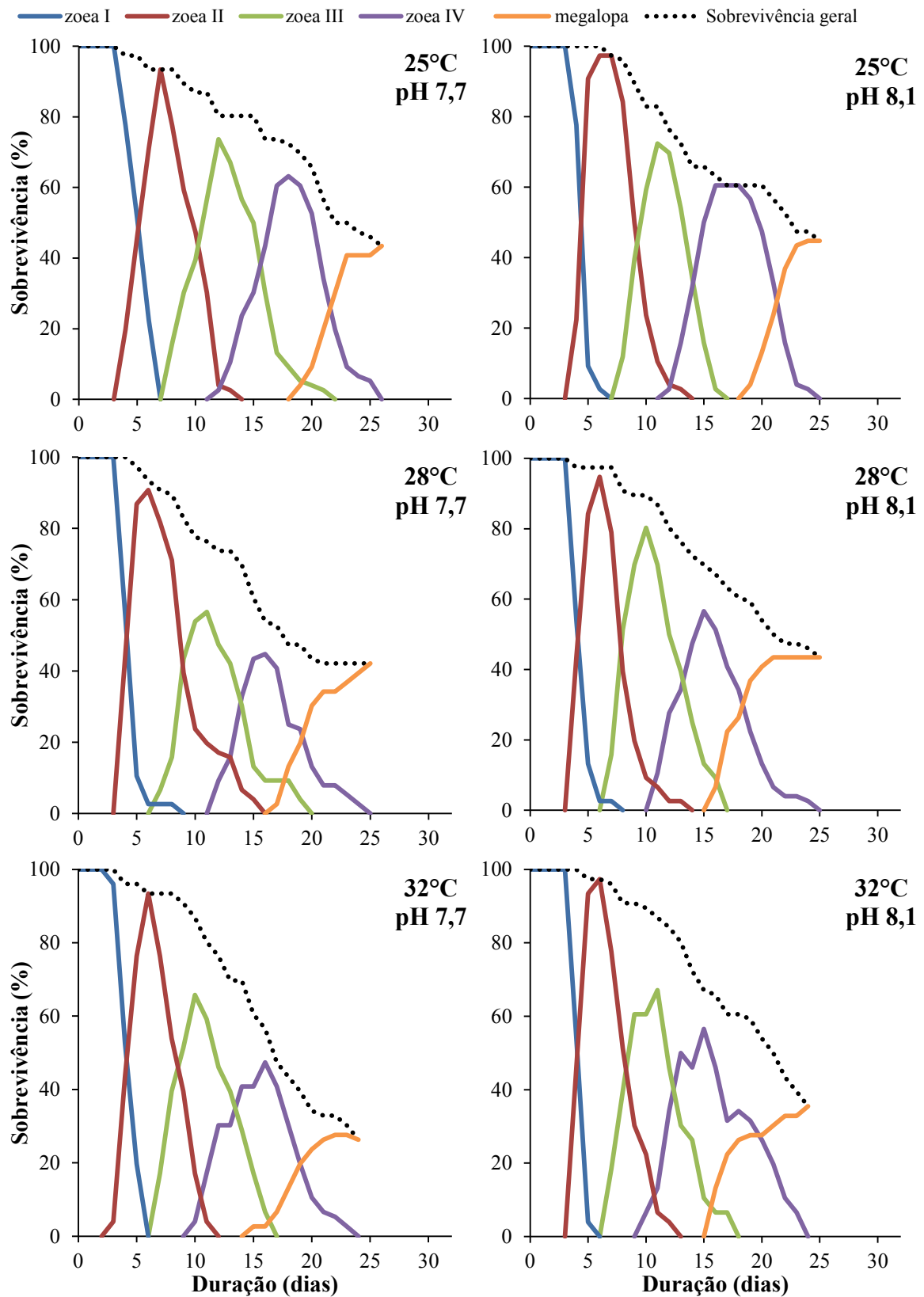


Figura 24. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Sobrevivência de cada estágio atingido entre os tratamentos em pH 7,7 (coluna à esquerda) e pH 8,1 (coluna à direita), em salinidade 28.

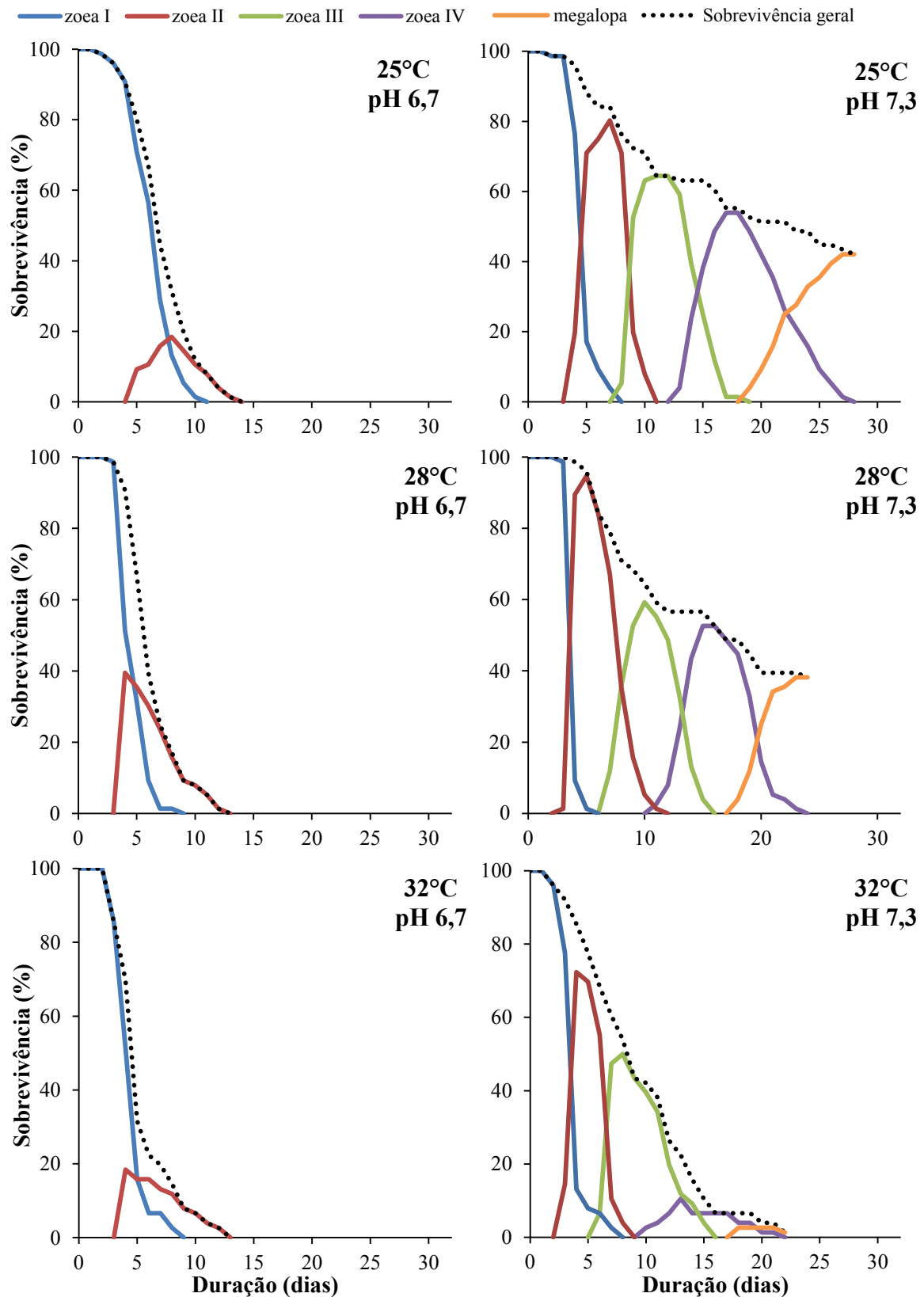


Figura 25. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Sobrevivência de cada estágio atingido entre os tratamentos em pH 6,7 (coluna à esquerda) e pH 7,3 (coluna à direita), em salinidade 35.

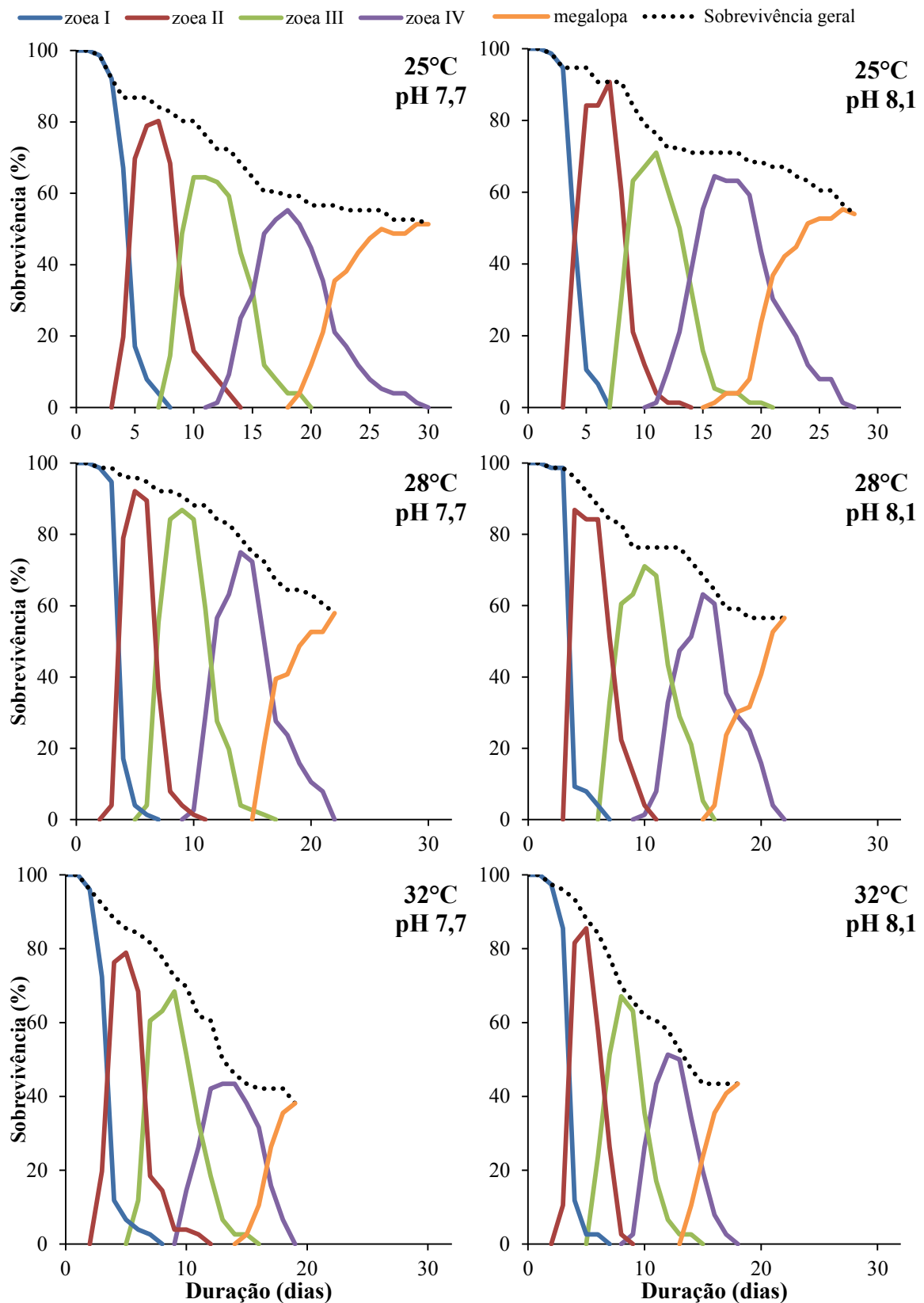


Figura 26. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Sobrevivência de cada estágio atingido entre os tratamentos em pH 7,7 (coluna à esquerda) e pH 8,1 (coluna à direita), em salinidade 35.

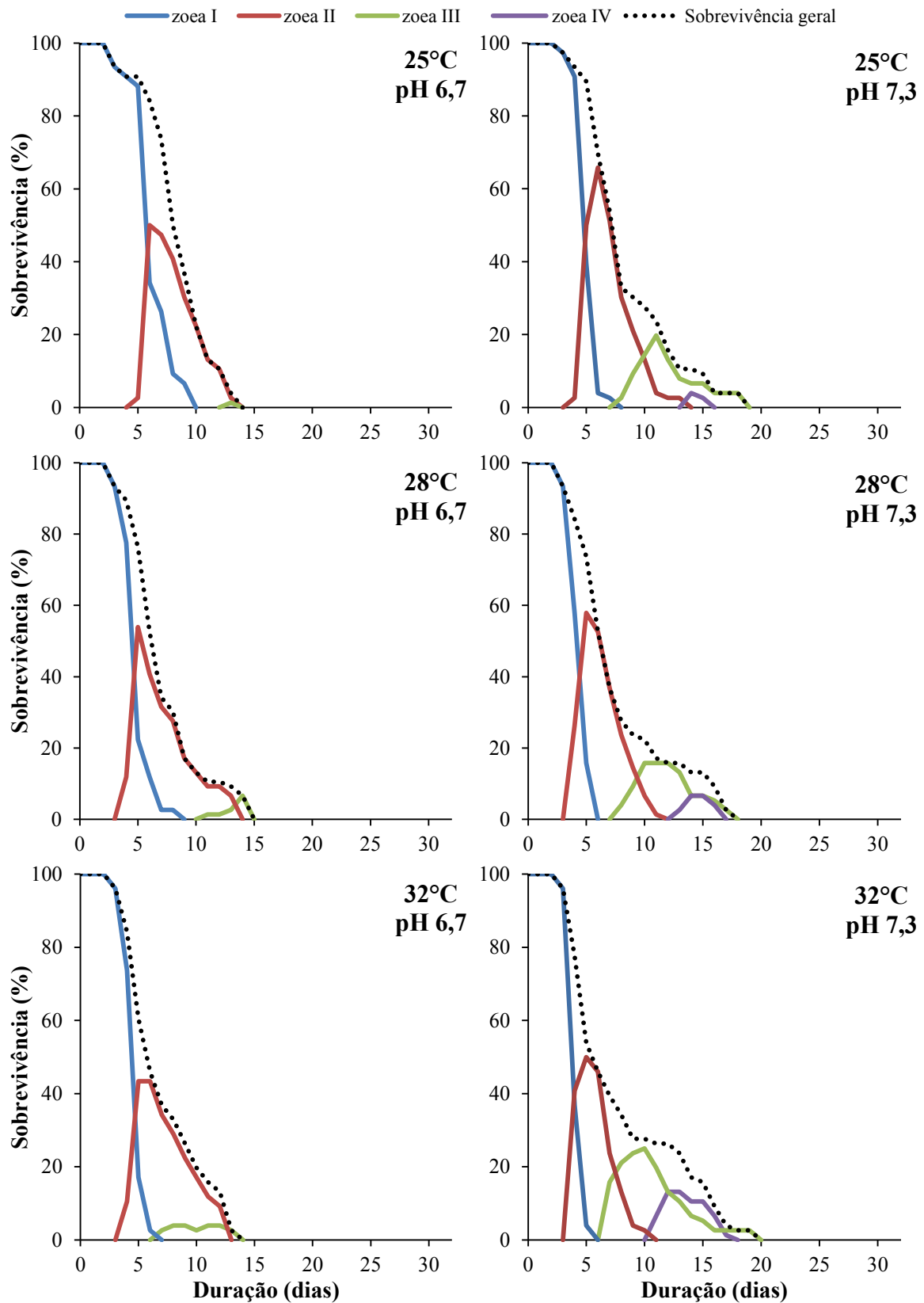


Figura 27. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Sobrevivência de cada estágio atingido entre os tratamentos em pH 6,7 (coluna à esquerda) e pH 7,3 (coluna à direita), em salinidade 42.

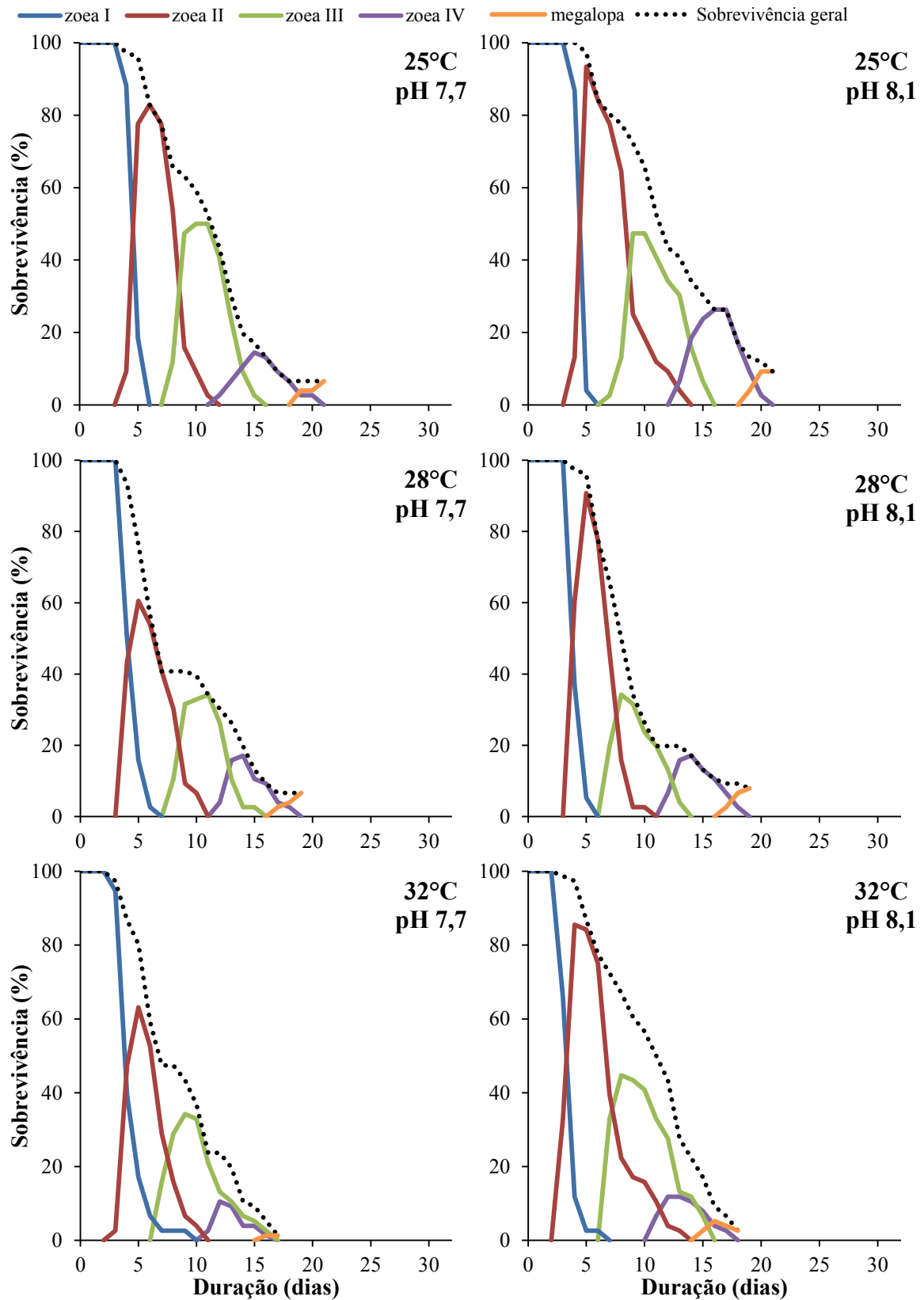


Figura 28. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Sobrevivência de cada estágio atingido entre os tratamentos em pH 7,7 (coluna à esquerda) e pH 8,1 (coluna à direita), em salinidade 42.

Período de intermuda

Verificou-se que o período de intermuda apresentou variação entre as temperaturas e valores de pH testados, para cada estágio de zoea, considerando todos os tratamentos efetuados (Tab. 5). De modo geral, os períodos de intermuda foram semelhantes entre as salinidades utilizadas, considerando os mesmos tratamentos de temperatura e pH, embora seja possível observar uma pequena diminuição (significativa para alguns tratamentos) das durações com aumentos gradativos de salinidade.

Em relação à temperatura, observou-se que o aumento desta diminui o período de intermuda de todos os tratamentos com variação de salinidade e pH, inclusive anulando os efeitos retardantes de duração que a diminuição do pH demonstra impor. Entre os valores de pH, as maiores diferenças de duração dos estágios larvais, principalmente do primeiro estágio de zoea, são observadas na menor temperatura (25°C).

Vale ressaltar que só foram utilizados nesta análise períodos de intermuda de indivíduos que sofreram ecdise. Períodos de intermuda do último estágio atingido pelos indivíduos mortos foram descartados, uma vez que não representam condições naturais.

Os resultados das comparações estatísticas entre os períodos de intermuda de todos os estágios de zoea encontram-se nas tabelas de 6 a 9, enquanto que as figuras 29 a 32 apresentam as médias dos períodos de intermuda por estágio larval. Observou-se que não há um padrão da significância estatística entre os tratamentos e estágios de zoea, com exceção dos períodos de intermuda de todos os tratamentos em salinidade 42 e estágio IV de zoea, os quais foram semelhantes estatisticamente com as demais salinidades empregadas (28 e 35).

Tabela 5. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média (M) e desvio padrão (DP) dos períodos de intermuda dos estágios de zoea obtidos em todos os tratamentos. * = valores únicos.

Sal	Temp (°C)	pH	Estágios							
			zoea I		zoea II		zoea III		zoea IV	
			M	DP	M	DP	M	DP	M	DP
28	25	6,7	8,3	±1,2						
		7,3	5,7	±0,8	10,9	±1,8	16,6	±1,7	23,5	±2,1
		7,7	5,6	±1,1	10,3	±1,6	15,8	±2,1	21,7	±1,6
		8,1	4,8	±0,5	9,6	±1,0	14,5	±1,2	21,3	±1,4
	28	6,7	5,1	±0,7	9,5	±0,6				
		7,3	5,3	±0,8	9,9	±1,3	15,3	±1,7	21,1	±1,4
		7,7	4,7	±0,9	9,4	±1,7	14,4	±1,8	19,9	±2,2
		8,1	4,7	±0,8	8,6	±1,4	13,4	±1,8	18,3	±2,1
	32	6,7	5,0	±0,8	8,8	±0,4				
		7,3	5,0	±0,8	9,1	±1,0	13,9	±1,6		
		7,7	4,7	±0,9	8,7	±1,3	12,9	±1,9	18,7	±1,8
		8,1	4,6	±0,6	8,8	±1,5	13,2	±2,2	18,2	±2,8
35	25	6,7	6,3	±1,1	13,0*					
		7,3	5,0	±0,9	9,2	±0,7	15,0	±1,2	22,4	±2,3
		7,7	5,0	±0,8	9,5	±1,4	15,0	±1,7	22,2	±2,3
		8,1	4,7	±0,8	8,9	±1,0	14,5	±2,0	21,1	±2,3
	28	6,7	4,3	±0,6						
		7,3	4,1	±0,3	8,4	±1,0	13,7	±1,2	20,3	±1,5
		7,7	4,1	±0,5	7,5	±0,9	12,1	±1,2	17,6	±1,9
		8,1	4,1	±0,6	8,0	±1,2	13,1	±1,6	18,8	±2,0
	32	6,7	4,2	±0,6						
		7,3	3,9	±0,5	7,0	±0,5	12,2	±1,5	18,0*	
		7,7	4,0	±0,8	7,1	±0,8	11,3	±1,0	17,2	±1,0
		8,1	4,0	±0,4	7,0	±0,8	10,8	±0,9	15,5	±1,1
42	25	6,7	6,5	±1,0	13,0*					
		7,3	5,3	±0,7	10,2	±1,6	14,0	±0,0		
		7,7	5,0	±0,4	9,0	±0,7	14,1	±1,3	19,7	±1,2
		8,1	4,9	±0,4	9,0	±1,1	14,3	±1,0	19,6	±0,5
	28	6,7	5,0	±0,7	13,0	±1,7				
		7,3	4,6	±0,6	9,1	±0,8	13,7	±0,6		
		7,7	4,6	±0,8	9,1	±1,0	13,0	±0,7	18,0	±1,0
		8,1	4,4	±0,5	7,7	±0,7	12,5	±1,0	18,0	±0,8
	32	6,7	4,9	±0,6	9,6	±2,4				
		7,3	4,4	±0,6	8,0	±1,3	12,7	±3,3		
		7,7	4,3	±0,7	7,9	±1,1	12,0	±0,6	16,0*	
		8,1	3,7	±0,6	7,3	±0,5	11,7	±0,8	15,5	±0,7

Tabela 6. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Resultado das comparações estatísticas entre os períodos de intermuda do primeiro estágio larval (zoea I) de cada tratamento efetuado. Valores em negrito indicam diferenças significativas. Kruskal-Wallis: H (35, N = 1363) = 612,5712; p = 0,000. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

Sal	28												35												42											
	25°C				28°C				32°C				25°C				28°C				32°C				25°C				28°C				32°C			
	pH	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1	6.7	7.3	7.7	8.1			
25°C	6.7	-	1.0	1.0	0.1	0.6	1.0	0.0	0.0	0.4	0.1	0.0	0.0	1.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.5	0.2	0.4	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0			
	7.3	1.0	-	1.0	0.2	1.0	1.0	0.0	0.0	1.0	0.7	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0				
	7.7	1.0	1.0	-	1.0	1.0	0.3	0.2	1.0	1.0	0.4	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0			
	8.1	0.1	0.2	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0			
	6.7	0.6	1.0	1.0	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.1	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	0.1	0.0			
28°C	7.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0	0.2	1.0	1.0	1.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	7.7	0.0	0.0	0.3	1.0	1.0	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	0.1	0.7	0.2	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0		
	8.1	0.0	0.0	0.2	1.0	1.0	0.9	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	0.1	0.9	0.3	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0		
	6.7	0.4	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.4	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	1.0	0.4	0.0	0.0		
	7.3	0.1	0.7	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.0	0.0		
32°C	7.7	0.0	0.0	0.4	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	0.1	0.7	0.2	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	
	8.1	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	0.0	1.0	1.0	1.0	0.4	1.0	1.0	0.1	0.0	0.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	
	6.7	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.0	-	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	
	7.3	0.2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	0.4	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.4	1.0	0.3	0.0		
	7.7	0.2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	0.6	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.6	1.0	0.5	0.0	0.0	
25°C	8.1	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	0.2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	-	1.0	0.3	1.0	0.9	1.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	
	6.7	0.0	0.0	0.0	1.0	0.1	0.0	1.0	1.0	0.4	0.9	1.0	1.0	0.0	0.4	0.6	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.2	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	7.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.3	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.9	0.0	0.0	0.7	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	8.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3	0.0	0.0	0.2	1.0	0.0	0.0	0.0	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
28°C	6.7	0.0	0.0	0.0	1.0	0.5	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.6	1.0	1.0	0.0	0.0	0.6	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	7.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	8.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
32°C	7.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	8.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	7.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
25°C	8.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	6.7	1.0	1.0	1.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	7.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	7.7	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	8.1	0.2	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
28°C	6.7	0.4	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	7.3	0.0	0.0	0.0	1.0	0.5	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	7.7	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	8.1	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	6.7	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
32°C	7.3	0.0	0.0	0.0	1.0	0.1	0.0	1.0	1.0	0.4	0.9	1.0	1.0	0.0	0.4	0.6	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.4	0.0	0.0	0.3	1.0	-	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
	8.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0																		

Tabela 7. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Resultado das comparações estatísticas entre os períodos de intermuda do segundo estágio larval (zoea II) de cada tratamento efetuado. Valores em negrito indicam diferenças significativas. Kruskal-Wallis: H (32, N = 862) = 438,3535; p = 0,000. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

Sal		28						35						42					
Temp		25°C		28°C		32°C		25°C		28°C		32°C		25°C		28°C		32°C	
pH		7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
25°C	7,3	-	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	7,7	1,0	-	1,0	1,0	1,0	0,0	0,1	0,1	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	8,1	1,0	1,0	-	1,0	1,0	0,2	1,0	1,0	1,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	6,7	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,2	0,3	0,2	1,0	1,0	1,0	1,0	0,7
28°C	7,3	1,0	1,0	1,0	-	1,0	0,0	1,0	0,3	0,4	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,1	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	8,1	0,0	0,0	0,2	1,0	0,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	0,0	0,3	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,4
	6,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
32°C	7,3	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	0,0	0,4	0,0	0,0	1,0	1,0	0,1	0,0
	7,7	0,0	0,1	1,0	0,3	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,1
	8,1	0,0	0,1	1,0	0,4	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	6,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
25°C	7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	8,1	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0
	6,7	0,0	0,0	0,2	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,7
28°C	7,3	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,3	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	1,0
	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	1,0	1,0	0,4	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	1,0	1,0	1,0
	8,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,7	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
32°C	7,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	8,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25°C	7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	8,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	6,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
28°C	7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	8,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	6,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
32°C	7,3	0,0	0,0	0,1	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	8,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25°C	7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	8,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	6,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
28°C	7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	8,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
	6,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
32°C	7,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	8,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	6,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 8. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Resultado das comparações estatísticas entre os períodos de intermuda do terceiro estágio larval (zoea III) de cada tratamento efetuado. Valores em negrito indicam diferenças significativas. Kruskal-Wallis: H (26, N = 602) = 295,0351; p = 0,000. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

Sal	28						35						42										
	Temp		25°C		28°C		32°C		25°C		28°C		32°C		25°C		28°C		32°C				
	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	
28	25°C	7,3	-	1,0	1,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
		7,7	1,0	-	1,0	1,0	0,0	0,9	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,2	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	0,3	0,0	0,0	0,0
		8,1	1,0	1,0	-	1,0	1,0	0,4	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,8	0,2	0,0	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	0,8
		7,3	1,0	1,0	1,0	-	1,0	0,2	1,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,1	0,2	0,1
28	28°C	7,7	0,2	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	1,0	0,9	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9
		8,1	0,0	0,0	1,0	0,2	1,0	-	1,0	1,0	0,3	0,7	1,0	1,0	1,0	0,1	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,3	0,0	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	1,0	0,2	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,7	0,0	0,0	0,4	0,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
35	32°C	8,1	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0	-	0,0	0,1	1,0	1,0	0,2	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	0,3	1,0	0,0	0,0	-	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0	0,1	0,2	
		7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	0,7	1,0	0,0	0,1	1,0	-	1,0	0,0	0,1	0,0	1,0	1,0	1,0	0,2	0,4	0,3	
		8,1	0,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	0,0	1,0	0,4	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
35	28°C	7,3	0,0	0,2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	0,1	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,2	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,1	-	1,0	1,0	1,0	0,1	1,0	1,0	1,0	1,0
		8,1	0,0	0,0	0,8	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,1	1,0	1,0	1,0	-	1,0	0,2	0,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,3	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0	0,4	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
42	32°C	7,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	1,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,2	1,0	-	1,0	0,1	0,0	1,0	1,0
		8,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	-	1,0	0,0	1,0	1,0	1,0
		7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,7	0,0	0,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	-	1,0	1,0	1,0
42	25°C	7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		8,1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
42	28°C	7,7	0,0	0,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		8,1	0,0	0,0	0,9	0,1	1,0	1,0	1,0	1,0	0,1	0,2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,3	0,0	0,0	1,0	0,2	1,0	1,0	1,0	1,0	0,2	0,4	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,7	0,0	0,0	0,8	0,1	1,0	1,0	1,0	1,0	0,1	0,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
42	32°C	8,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9	1,0	1,0	1,0	0,0	0,1	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,7	0,0	0,0	0,8	0,1	1,0	1,0	1,0	1,0	0,1	0,3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		7,3	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9	1,0	1,0	1,0	0,0	0,1	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
		8,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,1	0,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Tabela 9. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Resultado das comparações estatísticas entre os períodos de internada do quarto estágio larval (zoea IV) de cada tratamento efetuado. Valores em negrito indicam diferenças significativas. Kruskal-Wallis: H (22, N = 360) = 211,5140; p = 0,000. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

Sal	28				35				42				
	Temp	25°C	28°C	32°C	25°C	28°C	32°C	25°C	28°C	32°C	25°C	28°C	32°C
28	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
35	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
42	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	25°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	28°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
	32°C	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1

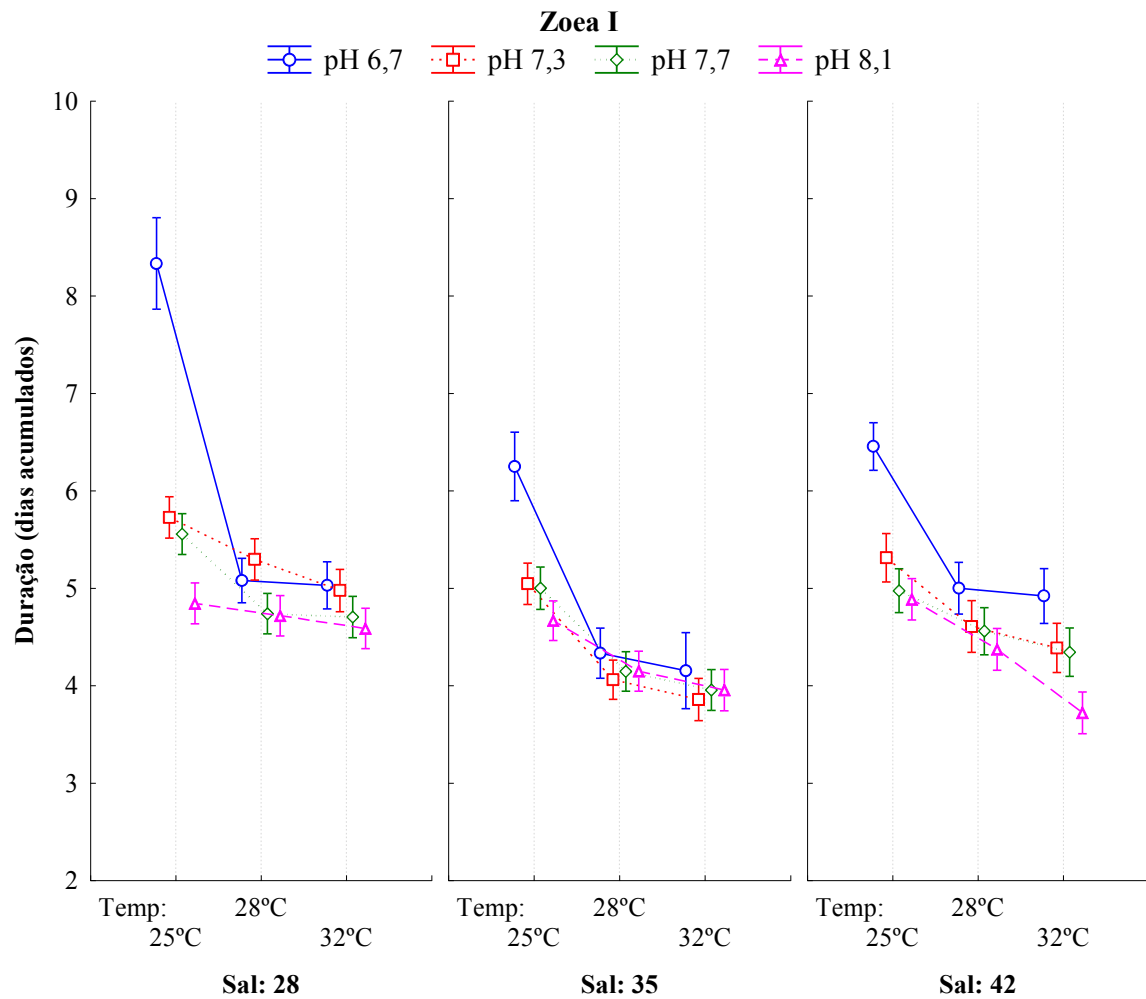


Figura 29. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Médias dos períodos de intermuda do primeiro estágio larval (zoea I) entre todos os tratamentos efetuados. Barras verticais representam o intervalo de confiança de 95%.

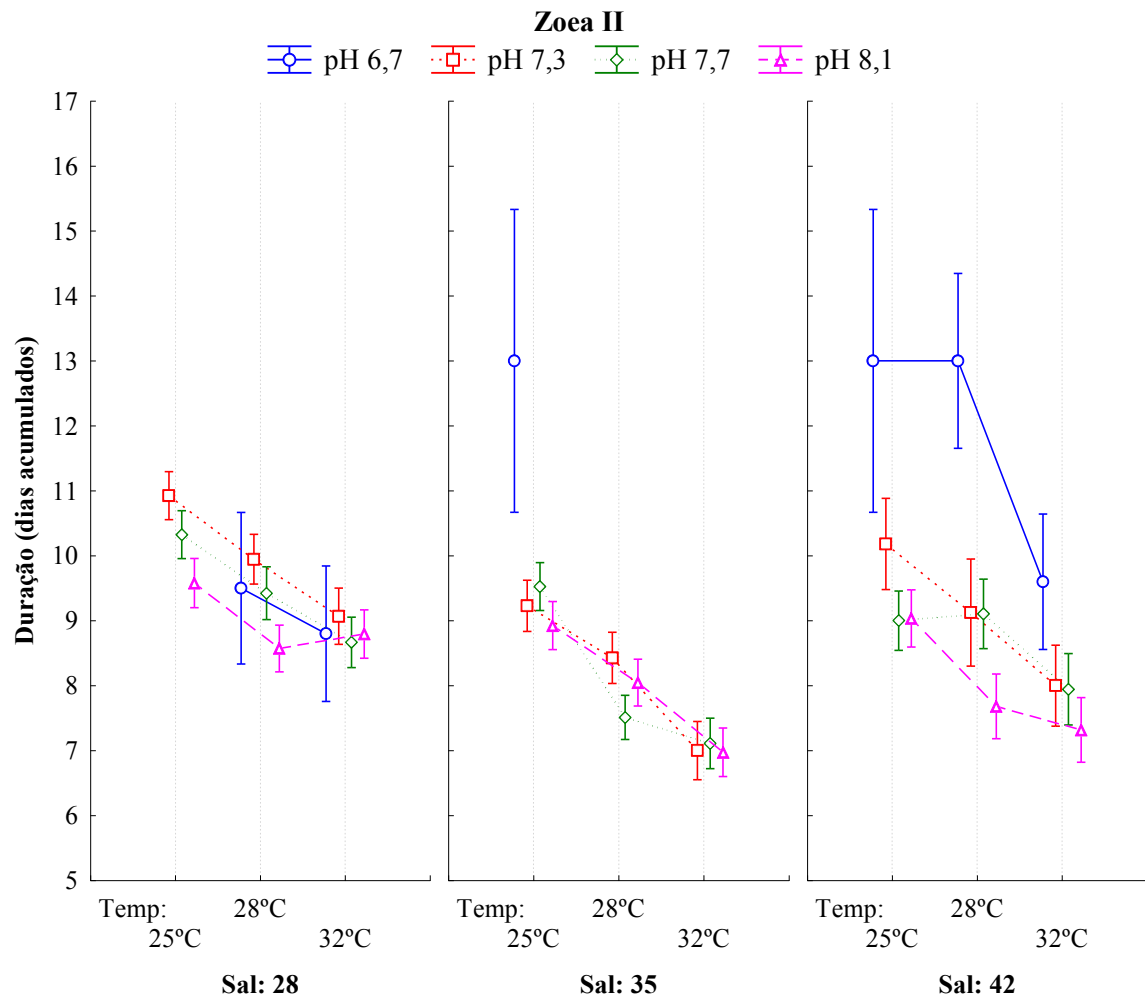


Figura 30. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Médias dos períodos de intermuda do segundo estágio larval (zoea II) entre todos os tratamentos efetuados. Barras verticais representam o intervalo de confiança de 95%.

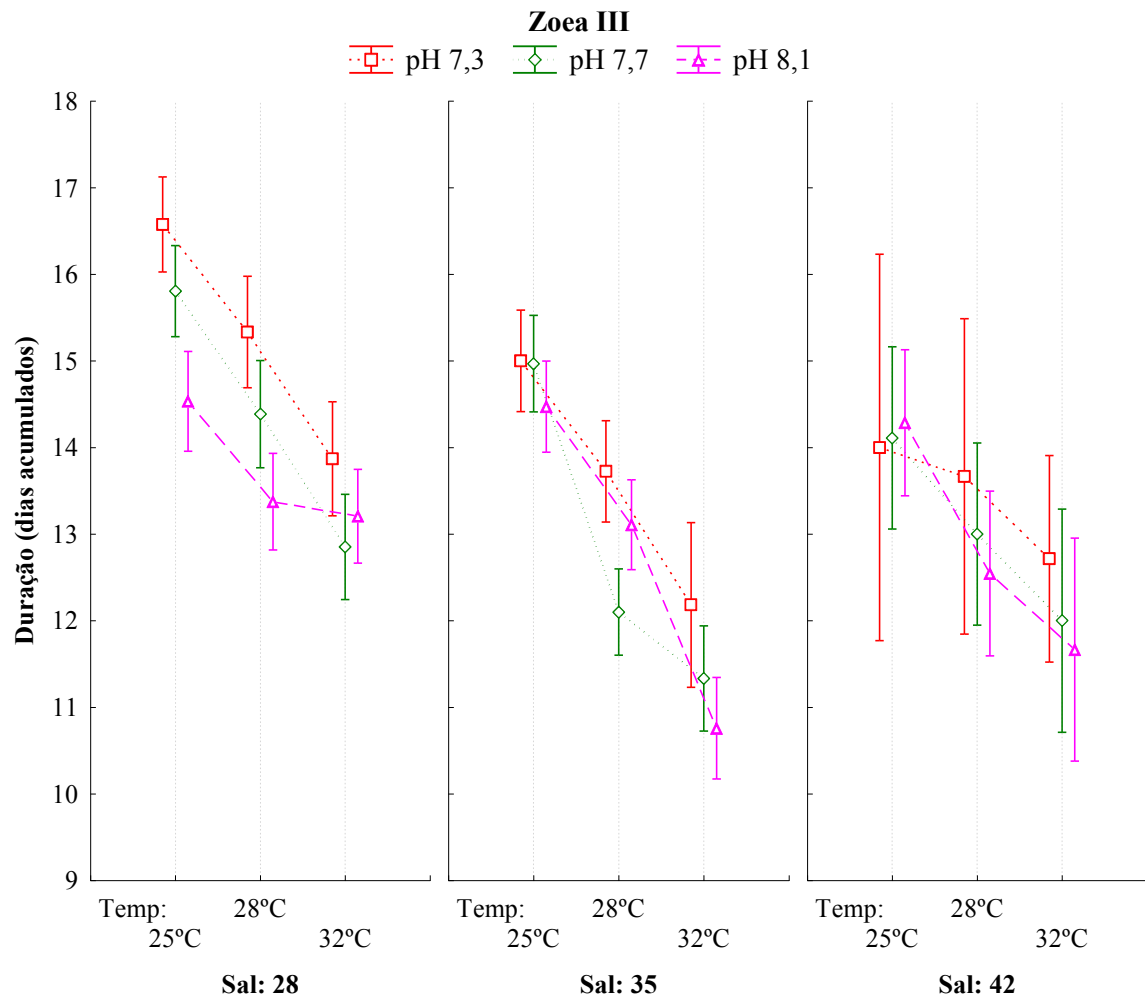


Figura 31. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Médias dos períodos de intermuda do terceiro estágio larval (zoea III) entre todos os tratamentos efetuados. Barras verticais representam o intervalo de confiança de 95%.

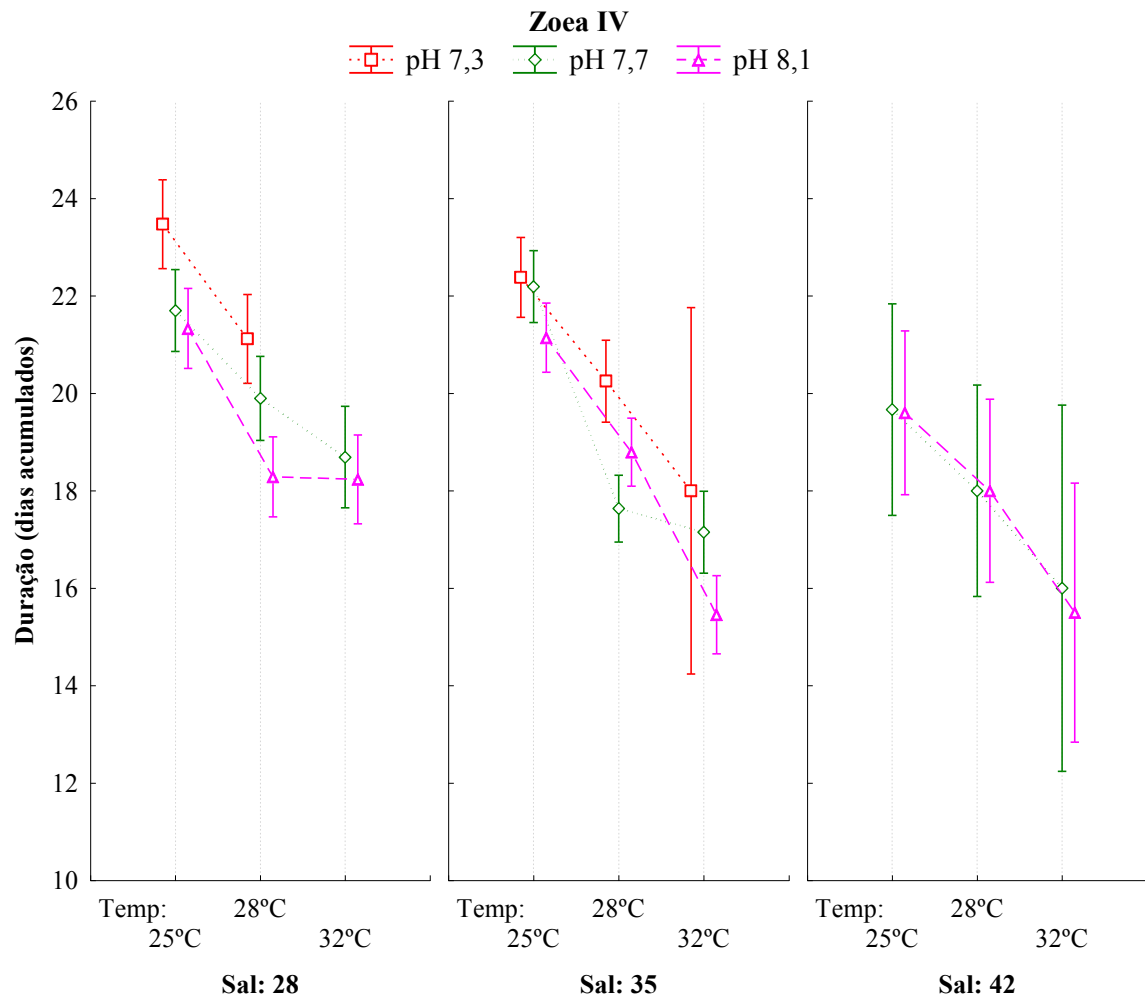


Figura 32. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Médias dos períodos de intermuda do quarto estágio larval (zoea IV) entre todos os tratamentos efetuados. Barras verticais representam o intervalo de confiança de 95%.

Comportamento

A observação do comportamento apresentado pelas larvas, em todos os tratamentos efetuados, foi possível devido aos cuidados diários na manutenção dos recipientes de criação, durante todos os estágios de zoea obtidos.

Notou-se que as larvas dos tratamentos de menor pH (6,7 e 7,3), em todos os estágios de zoea, pareciam permanecer a maior parte do tempo no fundo dos recipientes, com o corpo em posição lateral ou dorsal em relação à tela, além de baixa frequência de movimentos corporais (dobramento do abdômen e batimento dos maxilípedes). Nos demais valores de pH, as larvas eram observadas frequentemente na coluna d'água, por grande parte do tempo próximas à interface ar-água, executando continuamente movimentos natatórios.

Tais comportamentos foram observados independentes da temperatura ou salinidade dos tratamentos.

Crescimento

Os resultados estatísticos demonstraram que todos os estágios de zoea obtidos foram diferentes entre si em relação a todas as medidas utilizadas para analisar o crescimento (BER-BED: Kruskal-Wallis, $H(3, N = 1107) = 1033,187$, $p = 0,000$; PF-MP: Kruskal-Wallis, $H(3, N = 1105) = 1031,118$, $p = 0,000$; BEL: Kruskal-Wallis, $H(3, N = 1109) = 1034,872$, $p = 0,000$). Dessa forma, as demais comparações entre os tratamentos foram realizadas separadamente pelos estágios de zoea. Em relação à salinidade, observou-se que praticamente não houve diferenças entre os tratamentos com variação deste fator, com exceção daqueles apresentados na tabela 10. Devido a este baixo número de diferenças frente ao grande número de tratamentos e medidas utilizadas, optou-se por agrupar os tratamentos com variação apenas da salinidade nas análises posteriores, facilitando as interpretações entre as demais variáveis.

De modo geral, verifica-se que diferenças estatísticas entre as medidas corpóreas utilizadas ocorrem somente a partir do segundo estágio larval (zoea II), embora tais diferenças tornam-se mais evidentes entre os tratamentos a partir do terceiro estágio. Entre as demais variáveis, observou-se que a temperatura e o pH interferem no crescimento larval, levando a diminuições dos tamanhos corpóreos com aumentos de temperatura e diminuição do pH. As figuras 33 a 35 apresentam as médias de todas as medidas realizadas em cada tratamento. As comparações estatísticas entre os tratamentos do segundo ao quarto estágio de zoea estão apresentadas nas tabelas de 11 a 13.

O teste de correlação indicou que as medidas BER-BED e PF-MP foram as que mais se correlacionaram (Correlação de Spearman, $r_s = 0,9742$, $p < 0,000$). Os resultados estatísticos da relação entre estas duas medidas indicou que todos os estágios de zoea e todas as salinidades foram, respectivamente, diferentes e iguais entre si (para os mesmos tratamentos de temperatura e pH). Da mesma forma que nas análises anteriores, os tratamentos apenas com variação de salinidade foram agrupados e comparados independentemente por estágio.

A figura 36 apresenta as médias de comprimento da relação BER-BED *vs.* PF-MP por tratamento efetuado. A análise desta relação revelou que os tratamentos começam a apresentar diferenças significativas a partir do segundo estágio larval (zoea II) (Tab. 14), sendo que os tratamentos com maior valor de pH e menor temperatura possuem as maiores medidas. Estas diferenças são melhores observadas no terceiro estágio (Tab. 15) e tornam-se bem evidentes no quarto estágio larval (zoea IV), onde as medidas apresentadas pelo tratamento controle (temperatura 25°C e pH 8,1) são iguais estatisticamente apenas ao tratamento de pH mais próximo (7,7), sob mesma temperatura (Tab. 16).

Tabela 10. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Relação dos tratamentos apenas com diferenças ($p < 0,05$) encontradas a partir da variação da salinidade. Temp = temperatura; Sal = salinidade.

Estágio	Medida	Tratamento		ANOVA/Kruskal-Wallis	
		Temp (°C)	pH	Fator Sal	p
zoea I	BER-BED	25	7,7	28 vs. 42	0,0254
		32	6,7	28 vs. 42	0,0137
			7,7	28 vs. 42	0,0029
zoea II	PF-MP	25	8,1	28 vs. 42	0,0043
zoea III	PF-MP	25	7,3	28 vs. 35	0,0029
				35 vs. 42	0,0496
		32	7,3	28 vs. 42	0,0088
	BEL	28	7,7	28 vs. 42	0,0140

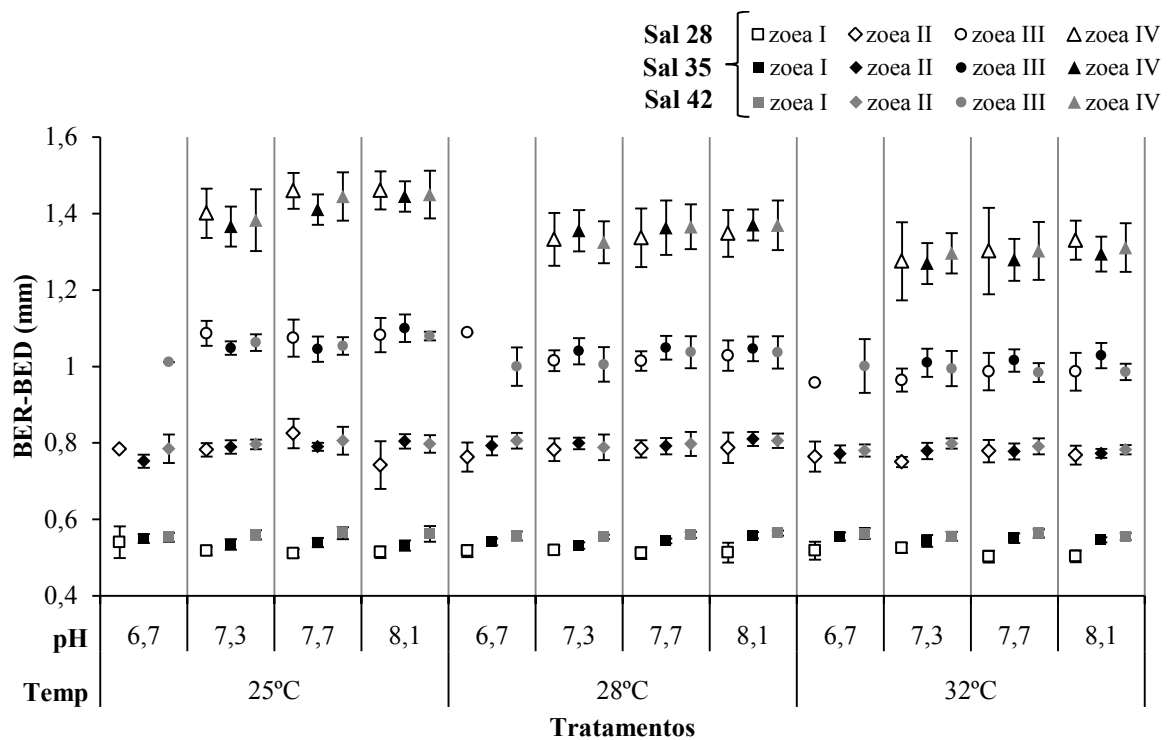


Figura 33. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média e desvio padrão (barras verticais) da medida BER-BED para todos os estágios de zoea e tratamentos realizados. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

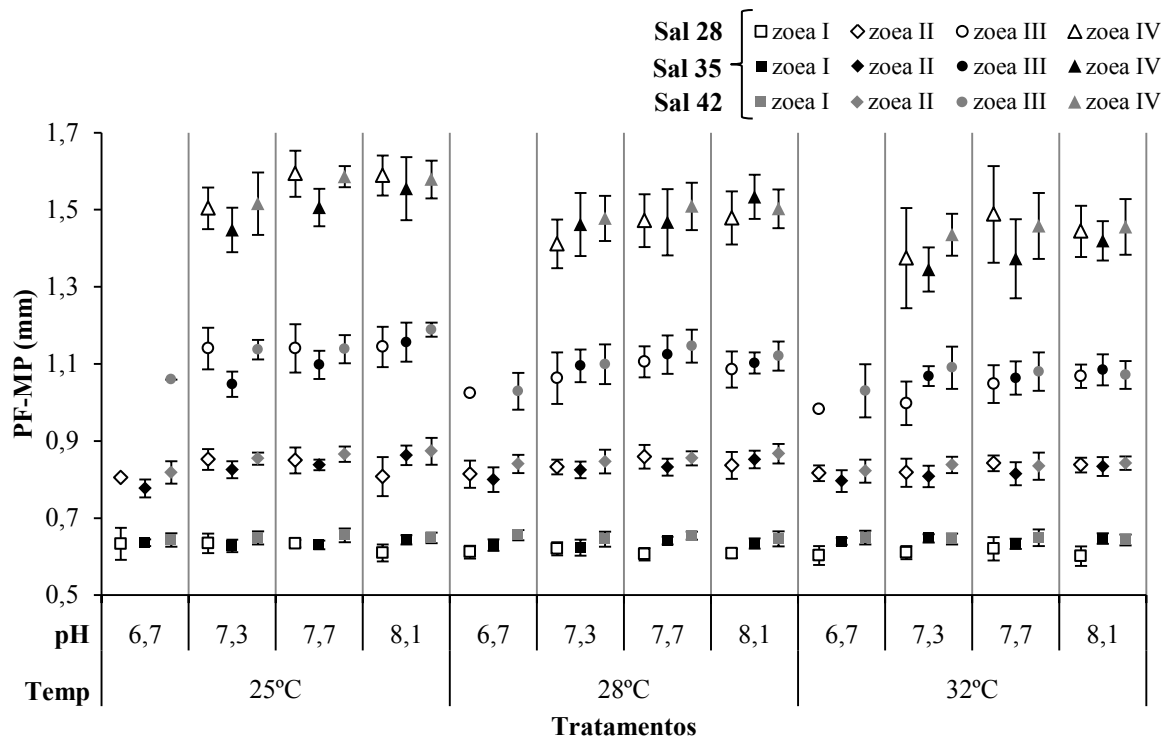


Figura 34. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média e desvio padrão (barras verticais) da medida PF-MD para todos os estágios de zoea e tratamentos realizados. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

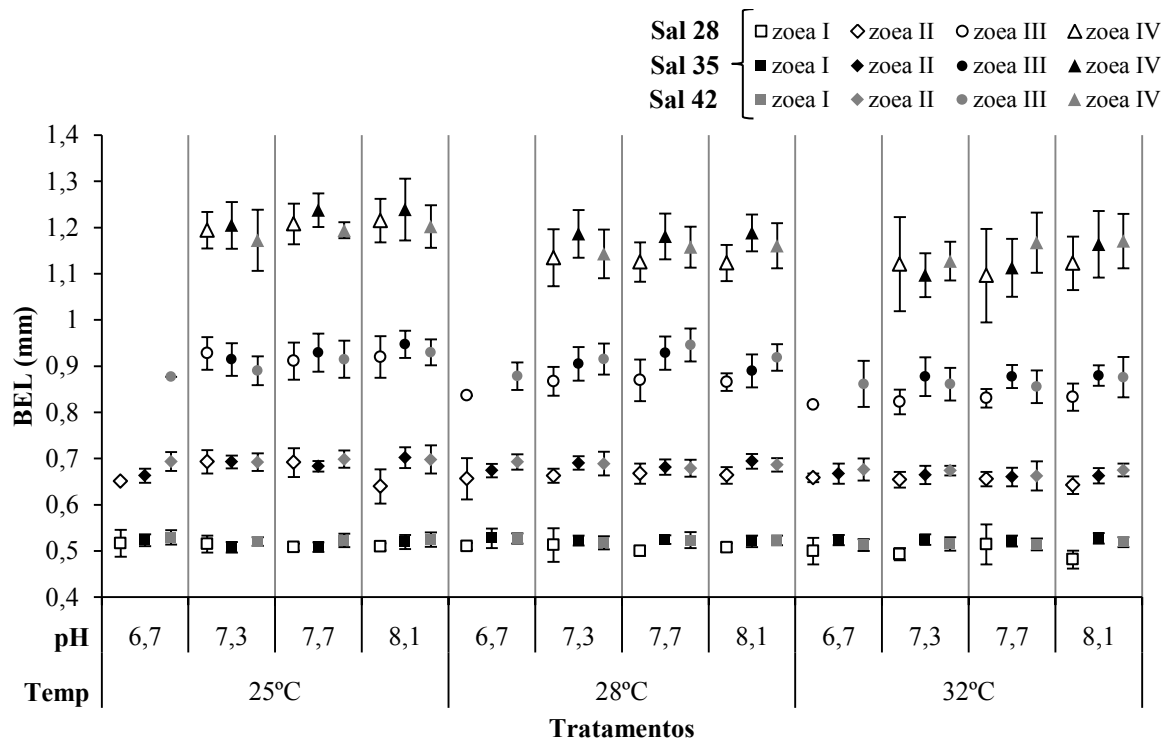


Figura 35. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média e desvio padrão (barras verticais) da medida PF-MD para todos os estágios de zoea e tratamentos realizados. Sal = salinidade; Temp = temperatura.

Tabela 11. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Comparações entre os diferentes tratamentos de temperatura e pH para o segundo estágio larval (zoea II), entre todas as medidas. Valores em negrito indicam diferenças significativas. Temp = temperatura.

BER-BED (ANOVA, MS = 0,00130, df = 317,00; Levene: p = 0,050212)													
Temp	25°C					28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
		6,7	-	0,317	0,000	0,461	0,565	0,316	0,207	0,005	1,000	0,998	0,940
25°C	7,3	0,317	-	0,477	1,000	1,000	1,000	1,000	0,926	0,692	0,903	0,997	0,649
	7,7	0,000	0,477	-	0,463	0,229	0,536	0,639	1,000	0,002	0,008	0,051	0,001
	8,1	0,461	1,000	0,463	-	1,000	1,000	1,000	0,908	0,819	0,959	0,999	0,795
	6,7	0,565	1,000	0,229	1,000	-	1,000	1,000	0,731	0,898	0,986	1,000	0,882
28°C	7,3	0,316	1,000	0,536	1,000	1,000	-	1,000	0,946	0,686	0,898	0,996	0,645
	7,7	0,207	1,000	0,639	1,000	1,000	1,000	-	0,976	0,540	0,802	0,984	0,486
	8,1	0,005	0,926	1,000	0,908	0,731	0,946	0,976	-	0,027	0,083	0,315	0,016
	6,7	1,000	0,692	0,002	0,819	0,898	0,686	0,540	0,027	-	1,000	0,999	1,000
32°C	7,3	0,998	0,903	0,008	0,959	0,986	0,898	0,802	0,083	1,000	-	1,000	1,000
	7,7	0,940	0,997	0,051	0,999	1,000	0,996	0,984	0,315	0,999	1,000	-	0,999
	8,1	1,000	0,649	0,001	0,795	0,882	0,645	0,486	0,016	1,000	1,000	0,999	-
	PF-MP (ANOVA, MS = 0,00127, df = 317,00; Levene: p = 0,135134)												
Temp	25°C					28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
		6,7	-	0,000	0,000	0,000	0,383	0,001	0,000	0,000	0,952	0,252	0,010
25°C	7,3	0,000	-	0,999	0,968	0,028	0,979	1,000	0,998	0,002	0,124	0,810	1,000
	7,7	0,000	0,999	-	1,000	0,001	0,554	1,000	1,000	0,000	0,008	0,231	0,882
	8,1	0,000	0,968	1,000	-	0,000	0,281	1,000	1,000	0,000	0,002	0,090	0,620
	6,7	0,383	0,028	0,001	0,000	-	0,630	0,003	0,001	0,999	1,000	0,938	0,231
28°C	7,3	0,001	0,979	0,554	0,281	0,630	-	0,756	0,498	0,141	0,886	1,000	1,000
	7,7	0,000	1,000	1,000	1,000	0,003	0,756	-	1,000	0,000	0,021	0,400	0,968
	8,1	0,000	0,998	1,000	1,000	0,001	0,498	1,000	-	0,000	0,006	0,195	0,846
	6,7	0,952	0,002	0,000	0,000	0,999	0,141	0,000	0,000	-	0,987	0,450	0,026
32°C	7,3	0,252	0,124	0,008	0,002	1,000	0,886	0,021	0,006	0,987	-	0,994	0,532
	7,7	0,010	0,810	0,231	0,090	0,938	1,000	0,400	0,195	0,450	0,994	-	0,995
	8,1	0,000	1,000	0,882	0,620	0,231	1,000	0,968	0,846	0,026	0,532	0,995	-
	BEL (Kruskal-Wallis: H(11, N = 331) = 67,57335; p = 0,0000)												
Temp	25°C					28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
		6,7	-	0,840	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
25°C	7,3	0,840	-	1,000	1,000	0,535	1,000	0,536	1,000	0,025	0,001	0,000	0,000
	7,7	1,000	1,000	-	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,109	0,004	0,000	0,000
	8,1	1,000	1,000	1,000	-	1,000	1,000	1,000	1,000	0,408	0,025	0,001	0,001
	6,7	1,000	0,535	1,000	1,000	-	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,501	0,705
28°C	7,3	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-	1,000	1,000	1,000	1,000	0,094	0,133
	7,7	1,000	0,536	1,000	1,000	1,000	1,000	-	1,000	1,000	1,000	0,500	0,703
	8,1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-	1,000	0,323	0,020	0,028
	6,7	1,000	0,025	0,109	0,408	1,000	1,000	1,000	1,000	-	1,000	1,000	1,000
32°C	7,3	1,000	0,001	0,004	0,025	1,000	1,000	1,000	0,323	1,000	-	1,000	1,000
	7,7	1,000	0,000	0,000	0,001	0,501	0,094	0,500	0,020	1,000	1,000	-	1,000
	8,1	1,000	0,000	0,000	0,001	0,705	0,133	0,703	0,028	1,000	1,000	1,000	-

Tabela 12. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Comparações entre os diferentes tratamentos de temperatura e pH para o terceiro estágio larval (zoea III), entre todas as medidas. Valores em negrito indicam diferenças significativas. Temp = temperatura.

BER-BED (ANOVA, MS = 0,00138, df = 253,00; Levene: p = 0,087887)													
Temp	25°C					28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
25°C	6,7	-	0,975	0,994	0,785	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	7,3	0,975	-	1,000	0,714	0,000	0,012	0,143	0,192	0,004	0,000	0,000	0,000
	7,7	0,994	1,000	-	0,157	0,000	0,095	0,547	0,659	0,019	0,000	0,000	0,000
	8,1	0,785	0,714	0,157	-	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
28°C	6,7	1,000	0,000	0,000	0,000	-	0,347	0,033	0,010	1,000	1,000	1,000	1,000
	7,3	1,000	0,012	0,095	0,000	0,347	-	0,999	0,992	0,850	0,078	0,365	0,508
	7,7	1,000	0,143	0,547	0,000	0,033	0,999	-	1,000	0,485	0,002	0,027	0,047
	8,1	1,000	0,192	0,659	0,000	0,010	0,992	1,000	-	0,365	0,000	0,006	0,011
32°C	6,7	1,000	0,004	0,019	0,000	1,000	0,850	0,485	0,365	-	1,000	1,000	1,000
	7,3	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,078	0,002	0,000	1,000	-	1,000	0,998
	7,7	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,365	0,027	0,006	1,000	1,000	-	1,000
	8,1	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,508	0,047	0,011	1,000	0,998	1,000	-
PF-MP (ANOVA, MS = 0,00206, df = 253,00; Levene: p = 0,263897)													
Temp	25°C					28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
25°C	6,7	-	0,999	0,980	0,711	0,999	1,000	0,983	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000
	7,3	0,999	-	0,890	0,002	0,000	0,955	0,939	1,000	0,021	0,011	0,175	0,640
	7,7	0,980	0,890	-	0,260	0,000	0,090	1,000	0,863	0,000	0,000	0,000	0,007
	8,1	0,711	0,002	0,260	-	0,000	0,000	0,286	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
28°C	6,7	0,999	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	1,000	0,252	0,032	0,001
	7,3	1,000	0,955	0,090	0,000	0,000	-	0,149	0,943	0,255	0,616	0,983	1,000
	7,7	0,983	0,939	1,000	0,286	0,000	0,149	-	0,923	0,001	0,000	0,001	0,016
	8,1	0,999	1,000	0,863	0,001	0,000	0,943	0,923	-	0,018	0,007	0,137	0,583
32°C	6,7	1,000	0,021	0,000	0,000	1,000	0,255	0,001	0,018	-	0,957	0,747	0,398
	7,3	1,000	0,011	0,000	0,000	0,252	0,616	0,000	0,007	0,957	-	0,999	0,852
	7,7	1,000	0,175	0,000	0,000	0,032	0,983	0,001	0,137	0,747	0,999	-	1,000
	8,1	1,000	0,640	0,007	0,000	0,001	1,000	0,016	0,583	0,398	0,852	1,000	-
BEL (ANOVA, MS = 0,00187, df = 253,00; Levene: p = 0,772635)													
Temp	25°C					28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
25°C	6,7	-	0,999	0,996	0,954	1,000	1,000	0,999	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	7,3	0,999	-	1,000	0,770	0,000	0,673	1,000	0,580	0,039	0,000	0,000	0,000
	7,7	0,996	1,000	-	0,928	0,000	0,355	1,000	0,250	0,016	0,000	0,000	0,000
	8,1	0,954	0,770	0,928	-	0,000	0,006	0,771	0,002	0,001	0,000	0,000	0,000
28°C	6,7	1,000	0,000	0,000	0,000	-	0,032	0,000	0,013	1,000	1,000	1,000	0,989
	7,3	1,000	0,673	0,355	0,006	0,032	-	0,698	1,000	0,612	0,048	0,095	0,305
	7,7	0,999	1,000	1,000	0,771	0,000	0,698	-	0,610	0,041	0,000	0,000	0,000
	8,1	1,000	0,580	0,250	0,002	0,013	1,000	0,610	-	0,558	0,018	0,042	0,175
32°C	6,7	1,000	0,039	0,016	0,001	1,000	0,612	0,041	0,558	-	1,000	1,000	1,000
	7,3	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,048	0,000	0,018	1,000	-	1,000	1,000
	7,7	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,095	0,000	0,042	1,000	1,000	-	1,000
	8,1	1,000	0,000	0,000	0,000	0,989	0,305	0,000	0,175	1,000	1,000	1,000	-

Tabela 13. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Comparações entre os diferentes tratamentos de temperatura e pH para o quarto estágio larval (zoea IV), entre todas as medidas. Valores em negrito indicam diferenças significativas. Temp = temperatura.

BER-BED (ANOVA, MS = 0,00195, df = 215,00; Levene: p = 0,163081)

Temp		25°C			28°C			32°C		
	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
25°C	7,3	-	0,069	0,002	0,266	0,716	0,980	0,000	0,000	0,001
	7,7	0,069	-	0,994	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000
	8,1	0,002	0,994	-	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
28°C	7,3	0,266	0,000	0,000	-	0,998	0,878	0,024	0,208	0,710
	7,7	0,716	0,000	0,000	0,998	-	0,998	0,001	0,029	0,202
	8,1	0,980	0,001	0,000	0,878	0,998	-	0,000	0,002	0,024
32°C	7,3	0,000	0,000	0,000	0,024	0,001	0,000	-	1,000	0,714
	7,7	0,000	0,000	0,000	0,208	0,029	0,002	1,000	-	0,985
	8,1	0,001	0,000	0,000	0,710	0,202	0,024	0,714	0,985	-

PF-MP (Kruskal-Wallis: H(8, N = 225) = 84,66735; p = 0,0000)

Temp		25°C			28°C			32°C		
	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
25°C	7,3	-	0,134	0,010	1,000	1,000	1,000	0,085	1,000	1,000
	7,7	0,134	-	1,000	0,000	0,078	1,000	0,000	0,000	0,000
	8,1	0,010	1,000	-	0,000	0,005	0,281	0,000	0,000	0,000
28°C	7,3	1,000	0,000	0,000	-	1,000	0,326	1,000	1,000	1,000
	7,7	1,000	0,078	0,005	1,000	-	1,000	0,099	1,000	1,000
	8,1	1,000	1,000	0,281	0,326	1,000	-	0,001	0,102	0,108
32°C	7,3	0,085	0,000	0,000	1,000	0,099	0,001	-	1,000	1,000
	7,7	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,102	1,000	-	1,000
	8,1	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,108	1,000	1,000	-

BEL (Kruskal-Wallis: H(8, N = 226) = 63,54093; p = 0,0000)

Temp		25°C			28°C			32°C		
	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
25°C	7,3	-	1,000	1,000	1,000	0,518	0,952	0,001	0,025	0,282
	7,7	1,000	-	1,000	0,033	0,005	0,012	0,000	0,000	0,002
	8,1	1,000	1,000	-	0,047	0,008	0,017	0,000	0,000	0,003
28°C	7,3	1,000	0,033	0,047	-	1,000	1,000	0,999	1,000	1,000
	7,7	0,518	0,005	0,008	1,000	-	1,000	1,000	1,000	1,000
	8,1	0,952	0,012	0,017	1,000	1,000	-	1,000	1,000	1,000
32°C	7,3	0,001	0,000	0,000	0,999	1,000	1,000	-	1,000	1,000
	7,7	0,025	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-	1,000
	8,1	0,282	0,002	0,003	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-

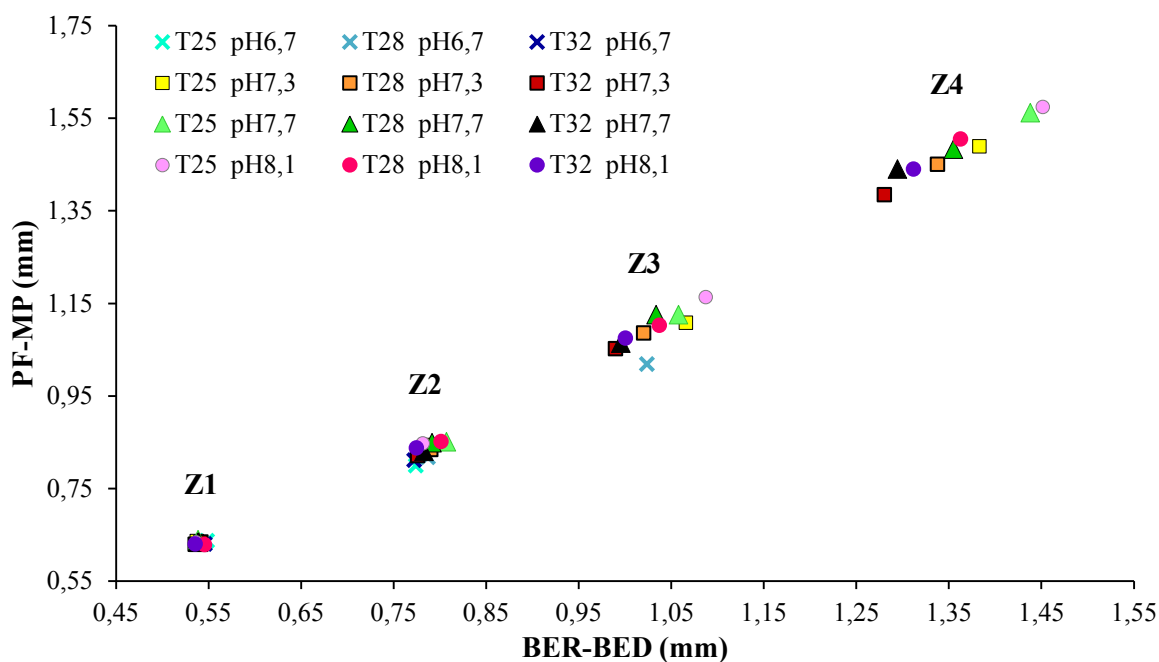


Figura 36. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média dos comprimentos da relação BER-BED vs. PF-MP, dos tratamentos efetuados (as medidas entre as diferentes salinidades foram agrupadas em um mesmo tratamento por não apresentarem diferenças estatísticas). T25 = temperatura 25°C; T28 = temperatura 28°C; T32 = temperatura 32°C; Z1 = zoea I; Z2 = zoea II; Z3 = zoea III; Z4 = zoea IV.

Tabela 14. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Comparações entre os diferentes tratamentos de temperatura e pH para o segundo estágio larval (zoea II), entre a relação BER-BED vs. PF-MP. Valores em negrito indicam diferenças significativas (NPMANOVA, $p < 0,05$). Temp = temperatura.

Temp		25°C				28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
25°C	6,7	-	0,007	0,007	0,013	1,000	0,013	0,007	0,007	1,000	1,000	0,224	0,007
	7,3	0,007	-	1,000	1,000	0,363	1,000	1,000	1,000	0,013	0,119	1,000	0,693
	7,7	0,007	1,000	-	1,000	0,020	0,614	1,000	1,000	0,007	0,007	0,073	0,007
	8,1	0,013	1,000	1,000	-	0,554	1,000	1,000	1,000	0,053	0,521	1,000	1,000
28°C	6,7	1,000	0,363	0,020	0,554	-	1,000	0,165	0,079	1,000	1,000	1,000	0,779
	7,3	0,013	1,000	0,614	1,000	1,000	-	1,000	1,000	0,112	1,000	1,000	1,000
	7,7	0,007	1,000	1,000	1,000	0,165	1,000	-	1,000	0,007	0,079	1,000	0,469
	8,1	0,007	1,000	1,000	1,000	0,079	1,000	1,000	-	0,007	0,026	0,376	0,007
32°C	6,7	1,000	0,013	0,007	0,053	1,000	0,112	0,007	0,007	-	1,000	1,000	0,033
	7,3	1,000	0,119	0,007	0,521	1,000	1,000	0,079	0,026	1,000	-	1,000	1,000
	7,7	0,224	1,000	0,073	1,000	1,000	1,000	1,000	0,376	1,000	1,000	-	1,000
	8,1	0,007	0,693	0,007	1,000	0,779	1,000	0,469	0,007	0,033	1,000	1,000	-

Tabela 15. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Comparações entre os diferentes tratamentos de temperatura e pH para o terceiro estágio larval (zoea III), entre a relação BER-BED vs. PF-MP. Valores em negrito indicam diferenças significativas (NPMANOVA, $p < 0,05$). Temp = temperatura.

Temp	25°C					28°C				32°C			
	pH	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1	6,7	7,3	7,7	8,1
25°C	6,7	-	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	7,3	1,000	-	1,000	0,026	0,007	0,620	1,000	1,000	0,139	0,007	0,007	0,007
	7,7	1,000	1,000	-	0,112	0,007	0,092	1,000	1,000	0,013	0,007	0,007	0,007
	8,1	1,000	0,026	0,112	-	0,007	0,007	0,007	0,007	0,013	0,007	0,007	0,007
28°C	6,7	1,000	0,007	0,007	0,007	-	0,066	0,007	0,007	1,000	1,000	0,396	0,026
	7,3	1,000	0,620	0,092	0,007	0,066	-	0,957	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	7,7	1,000	1,000	1,000	0,007	0,007	0,957	-	1,000	0,092	0,007	0,007	0,013
	8,1	1,000	1,000	1,000	0,007	0,007	1,000	1,000	-	0,132	0,007	0,007	0,040
32°C	6,7	1,000	0,139	0,013	0,013	1,000	1,000	0,092	0,132	-	1,000	1,000	1,000
	7,3	1,000	0,007	0,007	0,007	1,000	1,000	0,007	0,007	1,000	-	1,000	1,000
	7,7	1,000	0,007	0,007	0,007	0,396	1,000	0,007	0,007	1,000	1,000	-	1,000
	8,1	1,000	0,007	0,007	0,007	0,026	1,000	0,013	0,040	1,000	1,000	1,000	-

Tabela 16. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Comparações entre os diferentes tratamentos de temperatura e pH para o quarto estágio larval (zoea IV), entre a relação BER-BED vs. PF-MP. Valores em negrito indicam diferenças significativas (NPMANOVA, $p < 0,05$). Temp = temperatura.

Temp	25°C				28°C			32°C		
	pH	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1	7,3	7,7	8,1
25°C	7,3	-	0,011	0,004	0,922	1,000	1,000	0,007	0,032	0,018
	7,7	0,011	-	1,000	0,004	0,007	0,004	0,004	0,004	0,004
	8,1	0,004	1,000	-	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
28°C	7,3	0,922	0,004	0,004	-	1,000	0,281	0,360	1,000	1,000
	7,7	1,000	0,007	0,004	1,000	-	1,000	0,025	0,526	0,709
	8,1	1,000	0,004	0,004	0,281	1,000	-	0,004	0,018	0,014
32°C	7,3	0,007	0,004	0,004	0,360	0,025	0,004	-	1,000	1,000
	7,7	0,032	0,004	0,004	1,000	0,526	0,018	1,000	-	1,000
	8,1	0,018	0,004	0,004	1,000	0,709	0,014	1,000	1,000	-

Peso seco

Verificou-se que os tratamentos em salinidade 35 e 42 são semelhantes em relação ao ganho de massa entre os estágios de zoea I a III, em todas as temperaturas e pH, sendo as maiores diferenças visíveis somente no quarto estágio larval (zoea IV). Em salinidade 28, é possível observar que ocorre, já a partir do segundo estágio, um incremento de massa maior nos tratamentos a 25°C (este incremento difere estatisticamente entre os estágios somente a partir da zoea III). Observou-se nesta salinidade, também, que diminuições do pH pouco interferem no ganho de massa no decorrer dos estágios larvais, diferentemente dos tratamentos nas demais salinidades, em que diminuições do pH promovem diminuições nas massas corpóreas. As comparações estatísticas dos estágios de zoea III e IV entre as salinidades estão apresentadas na tabela 17 (os estágios I e II não apresentaram diferenças significativas).

Em relação à temperatura, aumentos deste fator tendem a diminuir o ganho de massa no decorrer dos estágios, principalmente nos tratamentos a 32°C para o quarto estágio de zoea. As maiores massas corpóreas foram obtidas a 25°C e pH 8,1, em todas as salinidades. A figura 37 apresenta as médias de peso seco por larva dos estágios obtidos em todos os tratamentos.

Embora algumas larvas, em alguns tratamentos de pH 6,7, tenham alcançado o terceiro estágio de zoea, não se obteve número suficiente destas para o peso seco ser detectado em balança analítica, de modo que as mesmas foram suprimidas desta análise.

Tabela 17. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Comparações das proporções do peso seco entre os mesmos tratamentos em diferentes salinidades, para os estágios de zoea III e IV. Sal = salinidade; Temp = temperatura; Lim. Inf. = limite inferior; Lim. Sup. = limite superior; * = diferença significativa (contraste dentre proporções multinomiais, proposto por Goodman [1965] apud Curi & Moraes [1981]; hipótese nula (H0): tratamentos iguais; rejeita-se a hipótese nula se a faixa Lim. Inf. e Lim. Sup. não incluir o valor zero).

Estágio	Tratamentos		Sal 28 vs. Sal 35			Sal 28 vs. Sal 42			Sal 35 vs. Sal 42	
	Temp	pH	Lim. Inf.	Lim. Sup.		Lim. Inf.	Lim. Sup.		Lim. Inf.	Lim. Sup.
zoea III	25°C	7,3	0,029	0,259	*	0,016	0,248	*	-0,093	0,117
		7,7	-0,039	0,184		-0,036	0,186		-0,103	0,108
		8,1	-0,037	0,186		0,025	0,237	*	-0,045	0,158
	28°C	6,7	---	---	---	-0,234	0,293		---	---
		7,3	-0,117	0,119		-0,069	0,176		-0,070	0,175
		7,7	-0,103	0,134		-0,058	0,194		-0,041	0,208
		8,1	-0,091	0,160		-0,125	0,132		-0,094	0,156
	32°C	7,3	-0,011	0,238		-0,006	0,244		-0,132	0,142
		7,7	-0,080	0,178		-0,073	0,186		-0,128	0,142
		8,1	-0,092	0,168		-0,114	0,149		-0,108	0,149
	25°C	7,3	0,094	0,243	*	0,070	0,222	*	-0,046	0,090
		7,7	0,008	0,145	*	0,011	0,148	*	-0,062	0,068
		8,1	-0,060	0,067		-0,028	0,096		-0,032	0,093
	28°C	7,3	-0,033	0,126		-0,007	0,150		-0,050	0,101
		7,7	-0,024	0,128		-0,039	0,104		0,011	0,158
		8,1	-0,016	0,131		-0,056	0,083		-0,001	0,144
	32°C	7,3	0,000	0,175	*	-0,046	0,135		-0,042	0,127
		7,7	0,050	0,218	*	0,029	0,200	*	-0,059	0,097
		8,1	0,056	0,228	*	0,035	0,210	*	-0,060	0,099

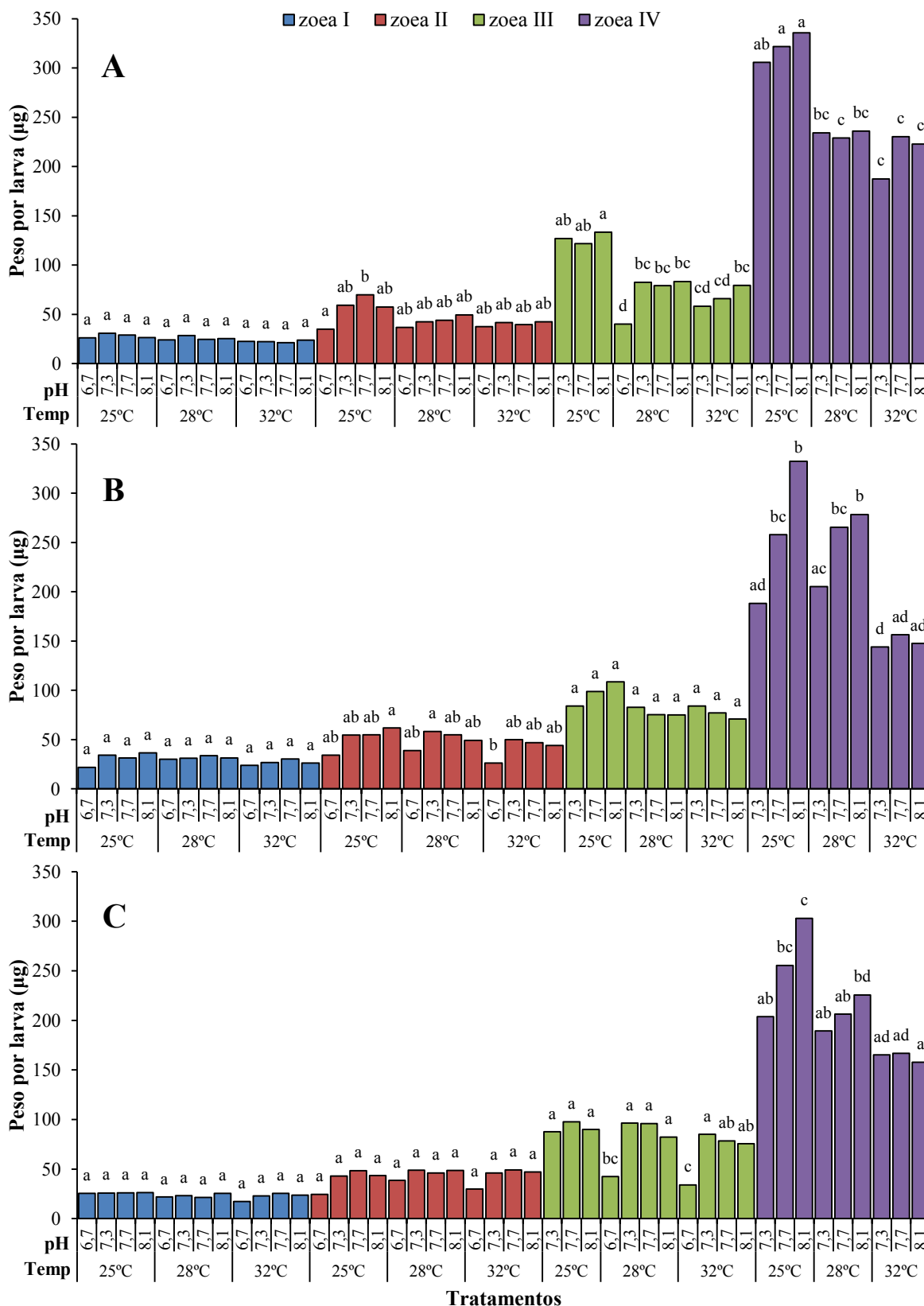


Figura 37. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média do peso seco das larvas em todos os tratamentos e estágios obtidos. A, salinidade 28; B, salinidade 35; C, salinidade 42; Temp = temperatura. Barras com pelo menos uma letra em comum indicam semelhança estatística entre os tratamentos dentro do mesmo estágio.

Conteúdo mineral

A análise do conteúdo de cálcio (Ca) e magnésio (Mg), em termos de percentagem de massa seca, revelou não haver um padrão entre os tratamentos e estágios obtidos dentro de uma mesma salinidade, como pode ser verificado nas figuras 38 e 39, respectivamente para Ca e Mg. Observam-se apenas picos em alguns tratamentos, equivalentes para Ca e Mg, mas que não se repetem no decorrer dos estágios. De forma geral, a proporção entre estes elementos manteve-se constante entre os tratamentos dentro da mesma salinidade, mas foi significativamente diferente entre as salinidades, sendo em torno de 9, 11 e 4 vezes mais Ca que Mg, respectivamente para as salinidades 28, 35 e 42 (Kruskal-Wallis, $H(2, N = 130) = 85,000$, $p = 0,000$).

No entanto, entre os conjuntos de tratamentos de cada salinidade, verificaram-se diferenças significativas nas médias de porcentagem de Ca e Mg (Tab. 18). Dessa forma, observa-se que tanto diminuições como aumentos de salinidade influenciam negativamente no conteúdo mineral destes elementos, em todos os estágios de zoea.

A variação de temperatura não resultou em diferenças significativas entre os conjuntos de tratamentos de mesma salinidade, evidenciando que este fator pouco interfere na composição de Ca e Mg das larvas. Entretanto, as diferenças observadas com variações de pH dentro e entre os tratamentos de cada salinidade foram significativas, demonstrando que diminuições de pH levam a aumentos na taxa de Ca e Mg das larvas, em todos os estágios de zoea. Exceções a isto foram somente os tratamentos em salinidade 42, nos quais as porcentagens de Ca e Mg não diferiram com as diminuições do pH. A figura 40 apresenta as médias e comparações estatísticas da porcentagem de Ca e Mg, considerando os tratamentos em diferentes salinidades e pH (agrupando-se os estágios e temperaturas).

Tabela 18. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média e desvio padrão (DP) das porcentagens em massa de cálcio (Ca) e magnésio (MG) dos conjuntos de tratamentos entre as salinidades (Sal). * = diferenças significativas.

Sal	Média ± DP		Proporção média de Ca/Mg	Comparações (Kruskal-Wallis)			
				Ca		Mg	
	Ca	Mg		Sal	p	Sal	p
28	2,86 ± 1,76	0,34 ± 0,21	8,8	28 vs. 35	0,0000 *	28 vs. 35	0,0000 *
35	5,73 ± 2,06	0,55 ± 0,20	10,8	28 vs. 42	0,0000 *	28 vs. 42	1,0000
42	1,18 ± 0,60	0,31 ± 0,10	3,9	35 vs. 42	0,0000 *	35 vs. 42	0,0000 *

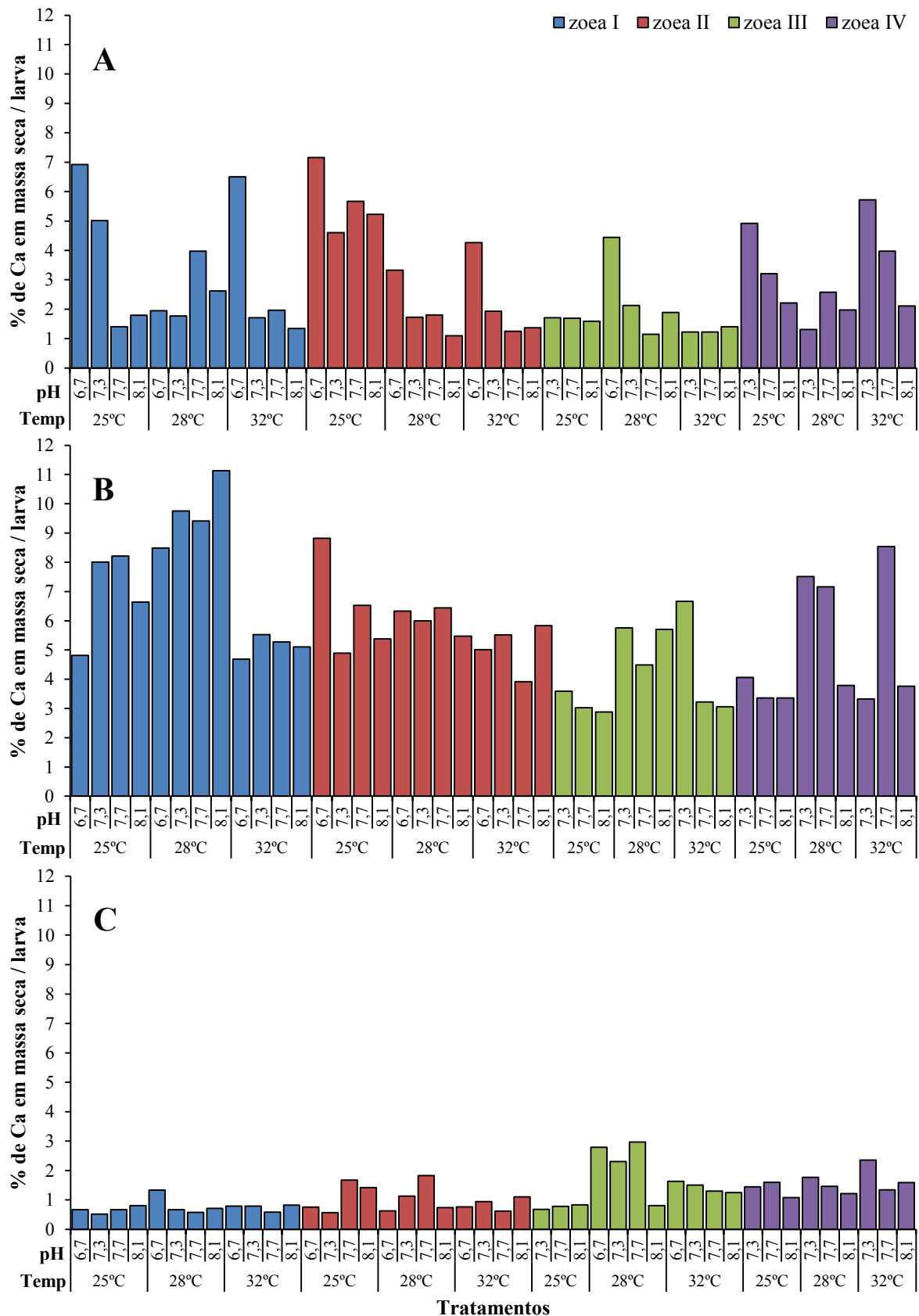


Figura 38. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média das porcentagens em massa de cálcio (Ca) dos conjuntos de tratamentos entre as salinidades. A, salinidade 28; B, salinidade 35; C, salinidade 42; Temp = temperatura.

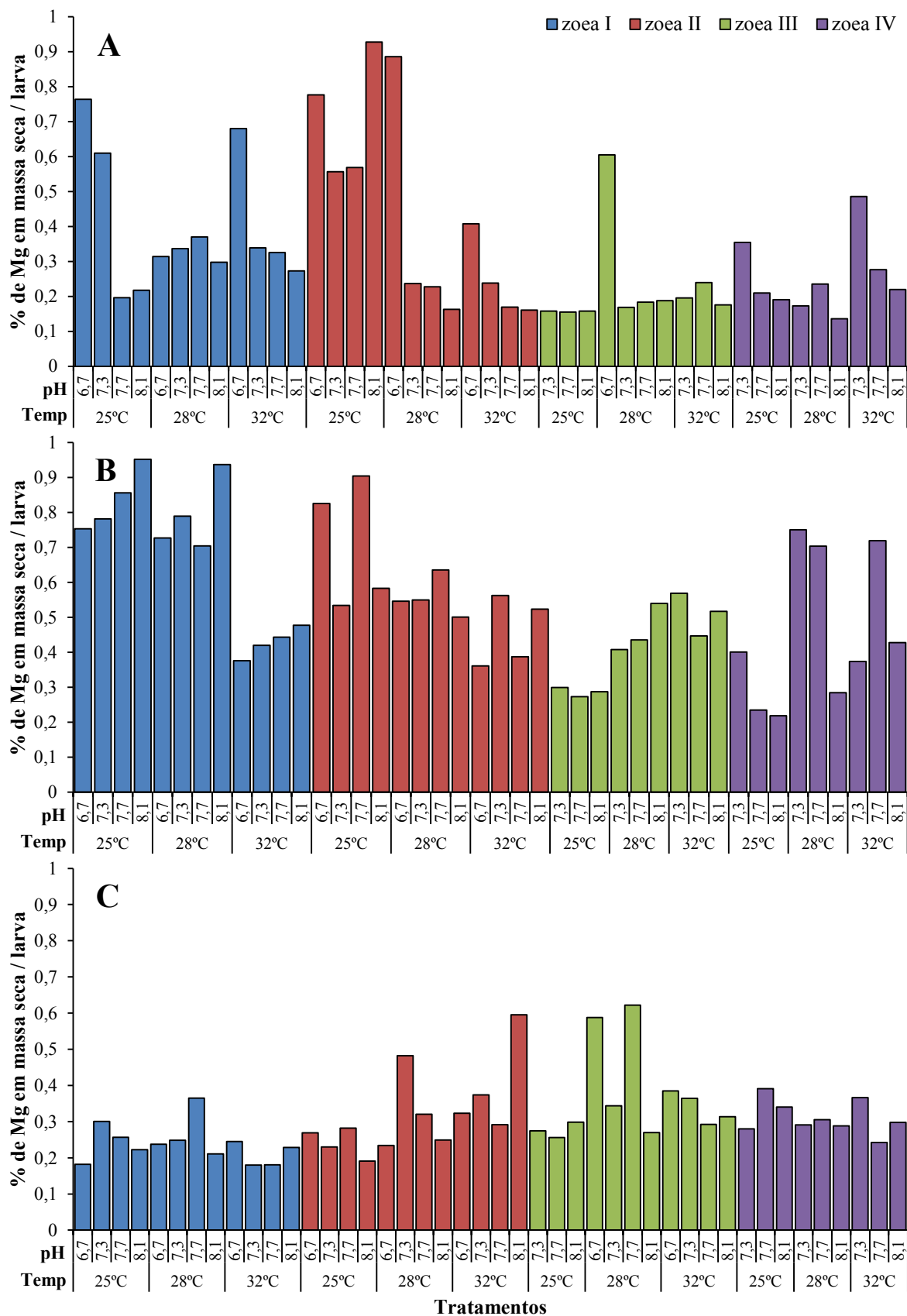


Figura 39. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média das porcentagens em massa de magnésio (Mg) dos conjuntos de tratamentos entre as salinidades. A, salinidade 28; B, salinidade 35; C, salinidade 42; Temp = temperatura.

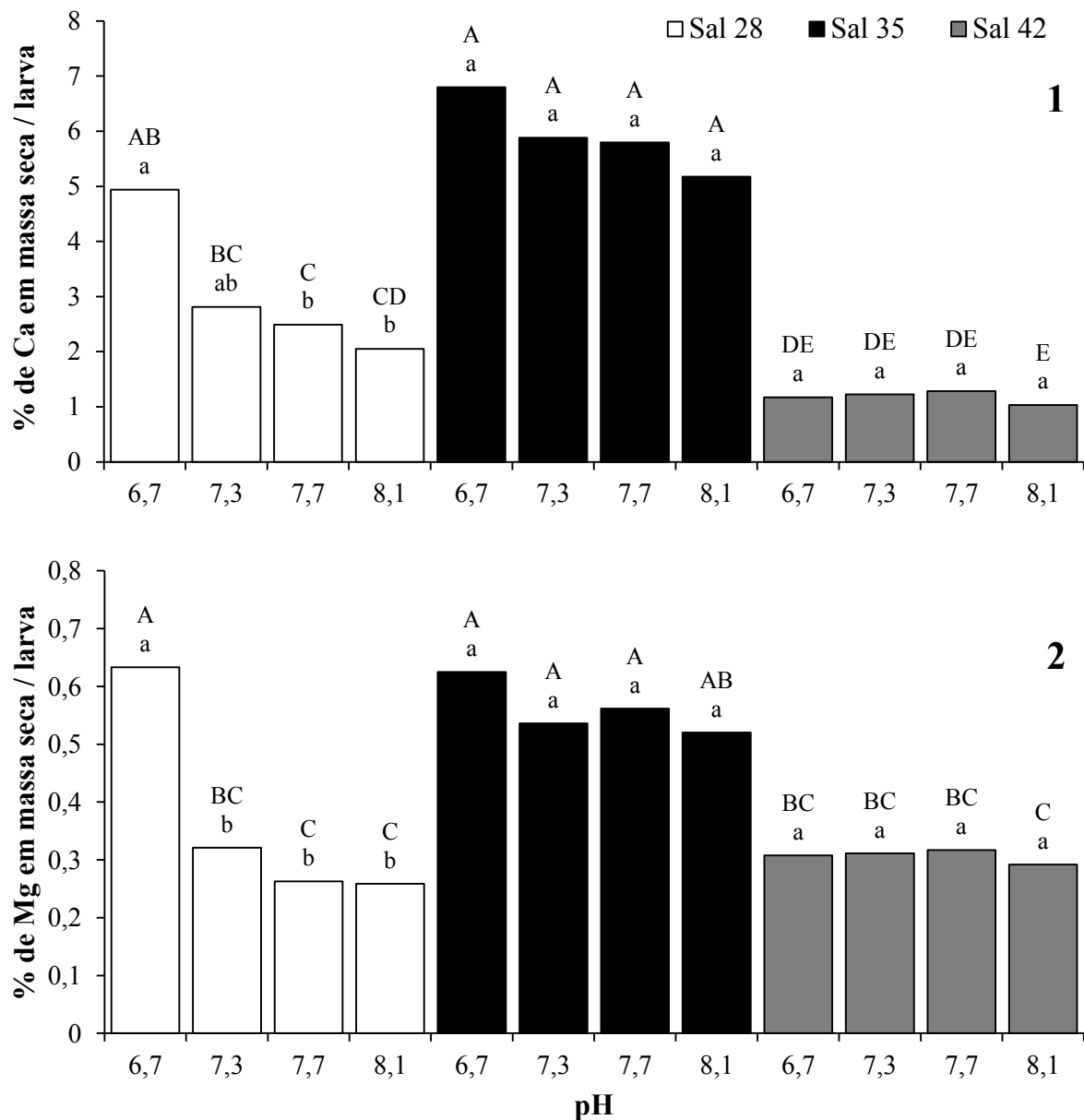


Figura 40. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Média da porcentagem de cálcio (1) e magnésio (2) nos tratamentos em diferentes valores de pH pelos conjuntos de salinidade (incluindo todas as temperaturas e estágios de zoea). Barras com pelo menos uma letra em comum indicam semelhança estatística dos valores de pH entre as salinidades (letras maiúsculas) e dentro da mesma salinidade (letras minúsculas). Sal = salinidade.

Morfologia

As análises morfológicas, em microscopia óptica, não revelaram alterações marcantes na forma dos apêndices ou no tipo de cerdas, considerando todos os tratamentos efetuados e em todos os estágios de zoea. Contudo, nos tratamentos de pH mais baixo (6,7 e 7,3), verificaram-se alterações importantes no formato da carapaça, além de desgastes ou rupturas nos espinhos desta e do telso (Fig. 41; as deformações do telso são melhor observadas nas análises ultraestruturais), nos estágios de zoea II a IV. Por vezes observaram-se, nos tratamentos de temperatura mais alta (32°C), alterações no número de cerdas de alguns apêndices: os exopoditos do 1º e 2º maxilípedes apresentaram uma cerda plumosa terminal a menos, nos estágios de zoea III e IV, do que normalmente ocorre para o padrão da espécie (ver “Apêndice”), assim como o telso, que apresentou, no estágio de zoea IV, uma ou duas cerdas plumosas a menos na região da furca (em relação ao par mais interno; ver “Apêndice”). O restante das variações no número de cerdas, que ocorrem naturalmente durante os estágios de desenvolvimento desta espécie (ver “Apêndice”, Tabela 19), foi similar em todos os tratamentos realizados.

Uma vez que não foram observadas alterações morfológicas relevantes entre os tratamentos em diferentes salinidades, optou-se por realizar as análises ultraestruturais apenas entre os tratamentos em salinidade 35, para todos os estágios de zoea.

Estas análises ultraestruturais apontaram que, em pH 7,7 e 8,1, as larvas pouco diferiram morfológicamente. As mudanças morfológicas mais marcantes começaram a serem notadas em pH 7,3 (principalmente nos primeiros estágios larvais), sendo que a maioria destas alterações ocorreu em pH 6,7. Entre estas mudanças, destacaram-se a presença de “ranhuras”, “estrias” e desgastes no exoesqueleto da carapaça, além de deformações e rupturas em alguns espinhos da carapaça e do telso.

As figuras 42 a 53 apresentam em detalhes a morfologia ultraestrutural de todos os estágios de zoea, obtidos nos tratamentos em salinidade 35, durante as criações.

Não foram notadas diferenças significativas quanto à forma e tipo de cerdas e apêndices, como também verificado na microscopia óptica. As variações no número de cerdas, observadas nos exopoditos dos maxilípedes e no telso em microscopia óptica, também foram notadas nesta análise ultraestrutural, como comprovado pela figura 54.

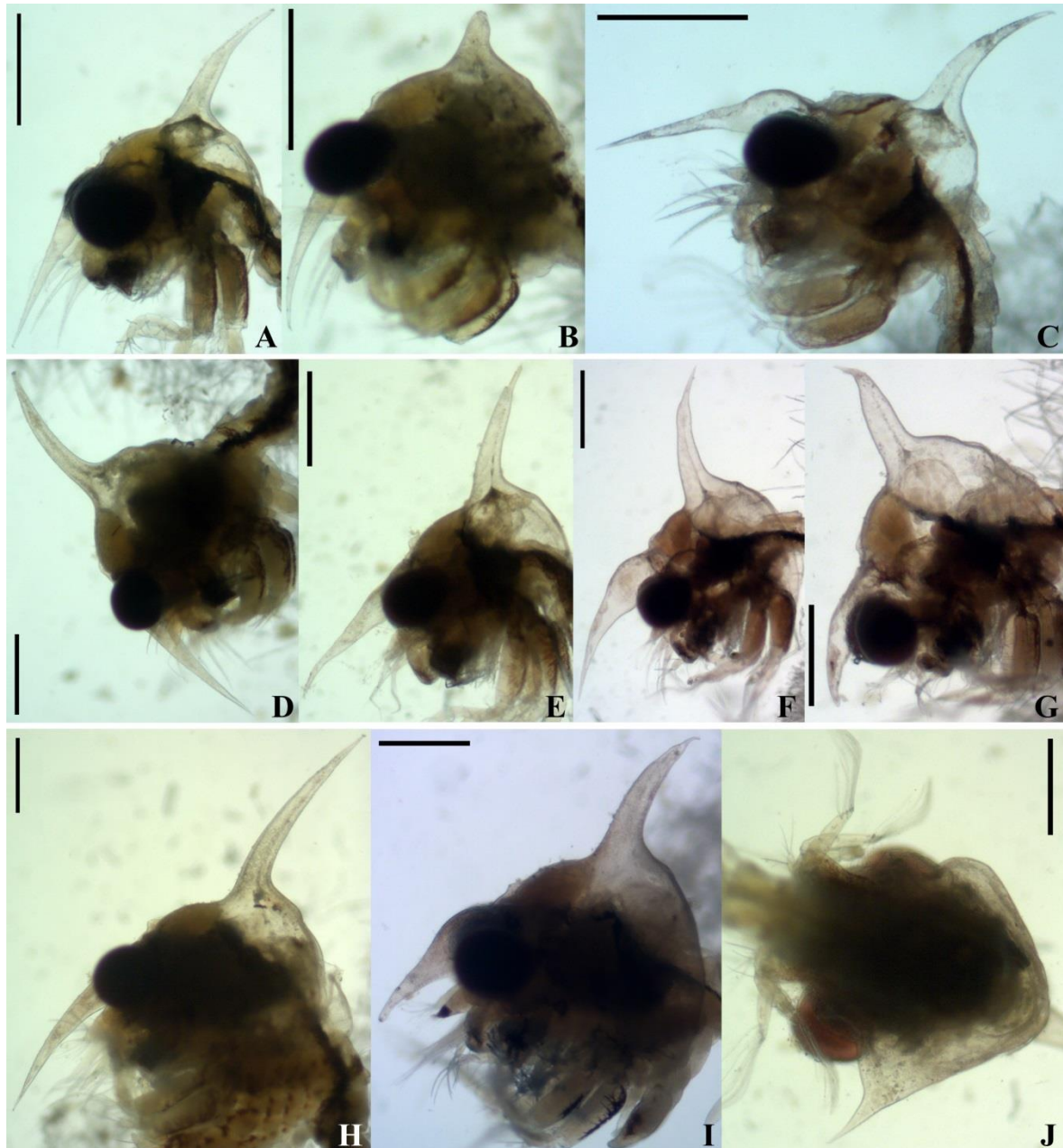


Figura 41. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Variações morfológicas da carapaça e dos espinhos desta, em função dos tratamentos realizados. A, zoea II (grupo controle); B, zoea II em salinidade 28, temperatura 25°C e pH 7,3; C, zoea II em salinidade 35, temperatura 28°C e pH 6,7; D, zoea III (grupo controle); E, zoea III em salinidade 28, temperatura 32°C e pH 7,3; F e G, zoea III em salinidade 42, temperatura 32°C e pH 6,7; H, zoea IV (grupo controle); I, zoea IV em salinidade 42, temperatura 32°C e pH 7,3; J, zoea IV em salinidade 28, temperatura 28°C e pH 7,3. Escala: 0,5 mm.

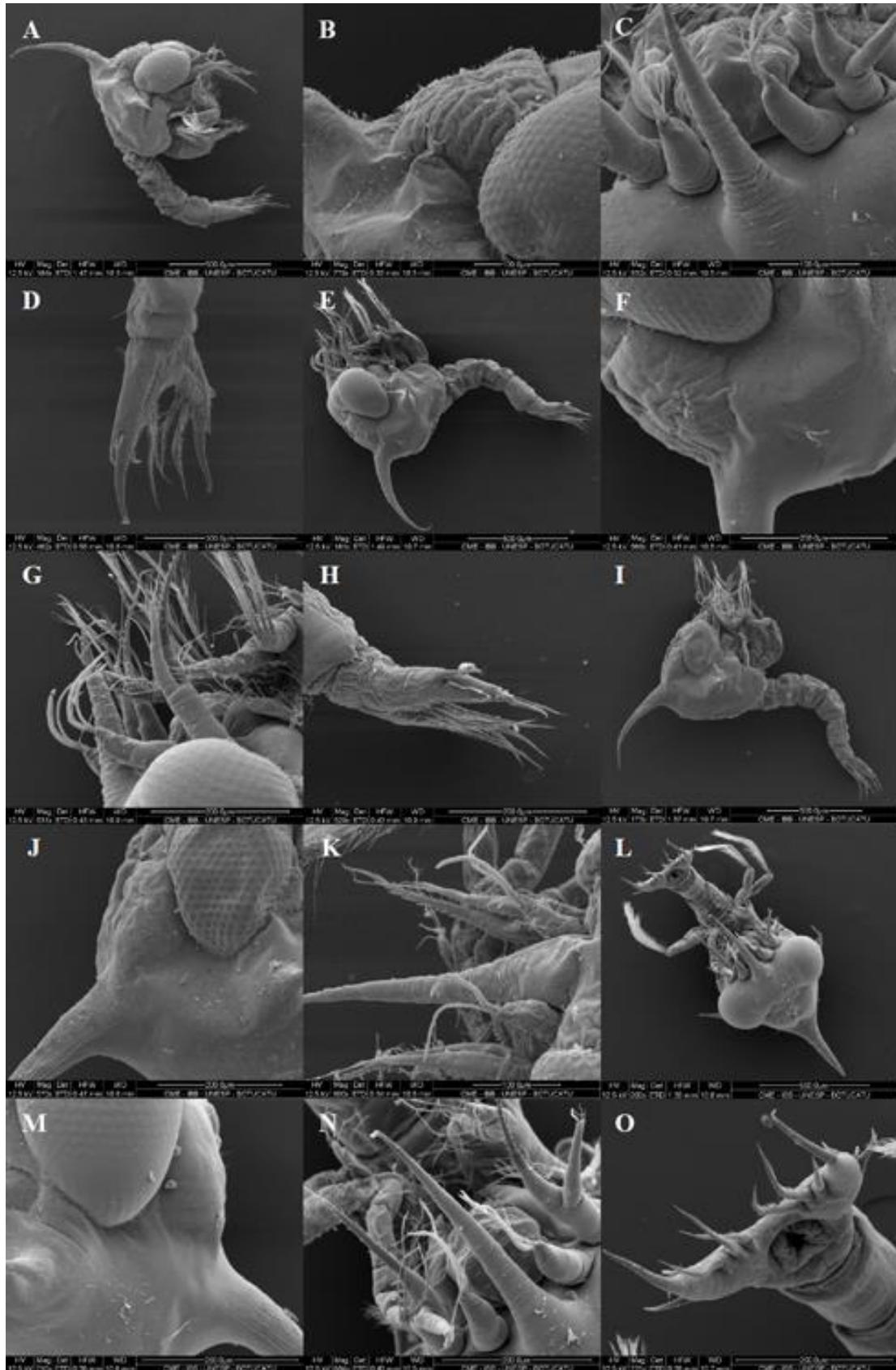


Figura 42. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do primeiro estágio de zoea (48h antes da ecdise para o segundo estágio larval), a 25°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 6,7; E, F, G, H = pH 7,3; I, J, K = pH 7,7; L, M, N, O = pH 8,1.

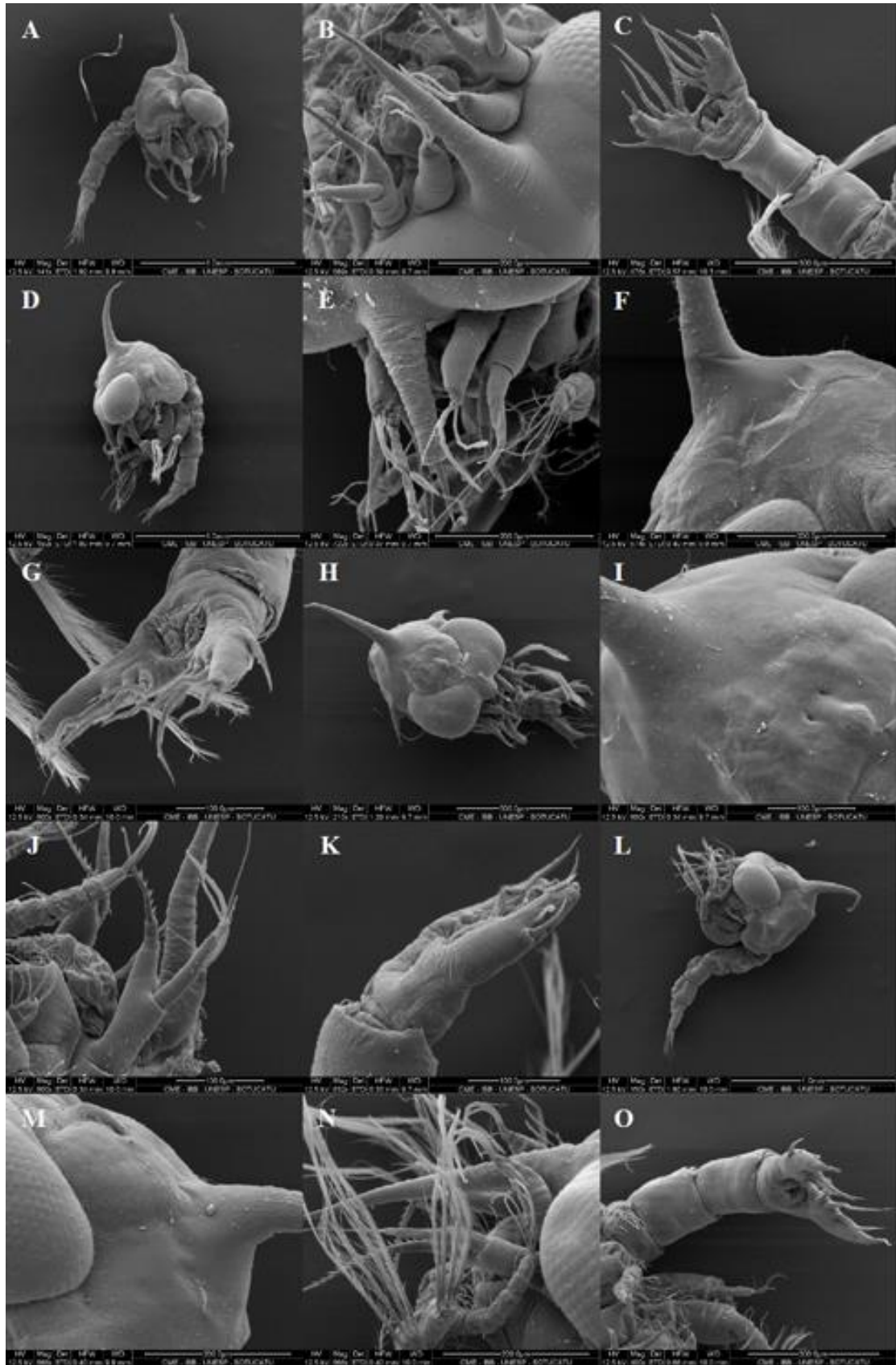


Figura 43. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do primeiro estágio de zoea (48h antes da ecdise para o segundo estágio larval), a 28°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C = pH 6,7; D, E, F, G = pH 7,3; H, I, J, K = pH 7,7; L, M, N, O = pH 8,1.

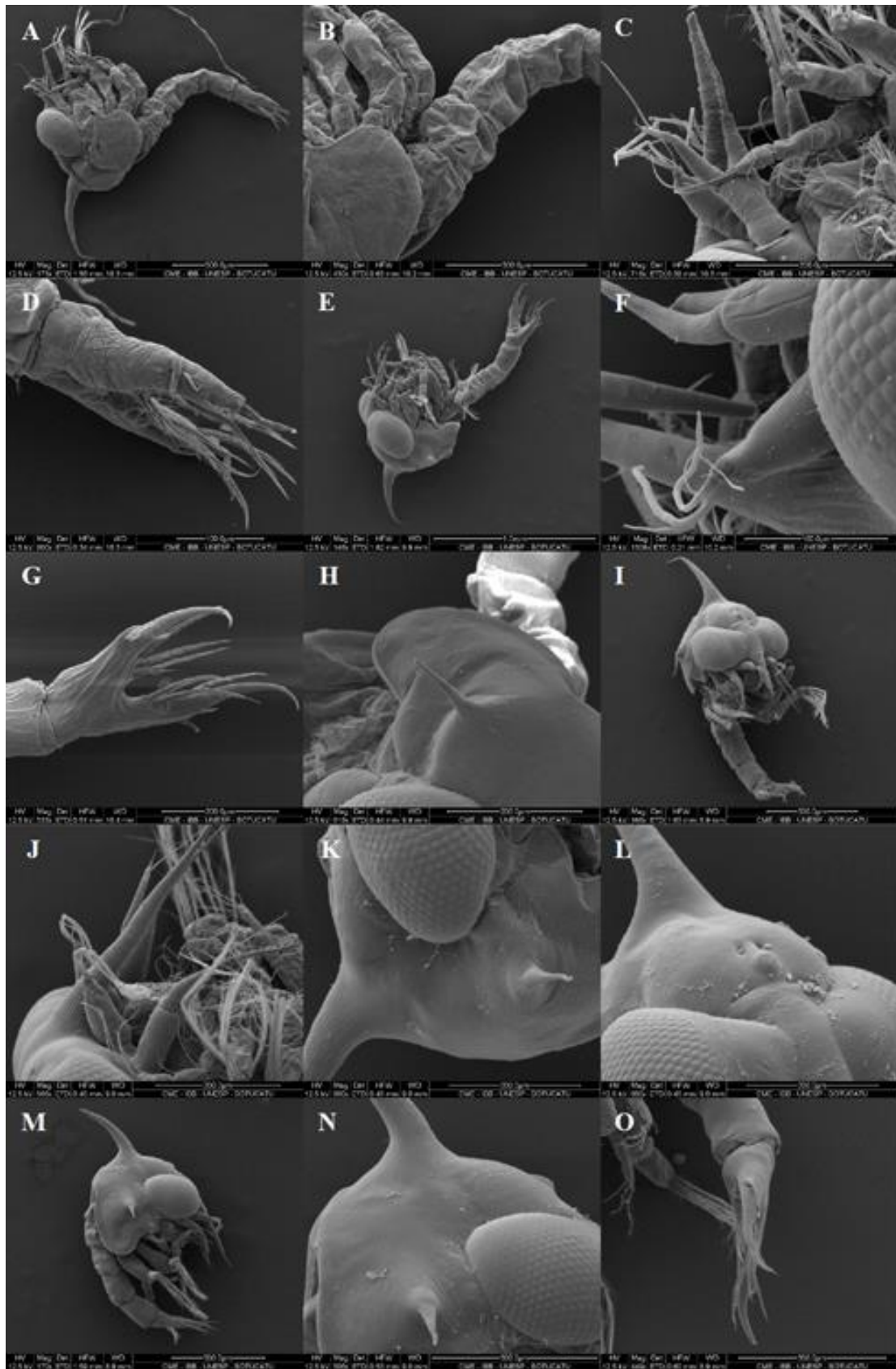


Figura 44. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do primeiro estágio de zoea (48h antes da ecdise para o segundo estágio larval), a 32°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 6,7; E, F, G, H = pH 7,3; I, J, K, L = pH 7,7; M, N, O = pH 8,1.

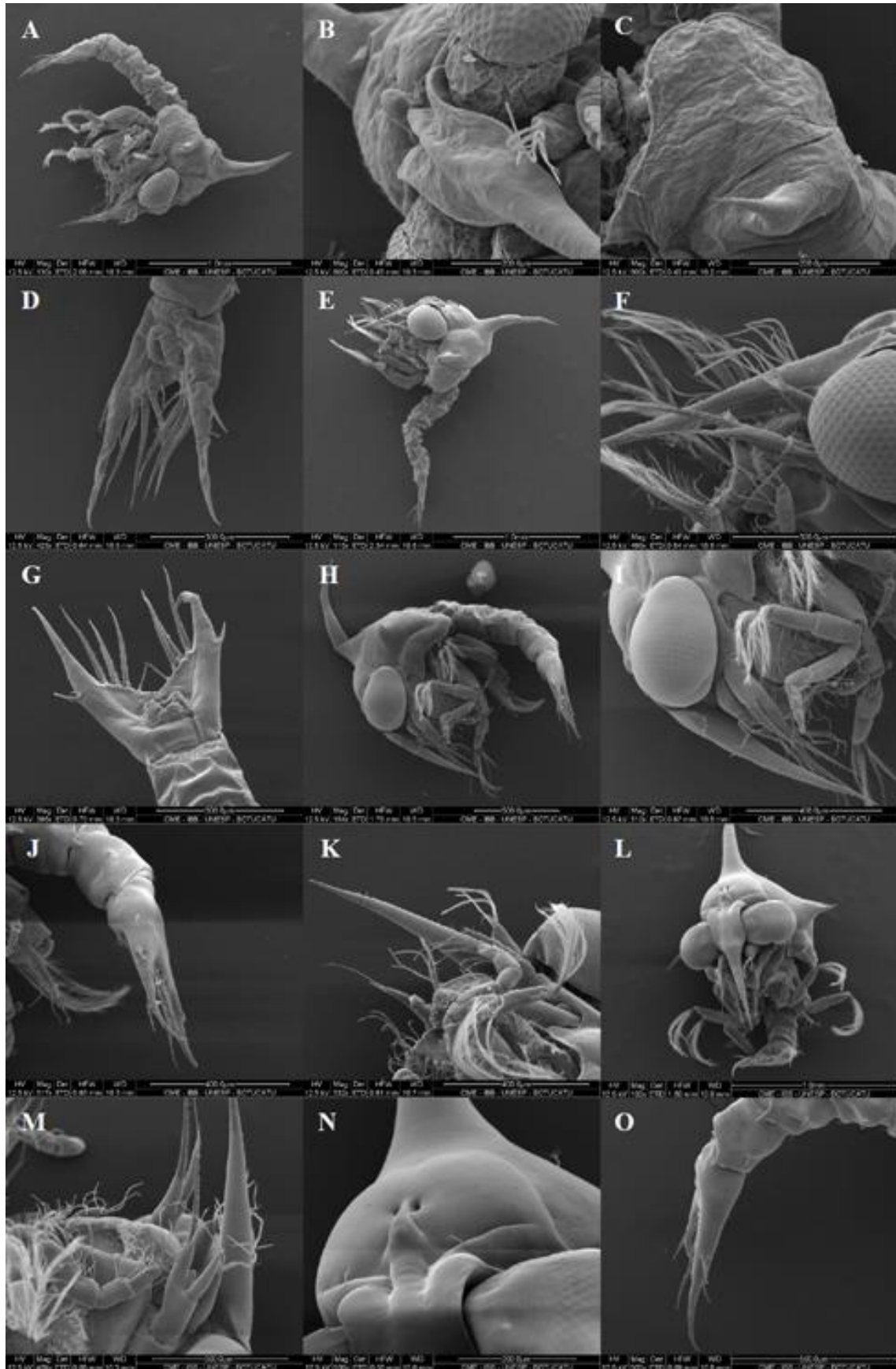


Figura 45. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do segundo estágio de zoea (48h após a ecdise), a 25°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 6,7; E, F, G = pH 7,3; H, I, J, K = pH 7,7; L, M, N, O = pH 8,1.

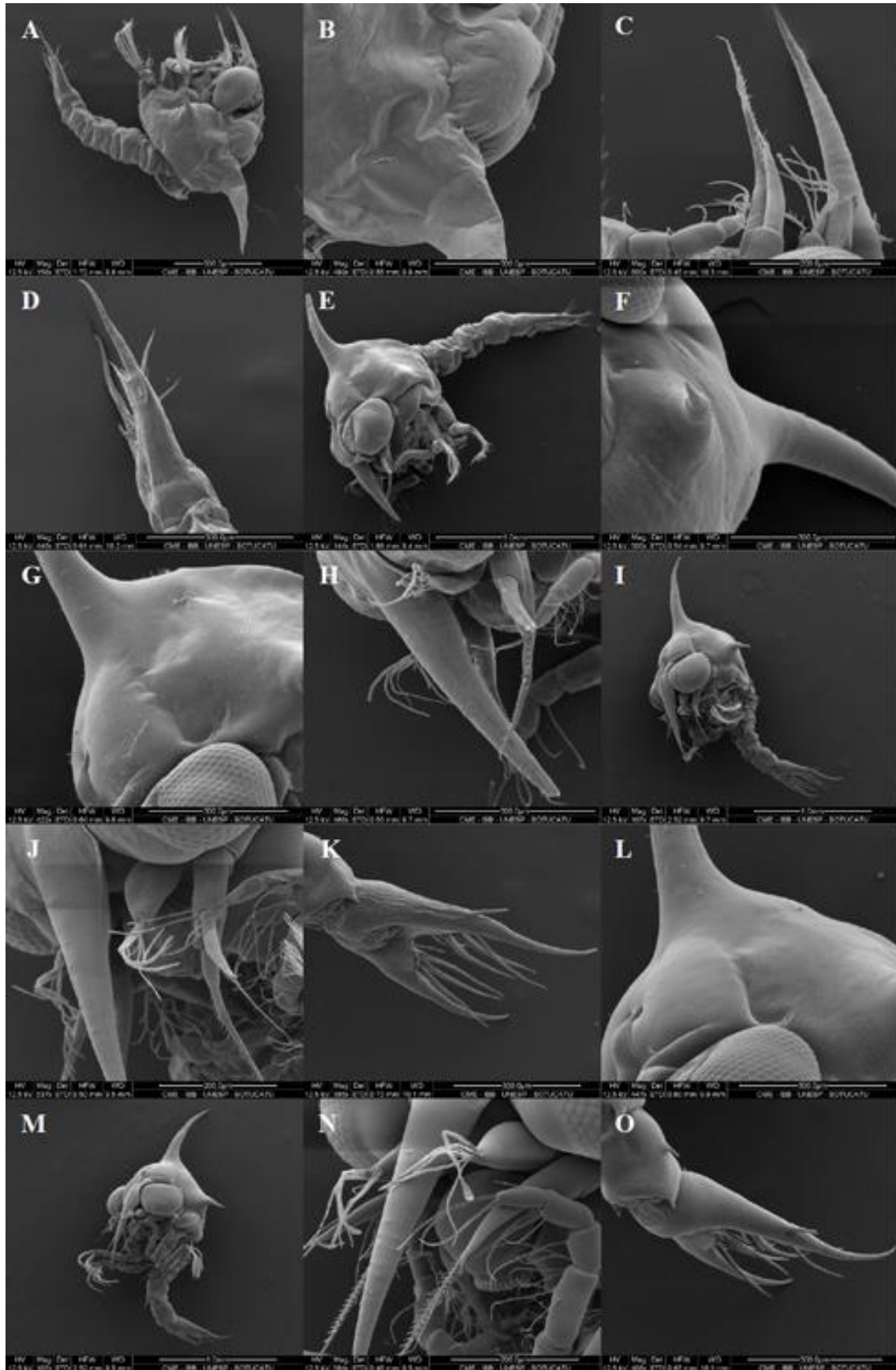


Figura 46. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do segundo estágio de zoea (48h após a ecdise), a 28°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 6,7; E, F, G, H = pH 7,3; I, J, K, L = pH 7,7; M, N, O = pH 8,1.

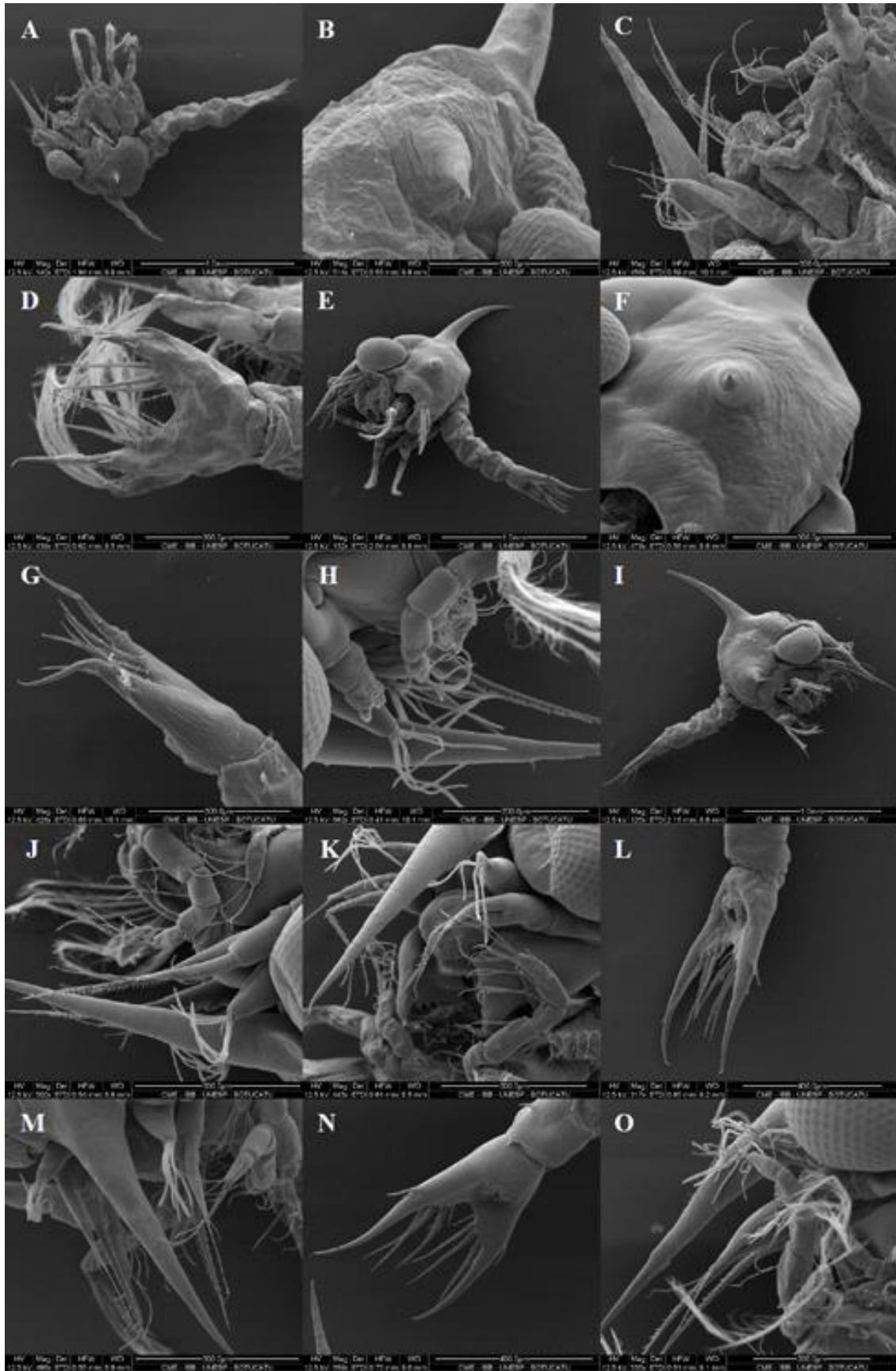


Figura 47. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do segundo estágio de zoea (48h após a ecdise), a 32°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 6,7; E, F, G, H = pH 7,3; I, J, K, L = pH 7,7; M, N, O = pH 8,1.

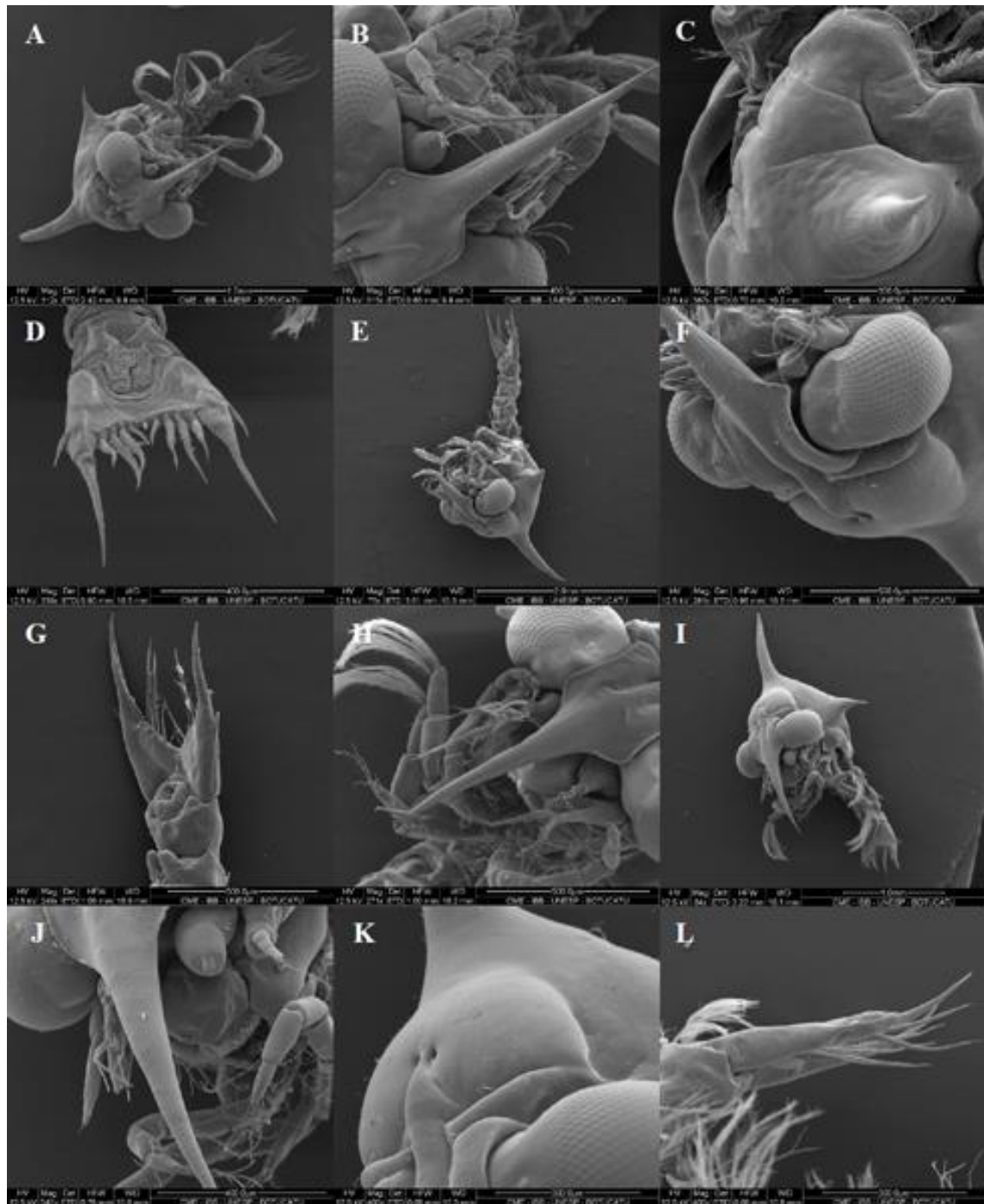


Figura 48. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do terceiro estágio de zoea (48h após a ecdise), a 25°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 7,3; E, F, G, H = pH 7,7; I, J, K, L = pH 8,1.

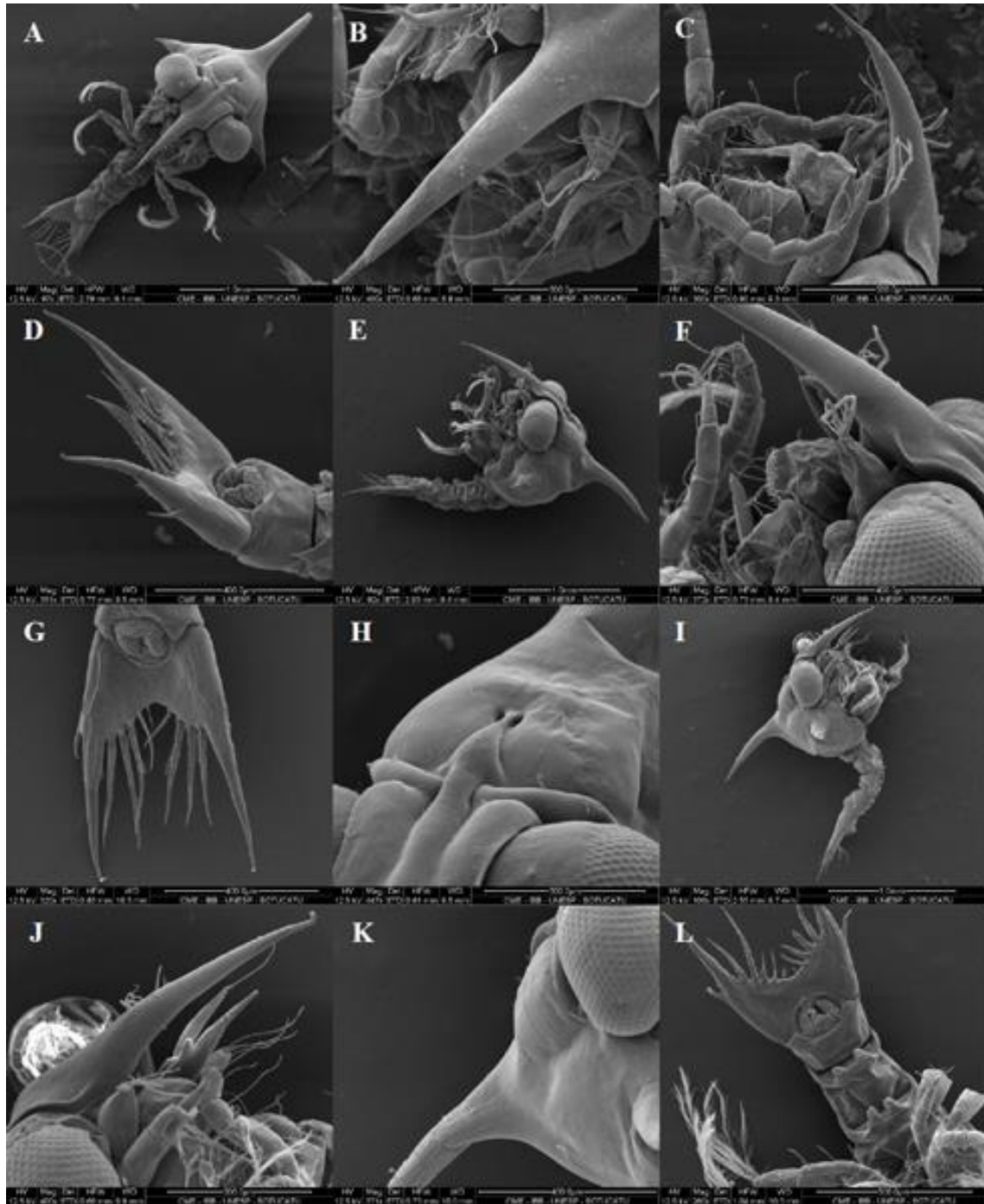


Figura 49. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do terceiro estágio de zoea (48h após a ecdise), a 28°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 7,3; E, F, G, H = pH 7,7; I, J, K, L = pH 8,1.

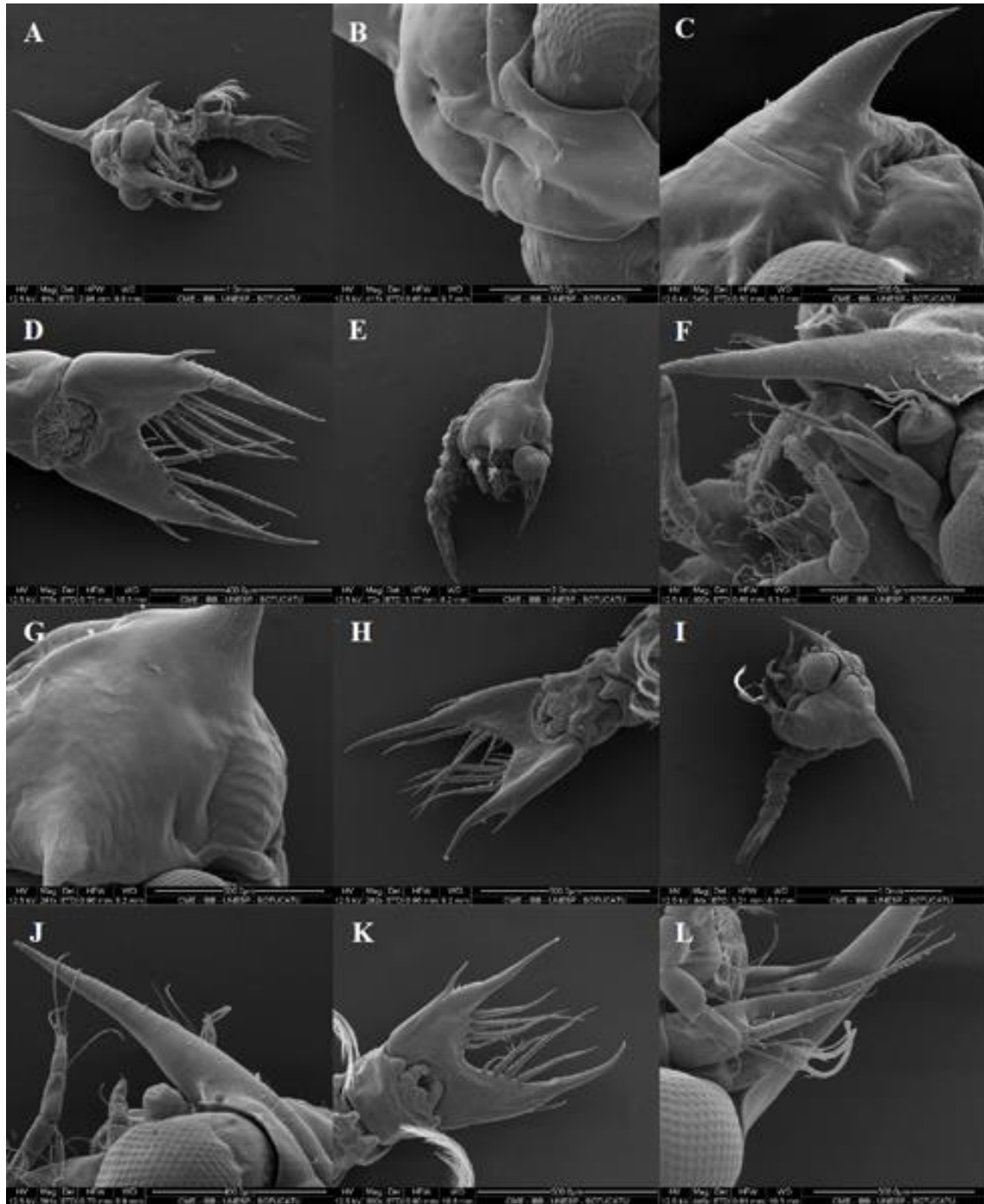


Figura 50. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do terceiro estágio de zoea (48h após a ecdise), a 32°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 7,3; E, F, G, H = pH 7,7; I, J, K, L = pH 8,1.

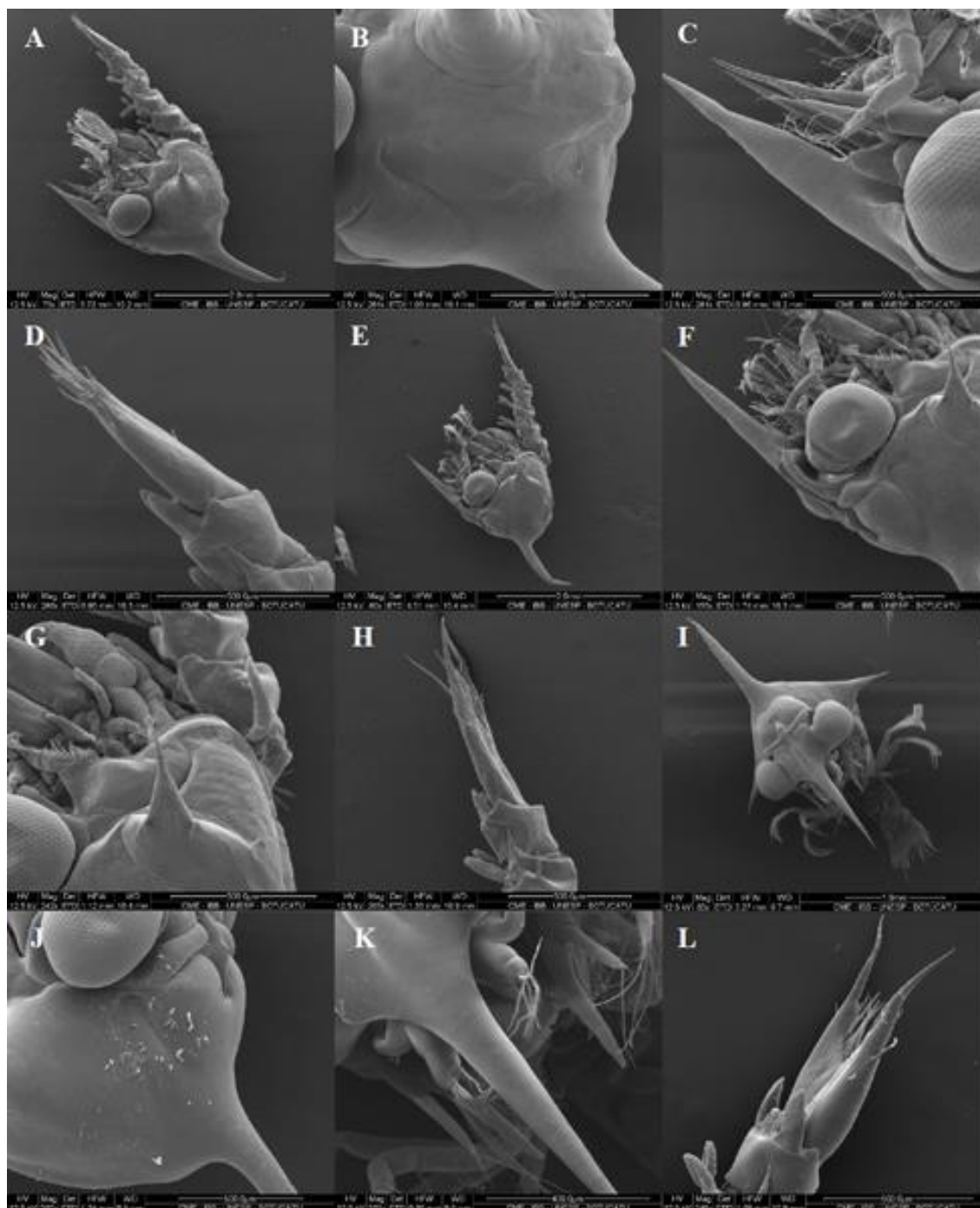


Figura 51. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do quarto estágio de zoea (72h após a ecdise), a 25°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 7,3; E, F, G, H = pH 7,7; I, J, K, L = pH 8,1.

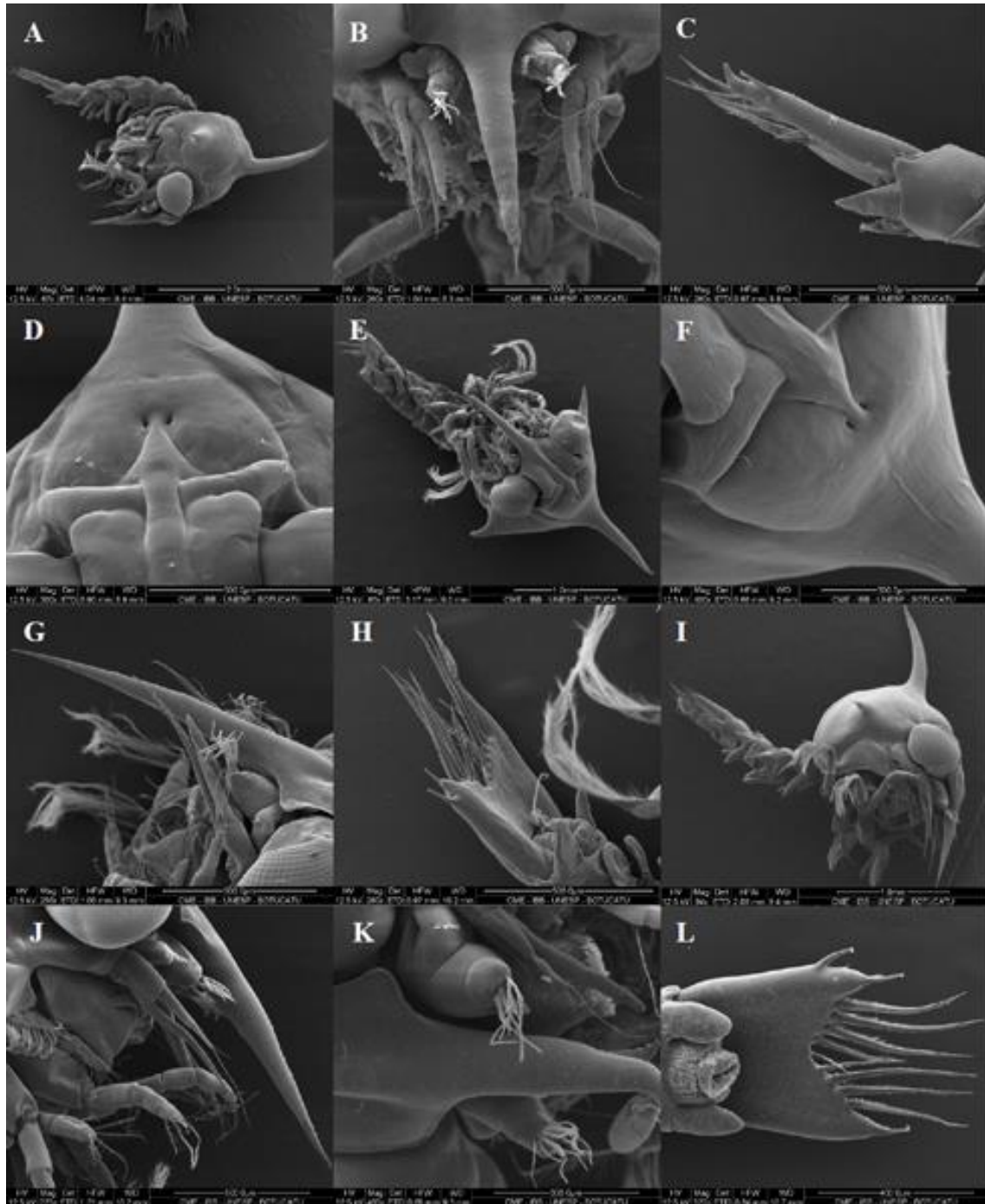


Figura 52. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do quarto estágio de zoea (72h após a ecdise), a 28°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 7,3; E, F, G, H = pH 7,7; I, J, K, L = pH 8,1.

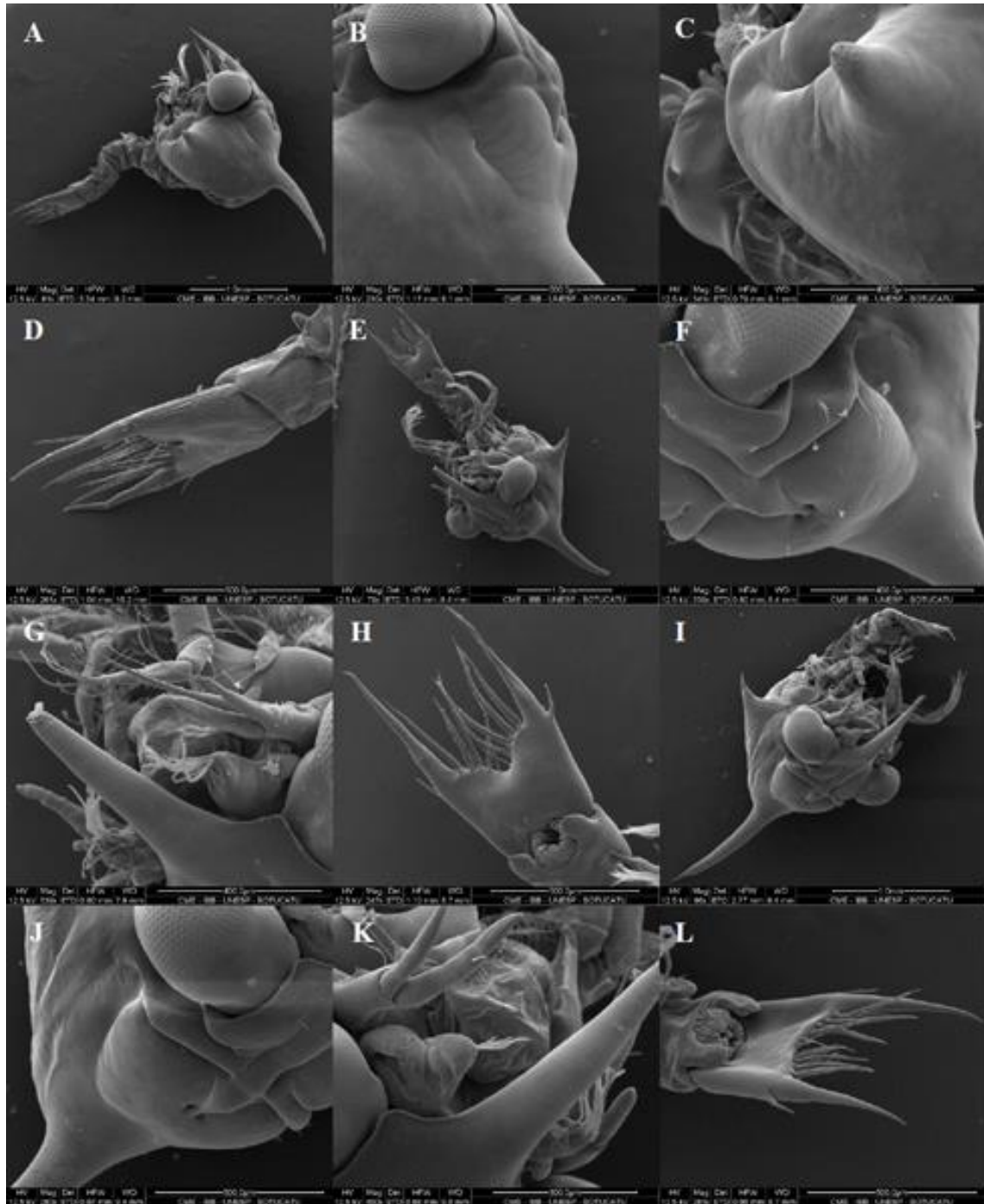


Figura 53. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Morfologia ultraestrutural do quarto estágio de zoea (72h após a ecdise), a 32°C e entre os diferentes tratamentos de pH. A, B, C, D = pH 7,3; E, F, G, H = pH 7,7; I, J, K, L = pH 8,1.

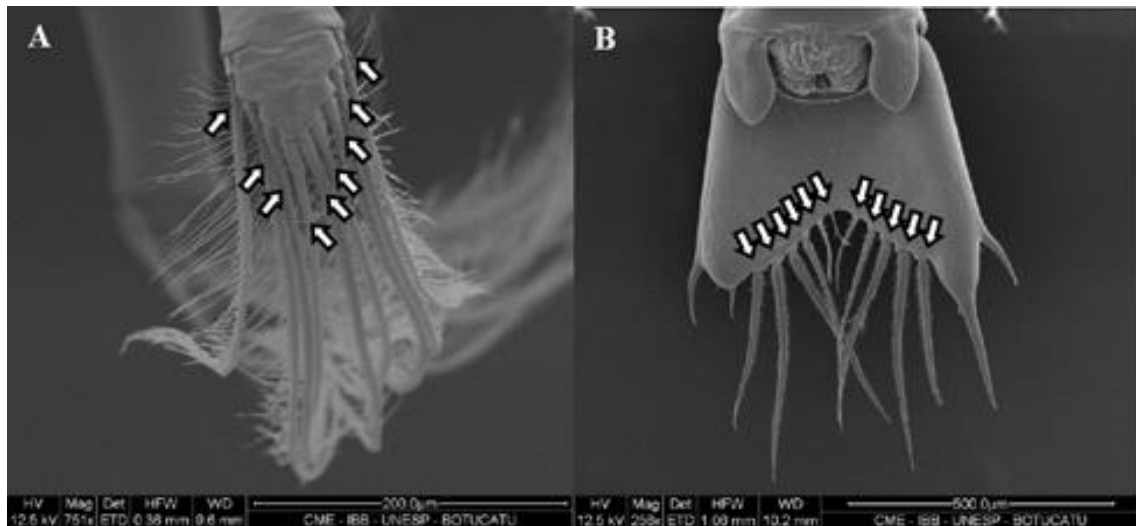


Figura 54. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). A, detalhe das 9 cerdas plumosas terminais (setas) do exopodito do 2º maxilípede no quarto estágio larval (zoea IV); B, detalhe das 11 cerdas plumosas (setas) na furca do telso (6+5) no quarto estágio de desenvolvimento (zoea IV). Tratamento: salinidade 35; temperatura 28°C; pH 7,3.

Discussão

Os resultados aqui apresentados demonstram a influência negativa que o aumento da acidez, temperatura e variações da salinidade causam na fase zoeal do desenvolvimento larval de caranguejos braquiúros. A grande carência de estudos adicionais acerca deste tema, mesmo considerando outros grupos de animais, ainda é uma barreira para as compreensões, comparações e implicações conclusivas dos efeitos, nesta fase de vida, das alterações oceânicas previstas para o futuro. Este é a primeira contribuição a avaliar os potenciais efeitos sinérgicos destes três fatores em larvas de crustáceos decápodos.

Sobrevivência

As altas taxas de sobrevivência observadas em alguns tratamentos (temperatura 25 e 28°C; pH 7,7 e 8,1), considerando o desenvolvimento até o quarto estágio de zoea, foram um pouco maiores quando comparadas às obtidas anteriormente por Fransozo & Negreiros-Fransozo (1986), para salinidades próximas e utilizando as mesmas formas de alimentação e cuidados diários. Isto demonstra as boas condições que o sistema, aqui empregado, proporciona para criações larvais, em comparação com outros sistemas de criação tradicionais (criações em placas de Petri ou em recipientes de acrílico, com trocas diárias de água).

A salinidade exerceu uma grande influência sobre a sobrevivência. As larvas de *E. gonagra* evidenciaram suportar melhor uma diminuição da salinidade do que um aumento desta. Conforme observado, as melhores taxas de sobrevivência até o último estágio larval (megalopa), considerando todos os valores de temperatura e pH examinados, foram em torno de 45%, 58% e 10%, respectivamente nas salinidades de 28, 35 e 42. Fransozo & Negreiros-Fransozo (1986) avaliaram o desenvolvimento larval desta espécie em diferentes condições de salinidade e também observaram sobrevivências similares: 37,5%, 47,5% e 20%, respectivamente, nas salinidades 28, 36 e 40. No entanto, estes mesmos autores verificaram que a sobrevivência larval em salinidade 24 (22,5%) é muito próxima à da salinidade 40. Dessa forma, parece existir uma faixa de salinidade ótima para o desenvolvimento larval desta espécie, faixa esta que abrange menores valores de salinidade, em relação à média marinha (35). Resultados similares foram observados por Harms (1986), nos quais as maiores mortalidades das larvas da craca *Elminius modestus* foram obtidas em salinidades extremas (<20 e >40), enquanto que os maiores impactos da temperatura foram verificados na faixa de salinidade entre 30 e 40. Como são esperados

aumentos futuros de salinidade em regiões de baixa latitude (devido a altas taxas de evaporação; IPCC, 2007b), possivelmente o desenvolvimento larval *E. gonagra* será afetado, podendo levar a diminuições e/ou deslocamentos populacionais das regiões tropicais, alterando até mesmo os limites de distribuição da espécie.

Para *E. gonagra*, diminuições de ordem de 0.4 unidades no pH (preditos para o final deste século; IPCC, 2007a) resultaram em nenhuma ou mínima influência na sobrevivência larval. Os efeitos significativamente mais letais da acidez foram observados a partir do pH 7,3 da mesma forma como verificado por Walther *et al.* (2010) para megalopas do caranguejo *Hyas araneus*, até atingirem o primeiro estágio juvenil. Outros estudos também têm apontado que pequenas diminuições do pH parecem pouco influenciar a sobrevivência de estágios larvais a curto prazo, como, por exemplo, para larvas da estrela-do-mar da Antártida *Odontaster validus*, estudada por Gonzalez-Bernat *et al.* (2012) e para larvas do bacalhau Báltico *Gadus morhua*, estudado por Frommel *et al.* (2012), durante 2 semanas. Knutzen (1981) avaliou os efeitos da diminuição do pH em diversas espécies marinhas, concluindo que a maior parte destas somente eram afetadas quando o pH estava abaixo de 7,0. No presente estudo, todos os tratamentos em pH 6,7 resultaram na morte das larvas dentro de 13 a 17 dias, sendo que nenhuma delas chegaram a atingir o quarto estágio larval (zoea IV). Resultados similares foram obtidos por Berge *et al.* (2005) para o mexilhão *Mytilus edulis*, por Kurihara *et al.* (2004b) para copépodos planctônicos e por Clark *et al.* (2009), que avaliaram a influência da acidificação na sobrevivência de larvas pluteus de quatro espécies de ouriço-do-mar *Tripneustes gratilla*, *Evechinus chloroticus*, *Pseudechinus huttoni* e *Sterechinus neumayeri*. Estes últimos autores relataram que as larvas das quatro espécies atingem 100% de mortalidade em pH 6,0 dentro de 4 a 7 dias, e sugerem que, como não é previsto a diminuição do pH para estes níveis até 2100 (IPCC, 2007a), estas espécies possivelmente não serão diretamente afetadas em relação à sobrevivência larval.

No entanto, alguns trabalhos obtiveram incrementos da mortalidade apenas com pequenas diminuições do pH, como para larvas da estrela-do-mar *Ophiothrix fragilis*, estudada por Dupont *et al.* (2008). Estes autores verificaram 100% de mortalidade das larvas em pH 7,7 e 7,9, contra apenas 30% em pH 8,1, sugerindo que *O. fragilis* pode ser erradicada até o final deste século, caso o pH oceânico atinja os níveis preditos e esta espécie apresente pequeno potencial de aclimação e/ou adaptação. Long *et al.* (2013) relataram que os efeitos da acidificação na sobrevivência de juvenis dos caranguejos anomuro *Paralithodes camtschaticus* e braquiúro *Chionoecetes bairdi* são sentidos em pH

7,5 quase imediatamente após o início dos experimentos, e em pH 7,8 somente são notáveis depois de 50 a 70 dias. Esta demora de resposta, sob pequenas diminuições do pH, também foram observadas para o camarão *Palaemon pacificus* por Kurihara *et al.* (2008) e podem ocorrer devido à grande habilidade dos crustáceos em regular seu equilíbrio ácido-base em curto espaço de tempo (principalmente devido aos mecanismos de troca iônica residirem no epitélio branquial [Wheatly & Henry, 1992]), porém com um custo energético que, eventualmente, resulta na mortalidade quando as reservas energéticas são esgotadas (Kurihara *et al.*, 2008; Long *et al.*, 2013). Dessa forma, poderia ser este o caso para as quatro espécies de ouriço-do-mar (Clark *et al.*, 2009), para os copépodos planctônicos (Kurihara *et al.*, 2004b), para *M. edulis* (Berge *et al.*, 2005) e também para *E. gonagra*? Respostas conclusivas a esta questão somente poderão ser obtidas com estudos adicionais envolvendo longos períodos experimentais.

De forma geral, efeitos sobre a sobrevivência, para *E. gonagra*, também não são sentidos com pequenos aumentos na temperatura; a mortalidade é aumentada apenas na temperatura de 32°C. Resultados similares também foram obtidos por Kipson *et al.* (2012) para o coral *Paramuricea clavata* e por Cumbo *et al.* (2012) para larvas do coral *Pocillopora damicornis*, quando os indivíduos foram submetidos, respectivamente, a aumentos de 8 e 6°C na temperatura, em relação ao controle.

Analisando os efeitos combinados da temperatura e pH, dentro da amplitude de salinidade preferencial desta espécie, verificamos que acima de pH 7,3, a temperatura acaba exercendo maior influência, enquanto que abaixo de 32°C, o pH é que exerce os maiores efeitos deletérios sobre a sobrevivência. Portanto, parecem existir pontos de equilíbrio entre pH e temperatura, dentro da amplitude de salinidade suportada, que irão influenciar diretamente a sobrevivência larval de *E. gonagra*.

Período de intermuda

Considerando a duração dos estágios, o fator temperatura demonstrou ter maior influência sobre o desenvolvimento larval. De modo geral, as variações ocorridas no período de intermuda são maiores com acréscimos de temperatura do que com decréscimos de pH, ou seja, mesmo que diminuições do pH tendem a aumentar o período de intermuda, tal aumento não equivale às significativas reduções das durações dos estágios provocadas pelo acréscimo de temperatura.

De acordo com Arnold *et al.* (2009), a diminuição do pH não afeta o período de intermuda dos estágios larvais da lagosta europeia *Homarus gammarus*. No entanto, no

estudo de Keppel *et al.* (2012), verificou-se um aumento significativo na duração dos quatro primeiros estágios larvais da lagosta americana *H. americanus* sob menor valor de pH (ambos os autores não testaram a influência da temperatura). Do mesmo modo, diminuições das taxas de desenvolvimento (duração do período embriológico) também foram relatadas para a craca *Semibalanus balanoides* com o aumento da acidificação (Findlay *et al.*, 2009). Este aumento do período de desenvolvimento eleva o tempo de permanência da larva no ambiente pelágico, resultando em maior exposição desta aos predadores, o que potencializa a redução do assentamento larval, com consequente redução dos estoques populacionais (Keppel *et al.*, 2012).

Walther *et al.* (2010) verificaram pequenos aumentos no período de intermuda, sob influência da acidificação, dos estágios larvais do caranguejo *Hyas araneus*, principalmente na menor temperatura avaliada (3°C). Contudo, estes autores também relataram que as durações dos estágios foram significativamente menores (inclusive nos tratamentos mais ácidos) com o aumento da temperatura (9 e 15°C). Considerando a salinidade, Egilisdottir *et al.* (2009) observaram aumentos no período de desenvolvimento embrionário do anfípoda *Echinogammarus marinus* com a diminuição da salinidade (nos tratamentos de maior acidez), ressaltando que deve haver algum efeito sinérgico entre CO₂ e a baixa salinidade, efeito este que não é muito pronunciado.

Os resultados obtidos para *E. gonagra* estão de acordo com estes dois últimos estudos. Assim sendo, as alterações oceânicas, previstas para o final deste século, possivelmente não causarão efeito direto sobre a duração do desenvolvimento larval de *E. gonagra*, inclusive podendo ser observadas pequenas diminuições do tempo desta fase, porém efeitos secundários provavelmente poderão ocorrer, como o desenvolvimento de indivíduos menores, com consequências negativas para a população (ver abaixo, seção *Crescimento*).

Comportamento

Embora nenhum método quantitativo tenha sido utilizado para analisar o comportamento apresentado pelas larvas durante todo período de criação, tal característica (diminuição de movimentos natatórios com a diminuição do pH) foi bastante frequente a ponto de merecer destaque científico.

Alterações dos padrões de movimentos larvais, relacionados à natação, foram relatadas para larvas da bolacha-da-praia *Dendroaster excentricus*, estudadas por Chan & Grünbaum (2010), as quais apresentavam velocidades de natação reduzidas frente a

declínios de temperatura. Chan *et al.* (2011) também avaliaram alterações natatórias de larvas desta mesma espécie sob condições estressantes de acidez (por CO₂) e, embora não tenham sido constatadas alterações significativas da velocidade total, velocidade oscilatória e velocidade vertical, graficamente é possível constatar diminuições das amplitudes do movimento horizontal, em relação a um ponto fixo inicial, nos tratamentos avaliados de maior acidez.

Slobodkin & Rapoport (1974) discutiram sobre as diversas respostas biológicas que as espécies apresentam frente a novas perturbações ambientais. Tais autores defendem a ideia de que uma evolução bem sucedida requer a manutenção, por parte da espécie, da flexibilidade na resposta à perturbação, e que esta flexibilidade deve ser conservada de forma mais parcimoniosa possível, ou seja, o comprometimento da espécie com a resposta deve ser mantido primeiramente ao nível individual (alterações comportamentais, fisiológicas etc.) antes de serem requisitadas respostas mais profundas (mudanças genéticas na anatomia, no comportamento inato etc.), ao nível populacional (Fig. 55). Porém, ao mesmo tempo, estas respostas mais profundas devem estar prontas para assumirem o controle à medida que as respostas individuais tornem-se ineficazes.

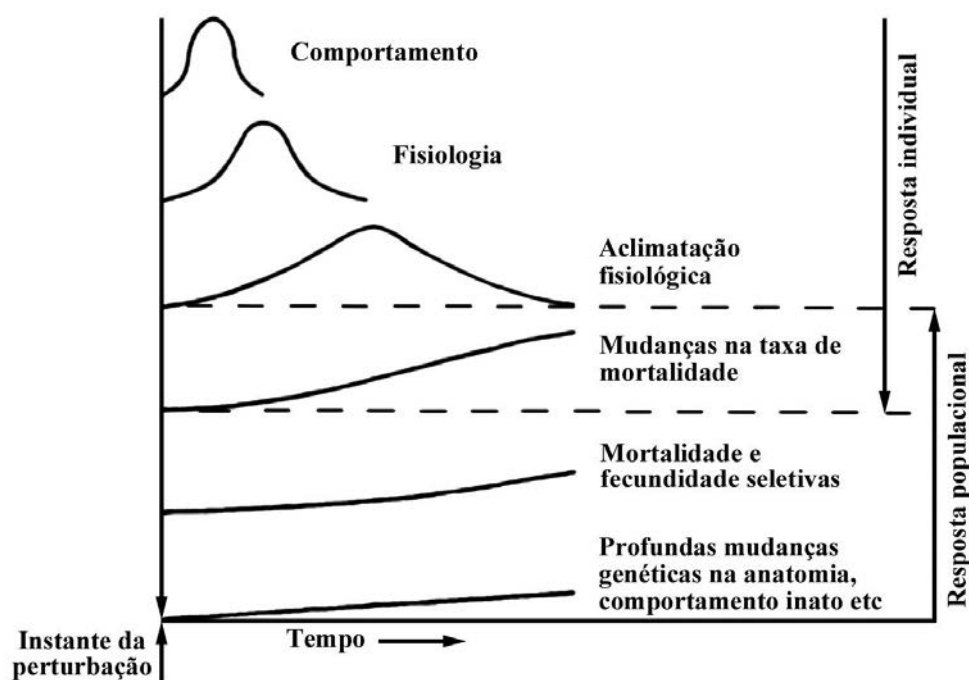


Figura 55. Representação esquemática e simplificada dos eventos que seguem uma perturbação ambiental. Adaptado de Slobodkin & Rapoport (1974).

Dessa forma, o comportamento apresentado pelas larvas de *E. gonagra* pode ser resultado desta estratégia de resposta à perturbação ambiental. Uma vez que as larvas são mais densas em relação à água marinha (Spaargaren, 1979), manter-se sem movimento resultará no afundamento destas e, portanto, permitirá a procura de novas condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento, como primeira ação ao agente perturbador, antes de gastos energéticos com mudanças fisiológicas mais profundas serem necessárias. Por outro lado, deve-se levar em conta que tais larvas são planctotróficas e necessitam permanecer na coluna d'água para obter alimento até completar a metamorfose. O resultado dos dois processos é que indicará o destino da espécie, numa condição de alteração ambiental.

Crescimento

O crescimento larval de *E. gonagra* foi significativamente afetado sob condições de baixo pH e elevadas temperaturas, ao contrário das variações de salinidade, a qual não demonstrou influências sobre o tamanho larval. Reduções no crescimento, em termos de tamanho corporal ou de estruturas, têm sido relatadas para algumas espécies de crustáceos como, por exemplo, para o copépoda *Tisbe battagliai*, estudado por Fitzer *et al.* (2012), no qual houve redução de cerca de 25% do tamanho corporal entre o tratamento controle (pH 8,06) e o acidificado (pH 7,67). Kurihara *et al.* (2008) observaram significativas reduções no comprimento da antena do camarão *Palaemon pacificus*, quando estes foram mantidos sob baixos níveis de pH. Estes autores atribuíram as prováveis causas da diminuição do crescimento à (1) diminuição da taxa metabólica, a qual também foi a provável causa da redução da taxa de crescimento do mexilhão *Mytilus galloprovincialis*, constatada por Michaelidis *et al.* (2005); (2) redução da alimentação e/ou da eficiência na assimilação alimentar, como foi verificado por Bamber (1990) para os bivalves *Crassostrea gigas* e *Mytilus edulis*, quando estes foram mantidos em tratamentos com pH menor que 7,2; ou (3) ao comprometimento do controle endócrino da muda, cuja aceleração do processo pode impedir que os organismos acumulem energia para crescer adequadamente.

O comprimento da carapaça dos estágios larvais da lagosta americana *Homarus americanus* também foi negativamente afetado (a partir do segundo estágio) nos tratamentos acidificados (Keppel *et al.*, 2012), provavelmente, como sugerem os autores, pela realocação da energia do crescimento para outros processos (por exemplo, manutenção da calcificação em um ambiente acidificado). Long *et al.* (2013) também observaram reduções no comprimento e na largura da carapaça de juvenis de *Paralithodes*

camtschaticus e *Chionoecetes bairdi* nos tratamentos sob pH 7,8 e 7,5, respectivamente.

Considerando outros grupos de animais, ainda verificamos efeitos negativos sobre o crescimento com aumento da acidez e temperatura. Moulin *et al.* (2011) relataram diminuições nos comprimentos dos braços das larvas de ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus* em valores de pH menores que 7,2, enquanto que Chan *et al.* (2011) observaram estreitamento do corpo e diminuições do estômago e dos braços de larvas da bolacha-da-praia *Dendraster excentricus*, sob baixos valores de pH, demonstrando os impactos negativos que a acidificação pode causar na nutrição larval.

No entanto, há ainda estudos que não apontaram alterações de tamanho sob condições de baixo pH e/ou elevada temperatura como para a lagosta europeia *Homarus gammarus* (estudada por Arnold *et al.*, 2009), o anfípoda *Gammarus locusta* (estudado por Hauton *et al.*, 2009) e a craca *Semibalanus balanoides* (estudada por Findlay *et al.*, 2010). Provavelmente, estas espécies apresentem fortes mecanismos fisiológicos que previnem diminuições nas taxas de crescimento em condições estressantes de acidez e aquecimento, embora outros efeitos negativos tenham sido observados, como diminuição da massa corpórea, do conteúdo mineral, do metabolismo e da sobrevivência, entre outros.

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram os efeitos negativos que a acidificação e aquecimento oceânico podem causar no crescimento larval. Estas reduções de tamanho podem trazer diversas implicações prejudiciais para o ciclo de vida de *E. gonagra*: (1) larvas menores possuem mais predadores potenciais, além de serem mais vulneráveis a estes (Paradis *et al.*, 1996; Pirtle *et al.*, 2012); (2) menores tamanhos resultam em indivíduos menos competitivos no habitat, além de aumentar o tempo até o recrutamento (considerando espécies com reprodução sazonal, este aumento pode levar a perdas de ciclos reprodutivos pelos indivíduos) ou, ainda, diminuir o tamanho da maturidade sexual (Long *et al.*, 2013); (3) fêmeas menores produzem menos ovos (Goés *et al.*, 2005) e, com menor fator de condição (Long *et al.*, 2013), necessitam de maior energia para investir na reprodução. Dessa forma, poderão ser observados efeitos negativos ao nível populacional para *E. gonagra*.

Peso seco

Ao contrário do período de intermuda, as maiores variações do peso seco (essencialmente no quarto estágio larval) são observadas devido às variações de pH, com pouca influência da temperatura neste aspecto. Diminuições na massa corpórea, nos menores valores de pH, foram obtidos por Walther *et al.* (2010) para *H. araneus*, e por

Arnold *et al.* (2009) para *H. gammarus*, sendo que, neste último, os autores só observaram diferenças significativas no último estágio larval obtido (quarto estágio), bastante similar aos resultados de *E. gonagra*.

Como sugerido por Arnold *et al.* (2009), diminuições no peso seco podem indicar um exoesqueleto mais fino e menos calcificado, causando grande susceptibilidade a predadores e doenças. Wolfe *et al.* (2012) avaliaram o peso da concha do cefalópode *Argonauta nodosa* e verificaram significativas reduções deste, com consequente dissolução da concha, dentro de 14 dias sob pH 7,8, podendo causar severos impactos sobre as populações desta espécie.

Entretanto, nem sempre pode se esperar que reduções na massa corpórea resultem em diminuições da calcificação (Wood *et al.*, 2008). Long *et al.* (2013) observaram que o fator de condição (peso dividido pelo cubo do comprimento) de juvenis do caranguejo anomuro *Paralithodes camtschaticus* também diminuiu sob baixas condições de pH, ao contrário do fator de condição nos juvenis do braquiúro *Chionoecetes bairdi*, o qual não diferiu do tratamento controle. Porém, estes autores teorizam que *P. camtschaticus* possivelmente empregue maior energia do que *C. bairdi* na osmorregulação e calcificação, em condições de maior acidez, como foi evidenciado pela semelhança no conteúdo de cálcio entre os tratamentos controle e acidificado, observado por estes autores. Como também relatado por Wood *et al.* (2008) para o ofiúro *Amphiura filiformis*, esta resposta fisiológica gera diminuição do crescimento somático, uma vez que os organismos possuem menos energia para aplicar neste processo. Dessa forma, *E. gonagra* possivelmente também empregue o mesmo tipo de resposta fisiológica, uma vez que se observam diminuições da massa corpórea e do crescimento, além da manutenção ou mesmo incremento do conteúdo de cálcio e magnésio (ver abaixo, seção *Conteúdo mineral*).

Reduções de peso seco, em condições de acidez por CO₂, também foram observadas em juvenis do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*, porém não antes de 7 semanas dentro das condições experimentais (diferenças significativas entre o tratamento controle e os demais tratamentos ácidos foram observadas somente após a oitava semana; Albright *et al.*, 2012). Para o caranguejo porcelanídeo *Petrolisthes cinctipes*, houve redução de 6% no peso seco de embriões mantidos em baixos valores de pH dentro de 5 a 7 dias, contudo não foram observadas reduções de peso tanto nas larvas quanto nos juvenis (Carter *et al.*, 2013), assim como mencionado anteriormente para *C. bairdi*, demonstrando que as respostas fisiológicas à diminuição do pH podem ser diferentes tanto entre as espécies quanto pelo tempo de exposição do organismo às condições adversas.

Conteúdo mineral

Os resultados obtidos neste estudo indicam que os efeitos do aquecimento e acidificação oceânicos podem ser contrários ao que se espera intuitivamente, considerando o processo de calcificação dos organismos marinhos, uma vez que *E. gonagra* apresentou taxas de calcificação semelhantes (ou mesmo aumentadas) em relação ao grupo controle, em todos os tratamentos sob efeito da acidificação por CO₂. Muitos estudos têm demonstrado resultados similares: Findlay *et al.* (2009) verificaram não haver diferenças na porcentagem em massa de cálcio (Ca) entre os tratamentos avaliados para a craca *Semibalanus balanoides*; McDonald *et al.* (2009) demonstraram que a calcificação da craca *Amphibalanus amphitrite* se mantém ou até pode aumentar em pH 7,4; Findlay *et al.* (2011) relataram que as porcentagens de Ca foram iguais entre os tratamentos controle e acidificado para o gastrópoda *Patella vulgata* e o mexilhão *Mytilus edulis*, e aumentaram para o ofiúro *Amphiura filiformis*, sob baixo pH; Munday *et al.* (2011) observaram, nos tratamentos acidificados, significativos aumentos nos otólitos das larvas do peixe-palhaço *Amphiprion percula* devido ao aumento da deposição de carbonato de cálcio; ainda, Benner *et al.*, 2013 observaram que a taxa de calcificação do cocolitoforídeo *Emiliania huxleyi* aumentou em tratamentos acidificados, sendo que os genes acentuadamente expressados nestes experimentos não foram aqueles relacionados à calcificação, sugerindo-se novos rumos para a pesquisa das alterações climáticas nos oceanos.

Ries *et al.* (2009) verificaram que organismos de diferentes grupos (Crustacea, Cnidaria, Echinoidea, Rhodophyta, Chlorophyta, Gastropoda, Bivalvia, Annelida) apresentam respostas variadas nos processos de calcificação, quando expostos à condições de pH baixo. Das 18 espécies analisadas nesse estudo, 1 não apresentou diferenças, 7 aumentaram e 10 diminuíram os processos de calcificação (algumas destas apresentaram dissolução em estruturas), demonstrando existir diferenças entre os organismos na capacidade de regular o pH no local da calcificação.

Contudo, há estudos que apontam diminuições do conteúdo de Ca e magnésio (Mg) sob diferentes condições de pH e temperatura. Larvas da lagosta europeia *Homarus gammarus*, no quarto estágio larval, apresentaram reduções do conteúdo destes minerais apenas na carapaça, com diminuições de 0,3 unidades de pH (Arnold *et al.*, 2009), e megalopas do caranguejo *Hyas araneus*, estudadas por Walther *et al.* (2011), apresentaram baixas porcentagem de Ca e Mg com a diminuição do pH. No entanto, estes autores também observaram que o aumento de temperatura igualava o conteúdo destes minerais entre os tratamentos, sugerindo que os processos de calcificação possam utilizar

mecanismos enzimáticos dependentes da temperatura; além disso, pelos estados de saturação da calcita e aragonita serem menores em baixas temperaturas, a calcificação pode ser prejudicada e os organismos, possivelmente, sacrifiquem tal processo em troca do investimento de energia no crescimento, justificado pela similaridade dos pesos secos nesta temperatura.

Considerando a salinidade, Egilisdottir *et al.* (2009) relataram não haver diferenças no conteúdo total de Ca de juvenis do anfípoda *Echinogammarus marinus*, entre os tratamentos controle e acidificado para a mesma salinidade, mas observaram reduções na quantidade deste mineral entre as salinidades avaliadas (20 e 35). Segundo Greenaway (1985), o cálcio utilizado durante o processo de calcificação nos crustáceos, de forma geral, provém da própria água do mar. Assim sendo, diminuições da salinidade possivelmente afetaram a taxa de incorporação de Ca por *E. marinus*, por meio da diminuição da concentração deste íon na água. Embora tenham sido observadas reduções na porcentagem de Ca e Mg, dos todos os estágios de zoea de *E. gonagra*, em menor salinidade (28), também foram observadas grandes diminuições em salinidade maior (42), indicando que, provavelmente, não são as variações das concentrações de Ca e Mg na água que determinam a assimilação destes íons pelas larvas de *E. gonagra*, como propõem Egilisdottir *et al.* (2009), mas sim que (1) variações da salinidade, próximas aos limites de suporte da espécie, devem interferir em alguma via fisiológica relacionada diretamente com o processo de calcificação, levando ao detrimento das taxas de Ca e Mg; ou (2) a energia realocada pelas larvas, necessária para manter o equilíbrio osmótico nas salinidades próximas aos limites de suporte, leva ao detrimento das reservas energéticas destinadas à outros processos fisiológicos, incluindo a taxa de calcificação.

Outro ponto importante a ressaltar, é que os resultados do conteúdo de cálcio e magnésio para *E. gonagra* correspondem à quantidade total destes íons presentes nos estágios de zoea. Embora tenha sido constatado que as quantidades mantinham-se (salinidade 35 e 42) ou aumentavam (salinidade 28) com diminuições do pH, deve-se salientar que as quantidades presentes apenas no exoesqueleto podem ser menores do que os resultados apresentados com o aumento da acidez. Tal observação provém do fato de que, conforme já mencionado por Arnold *et al.* (2009) para *H. gammarus*, uma vez que análises totais incluem reservas de cálcio que parecem existir em cecos intestinais das larvas de crustáceos, como observado para o porcelanídeo *Pisidia longicornis*, por Le Roux (1976) *apud* Greenaway (1985).

Morfologia

Até o momento, não existem estudos morfológicos sobre a influência das alterações climáticas oceânicas (acidez, temperatura e salinidade) no desenvolvimento larval de crustáceos decápodos. Desta forma, torna-se difícil a comparação dos caracteres morfológicos apresentados por *E. gonagra* com outros estudos.

De qualquer forma, embora não tenham sido observadas alterações na forma dos apêndices ou no tipo cerdas (apenas quanto ao número destas, exibidas por algumas estruturas em determinados tratamentos), as principais mudanças morfológicas referem-se à forma geral do corpo, particularmente alterações no tamanho e alinhamento dos espinhos. Sabe-se que estes espinhos, presentes nas formas larvais dos crustáceos, auxiliam no controle da flutuabilidade, da orientação gravitacional, na direção da natação e na prevenção da predação (Weldon, 1889; Foxon, 1934; Sulkin, 1984; Morgan, 1989). Dessa forma, irregularidades em tais estruturas poderiam prejudicar o desenvolvimento larval de *E. gonagra*, incluindo prováveis declínios populacionais.

Anomalias na morfologia da forma do corpo, durante o desenvolvimento larval, também foram relatadas em outros estudos: Kurihara *et al.* (2004b) verificaram profundas mudanças na formação do esqueleto, abaixo de pH 7,6, das larvas dos ouriços-do-mar *Hemicentrotus pulcherrimus* e *Echinometra mathaei*, sendo que em pH 6,8, as mesmas não possuíam braços, espículas, estomodeu e intestinos; Kurihara *et al.* (2008) observaram que a antena do camarão *Palaemon pacificus* era cerca de 3 vezes menor em comprimento quando estes eram expostos à acidificação por CO₂ (concentração de 1000 ppmv); Dupont *et al.* (2008) relataram altas taxas (>50%) de larvas anormais e assimétricas da estrela-do-mar *Ophiothrix fragilis* quando expostas a pequenas diminuições do pH (7,9 e 7,7); Gonzalez-Bernat *et al.* (2012) também verificaram anomalias durante o desenvolvimento larval da estrela-do-mar da Antártida *Odontaster validus* abaixo do pH 7,6. De acordo com Kurihara & Shirayama (2004), tais anomalias na morfologia podem comprometer o desempenho alimentar, a natação e, como consequência, a sobrevivência.

Entretanto, Pansch *et al.* (2012) relataram não observar diferenças morfológicas (sob microscopia de luz) em nenhum estágio (nauplius, cypris e indivíduos recém-assentados) do desenvolvimento da craca *Amphibalanus improvisus*, entre todos os tratamentos efetuados, o que indica que as espécies podem apresentar diferentes respostas sob condições estressantes de temperatura e acidez.

Em relação à morfologia ultraestrutural, as deformações morfológicas encontradas nos estágios de zoea de *E. gonagra*, tais como desgastes, corrosões e “ranhuras”,

principalmente nos tratamentos de menor pH (6,7), podem acarretar problemas secundários à larva, pois facilitam a perfuração da carapaça e possibilitam a entrada de patógenos (ciliados, por exemplo), causando infecções e consequentes diminuições das taxas de sobrevivência. Tais deformações morfológicas, ocorridas essencialmente nos tratamentos em pH 7,3 e 6,7, provavelmente se devem ao fato, como também sugerem Pistevos *et al.* (2011), de que as principais formas polimórficas do carbonato de cálcio (aragonita e calcita) estavam abaixo do ponto de saturação nestes valores de pH (ver Capítulo 1).

Considerando outros grupos de animais, Kipson *et al.* (2012) observaram, durante o desenvolvimento embrionário do coral *Paramuricea clavata*, anomalias na formação do estágio de blástula, com diferentes tamanhos dos blastômeros, quando foram expostas por 7 horas a estresse térmico (8°C acima da temperatura controle), sugerindo que mesmo exposições por curto espaço de tempo podem ser prejudiciais ao desenvolvimento embrionário. Para colônias do ectoprocto *Celleporella hyalina*, Pistevos *et al.* (2011) verificaram a presença de corrosões nas oviceles (em pH 7,6 e 7,3) e na borda de crescimento dos zooides (em pH 7,3), comparadas às superfícies lisas presentes nas mesmas estruturas do grupo controle (pH 8,1). Entre os equinodermos, Albright *et al.* (2012) demonstraram que os espinhos do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*, em ambiente com alta concentração de CO₂ (800 ppm; pH ~7,8), apresentavam as estrias longitudinais mais finas e desgastadas, e atribuíram o fato à alta solubilidade da forma precursora da calcita cristalina dos espinhos, o carbonato de cálcio amórfico (CCA), o qual é 30 vezes mais solúvel do que sua forma final (Politi *et al.*, 2004) em ambientes acidificados e insaturados para o carbonato de cálcio.

Entretanto, Langer *et al.* (2006) demonstraram que alterações do pH, como consequência tanto de altas concentrações de CO₂ (~900 ppm) quanto de baixas (~100 ppm), levam a deformações nas placas calcárias do cocolitoforídeo *Calcidiscus leptoporus*, mas não para o também cocolitoforídeo *Coccolithus pelagicus*. Dessa forma, nem sempre o estado de saturação do carbonato de cálcio pode interferir nos processos de calcificação; segundo estes autores, a provável explicação reside na grande diversidade genética de *C. pelagicus* que, devido ao ciclo de vida sexuado destes organismos, lhes garantem altas taxas de recombinação, culminando em cepas contendo diversos traços fisiológicos e genéticos, como também já demonstrado para *Emiliana huxleyi* (Paasche, 2002).

Resultados similares também foram obtidos por Clark *et al.* (2009), que avaliaram as ultraestruturas dos esqueletos da larva pluteus de *Evechinus chloroticus*, *Pseudechinus huttoni*, *Tripneustes gratilla* e *Sterechinus neumayeri* em baixos valores de pH

(respectivamente 7,7, 7,6, 7,8 e 7,5). Estes autores observaram que as duas primeiras espécies apresentaram perdas de integridade (corrosões) na superfície das hastes do esqueleto, enquanto que, nas duas últimas, não houve diferenças das mesmas estruturas em relação ao grupo controle, as quais apresentavam superfície lisa. As diversidades genéticas, tanto entre quanto dentro das espécies, podem possibilitar estas diferentes respostas à calcificação, e permitem que os organismos calcificadores prevaleçam em um ambiente com alta concentração de CO₂ e insaturado quanto à calcita e aragonita (Langer *et al.*, 2006).

De qualquer modo, as alterações morfológicas encontradas neste e nos demais estudos sugerem que, de fato, as futuras alterações climáticas oceânicas previstas podem causar danos, também, ao nível morfológico ultraestrutural na biota marinha.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstram que a variação da salinidade, o aumento da temperatura e a acidificação oceânica podem, de fato, exercer influência negativa sobre o desenvolvimento larval de *E. gonagra*, levando a diminuições da sobrevivência, pequenos aumentos no período de intermuda pela influência de baixos valores de pH e grandes diminuições do mesmo pela influência do aumento da temperatura, diminuições do crescimento e incremento de massa, manutenção ou aumento da incorporação de cálcio e magnésio pela diminuição do pH, além de grandes alterações morfológicas, inclusive ao nível ultraestrutural.

Entretanto, algumas considerações devem ser ressaltadas e os resultados interpretados com cautela. Primeiramente, os principais resultados que dependem diretamente de processos metabólicos podem ter sofrido influência do próprio tipo de alimentação fornecida às larvas. Os nauplii de *Artemia* utilizados também possuem exoesqueleto calcário e, da mesma forma que as demais larvas de crustáceos, são passíveis de sofrerem acidificação dos fluídos internos (acidose). Desta forma, podem ter ocorrido diferentes alterações no metabolismo e no consumo de suas reservas energéticas (influenciando sua qualidade nutricional) entre os tratamentos nos quais estes foram oferecidos como alimento, com possíveis prejuízos ao desenvolvimento larval de *E. gonagra*. Embora tenham sido realizadas limpezas diárias nos recipientes de criação e adição de novos nauplii recém-eclodidos, as perdas em massa decorrentes da própria taxa metabólica destes podem chegar a 20-30% em 24h e 25-28°C, com reduções de 27% do conteúdo energético por nauplius (Benijts *et al.*, 1975; Léger *et al.*, 1983, 1986; Sorgeloos

et al., 2001). No entanto, ainda são desconhecidas as possíveis influências da acidificação sobre as perdas nutricionais de nauplii de *Artemia* sp.; Salma *et al.* (2012) apenas verificaram que as taxas de eclosão de cistos de *Artemia salina* diminuíam com a diminuição do pH após 24h de incubação, o que indica que as alterações oceânicas podem exercer influências sobre o desenvolvimento desta espécie.

Em segundo lugar, é importante considerar as variações espaço-temporais diárias e sazonais dos fatores abióticos no ambiente oceânico. Várias observações têm demonstrado a existência de ciclos anuais naturais de pH, temperatura, salinidade, concentração de CO₂, entre outros (Hinga, 2002; Sarmiento & Gruber, 2006; Wootton *et al.*, 2008; Thomsen *et al.*, 2010; Kerrison *et al.*, 2011; Pansch *et al.*, 2012), com amplitudes do pH variando entre ~7,0 e ~8,5, como resultado dos variados níveis de produção biológica e temperaturas anuais. Dessa forma, tais variações podem amenizar os efeitos negativos observados por longos períodos de exposição a condições constantes e estressantes de acidez, temperatura e salinidade, às quais as larvas foram submetidas, quando tais efeitos forem correlacionados para o ambiente natural. No entanto, a escolha de se manter as condições laboratoriais constantes deve-se ao fato de ser a única forma de se averiguar os efeitos isolados de cada fator, além das prováveis sinergias entre eles, a cada pequena variação deste e por curtos espaços de tempo dentro de uma fase do ciclo de vida de *E. gonagra*.

Além disso, deve-se também considerar a capacidade migratória vertical das larvas em ambiente natural, como já discutido na seção *Comportamento*. Sulkin (1984) revisou a capacidade de submersão passiva na coluna d'água de várias espécies larvais de caranguejos, e verificou que esta variava entre 0,3 a 2,06 cm/s, conferindo uma grande capacidade de deslocamento vertical. Desse modo, as larvas podem buscar novas condições ambientais proporcionadas pela variabilidade natural, à medida que o ambiente torne-se prejudicial à homeostase. Contudo, estes novos deslocamentos verticais podem tanto trazer gastos adicionais de energia, com consequências negativas para o desenvolvimento larval em longo prazo (redução do crescimento, por exemplo), quanto levar a possíveis desencontros entre predador-presa específicos, durante as migrações alimentares realizadas pelos organismos planctônicos (Zaret & Suffern, 1976; Robertson & Howard, 1978).

E, como última ressalva, os resultados exibidos aqui indicam apenas a plasticidade fenotípica, garantida pelo atual estado da bagagem genética que *E. gonagra* apresenta, frente as bruscas e constantes mudanças de determinadas condições ambientais.

Pelo observado, os estágios de zoea de *E. gonagra* parecem suportar em termos de sobrevivência e crescimento em condições de laboratório, com pequeno ou nenhum prejuízo, as variações previstas apenas para o final deste século, porém não se pode prever quais seriam os impactos destas variações no restante do ciclo de vida desta espécie, a longo prazo e em termos de comportamento e interação com o ambiente natural. Espécies marinhas podem apresentar respostas evolucionárias adaptativas às mudanças climáticas (Byrne, 2011); estudos recentes têm demonstrado que algumas espécies podem se adaptar dentro de poucas décadas em resposta a fortes pressões seletivas (Stockwell *et al.*, 2003). No entanto, não se conhece o potencial evolutivo de *E. gonagra* e, considerando as relativamente longas gerações que esta e outras espécies marinhas apresentam (como crustáceos, equinodermos e bivalves), parece improvável que ocorram rápidas adaptações destes organismos comparadas à velocidade das alterações oceânicas atuais (Berteaux *et al.*, 2004; Kurihara, 2008). Segundo Dupont *et al.* (2008), não é necessário a morte instantânea dos indivíduos da população para atingir a extinção; mínimos declínios de 1% a cada geração podem levar populações animais a níveis insustentáveis em pouco mais de um século.

Estudos paleontológicos atuais têm demonstrado associações entre grandes extinções com eventos climáticos intensos. Durante o Máximo Térmico do Paleoceno-Eoceno (MTPE, PETM em inglês), estima-se que os níveis de CO₂ atmosférico aumentaram a uma taxa de 0,2Gt C/ano (gigatoneladas de carbono por ano) em pouco menos de 10 mil anos, causando a extinção de 35 a 50% das espécies de foraminíferos bentônicos (IPCC, 2001; Gibbs *et al.*, 2006), os quais são importantes organismos de base da cadeia alimentar. Arkhipkin & Laptikhovsky (2012) verificaram que dentre as 10 maiores extinções em massa de amonites e belemnites (moluscos cefalópodes) da história da Terra, pelo menos 8 delas (principalmente para os amonites) ocorreram durante eventos de acidificação oceânica, os quais poderiam ter prejudicado a fase larval planctônica destes animais, cujas delgadas paredes das conchas externas (amonites) e internas (belemnites) continham aragonita. Há, ainda, algumas hipóteses de que condições oceânicas estressantes, envolvendo combinações entre altas concentrações de sulfeto de hidrogênio (H₂S) e CO₂, além de aquecimento e hipóxia, teriam sido as causas primárias das grandes extinções observadas no final do Permiano (~250 milhões de anos) (Fraiser & Bottjer, 2007; Bottjer *et al.*, 2008; Clapham & Payne, 2011). Previsões atuais indicam que, até o ano 2400, a raça humana terá lançado, aproximadamente, 5.000Gt C na atmosfera desde o início da revolução industrial (Caldeira & Wicket, 2003; Zachos *et al.*, 2008), equivalente

a uma taxa de $\sim 7,7\text{Gt C/ano}$ (cerca de 40 vezes a taxa calculada para o intervalo MTPE). Tais previsões poderiam levar os organismos marinhos atuais a enfrentar os mesmos (ou piores) efeitos sinérgicos de múltiplos estressores, que teriam causado os vários eventos de extinção passados (Clapham & Payne, 2011).

Dessa forma, estudos que avaliem todas as fases de vida dos organismos a curto e, principalmente, longo prazo, combinando resultados de laboratório com estudos manipulativos ou observacionais conduzidos em ambiente natural, são de extrema importância para prover uma visão mais holística dos impactos destas sem precedentes mudanças climáticas (Godbold & Calosi, 2013).

Referências

- Albright, R.; Bland, C.; Gillette, P.; Serafy, J.E.; Langdon, C. & Capo, T.R. 2012. Juvenile growth of the tropical sea urchin *Lytechinus variegatus* exposed to near-future ocean acidification scenarios. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 426-427: 12-17.
- Anger, K. 1991. Effects of temperature and salinity on the larval development of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (Decapoda: Grapsidae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 72: 103-110.
- Anger, K. 2001. *The Biology of Decapod Crustacean Larvae. Crustacean Issues, Volume 14*. The Netherlands: A.A. Balkema Publishers, 419 p.
- Anger, K.; Harms, J.; Montú, M. & de Bakker, C. 1990. Effects of salinity on the larval development of a semiterrestrial tropical crab, *Sesarma angustipes* (Decapoda: Grapsidae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 62: 89-94.
- Anlauf, H.; D'Croz, L. & O'Dea, A. 2011. A corrosive concoction: The combined effects of ocean warming and acidification on the early growth of a stony coral are multiplicative. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 397: 13-20.
- Arkhipkin, A.I. & Laptikhovsky, V.V. 2012. Impact of ocean acidification on plankton larvae as a cause of mass extinctions in ammonites and belemnites. *N. Jb. Geol. Paläont. Abh.*, 266(1): 39-50.
- Arnold, K.E.; Findlay, H.S.; Spicer, J.I.; Daniels, C.L. & Boothroyd, D. 2009. Effect of CO₂-related acidification on aspects of the larval development of the European lobster, *Homarus gammarus* (L.). *Biogeosciences Discuss.*, 6: 3087-3107.
- Bamber, R.N. 1990. The effects of acidic seawater on three species of lamellibranch mollusks. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 143: 181-191.
- Barría, E.M.; Jara, C.G. & Paschke, K.A. 2005. La temperatura como factor de variabilidad en el desarrollo y morfología de larvas zoeas de *Acanthocycilus hassleri* Rathbun (Decapoda, Brachyura, Atelecyclidae) cultivadas en laboratorio. *Invest. Mar.*, 33(1): 25-41.
- Barry, J.P.; Buck, K.R.; Lovera, C.; Kuhnz, L. & Whaling, P.J. 2005. Utility of deep sea CO₂ release experiments in understanding the biology of a high-CO₂ ocean: effects of hypercapnia on deep sea meiofauna. *J. Geophys. Res.*, 110: C09S12.
- Benijts, F.; Van Voorden, E. & Sorgeloos, P. 1975. Changes in the biochemical composition of the early larval stages of the brine shrimp, *Artemia salina* L. In: Persoone, G. & Jaspers, E. (Eds.), *Proceedings of the 10th European Symposium on*

- Marine Biology. Research in Mariculture at Laboratory and Pilot Scale, vol. 1. Universa Press, Wetteren, pp. 1-9.
- Benner, I.; Diner, R.E.; Lefebvre, S.C.; Li, D.; Komada, T.; Carpenter, E.J. & Stillman, J.H. 2013. *Emiliania huxleyi* increases calcification but not expression of calcification-related genes in long-term exposure to elevated temperature and pCO₂. Phil. Trans. R. Soc. B, 368(1627): 20130049.
- Berge, J.A.; Bjerkeng, B.; Pettersen, O.; Schaanning, M.T. & Øxnevad, S. 2005. Effects of increased sea water concentrations of CO₂ on growth of the bivalve *Mytilus edulis* L. Chemosphere, 62(4): 681-687.
- Berteaux, D.; Réale, D.; McAdam, A.G. & Boutin, S. 2004. Keeping pace with fast climate change: Can arctic life count on evolution?. Integr. Comp. Biol., 44: 140-151.
- Bertini, G.; Fransozo, A. & Costa, R.C. 2001. Ecological distribution of three species of *Persephona* (Brachyura: Leucosiidae) in the Ubatuba region, São Paulo, Brazil. Nauplius, 9(1): 31-42.
- Bibby, R.; Cleall-Harding, P.; Rundle, S.D.; Widdicombe, S. & Spicer, J.I. 2007. Ocean acidification induced defenses in the intertidal gastropod *Littorina littorea*, Biol. Lett., 3: 699-701.
- Bibby, R.; Widdicombe, S.; Parry, H.; Spicer, J. & Pipe, R. 2008. Effects of ocean acidification on the immune response of the blue mussel *Mytilus edulis*, Aquat. Biol., 2: 67-74.
- Blackford, J.C.; Jones, N.; Proctor, R. & Holt, J. 2008. Regional scale impacts of distinct CO₂ additions in the North Sea. Mar. Pollut. Bull., 56: 1461-1468.
- Boßelmann, F.; Romano, P.; Fabritius, H.; Raabe, D. & Eppe, M. 2007. The composition of the exoskeleton of two Crustacea: the American lobster *Homarus americanus* and the edible crab *Cancer pagurus*. Thermochim. Acta, 463: 65-68.
- Bottjer, D.J.; Clapham, M.E.; Fraiser, M.L. & Powers, C.M. 2008. Understanding mechanisms for the end-Permian mass extinction and the protracted Early Triassic aftermath and recovery. GSA Today, 18(9): 4-10.
- Byrne, M. 2011. Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev., 49: 1-42.
- Byrne, M., Ho, M.A., Wong, E., Soars, N., Selvakumaraswamy, P., Sheppard Brennand, H., Dworjanyn, S.A. & Davis, A.R. 2011b. Unshelled abalone and corrupted urchins, development of marine calcifiers in a changing ocean. Proc. Roy. Soc. B, 278(1716):

2376-2383.

- Byrne, M., Selvakumaraswamy, P., Ho, M.A. & Nguyen, H.D. 2011a. Sea urchin development in a global change hot spot, potential for southerly migration of thermotolerant propagules. *Deep-Sea Res. Pt. II*, 58: 712-719.
- Caldeira, K. & Wickett, M.E. 2003. Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425: 365.
- Cameron, J.N. 1989. Acid-base homeostasis: past and present perspectives. *Physiol. Zool.*, 62: 845-865.
- Carter, H.A.; Ceballos-Osuna, L.; Miller, N.A. & Stillman, J.H. 2013. Impact of ocean acidification on metabolism and energetics during early life stages of the intertidal porcelain crab *Petrolisthes cinctipes*. *J. Exp. Biol.*, 216(8): 1412-1422.
- Chan, K.Y.K. & Grünbaum, D. 2010. Temperature and diet modified swimming behaviors of larval sand dollar. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 415: 49-59.
- Chan, K.Y.K.; Grünbaum, D. & O'Donnell, M.J. 2011. Effects of ocean-acidification-induced morphological changes on larval swimming and feeding. *J. Exp. Biol.*, 214(22): 3857-3867.
- Chan, K.Y.K.; Grünbaum, D.; Arnberg, M.; Thorndyke, M. & Dupont, S.T. 2012. Ocean acidification induces budding in larval sea urchins. *Mar. Biol.*, 160(8): 2129-2135.
- Clapham, M.E. & Payne, J.L. 2011. Acidification, anoxia, and extinction: A multiple logistic regression analysis of extinction selectivity during the Middle and Late Permian. *Geology*, 39(11): 1059-1062.
- Clark, D.; Lamare, M. & Barker, M. 2009. Response of sea urchin pluteus larvae (Echinodermata: Echinoidea) to reduced seawater pH: a comparison among a tropical, temperate, and a polar species. *Mar. Biol.*, 156(6): 1125-1137.
- Costa, T.M & Negreiros-Fransozo, M.L. 1998. The reproductive cycle of *Callinectes danae* Smith, 1869 (Decapoda, Portunidae) in the Ubatuba region, Brazil. *Crustaceana*, 71(6): 615-627.
- Costlow, J.D. & Bookhout, C.G. 1962. The larval development of *Hepatus epheliticus* (L.) under laboratory conditions. *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.*, 78: 113-125.
- Costlow, J.D.; Bookhout, C.G. & Monroe, R. 1960. The effect of salinity and temperature on larval development of *Sesarma cinereum* (Bosc) reared in the laboratory. *Biol. Bull.*, 118: 183-202.
- Costlow, J.D.; Bookhout, C.G. & Monroe, R. 1962. Salinity-temperature effects on the larval development of the crab, *Panopeus herbstii* Milne-Edwards, reared in the

- laboratory. *Physiol. Zool.*, 35: 79-93.
- Costlow, J.D.; Bookhout, C.G. & Monroe, R. 1966. Studies on the larval development of the crab, *Rhithropanopeus harrissi* (Gould). I. The effect of salinity and temperature on larval development. *Physiol. Zool.*, 34: 81-100.
- Crim, R.N.; Sunday, J.M.; Harley, C.D.G. 2011. Elevated seawater CO₂ concentrations impair larval development and reduce larval survival in endangered northern abalone (*Haliotis kamtschatkana*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 400: 272-277.
- Cumbo, V.R.; Fan, T.Y. & Edmunds, P.J. 2012. Effects of exposure duration on the response of *Pocillopora damicornis* larvae to elevated temperature and high pCO₂. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 439: 100-107.
- Curi, P.R. & Moraes, R.V. 1981. Associação, homogeneidade e contrastes entre proporções em tabelas contendo distribuições multinomiais. *Ciênc. Cult.*, 33(5): 712-722.
- Dupont, S.; Havenhand, J.; Thorndyke, W.; Peck, L. & Thorndyke, M. 2008. Near-future level of CO₂ – driven ocean acidification radically affects larval survival and development in the brittlestar *Ophiothrix fragilis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 373: 285-294.
- Egilsdottir, H.; Spicer, J.I. & Rundle, S.D. 2009. The effect of CO₂ acidified sea water and reduced salinity on aspects of the embryonic development of the amphipod, *Echinogammarus marinus* (Leach). *Mar. Pollut. Bull.*, 58(8): 1187-1191.
- Ellis, R.P.; Bersey, J.; Rundle, S.D.; Hall-Spencer, J.M. & Spicer, J.I. 2009. Subtle but significant effects of CO₂ acidified sea water on embryos of the intertidal snail *Littorina obtusata*. *Aquat. Biol.*, 5: 41-48.
- Feely, R.A.; Sabine, C.L.; Lee, K.; Berelson, W.; Kleypas, J.; Fabry, V.J. & Millero, F.J. 2004. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the ocean. *Science*, 305: 362-366.
- Findlay, H.S.; Kendall, M.A.; Spicer, J.I. & Widdicombe, S. 2009. Future high CO₂ in the intertidal may compromise adult barnacle (*Semibalanus balanoides*) survival and embryo development rate. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 389: 193-202.
- Findlay, H.S.; Kendall, M.A.; Spicer, J.I. & Widdicombe, S. 2010. Post-larval development of two intertidal barnacles at elevated CO₂ and temperature. *Mar. Biol.*, 157(4): 725-735.
- Findlay, H.S.; Wood, H.L.; Kendall, M.A.; Spicer, J.I.; Twitchett, R.J. & Widdicombe, S. 2011. Comparing the impact of high CO₂ on calcium carbonate structures in different

- marine organisms. *Mar. Biol. Res.*, 7(6): 565-575.
- Fitzer, S.C.; Caldwell, G.S.; Close, A.J.; Clare, A.S.; Upstill-Goddard, R.C. & Bentley, M.G. 2012. Ocean acidification induces multi-generational decline in copepod naupliar production with possible conflict for reproductive resource allocation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 418: 30-36.
- Foxon, G.E.H. 1934. Notes on the swimming methods and habits of certain crustacean larvae. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 19(2): 829-849.
- Fraiser, M.L. & Bottjer, D.J. 2007. Elevated atmospheric CO₂ and the delayed biotic recovery from the end-Permian mass extinction. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol.*, 252(1): 164-175.
- Fransozo, A. & Negreiros-Fransozo, M.L. 1986. Influência da salinidade no desenvolvimento larval de *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781) e *Sesarma (Holometopus) rectum* Randall, 1840 (Crustacea, Decapoda) em laboratório. *Rev. Brasil. Biol.*, 46(2): 439-446.
- Fransozo, A. 1987. Desenvolvimento larval de *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781) (Decapoda, Xanthidae) em laboratório. *Revta. Bras. Zool.*, 4(3): 165-179.
- Frommel, A.Y.; Schubert, A.; Piatkowski, U. & Clemmesen, C. 2012. Egg and early larval stages of Baltic cod, *Gadus morhua*, are robust to high levels of ocean acidification. *Mar. Biol.*, 160: 1825-1834.
- Gao, K.; Ruan, Z.; Villafañe, V.E.; Gattuso, J.-P. & Helbling, E.W. 2009. Ocean acidification exacerbates the effect of UV radiation on the calcifying phytoplankter *Emiliania huxleyi*. *Limnol. Oceanogr.*, 54(6): 1855-1862.
- Gazeau, F.; Quiblier, C.; Jansen, J.M.; Gattuso, J.P.; Middelburg, J.J. & Heip, C.H.R. 2007. Impact of elevated CO₂ on shellfish calcification. *Geophys. Res. Lett.*, 34: L07603.
- Gibbs, S.J.; Bown, P.R.; Sessa, J.A.; Bralower, T.J. & Wilson, P.A. 2006. Nanoplankton extinction and origination across the Paleocene-Eocene Thermal Maximum. *Science*, 314: 1770-1773.
- Gobler, C.J. & Talmage, S.C. 2012. Short and long term consequences of larval stage exposure to constantly and ephemerally elevated carbon dioxide for marine bivalve populations. *Biogeosciences Discuss.*, 9: 15901-15936.
- Godbold, J.A. & Calosi, P. 2013. Ocean acidification and climate change: advances in ecology and evolution. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 368: 20120448.
- Góes, J.M.; Fransozo, A. & Fernandes-Góes, L.C. 2005. Fecundity of *Eriphia gonagra*

- (Fabricius, 1781) (Crustacea, Brachyura, Xanthidae) in the Ubatuba Region, São Paulo, Brazil. *Nauplius*, 13(2): 127-136.
- Gonzalez-Bernat, M.J.; Lamare, M. & Barker, M. 2012. Effects of reduced seawater pH on fertilisation, embryogenesis and larval development in the Antarctic seastar *Odontaster validus*. *Polar Biol.*, 36(2): 235-247.
- Greenaway, P. 1985. Calcium balance and moulting in the Crustacea. *Biol. Rev.*, 60: 425-454.
- Harms, J. 1986. Effects of temperature and salinity on larval development of *Elminius modestus* (Crustacea, Cirripedia) from Helgoland (North Sea) and New Zealand. *Helgoländer Meeresun.*, 40(4): 355-376.
- Hauton, C.; Tyrrell, T. & Williams, J. 2009. The subtle effects of sea water acidification on the amphipod *Gammarus locusta*. *Biogeosciences*, 6(8): 1479-1489.
- Havenhand, J.; Buttler, F.-R.; Thorndyke, M.C. & Williamson, J.E. 2008. Near-future levels of ocean acidification reduce fertilization success in a sea urchin. *Curr. Biol.*, 18: R651–R652.
- Hinga, K.R. 2002. Effects of pH on coastal marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 238: 281-300.
- Holman, J.D.; Burnett, K.G. & Burnett, L.E. 2004. Effects of hypercapnic hypoxia on the clearance of *Vibrio campbellii* in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Mass.*, 206: 188-196.
- Iglesias-Rodriguez, M.D.; Halloran, P.R.; Rickaby, R.E.M.; Hall, I.R.; Colmenero-Hidalgo, E.; Gittins, J.R.; Green, D.R.H.; Tyrrell, T.; Gibbs, S.J.; von Dassow, P.; Rehm, E.; Armbrust, E.V. & Boessenkool, K.P. 2008. Phytoplankton calcification in a high-CO₂ world. *Science*, 320: 336-340.
- IPCC, 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Houghton, J.T.; Ding, Y.; Griggs, D.J.; Noguer, M.; van der Linden, P.J.; Dai, X.; Maskell, K. & Johnson, C.A. (Eds.), Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 881p.
- IPCC, 2007a. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Parry, M.L.; Canziani, O.F.; Palutikof, J.P.; van der Linden, P.J. & Hanson, C.E. (Eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, 976p.

- IPCC, 2007b. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M.; Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.B.; Tignor, M. & Miller, H.L. (Eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 996p.
- Ishimatsu, A.; Kikkawa, T.; Hayashi, M.; Lee, K.S. & Kita, J. 2004. Effects of CO₂ on marine fish: larvae and adults. *J. Oceanogr.*, 60: 731-741.
- Ismael, D., Anger, K. & Moreira, G.S. 1997. Influence of temperature on larval survival, development, and respiration in *Chasmagnathus granulata* (Crustacea, Decapoda). *Helgoländer. Meeresunters.*, 51: 463-475.
- Keppel, E.A.; Scrosati, R.A. & Courtenay, S.C. 2012. Ocean acidification decreases growth and development in American lobster (*Homarus americanus*) larvae. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 44: 61-66.
- Kerrison, P.; Hall-Spencer, J.M.; Suggett, D.J.; Hepburn, L.J. & Steinke, M. 2011. Assessment of pH variability at a coastal CO₂ vent for ocean acidification studies. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, 94(2): 129-137.
- Kikkawa, T.; Ishimatsu, A. & Kita, J. 2003. Acute CO₂ tolerance during the early developmental stages of four marine teleosts. *Environ. Toxicol.*, 18: 375-382.
- Kipson, S.; Linares, C.; Teixidó, N.; Bakran-Petricioli, T. & Garrabou, J. 2012. Effects of thermal stress on early developmental stages of a gorgonian coral. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 470: 69-78.
- Kleypas, J.A.; Feely, R.A.; Fabry, V.J.; Langdon, C.; Sabine, C.L. & Robbins, L.L. 2006. Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: a guide for future research. Report of a workshop held 18–20 April 2005, St. Petersburg, FL, sponsored by NSF, NOAA, and the US Geological Survey.
- Knutzen, J. 1981. Effects of decreased pH on marine organisms. *Mar. Pollut. Bull.*, 12(1): 25-29.
- Kurihara, H. & Shirayam, Y. 2004. Effects of increased atmospheric CO₂ on sea urchin early development. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 274: 161-169.
- Kurihara, H. 2008. Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 373: 275-284.
- Kurihara, H.; Matsui, M.; Furukawa, H.; Hayashi, M. & Ishimatsu, A. 2008. Long-term effects of predicted future seawater CO₂ conditions on the survival and growth of the marine shrimp *Palaemon pacificus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 367(1): 41-46.

- Kurihara, H.; Shimode, S. & Shirayama, Y. 2004a. Effects of raised CO₂ concentration on the egg production rate and early development of two marine copepods (*Arctia steuri* and *Acartia erythraea*). Mar. Pollut. Bull., 49: 721-727.
- Kurihara, H.; Shimode, S. & Shirayama, Y. 2004b. Sub-lethal effects of elevated concentration of CO₂ on planktonic copepods and sea urchins. J. Oceanogr., 60: 743-750.
- Langer, G.; Geisen, M.; Baumann, K.-H.; Kläs, J.; Riebesell, U.; Thoms, S. & Young J.R. 2006. Species-specific responses of calcifying algae to changing seawater carbonate chemistry. Geochem. Geophys. Geosyst., 7(9): Q09006.
- Lárez, M.B.; Palazón-Fernández, J.L. & Bolaños, C.J. 2000. The effect of salinity and temperature on the larval development of *Mithrax caribbaeus* Rathbun, 1920 (Brachyura, Majidae) reared in the laboratory. J. Plank. Res., 22(10): 1855-1869.
- LaVigne, M.; Hill, T.M.; Sanford, E.; Gaylord, B.; Russel, A.D.; Lenz, E.A.; Hosfelt, J.D. & Young, M.K. 2012. Effects of increased *p*CO₂ and geographic origin on purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) calcite elemental composition. Biogeosciences Discuss., 9: 17939-17973.
- Léger, P.; Bengtson, D.A.; Simpson, K.L. & Sorgeloos, P. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. Oceanogr. Mar. Biol., 24: 521-623.
- Léger, P.; Vanhaecke, P. & Sorgeloos, P. 1983. International study on *Artemia* XXIV. Cold storage of live *Artemia* nauplii from various geographical sources: Potentials and limits in aquaculture. Aquacult. Eng., 2(1): 69-78.
- Li, H.Y. & Hong, S.Y. 2007. The effect of temperature and salinity on survival and growth of *Crangon uritai* (Decapoda: Crangonidae) larvae reared in the laboratory. Mar. Ecol., 28: 288-295.
- Long, W.C.; Swiney, K.M.; Harris, C.; Page, H.N. & Foy, R.J. 2013. Effects of Ocean Acidification on Juvenile Red King Crab (*Paralithodes camtschaticus*) and Tanner Crab (*Chionoecetes bairdi*) Growth, Condition, Calcification, and Survival. PloS one, 8(4): e60959.
- Luppi, T.A., Bas, C.C. & Spivak, E.D. 2003. The effect of temperature and salinity on larval development of *Armases rubripes* Rathbun, 1897 (Brachyura, Grapsoidea, Sesamidae), and the southern limit of its geographical distribution. Estuar. Coast. Shelf Sci., 58: 575-585.
- McDonald, M.R.; McClintock, J.B.; Amsler, C.D.; Rittschof, D.; Angus, R.A.; Orihuela, B. & Lutostanski, K. 2009. Effects of ocean acidification over the life history of the

- barnacle *Amphibalanus amphitrite*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 385: 179-187.
- Melo, G.A.S. 1996. *Manual de Identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do Litoral Brasileiro*. 1.ed., São Paulo: Plêiade/FAPESP, 603p.
- Metzger, R.; Sartoris, F.J.; Langenbuch, M. & Pörtner, H.O. 2007. Influence of elevated CO₂ concentrations on thermal tolerance of the edible crab *Cancer pagurus*. J. Therm. Biol., 32: 144-151.
- Michaelidis, B.; Ouzounis, C.; Paleras, A. & Pörtner, H.O. 2005. Effects of long-term moderate hypercapnia on acid-base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 293(2): 109-118.
- Morgan, S.G. 1989. Adaptive significance of spination in estuarine crab zoeae. Ecology, 70(2): 464-482.
- Moulin, L.; Catarino, A.I.; Claessens, T. & Dubois, P. 2011. Effects of seawater acidification on early development of the intertidal sea urchin *Paracentrotus lividus* (Lamarck 1816). Mar. Pollut. Bull., 62(1): 48-54.
- Munday, P.L.; Hernaman, V.; Dixon, D.L.; Thorrold, S.R. 2011. Effect of ocean acidification on otolith development in larvae of a tropical marine fish. Biogeosciences, 8: 1631-1641.
- Nakamura, M., Ohki, S., Suzuki, A. & Sakai, K. 2011. Coral larvae under ocean acidification: survival, metabolism and metamorphosis. PLoSOne, 6: e14521.
- Negreiros-Fransozo, M.L. & Fransozo, A. 1990. The effect of salinity on the post-embryonic development of *Panopeus americanus* Saussure, 1857 and *Eurypanopeus abbreviatus* (Stimpson, 1859) (Crustacea, Xanthidae). Atlântica, 12(2): 95-104.
- Ng, P.K.L.; Guinot, D. & Davie, P.J.F. 2008. Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant Brachyuran crabs of the world. Raffles Bull. Zool., 17: 1-286.
- Nguyen, H.D.; Doo, S.S.; Soars, N.A. & Byrne, M. 2012. Noncalcifying larvae in a changing ocean: warming, not acidification/hypercapnia, is the dominant stressor on development of the sea star *Meridiastra calcar*. Glob. Change Biol., 18: 2466-2476.
- Nurdiani, R. & Zeng, C. 2007. Effects of temperature and salinity on the survival and development of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskål), larvae. Aquac. Res., 38: 1529-1538.
- Paasche, E. 2002. A review of the coccolithophorid *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae), with particular reference to growth, coccolith formation, and calcification-photosynthesis interactions. Phycologia, 40: 503-529.
- Pansch, C.; Nasrolahi, A.; Appelhans, Y.S. & Wahl, M. 2012. Impacts of ocean warming

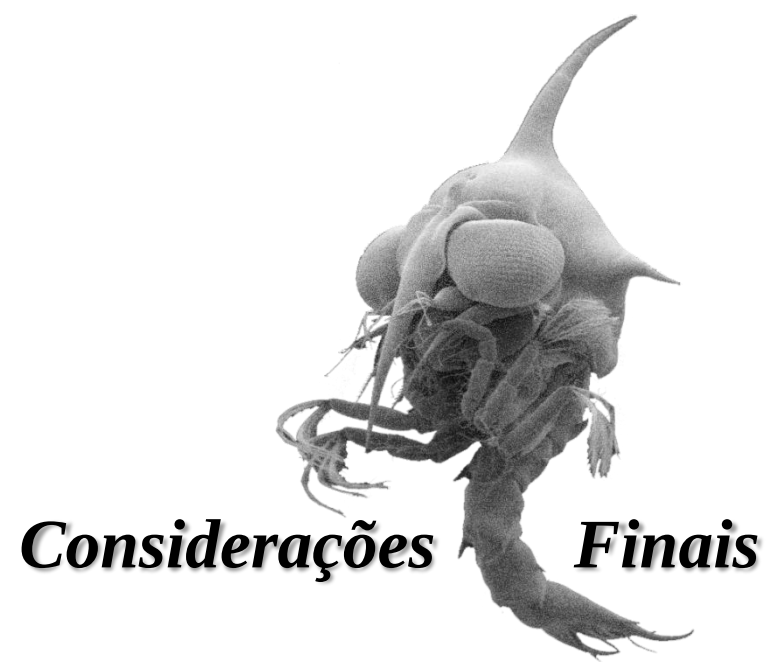
- and acidification on the larval development of the barnacle *Amphibalanus improvisus*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 420-421: 48-55.
- Paradis, A.R.; Pepin, P. & Brown, J.A. 1996. Vulnerability of fish eggs and larvae to predation: review of the influence of the relative size of prey and predator. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 53(6): 1226-1235.
- Parker, L.M.; Ross, P.M.; O'Connor, W.A.; Borysko, L.; Raftos, D.A. & Pörtner, H.O. 2012. Adult exposure influences offspring response to ocean acidification in oysters. Glob. Change Biol., 18: 82-92.
- Paula, J.; Mendes, R.N.; Mwaluma, J.; Raedig, C. & Emmerson, W. 2003. Combined Effects of Temperature and Salinity on Larval Development of the Mangrove Crab *Parasesarma catenata* Ortmann, 1897 (Brachyura: Sesarmidae). J. Mar. Sci., 2(1): 57-63.
- Pinheiro, M.A.A.; Fransozo, A. & Negreiros-Fransozo, M.L. 1994. Estimativa da duração larval em função da temperatura para a família Majidae (Crustacea, Decapoda, Brachyura). Bol. Inst. Pesca, 21: 75-81.
- Pirtle, J.L.; Eckert, G.L. & Stoner, A.W. 2012. Habitat structure influences the survival and predator-prey interactions of early juvenile red king crab *Paralithodes camtschaticus*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 465: 169-184.
- Pistevos, J.C.; Calosi, P.; Widdicombe, S. & Bishop, J.D. 2011. Will variation among genetic individuals influence species responses to global climate change?. Oikos, 120(5): 675-689.
- Politi, Y.; Arad, T.; Klein, E.; Weiner, S. & Addadi, L. 2004. Sea urchin spine calcite forms via a transient amorphous calcium carbonate phase. Science, 306: 1161-1164.
- Raven, J.; Caldeira, K.; Elderfield, H.; Hoegh-Guldberg, O.; Liss, P.; Riebesell, U.; Shepherd, J.; Turley, C. & Watson, A. 2005. *Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide*. The Royal Society policy document 12/05, Clyvedon Press, Cardiff, 68p.
- Riebesell, U.; Zondervan, I.; Rost, B.; Tortell, P.D.; Zeebe, R. & Morel, F.M.M. 2000. Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. Nature, 407: 364-367.
- Ries, J.B.; Cohen, A.L. & McCorkle, D.C. 2009. Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. Geology, 37(12): 1131-1134.
- Robertson, A.I. & Howard, R.K. 1978. Diel trophic interactions between vertically-migrating zooplankton and their fish predators in an eelgrass community. Mar. Biol.,

48(3): 207-213.

- Salma, U.; Uddowla, Md.H.; Lee, G.; Yeo, Y. & Kim, H.W. 2012. Effects of pH Change by CO₂ Induction and Salinity on the Hatching Rate of *Artemia franciscana*. Fish. Aquat. Sci., 15(2): 177-181.
- Sarmiento, J.L. & Gruber, N. 2006. *Ocean biogeochemical dynamics*, vol. 1015. Princeton: Princeton University Press., 528 p.
- Sciandra, A.; Harlay, J.; Lefèvre, D.; Lemée, R.; Rimmelin, P.; Denis, M. & Gattuso, J.P. 2003. Response of coccolithophorid *Emiliana huxleyi* to elevated partial pressure of CO₂ under nitrogen limitation. Mar. Ecol. Prog. Ser., 261: 111-122.
- Silva, L.S.; Miranda, L.B. & Castro-Filho, B.M. 2004. Estudo numérico da circulação e da estrutura termohalina na região adjacente à ilha de São Sebastião (SP). Rev. Bras. Geofis., 22(3): 197-221.
- Simith, D.J.B. & Diele, K. 2008. O efeito da salinidade no desenvolvimento larval do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda: Ocypodidae) no Norte do Brasil. Acta Amazon., 38(2): 345-350.
- Slobodkin, L.B. & Rapoport, A. 1974. An optimal strategy of evolution. Q. Rev. Biol., 49(3): 181-200.
- Sorgeloos, P.; Dhert, P. & Candreva, P. 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. Aquaculture, 200(1): 147-159.
- Spaargaren, D.H. 1979. Hydrodynamic properties of benthic marine crustacea. I. Specific gravity and drag coefficients. Mar. Ecol. Prog. Ser., 1: 351-359.
- Spicer, J.I.; Raffo, A. & Widdicombe, S. 2007. Influence of CO₂-related seawater acidification on extracellular acid-base balance in the velvet swimming crab *Necora puber*. Mar. Biol., 151: 1117-1125.
- Stockwell, C.A.; Hendry, A.P. & Kinnison, M.T. 2003. Contemporary evolution meets conservation biology. Trends Ecol. Evol., 18: 94-101.
- Sulkin, S.D. 1984. Behavioral basis of depth regulation in the larvae of brachyuran crabs. Mar. Ecol. Prog. Ser., 15(1): 181-205.
- Sulkin, S.D.; Mojica, E. & McKeen, G.L. 1996. Elevated summer temperature effects on megalopal and early juvenile development in the Dungeness crab, *Cancer magister*. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 53: 2076-2079.
- Thomsen, J.; Gutowska, M.E.; Saphörster, J.; Heinemann, A.; Trübenbach, K.; Fietzke, J.; Hiebenthal, C.; Eisenhauer, A.; Körtzinger, A.; Wahl, M. & Melzner, F. 2010. Calcifying invertebrates succeed in a naturally CO₂-rich coastal habitat but are

- threatened by high levels of future acidification. *Biogeosciences*, 7: 3879-3891.
- Troedsson, C.; Bouquet, J.-M.; Lobon, C.M.; Novac, A.; Nejstgaard, J.C.; Dupont, S.; Bosak, S.; Jakobsen, H.H.; Romanova, N.; Pankoke, L.M.; Isla, A.; Dutz, J.; Sazhin, A.F. & Thompson, E.M. 2012. Effects of ocean acidification, temperature and nutrient regimes on the appendicularian *Oikopleura dioica*: a mesocosm study. *Mar. Biol.*, 160(8): 2175-2187.
- Valdés, L.; Peterson, W.; Church, K. & Marcos, M. 2009. Our changing oceans: conclusions of the first International Symposium on the Effects of climate change on the world's oceans. *ICES J. Mar. Sci.*, 66: 1435-1438.
- Vinuesa, J.H.; Ferrari, L. & Lombardo, R.J. 1985. Effect of temperature and salinity on larval development of southern king crab (*Lithodes antarcticus*). *Mar. Biol.*, 85: 83-87.
- Walther, K.; Anger, K. & Pörtner, H.O. 2010. Effects of ocean acidification and warming on the larval development of the spider crab *Hyas araneus* from different latitudes (54° vs. 79° N). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 417: 159-170.
- Walther, K.; Sarotis, F.J.; Bock, C. & Pörtner, H.O. 2009. Impact of anthropogenic ocean acidification on thermal tolerance of the spider crab *Hyas araneus*. *Biogeosciences Discuss.*, 6: 2207-2215.
- Walther, K.; Sartoris, F.J. & Pörtner, H.O. 2011. Impacts of temperature and acidification on larval calcium incorporation of the spider crab *Hyas araneus* from different latitudes (54° vs. 79°N). *Mar. Biol.*, 158: 2043-2053.
- Weldon, W.F.R. 1889. Notes on the function of the spine of the crustacean zoeae. *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, 1: 169-171.
- Wheatly, M.G. & Henry, R.P. 1992. Extracellular and intracellular acid-base regulation in crustaceans. *J. Exp. Zool.*, 263: 127-142.
- Widdicombe, S. & Spicer, J.I. 2008. Predicting the impact of ocean acidification on benthic biodiversity: What can animal physiology tell us?. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 366: 187-197.
- Wolfe, K.; Smith, A.M.; Trimby, P. & Byrne, M. 2012. Vulnerability of the Paper Nautilus (*Argonauta nodosa*) shell to a climate-change ocean: potential for extinction by dissolution. *Biol. Bull.*, 223(2): 236-244.
- Wood, H.L.; Spicer, J.I. & Widdicombe, S. 2008. Ocean acidification may increase calcification, but at a cost. *Proc. Roy. Soc. B.*, 275: 1767-1773.
- Wootton, J.T.; Pfister, C.A. & Forester, J.D. 2008. Dynamic patterns and ecological

- impacts of declining ocean pH in a high-resolution multi-year dataset. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105: 18848-18853.
- Zachos, J.C.; Dickens, G.R. & Zeebe, R.E. 2008. An early Cenozoic perspective on greenhouse warming and carbon cycle dynamics. *Nature*, 451: 279-283.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical Analysis*, 3rd Edition. New Jersey: Prentice-Hall, 915 p.
- Zaret, T.M. & Suffern, J.S. 1976. Vertical migration in zooplankton as a predator avoidance mechanism. *Limnol. Oceanogr*, 21(6): 804-813.
- Zondervan, I.; Rost, B. & Riebesell, U. 2002. Effect of CO₂ concentration on the PIC/POC ratio in the coccolithophore *Emiliania huxleyi* grown under light-limiting conditions and different day lengths, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 272: 55-70.



Considerações Finais

A temática das alterações climáticas ganhou grande destaque nos últimos anos, sendo que a imensa maioria dos trabalhos relacionados foi publicada na última década. Dessa forma, há uma grande carência de informações, frente ao grande número de espécies e aos diversos aspectos biológicos e fisiológicos que podem ser influenciados pelas alterações previstas.

Nas últimas décadas temos observado com frequência a ocorrência de eventos climáticos extremos (tempestades, nevascas, secas, furacões etc). Considerando que estes estão relacionados às alterações climáticas (por influência antrópica), e que a espécie humana dificilmente reduzirá suas atividades (principalmente pela grande dependência da tecnologia atual), podemos esperar, cada vez mais, novos episódios de tais eventos, com grande possibilidade de prejudicar toda a biota da Terra.

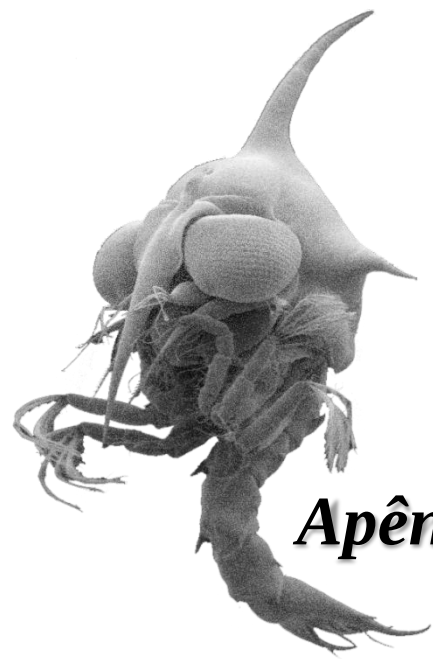
E de que maneira os seres vivos poderiam ser prejudicados? Alguns organismos seriam mais afetados do que outros? Questões como estas destacam a grande importância de se realizar estudos manipulativos, principalmente, em laboratório (como o realizado nesta tese).

Considerando o ambiente marinho, uma das grandes mudanças previstas é a acidificação oceânica, o que resultou essencialmente na escolha, por parte dos pesquisadores, de organismos calcificadores para a realização dos trabalhos. Do mesmo modo, na maioria dos trabalhos, os principais aspectos estudados envolvem o desenvolvimento individual (crescimento, sobrevivência, duração de fases do ciclo de vida, fecundidade e fertilidade, conteúdo mineral etc) de organismos adultos. Além disso, poucos são os trabalhos que realizam experimentos com manipulação de mais de um fator ambiental.

Assim sendo, vários aspectos biológicos precisam de maiores análises, e muitas perguntas ainda restam: entre os organismos não calcificadores, quais seriam os impactos fisiológicos (metabolismo, por exemplo)? Os comportamentos complexos e interações entre as espécies (simbiose) de uma comunidade seriam afetados? Poderíamos observar ciclos de vida mais curtos com o aumento da temperatura ou mais longos com a diminuição do pH? E o que resultaria da combinação entre estes dois fatores? E os efeitos sinérgicos de vários fatores? Caso os organismos atinjam menor porte, poderia também haver diminuição da maturidade sexual dos organismos? E os animais que apresentam reprodução tanto sexuada como assexuada (poríferos, por exemplo), poderia haver maior seleção entre um ou outro tipo de reprodução frente a condições estressantes do meio? Haveria maior taxa de produção de ovos de resistência pelos animais com esta capacidade,

quando expostos às adversidades previstas? Estruturas copulatórias poderiam ser alteradas do ponto de vista morfológico, inviabilizando sua função? Considerando outros aspectos individuais, poderia haver mudanças na coloração dos animais? E as regenerações de partes corpóreas perdidas, estariam comprometidas? A expressão genética de alguns processos fisiológicos seria aumentada como efeito das alterações? E a toxicidade de alguns organismos, também seria afetada?

Estas são questões que a presente tese deixa como sugestão para investigações futuras.



Apêndice

Por terem sido encontradas algumas diferenças entre a morfologia observada no presente estudo e a descrição morfológica original dos estágios de zoea desta espécie, realizada há mais de 20 anos (ver Fransozo, 1987), principalmente em relação ao tipo de cerdas, este estudo também efetuou a redescrição de tais estágios de zoea, considerando os exemplares obtidos durante as criações larvais.

Para estas redesccrições, foram utilizadas exúvias e indivíduos fixados em álcool e glicerina (proporção de 2:1), a partir do tratamento considerado controle (salinidade 35, temperatura 25°C e pH 8,1). No mínimo 10 exemplares foram examinados de cada estágio de zoea. Os números de cerdas apresentados nesta redescrição correspondem às quantidades observadas de maior frequência, sendo que as demais variações encontradas estão apresentadas na tabela 19, que inclui um comparativo com a descrição original, realçando as principais diferenças encontradas.

Redescrição dos estágios de zoea

Zoea I

Carapaça (Figura 56A) com 2 espinhos laterais, espinho dorsal longo, espinho rostral que ultrapassa as projeções antenais e 1 cerda simples na região laterodorsal posterior. Olhos sésseis. Abdômen (Figura 56B) formado por 5 segmentos, desprovido de apêndices. O segundo segmento abdominal apresenta um par de nódulos laterais e um par de cerdas simples póstero-dorsais; terceiro e quarto segmentos apresentam um par de espinhos laterais e um par de cerdas simples póstero-dorsais; o sexto segmento é fundido ao telso, o qual é bifurcado, com um espinho e uma cerda axilar lateral e um espinho dorsal, em cada ramo. Na margem interna, o telso apresenta 6 cerdas serrilhadas, dispostas 3 a 3 de cada lado da furca.

A antênula (Figura 57A) é unirreme, ligeiramente cônica, com 3 estetos (2 longos e 1 curto) na região distal.

A antena (Figura 57B) possui protopodito afilado, com duas fileiras de pequenos espinhos em cada margem lateral na metade distal, sem atingir a ponta. Exopodito não segmentado, com comprimento equivalente a $\frac{2}{3}$ do protopodito, e 3 cerdas simples distais (1 longa e 2 curtas).

A mandíbula (Figura 57C) possui processo incisivo com 3 dentes e processo molar com 3 pequenos dentes na margem interna.

Maxílula (Figura 57D) apresenta coxopodito com 6 cerdas plumo-denticuladas e 1 pouco plumosa. Basipodito com 3 cerdas plumo-denticuladas e 2 cuspidadas, além de

numerosas microtríquias na margem interna anterior. Endopodito bissegmentado, com 1 cerda plumo-denticulada longa no segmento proximal e 6 pouco plumo-denticuladas no segmento distal (3 subterminais e 3 terminais). Protopodito liso.

Maxila (Figura 57E) possui coxopodito bilobado, lobo proximal com 4 cerdas plumo-denticuladas, 2 plumosas e numerosas microtríquias, lobo distal com 1 cerda plumo-denticulada e 3 plumosas. Basipodito bilobado, ambos os lobos com 4 cerdas plumo-denticuladas. Endopodito também bilobado, com 2 cerdas plumo-denticuladas e 1 pouco plumo-denticulada no lobo proximal, e 5 cerdas pouco plumo-denticuladas (2 subterminais e 3 terminais) no lobo distal, além de numerosas microtríquias na margem lateral externa. Exopodito (escafognatito) com 4 longas cerdas plumosas e prolongamento afilado com 2 fileiras de numerosas microtríquias nas margens laterais.

Primeiro maxilípede (Figura 57F) apresenta coxopodito com 1 cerda pouco plumosa e basipodito com 10 cerdas plumosas (agrupadas em 2+2+3+3) na margem interna. Endopodito pentassegmentado, com 3 cerdas (2 simples e 1 pouco plumosa), 2 serradas, 1 serrada, 2 serradas e 5 cerdas (4 serradas e 1 simples), do segmento proximal para o distal, respectivamente. Exopodito bissegmentado, com 0 e 4 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o distal.

Segundo maxilípede (Figura 57G) possui coxopodito liso e basipodito com 4 cerdas serrilhadas (dispostas 1+1+1+1) na margem interna. Endopodito trissegmentado, com 1 e 1 cerda pouco serrada, respectivamente no segmento proximal e mediano, e 6 cerdas (2 plumosas, 3 simples e 1 pouco serrada) no segmento distal. Exopodito bissegmentado, com 0 e 4 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o distal.

Zoea II

A carapaça (Figura 58A) é semelhante à apresentada pela zoea I, porém de maior tamanho e com 5 cerdas plumosas na margem póstero-lateral. Olhos ligeiramente pedunculados. O abdômen (Figura 58B) apresenta 2 cerdas plumosas dorsais no primeiro segmento; um par de nódulos laterais no segundo segmento, e um par de espinhos laterais do segundo ao quinto segmentos; há, ainda, a presença de um par de espinhos póstero-laterais do segundo ao quarto segmentos, além de um par de cerdas simples póstero-dorsais do primeiro ao quinto segmentos. O telso é semelhante à zoea I, porém com 6 cerdas serrilhadas dispostas simetricamente 3 a 3 em cada margem interna e 1 par de cerdas plumosas menores na margem mediana da furca.

A antênula (Figura 59A) é semelhante à zoea I, com 5 estetos (3 longos e 2

curtos) na região distal, além de uma cerda simples.

A antena (Figura 59B) possui protopodito e exopodito equivalentes à zoea I. Surge o rudimento do endopodito, fusionado ao protopodito.

A mandíbula (Figura 59C) é semelhante à zoea I, com 4 dentes nos processos incisivo e molar.

Maxílula (Figura 59D) apresenta coxopodito com 6 cerdas plumo-denticuladas (sendo 5 delas bem fortes) e 1 pouco plumosa. Basipodito com 3 cerdas plumo-denticuladas, 4 cuspidadas e 1 plumosa. Endopodito bissegmentado, com 1 cerda plumo-denticulada longa no segmento proximal, 4 pouco plumo-denticuladas e 2 pouco plumosas no segmento distal (2 subterminais e 4 terminais). Protopodito com 1 cerda plumosa.

Maxila (Figura 59E) possui coxopodito bilobado, lobo proximal com 6 cerdas plumosas (4 subterminais e 2 terminais), lobo distal com 2 cerdas plumo-denticuladas e 2 plumosas (1 subterminal e 3 terminais). Basipodito bilobado, ambos os lobos com 2 cerdas plumo-denticuladas, 2 serradas e 1 plumosa (1 subterminal e 4 terminais). Endopodito também bilobado, com 2 cerdas plumo-denticuladas e 1 pouco plumosa no lobo proximal, 4 cerdas plumo-denticuladas e 1 pouco plumosa (2 subterminais e 3 terminais) no lobo distal. Exopodito (escafognatito) com 14 longas cerdas plumosas marginais.

Primeiro maxilípede (Figura 59F) apresenta coxopodito e basipodito sem modificações quanto ao número de cerdas, em relação à zoea I. Endopodito pentassegmentado, com 3 cerdas pouco plumosas, 2 plumo-denticuladas, 1 serrilhada, 2 pouco serrilhadas e 5 cerdas (4 pouco plumo-denticuladas e 1 pouco plumosa curta), do segmento proximal para o distal, respectivamente. Exopodito bissegmentado, com 0 e 6 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o distal.

Segundo maxilípede (Figura 59G) possui coxopodito liso e basipodito com 4 cerdas serradas (dispostas 1+1+1+1) na margem interna. Endopodito trissegmentado, com 1 e 1 cerda pouco serrada, respectivamente nos segmentos proximal e mediano, e 6 cerdas (3 plumosas, 2 simples e 1 serrada) no segmento distal. Exopodito bissegmentado, com 0 e 6 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o distal.

Zoea III

A carapaça (Figura 60A) é maior, mas equivalente à observada na zoea II. Olhos pedunculados. O abdômen (Figura 60B) apresenta 4 cerdas plumosas dorsais no primeiro segmento; segundo ao quarto segmentos semelhantes à zoea II; o quinto segmento possui um par de espinhos póstero-laterais; sexto segmento é separado do telso; há, ainda, um par

de cerdas simples póstero-dorsais do primeiro ao quinto segmentos. Surgem os rudimentos dos pleópodos, em pares do segundo ao sexto segmento. O telso é semelhante à zoea II, porém com 8 cerdas serrilhadas dispostas simetricamente 4 a 4 em cada margem interna (sendo o par mais interno com a metade do comprimento das demais) e 1 par de cerdas plumosas menores na margem mediana da furca.

A antênula (Figura 61A) apresenta 6 estetos (semelhantes em comprimento) na região distal, além de 2 cerdas simples.

A antena (Figura 61B) possui protopodito e exopodito equivalentes ao estágio anterior. Endopodito apresenta aproximadamente a metade do comprimento do exopodito.

A mandíbula (Figura 61C) apresenta processo incisivo com 5 dentes e processo molar com 6 denticulos bem quitinizados.

Maxílula (Figura 61D) apresenta coxopodito com 7 cerdas plumo-denticuladas, 2 plumosas e 1 pouco plumosa. Basipodito com 6 cerdas plumo-denticuladas, 3 cuspidadas e 2 plumosas. Endopodito bissegmentado, com 1 cerda pouco plumosa no segmento proximal e 6 pouco plumosas no segmento distal (2 subterminais e 4 terminais). Protopodito com 2 cerdas, 1 plumosa e 1 pouco plumosa.

Maxila (Figura 61E) possui coxopodito bilobado, lobo proximal com 5 cerdas plumosas subterminais e 2 plumo-denticuladas terminais, lobo distal com 1 cerda plumo-denticulada e 3 plumosas (1 subterminal e 3 terminais). Basipodito bilobado, lobo proximal com 5 cerdas plumo-denticuladas e 1 pouco plumosa, lobo distal com 2 cerdas plumo-denticuladas e 3 pouco plumosa (2 subterminais e 3 terminais). Endopodito também bilobado, com 3 cerdas plumo-denticuladas no lobo proximal, 3 cerdas plumo-denticuladas e 2 pouco plumosas (2 subterminais e 3 terminais) no lobo distal. Exopodito (escafnogonito) com 25 cerdas plumosas marginais.

Primeiro maxilípede (Figura 61F) apresenta coxopodito com 2 cerdas pouco plumosas e basipodito inalterado em relação à zoea II. Endopodito pentasegmentado, com 3, 2, 1, 2 e 6 cerdas pouco serrilhadas do segmento proximal para o distal, respectivamente. Exopodito bissegmentado, com 0 e 8 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o distal.

Segundo maxilípede (Figura 61G) possui coxopodito com 1 cerda simples e basipodito com 4 cerdas (1 plumosa e 3 serradas), dispostas 1+1+1+1 na margem interna. Endopodito trisegmentado, com 1 e 1 cerda pouco serrada, respectivamente nos segmentos proximal e mediano, e 6 cerdas (3 plumosas e 3 serradas) no segmento distal. Exopodito bissegmentado, com 0 e 8 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o

distal.

Neste estágio também surgem os rudimentos do terceiro maxilípede (Figura 60C) e dos pereiópodos (Figura 60, P1 a P5).

Zoea IV

A forma do corpo (Figura 62A) é equivalente à observada na zoea III, mas com 7 cerdas plumosas na margem póstero-lateral. Olhos pedunculados. O abdômen (Figura 62B) apresenta 8 cerdas plumosas dorsais no primeiro segmento, além do par de cerdas simples na margem póstero-dorsal; segundo ao sexto segmentos equivalentes à zoea III. Os pleópodos tornam-se maiores e birremes. O telso é semelhante à zoea III, porém com 8 cerdas serrilhadas dispostas simetricamente 4 a 4 em cada margem interna (sendo o par mais interno com a metade do comprimento das demais) e 2 pares de cerdas plumosas menores na margem mediana da furca.

A antênula (Figura 63A) apresenta protopodito com 14 estetos (5 longos e 5 curtos subterminais e 4 longos terminais) e 2 cerdas simples (1 subterminal e 1 terminal). Surge o rudimento do endopodito.

A antena (Figura 63B) possui protopodito e exopodito inalterados em relação à zoea III. Endopodito ligeiramente bissegmentado, desprovido de cerdas e mais longo que o exopodito.

A mandíbula (Figura 63C) apresenta processos incisivo e molar com numerosos dentes, bem quitinizados.

Maxílula (Figura 63D) apresenta coxopodito com 10 cerdas plumo-denticuladas, 1 plumosa e 3 pouco plumosas. Basipodito com 7 cerdas plumo-denticuladas, 4 cuspidadas e 4 plumosas. Endopodito e protopodito semelhantes ao estágio anterior.

Maxila (Figura 63E) possui coxopodito bilobado, lobo proximal com 7 cerdas plumosas subterminais, 2 plumo-denticuladas e 2 plumosas terminais, lobo distal com 1 cerdas plumo-denticulada e 3 plumosas (1 subterminal e 3 terminais). Basipodito bilobado, lobo proximal com 2 cerdas plumo-denticuladas, 3 plumosas e 3 pouco plumosas, lobo distal com 2 cerdas plumo-denticuladas, 2 plumosas e 2 pouco plumosa (2 subterminais e 4 terminais). Endopodito também bilobado, com 3 cerdas plumo-denticuladas no lobo proximal e 5 cerdas plumo-denticuladas (2 subterminais e 3 terminais) no lobo distal. Exopodito (escafognatito) com 39 cerdas plumosas marginais e algumas pequenas cerdas simples esparsas pela superfície.

Primeiro maxilípede (Figura 63F) apresenta coxopodito com 4 cerdas plumo-

denticuladas e basipodito inalterado em relação ao estágio anterior. Endopodito pentassegmentado, com 3 cerdas pouco plumo-denticuladas no primeiro segmento, 2, 1 e 2 cerdas pouco serrilhadas, respectivamente, do segundo ao quarto segmentos, e 6 cerdas (5 serradas e 1 pouco plumosa) no quinto segmento. Exopodito bissegmentado, com 0 e 10 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o distal.

Segundo maxilípede (Figura 63G) possui coxopodito com 1 cerda plumo-denticulada e basipodito equivalente à zoea III. Endopodito trissegmentado, com 1 e 1 cerda serrilhada, respectivamente nos segmentos proximal e mediano, e 6 cerdas (3 plumosas, 1 serrilhada e 2 simples) no segmento distal. Exopodito bissegmentado, com 0 e 10 longas cerdas plumosas do segmento proximal para o distal.

Tabela 19. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Variações dos números de cerdas, estetos e espinhos encontrados durante a análise morfológica de todos os estágios de zoea. Números entre parênteses representam valores alternativos, de menor ocorrência. Descrição original pertencente à Franzo (1987); valores em negrito representam as principais diferenças entre as descrições.

Apêndices	zoea I			zoea II			zoea III			zoea IV		
	Presente	Descrição	Original	Presente	Descrição	Original	Presente	Descrição	Original	Presente	Descrição	Original
	Estudo			Estudo			Estudo			Estudo		
Antêntula												
Estetos	3(2)	3		5(6)	6		6(5,7)	9		13(14,15)	14	
Cerdas	0(1)	0		2(1,0)	0		2(1,0)	0		2(1)	1	
Antena												
Exopodito	3	3		3	3		3	3		3	3	
Protopodito												
Coxopodito	0	0		1	1		2	1		2	1	
Maxílula												
Coxopodito	7(6)	6		7	7		10	10		14(13)	9 a 11	
Basipodito	5	5		8(9)	9		11	11		15	14	
Endopodito	1, 6	1, 6		1, 6	1, 6		1, 6	1, 6		1, 6	1, 6	
Maxila												
Coxopodito	6(5,7,8), 4(3)	5, 3		6(7), 4	6, 4		7, 4(3)	7, 4		11(10), 4	10, 5	
Basipodito	5(4), 4	4, 4		5(6,4), 5	4, 5		6(5), 5	6, 5		8(7,6), 6(7)	6, 6	
Endopodito	3, 2+3	3+5		3, 2+3	3+5		3, 2+3	3+5		3, 2+3	3, 2+3	
Exopodito	4	4		14(13)	14		22 a 28	24 a 26		38 a 41	40 a 43	
1°												
Coxopodito	1(0)	0		1(0)	0		2	0		3(4,5)	0	
Basipodito	2+2+3+3	2+2+3+3		2+2+3+3	2+2+3+3		2+2+3+3	2+2+3+3		2+2+3+3	2+2+3+3	
Maxilípede												
Endopodito	3, 2, 1, 2, 5	2, 2, 1, 2, 5		3, 2, 1, 2, 5	2, 2, 1, 2, 5		3, 2, 1, 2, 6	3, 2, 1, 2, 6		3, 2, 1, 2, 6	3, 2, 1, 2, 6	
Exopodito	0, 4	0, 4		0, 6	0, 6		0, 8(7)	0, 8		0, 10(9)	0, 10	
2°												
Coxopodito	0	0		0	0		0(1)	0		1	0	
Basipodito	1+1+1+1	1+1+1+1		1+1+1+1	1+1+1+1		1+1+1+1	1+1+1+1		1+1+1+1	1+1+1+1	
Maxilípede												
Endopodito	1, 1, 6	1, 1, 6		1, 1, 6	1, 1, 6		1, 1, 6	1, 1, 6		1, 1, 6	1, 1, 6	
Exopodito	0, 4	0, 4		0, 6	0, 6		0, 8	0, 8		0, 10	0, 10	
Telso												
Cerdas	3+3	3+3		4+4	4+4		5+5	5+5		6+6 (6+5, 5+5)	6+6	

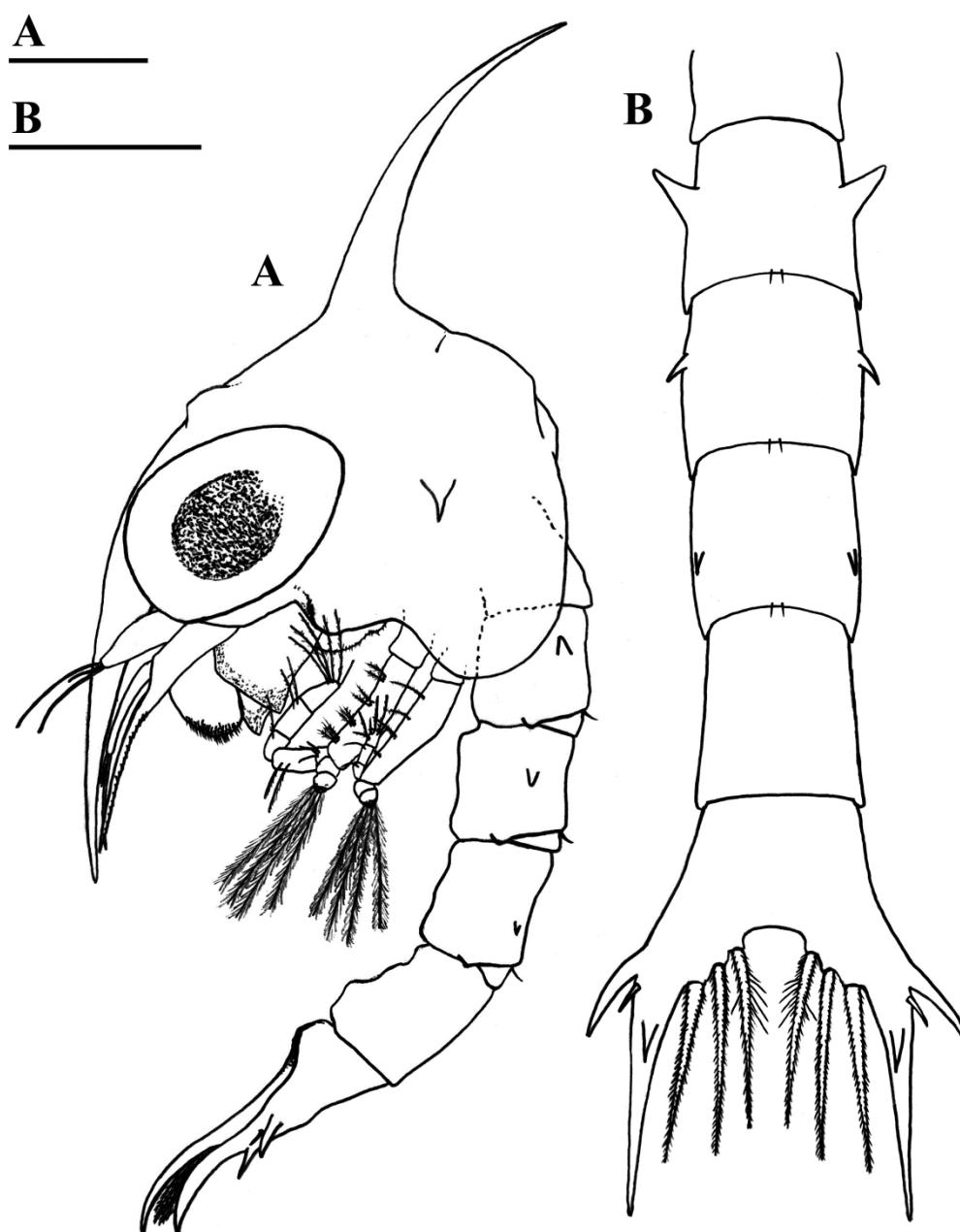


Figura 56. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Primeiro estágio de zoea. A, vista lateral; B, vista dorsal do abdômen e telso. Escala: 0,2 mm.

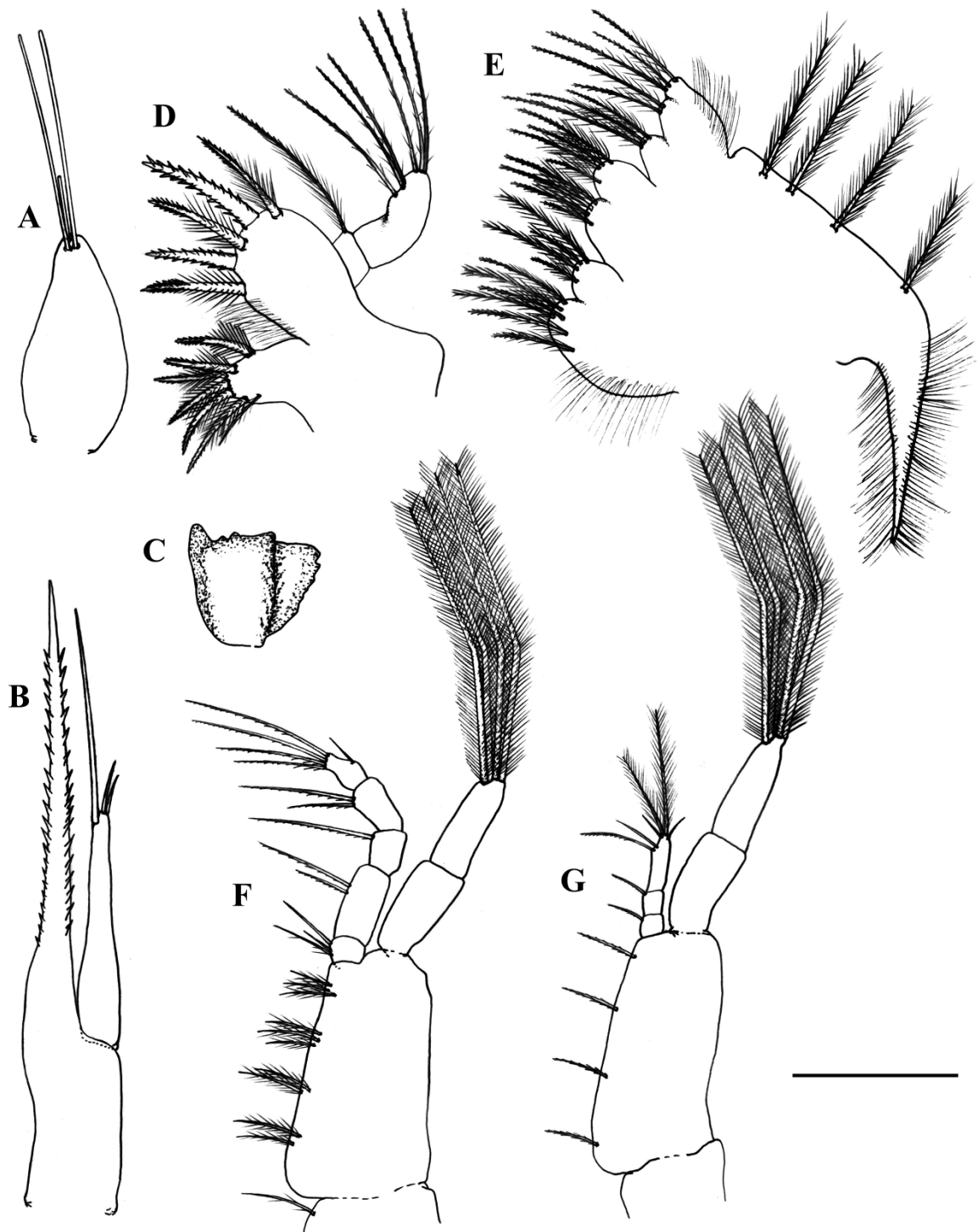


Figura 57. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Apêndices corpóreos do primeiro estágio de zoea. A, antênula; B, antena; C, mandíbula; D, maxílula; E, maxila; F, primeiro maxilípede; G, segundo maxilípede. Escala: A, B, D, E = 0,1 mm; C, F, G = 0,2 mm.

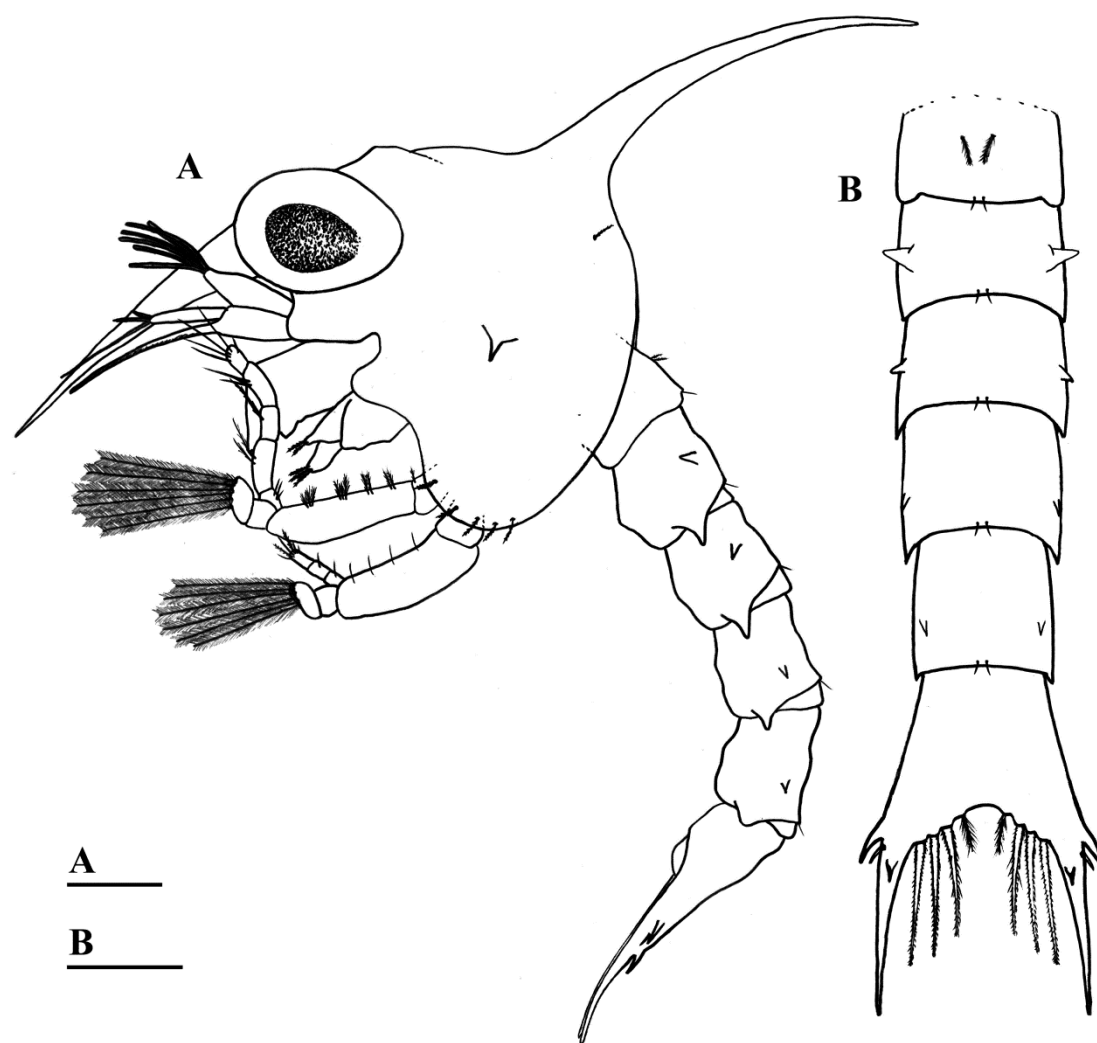


Figura 58. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Segundo estágio de zoea. A, vista lateral; B, vista dorsal do abdômen e telso. Escala: 0,2 mm.

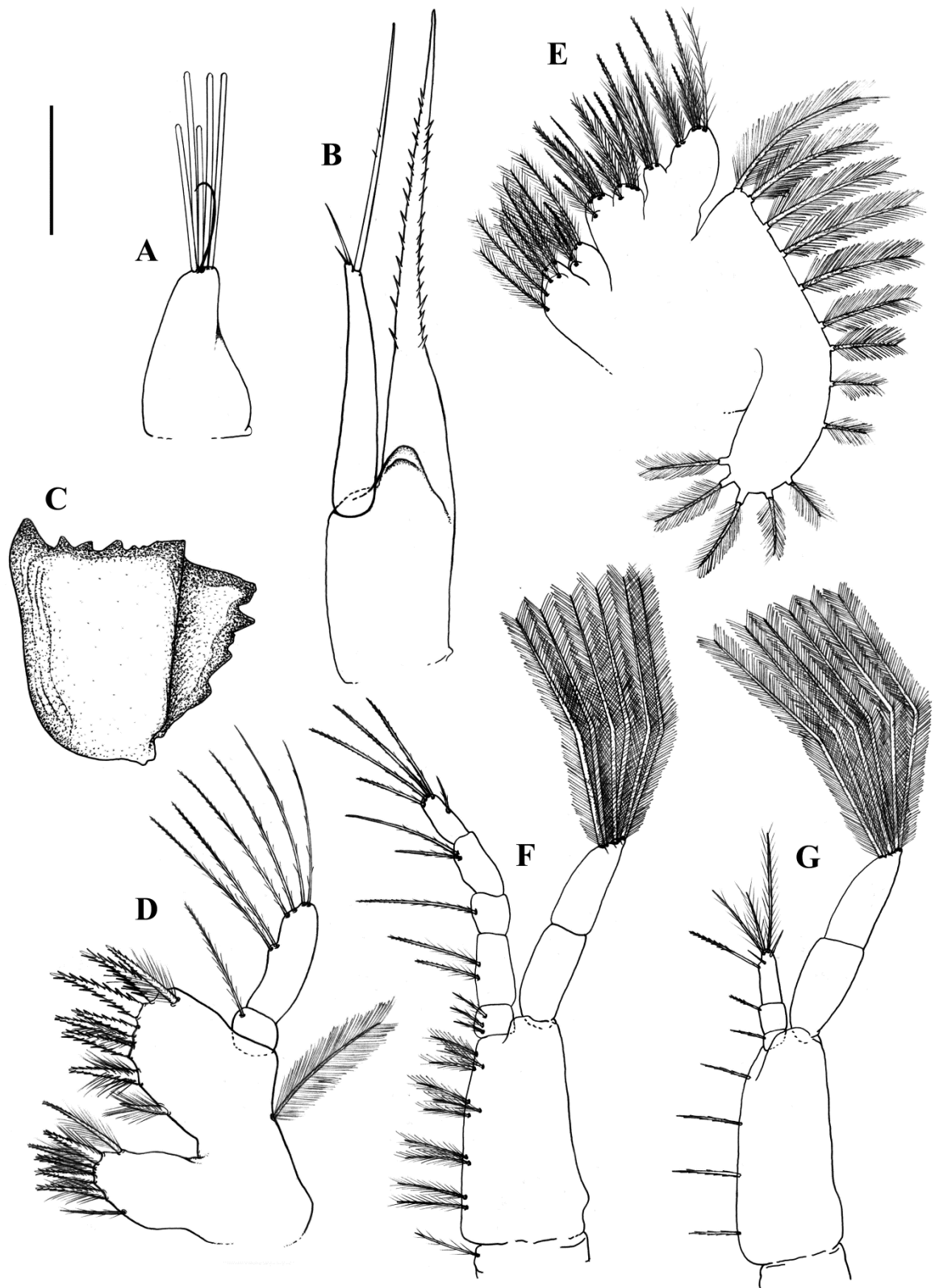


Figura 59. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Apêndices corpóreos do segundo estágio de zoea. A, antênula; B, antena; C, mandíbula; D, maxílula; E, maxila; F, primeiro maxilípede; G, segundo maxilípede. Escala: A, B, C, D, E = 0,1 mm; F, G = 0,2 mm.

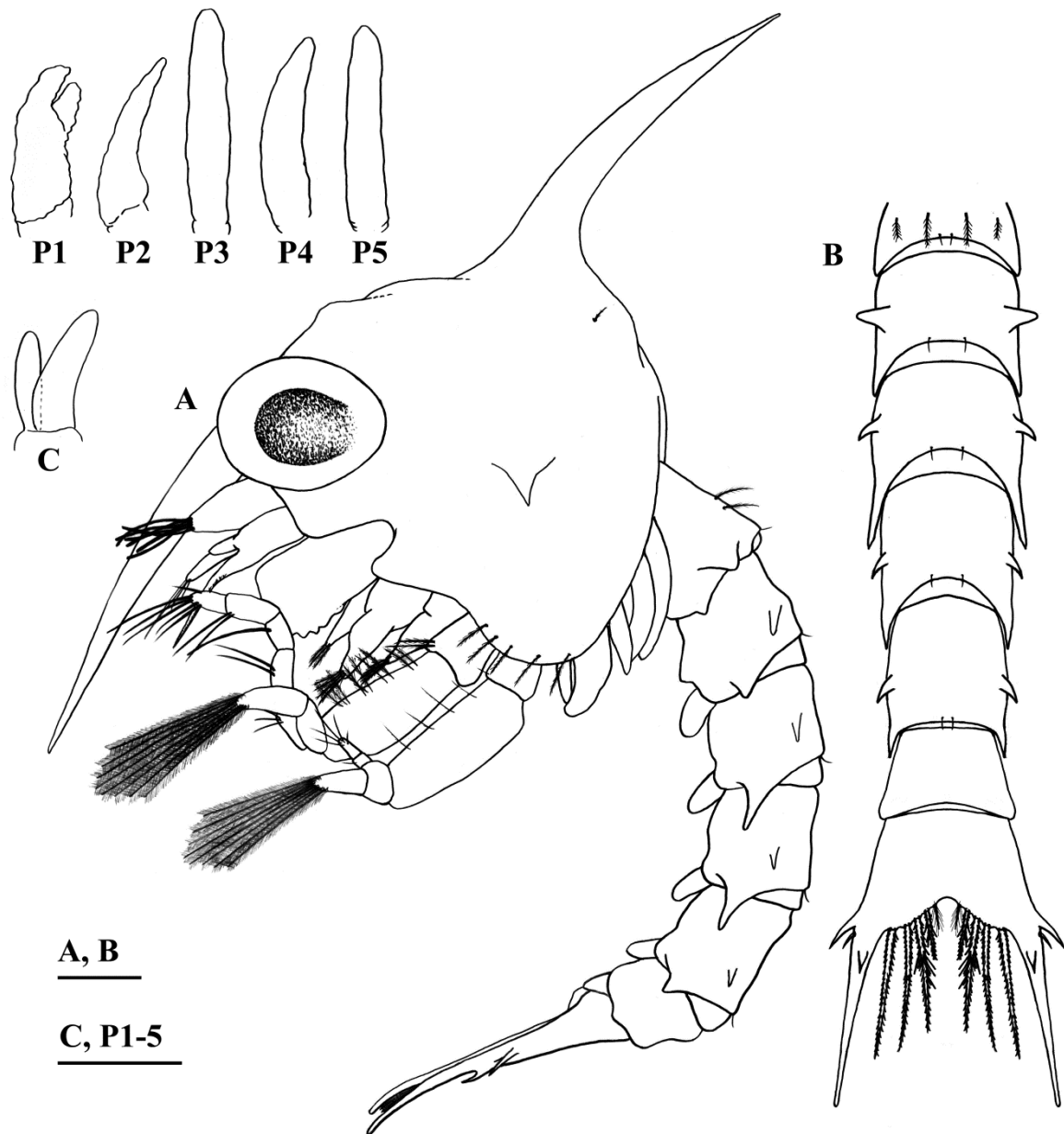


Figura 60. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Terceiro estágio de zoea. A, vista lateral; B, vista dorsal do abdômen e telso; C, rudimento do terceiro maxilípede; P1 a P5, primeiro ao quinto pereiópodos, respectivamente. Escala: 0,2 mm.

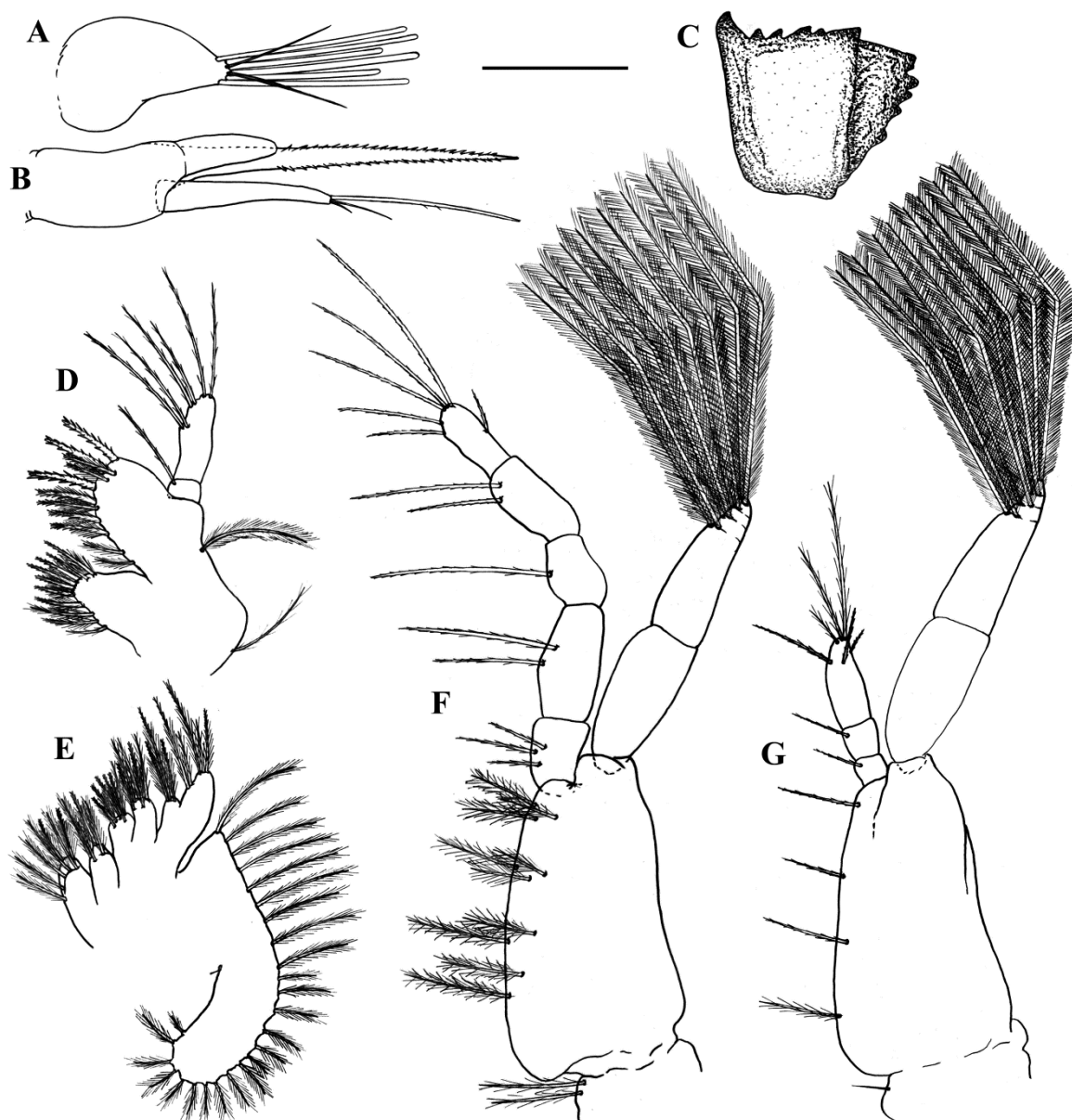


Figura 61. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Apêndices corpóreos do terceiro estágio de zoea. A, antênula; B, antena; C, mandíbula; D, maxílula; E, maxila; F, primeiro maxilípede; G, segundo maxilípede. Escala: 0,2 mm.

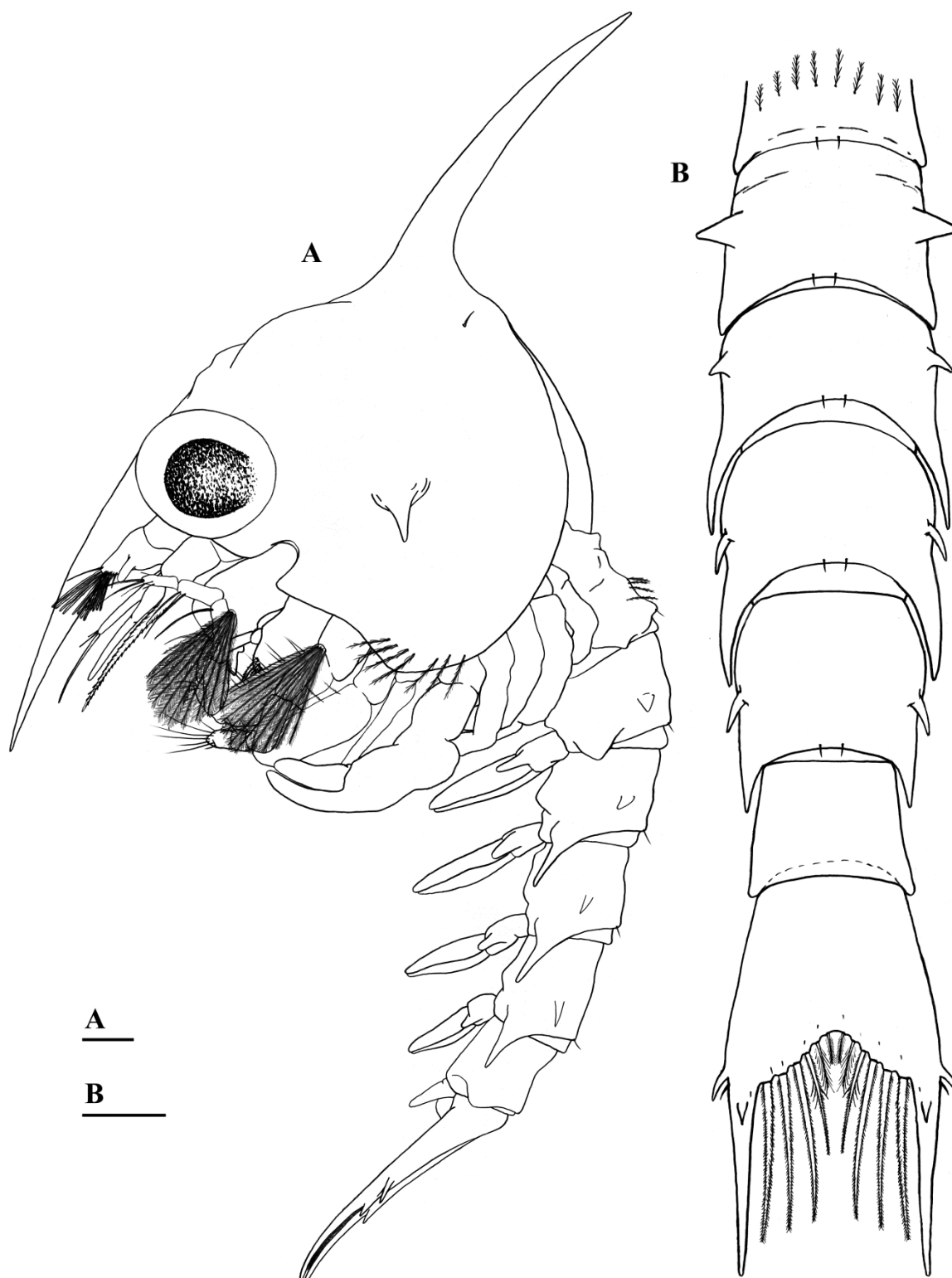


Figura 62. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Quarto estágio de zoea. A, vista lateral; B, vista dorsal do abdômen e telso. Escala: 0,2 mm.

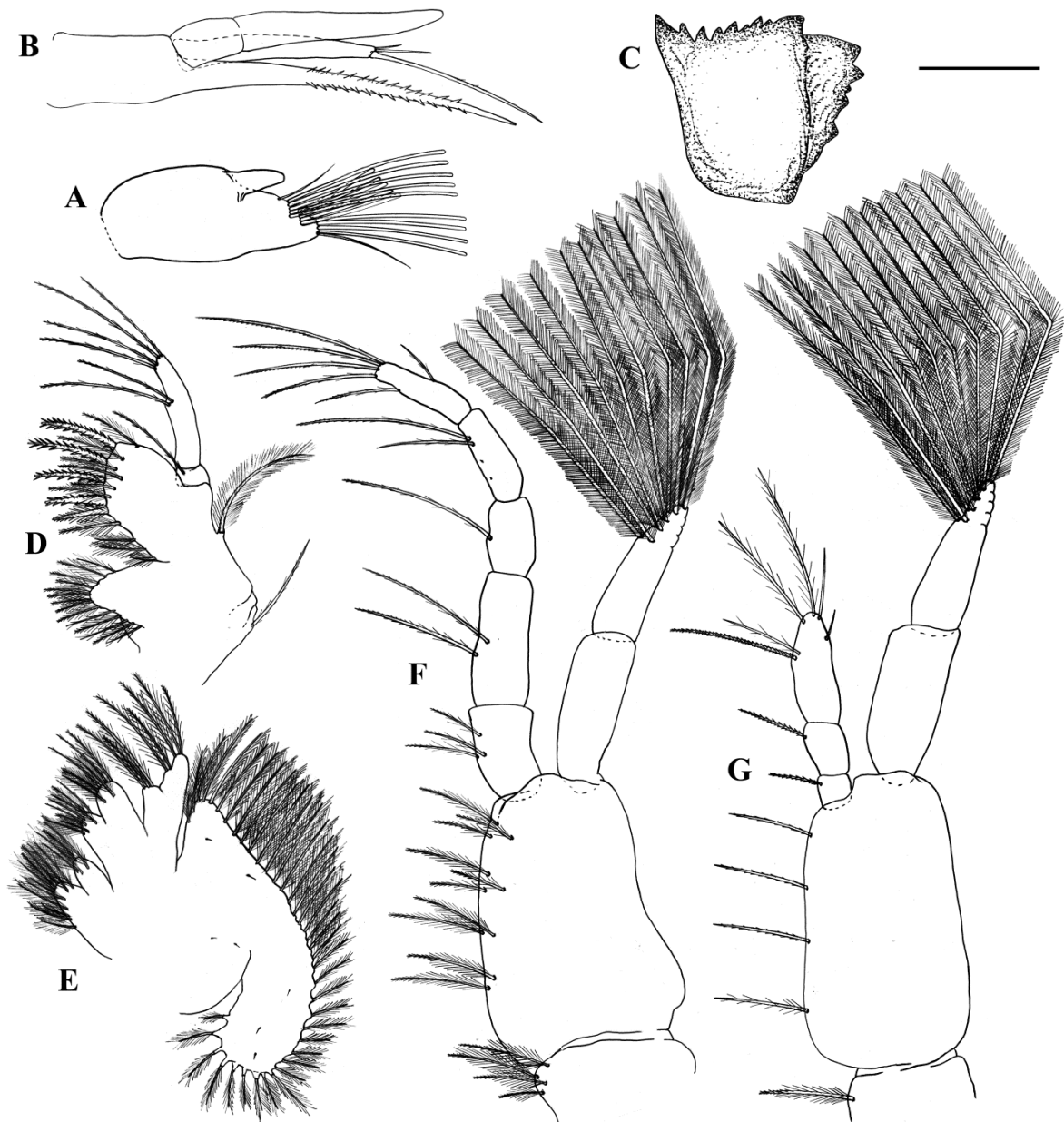


Figura 63. *Eriphia gonagra* (Fabricius, 1781). Apêndices corpóreos do quarto estágio de zoea. A, antênula; B, antena; C, mandíbula; D, maxílula; E, maxila; F, primeiro maxilípede; G, segundo maxilípede. Escala: 0,2 mm.