

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA**

**ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO,  
CRESCIMENTO E PRODUÇÃO  
SECUNDÁRIA DO COPÉPODO  
PLANCTÔNICO *Notodiaptomus  
incompositus* NO SUL DO BRASIL**

**DANIELLE ORTIZ DE ORTIZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oceanografia Biológica da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE.

Orientador: Dr. Erik Muxagata

**RIO GRANDE  
Setembro de 2016**

**OM BHOOR BHUVAH SVAH  
TAT SAVITUR VARENYAM  
BHARGO DEVASYA DHIMAH  
DHIYO YONAH PRACHODAYAT**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Erik Muxagata, pelos ensinamentos e orientação durante o desenvolvimento do trabalho.

À Banca Examinadora, Dr. André Colling, Dr. Danilo Calazans, Dr. José Henrique Muelbert e Dr. José Guilherme Bersano Filho, pelas contribuições ao trabalho.

Ao CEME-Sul (FURG), ao professor Robert Boyle e a técnica Louise Gonçalves por toda a ajuda durante a realização das imagens do capítulo I, que me permitiram aprender a técnica de microscopia confocal.

À minha família, em especial a minha mãe Marly Ortiz, meu pai Roberto Ortiz e meu irmão Daniel Ortiz, por toda a compreensão, incentivo e apoio nos momentos mais difíceis.

Aos colegas do Laboratório de Zooplâncton, Lais Lopes, Vanessa Agostini, Anette Duarte, Priscila Amaral, Letícia Baldoni e Claus Inck pela amizade, apoio e companhia durante os experimentos e longas noites “dormindo” (com medo) no laboratório. Em especial ao Waldemar Amaral, por todos os ensinamentos que me foram transmitidos e que foram fundamentais para que este trabalho fosse desenvolvido.

Aos meus amigos, Bianca Lopez, Karine Steigleder, Nicole Corrêa, Natacha Oliveira, Marcelo Wiegand, Cristina Pinheiro e Isabel Ramil, pela amizade, companheirismo e apoio em todos os momentos, mesmo à distância. Em especial à querida amiga Caroline Tavares por estar comigo em todos os momentos, compartilhando as alegrias e tristezas, cafés e cervejas, sempre com bom humor.

Aos amigos Laércio Fonseca, Osho, Flavia Melissa, Adriana Schlösser, Aline Oliveira e Fernando Cruz, pelo apoio, incentivo e conhecimentos transmitidos, principalmente durante a redação da dissertação.

A todos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento e para a conclusão desse trabalho.

## ÍNDICE

RESUMO .....	1
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	3
1.1 Objetivos gerais.....	6
1.2 Referências Bibliográficas.....	6
2. CAPÍTULO I .....	10
Descrição taxonômica do desenvolvimento pós-naupliar do copépodo <i>Notodiaptomus incompositus</i> Brian, 1925 (Copepoda - Diaptomidae).....	11
2.1 Introdução .....	11
2.1.1 Objetivos específicos .....	14
2.2 Material e Métodos.....	14
2.2.1 Preparação das lâminas de dissecação .....	14
2.2.2 Imagens de Microscopia Confocal de Varredura a Laser .....	16
2.3 Resultados .....	17
2.4 Discussão.....	31
2.4.1 Considerações acerca da metodologia empregada.....	31
2.4.2 Desenvolvimento pós naupliar de <i>Notodiaptomus             incompositus</i> .....	33
2.5 Conclusão .....	35
2.6 Referências Bibliográficas.....	36
3. CAPÍTULO II .....	44
Experimentos de crescimento e reprodução de <i>Notodiaptomus incompositus</i> em cultivo.....	45
3.1 Introdução .....	45
3.1.1 Objetivos específicos .....	48
3.2 Material e Métodos.....	49
3.2.1 Obtenção dos estoques de fitoplâncton e zooplâncton..	49
3.2.2 Experimentos .....	51

3.2.3 Tamanho e número de ovos dos sacos ovíferos das fêmeas de <i>Notodiaptomus incompositus</i> .....	56
3.2.4 Análises Estatísticas .....	57
3.3 Resultados .....	58
3.3.1 Taxa de crescimento de <i>Notodiaptomus incompositus</i> ..	58
3.3.2 Taxa de crescimento de fêmeas de <i>Notodiaptomus incompositus</i> .....	63
3.3.3 Produção de ovos com a presença e ausência de machos .....	63
3.3.4 Tamanho e número de ovos dos sacos ovíferos das fêmeas de <i>Notodiaptomus incompositus</i> coletadas do ambiente .....	64
3.4 Discussão.....	67
3.4.1 Taxas de crescimento de copepoditos e adultos de <i>Notodiaptomus incompositus</i> .....	67
3.4.2 Produção de ovos com a presença e ausência de machos .....	79
3.4.3 Tamanho e número de ovos dos sacos ovíferos das fêmeas de <i>Notodiaptomus incompositus</i> coletadas no ambiente .....	83
3.5 Conclusões .....	85
3.6 Referências Bibliográficas.....	86
4. CAPÍTULO III .....	100
Produção secundária de <i>Notodiaptomus incompositus</i> no Estuário da Lagoa dos Patos (RS).....	101
4.1 Introdução .....	101
4.1.1 Objetivos específicos .....	105
4.2 Material e Métodos.....	105
4.2.1 Obtenção das amostras de zooplâncton e dados abióticos .....	105
4.2.2 Biomassa de <i>Notodiaptomus incompositus</i> .....	107
4.2.3 Produção secundária .....	107
4.3 Resultados .....	109
4.3.1 Variáveis ambientais.....	109
4.3.2 Composição e abundância total.....	110

4.3.4 Produção secundária de <i>Notodiaptomus incompositus</i>	114
4.4 Discussão.....	116
4.4.1 Variáveis ambientais e a comunidade zooplanctônica do ELP.....	116
4.4.2 Produção secundária de <i>Notodiaptomus incompositus</i>	118
4.5 Conclusões .....	123
4.6 Referências Bibliográficas.....	124
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	132
6. APÊNDICE.....	135

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores mínimos, máximos, médias, desvio padrão (entre parênteses) das medidas obtidas para cada estágio de desenvolvimento de <i>Notodiaptomus incompositus</i> durante o experimento de crescimento, e o número de organismos de cada estágio medidos (n). O peso de cada um dos estágios de copepoditos estimados através da equação $\log_{10}(PS) = -6,241 + 2,4094 * \log_{10}(CP)$ também estão indicados. ND - indica dados não disponíveis. ....	60
Tabela 2: Valores de taxa de crescimento dos estágios de copepoditos de <i>Notodiaptomus incompositus</i> encontrados para o cultivo da espécie em 20 °C. ....	62
Tabela 3: Valores mínimos, máximos, médias e desvio padrão para as medidas morfométricas das fêmeas de <i>Notodiaptomus incompositus</i> encontradas nas amostras do Estuário da Lagoa dos Patos e das fêmeas cultivadas em laboratório. ....	65
Tabela 4: Valores reportados na literatura para o diâmetro dos ovos ( $\mu\text{m}$ ), peso dos ovos ( $\mu\text{g C}$ ), número de ovos por saco, prossoma das fêmeas ( $\mu\text{m}$ ) e peso das fêmeas ( $\mu\text{g C}$ ) para diversas espécies de copépodos.....	76
Tabela 5: Produção de ovos estimada por Espíndola (1994) para as espécies de copépodos <i>Notodiaptomus iheringi</i> , <i>N. cearensis</i> , <i>N. conifer</i> e <i>N. nsp</i> a temperatura de 23 e 28 °C.....	77
Tabela 6: Equações utilizadas para estimar a taxa de crescimento de copepoditos e adultos obtidas da literatura assim como as taxas de crescimento específicas para <i>Notodiaptomus incompositus</i> obtidas no Capítulo II, onde: g = taxa de crescimento; T = temperatura em °C; $W_{ic}$ = peso de carbono médio do estágio i ( $\mu\text{g}$ ); Chla = concentração de clorofila a ( $\mu\text{g Chl a L}^{-1}$ ). ....	108
Tabela 7: Medidas morfométricas dos estágios de desenvolvimento do copépodo <i>Notodiaptomus incompositus</i> coletados no ELP e o peso seco estimado através da equação $\log_{10}(\text{peso seco}) = -6,241 + 2,4094 * \log_{10}$ (comprimento do prossoma). Valores mínimos, máximos e médias e desvios padrões apresentados entre parênteses. CI - copepodito 1; CII – copepodito 2; CIII – copepodito 3; CIV – copepodito 4; CV – copepodito 5; N – número de organismos medidos. ....	114
Tabela 8: Produção total para o período de estudo (380 dias), anual e diária (em $\text{mg C m}^{-3}$ ) da espécie <i>Notodiaptomus incompositus</i> obtidas utilizando as equações resumidas na Tabela 1 e a taxa de crescimento (g) obtida para a espécie no Capítulo II. ....	115

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho esquemático de um copépodo Calanoida mostrando as estruturas morfológicas que são mencionadas e descritas (modificado de Dussart & Defaye, 1983).....	15
Figura 2: A - Microscópio Confocal Invertido de Varredura a Laser do Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME-SUL) na Universidade Federal do Rio Grande – FURG; B – Imagem gerada durante as análises realizadas no presente estudo. ....	16
Figura 3: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito I de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II.....	18
Figura 4: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito II de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III. .	19
Figura 5: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito III de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III; e. Pata IV. ....	21
Figura 6: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito IV de <i>Notodiaptomus incompositus</i> - a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III; e. Pata IV; f. Pata V.....	23
Figura 7: Imagens confocais de urossomas retirados de Copepoditos V de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Urossoma de fêmea; b. Urossoma de macho. ....	24
Figura 8: Imagens confocais de patas retiradas de Copepoditos V de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Pata I; b. Pata II; c. Pata III; d. Pata IV; e. Pata V de fêmea; f. Pata V de macho. ....	25
Figura 9: Imagens confocais de apêndices retiradas de Copepodito VI (Macho) de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III; e. Pata IV; f. Pata V.....	27
Figura 10: Imagens confocais da antênula direita de Copepodito VI (Macho) de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Antênula direita completa; b. Detalhe ampliado da geniculação da antênula. ....	28
Figura 11: Imagens confocais de apêndices e estruturas retiradas de Copepodito VI (Fêmea) de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Urossoma; b. Urossoma com espermatóforos; c. Antênula esquerda; d. Saco ovífero. ....	29
Figura 12: Imagens confocais de patas retiradas de Copepodito VI (Fêmea) de <i>Notodiaptomus incompositus</i> – a. Pata I; b. Pata II; c. Pata III; d. Pata IV; e. Pata V. ....	30
Figura 13: Área de estudo, com detalhe indicando os locais de coleta das amostras no Estuário da Lagoa dos Patos. ....	50
Figura 14: Fêmea adulta da espécie de copépodo <i>Notodiaptomus incompositus</i> com saco ovífero.....	54

Figura 15: Saco ovígero de <i>Notodiaptomus incompositus</i> com indicação das medidas tomadas (altura e largura do saco ovígero e diâmetro dos ovos).....	57
Figura 16: Percentual dos diferentes estágios de desenvolvimento de <i>Notodiaptomus incompositus</i> durante o cultivo em 20 °C. ....	59
Figura 17: Valores médios e desvios padrão para os estágios de desenvolvimento de <i>Notodiaptomus incompositus</i> cultivados em laboratório: A - comprimento total; B - largura e C - comprimento do prossoma. Barras verticais indicam o desvio padrão, com intervalo de confiança de 95%. ....	61
Figura 18: Regressão linear entre as medidas corpóreas e dias de cultivo (idade) para a espécie <i>Notodiaptomus incompositus</i> cultivada em laboratório: A - comprimento total; B – largura e C – comprimento do prossoma. ....	62
Figura 19: Produção média de ovos de <i>Notodiaptomus incompositus</i> com a ausência (A) e presença (B) e de machos durante 216 horas de incubação. Em C é apresentada a produção média de ovos com a introdução de machos após 96 de experimento. ....	64
Figura 20: Sacos ovígeros com diferente número de ovos do copépodo <i>Notodiaptomus incompositus</i> coletados no ELP. ....	65
Figura 21: Correlação linear entre o número de ovos e o comprimento do prossoma das fêmeas de <i>Notodiaptomus incompositus</i> encontrada nas amostras coletadas no Estuário da Lagoa dos Patos. ....	66
Figura 22: Regressão e Correlação múltipla entre a altura e a largura dos sacos de ovos e número de ovos encontrados para as fêmeas de <i>Notodiaptomus incompositus</i> em amostras coletadas no Estuário da Lagoa dos Patos. As esferas representam a quantidade de ovos produzidos, variando entre 5 (menor esfera) e 25 (maior esfera). ....	67
Figura 23: Variação temporal de temperatura (°C), salinidade e clorofila a ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (com indicações dos picos estimados) nas Estações Museu e Barra durante o período de abril de 2009 a abril de 2010. ....	109
Figura 24: Variabilidade temporal e composição dos principais grupos zooplancctônicos presentes nas Estações Museu e Barra durante o período amostral (2009/2010). ....	111
Figura 25: Variabilidade temporal e composição de Copepoda nas Estações Museu e Barra durante o período amostral (2009/2010). ....	113
Figura 26: Produção secundária de <i>Notodiaptomus incompositus</i> nas Estações Museu e Barra para o período amostral (2009/2010). ....	115

## RESUMO

*Notodiaptomus incompositus* é um copépodo límnico, encontrado em grande abundância em períodos de intensa vazante no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP). Apesar de sua importância já ter sido reconhecida em diversos trabalhos realizados no ELP, pouco se conhece sobre a biologia da espécie e o seu papel trófico nesse ambiente. No presente estudo apresentamos a descrição taxonômica dos estágios de copepodito (CI – CVI) de *N. incompositus* assim como as características sexuais secundárias de machos e fêmeas. O tempo de desenvolvimento de náuplios a adulto a 20 °C foi de 14 dias com desenvolvimento isocronal onde cada estágio durou cerca de 24h. O número médio de ovos produzidos pelas fêmeas foi de 9,7 ovos/saco ovífero. O tamanho médio dos ovos foi estimado em 103,11 µm e a biomassa foi calculada com a equação  $\log_{10} (PS) = - 6,241 + 2,4094 * \log_{10} (CP)$ , que permite estimar o peso seco dos organismos (PS) a partir de medidas de comprimento do prossoma (CP). Com a obtenção destes dados foi possível estimar a taxa de crescimento diária de cada estágio permitindo o cálculo de sua produção secundária no ELP através do método do crescimento instantâneo onde a produção média anual foi estimada em 48,29 mg C m<sup>-3</sup> enquanto a produção média diária foi de 0,13 mg C m<sup>-3</sup>.

**Palavras-chave:** descrição taxonômica; cultivo; taxa de crescimento; produção secundária.

## ABSTRACT

*Notodiaptomus incompositus* is a limnetic copepod, which is found in great abundance during freshwater run-off in Patos Lagoon Estuary (PLE). Despite its importance have already been recognized in several works done in the PLE, little is known about the biology of the species and their trophic role in this environment. In the present study, we present the taxonomic description of *N. incompositus* copepodites stages (CI – CVI), as well as the sexual secondary characteristics of male and female. The development time from nauplii to adult at 20 °C was 14 days with isochronal developmental in which each stage lasted about 24 hours. The average number of eggs produced by females was 9.7 eggs/egg sac. The average size of the eggs was estimated at 103.11 µm and the biomass was calculated by the equation  $\log_{10} (DW) = - 6.241 + 2.4094 * \log_{10} (PL)$ , which allows to estimate the dry weight of the organisms (DW) through prosome length measurements (PL). With this data, it was possible to estimate the daily growth rate of each developmental stage and the calculation of their secondary production in the PLE through the “instantaneous growth” approach where mean annual production were estimated as 48,29 mg C m<sup>-3</sup> while mean daily production was 0,13 mg C m<sup>-3</sup>.

**Key-words:** taxonomic description; culture; growth rate; secondary production.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O zooplâncton é considerado fundamental nas teias tróficas aquáticas, pois disponibiliza a energia produzida na base da cadeia trófica para níveis superiores atuando como elo de ligação entre o bacterioplâncton e fitoplâncton com os demais níveis tróficos (Mauchline 1998, Lenz 2000). Desta forma, a pressão alimentar exercida pelos organismos zooplanctônicos sobre o fitoplâncton pode controlar a produtividade primária de sistemas aquáticos (Lampert *et al.* 1986).

Além disso, o zooplâncton desempenha importante função no fluxo vertical de partículas na coluna d'água. Através de migrações verticais diárias e liberação de pelotas fecais e carapaças, estes organismos transferem energia e matéria gerada nos primeiros metros da coluna d'água para regiões mais profundas, onde não há produção primária devido à falta de luz (Lalli & Parsons 1997). A retirada de carbono capturado da atmosfera para locais mais profundos é fundamental na Bomba de Carbono (Lenz 2000, Steinberg *et al.* 2012).

Dentre os grupos que compõem a comunidade zooplanctônica, a subclasse Copepoda apresenta papel de destaque, sendo formada por pequenos crustáceos encontrados em águas marinhas e continentais (Mauchline 1998). São responsáveis por 70 a 90% da densidade total de organismos coletados por redes de plâncton, tanto em ambientes marinhos como estuarinos (Raymont 1983), e sua elevada abundância pode estar associada a algumas características reprodutivas e de crescimento (Kimmerer 1987). Os copépodos apresentam multivoltinismo, ou seja, múltiplas gerações

por ano, e uma expectativa de vida curta, e por essa razão apresentam alta produtividade (Downing 1984).

A quantificação da produtividade permite compreender o papel ecológico de cada espécie na transferência de matéria e energia na teia trófica, assim como avaliar os efeitos da poluição e mudanças climáticas, bem como auxiliar na manutenção e controle dos recursos aquáticos através da formulação de teorias sobre a produtividade pelágica (Rigler & Downing 1984). Uma vez que estimar a produção secundária de toda a comunidade zooplânctônica isoladamente é uma tarefa que demanda muito tempo de trabalho (Omori & Ikeda 1984, Rigler & Downing 1984), uma abordagem mais apropriada e eficaz é quantificar a produtividade das principais espécies de copépodos de um ambiente (Runge & Roff 2000). Por este motivo, muitos dos estudos sobre produção secundária se referem somente à contribuição dos copépodos (Uye *et al.* 1983, Chisholm & Roff 1990, Jerling & Wooldridge 1991, Ara 1998, Gonçalves *et al.* 2015).

No Estuário da Lagoa dos Patos (ELP), diversos estudos foram realizados a cerca da composição zooplânctônica e enfatizaram a importância ecológica dos copépodos *Acartia tonsa* e *Notodiaptomus incompositus* em períodos de salinidades altas e baixas, respectivamente (Montú 1980, Montú *et al.* 1998, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010). Apesar disso, dados de produção secundária para este ambiente são escassos até o presente momento. Ávila *et al.* (2012) estimaram a produção secundária da comunidade geral através de métodos enzimáticos e matemáticos, enquanto Muxagata *et al.* (2012) publicaram valores de produtividade para o copépodo *A. tonsa* e,

nesse mesmo estudo, reforçaram a necessidade de quantificar a contribuição de *N. incompositus* para a produção local. Além disso, inexistem dados na literatura sobre a produtividade desta espécie nem tampouco para o gênero *Notodiaptomus*.

Sendo assim, o presente estudo teve como principal objetivo estimar a contribuição do copépodo de água doce *N. incompositus* para a produção secundária do ELP. Entretanto, uma vez que existem poucos dados na literatura acerca da biologia da espécie e que são de suma importância para calcular a produção secundária, foi necessário primeiramente identificar os estágios de desenvolvimento da espécie e estimar sua taxa de crescimento. Desta forma, a contribuição de cada estágio de desenvolvimento pôde ser quantificada e a produtividade de *N. incompositus* estimada.

Com o objetivo de esclarecer todos esses pontos, o estudo foi dividido em três capítulos. No primeiro capítulo, os estágios de desenvolvimento de *N. incompositus* (copepoditos e adultos) são identificados e descritos, e são apresentadas imagens geradas através de microscopia confocal das principais estruturas morfológicas. O segundo capítulo apresenta as taxas de crescimento estimadas pelo cultivo da espécie em laboratório, bem como outras informações a respeito da biologia reprodutiva da espécie, como o tempo médio de desenvolvimento, tempo médio de incubação dos ovos e taxa de eclosão dos ovos. Por fim, o terceiro capítulo apresenta valores de produtividade secundária de *N. incompositus* estimados utilizando os resultados obtidos nos capítulos antecedentes.

Devido ao exposto acima e a importância de *Notodiaptomus incompositus* no Estuário da Lagoa dos Patos, o presente estudo teve como objetivo principal estimar a contribuição da espécie na produtividade do ambiente de estudo, a fim de verificar a hipótese de que a espécie de interesse apresenta produção secundária tão alta quanto ou equiparada à reportada para o copépodo *Acartia tonsa*, uma vez que as espécies alternam sua ocorrência devido às oscilações de salinidade.

### 1.1 Objetivos gerais

- Descrever taxonomicamente os estágios de copepoditos (CI a CV) e adultos (CVI) machos e fêmeas de *Notodiaptomus incompositus*;
- Estimar a taxa de crescimento da espécie *Notodiaptomus incompositus* através do cultivo e produção de ovos em laboratório;
- Estimar a produção secundária da espécie *Notodiaptomus incompositus* no ELP.

### 1.2 Referências Bibliográficas

- ARA, K. 1998. Variabilidade temporal e produção dos copépodos no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia, São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado (Instituto de Oceanografia). Universidade de São Paulo, SP. 308p.
- ÁVILA, TR, AAS MACHADO & A BIANCHINI. 2012. Estimation of zooplankton secondary production in estuarine waters. Comparison between the enzymatic (chitobiase) method and mathematical methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 416/417: 144-152.
- CHISHOLM, LA & JC ROFF. 1990. Abundances, growth rates, and production of tropical neritic copepods off Kingston, Jamaica. *Mar. Biol.*, 106: 79-89.

- DOWNING, JA. 1984. Assessment of secondary production: the first step. In: DOWNING, JA. & FH RIGLER (Eds.). A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters (IBP Hand Book 17). Blackwell Scientific Publications, London. Chap. 1: 1-18.
- GONÇALVES, DA, SC MARQUES, AL PRIMO, F MARTINHO, MD BORDALO & MA PARDAL. 2015. Mesozooplankton biomass and copepod estimated production in a temperate estuary (Mondego estuary): effects of processes operating at different timescales. *Zool. Stud.*, 54:57: 1-12.
- JERLING, HL & TH WOOLDRIDGE. 1991. Population dynamics and estimates of production for the calanoid copepod *Pseudodiaptomus hessei* in a warm temperate estuary. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 33: 121-135.
- KAMINSKI, SM. 2009. Mesozooplâncton do Estuário da Lagos dos Patos e zona costeira adjacente com ênfase para os copépodos *Acartia tonsa*, *Pseudodiaptomus richardi* e *Notodiaptomus incompositus* (2000-2005). Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica). Universidade Federal do Rio Grande, RS. 139p.
- KIMMERER, WJ. 1987. The theory of secondary production calculations for continuously reproducing populations. *Limnol. Oceanogr.*, 32: 1-13.
- LALLI, CM & TR PARSONS. 1997. Biological Oceanography: An Introduction. Canada, Elsevier Butterworth-Heinemann, 320p.
- LAMPERT, W, W FLECKNER, H RAI & BE TAYLOR. 1986. Phytoplankton control by grazing zooplankton: a study on the spring clear-water phase. *Limnol. Oceanogr.*, 31(3): 478-490.

- LENZ, J. 2000. Introduction. In: HARRIS, RP, PH WIEBE, J LENZ, HR SKJOLDAL & M HUNTLEY (Eds.). ICES Zooplankton Methodology Manual. Academic Press, London. Chap 1: 1-30.
- MAUCHLINE, J. 1998. The Biology of Calanoid Copepods: Advances in Marine Biology. London, Academic Press, 710p.
- MONTÚ, M. 1980. Zooplâncton do Estuário da Lagoa dos Patos I – Estrutura e Variações Temporais e Espaciais da Comunidade. *Atlântica*, 4: 53-72.
- MONTÚ, M, AK DUARTE & IM GLOEDEN. 1998. Zooplâncton. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande. Cap. 4.9: 43-46.
- MUELBERT, JH, E MUXAGATA & SM KAMINSKI. 2010. As comunidades zooplanctônicas. In: SEELIGER, U & C ODEBRECHT (Eds.). O Estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações. FURG, Rio Grande. Cap. 6: 67-75.
- MUXAGATA, E, WJA AMARAL & CA BARBOSA. 2012. *Acartia tonsa* in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *ICES J. Mar. Sci.*, 69(3): 475-482.
- OMORI, M & T IKEDA. 1984. Methods in marine zooplankton ecology. New York, John Wiley & Sons, 332p.
- RAYMONT, JEG. 1983. Plankton and productivity in the oceans. Second Edition. Vol 2. Zooplankton. Oxford, Pergamon Press, 824p.
- RIGLER, FH & JA DOWNING. 1984. The calculation of secondary productivity. In: DOWNING, JA & FH RIGLER (Eds.). A manual on methods for the

assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell Scientific, Oxford. Chap 2: 19-58.

RUNGE, JA & JC ROFF. 2000. The measurement of growth and reproductive rates. In: HARRIS, RP, PH WIEBE, J LENZ, HR SKJOLDAL & M HUNTLEY (Eds.). ICES Zooplankton Methodology Manual. Academic Press, London. Chap 9: 401-454.

STEINBERG, DK, MW LOMAS & JS COPE. 2012. Long-term increase in mesozooplankton biomass in the Sargasso Sea: linkage to climate and implications for food web dynamics and biogeochemical cycling. *Glob. Biogeochem. Cycles*, 26: 1-16.

UYE, S, Y IWAI & K KASAHARA. 1983. Growth and production of the inshore marine copepod *Pseudodiaptomus marinus* in the central part of the Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.*, 73: 91-98.

## 2. CAPÍTULO I

**Descrição taxonômica do desenvolvimento pós-naupliar do copépodo  
*Notodiaptomus incompositus* Brian, 1925 (Copepoda - Diaptomidae)**

## **2.1 Introdução**

Copépodos Calanoida da família Diaptomidae são organismos de água doce, bem sucedidos e com ampla distribuição, representando um grande grupo planctônico com mais de 400 espécies em aproximadamente 50 gêneros (Dussart & Defaye 1983). Assim como muitos copépodos de outros ambientes, exercem um papel crucial na cadeia energética de ecossistemas de água doce, atuando como os principais consumidores primários do fitoplâncton e como alimento para organismos de níveis tróficos superiores (Margalef 1983). Na América do Sul, Brandorff (1976) reportou 20 espécies do gênero *Notodiaptomus*, mas em um trabalho mais recente, Suárez-Morales *et al.* (2005) atualizaram essa lista para 30 espécies.

Dentre as espécies deste gênero, *Notodiaptomus incompositus* foi descrito por Brian em 1925 (Brian 1925), sendo considerada uma espécie de água doce encontrada em lagoas, banhados, lagos de águas rasas e rios, na Argentina, no Uruguai e no sul do Brasil (Brandorff 1976). No Uruguai, a ocorrência desta espécie foi reportada no Lago Rodó, em Montevideo (Meerhoff *et al.* 2003, Lacerot *et al.* 2013) enquanto na Argentina, ela já foi encontrada no Rio de La Plata (Berasategui *et al.* 2006) e em diversos corpos de água no entorno de Buenos Aires, como no Lago San Miguel del Monte, Hoya del Plata, Los Padres, Alsina e na Lagoa do Planetarium onde são comumente encontrados em elevada densidade (Ringuelet 1962, Marinone *et al.* 1991, Claps *et al.* 2004, Wiegand & Escalante 2008, González-Sagrario &

Balseiro 2010). Além disso, Pilati (1997) reportou esta espécie na Província de La Pampa, enquanto Pecorari *et al.* (2006) o reportaram juntamente com mais sete espécies do gênero no Lago Setúbal na cidade de Santa Fé.

No sul do Brasil, existem estudos relatando a importância da espécie devido à sua abundância e contribuição para a biomassa total zooplancônica no Lago Itapeva – RS (Cardoso & Marques 2004, 2009), no reservatório de Itá – SC (Loureiro *et al.* 2011), na Lagoa dos Patos (Montú 1980, Montú & Gloeden 1986, Duarte *et al.* 1991, Montú *et al.* 1998, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010, Muxagata *et al.* 2012, Ortiz 2014) e nos lagos no entorno do Campus Carreiros da Universidade Federal do Rio Grande – FURG (Gloeden & Amaral 1990, Teixeira & Duarte 2005, Ortiz 2014).

Montú (1980) relatou a ocorrência de três espécies do gênero *Notodiaptomus* no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP), sendo elas *N. incompositus*, *N. amazonicus* (Wright 1935) e *N. carteri* (Lowndes 1934). Por sua vez, Duarte *et al.* 1991 verificaram que *N. incompositus* é o copépodo dominante nas regiões norte e central da Lagoa dos Patos, onde as condições límnicas e oligohalinas são predominantes. Já na porção sul, que abrange a totalidade do estuário, *N. incompositus* é o copépodo mais abundante em condições de baixa salinidade decorrentes dos períodos de vazante.

De acordo com Montú & Gloeden (1986), *N. incompositus* é uma espécie quase permanente no ELP, capaz de tolerar salinidade entre 0 e 31,5 (eurihalina) e temperaturas entre 13,5 e 29 °C (euritérmica). Em contrapartida, Kaminski *et al.* (2009) sugerem que a espécie seja oligohalina em virtude de sua baixa produção de ovos em salinidade 5 e baixa sobrevivência em

salinidades acima de 10. Apesar de sua importância ser reconhecida no ELP (Montú *et al.* 1998, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010, Muxagata *et al.* 2012), trabalhos sobre a sua biologia e desenvolvimento limitam-se a informações sobre características morfológicas e morfométricas de adultos (Montú & Gloeden 1986, Pilati 1997, Gazulha 2012 e Perbiche-Neves *et al.* 2015), produção de ovos sob influência de diferentes dietas e salinidades (Kaminski *et al.* 2009) e dados morfométricos e de biomassa de todos os estágios de copepodito da espécie (Ortiz 2014).

Até o presente momento, ainda não foi estudado o desenvolvimento morfológico de *Notodiaptomus incompositus* dos estágios iniciais de copepodito até a fase adulta. Além disso, não existem estudos disponíveis na literatura acerca dos estágios anteriores a fase adulta para o gênero. O ciclo de vida de copépodos calanoidas compreende 6 estágios naupliares, seguidos por 6 estágios de copepodito, no qual no último estágio o organismo pode ser diferenciado em adulto macho ou fêmea (Mauchline 1998). Desta forma, este Capítulo tem por objetivo identificar as principais características de cada estágio de desenvolvimento da espécie de *N. incompositus* uma vez que em muitos estudos, os copepoditos são agrupados como uma única unidade devido à falta de trabalhos que os diferenciem morfológicamente.

Para resolver esta carência, utilizamos a microscopia confocal de varredura a laser, que tem se mostrado uma técnica eficiente para a identificação de estruturas morfológicas de pequenos crustáceos, como os copépodos (Carotenuto 1999, Culverhouse *et al.* 2006, Michels 2007, Zerbil *et al.* 2007). A principal vantagem para utilização dessa técnica é a capacidade de

obtenção de imagens de materiais transparentes, através de fluorescência. Em aplicações tipicamente biológicas, como no estudo de células biológicas, desenvolvimento biológico e neurociência onde são empregados marcadores fluorescentes (Klaus & Schawaroch 2006). Entretanto, em uma série de estudos realizados com artrópodos (Klaus *et al.* 2003, Schawaroch *et al.* 2005, Klaus & Schawaroch 2006), foi demonstrada a autofluorescência dos organismos que possuem cutícula quitinosa. Levando em consideração que os copépodos apresentam cutícula externa de composição quitinosa (Mauchline 1998), esta ferramenta pode ser facilmente utilizada para o estudo taxonômico do zooplâncton.

### **2.1.1 Objetivos específicos**

- Descrever o desenvolvimento morfológico de copepoditos (CI – CVI) da espécie *Notodiaptomus incompositus*;
- Testar o método de microscopia confocal de varredura a laser para identificação de estruturas morfológicas de *N. incompositus*.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Preparação das lâminas de dissecação**

Para a descrição taxonômica, copepoditos (CI a CV) e adultos (CVI) machos e fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* foram selecionados das amostras coletadas através de arrastos horizontais com rede Bongo de 90 e 200 µm no Estuário da Lagoa dos Patos e no Lago Hoplias da FURG, e mantidas em formaldeído 4% neutralizado com Bórax. Posteriormente os organismos foram estagiados de acordo com o desenvolvimento dos apêndices

torácicos ou pereópodos (patas) proposto por Sabatini (1990) para o copépodo *Acartia tonsa*. Os copépodos foram imersos em glicerina e as patas (I, II, III, IV e V de copepoditos I a VI), urossoma (de copepoditos I a VI) e antenas (de machos e fêmeas) foram dissecados em lâminas com o auxílio de microscópio estereoscópico e agulhas. As peças dissecadas foram transferidas para uma lâmina onde uma pequena gota de glicerina foi colocada e coberta com uma lamínula, sendo fixada com o uso de esmalte incolor (solução de acetato etílico, álcool isopropílico e nitrocelulose). A Figura 1 apresenta resumidamente a localização da maioria das estruturas que foram dissecadas e descritas neste estudo.

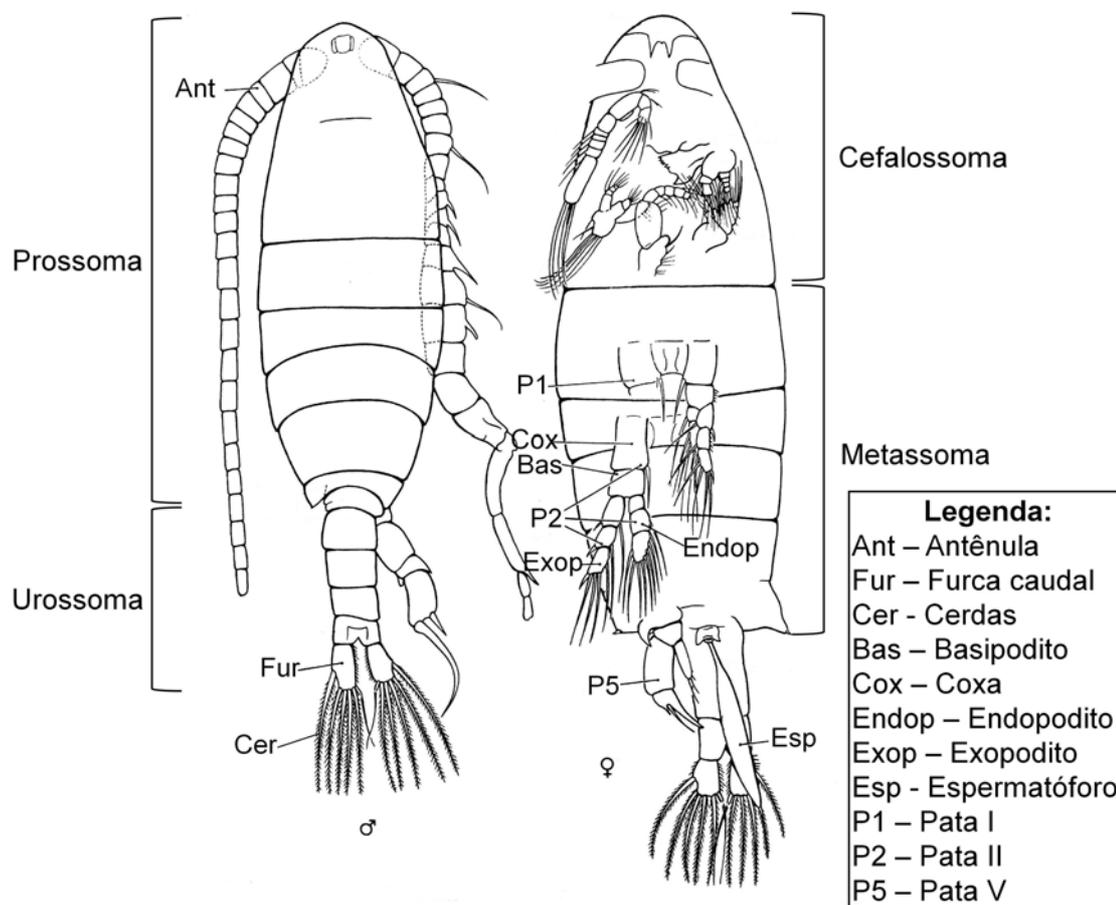


Figura 1: Desenho esquemático de um copépodo Calanoida mostrando as estruturas morfológicas que são mencionadas e descritas (modificado de Dussart & Defaye, 1983).

Além disso, foram tomadas medidas de comprimento total (parte anterior até a furca caudal, sem considerar as cerdas - CT), comprimento do prossoma (CP) e largura do prossoma (LP) dos organismos para estimar o intervalo de tamanho de cada estágio de desenvolvimento. As medições foram realizadas com o auxílio de microscópio estereoscópico (Olympus SZ40) provido de escala micrométrica ( $\pm 25 \mu\text{m}$ ) acoplada na ocular.

### 2.2.2 Imagens de Microscopia Confocal de Varredura a Laser

As imagens das peças fixadas foram feitas utilizando-se um Microscópio Confocal Invertido de Varredura a Laser (Leica TCS SP8) com onda de excitação de 488 nm e de emissão detectada de 500-580 nm sob aumentos de 10x, 20x e 40x de acordo com o tamanho da estrutura de interesse. Todas as imagens obtidas foram geradas no Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME-SUL) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG (Fig. 2).

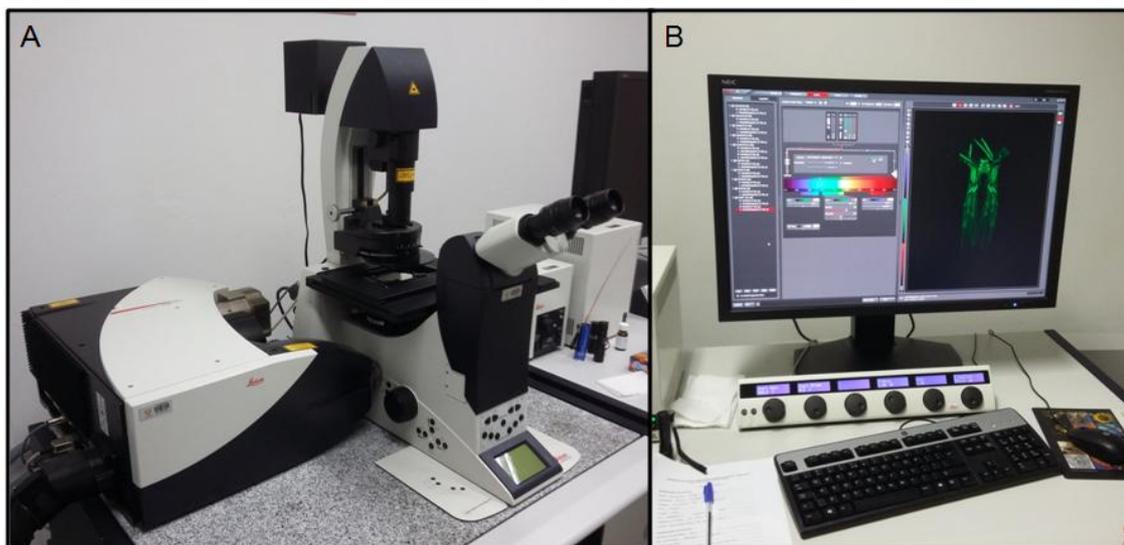


Figura 2: A - Microscópio Confocal Invertido de Varredura a Laser do Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME-SUL) na Universidade Federal do Rio Grande – FURG; B – Imagem gerada durante as análises realizadas no presente estudo.

## 2.3 Resultados

As medidas morfométricas de todos os estágios de desenvolvimento de *Notodiptomus incompositus* estabelecidas com base em 2.815 indivíduos medidos serão apresentadas juntamente com as características morfológicas do desenvolvimento do urossoma, patas e das antênulas nos adultos. As patas estão descritas na ordem anterior para a posterior, e os segmentos proximais antes dos distais. Espinhos e cerdas do lado externo de cada segmento são descritos antes dos segmentos internos e o símbolo + é utilizado para designar grupos separados de cerdas (Sabatini 1990).

**Copepodito I:** Comprimento total:  $413,86 \pm 31,06 \mu\text{m}$  (325 – 475); Comprimento do prossoma:  $319,67 \pm 23,60 \mu\text{m}$  (250 – 375); Largura do prossoma:  $127,07 \pm 8,33 \mu\text{m}$  (100 – 150). O metassoma possui três somitos e o urossoma dois somitos com 4 cerdas plumosas em cada ramo caudal, sendo 2 delas bem curtas (Fig. 3a). Apresentam duas patas (apêndices torácicos ou pereópodos), nos primeiros somitos do metassoma. **Pata I** – exopodito possui dois segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 espinho externo e 3 + 1 cerdas. Endopodito apresenta um segmento, com 4 + 1 cerdas (Fig. 3b). **Pata II** – exopodito possui dois segmentos; exop. I: nenhuma característica identificada; exop. II: 1 espinho externo e 3 + 1 cerdas. Endopodito apresenta um segmento, com 3 + 1 cerdas (Fig. 3c).

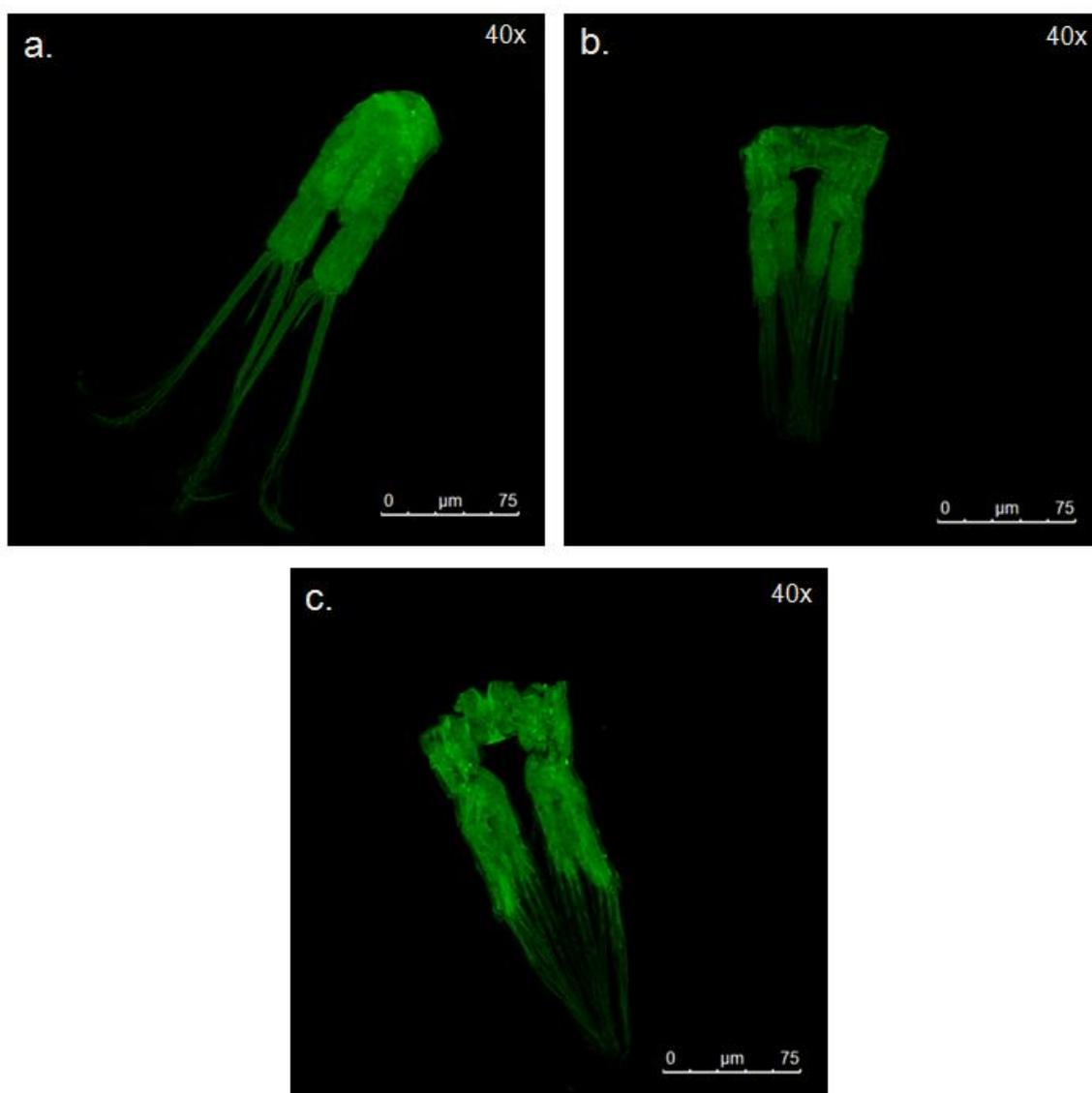


Figura 3: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito I de *Notodiaptomus incompositus* – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II.

**Copepodito II:** Comprimento total:  $515,33 \pm 35,10 \mu\text{m}$  (400 – 600); Comprimento do prossoma:  $395,43 \pm 22,86 \mu\text{m}$  (325 – 450); Largura do prossoma:  $150,15 \pm 8,59 \mu\text{m}$  (125 – 175). O metassoma possui quatro somitos e o urossoma dois somitos com 5 cerdas plumosas em cada ramo caudal, sendo a interna e a externa bem curtas (Fig. 4a). Apresentam três patas nos três primeiros somitos do metassoma. **Pata I** – exopodito possui dois segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 espinho externo e 4 + 1

cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 3 + 2 cerdas (Fig. 4b). **Pata II** – exopodito possui dois segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 espinho e 3 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: nenhuma característica identificada; endop. II: 3 + 1 cerdas. Além disso, é possível visualizar uma cerda plumosa na coxa (Fig. 4c). **Pata III** – idêntica a Pata II, mas a coxa não apresenta cerdas (Fig. 4d).

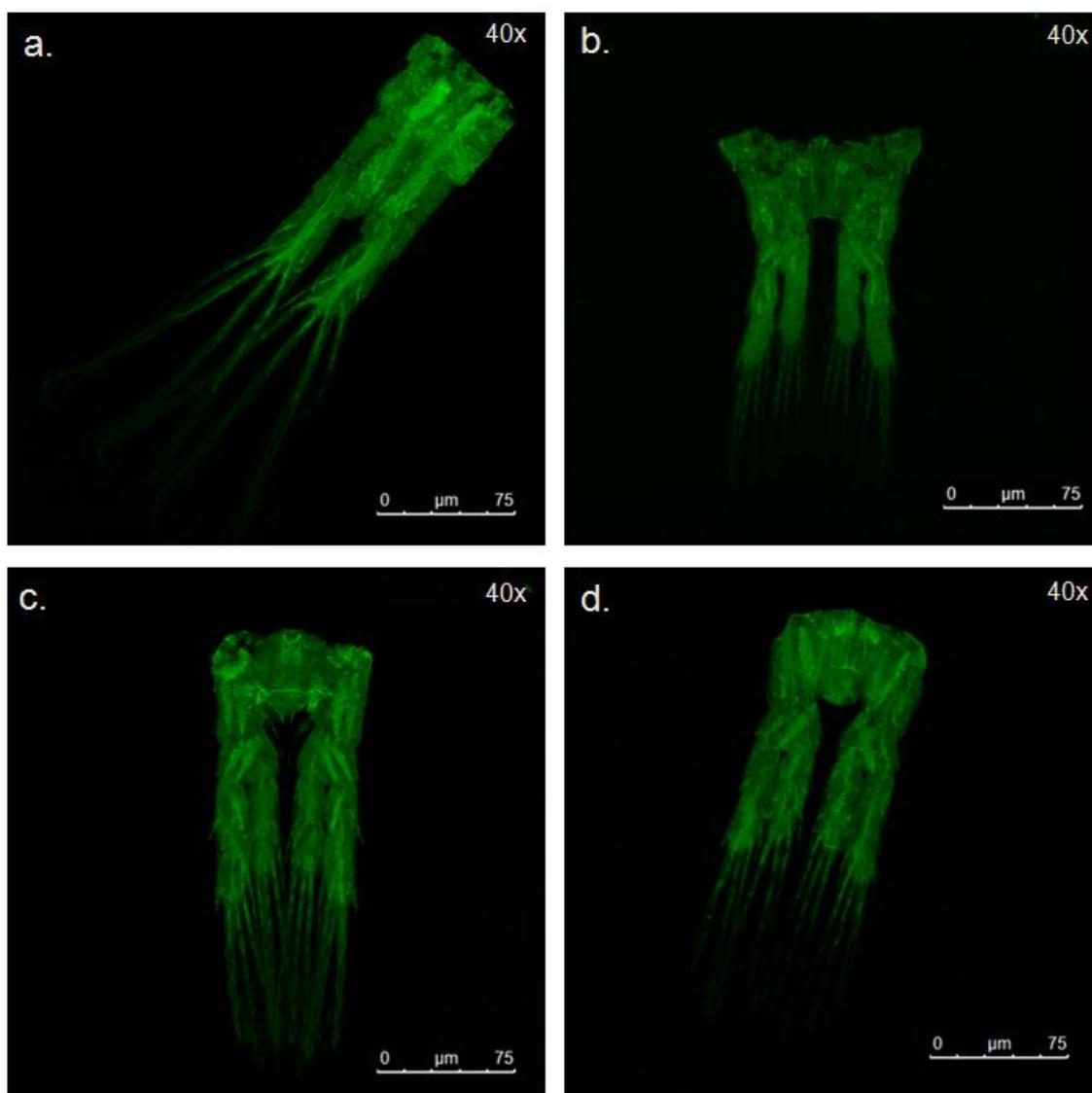


Figura 4: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito II de *Notodiptomus incompositus* – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III.

**Copepodito III:** Comprimento total:  $600,86 \pm 40,44 \mu\text{m}$  (475 – 675); Comprimento do prossoma:  $467,93 \pm 28,30 \mu\text{m}$  (375 – 525); Largura do prossoma:  $171,40 \pm 10,42 \mu\text{m}$  (150 – 200). O metassoma possui cinco somitos e o urossoma dois somitos com 6 cerdas plumosas em cada ramo caudal, sendo a interna e a externa bem curtas (Fig. 5a). Apresentam quatro patas nos quatro primeiros somitos do metassoma.

**Pata I** – exopodito possui dois segmentos; exop. I: 1 espinho externo e 1 cerda; exop. II: 1 espinho externo e 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 1 + 3 + 2 cerdas. A coxa possui 1 cerda plumosa (Fig. 5b). **Pata II** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 espinho externo; exop. III: 1 espinho externo e 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 1 + 4 cerdas. É possível visualizar 1 cerda plumosa na coxa (Fig. 5c). **Pata III** – exopodito possui dois segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 espinho externo e 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 3 + 1 cerdas. É possível visualizar 1 cerda plumosa na coxa (Fig. 5d). **Pata IV** – idêntica a Pata III, mas a coxa não apresenta cerdas (Fig. 5e).

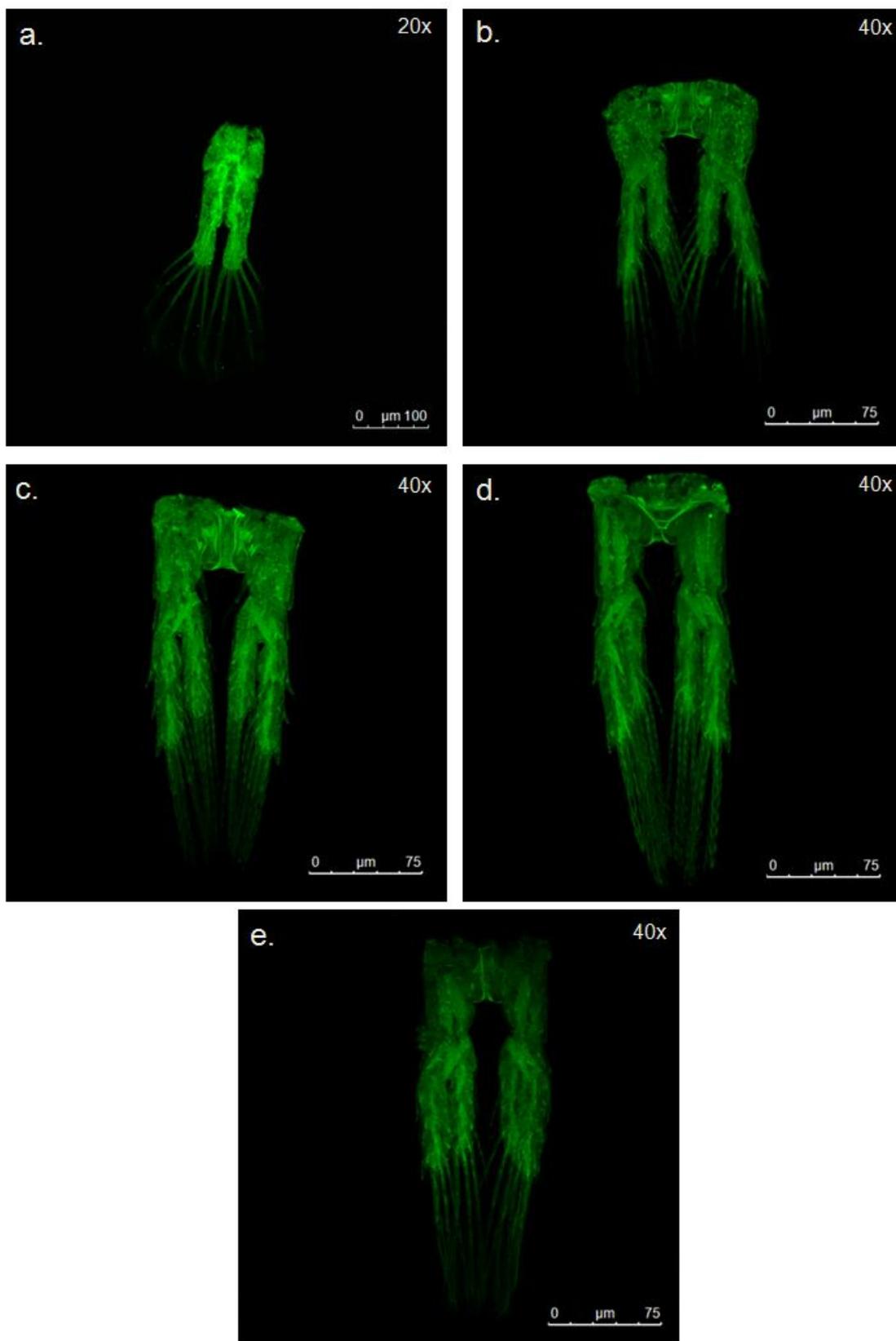


Figura 5: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito III de *Notodiaptomus incompositus* – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III; e. Pata IV.

**Copepodito IV:** Comprimento total:  $715,98 \pm 62,97 \mu\text{m}$  (600 – 875); Comprimento do prossoma:  $556,86 \pm 42,70 \mu\text{m}$  (450 – 650); Largura do prossoma:  $200,05 \pm 21,00 \mu\text{m}$  (175 – 250). O metassoma possui cinco somitos e o urossoma três somitos com 6 cerdas plumosas em cada ramo caudal, sendo a interna bem curta (Fig. 6a). Apresentam cinco patas em todos os somitos do metassoma.

**Pata I** – exopodito possui dois segmentos; exop. I: 1 espinho externo e 1 cerda; exop. II: 1 espinho externo e 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 1 + 3 + 2 cerdas. A coxa possui 1 cerda plumosa (Fig. 6b). **Patras II, III e IV** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 espinho externo e 1 cerda; exop. III: 1 espinho externo e 1 cerda serrada + 3 + 1 cerdas. Endopodito apresenta três segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 2 cerdas; endop. III: 2 + 3 + 1 cerdas. É possível visualizar 1 cerda plumosa na coxa (Fig. 6c, d, e). **Pata V** – exopodito possui um segmento com dois espinhos apicais e o endopodito é reduzido (Fig. 6f).

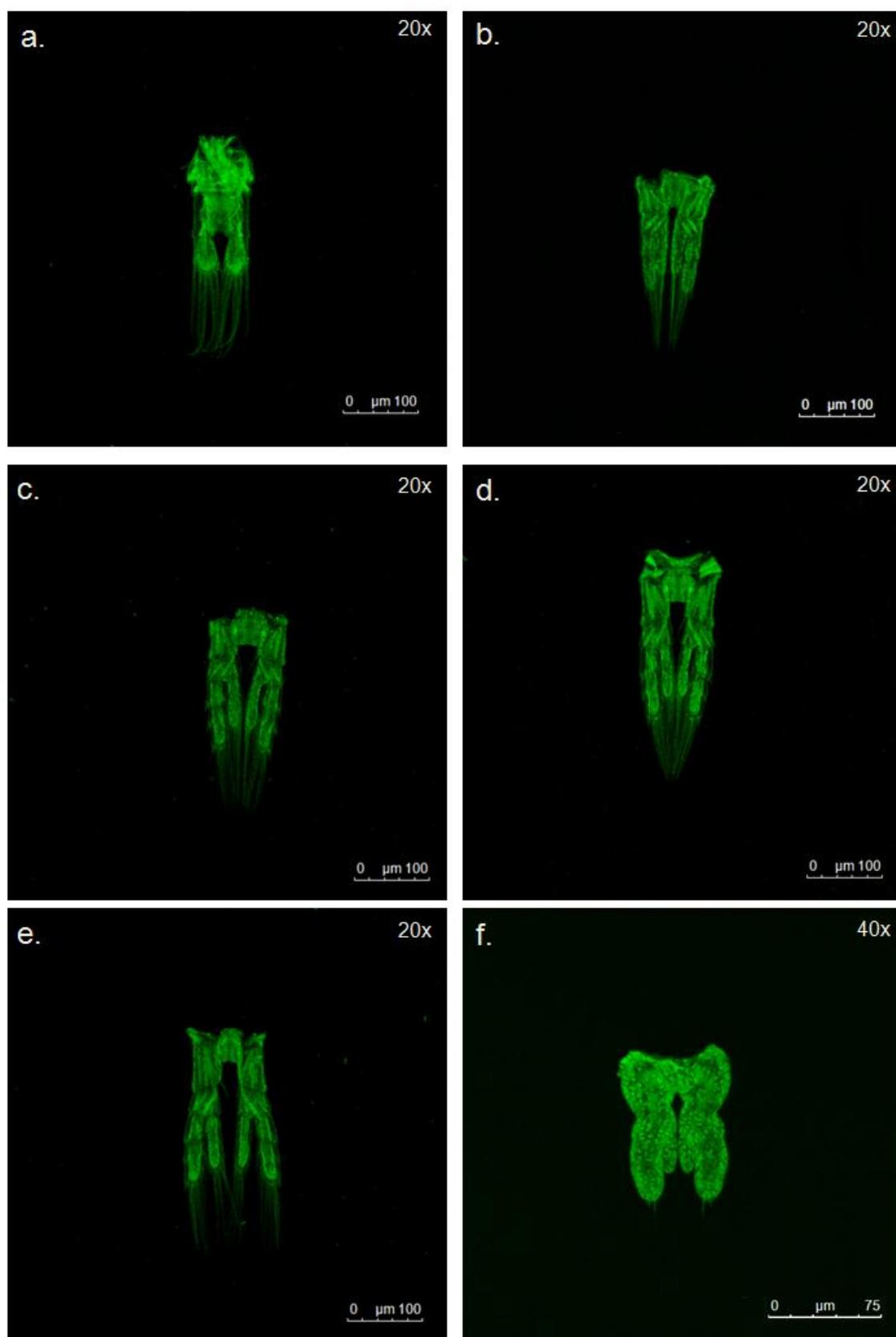


Figura 6: Imagens confocais de apêndices retirados do Copepodito IV de *Notodiptomus incompositus* - a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III; e. Pata IV; f. Pata V.

**Copepodito V:** Comprimento total:  $911,60 \pm 68,35 \mu\text{m}$  (725 – 1050); Comprimento do prossoma:  $690,42 \pm 48,60 \mu\text{m}$  (575 – 800); Largura do prossoma:  $246,42 \pm 17,64 \mu\text{m}$  (200 – 300). O metassoma é similar ao estágio anterior, com 5 somitos. O urossoma das fêmeas apresenta 3 somitos, o segundo bastante pequeno em relação aos demais e cada ramo da furca caudal apresenta 6 cerdas plumosas (Fig. 7a). No macho o urossoma apresenta 4 somitos e, assim como nas fêmeas, cada ramo da furca caudal apresenta 6 cerdas plumosas (Fig. 7b). Apresentam cinco patas em todos os somitos do metassoma, sendo que os quatro primeiros pares de patas são similares em ambos os sexos.

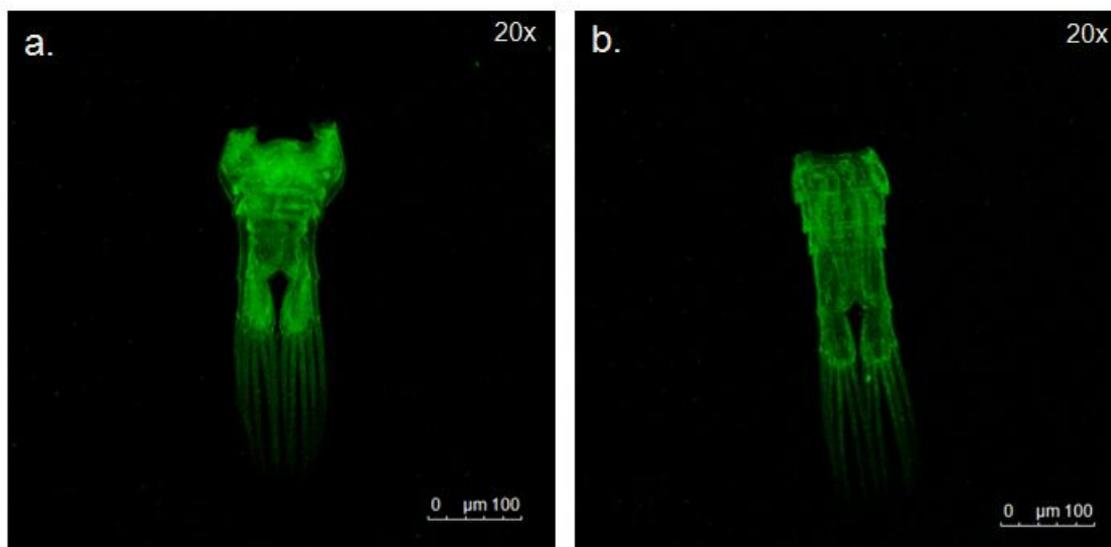


Figura 7: Imagens confocais de urosomas retirados de Copepoditos V de *Notodiaptomus incompositus* – a. Urossoma de fêmea; b. Urossoma de macho.

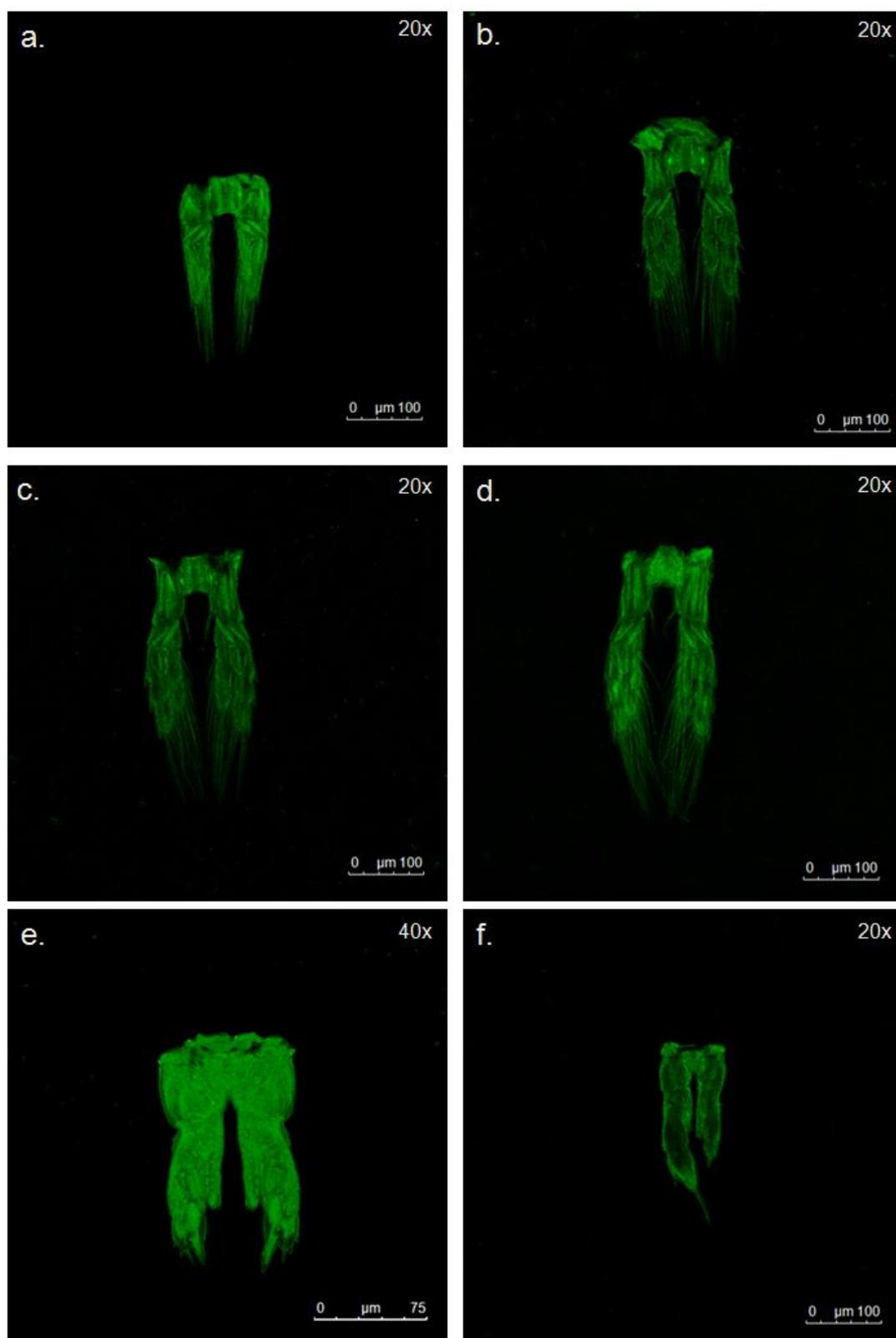


Figura 8: Imagens confocais de patas retiradas de Copepoditos V de *Notodiptomus incompositus* – a. Pata I; b. Pata II; c. Pata III; d. Pata IV; e. Pata V de fêmea; f. Pata V de macho.

**Pata I** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 cerda; exop. III: 1 espinho externo e 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 1 + 3 + 26 cerdas. A coxa possui 1 cerda plumosa (Fig. 8a). **Patas II, III e IV** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo e 1 cerda; exop. II: 1 espinho externo e 1 cerda; exop. III: 1 espinho externo e 1 cerda serrada + 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito com três segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 2 cerdas; endop. III: 2 + 3 + 2 cerdas, sendo que as 2 próximas ao exopodito são bastante pequenas. Presença de 1 cerda plumosa na coxa (Figs. 8b, c, d). **Pata V** – Nas fêmeas as patas são simétricas, o exopodito apresenta um segmento terminando com 1 espinho grande e mais 3 pequenos espinhos e o endopodito é reduzido (Fig. 8e). Nos machos as patas são assimétricas, o exopodito possui três segmentos e o endopodito é reduzido em ambos os lados. Porém, o ramo direito é maior e apresenta 2 espinhos terminais no exopodito III, sendo que o espinho do ápice é mais longo e forte. O ramo esquerdo também apresenta 2 pequenos espinhos no exopodito III (Fig. 8f).

**Macho:** Comprimento total:  $1026,16 \pm 44,58 \mu\text{m}$  (875 – 1100); Comprimento do prossoma:  $740,40 \pm 28,20 \mu\text{m}$  (625 – 825); Largura do prossoma:  $260,67 \pm 12,38 \mu\text{m}$  (250 – 275). O metassoma possui 5 somitos. O urossoma do macho apresenta cinco somitos de tamanhos aproximados, e a furca caudal apresenta 6 cerdas plumosas, a interna muito pequena (Fig. 9a). A antênula direita é diferenciada, possui 25 segmentos, na qual é possível observar espinhos nos segmentos 7, 9, 10, 14, 15 e 16, um grande espinho no segmento 13 e um espinho curvo no segmento 23 (Fig. 10a, b).

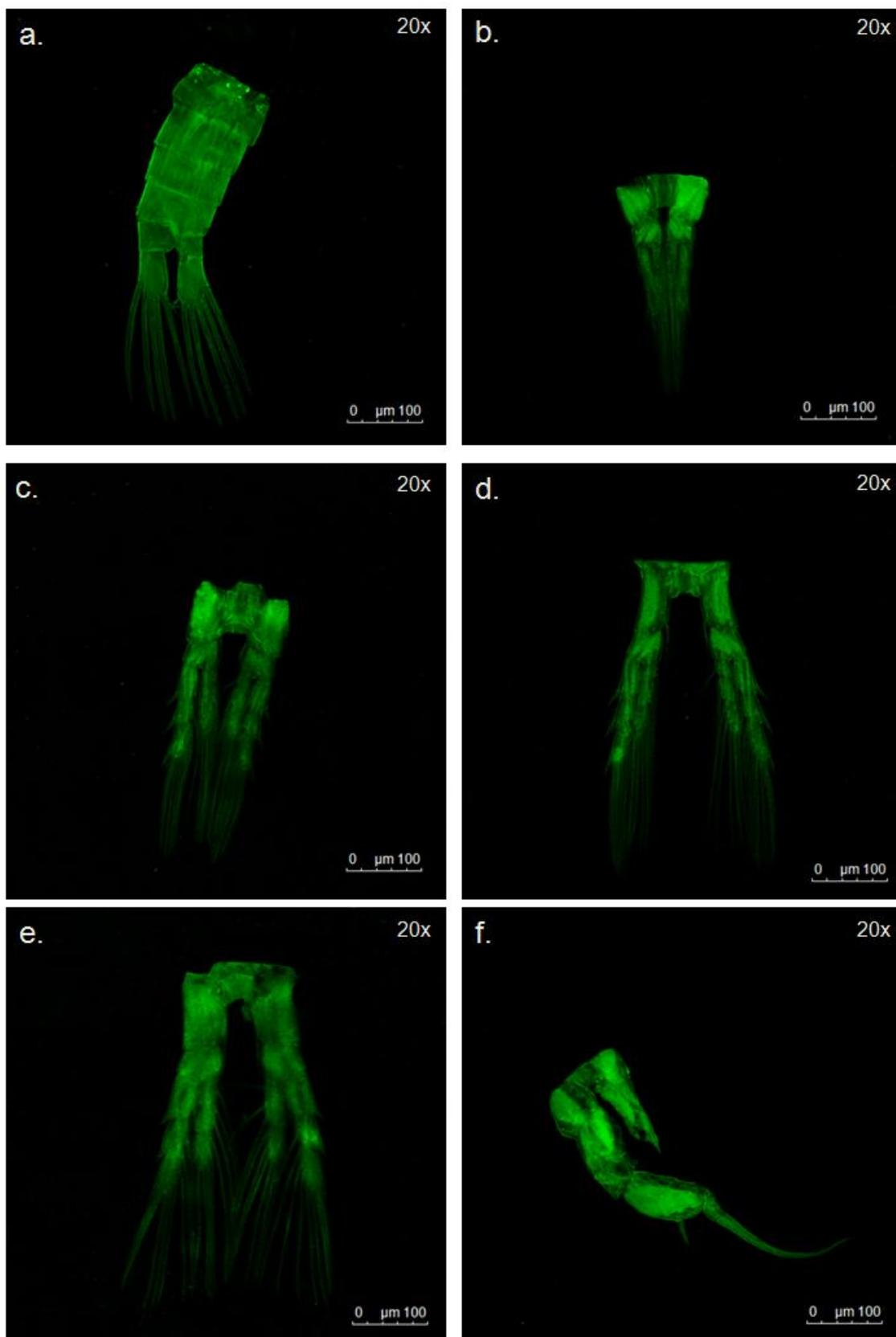


Figura 9: Imagens confocais de apêndices retiradas de Copepodito VI (Macho) de *Notodiaptomus incompositus* – a. Urossoma; b. Pata I; c. Pata II; d. Pata III; e. Pata IV; f. Pata V.

**Pata I** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 cerda; exop III: 1 espinho externo e 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 1 + 3 + 2 cerdas. Além disso, é possível visualizar a presença de 1 cerda plumosa na coxa (Fig. 9b). **Patas II, III e IV** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo e 1 cerda; exop II: 1 espinho externo e 1 cerda; exop. III: 1 espinho externo e 1 cerda serrada + 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito com três segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 2 cerdas; endop. III: 2 + 3 + 2 cerdas, sendo que as 2 próximas ao exopodito são bastante pequenas. Presença de 1 cerda plumosa na coxa (Fig. 9c, d, e). **Pata V** – ramo direito: exopodito possui três segmentos, onde é possível visualizar no exopodito III 1 grande espinho no ápice e outro pequeno, e o endopodito é reduzido; ramo esquerdo: exopodito possui três segmentos, onde é possível visualizar no exopodito III 1 espinho terminal, e o endopodito é reduzido (Fig. 9f).

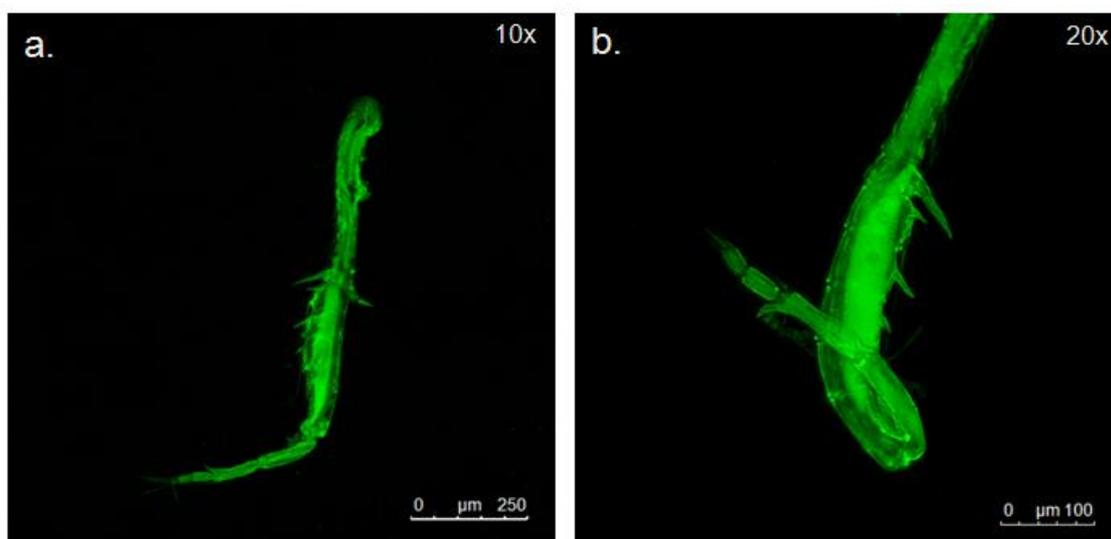


Figura 10: Imagens confocais da antênula direita de Copepodito VI (Macho) de *Notodiptomus incompositus* – a. Antênula direita completa; b. Detalhe ampliado da geniculação da antênula.

**Fêmea:** Comprimento total:  $1140,55 \pm 68,46 \mu\text{m}$  (900 – 1250); Comprimento do prossoma:  $880,96 \pm 54,40 \mu\text{m}$  (675 – 950); Largura do prossoma:  $303,30 \pm$

16,58  $\mu\text{m}$  (250 – 350). O metassoma possui 5 somitos, sendo que no último somito torácico é possível visualizar expansões laterais terminadas em espinhos. O urossoma apresenta três somitos, sendo o somito genital consideravelmente maior que os outros. A furca caudal possui 6 cerdas plumosas cada (Fig. 11a, b). A antênula possui 25 segmentos, todos com cerdas de tamanhos variados (Fig. 11c).

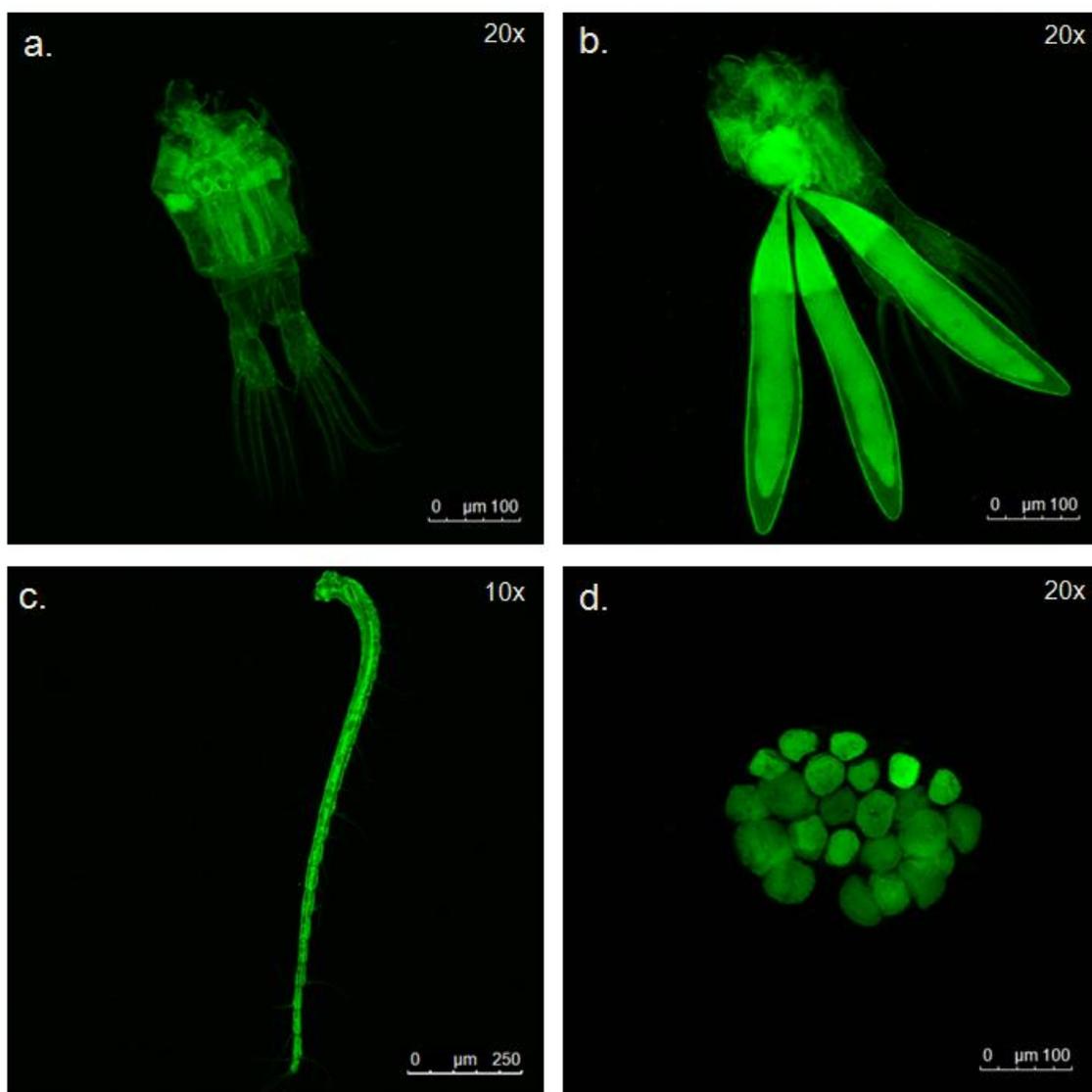


Figura 11: Imagens confocais de apêndices e estruturas retiradas de Copepodito VI (Fêmea) de *Notodiptomus incompositus* – a. Urossoma; b. Urossoma com espermatóforos; c. Antênula esquerda; d. Saco ovífero.

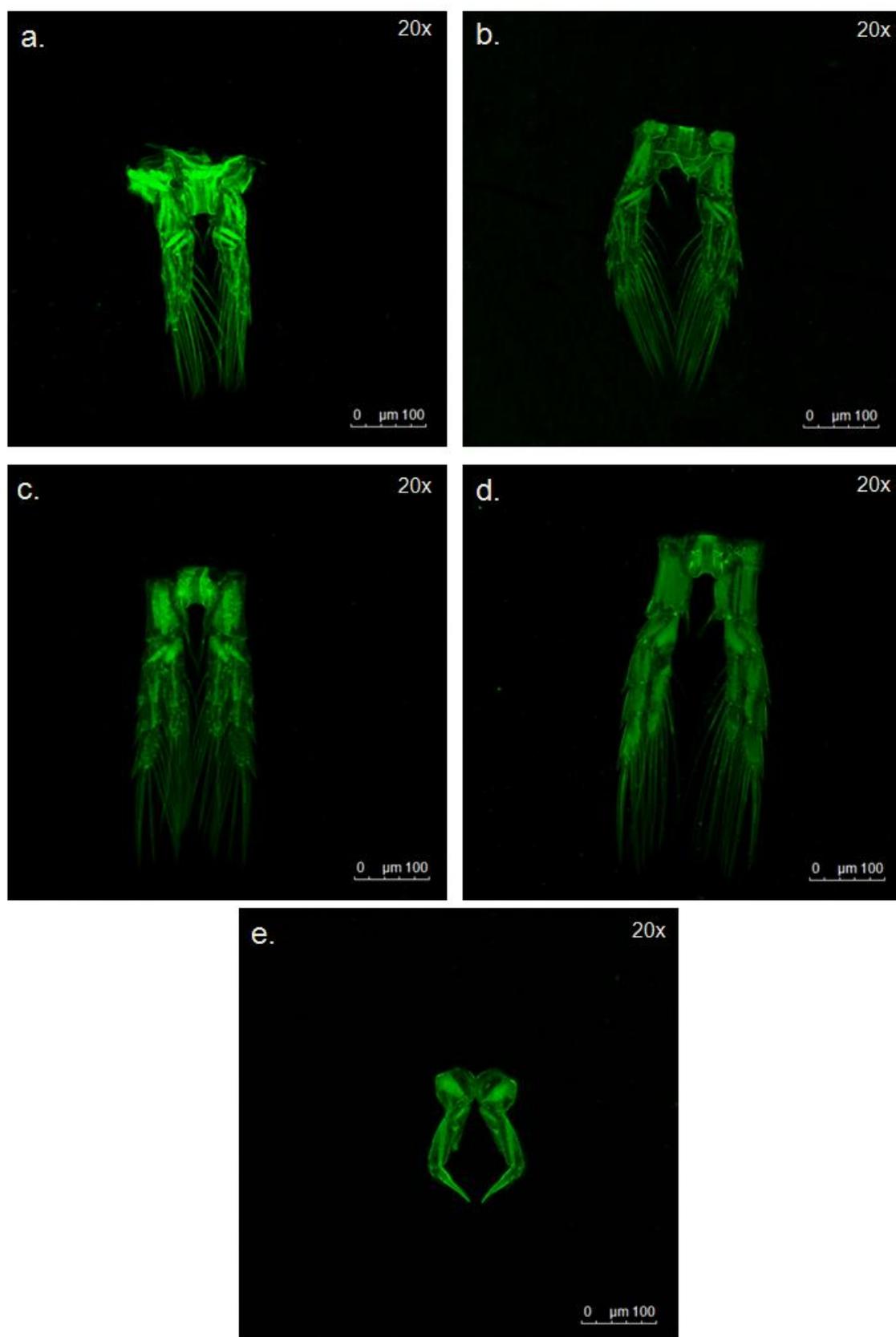


Figura 12: Imagens confocais de patas retiradas de Copepodito VI (Fêmea) de *Notodiptomus incompositus* – a. Pata I; b. Pata II; c. Pata III; d. Pata IV; e. Pata V.

**Pata I** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo; exop. II: 1 cerda; exop III: 1 espinho externo e 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito apresenta dois segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 1 + 3 + 2 cerdas. Além disso, é possível visualizar a presença de 1 cerda plumosa na coxa (Fig. 12a). **Patas II, III e IV** – exopodito possui três segmentos; exop. I: 1 espinho externo e 1 cerda; exop II: 1 espinho externo e 1 cerda; exop. III: 1 espinho e 1 cerda serrada + 3 + 1 + 1 cerdas. Endopodito com três segmentos; endop. I: 1 cerda; endop. II: 2 cerdas; endop. III: 2 + 3 + 2 cerdas, sendo que as 2 próximas ao exopodito são bastante pequenas. Presença de 1 cerda plumosa na coxa (Fig. 12b, c, d). **Pata V** – exopodito com três segmentos de difícil distinção, onde é possível visualizar um grande espinho e outro pequeno no exopodito III. Endopodito é reduzido (Fig. 12e).

De forma a sintetizar a informação, no Apêndice I encontram-se as medidas morfométricas de cada um dos estágios de copepodito, bem como as características morfológicas adquiridas a cada estágio.

## 2.4 Discussão

### 2.4.1 Considerações acerca da metodologia empregada

A técnica de microscopia confocal permitiu visualizar a morfologia das patas, antênulas e urossoma de copepoditos e adultos de *Notodiptomus incompositus*. Entretanto a visualização de estruturas menores nos primeiros estágios de copepodito, principalmente entre os estágios I e III, não apresentaram a nitidez desejada. Isto provavelmente ocorreu devido a um decréscimo na intensidade do sinal fluorescente emitido pelas pequenas estruturas. Sendo assim, seria interessante para futuros trabalhos utilizando

este equipamento ajustar o método ou até mesmo nesses casos empregar marcadores fluorescentes comumente utilizados em copépodos (Carotenuto 1999, Zirbel *et al.* 2007, Dahms & Hwang 2010) para identificação de estruturas menores. Entretanto, para os últimos estágios de desenvolvimento, em especial para machos e fêmeas, as imagens geradas permitiram uma clara visualização de espinhos e cerdas.

Apesar da pouca resolução apresentada pelas imagens dos primeiros estágios de desenvolvimento, a microscopia confocal de varredura a laser tem se mostrado uma ferramenta muito útil para uma ampla variedade de aplicações biológicas. A autofluorescência cuticular foi demonstrada e descrita para a visualização de pequenas estruturas em insetos, como mosquitos, moscas, baratas e pequenos insetos de plantas com sucesso em diversos trabalhos (Klaus *et al.* 2003, Schawaroch *et al.* 2005, Klaus & Schawaroch 2006). Em crustáceos, a técnica de microscopia confocal foi utilizada em combinação com marcadores fluorescentes para investigação da inervação de antênulas de copépodos (Bundy & Paffenhofer 1993), para o estudo do desenvolvimento biológico do copépodo marinho *Calanus helgolandicus* (Buttino *et al.* 2003), de larvas do decápodo *Hippolyte inermis* (Zupo & Buttino 2001) e no estudo da morfologia dos estágios naupliares do copépodo *Temora stylifera* (Carotenuto 1999).

Michels (2007) examinou a eficácia da autofluorescência cuticular para a visualização da morfologia de copépodos e obteve informações bastante acuradas de estruturas diminutas, como detalhes em pequenas cerdas. Além disso, o autor enfatizou a adequabilidade de copépodos para utilização em

microscopia confocal, uma vez que apresentam todos os principais requisitos que a técnica impõe: pequeno tamanho, são transparentes e apresentam autofluorescência, sem que haja a necessidade de um marcador adequado, diminuindo assim os custos.

Além disso, os organismos e estruturas dissecados não são afetados pelo método de preparação das lâminas, pois é preciso apenas que sejam depositados em uma pequena quantidade de glicerina e cobertos com uma lamínula. Desta forma, a microscopia confocal pode ser considerada interessante para estudos taxonômicos e uma alternativa a métodos que tomam mais tempo de preparação das amostras, como a microscopia eletrônica de varredura (MEV), que ainda correm o risco de danificar as estruturas durante o processo de secagem com álcool.

#### **2.4.2 Desenvolvimento pós naupliar de *Notodiptomus incompositus***

De uma maneira geral, copepoditos e adultos de *Notodiptomus incompositus* apresentaram a morfologia corpórea característica encontrada em copépodos calanoidas (Mauchline 1998). Copepoditos do estágio I apresentam dois pares de patas (apêndices locomotores ou pereópodos) no tórax, sendo que um novo par de patas é desenvolvido (acrescido) a cada muda realizada até o estágio de Copepodito IV. A partir desse estágio (CIV) até a fase adulta (CVI) os indivíduos permanecem com 5 pares de patas. Devido à carência de literatura especializada sobre *N. incompositus*, e uma vez que o desenvolvimento dos apêndices se mostrou similar à espécie *Acartia tonsa*, optou-se por seguir o desenvolvimento dos estágios de copepodito proposto por Sabatini (1990) para essa espécie. Durante o seu desenvolvimento até a

fase adulta, são acrescentados segmentos, bem como cerdas e espinhos nas patas, além da diferenciação nos somitos do urossoma e do metassoma. A distribuição e número de cerdas e espinhos nas patas de copépodos, assim como sua morfologia, são muito importantes na identificação de famílias, gêneros e espécies (Mauchline 1998).

Os machos e fêmeas de *N. incompositus* apresentam os quatro primeiros pares de patas idênticos e localizados nos quatro somitos iniciais do metassoma. Já o quinto par de patas é totalmente diferente e permite diferenciar os sexos. Este fato é comumente observado em copépodos, com as fêmeas apresentando o quinto par de patas consideravelmente reduzido em tamanho, enquanto os machos possuem a pata V bem desenvolvida em tamanho e estrutura, com função reprodutiva. Porém, em algumas famílias de Copepoda esse padrão é completamente diferente como, por exemplo, na família Calanidae na qual o quinto par de patas é similar aos demais. Já em outras famílias, como Aetideidae e Euchaetidae, o quinto par é geralmente ausente nas fêmeas e modificado nos machos (Mauchline 1998).

No presente estudo observou-se a diferenciação sexual em machos e fêmeas de *N. incompositus* a partir do estágio de Copepodito V (CV) com a modificação do quinto par de patas. No caso de espécies do gênero *Notodiptomus*, ainda inexistem trabalhos disponíveis na literatura a respeito do ciclo de vida e desenvolvimento pós-embriônico. Segundo Mauchline (1998), a identificação do sexo de copépodos da família Calanidae é muitas vezes impraticável até a fase adulta. Grigg *et al.* (1987) por sua vez verificaram que não é possível observar diferenciação morfológica além do tamanho do

prossoma em copepoditos do estágio V de *Calanus finmarchicus* e *C. helgolandicus*, e que aqueles organismos com o prossoma maior tornavam-se adultos machos. Entretanto diversos autores já reportaram a diferenciação entre machos e fêmeas a partir do estágio de copepodito IV (Trujillo-Ortiz 1986, Sabatini 1990). Este fato já foi reportado para *Pseudodiaptomus annandalei* por Golez *et al.* (2004), para *Pseudodiaptomus acutus*, *Paracalanus crassirostris*, *P. quasimodo*, *Temora turbinata*, *Labidocera fluviatilis* e *Euterpina acutifrons* por Ara (1998), assim como para diversas espécies do gênero *Acartia* (Durbin & Durbin 1981, Trujillo-Ortiz 1986, Sabatini 1990, Ara 1998, Leandro *et al.* 2006a, 2006b).

Outra estrutura que permite a fácil diferenciação de machos e fêmeas de *N. incompositus* são as antênulas, sendo que os machos apresentam uma geniculação na antênula direita que, assim como a quinta pata modificada, auxilia na reprodução. Já a antênula esquerda é similar àquela da fêmea. Já em relação à segmentação observada nas antênulas de machos e fêmeas de *N. incompositus* (25 segmentos), esse valor é comumente encontrado em copépodos calanoidas (Mauchline 1998).

## **2.5 Conclusão**

O presente capítulo apresentou pela primeira vez o desenvolvimento morfológico de copepoditos da espécie de água doce *N. incompositus* até a fase adulta. As principais mudanças observadas durante o desenvolvimento dos organismos foram a adição de novos pares de patas até o estágio IV, o aumento da segmentação do metassoma, do urossoma e das patas e a adição de novas cerdas e espinhos, permitindo uma clara distinção dos estágios

utilizando-se estas estruturas. Os copepoditos são versões pequenas dos organismos adultos que aumentam seu tamanho até a fase adulta, alcançando o tamanho máximo nas fêmeas. Além disso, é possível diferenciar os sexos a partir do estágio V, tanto pelo número de somitos do urossoma, como pela diferenciação do quinto par de patas.

## 2.6 Referências Bibliográficas

- ARA, K. 1998. Variabilidade temporal e produção dos copépodos no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia, São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado, Instituto de Oceanografia, Universidade de São Paulo, SP, 308p.
- BERASATEGUI, AD, SM MARQUE, M GÓMEZ-ERACHE, FC RAMÍREZ, HW MIANZAN & EM ACHA. 2006. Copepod assemblages in a highly complex hydrographic region. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 66: 483-492.
- BRANDORFF, G. 1976. The geographic distribution of the Diaptomidae in South America (Crustacea, Copepoda). *Rev. Bras. Biol.*, 36(3): 613-627.
- BRIAN, A. 1925. Di alcuni copepodi d'acqua dolce dell'Argentina. *Mem. Soc. Entomol. Ital.*, 4: 177-200.
- BUNDY, MH & GA PAFFENHÖFER. 1993. Innervation of copepod antennules investigated using laser scanning confocal microscopy. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 102: 1-14.
- BUTTINO, I, A IANORA, Y CAROTENUTO, V ZUPO & A MIRALTO. 2003. Use of the confocal laser scanning microscope in studies on the developmental biology of marine crustaceans. *Micros. Res. Tech.*, 60: 458-464.

- CARDOSO, LS & DM MARQUES. 2004. Structure of the zooplankton community in a subtropical shallow lake (Itapeva Lake – South of Brazil) and its relationship to hydrodynamic aspects. *Hydrobiologia*, 518: 123-134.
- CARDOSO, LS & DM MARQUES. 2009. Hydrodynamics-driven plankton community in a shallow lake. *Aquat. Ecol.*, 43: 73-84.
- CAROTENUTO, Y. 1999. Morphological analysis of larval stages of *Temora stylifera* (Copepoda, Calanoida) from the Mediterranean Sea. *J. Plankton Res.*, 21: 1613-1632.
- CLAPS, MC, NA GABELLONE & HH BENÍTEZ. 2004. Zooplankton biomass in an eutrophic shallow lake (Buenos Aires, Argentina): spatio-temporal variations. *Int. J. Lim.*, 40(3): 201-210.
- CULVERHOUSE, PF, R WILLIAMS, M BENFIELD, PR FLOOD, AF SELL, MG MAZZOCCHI, I BUTTINO & M SIERACKI. 2006. Automatic image analysis of plankton: future perspectives. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 312: 297-309.
- DAHMS, HU & JS HWANG. 2010. Perspectives of underwater optics in biological oceanography and plankton ecology studies. *J. Mar. Sci. Technol.*, 18(1): 112-121.
- DUARTE, AK, I GLOEDEN & CJ RESGALLA. 1991. Fluctuações espaciais e temporais da comunidade zooplanctônica da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). *Biol. Acuát.*, 15: 126-127.

- DURBIN, AG & EG DURBIN. 1981. Standing stock and estimated production rates of phytoplankton and zooplankton in Narragansett Bay, Rhode Island. *Estuaries*, 4(1): 24-41.
- DUSSART, BH & D DEFAYE. 1983. Répertoire mondial des Crustacés Copépodes eaux intérieures. I. Calanoides. Paris, CNRS. 224 p.
- GAZULHA, V. 2012. Zooplâncton límnico: manual ilustrado. Rio de Janeiro, Technical Books. 151 p.
- GLOEDEN, IM & WJA AMARAL. 1990. Sucessão e ciclo anual de alguns Copepoda e Cladocera num lago artificial na cidade de Rio Grande, RS. III Congresso Brasileiro de Limnologia, Porto Alegre, RS. p. 262.
- GOLEZ, MSN, T TAKAHASHI, T ISHIMARU & A OHNO. 2004. Post-embryonic development and reproduction of *Pseudodiaptomus annandalei* (Copepoda: Calanoida). *Plankton Biol. Ecol.*, 51(1): 15-25.
- GONZÁLEZ-SAGRARIO, MA & E BALSEIRO. 2010. The role of macroinvertebrates and fish in regulating the provision by macrophytes of refugia for zooplankton in a warm temperate shallow lake. *Freshwater Biol.*, 55: 2153-2166.
- GRIGG, H, SJ BARDWELL & LJ HOLMES. 1987. Comparative observations on the biometry and development of *Calanus finmarchicus* and *C. helgolandicus* in copepodite stage V, with comments on other Calanidae. *Mar. Biol.*, 96: 253-262.

- KAMINSKI, SM. 2009. Mesozooplâncton do Estuário da Lagos dos Patos e zona costeira adjacente com ênfase para os copépodos *Acartia tonsa*, *Pseudodiaptomus richardi* e *Notodiaptomus incompositus* (2000-2005). Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica). Universidade Federal do Rio Grande, RS. 139p.
- KAMINSKI, SM, JGF BERSANO & WJA AMARAL. 2009. Efeitos da salinidade e dieta alimentar sobre os copépodos *Pseudodiaptomus richardi* e *Notodiaptomus incompositus* em estudos de laboratório. *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.*, 13(1): 25-36.
- KLAUS, AV, VL KULASEKERA & V SCHAWAROCH. 2003. Three-dimensional visualization of insect morphology using confocal laser scanning microscopy. *J. Micros.*, 212: 107-121.
- KLAUS, AV & V SCHAWAROCH. 2006. Novel methodology utilizing confocal laser scanning microscopy for systematic analysis in arthropods (Insect). *Integr. Comp. Biol.*, 46: 207-214.
- LACEROT, G, C KRUK, M LÜRLING & M SCHEFFER. 2013. The role of subtropical zooplankton as grazers of phytoplankton under different predation levels. *Freshwater Biol.*, 58: 494-503.
- LEANDRO, SM, H QUEIROGA, L RODRÍGUEZ-GRAÑA & P TISELIUS. 2006a. Temperature-dependent development and somatic growth in two allopatric populations of *Acartia clausi* (Copepoda: Calanoida). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 322: 189-197.
- LEANDRO, SM, P TISELIUS & H QUEIROGA. 2006b. Growth and development of nauplii and copepodites of the estuarine copepod *Acartia tonsa* from

- southern Europe (Ria de Aveiro, Portugal) under saturating food conditions. *Mar. Biol.*, 150: 121-129.
- LOUREIRO, BR, CWC BRANCO & EZ FILHO. 2011. Influence of net-cage fish farming on zooplankton biomass in the Itá reservoir, SC, Brazil. *Acta Limnol. Bras.*, 23(4): 357-367.
- LOWNDES, AG. 1934. Reports of an expedition to Brazil and Paraguay in 1926-7 supported by the Trustees of the Percy Sladen Memorial Fund and the executive Committee of the Carnegie Trust of Scotland. *J. Linn. Soc. Lond.*, 39: 83-131.
- MARGALEF, R. 1983. *Limnologia*. Barcelona, Editora Omega. 1010 p.
- MARINONE, MC & HE ZAGARESE. 1991. A field and laboratory study on factors affecting polymorphism in the rotifer *Keratella tropica*. *Oecologia*, 86: 372-377.
- MAUCHLINE, J. 1998. *The Biology of Calanoid Copepods: Advances in Marine Biology*. London, Academic Press, 710p.
- MEERHOOF, M, N MAZZEO, B MOSS & L RODRÍGUEZ-GALLEGO. 2003. The structuring role of free-floating versus submerged plants in a subtropical shallow lake. *Aquat. Ecol.*, 37: 377-391.
- MICHELS, J. 2007. Confocal laser scanning microscopy: using cuticular autofluorescence for high resolution morphological imaging in small crustaceans. *J. Microsc.*, 227(1): 1-7.

- MONTÚ, M. 1980. Zooplâncton do Estuário da Lagoa dos Patos I – Estrutura e Variações Temporais e Espaciais da Comunidade. *Atlântica*, 4: 53-72.
- MONTÚ, M & IM GLOEDEN. 1986. Atlas dos Cladocera e Copepoda (Crustacea) do Estuário da Lagoa dos Patos (Rio Grande, Brasil). *Nerítica*, 1(2): 1-134.
- MONTÚ, M, AK DUARTE & IM GLOEDEN. 1998. Zooplâncton. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande. Cap. 4.9: 43-46.
- MUELBERT, JH, E MUXAGATA & SM KAMINSKI. 2010. As comunidades zooplanctônicas. In: SEELIGER, U & C ODEBRECHT (Eds.). O Estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações. FURG, Rio Grande. Cap. 6: 67-75.
- MUXAGATA, E, WJA AMARAL & CA BARBOSA. 2012. *Acartia tonsa* in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *ICES J. Mar. Sci.*, 69(3): 475-482.
- ORTIZ, DO. 2014. Determinação da relação comprimento-peso para o copépodo calanoida *Notodiaptomus incompositus* (Brian, 1925). Monografia de Graduação, Curso de Oceanologia, Universidade Federal do Rio Grande, RS, 30p.
- PECORARI, S, SJ PAGGI & JC PAGGI. 2006. Assesment of the urbanization effect on a lake by zooplankton. *Water resour.*, 33(6): 677-685.
- PERBICHE-NEVES, G, GA BOXSHALL, D PREVIATTELLI, MG NOGUEIRA & CEF ROCHA. 2015. Identification guide to some Diaptomid species

- (Crustacea, Copepoda, Calanoida, Diaptomidae) of “de la Plata” River Basin (South America). *ZooKeys*, 497: 1-111.
- PILATI, A. 1997. Copépodos calanoideos de la Provincia de La Pampa. *Rev. Fac. Agronomía*, 9(2): 57-67.
- RINGUELET, RA. 1962. Rasgos faunísticos de las reservas naturales de la provincia de Buenos Aires. *Physis*, 64: 83-92.
- SABATINI, ME. 1990. The developmental stages (copepodids I to VI) of *Acartia tonsa* Dana, 1849 (Copepoda, Calanoida). *Crustaceana*, 59(1): 53-61.
- SCHAWAROCH, V, D GRIMALDI & AV KLAUS. 2005. Focusing on morphology: applications and implications of confocal laser scanning microscopy (Diptera: Campichoetidae, Camillidae, Drosophilidae). *Proc. Entomol. Soc. Wash.*, 107: 323-335.
- SUÁREZ-MORALES, E, JW REID & M ELÍAS-GUTIÉRREZ. 2005. Diversity and distributional patterns of neotropical freshwater copepods (Calanoida: Diaptomidae). *Internat. Rev. Hydrobiol.*, 90(1): 71-83.
- TEIXEIRA, PF & AK DUARTE. 2005. Cladóceros e copépodos do zooplâncton dos lagos do Campus Carreiros – FURG. V Mostra de Produção Universitária, FURG. Rio Grande, RS.
- TRUJILLO-ORTIZ, A. 1986. Life cycle of the marine calanoid copepod *Acartia californiensis* Trinast reared under laboratory conditions. *CalCOFI Rep.*, XXVIII: 188-204.

WEIGAND, PV & AH ESCALANTE. 2008. Diel vertical distribution of freshwater calanoid copepods in a shallow lake: its variability in males with and without an oil sac. *Mar. Freshwater Behav. Physiol.*, 41(4): 257-266.

WRIGHT, S. 1935. Three new species of *Diaptomus* from Northeast Brasil. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 7: 213-233.

ZIRBEL, MJ, CB MILLER & HP BATCHELDER. 2007. Staging egg development of marine copepods with DAPI and PicoGreen. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, 5: 106-110.

ZUPO, V & I BUTTINO. 2001. Larval development of decapods crustaceans investigated by confocal microscopy: an application to *Hippolyte inermis* (Natantia). *Mar. Biol.*, 138: 965-973.

### 3. CAPÍTULO II

## Experimentos de crescimento e reprodução de *Notodiaptomus incompositus* em cultivo

### 3.1 Introdução

Copépodos são os principais contribuintes para a produção secundária de muitos ambientes aquáticos devido à sua abundância e alta fecundidade (Downing 1984, Kimmerer 1987). Desta forma, informações acerca do tempo de desenvolvimento, taxas de crescimento e produção de ovos são de extrema importância para avaliar a dinâmica de populações e para estimar a produção secundária zooplanctônica (Rigler & Downing 1984, Runge & Roff 2000). Estudos de crescimento e desenvolvimento de copépodos podem ser feitos através de amostras de séries temporais de populações e posterior identificação dos estágios de desenvolvimento (Crawford & Daborn 1986, Bollens & Frost 1991), cultivo das espécies de interesse em laboratório (Berggreen *et al.* 1988, Golez *et al.* 2004) ou pela utilização de técnicas moleculares ainda não totalmente desenvolvidas (Hernández-León *et al.* 1995, Bucklin 2000, Troedsson *et al.* 2009).

Devido à falta de conhecimento de novas técnicas e dificuldade de obtenção dessas informações diretamente do ambiente, os ensaios laboratoriais se fazem necessários e são de grande utilidade (Uye 1981, Chinnery & Williams 2004, Calliari *et al.* 2008). O cultivo de copépodos permite o exame experimental de aspectos fisiológicos como o tempo de desenvolvimento, taxas de crescimento, duração das gerações e reprodução (Katona 1970, McLaren 1978, Ianora *et al.* 1989, Chisholm & Roff 1990, Kiørboe & Sabatini 1995, Hopcroft & Roff 1998, Leandro *et al.* 2006a).

A duração dos estágios de desenvolvimento de uma espécie de copépodo é o período medido em horas ou dias entre sucessivas mudas e mais facilmente estimado que a taxa de crescimento propriamente dita (Mauchline 1998). Esse parâmetro é facilmente avaliado em laboratório a partir da observação individual ou em grupo de organismos cultivados, que segundo Fryd *et al.* (1991) seria o período quando 50% dos copépodos realizam a muda para o estágio seguinte. Já a taxa de crescimento pode ser definida como o tempo para que um organismo cresça de um tamanho mínimo para um tamanho máximo em um estágio larval, e pode ser expressa da maneira mais adequada pela taxa de crescimento peso-específica (Mauchline 1998).

Muitos estudos foram feitos para se estimar taxas de crescimento peso-específica de copépodos, e o método de produção de ovos em adultos tem sido bastante utilizado como estimativa do crescimento de uma espécie (Runge & Roff 2000, Hirst & McKinnon 2001). As fêmeas adultas não crescem em tamanho corpóreo e os ovos são sua única forma de produção. Entretanto, segundo McLaren & Leonard (1995), a taxa de crescimento de adultos não pode ser considerada representativa dos estágios anteriores de desenvolvimento.

Desta forma, foram desenvolvidas diversas equações generalistas para se estimar as taxas de crescimento de organismos zooplanctônicos levando em conta parâmetros considerados importantes no desenvolvimento dos organismos como a temperatura (Ikeda & Motoda 1978, Huntley & Boyd 1984, Huntley & Lopez 1992), biomassa dos organismos (Hirst & Shearer 1997, Hirst & Lampitt 1998, Hirst *et al.* 2003) e clorofila *a* (Hirst & Bunker 2003). Porém,

como o nome já diz, essas equações são generalistas e feitas com base em muitas espécies com diferentes hábitos e de ambientes muito diversos, o que pode levar à sub ou superestimação dos resultados.

Além disso, os organismos utilizados para desenvolver as equações são muito diversos, englobando espécies com diferentes estratégias de reprodução (Haq 1972, Katona 1975, Gophen 1979), tempo de desenvolvimento (Kiørboe & Sabatini 1995, Escribano *et al.* 1998), frequência de fertilização (Heinle 1970, Watras 1983, Runge 1984, Ianora *et al.* 1996), formas de detecção das fêmeas maduras pelos machos (Griffiths & Frost 1976, Gill 1986, Uchima & Murano 1988, Duren & Videler 1996), liberação dos ovos (Kiørboe & Sabatini 1994, Dahms 1995), entre outras (Mauchline 1998). Assim, o melhor a fazer quando se deseja obter valores mais realistas possíveis é estimar as taxas de crescimento através da incubação da espécie de interesse.

No estuário da Lagoa dos Patos (ELP) a comunidade zooplânctônica é dominada pelos copépodos Calanoida *Acartia tonsa* e *Notodiaptomus incompositus* (Montú 1980, Montú *et al.* 1998, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010, Muxagata *et al.* 2012) que apresentam duas estratégias reprodutivas distintas. *Notodiaptomus incompositus* pertence ao grupo de copépodos que carregam uma massa de ovos presa ao somito genital (Fig. 14) chamados de carregadores de ovos ("egg-sac spawners"), enquanto *Acartia tonsa*, é conhecida como sendo um copépodo desovante livre ("broadcast-spawners").

O tempo de desenvolvimento dos ovos é diferente entre os dois tipos de estratégias, sendo que o tempo de desenvolvimento dos ovos até a eclosão de

náuplios é duas vezes maior para espécies que retém seus ovos em sacos comparada às espécies que liberam os ovos no ambiente (Kiørboe & Sabatini 1994). Apesar de se possuir farta informação sobre a biologia e taxas de crescimento de *A. tonsa* (Durbin & Durbin 1981, Sabatini 1990, Cervetto *et al.* 1999, Calliari *et al.* 2004, Leandro *et al.* 2006b) pouco ainda se conhece sobre *N. incompositus*.

Uma vez que a taxa de produção de ovos é um indicador da taxa de recrutamento de uma população e também representa a taxa de produção líquida das fêmeas, a produção de adultos pode ser estimada através da suposição de que fêmeas adultas não crescem ou aumentam o tamanho corpóreo, e que o equivalente dessa energia é direcionado para a produção de ovos (Poulet *et al.* 1995, Runge & Roff 2000, Hirst & McKinnon 2001).

Desta forma, o objetivo do presente capítulo foi o de avaliar o tempo de desenvolvimento do copépodo *Notodiaptomus incompositus* e estimar a taxa de crescimento dos diferentes estágios através do cultivo da espécie em laboratório, a fim de gerar informações que conjuntamente com os resultados do Capítulo I permitam avaliar a contribuição da espécie para a produtividade no ELP (Capítulo III).

### **3.1.1 Objetivos específicos**

Devido ao exposto acima, o presente capítulo teve como objetivos específicos:

- Avaliação de uma microalga adequada para alimentação e desenvolvimento do copépodo *Notodiaptomus incompositus*;

- Determinar o tempo total de desenvolvimento da espécie de copépodo *N. incompositus*;
- Estimar a taxa de crescimento de cada estágio de copepodito de *N. incompositus*;
- Obter informações acerca da biologia reprodutiva de *N. incompositus*.

## 3.2 Material e Métodos

### 3.2.1 Obtenção dos estoques de fitoplâncton e zooplâncton

Os copépodos da espécie *N. incompositus* utilizados nesse estudo foram coletados através de arrastos sub-superficiais com rede Bongo de 90 e 200  $\mu\text{m}$ , na estação de coleta conhecida como "prainha" localizada na 4<sup>a</sup> Secção da Barra no ELP (Fig. 13), acondicionados em água do ambiente e levados imediatamente após a coleta para o Laboratório de Zooplâncton da FURG. Em laboratório, indivíduos adultos da espécie *N. incompositus* foram identificados segundo Brian (1925) e Montú & Gloeden (1986) e selecionados individualmente com o auxílio de pipeta de Pasteur sob microscópio estereoscópico. Após a identificação e triagem, os organismos foram então transferidos para recipientes de 2 L contendo água do Lago Hoplias (L5) da FURG previamente filtrada em filtros cuno de 1,2  $\mu\text{m}$  e mantidos em salinidade 0, temperatura de 20 °C, fotoperíodo 12C:12E, com suave aeração e alimento na concentração de  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , fazendo que a água adquirisse um leve tom esverdeado. Foi escolhido manter o cultivo em água do lago devido à facilidade de acesso e por ser um ambiente onde *Notodiaptomus incompositus*

ocorre o ano todo e sem oscilações de salinidade, como ocorre frequentemente no ELP.

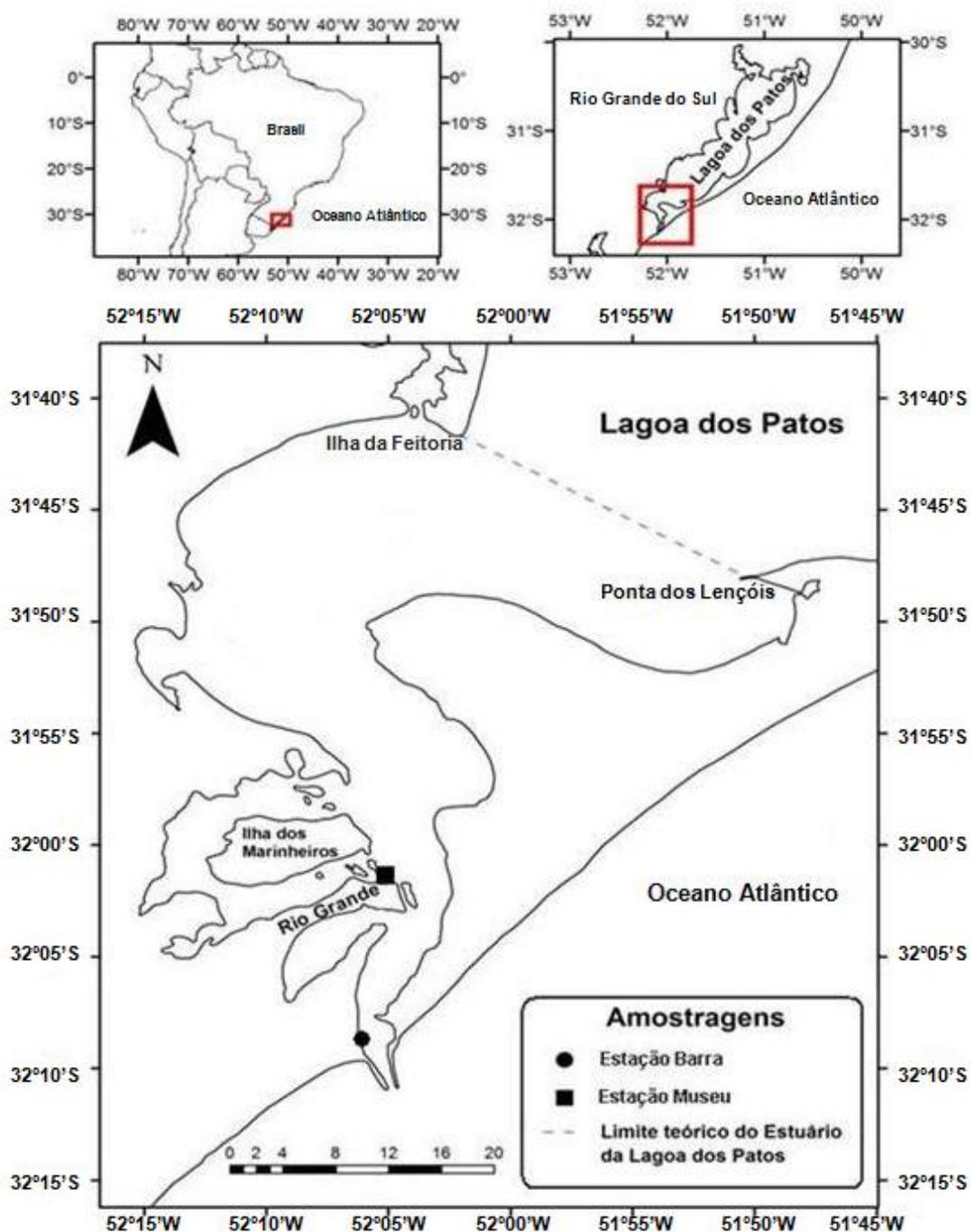


Figura 13: Área de estudo, com detalhe indicando os locais de coleta das amostras no Estuário da Lagoa dos Patos.

A fim de testar algas para serem utilizadas na alimentação de *Notodiaptomus incompositus* durante os experimentos, cultivos pilotos foram

conduzidos com as algas *Isochrysis galbana*, *Thalassiosira weissflogii* (Kaminski *et al.* 2009) e *Chlamydomonas cf. pumilioniformis*. Entretanto, os organismos alimentados com as microalgas *I. galbana* e *T. weissflogii* não se desenvolveram. Por outro lado, os organismos mantidos com *C. pumilioniformis* se desenvolveram e reproduziram. Desta forma, a microalga utilizada para alimentação foi a clorofíceia *C. pumilioniformis* (Chlamydomphyceae) cujo inóculo foi obtido junto ao Laboratório de Fitoplâncton e Microorganismos Marinhos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) sendo a partir de então mantida no Laboratório de Zooplâncton em meio WC (Guillard & Lorenzen 1972). O cultivo dos copépodos, doravante chamando de cultivo estoque, vem sendo mantido nestas mesmas condições desde setembro de 2014.

### **3.2.2 Experimentos**

#### **3.2.2.1 Estimativa da taxa de crescimento de copepoditos de *Notodiaptomus incompositus***

Para se estimar a taxa de crescimento de *Notodiaptomus incompositus*, aproximadamente 90 fêmeas ovadas (Fig. 14), oriundas do cultivo estoque, foram isoladas e acondicionadas em uma unidade experimental (UE) constituída de um recipiente cilíndrico de vidro com 2 litros, onde foi adicionado *C. pumilioniformis* na concentração de  $10^6$  células mL<sup>-1</sup> e mantidos na mesmas condições do cultivo estoque. Após 24 horas, as fêmeas foram separadas dos náuplios recém eclodidos com o auxílio de uma rede de 250 µm e, após o isolamento, as fêmeas foram colocadas novamente no recipiente do cultivo estoque. Posteriormente os náuplios foram concentrados com o auxílio de uma rede de 50 µm e transferidos para outra UE com 2 litros de meio e *C.*

*pumilioniformis* na concentração de  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  e mantidos nas mesmas condições de temperatura, salinidade e fotoperíodo do cultivo estoque. Diariamente, o meio em que os organismos eram mantidos foi renovado em cerca de 30% (600 mL) e 15 mL de *C. pumilioniformis* eram adicionados para manter a densidade de  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ .

Alíquotas de 100 mL (5% do volume da UE) foram retiradas aleatoriamente e filtradas em malha de 50  $\mu\text{m}$ . A primeira alíquota foi retirada após 3 horas da separação dos náuplios das fêmeas, a segunda após 15 horas, a terceira após 24 horas da retirada dos náuplios, enquanto as demais alíquotas foram fixadas em intervalos de 24 horas. Desta forma, assim que os náuplios foram isolados das fêmeas, alíquotas foram retiradas após 3 horas, 15 horas, 24 horas, 48 horas e assim por diante até completar 352 horas (ou 14 dias) de cultivo. Os organismos presentes nestas alíquotas eram preservados em formaldeído a 4% para observação das diferenças morfológicas de cada estágio de desenvolvimento, assim como para obtenção de medidas de comprimento e determinação do tempo de desenvolvimento de cada estágio.

As contagens e medições dos organismos presentes em cada alíquota foram feitas em microscópio estereoscópico (Olympus SZ40) provido de escala micrométrica ( $\pm 25 \mu\text{m}$ ). Dos estágios naupliares foram obtidas medidas de comprimento total e largura enquanto dos estágios de copepoditos foram obtidas medidas de comprimento total, comprimento do prossoma e largura do prossoma. Em média 15 (10 – 21) organismos foram medidos por tempo de cultivo, de acordo com o número de organismos presentes em cada alíquota.

O peso de cada estágio foi estabelecido utilizando-se a equação entre tamanho de prossoma e peso definida por Ortiz (2014).

$$\log_{10}(PS) = - 6,241 + 2,4094 * \log_{10}(CP) \quad (r = 0,96)$$

Onde *PS* é o peso seco ( $\mu\text{g}$ ) e *CP* é o comprimento do prossoma ( $\mu\text{m}$ ).

Após a obtenção de todos os parâmetros, a taxa de crescimento dos copepoditos (CI – CV) de *N. incompositus* foi estimada pela taxa crescimento peso-específica (Escribano *et al.* 1998, Mauchline 1998) conforme detalhado por Escribano *et al.* (2009) onde, sob condições não limitantes de alimentação, os organismos apresentariam crescimento exponencial, tal que:

$$W = W_0 \cdot e^{gt}$$

Onde  $W_0$  é o peso do organismo ( $\mu\text{g}$ ) no tempo zero,  $W$  é o peso do organismo ( $\mu\text{g}$ ) no tempo  $t$ ,  $t$  é a duração em dias no estágio  $i$  e  $g$  é a taxa de crescimento peso-específica. Esta equação pode ser re-escrita da seguinte maneira:

$$g = \ln W - \ln W_0/t$$

### **3.2.2.2 Estimativa da taxa de crescimento de fêmeas de *Notodiaptomus incompositus***

Para estimar a taxa de crescimento de adultos de *N. incompositus*, 23 fêmeas adultas portando ovos (Fig. 14), oriundas do cultivo estoque, foram individualmente incubadas em unidades experimentais (UE) de 50 mL e mantidas nas mesmas condições do cultivo estoque (concentração alimentar de  $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  de *C. pumilioniformis*).



Figura 14: Fêmea adulta da espécie de copépodo *Notodiptomus incompositus* com saco ovífero.

Previamente à incubação, o número de ovos que cada fêmea portava foi contabilizado pela observação em placa de Petri do saco de ovos (Fig. 15). Em intervalos de 4 horas o conteúdo dos recipientes eram vistoriados para observação da eclosão dos ovos. Quando a eclosão dos ovos era verificada, o conteúdo do recipiente era preservado em formaldeído a 4% para contagem dos ovos e náuplios e o tempo transcorrido entre a incubação das fêmeas e eclosão dos ovos era registrado. O experimento durou aproximadamente 72 horas até que todos os ovos de todas fêmeas incubadas eclodissem em náuplios e durante esse período todas as UE tiveram seu meio de cultivo renovado diariamente.

A taxa de crescimento de fêmeas de *N. incompositus* foi estimada pela taxa específica de produção de ovos proposta para espécies retentoras de ovos (Escribano *et. al* 2009) tal que:

$$g = \text{Ovos/Fêmeas} \cdot TE \cdot W_{\text{ovo}}/W_{\text{fêmea}}$$

Onde, *Ovos/Fêmeas* é a razão entre a abundância de ovos e fêmeas, *TE* é a taxa de eclosão de ovos ( $\text{d}^{-1}$ ),  $W_{\text{ovo}}$  é o peso dos ovos ( $\mu\text{g}$ ) e  $W_{\text{fêmea}}$  é o peso das fêmeas ( $\mu\text{g}$ ).

Para se estimar o peso das fêmeas, o tamanho do prossoma foi medido e a equação entre tamanho de prossoma e peso definida por Ortiz (2014) foi utilizada.

Após a obtenção do peso seco das fêmeas e do volume dos ovos, a concentração de carbono das fêmeas foi estimada utilizando os fatores de conversão de  $0,4 \mu\text{g C } \mu\text{g}^{-1}$  (Omori & Ikeda 1992, Mauchline 1998) e dos ovos utilizando  $0,14 \cdot 10^{-6} \mu\text{g C } \mu\text{m}^{-3}$  (Kjørboe *et al.* 1985).

### **3.2.2.3 Produção de ovos de fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* incubadas com a presença e ausência de machos**

Para determinar se as fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* são capazes de produzir ovos com fecundação prévia, 45 fêmeas portando sacos ovígeros, oriundas do cultivo estoque foram incubadas em UE de 50 mL de meio e mantidas até a eclosão dos náuplios nas mesmas condições do cultivo estoque ( $10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  de *C. pumilioniformis*, salinidade 0, temperatura 20 °C e fotoperíodo 12C:12E). Após a eclosão, os náuplios foram retirados e as fêmeas foram colocadas sob três tratamentos diferentes:

- a) 15 fêmeas incubadas com machos na proporção de 1:1;

- b) 15 fêmeas incubadas sem machos durante todo o experimento e;
- c) 15 fêmeas incubadas sem machos até 96 horas e, após esse período, foram adicionados machos na proporção de 1:1 em cada UE.

As UE foram vistoriadas a cada 24 horas durante 216 horas para verificar a postura de ovos e/ou a presença de náuplios.

### **3.2.3 Tamanho e número de ovos dos sacos ovígeros das fêmeas de *Notodiptomus incompositus***

Para estimar o tamanho e número de ovos, fêmeas de *Notodiptomus incompositus* portando sacos ovígeros encontradas nas amostras fixadas coletadas no ELP (Capítulo III) foram utilizadas devido à dificuldade de se medir e contar os ovos em organismos vivos. Os sacos ovígeros e seus ovos foram medidos em microscópio eletrônico (Olympus BH-2) com escala micrométrica ( $\pm 5 \mu\text{m}$ ). As medidas de altura e largura do saco de ovos e o tamanho dos ovos foram estabelecidos (Fig. 15).

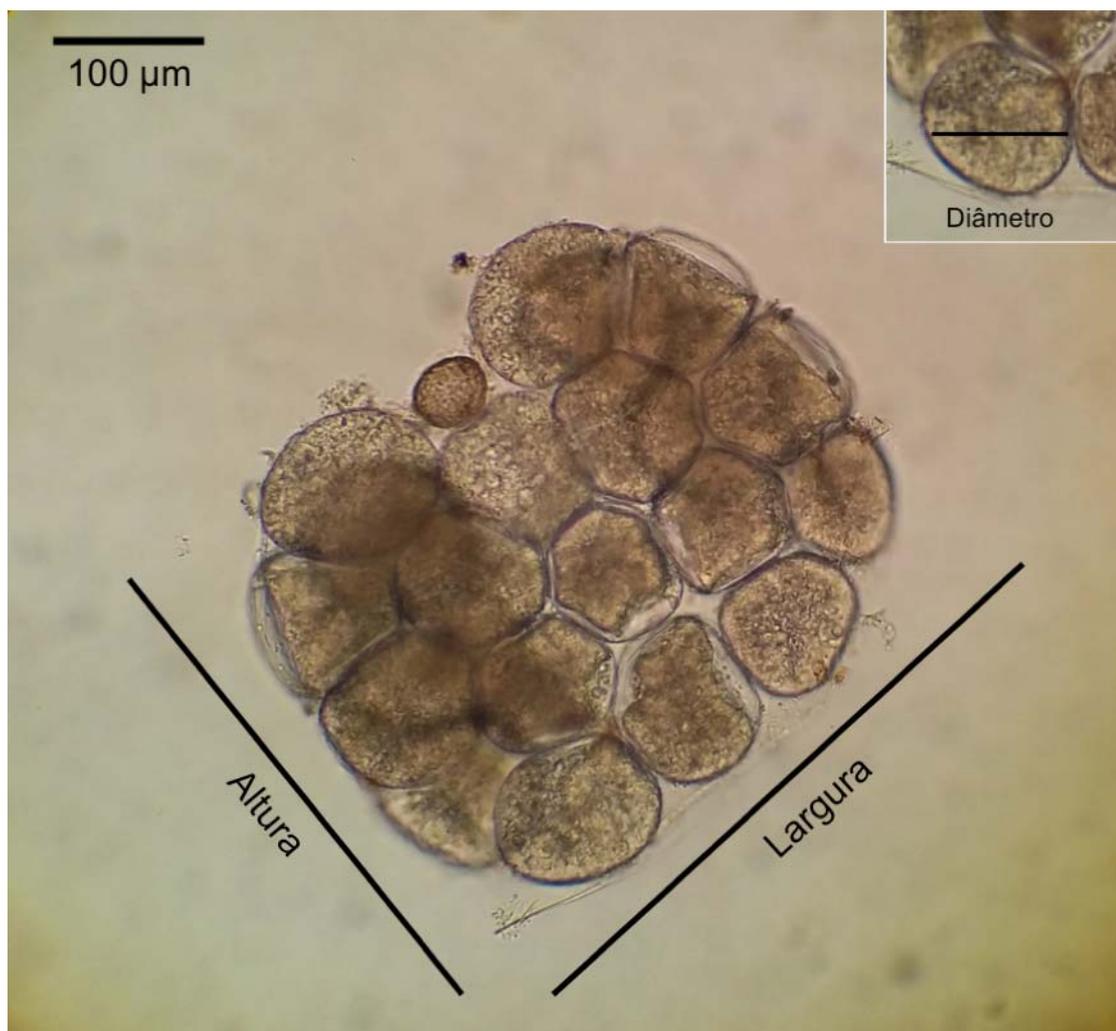


Figura 15: Saco ovífero de *Notodiaptomus incompositus* com indicação das medidas tomadas (altura e largura do saco ovífero e diâmetro dos ovos).

### 3.2.4 Análises Estatísticas

Primeiramente os dados foram testados quanto à sua normalidade, aplicando-se os testes de Homocedasticidade e Normalidade. As diferenças das medidas morfométricas (comprimento total, comprimento do prossoma e largura) para cada estágio de desenvolvimento (náuplios e adultos) foram testadas através da análise ANOVA One-Way. Para testar a correlação existente entre os dias de cultivo (idade dos organismos) em relação às medidas morfométricas (comprimento total, comprimento de prossoma em copepoditos e largura) dos diferentes estágios de desenvolvimento (estágios

naupliares e de copepodito), bem como entre o comprimento do prossoma e o número de ovos em um saco ovífero, e entre a altura e largura do saco ovífero e a quantidade de ovos da espécie *Notodiaptomus incompositus* foram realizadas Correlações de Pearson (r) e Regressões Simples e Múltiplas. Já para avaliar as diferenças de produção de ovos de fêmeas de *N. incompositus* ao longo do tempo, em diferentes tratamentos envolvendo ou não a presença de machos, realizou-se o teste não paramétrico chi-quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson, pois trata-se de um teste de hipóteses que se destina a avaliar a associação existente entre variáveis qualitativas. No atual trabalho a presença (1) e ausência de ovos (0) foram categorizadas.

### **3.3 Resultados**

#### **3.3.1 Taxa de crescimento de *Notodiaptomus incompositus***

O experimento foi realizado com sucesso e os organismos sobreviveram e se desenvolveram até a fase adulta. Na Figura 16 é possível ver o percentual de cada estágio de desenvolvimento durante os dias de cultivo. De uma maneira geral os estágios náupliares representaram 100% da população até o 4º dia de cultivo, sendo encontrados até o 5º dia. A partir do 5º dia já pode ser observado o predomínio de copepoditos. Machos adultos ocorreram a partir do 12º dia de cultivo enquanto fêmeas no 13º. O tempo médio de desenvolvimento de náuplios até adultos foi de 14 dias, quando mais de 50% dos organismos avaliados eram adultos. Além disso, já era possível visualizar fêmeas portando sacos ovíferos.

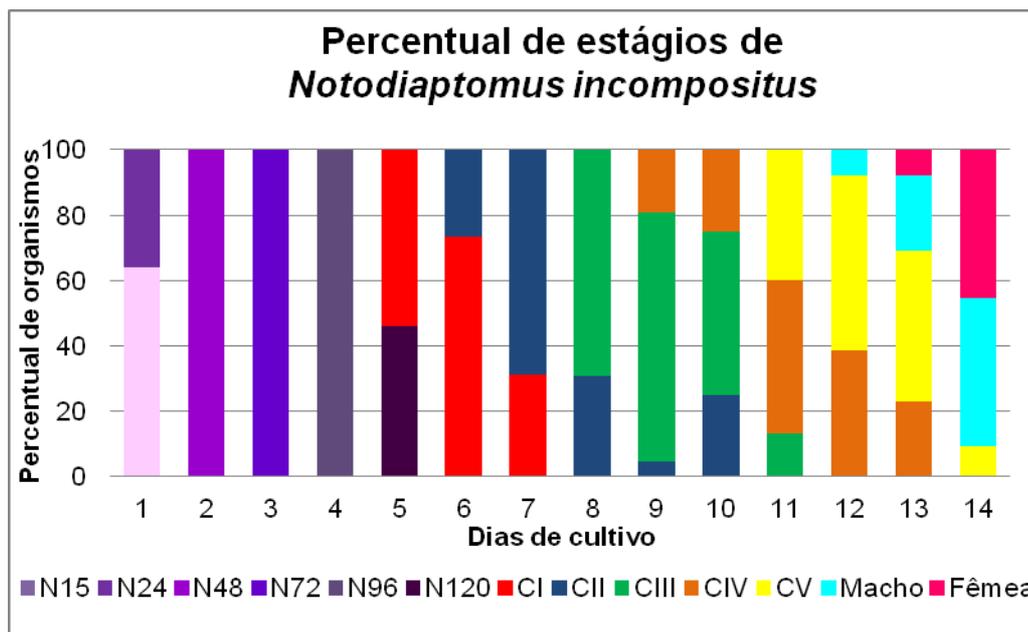


Figura 16: Percentual dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Notodiptomus incompositus* durante o cultivo em 20 °C.

Os diferentes estágios naupliares (i.e I a VI) não foram separados de acordo com alterações morfológicas, entretanto intervalos de tamanho de medidas de comprimento total e largura por dia de cultivo foram utilizados para aludir aos seis estágios naupliares. Sendo assim, foram consideradas seis intervalos de tamanho de organismos presentes nas alíquotas retiradas em 15, 24, 48, 72, 96 e 120 horas de cultivo. Os valores mínimos, máximos, médias e desvio padrão das medidas de comprimento total e largura, por dia de cultivo, estão apresentados na Tabela 1, onde 6 classes de tamanho são reconhecidos.

Tabela 1: Valores mínimos, máximos, médias, desvio padrão (entre parênteses) das medidas obtidas para cada estágio de desenvolvimento de *Notodiptomus incompositus* durante o experimento de crescimento, e o número de organismos de cada estágio medidos (n). O peso de cada um dos estágios de copepoditos estimados através da equação  $\log_{10}(\text{PS}) = -6,241 + 2,4094 * \log_{10}(\text{CP})$  também estão indicados. ND - indica dados não disponíveis.

Estágio	Comprimento total ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento do prossoma ( $\mu\text{m}$ )	Peso ( $\mu\text{g}$ )	N
Náuplio 15h	150 – 200 (181,62 $\pm$ 17,74)	75 – 100 (86,03 $\pm$ 12,60)	ND	ND	34
Náuplio 24h	175 – 225 (206,58 $\pm$ 18,34)	75 – 125 (97,37 $\pm$ 11,47)	ND	ND	19
Náuplio 48h	200 – 250 (230,36 $\pm$ 14,47)	75 – 100 (91,07 $\pm$ 12,43)	ND	ND	14
Náuplio 72h	250 – 325 (275,00 $\pm$ 19,87)	100 – 125 (108,75 $\pm$ 12,23)	ND	ND	20
Náuplio 96h	325 – 375 (352,08 $\pm$ 16,71)	125 – 150 (135,42 $\pm$ 12,87)	ND	ND	12
Náuplio 120h	350 – 375 (366,67 $\pm$ 12,91)	125 – 150 (129,17 $\pm$ 10,21)	ND	ND	6
Copepodito I	425 – 550 (496,74 $\pm$ 30,44)	125 – 150 (145,65 $\pm$ 9,69)	350 – 425 (382,61 $\pm$ 19,12)	0,77 – 1,24 (0,96 $\pm$ 0,12)	23
Copepodito II	500 – 625 (580,43 $\pm$ 29,15)	150 – 200 (180,43 $\pm$ 12,96)	400 – 500 (460,87 $\pm$ 24,80)	1,07 – 1,83 (1,51 $\pm$ 0,19)	23
Copepodito III	650 – 750 (697,72 $\pm$ 28,89)	175 – 225 (202,27 $\pm$ 13,06)	500 – 600 (547,72 $\pm$ 24,50)	1,83 – 2,84 (2,28 $\pm$ 0,25)	33
Copepodito IV	750 – 925 (859,09 $\pm$ 53,20)	200 – 250 (236,36 $\pm$ 18,43)	550 – 700 (655,68 $\pm$ 38,52)	2,30 – 4,11 (3,53 $\pm$ 0,48)	22
Copepodito V	875 – 1125 (1028,75 $\pm$ 53,36)	250 – 275 (255 $\pm$ 10,26)	650 – 850 (772,50 $\pm$ 47,92)	3,44 – 6,56 (5,25 $\pm$ 0,76)	20
Copepodito VI Macho	1000 – 1150 (1059,38 $\pm$ 64,0)	250 – 300 (284,38 $\pm$ 18,60)	750 – 875 (796,88 $\pm$ 52,50)	4,85 – 7,04 (5,65 $\pm$ 0,91)	15
Copepodito VI Fêmea	1150 – 1225 (1179,17 $\pm$ 33,23)	300 – 375 (341,67 $\pm$ 30,28)	875 – 975 (904,17 $\pm$ 36,80)	7,04 – 9,13 (7,63 $\pm$ 0,77)	15

Na Figura 17 encontram-se os valores morfométricos obtidos de cada um dos estágios de desenvolvimento encontrados durante o experimento. De maneira geral é possível verificar o aumento de tamanho entre cada estágio de desenvolvimento, sendo que as fêmeas apresentaram as maiores medidas dentre todos os estágios. Além disso, na Figura 17B está demonstrado o diâmetro médio do ovo. Para os náuplios, as medidas mostradas refletem os intervalos de tamanho definidos previamente, que foram nomeados como N15 a N120 aludindo aos seis estágios naupliares.

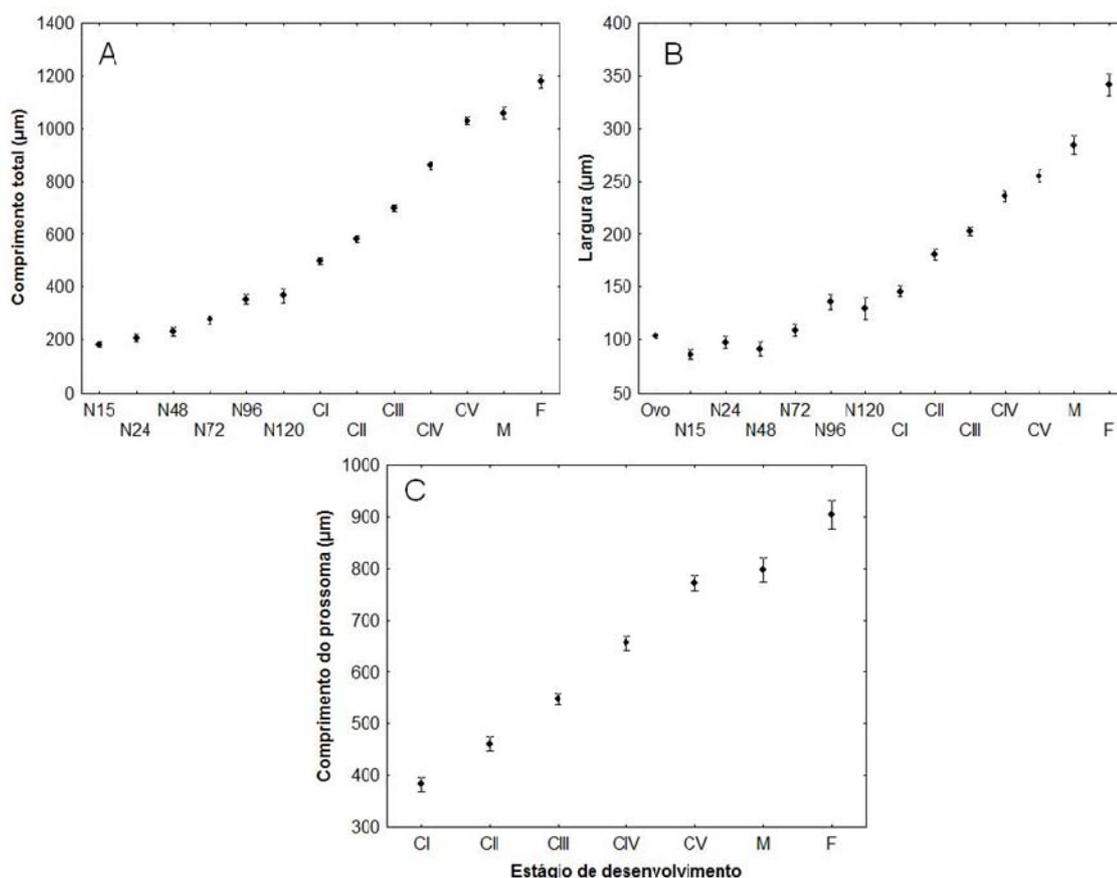


Figura 17: Valores médios e desvios padrão para os estágios de desenvolvimento de *Notodiaptomus incompositus* cultivados em laboratório: A - comprimento total; B - largura e C - comprimento do prossoma. Barras verticais indicam o desvio padrão, com intervalo de confiança de 95%.

A fim de se estimar o tamanho dos organismos cultivados a cada dia, as medidas de comprimento total e largura, assim como o comprimento do prossoma para os copepoditos registrados durante o experimento de crescimento foram utilizadas para estabelecer uma relação entre os dias de cultivo (idade dos organismos) e as medidas morfométricas (Fig. 18). As correlações obtidas foram significativas ( $p < 0,01$ ).

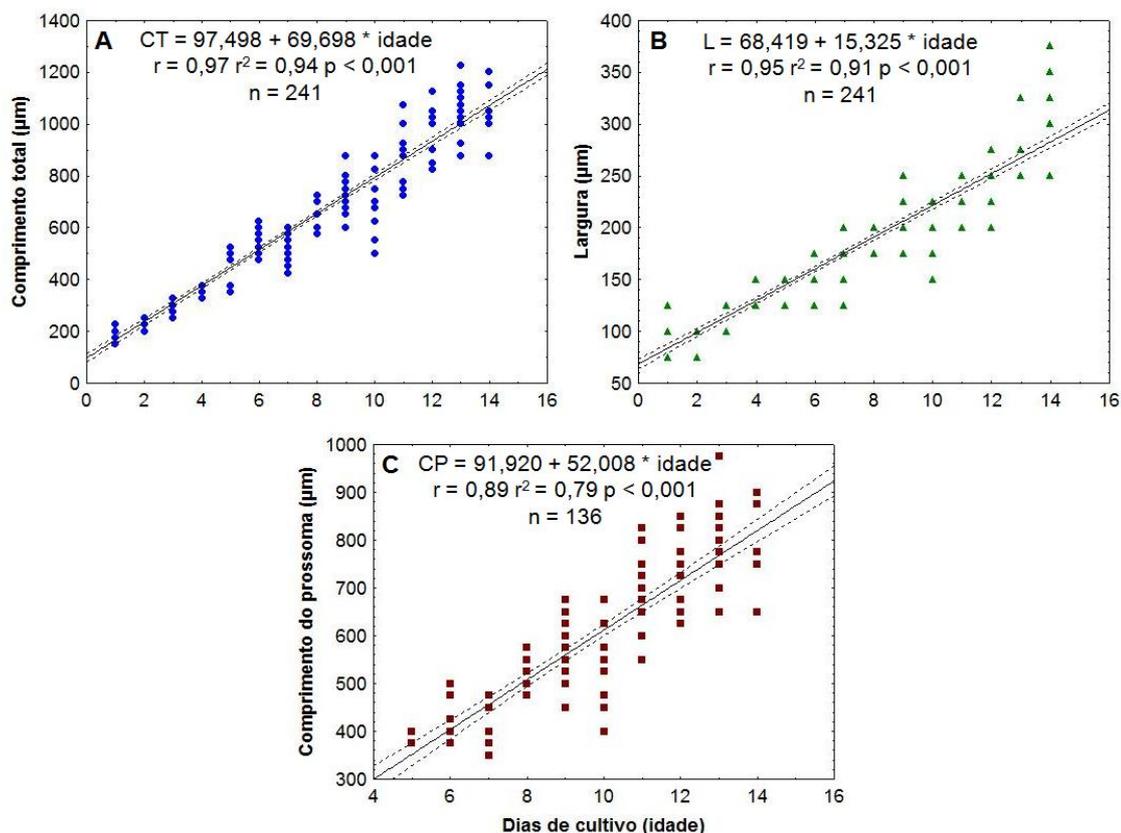


Figura 18: Regressão linear entre as medidas corpóreas e dias de cultivo (idade) para a espécie *Notodiaptomus incompositus* cultivada em laboratório: A - comprimento total; B - largura e C - comprimento do prossoma.

As taxas de crescimento ( $g$ ) obtidas em cultivo a 20 °C para cada estágio de desenvolvimento de *N. incompositus* estão descritos na Tabela 2. O menor valor de  $g$  foi encontrado para o estágio de copepodito V, seguido pelo estágio de copepodito III e copepodito I. Os estágios de copepodito II e copepodito IV apresentaram os maiores valores, respectivamente.

Tabela 2: Valores de taxa de crescimento dos estágios de copepoditos de *Notodiaptomus incompositus* encontrados para o cultivo da espécie em 20 °C.

Estágio	$g$ ( $d^{-1}$ )
Copepodito 1	0,192515
Copepodito 2	0,446662
Copepodito 3	0,149549
Copepodito 4	0,414911
Copepodito 5	0,072845

### 3.3.2 Taxa de crescimento de fêmeas de *Notodiaptomus incompositus*

O número médio de ovos encontrados por saco ovífero nas fêmeas incubadas durante o experimento para estimar a taxa de crescimento das fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* foi de 9,70 ( $\pm 2,20$ ) ovos, com o mínimo de 6 ovos por saco e o máximo de 14 ovos. A porcentagem de eclosão dos ovos foi de  $87 \pm 15\%$ , e o tempo médio de incubação foi de 51 horas. A taxa de eclosão encontrada no presente estudo foi alta, ou seja, não houve diferença significativa entre o número de ovos produzidos por fêmea e o número de náuplios eclodidos ( $p > 0,05$ ). A taxa de eclosão dos ovos ( $\text{dia}^{-1}$ ) encontrada foi de 0,40 e o peso em carbono estimado para as fêmeas e ovos através dos fatores de conversão foram 2,38 e 0,08  $\mu\text{g C}$ , respectivamente. A produção de ovos ( $\text{ovos.fêmea}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ ) foi estimada em 4,53  $\text{ovos.fêmea}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ .

Após a obtenção de todos os parâmetros necessários para calcular a taxa de crescimento, o valor encontrado para o  $g$  ( $\text{d}^{-1}$ ) de fêmeas foi de 0,132360.

### 3.3.3 Produção de ovos com a presença e ausência de machos

Na Figura 19 encontram-se os resultados dos experimentos de produção de ovos com presença ou ausência de machos. Observa-se que no experimento contendo somente fêmeas (Fig. 19A) nenhum ovo foi produzido. Quando machos foram introduzidos, após 96 horas, sacos ovíferos começaram a ser produzidos após 144 horas (Fig. 19C). Nas UE onde machos e fêmeas estavam presentes desde o início, sacos ovíferos foram observados nas primeiras 24 h (Fig. 19B). A análise estatística  $\text{Chi}^2$  ( $X^2$ ) do experimento demonstrou que houve diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os tratamentos,

ficando claro que a presença de machos foi determinante para que as fêmeas produzissem ovos.

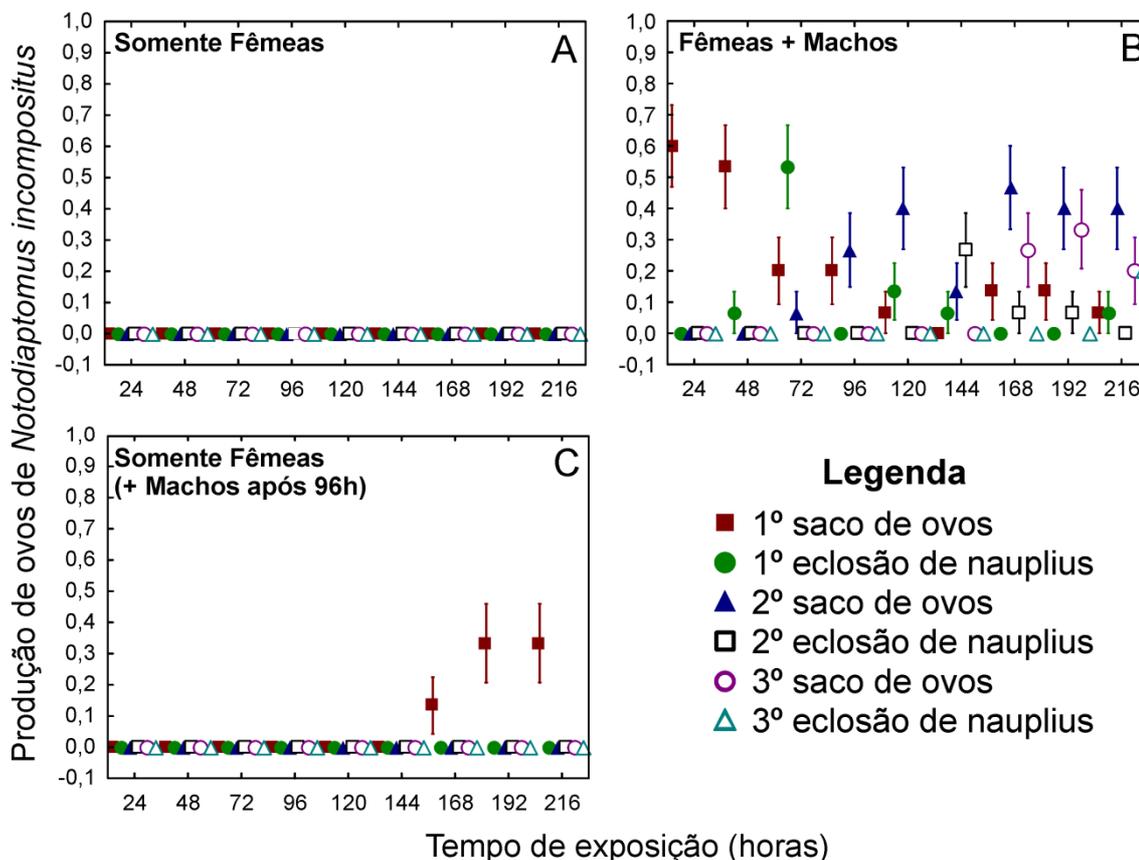


Figura 19: Produção média de ovos de *Notodiptomus incompositus* com a ausência (A) e presença (B) e de machos durante 216 horas de incubação. Em C é apresentada a produção média de ovos com a introdução de machos após 96 de experimento.

### 3.3.4 Tamanho e número de ovos dos sacos ovígeros das fêmeas de *Notodiptomus incompositus* coletadas do ambiente

Os ovos encontrados nas amostras coletadas no Estuário da Lagoa dos Patos apresentavam tamanho médio de 103,11 ( $\pm$  10,69)  $\mu\text{m}$ , o tamanho mínimo encontrado foi de 75  $\mu\text{m}$  e tamanho máximo 130  $\mu\text{m}$ . A média de ovos encontrada por saco/fêmea foi de 11 ( $\pm$  4,43) ovos, o número mínimo de ovos encontrado foi de 5 ovos por saco/fêmea enquanto o número máximo foi de 25 ovos encontrados em um único saco. A Figura 20 apresenta uma comparação

entre os sacos ovígeros com diferente número de ovos encontrados nas amostras do ELP.

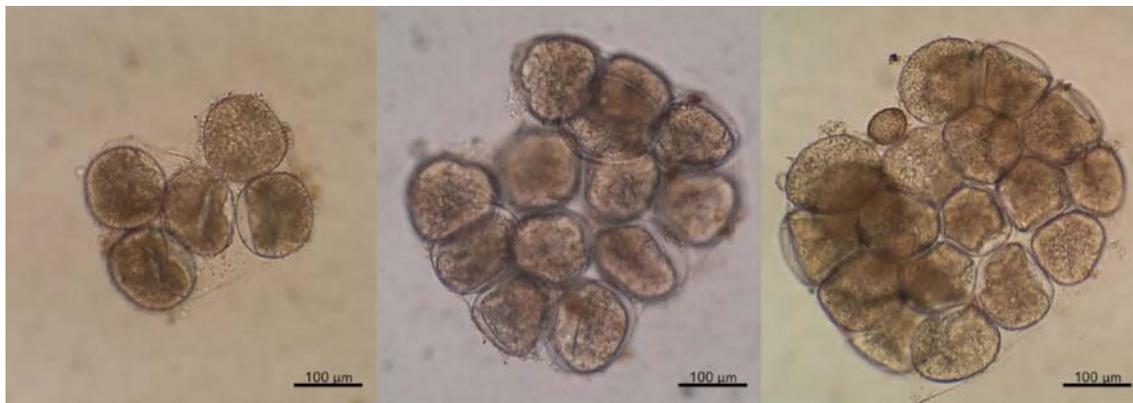


Figura 20: Sacos ovígeros com diferente número de ovos do copépodo *Notodiaptomus incompositus* coletados no ELP.

A largura média dos sacos ovígeros foi  $380,43 (\pm 59,33) \mu\text{m}$ , e tamanhos mínimo e máximo foram de 300 e 500  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Já para a altura dos sacos ovígeros, os valores de média, mínimo e máximo foram,  $316,30 (\pm 54,15)$ , 250 e 425  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Na Figura 20 é possível verificar essa diferença de tamanho entre os sacos ovígeros. As medidas morfométricas e peso estimado com o tamanho do prossoma para as fêmeas do ELP que portavam ovos estão especificados na Tabela 3, bem como os valores encontrados para as fêmeas cultivadas em laboratório durante o experimento de crescimento de *N. incompositus*, para comparação.

Tabela 3: Valores mínimos, máximos, médias e desvio padrão para as medidas morfométricas das fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* encontradas nas amostras do Estuário da Lagoa dos Patos e das fêmeas cultivadas em laboratório.

<b>Estágio</b>	<b>Comprimento total (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Comprimento do prossoma (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Largura do prossoma (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Peso (<math>\mu\text{g}</math>)</b>
Fêmea do ELP	1000 – 1200 ( $1071,43 \pm 54,36$ )	750 – 925 ( $814,29 \pm 45,81$ )	250 – 350 ( $300,00 \pm 28,54$ )	4,85 – 8,05 ( $5,95 \pm 0,83$ )
Fêmea do cultivo	1150 – 1225 ( $1179,17 \pm 33,23$ )	875 – 975 ( $904,17 \pm 36,80$ )	300 – 375 ( $341,67 \pm 30,28$ )	7,04 – 9,13 ( $7,63 \pm 0,77$ )

A relação entre o comprimento do prossoma e o número de ovos encontrado nos sacos ovígeros das fêmeas de *N. incompositus* foi analisada e não foi verificada correlação significativa ( $p > 0,05$ ) entre as variáveis (Fig. 21).

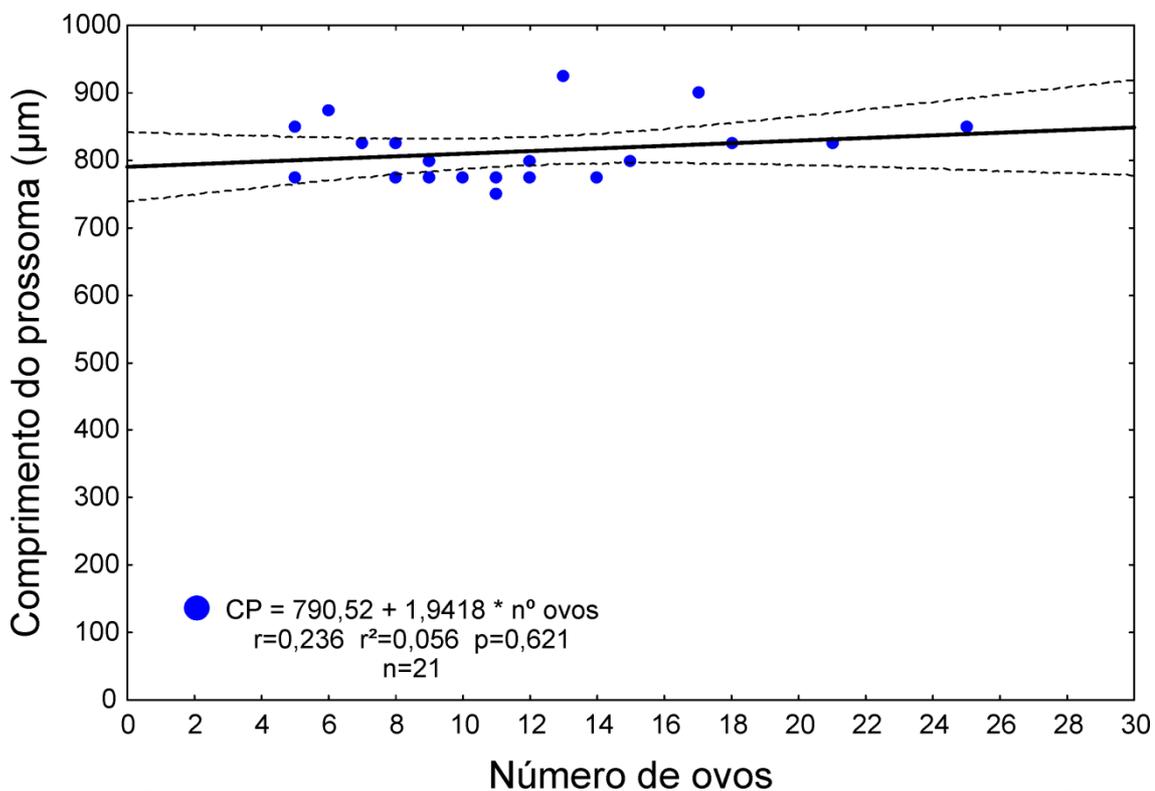


Figura 21: Correlação linear entre o número de ovos e o comprimento do prossoma das fêmeas de *Notodiptomus incompositus* encontrada nas amostras coletadas no Estuário da Lagoa dos Patos.

A relação entre o tamanho do saco de ovos (altura e largura) e o número de ovos por saco foi analisada e apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) (Fig. 22).

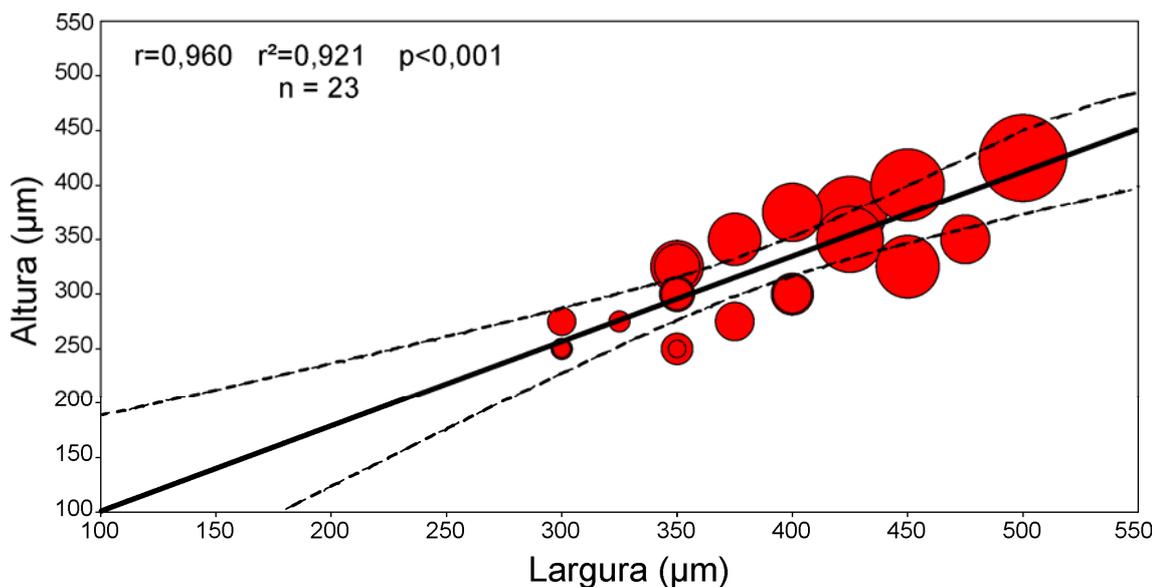


Figura 22: Regressão e Correlação múltipla entre a altura e a largura dos sacos de ovos e número de ovos encontrados para as fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* em amostras coletadas no Estuário da Lagoa dos Patos. As esferas representam a quantidade de ovos produzidos, variando entre 5 (menor esfera) e 25 (maior esfera).

### 3.4 Discussão

#### 3.4.1 Taxas de crescimento de copepoditos e adultos de *Notodiaptomus incompositus*

O tempo de desenvolvimento de 14 dias encontrado para *Notodiaptomus incompositus* neste trabalho foi bem próximo aos valores reportados por Espíndola (1994) para *Notodiaptomus iheringi*, *N. cearensis*, *N. conifer* e *N. nsp* do reservatório de Barra Bonita (SP) e que atingiram a maturidade respectivamente em 16, 14, 16 e 17 dias a 23 °C.

Quando comparados a outras espécies retentoras de ovos, o tempo de desenvolvimento de *N. incompositus* foi menor que os reportados para *Pseudodiaptomus coronatus*, *P. marinus*, *P. hessei*, *P. annandalei* e *P. richardi* que se desenvolveram em 25, 24, 21,19 e 16 dias, respectivamente (Jacobs 1961, Uye *et al.* 1983, Jerling & Wooldridge 1991, Golez *et al.* 2004, Kaminski

2009) assim como para *Gladioferens imparipes* e *Eurytemora affinis* que atingem a maturidade respectivamente com 17 e 15 dias a 20 °C (Katona 1970, Payne & Rippingale 2001).

Entretanto quando este tempo de desenvolvimento é comparado com os 10 dias apresentado para o copépodo *Acartia tonsa* (Cardozo 2004) é possível constatar que o crescimento de *N. incompositus* é mais lento. Este fato foi discutido em uma ampla revisão acerca do crescimento e desenvolvimento de copépodos marinhos realizada por Kiørboe & Sabatini (1995), que verificaram que os copépodos que desovam livremente, como *A. tonsa*, crescem em torno de 30 – 50% mais rápido do que copépodos que carregam seus ovos, como *Notodiaptomus incompositus* e *Pseudodiaptomus richardi*.

A temperatura é apontada por muitos autores como o fator que pode interferir no tempo e sucesso de desenvolvimento de ovos e no tempo de geração dos organismos, uma vez que cada espécie tem sua faixa ideal de temperatura e variações muito radicais podem ser prejudiciais. Muitos estudos demonstram que, de maneira geral, o tempo de desenvolvimento de copépodos decresce com o aumento da temperatura (Thompson 1982, Espíndola 1994, Escribano *et al.* 1998, Hirst & Bunker 2003, Leandro *et al.* 2006a, 2006b, Devreker *et al.* 2007). Espíndola (1994) observou um decréscimo de aproximadamente 6 dias no tempo de desenvolvimento de 4 espécies congênicas de *Notodiaptomus* quando cultivadas com temperaturas médias de verão de 28 °C em relação a temperatura média anual de 23 °C no reservatório de Barra Bonita (SP). Liang & Uye (1997) por sua vez verificaram que a reprodução da espécie *Pseudodiaptomus marinus* não é limitada pelo

alimento disponível, mas fortemente dependente da temperatura. Já para o copépodo *P. annadalei* não houve diferença significativa entre o tempo de desenvolvimento da espécie cultivada nas temperaturas de 25, 28 e 33 °C (Golez *et al.* 2004).

Neste estudo não foi avaliado o tempo de desenvolvimento em relação a outras temperaturas. Porém, o tempo de desenvolvimento de *N. incompositus* se mostrou relativamente rápido na temperatura de 20 °C quando comparado com outros copépodos que carregam ovos e próximo ao tempo de desenvolvimento observado por Espíndola (1994) para outras espécies do gênero *Notodiaptomus* cultivadas em 23 °C. Além disso, o desenvolvimento se mostrou mais rápido quando comparado ao tempo de geração (de ovo até adulto) de espécies de copépodos tropicais como *Centropages velificatus*, *Paracalanus aculeatus* e *Temora turbinata*, que duram em média 19,5 dias a temperatura de 28 °C (Chisholm & Roff 1990). Essas espécies estão possivelmente adaptadas a ambientes com altas temperaturas e por esse motivo torna-se difícil fazer amplas comparações entre espécies de diferentes ambientes.

A duração de cada estágio de desenvolvimento de *N. incompositus* variou entre 24 a 48 horas, sendo que somente o estágio de CIII levou mais tempo para que mais de 50% dos organismos atingissem o estágio de CIV (72 horas). Segundo Mauchline (1998) a maior duração do estágio CIII seria devido ao desenvolvimento dos tecidos reprodutivos, principalmente o desenvolvimento dos ovários.

Levando em conta o tempo de duração dos estágios, podemos assumir que *N. incompositus* apresenta desenvolvimento isocronal, no qual todos os estágios têm praticamente a mesma duração e o desenvolvimento progride linearmente com o tempo. McLaren (1978) sugere que esse tipo de desenvolvimento seja encontrado em todas as espécies costeiras temperadas. Entretanto, Landry (1983) acredita que nenhuma espécie é capaz de se desenvolver de forma estritamente isocronal, pois os primeiros estágios de desenvolvimento, nos quais os náuplios ainda não são capazes de se alimentar e utilizam as reservas de lipídeos, são de curta duração. Porém, as espécies do gênero *Acartia* apresentam esse tipo de desenvolvimento (Miller *et al.* 1977, Uye 1980, Mauchline 1998).

Os maiores tamanhos de medidas morfométricas (comprimento total, comprimento do prossoma e largura do prossoma) obtidas para as fêmeas em relação aos machos no final do experimento estão de acordo com o observado para outras espécies de copépodos encontradas na literatura (Chisholm & Roff 1990, Espíndola 1994, Liang & Uye 1997, Kaminski 2004, Kaminski 2009, Leandro *et al.* 2006a, 2006b). As menores medidas morfométricas encontradas nos machos da maioria das espécies podem ser entendidas como uma tendência ao desenvolvimento mais rápido para aumentar a probabilidade de copular com uma fêmea (Hart 1990). Outra possível explicação estaria relacionada à menor demanda energética para maturação dos machos comparada às fêmeas, uma vez que fêmeas maiores são capazes de produzir ovos maiores (Peterson 2001).

Em relação aos valores de taxa de crescimento obtidos para copepoditos de *N. incompositus*, o valor mais baixo estimado para CV ( $0,072845 \text{ d}^{-1}$ ) não é atribuído a um tempo de desenvolvimento mais longo, mas sim ao menor incremento de peso entre os estágios de CV e adultos. Sabatini & Kiørboe (1994) verificaram o mesmo para a taxa de crescimento do copépodo *Oithona similis*, com média de  $0,20 \text{ d}^{-1}$  até o estágio CIV, e uma diminuição para  $0,074 \text{ d}^{-1}$  a partir desse estágio. Este decréscimo na taxa de crescimento durante o estágio de CV tem sido relacionado ao aumento no tempo de desenvolvimento devido ao acúmulo de lipídeos para a reprodução, diferenciação morfológica externa e maturação sexual (Landry 1983, Peterson 2001). Porém, Chisholm & Roff (1990) acreditam que o decréscimo na taxa de crescimento nos últimos estágios de desenvolvimento esteja relacionado a uma progressiva limitação de alimento, uma vez que eles verificaram desenvolvimento isocronal para as espécies *Paracalanus aculeatus* e *Temora turninata*. Desta forma, o reduzido incremento de peso estaria relacionado à limitação de alimento. Nos últimos estágios de copepodito os organismos apresentam, além do crescimento somático, o desenvolvimento dos tecidos reprodutivos, e seria necessário um tempo de desenvolvimento prolongado para que alcançassem o mesmo incremento de peso dos estágios anteriores. Porém, se a duração do estágio é fixada em função da temperatura, então consequentemente a taxa de crescimento será menor (Miller *et al.* 1977).

Já para o estágio CIII foi encontrado o segundo valor mais baixo de taxa de crescimento ( $0,149549 \text{ d}^{-1}$ ) devido ao tempo de desenvolvimento maior (3 dias) e, como discutido anteriormente, provavelmente relacionado ao início do

desenvolvimento dos tecidos reprodutivos e diferenciação sexual dos organismos. As fêmeas de *N. incompositus* apresentaram uma taxa de crescimento de  $0,13236 \text{ d}^{-1}$ , valor menor do que as taxas de crescimento apresentadas para os copepoditos, com exceção do estágio CV. Em geral, a taxa de crescimento de adultos é menor do que os valores obtidos para os estágios de copepodito da mesma espécie. Por essa razão, utilizar a taxa de crescimento dos adultos para todos os estágios de desenvolvimento pode causar uma subestimação da produção secundária (Hopcroft & Roff 1998). Além disso, copépodos retentores de ovos apresentam uma taxa de crescimento menor do que copépodos desovantes livres. Em uma compilação de dados da literatura, Kiørboe & Sabatini (1995) verificaram que a taxa de crescimento estimada pelo crescimento reprodutivo das fêmeas variou de  $0,087$  a  $0,250 \text{ d}^{-1}$  para copépodos retentores de ovos. Já para copépodos que desovam livremente, a taxa de crescimento variou de  $0,175$  a  $0,325 \text{ d}^{-1}$ . A taxa de crescimento de fêmeas de 17 espécies de copépodos de águas quentes da Jamaica variou entre  $0,04$  a  $0,87 \text{ d}^{-1}$  (Hopcroft & Roff 1998). Desta forma, a taxa de crescimento de fêmeas de *N. incompositus* está entre os valores reportados na literatura.

Torna-se difícil comparar a taxa de crescimento encontrada para a espécie *N. incompositus*, uma vez que inexistem dados prévios sobre esses parâmetros para a espécie e até mesmo para as demais espécies de copépodos encontradas no ELP. Porém, considerando diversos trabalhos com estimativas de taxa de crescimento para copépodos retentores de ovos, os valores obtidos em temperaturas entre  $15$  e  $33 \text{ }^{\circ}\text{C}$  variam entre  $0,074$  e  $0,52 \text{ d}^{-1}$

(Vidal 1980b, Klein Breteler *et al.* 1982, Huntley & Lopez 1992, Paffenhofer 1993, Sabatini & Kiørboe 1994, Hopcroft & Roff 1998, Uye & Sano 1998, Golez *et al.* 2004). Desta forma, os resultados obtidos para a espécie estudada estão entre os valores comumente reportados pela literatura e podem ser utilizados para estimativas de produção secundária da espécie. Além disso, Hirst & Bunker (2003) sugerem que as taxas de crescimento máximas estimadas em laboratório são próximas àsquelas encontradas em campo para copépodos.

Durante o experimento de crescimento da espécie *Notodiaptomus incompositus* foi utilizado o mesmo alimento, a alga *Chlamydomonas cf. pumilioniformes*, para todos os estágios de desenvolvimento, desde náuplios até adultos. Jacobs (1961) e Espíndola (1994) já haviam utilizado a alga *Chlamydomonas* spp. cultivada em laboratório como alimento para espécies dos gêneros *Pseudodiaptomus* e *Notodiaptomus* e obtiveram sucesso no desenvolvimento dos organismos. Além disso, Espíndola (1994) verificou que essa alga era encontrada no ambiente natural onde os copépodos foram coletados e vestígios da mesma foram encontrados no trato digestivo dos organismos.

Não é usual e nem ideal utilizar a mesma fonte alimentar para o crescimento de todos os estágios de desenvolvimento de um organismo, pois cada fase de seu ciclo de vida apresenta diferentes requerimentos alimentares, e é possível que resultados diferentes possam ser obtidos pela variação da dieta. Além disso, a capacidade de capturar partículas de alimento muda a medida que os organismos se desenvolvem. A quantidade e qualidade do alimento fornecido são muitas vezes consideradas os principais fatores

afetando o crescimento, desenvolvimento e produção de ovos (Checkley 1980, Vidal 1980a, Berggreen *et al.* 1988). Entretanto, na ausência de evidências do contrário, assume-se que o alimento fornecido foi adequado para todos os estágios de desenvolvimento.

As taxas de crescimento obtidas no presente estudo muito provavelmente não foram limitadas pelo alimento disponível e pode ser assumido que estão muito próximas as taxas máximas que podem ocorrer em condições experimentais. Segundo a teoria proposta por Vidal (1980a, 1980b), em ambiente natural os copépodos ocupam o nicho onde os requerimentos alimentares e os efeitos da temperatura estão em equilíbrio, então esses organismos se desenvolvem nas taxas máximas possíveis dentro das restrições impostas pela temperatura ambiental e sem efeitos limitantes de alimento.

O sucesso de eclosão dos ovos de 87% de *N. incompositus* encontrada no presente estudo pode estar relacionado com a dieta alimentar empregada, que se mostrou satisfatória para todos os estágios de desenvolvimento da espécie, desde náuplios até adultos. Tanto em ambiente natural como em cultivos laboratoriais, o sucesso de eclosão dos ovos pode estar intimamente relacionado com a dieta alimentar dos copépodos (Ivanora *et al.* 1996). Estudos que utilizaram diatomáceas como alimento para os copépodos sugerem que esta dieta pode produzir composto que inibem a embriogênese (Ivanora *et al.* 1995, Miralto *et al.* 1995), enquanto ovos de *Acartia clausi* expostos a altas concentrações de diatomáceas apresentaram baixa taxa de eclosão (Ivanora *et al.* 1996).

No ambiente natural a mortalidade dos ovos dos copépodos pode ser considerada alta devido à predação e outras causas ambientais. Já foi demonstrado, tanto em laboratório como em campo, que as fêmeas que carregam ovos são mais suscetíveis a predadores visuais e migrações verticais seriam uma estratégia para tentar reduzir a mortalidade (Winfield & Townsend 1983, Bollens & Frost 1991, Svensson 1992).

O tempo médio de desenvolvimento dos ovos até a eclosão dos náuplios de *N. incompositus* foi estimado em 51 horas (ou 2,14 dias) em temperatura de 20 °C. Desta forma, a taxa de fecundidade da espécie pode ser considerada baixa devido ao longo tempo de incubação dos ovos. Por sua vez, os ovos do copépodo *P. richardi* cultivado na mesma temperatura demoraram três dias para eclodir (Kaminski 2009), enquanto para a espécie *P. marinus*, esse tempo foi estimado em 93,6 horas (3,9 dias) a temperatura de 15 °C. Kiørboe & Sabatini (1994) ao revisar trabalhos feitos com espécies do gênero *Pseudocalanus* e *Eurytemora* estimaram o tempo de eclosão dos ovos em aproximadamente 46 horas em temperatura de 15 °C. Para as espécies *Notodiaptomus iheringi*, *N. cearensis*, *N. conifer* e *N. nsp* de Barra Bonita, o tempo de eclosão dos ovos foi estimado para as temperaturas de 23 e 28 °C em 37,92 e 26,64 horas (1,58 e 1,11 dias), 58,08 e 32,4 horas (2,42 e 1,35 dias), 27,12 e 30,96 horas (1,13 e 1,29 dias) e, 31,2 e 36,24 horas (1,30 e 1,51 dias), respectivamente (Espíndola 1994).

A partir desses exemplos, é possível verificar que a temperatura, além de interferir no tempo de geração dos organismos, também influencia no tempo de desenvolvimento dos ovos. Desta forma, o aumento da temperatura diminui

o tempo para eclosão dos náuplios. Entretanto, cada espécie está adaptada a diferentes intervalos de temperatura que devem ser considerados quando se deseja realizar um cultivo laboratorial. Oscilações muito bruscas de temperatura, as quais os copépodos não estão adaptados, podem inviabilizar o cultivo, causando a morte dos organismos.

O peso de carbono dos ovos e das fêmeas de *N. incompositus* foi estimado em 0,08 e 2,38  $\mu\text{g C}$ , respectivamente, através de fatores de conversão. Os fatores de conversão para estimativas de carbono são bastante utilizados na literatura (Huntley & Lopez 1992, Sabatini & Kiorboe 1994, Uye & Sano 1995, Liang & Uye 1997, Melo Júnior 2009), uma vez que os ovos dos copépodos são muito pequenos e seria necessária a separação de uma grande quantidade deles para pesagem. Devido à falta de dados prévios para comparação dos resultados obtidos para *N. incompositus*, são apresentados na Tabela 4 valores reportados para diversas espécies na literatura, além do diâmetro dos ovos, nº ovos/saco e o tamanho do prossoma das fêmeas. Os valores que mais se aproximam aos encontrados no presente estudo foram obtidos para as espécies *Pseudodiaptomus marinus* e *P. acutus* (Liang & Uye 1997, Melo Júnior 2009).

Tabela 4: Valores reportados na literatura para o diâmetro dos ovos ( $\mu\text{m}$ ), peso dos ovos ( $\mu\text{g C}$ ), número de ovos por saco, prossoma das fêmeas ( $\mu\text{m}$ ) e peso das fêmeas ( $\mu\text{g C}$ ) para diversas espécies de copépodos.

Espécie	Diâmetro dos ovos ( $\mu\text{m}$ )	Peso dos ovos ( $\mu\text{g C}$ )	Nº ovos/saco	Prossoma fêmea ( $\mu\text{m}$ )	Peso fêmea ( $\mu\text{g C}$ )	Fonte
<i>Notodiaptomus incompositus</i>	103,11 $\pm$ 10,69 (75 – 130)	0,08	11 $\pm$ 4,43 (5 – 25)	814,29 $\pm$ 45,81 (750 – 925)	2,38	Presente estudo
<i>Acartia clausi</i>	74,8	0,025	-	-	-	Uye 1981
<i>Acartia steueri</i>	82,9	0,045	-	-	-	Uye 1981
<i>Oithona davisae</i>	49,2	0,00738	10,9 – 28,5	-	-	Uye & Sano 1995
<i>Pseudodiaptomus marinus</i>	98 - 122	0,058 – 0,118	15,1 – 38,2	765 - 952	3,2 – 7,0	Liang & Uye 1997
<i>Pseudodiaptomus acutus</i>	92,1 $\pm$ 8,1	0,058 $\pm$ 0,014	-	723,5 $\pm$ 39,9	2,15 $\pm$ 0,39	Melo Júnior 2009

<i>Oncaea waldemari</i>	43,6 ± 2,5	0,006 ± 0,001	-	350,7 ± 20,6	0,79 ± 0,10	Melo Júnior 2009
<i>Euchaeta paraconcina</i>	235,1 ± 12,4	0,953 ± 0,161	-	1833,5	44,95	Melo Júnior 2009

Já comparando o número médio de ovos produzidos pelas fêmeas de *N. incompositus* durante o experimento a 20°C de  $9,70 \pm 2,20$  com os ovos produzidos pelas fêmeas de *Notodiaptomus* do reservatório de Barra Bonita em temperatura de 23 e 28 °C, verificamos que a produção de *N. incompositus* foi menor. Os valores de produção de ovos encontrados por Espíndola (1994) para as espécies *Notodiaptomus iheringi*, *N. cearensis*, *N. conifer* e *N. nsp* estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Produção de ovos estimada por Espíndola (1994) para as espécies de copépodos *Notodiaptomus iheringi*, *N. cearensis*, *N. conifer* e *N. nsp* a temperatura de 23 e 28 °C.

Espécie	Número de ovos produzidos	
	23 °C	28 °C
<i>Notodiaptomus iheringi</i>	13,41 ± 3,12	10,41 ± 1,76
<i>Notodiaptomus cearensis</i>	16,14 ± 2,94	17,05 ± 3,54
<i>Notodiaptomus conifer</i>	15,5 ± 2,27	13,87 ± 3,33
<i>Notodiaptomus nsp</i>	13,47 ± 2,79	16,38 ± 2,49

A taxa de desenvolvimento dos ovos não é limitada pela imediata presença ou ausência de alimento no ambiente, uma vez que todas as reservas alimentares para o desenvolvimento dos náuplios estão armazenadas no ovo. Entretanto, essas reservas podem ser influenciadas pelo suprimento alimentar disponível para a fêmea anteriormente à produção dos ovos (Thompson 1982). Como a alga *Chlamydomonas* cf. *pumilioniformes* foi fornecida em excesso durante todo o experimento, pode-se assumir que as reservas presentes nos ovos foram suficientes para permitir a máxima taxa de desenvolvimento. Desta forma, é possível que o número de ovos produzidos por *N. incompositus* no presente estudo tenha sido menor em relação às

espécies de *Notodiaptomus* estudadas por Espíndola devido à menor temperatura utilizada (20 °C).

A fecundidade em copépodos pode ser estimada em termos de produção de ovos, ou seja, o número de ovos produzido por fêmea por dia ( $n^{\circ}$  ovos. fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>), em ambas espécies que carregam os ovos ou espécies que desovam diretamente na água. As taxas de produção de ovos em espécies que são desovantes livres são em torno de 7,5 vezes mais altas comparadas com espécies que carregam os ovos (Kjørboe & Sabatini 1995). Isto ocorre, pois as espécies que carregam ovos só podem produzir uma nova massa de ovos quando os náuplios eclodem e os ovos são maiores comparados com as espécies que desovam no ambiente.

A produção de ovos encontrada no presente estudo para *N. incompositus* de 4,53 ovos. fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> é aproximada aos valores estimados para outros copépodos que carregam ovos, e menor quando comparado a produção de ovos de copépodos que liberam seus ovos no ambiente. Kaminski *et al.* (2009) não conseguiu estimar a taxa de produção de ovos de *N. incompositus*, e obteve somente resultados de número de ovos por sacos nas salinidades 1 e 5, que se mostraram bastante baixos (1,70 e 0,40 ovos. saco<sup>-1</sup> fêmea<sup>-1</sup>, respectivamente), indicando a baixa capacidade osmorregulatória da espécie. Além disso, a dieta alimentar empregada pela autora composta pelas microalgas *Isochrysis galbana*, *Thalassiosira weissflogii* e *Chaetoceros muelleri* individualmente e em combinação pode não ter sido ideal para a espécie, apesar de ser utilizada para o cultivo das espécies de origem marinha que ocorrem no ELP. Já para o copépodo *P. richardi* analisado no mesmo estudo,

foi reportado o valor médio de 6,5 ovos. fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. Liang & Uye (1997) ao estudarem a biologia reprodutiva de *P. marinus*, estimaram 2,3 ovos. fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> durante o inverno e 12,1 ovos. fêmea<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> no verão.

Desta forma, podemos concluir que a espécie *Notodiaptomus incompositus* se adaptou bem e demonstrou um bom potencial reprodutivo em condições laboratoriais de cultivo. Além disso, o alimento fornecido se mostrou suficiente para atender as demandas metabólicas e de captura dos diferentes estágios de desenvolvimento e não foi necessário utilizar partículas alimentares de outros tamanhos.

#### **3.4.2 Produção de ovos com a presença e ausência de machos**

Durante o experimento de produção de ovos com a incubação de fêmeas com machos e sem machos foi possível ver um padrão entre os diferentes tratamentos. As fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* que foram incubadas com machos desde o início do experimento produziram sacos de ovos durante todo o período, apresentaram tempo de incubação variando entre 48 e 72 horas, e ao final do experimento algumas já estavam em sua terceira incubação, dos quais eclodiram náuplios, com exceção de uma fêmea que nunca produziu ovos. Os resultados obtidos para a produção de ovos demonstram que as fêmeas carregam os sacos de ovos até a eclosão dos náuplios, para poderem então produzir outro saco ovífero. Além disso, a espécie necessita de novas fertilizações após a produção de ovos e eclosão dos náuplios, pois as fêmeas que foram mantidas sem os machos não produziram ovos ao longo de 216 horas, nem mesmo ovos não-viáveis, mesmo

tendo sido incubadas inicialmente com ovos, indicando que haviam sido fertilizadas previamente.

Em geral, a frequência na qual as fêmeas devem ser fertilizadas para produzirem ovos não é clara, pois acredita-se que os espermatozóides dos machos se mantêm viáveis por algum tempo após a reprodução (Mauchline 1998). Este fato foi comprovado por muitos autores que verificaram que a fertilização das fêmeas uma única vez permitia a produção de ovos viáveis por longos períodos. Fêmeas de *Eurytemora affinis* podem armazenar esperma nos receptáculos seminais e produzir ovos até 57 dias após a inseminação (Katona 1975), enquanto as fêmeas de *Calanus finmarchicus* e *C. pacificus* são fertilizadas uma única vez durante todo seu tempo de vida (Marshall & Orr 1952, Runge 1984). Da mesma maneira ocorre para as fêmeas de *Acartia clausi*, na qual uma única inseminação é suficiente e outras fertilizações são infrequentes (Uye 1981, Ianora *et al.* 1996).

Por outro lado, algumas espécies necessitam de novas inseminações antes da produção de novos ovos. Em um estudo realizado por Watras (1983), foi verificado que as espécies de Diaptomidae testadas (*Diaptomus leptopus*, *D. pygmaeus*, *D. pallidus* e *D. dorsalis*) se encaixam nesse grupo e novos sacos ovígeros são produzidos somente após nova inseminação. Além disso, o autor percebeu que as fêmeas oscilavam em um estado “grávido” e “não-grávido” de aproximadamente 4 dias a 18 °C e, para que houvesse sucesso reprodutivo, as fêmeas deviam estar com os ovários grávidos no momento da cópula. As fêmeas do copépodo *Pseudodiaptomus annandalei* isoladas dos machos não produziram mais do que duas desovas de ovos viáveis, enquanto

aquelas mantidas com machos na proporção de 1:1 produziram 9 desovas de ovos viáveis em 11 dias (Golez *et al.* 2004). *Acartia tonsa* também pertence a esse grupo e necessita de novas fertilizações (Wilson & Parrish 1971, Parrish & Wilson 1978), bem como o copépodo *Temora stylifera* (Ivanova *et al.* 1989). Apesar da capacidade do copépodo *Eurytemora affinis* de produzir ovos viáveis fertilizados com inseminações prévias, o número de sacos ovíferos e sucesso na eclosão dos náuplios é maior para as fêmeas que são incubadas com machos (Heinle 1970, Katona 1975).

Segundo Mauchline (1998) fêmeas que são fertilizadas imediatamente após realizarem a muda para a fase adulta, são inseminadas uma única vez. Já as fêmeas que são fertilizadas somente quando apresentam ovos maduros em seus ovários necessitam de frequentes cópulas e novas inseminações.

Fêmeas de *A. tonsa* incubadas desde o início de sua vida adulta sem a presença de machos apresentam um tempo de vida mais curto em comparação com fêmeas que foram incubadas na presença de machos e fertilizadas. Apesar disso, elas produzem ovos não-viáveis durante todo o tempo de vida (Parrish & Wilson 1978). O mesmo foi observado por Jacobs (1961) em seu estudo realizado com *Pseudodiaptomus coronatus*. No caso de *N. incompositus*, as fêmeas incubadas sem machos não produziram ovos em nenhum momento do experimento, mesmo tendo sido inicialmente incubadas com ovos.

Já as fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* que foram incubadas inicialmente sem machos até às 96 horas não produziram ovos durante esse período inicial. Após a inclusão dos machos, somente após mais 96 horas (168

horas de experimento) foi possível observar fêmeas portando sacos ovígeros, e algumas somente 120 horas após a incubação com machos. Porém, a maioria não produziu mais ovos, mesmo após a incubação na presença de machos. Provavelmente no momento da incubação com os machos as fêmeas não apresentavam ovos maduros prontos para a inseminação, e esse período foi necessário para maturação de ovos e posterior inseminação. A presença de machos deve ser importante para que as fêmeas desenvolvam ovários grávidos e quando não há a presença de machos as fêmeas devem poupar a energia que seria investida na produção de ovos.

Uma vez que diversos trabalhos provaram que somente fêmeas com ovários grávidos produzem ovos viáveis após a reprodução, e que uma nova inseminação é necessária para liberação de um novo saco ovígero, devem existir mecanismos para localização e seleção reprodutiva de parceiros sexuais, sejam eles mudanças de comportamento e natação ou a produção de ferormônios (Griffiths & Frost 1976, Jacoby & Youngbluth 1983, Watras 1983, Gill 1986, Uchima & Murano 1988, Duren & Videler 1996).

Apesar de parte das fêmeas que foram colocadas com os machos após 96 horas produzirem ovos, a maioria não liberou ovos mesmo após a presença dos machos. Sendo assim, é possível que as fêmeas não estivessem mais em período reprodutivo e não fossem mais capazes de produzir ovos pela idade, uma vez que a idade das mesmas não foi considerada durante o início do experimento. Ianora *et al.* (1996) verificaram que a fecundidade e taxa de eclosão dos ovos diminui com a idade das fêmeas de *Acartia clausi*. Uma possível explicação do motivo pelo qual as fêmeas mais velhas produzem

menos ovos foi sugerida por Razouls *et al.* (1986), que observou uma redução no tamanho dos ovidutos de fêmeas de *Temora stylifera* em idade mais avançada.

Além do mais, a idade dos machos também não foi avaliada e uma possibilidade é de que os mesmos ainda não estivessem sexualmente maduros e não apresentassem espermátóforos maduros prontos para transferência para as fêmeas. Outra possibilidade é que os machos estivessem em idade reprodutiva avançada. O tempo médio de vida adulta de fêmeas de *Pseudodiaptomus coronatus*, *P. acutus* e *P. cokeri* varia entre 12,4 a 15 dias, enquanto para os machos esse tempo varia de 9,8 a 12,1 dias (Jacoby & Youngbluth 1983). Considerando que o experimento foi realizado por 9 dias consecutivos, é possível que os organismos já estivessem em idade adulta avançada. Outra hipótese menos provável é a de que as fêmeas percam a capacidade de produzir ovos após um período sem machos.

### **3.4.3 Tamanho e número de ovos dos sacos ovígeros das fêmeas de *Notodiaptomus incompositus* coletadas no ambiente**

O diâmetro médio dos ovos de *Notodiaptomus incompositus* de 103,11  $\mu\text{m}$  com variações entre 75 – 130  $\mu\text{m}$  estimados pela medição de ovos encontrados nas amostras coletadas no ELP foi bem parecido com a variação de tamanho de ovos encontrada por Kiørboe & Sabatini (1995) para as espécies do gênero *Pseudocalanus* e *Eurytemora*, de 80 – 130  $\mu\text{m}$ . O diâmetro dos ovos de 32 espécies de copépodos coletados no largo de Ubatuba apresentaram tamanhos que variaram de  $41,1 \pm 2,2 \mu\text{m}$  (*Monothula subtilis*) a  $269,2 \pm 11,5 \mu\text{m}$  (*Euchaeta marina*), ambas espécies retentoras de ovos (Melo

Júnior 2009). Porém, um levantamento com diversas espécies que carregam sacos ovígeros indicam que o diâmetro dos ovos pode variar de 70 a 700  $\mu\text{m}$  (Mauchline 1998).

O diâmetro dos ovos relativo ao tamanho do prossoma das fêmeas é diferente entre aquelas que carregam ovos e aquelas que desovam livremente. Geralmente, copépodos que carregam sacos ovígeros produzem ovos maiores relativo ao volume corpóreo e tamanho do prossoma das fêmeas. Desta forma, o diâmetro dos ovos pode ser expresso como uma porcentagem do tamanho do prossoma e o valor médio encontrado para copépodos que carregam sacos ovígeros é de  $11,59\% \pm 2,39$ . Já para copépodos que desovam livremente, esse valor é estimado em  $7,22\% \pm 2,22$  (Mauchline 1998). Com base nos resultados obtidos para o tamanho do prossoma das fêmeas do ELP de *Notodiaptomus incompositus* e o diâmetro dos ovos, esse valor é de  $12,66\%$  e está dentro da média geral estimada para copépodos retentores de ovos. Uma relação aproximada à obtida para *N. incompositus* foi encontrada por Melo Júnior (2009) para as espécies retentoras de ovos *Euchaeta paraconcina* ( $12,8\%$ ), *Oncaea waldemari* ( $12,5\%$ ) e *Pseudodiaptomus acutus* ( $12,8\%$ ) (Tab. 4).

O número de ovos de um saco ovígero ou de uma única desova aumenta com o aumento do tamanho do prossoma ou com o peso da fêmea em muitas espécies. Uma correlação positiva foi encontrada para as espécies *Eurytemora affinis* (Crawford & Daborn 1986) e *Pseudodiaptomus marinus* (Uye *et al.* 1982) que carregam ovos. Porém, no presente estudo não foi observada essa relação ( $r = 0,236$ ) entre o comprimento do prossoma e o número de ovos

de fêmeas de *Notodiaptomus incompositus*. Nenhuma correlação foi encontrada também para as espécies *Calanus marshallae* (Peterson 1988) e *C. pacificus* (Mullin 1991). Somente foi possível encontrar uma boa relação entre o tamanho dos sacos e o número de ovos, indicando que sacos ovíferos maiores apresentam mais ovos, ao invés de serem encontrados ovos com diâmetro maior.

A Tabela 3 apresenta a comparação entre as medidas morfométricas e peso seco das fêmeas do ELP que portavam sacos ovíferos e as fêmeas cultivadas em laboratório durante o experimento de crescimento da espécie. É possível ver que as fêmeas do cultivo são maiores em ambas as medidas corpóreas e conseqüentemente apresentavam peso seco maior, possivelmente devido às condições experimentais. Peterson (1986) ao cultivar o copépodo *Calanus marshallae* observou que as fêmeas nascidas no cultivo eram significativamente maiores do que as fêmeas do ambiente. Durante o presente estudo foi fornecido alimento em excesso e a temperatura e salinidade foram mantidas constantes, enquanto em ambiente natural os organismos sofrem variações na abundância e disponibilidade de alimento, enfrentam mudanças de salinidade e temperatura que geram estresse, além do risco de predação que deve ser evitado e gera gastos energéticos.

### 3.5 Conclusões

- A microalga clorofícea *Chlamydomonas* cf. *pumilioniformis* (Chlamydomonadales) utilizada durante o cultivo se mostrou satisfatória para o desenvolvimento e produção de ovos de *Notodiaptomus incompositus*.

- O tempo médio de desenvolvimento da espécie *N. incompositus* do estágio de náuplios a adultos sexualmente maduros é de 14 dias em temperatura de 20 °C.
- As taxas de crescimento (g) de copepoditos e adultos (assumindo-se que machos crescem o mesmo que fêmeas) de *N. incompositus* cultivados a 20°C são: CI – 0,193 d<sup>-1</sup>; CII – 0,447 d<sup>-1</sup>; CIII – 0,149 d<sup>-1</sup>; CIV – 0,415 d<sup>-1</sup>; CV – 0,073 d<sup>-1</sup>; CVI – 0,134 d<sup>-1</sup>.

### 3.6 Referências Bibliográficas

- BERGGREEN, U, B HANSEN & T KIORBOE. 1988. Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: implications for determination of copepod production. *Mar. Biol.*, 99: 341-352.
- BOLLENS, SM & BW FROST. 1991. Ovigerity, selective predation, and variable diel vertical migration in *Euchaeta elongata* (Copepoda: Calanoida). *Oecologia*, 87: 155-161.
- BRIAN, A. 1925. Di alcuni copepodi d'acqua dolce dell'Argentina. *Mem. Soc. Entomol. Ital.*, 4: 177-200.
- BUCKLIN, A. 2000. Methods for population genetic analysis of zooplankton. In: HARRIS, RP, PH WIEBE, J LENZ, HR SKJOLDAL & M HUNTLEY (Eds.). ICES Zooplankton Methodology Manual. Academic Press, London, Chap 11: 533-570.
- CALLIARI, D, G CERVETTO & R CASTIGLIONI. 2004. Summertime herbivory and egg production by *Acartia tonsa* at the Montevideo coast – Rio de La Plata. *Ophelia*, 58(2): 115-128.

- CALLIARI, D, MCA BORG, P THOR, E GOROKHOVA & P TISELIUS. 2008. Instantaneous salinity reductions affect the survival and feeding rates of the co-occurring copepods *Acartia tonsa* Dana and *A. clausi* Giesbrecht differently. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 362(1): 18-25.
- CARDOZO, AP. 2004. Influência de diferentes salinidades na reprodução e crescimento de *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida). Monografia de Conclusão, Curso de Oceanologia, Universidade Federal do Rio Grande, RS. 27 p.
- CERVETTO, G, R GAUDY & M PAGANO. 1999. Influence of salinity on the distribution of *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 239: 33-45.
- CHECKLEY, DM. 1980. Food limitation of egg production by a marine, planktonic copepod in the sea off southern California. *Limnol. Oceanogr.*, 25(6): 991-998.
- CHINNERY, FE & JA WILLIAMS. 2004. The influence of temperature and salinity on *Acartia* (Copepoda: Calanoida) nauplii survival. *Mar. Biol.*, 145: 733-738.
- CHISHOLM, LA & JC ROFF. 1990. Abundances, growth rates, and production of tropical neritic copepods off Kingston, Jamaica. *Mar. Biol.*, 106: 79-89.
- CRAWFORD, P & GR DABORN. 1986. Seasonal variations in body size and fecundity in a copepod of turbid estuaries. *Estuaries*, 9: 133-141.
- DAHMS, H. 1995. Dormancy in the Copepoda – an overview. *Hydrobiologia*, 306(3): 199-211.
- DEVREKER, D, S SOUISSI, J FORGET-LERAY & F LEBOULENGER. 2007. Effects of salinity and temperature on the post-embryonic development of

- Eurytemora affinis* (Copepoda; Calanoida) from the Seine Estuary: a laboratory study. *J. Plankton Res.*, 29(1): 1117-1133.
- DOWNING, JA. 1984. Assessment of secondary production: the first step. In: DOWNING, JA. & FH RIGLER (Eds.). A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters (IBP Hand Book 17). Blackwell Scientific Publications, London. Chap. 1: 1-18.
- DURBIN, AG & EG DURBIN. 1981. Standing stock and estimated production rates of phytoplankton and zooplankton in Narragansett Bay, Rhode Island. *Estuaries*, 4(1): 24-41.
- DUREN, LA & JJ VIDELER. 1996. The trade-off between feeding, mate seeking and predator avoidance in copepods: behavioural responses to chemical cues. *J. Plankton Res.*, 18(5): 805-818.
- ESCRIBANO, R, L RODRIGUEZ & C IRRIBARREN. 1998. Temperature-dependent development and growth of *Calanus chilensis* Brodsky from Northern Chile. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 229(1): 19-34.
- ESCRIBANO, R, M SABATINI & P HIDALGO. 2009. Crecimiento, desarrollo, fecundidad y producción en el mesozooplâncton. In: ALDER, VA & CE MORALES (Eds.). Manual de métodos para el estudio de sistemas planctônicos marinos. Eudeba, Buenos Aires. Cap 7: 227-246.
- ESPÍNDOLA, ELG. 1994. Dinâmica da associação congênica das espécies de *Notodiaptomus* (Copepoda, Calanoida) no reservatório de Barra Bonita, São Paulo. Tese de Doutorado, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, SP. 363p.

- FRYD, M, OH HASLUND & O WOHLGEMUTH. 1991. Development, growth and egg production of the two copepod species *Centropages hamatus* and *Centropages typicus* in the laboratory. *J. Plankton Res.*, 13: 683-689.
- GILL, CW. 1986. Suspected mechano- and chemosensory structures of *Temora longicornis* (Copepoda: Calanoida). *Mar. Biol.*, 93: 449-457.
- GOLEZ, MSN, T TAKAHASHI, T ISHIMARU & A OHNO. 2004. Post-embryonic development and reproduction of *Pseudodiaptomus annandalei* (Copepoda: Calanoida). *Plankton Biol. Ecol.*, 51(1): 15-25.
- GOPHEN, M. 1979. Mating process in *Mesocyclops leuckarti* (Crustacea: Copepoda). *Isr. J. Zool.*, 28: 163-166.
- GRIFFITHS, AM & BW FROST. 1976. Chemical communication in the marine planktonic copepods *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus* sp. *Crustaceana*, 30(1): 1-8.
- GUILLARD, RRL & CJ LORENZEN. 1972. Yellow-green algae with chlorophyllide c. *J. Phycol.*, 8: 10-14.
- HAQ, AM. 1972. Breeding of *Euterpina acutifrons*, a harpacticid copepod, with special reference to dimorphic males. *Mar. Biol.*, 15: 221-235.
- HART, RC. 1990. Copepod post-embryonic durations: pattern, conformity, and predictability. The realities of isochronal and equiproportional development, and trends in the copepodid-naupliar duration ratio. *Hydrobiologia*, 206: 175-206.
- HEINLE, DR. 1970. Population dynamics of exploited cultures of calanoid copepods. *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, 20: 360-372.

- HERNÁNDEZ-LEÓN, S, C ALMEIDA & I MONTERO. 1995. The use of aspartate transcarbamylase activity to estimate growth rates in zooplankton. *ICES J. Mar. Sci.*, 52: 377-383.
- HIRST, AG & M SHEADER. 1997. Are in situ weight-specific growth rates body-size independent in marine planktonic copepods? A re-analysis of the global syntheses and a new empirical model. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 154: 155-165.
- HIRST, AG & RS LAMPITT. 1998. Towards a global model of in situ weight-specific growth in marine planktonic copepods. *Mar. Biol.*, 132: 247-257.
- HIRST, AG & AD MCKINNOON. 2001. Does egg production represent adult female copepod growth? A call to account for body weight changes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 223: 179-199.
- HIRST, AG & AJ BUNKER. 2003. Growth of marine planktonic copepods: Global rates and patterns in relation to chlorophyll a, temperature, and body weight. *Limnol. Oceanogr.*, 48(5): 1988-2010.
- HIRST, AG, JC ROFF & RS LAMPITT. 2003. A Synthesis of Growth Rates in Marine Epipelagic Invertebrate Zooplankton. In: SOUTHWARD, AJ, PA TYLER, PS YOUNG & LA FUIMAN (Eds.). *Advances in Marine Biology*, Academic Press, Amsterdam. 1-142.
- HOPCROFT, RR & JC ROFF. 1998. Zooplankton growth rates: the influence of female size and resources on egg production of tropical marine copepodites. *Mar. Biol.*, 132: 79-86.

- HUNTLEY, M & C BOYD. 1984. Food-Limited Growth of Marine Zooplankton. *Am. Nat.*, 124(4): 455 – 478.
- HUNTLEY, ME & MDG LOPEZ. 1992. Temperature-Dependent Production of Marine Copepods: A Global Synthesis. *Am. Nat.*, 140(2): 201 – 242.
- IANORA, A, B SCOTTO DI CARLO & P MASCELLARO. 1989. Reproductive biology of the planktonic copepod *Temora stylifera*. *Mar. Biol.*, 101: 187-194.
- IANORA, A, SA POULET & A MIRALTO. 1995. A comparative study of the inhibitory effect of diatoms on the reproductive biology of the copepod *Temora stylifera*. *Mar. Biol.*, 121: 533-539.
- IANORA, S, SA POULET, A MIRALTO & R GROTTOLI. 1996. The diatom *Thalassiosira rotula* affects reproductive success in the copepod *Acartia clausi*. *Mar. Biol.*, 125: 279-286.
- IKEDA, T & S MOTODA. 1978. Estimated zooplankton production and their ammonia excretion in the Kuroshio and adjacent seas. *Fish. Bull.*, 76(2): 357-367.
- JACOBY, CA & MJ YOUNGBLUTH. 1983. Mating behavior in three species of *Pseudodiaptomus* (Copepoda: Calanoida). *Mar. Biol.*, 76: 77-86.
- JACOBS, J. 1961. Laboratory cultivation of the marine copepod *Pseudodiaptomus coronatus* Williams. *Limnol. Oceanogr.*, 6: 443-446.
- JERLING, HL & TH WOOLDRIDGE. 1991. Population dynamics and estimates of production for the calanoid copepod *Pseudodiaptomus hessei* in a warm temperate estuary. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 33: 121-135.

- KAMINSKI, SM. 2004. Influência da alimentação sobre a reprodução e o desenvolvimento do copépodo calanoida *Acartia tonsa* Dana 1849, em cultivo intensivo. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, SC. 55p.
- KAMINSKI, SM. 2009. Mesozooplâncton do Estuário da Lagoa dos Patos e zona costeira adjacente com ênfase para os copépodos *Acartia tonsa*, *Pseudodiaptomus richardi* e *Notodiaptomus incompositus* (2000-2005). Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica, Universidade Federal do Rio Grande, RS. 139p.
- KAMINSKI, SM, JGF BERSANO & WJA AMARAL. 2009. Efeitos da salinidade e dieta alimentar sobre os copépodos *Pseudodiaptomus richardi* e *Notodiaptomus incompositus* em estudos de laboratório. *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.*, 13(1): 25-36.
- KATONA, SK. 1970. Growth characteristics of the copepods *Eurytemora affinis* and *E. herdmani* in laboratory cultures. *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, 20: 373-384.
- KATONA, SK. 1975. Copulation in the copepod *Eurytemora affinis* (Pope, 1880). *Crustaceana*, 28(1): 89-95.
- KIMMERER, WJ. 1987. The theory of secondary production calculations for continuously reproducing populations. *Limnol. Oceanogr.*, 32: 1-13.
- KIØRBOE, T, F MOHLENBERG & K HAMBURGER. 1985. Bioenergetics of the planktonic copepod *Acartia tonsa*: relation between feeding, egg production and respiration, and composition of specific dynamic action. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 26: 85-97.

- KIØRBOE, T & M SABATINI. 1994. Reproductive and life cycle strategies in egg-carrying cyclopoid and free-spawning calanoid copepods. *J. Plankton Res.*, 16(10): 1353-1366.
- KIØRBOE, T & M SABATINI. 1995. Scaling of fecundity, growth and development in marine planktonic copepods. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 120: 285-298.
- KLEIN BRETELER, WCM, HG FRANSZ & SR GONZALEZ. 1982. Growth and development of four calanoid copepod species under experimental and natural conditions. *Netherlands J. Sea Res.*, 16: 195-207,
- LANDRY, MR. 1983. The development of marine copepods with comment on the isochronal rule. *Limnol. Oceanogr.*, 28(4): 614-624.
- LEANDRO, SM, H QUEIROGA, L RODRÍGUEZ-GRAÑA & P TISELIUS. 2006a. Temperature-dependent development and somatic growth in two allopatric populations of *Acartia clausi* (Copepoda: Calanoida). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 322: 189-197.
- LEANDRO, SM, P TISELIUS & H QUEIROGA. 2006b. Growth and development of nauplii and copepodites of the estuarine copepod *Acartia tonsa* from southern Europe (Ria de Aveiro, Portugal) under saturating food conditions. *Mar. Biol.*, 150: 121-129.
- LIANG, D & S UYE. 1997. Seasonal reproductive biology of the egg-carrying calanoid copepod *Pseudodiaptomus marinus* in a eutrophic inlet of the Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.*, 128: 409-414.
- MARSHALL, SM & AP ORR. 1952. On the biology of *Calanus finmarchicus*. VII. Factors affecting egg production. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 30: 527-547.

- MAUCHLINE, J. 1998. The Biology of Calanoid Copepods: Advances in Marine Biology. London, Academic Press. 710p.
- MCLAREN, IA. 1978. Generation lengths of some temperate marine copepods: estimation, prediction, and implications. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35: 1330-1342.
- MCLAREN, IA & A LEONARD. 1995. Assessing the equivalence of growth and egg production of copepods. *ICES J. Mar. Sci.*, 52: 397-408.
- MELO JÚNIOR, M. 2009. Produção secundária e aspectos reprodutivos de copépodes pelágicos ao largo de Ubatuba (SP, Brasil). Tese de Doutorado, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, SP. 186p.
- MILLER, CB, JK JOHNSON & DR HEINLE. 1977. Growth rules in the marine copepod genus *Acartia*. *Limnol. Oceanogr.*, 22: 326-335.
- MIRALTO, A, A IANORA & SA POULET. 1995. Food type induces different reproductive responses in the copepod *Centropages typicus*. *J. Plankton Res.*, 17(7): 1521-1534.
- MONTÚ, M. 1980. Zooplâncton do Estuário da Lagoa dos Patos I – Estrutura e Variações Temporais e Espaciais da Comunidade. *Atlântica*, 4: 53-72.
- MONTÚ, M & IM GLOEDEN. 1986. Atlas dos Cladocera e Copepoda (Crustacea) do Estuário da Lagoa dos Patos (Rio Grande, Brasil). *Nerítica*, 1(2): 1-134.
- MONTÚ, M, AK DUARTE & IM GLOEDEN. 1998. Zooplâncton. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. *Ecocientia*, Rio Grande. Cap. 4.9: 43-46.

- MUELBERT, JH, E MUXAGATA & SM KAMINSKI. 2010. As comunidades zooplanctônicas. In: SEELIGER, U & C ODEBRECHT (Eds.). O Estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações. FURG, Rio Grande, Cap. 6: 67-75.
- MULLIN, MM. 1991. Production of eggs by the copepod *Calanus pacificus* in the southern California sector of the California Current system. *Cal. Coop. Ocean. Fish.*, 32:65-90.
- MUXAGATA, E, WJA AMARAL & CA BARBOSA. 2012. *Acartia tonsa* in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *ICES J. Mar. Sci.*, 69(3): 475-482.
- OMORI, M & T IKEDA. 1992. Methods in marine zooplankton ecology. Florida, Malabar. 329p.
- ORTIZ, DO. 2014. Determinação da relação comprimento-peso para o copépodo calanoida *Notodiaptomus incompositus* (Brian, 1925). Monografia de Graduação, Curso de Oceanologia, Universidade Federal do Rio Grande, RS, 30p.
- PAFFENHÖFER, GA. 1993. On the ecology of marine cyclopoid copepods (Crustacea, Copepoda). *J. Plankton Res.*, 15(1): 37-55.
- PARRISH KK & DF WILSON. 1978. Fecundity studies on *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoida) in standardized culture. *Mar. Biol.*, 46: 65-81.
- PAYNE, MF & RJ RIPPINGALE. 2001. Effects of salinity, cold storage and enrichment on the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. *Aquaculture*, 201: 251-262.
- PETERSON, WT. 1986. Development, growth and survivorship of the copepod in the laboratory. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 29: 1-12.

- PETERSON, WT. 1988. Rates of egg production by the copepod *Calanus marshallae* in the laboratory and in the sea off Oregon, USA. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 47: 229-237.
- PETERSON, WT. 2001. Patterns in stage duration and development among marine and freshwater calanoid and cyclopoid copepods: a review of rules, physiological constraints, and evolutionary significance. *Hydrobiologia*, 453/454: 91-105.
- POULET, SA, A IANORA, M LAABIR & WCM KLEIN BRETELER. 1995. Towards the measurement of secondary production and recruitment in copepods. *ICES J. Mar. Sci.*, 52: 359-368.
- RAZOULS, S, S NIVAL & P NIVAL. 1986. La reproduction de *Temora stylifera*: ses implications anatomiques en relation avec le facteur "nutrition". *J. Plankton Res.*, 8(5): 875-889.
- RIGLER, FH & JA DOWNING. 1984. The calculation of secondary productivity. In: DOWNING, JA & FH RIGLER (Eds.). A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell Scientific, Oxford. Chap 2: 19-58.
- RUNGE, JA. 1984. Egg production of the marine, planktonic copepod, *Calanus pacificus* Brodsky: laboratory observations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 74: 53-66.
- RUNGE, JA & JC ROFF. 2000. The measurement of growth and reproductive rates. In: HARRIS, R, P WIEBE, J LENZ, HR SKJOLDAL & M HUNTLEY (Eds.). ICES Zooplankton Methodology Manual. Academic Press, London. Chap. 9: 401-454.

- SABATINI, ME. 1990. The developmental stages (copepodids I to VI) of *Acartia tonsa* Dana, 1849 (Copepoda, Calanoida). *Crustaceana*, 59(1): 53-61.
- SABATINI, M & T KIØRBOE. 1994. Egg production, growth and development of the cyclopoid copepod *Oithona similis*. *J. Plankton Res.*, 16(10): 1329-1351.
- SVENSSON, J. 1992. The influence of visibility and escape ability on sex-specific susceptibility to fish predation in *Eudiaptomus gracilis* (Copepoda, Crustacea). *Hydrobiologia*, 234: 143-150.
- THOMPSON, BM. 1982. Growth and development of *Pseudocalanus elongatus* and *Calanus* sp. in the laboratory. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 62: 359-372.
- TROEDSSON, C, P SIMONELLI, V NÄGELE, JC NEJSTGAARD & ME FRISCHER. 2009. Quantification of copepod gut content by differential length amplification quantitative PCR (dla-qPCR). *Mar. Biol.*, 156: 253-259.
- UCHIMA, M & M MURANO. 1988. Mating behavior of the marine copepod *Oithona davisae*. *Mar. Biol.*, 99: 39-45.
- UYE, S. 1980. Development of neritic copepods *Acartia clausi* and *A. steueri*. II. Isochronal larval development at various temperatures. *Bull. Plankton Soc. Japan*, 27: 11-18.
- UYE, S. 1981. Fecundity studies of neritic calanoid copepods *Acartia clausi* Giesbrecht and *A. steueri* Smirnov: a simple empirical model of daily egg production. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 50: 255-271.

- UYE, S, Y IWAI & S KASAHARA. 1982. Reproductive biology of *Pseudodiaptomus marinus* (Copepoda: Calanoida) in the Inland Sea of Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan*, 29(1): 25-35.
- UYE, S, Y IWAI & K KASAHARA. 1983. Growth and production of the inshore marine copepod *Pseudodiaptomus marinus* in the central part of the Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.*, 73: 91-98.
- UYE, S & K SANO. 1995. Seasonal reproductive biology of the small cyclopoid copepod *Oithona davisae* in a temperate eutrophic inlet. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 118: 121-128.
- UYE, S & K SANO. 1998. Seasonal variations in biomass, growth rate and production rate of the small cyclopoid copepod *Oithona davisae* in a temperate eutrophic inlet. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 163: 37-44.
- VIDAL, J. 1980a. Physioecology of Zooplankton. I. Effects of phytoplankton concentration, temperature, and body size on the growth rate of *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus* sp. *Mar. Biol.*, 56: 111-134.
- VIDAL, J. 1980b. Physioecology of Zooplankton. II. Effects of phytoplankton concentration, temperature, and body size on the development and molting rates of *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus* sp. *Mar. Biol.*, 56: 135-146.
- WATRAS, CJ. 1983. Mate location by diaptomid copepods. *J. Plankton Res.*, 5(3): 417-423.

WILSON, DF & KK PARRISH. 1971. Remating in a planktonic marine calanoid copepod. *Mar. Biol.*, 9: 202-204.

WINFIELD IJ & CR TOWNSEND. 1983. The cost of copepod reproduction: increased susceptibility to fish predation. *Oecologia*, 60(3): 406-411.

#### 4. CAPÍTULO III

## **Produção secundária de *Notodiaptomus incompositus* no Estuário da Lagoa dos Patos (RS)**

### **4.1 Introdução**

A importância do zooplâncton como o principal elo entre produtores primários e os demais níveis da teia trófica em ambientes aquáticos é amplamente reconhecida (Banse 1995, Lenz 2000) e devido a isso a pesquisa para estimativas de biomassa e produção secundária de diversos componentes do zooplâncton foi impulsionada (Omori 1969, Ikeda & Skjoldal 1989, Buskey 1993, Ara 2002, Ara 2004, Muxagata *et al.* 2004, Muxagata *et al.* 2012). Estudos deste tipo permitem uma melhor compreensão do papel desses organismos na transferência de matéria e energia nos ecossistemas aquáticos, auxiliam na formulação de teorias gerais sobre a produtividade de populações pelágicas, bem como na avaliação dos efeitos da poluição e de mudanças climáticas. Desta forma, é possível aprimorar o controle e manejo dos recursos aquáticos que dependem do zooplâncton como alimento em algum estágio de seu desenvolvimento (Downing 1984, Runge & Roff 2000).

Dentre os diferentes grupos encontrados no zooplâncton, destaca-se a subclasse Copepoda, composta por pequenos crustáceos encontrados em águas marinhas e continentais (Mauchline 1998) e que geralmente representam de 70 a 90 % da densidade total dos organismos zooplânctônicos capturados com rede em ambientes marinhos e estuarinos (Raymont 1983). Além de abundantes, os copépodos apresentam multivoltinismo, ou seja, possuem múltiplas gerações por ano, e uma expectativa de vida curta, e por esse motivo apresentam alta produtividade (Downing 1984), servindo de

alimento para várias espécies de peixes, aves e mamíferos (Springer & Roseneau 1985, Valenzuela *et al.* 2009, Benfield 2013). Devido a esta grande importância, a maioria dos estudos para determinação da produção secundária zooplanctônica enfocam na contribuição dos copépodos (Uye *et al.* 1983, Jerling & Wooldridge 1991, Ara 2002, Leandro *et al.* 2007, Muxagata *et al.* 2012, Gonçalves *et al.* 2015).

Porém, pesquisas realizadas em estuários e zonas costeiras demonstraram que variações sazonais podem favorecer a produtividade de outros organismos zooplanctônicos, como larvas de cirripédios, cladóceros e decápodos e muitas vezes superar a produção de copépodos (Raymont 1983, Muxagata *et al.* 2004).

No Estuário da Lagoa dos Patos (ELP), a composição do zooplâncton está intimamente associada a variações de salinidade, devido aos períodos de enchente, vazante ou mistura de ambas, determinando a distribuição das espécies de diferentes origens (Montú *et al.* 1998). Essas grandes variações de salinidade encontradas ao longo do ano no ELP estão relacionadas principalmente ao regime de ventos e a descarga de água doce, pois apresentam pouca influência de maré (Garcia 1998).

A Lagoa dos Patos (30°30'S e 32°12'S) (Fig. 13) é considerada a maior laguna do tipo “estrangulado” do mundo, cobrindo uma área de aproximadamente 10.000 km<sup>2</sup> na direção NE-SW (Kjerfve 1986). Recebe água doce de uma bacia de drenagem de 201.626 km<sup>2</sup>, a partir de tributários e do Canal São Gonçalo (Asmus 1998). Grandes variações de salinidade são encontradas ao longo do ano, relacionadas principalmente com o regime de

ventos e da descarga de água doce (Garcia 1998). Em condições de elevada descarga fluvial e ventos do quadrante nordeste (NE), o estuário torna-se um ambiente com baixa salinidade. Em contrapartida quando a descarga fluvial é baixa e está associada a ventos do quadrante sul (S) ocorre a salinização do mesmo (Niencheski & Baumgarten 1998). Devido à proximidade de um ponto anfidrômico, as marés astronômicas apresentam pequena amplitude e, por isso, não exercem influência notável nas variações de salinidade no estuário (Castello & Möller 1977, Möller *et al.* 1996).

A área estuarina da Lagoa dos Patos apresenta o seu limite teórico na região da Ilha da Feitoria (Möller & Fernandes 2010), compreendendo uma área de 971 km<sup>2</sup>, com profundidade média em torno de 5 m. As trocas de água com o Oceano Atlântico adjacente ocorrem através de um canal com 20 km de comprimento e 0,5-3 km de largura (Asmus 1998) (Fig. 13). O afunilamento natural do canal em direção ao mar intensifica as correntes de vazante (Möller & Fernandes 2010).

Estudos sobre a comunidade zooplanctônica no ELP foram iniciados na década de 1970, com o principal objetivo de verificar a influência do regime hidrológico na distribuição e composição das espécies. Um total de 84 espécies zooplanctônicas foram identificadas e, assim como em outras regiões costeiras, estes estudos confirmaram que o zooplâncton do ELP é dominado por copépodos, além de cladóceros e larvas de cirripédios (Montú 1980). Pesquisas posteriores foram responsáveis pelo aumento no número de espécies para 91 (Montú & Gloeden 1986). Além disso, o ELP é caracterizado por ser uma área de criação para várias espécies de peixes e crustáceos de

interesse comercial (Weiss 1981, Sinque & Muelbert 1998) que nos estágios larvais alimentam-se de zooplâncton.

Em períodos de enchente, associados à baixa descarga fluvial e ventos do quadrante sul (S), ocorre a salinização do ELP e o copépodo *Acartia tonsa* é o organismo dominante. Porém, em períodos de vazante, quando a descarga fluvial é elevada e associada a ventos do quadrante nordeste (NE), o estuário torna-se um ambiente com baixa salinidade e *Notodiaptomus incompositus* substitui *A. tonsa* como o copépodo predominante. Em períodos de mixohalinização são encontradas ambas as espécies de copépodos, *A. tonsa* e *N. incompositus*, bem como larvas de cirripédios (*Amphibalanus improvisus*) e cladóceros (*Diaphanosoma brachyurum* e *Moina micrura*) (Montú 1980, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010).

Duarte *et al.* (1991) verificaram que *N. incompositus* é o copépodo dominante nas regiões norte e central da Lagoa dos Patos, onde as condições límnicas e oligohalinas predominam, enquanto na porção sul, que abrange a totalidade do estuário, a espécie é mais abundante em períodos de vazante. De acordo com Montú & Gloeden (1986), *N. incompositus* é uma espécie eurihalina e euriérmica, sendo encontrada em águas entre 0 e 31,5 e 13,5 a 29°C, respectivamente, mas Kaminski *et al.* (2009) verificaram que a espécie é oligohalina (intervalo de salinidade 0,5 – 5) em virtude de sua baixa sobrevivência e produção de ovos em salinidade entre 5 e 10. Em recente estudo realizado por Muxagata *et al.* (2012), a importância ecológica do copépodo *A. tonsa* como principal produtor secundário no ELP foi verificada. Além disso, esse estudo enfatizou a necessidade de avaliar o papel do

copépodo *N. incompositus* durante os períodos em que a salinidade encontrasse próxima ou igual a zero no ELP, quando o copépodo *A. tonsa* não é encontrado.

#### **4.1.1 Objetivos específicos**

Devido à importância de *N. incompositus* no ELP já relatada em diversos estudos (Montú *et al.* 1998, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010 e Muxagata *et al.* 2012), o presente capítulo tem como objetivos específicos:

- Avaliar a sazonalidade de parâmetros ambientais (temperatura, salinidade e clorofila *a*) no ELP;
- Avaliar a composição e abundância dos grupos zooplânctônicos coletados durante o estudo no ELP;
- Estimar o tamanho e peso seco médio dos estágios de desenvolvimento de *Notodiaptomus incompositus* coletados no ELP;
- Estimar a produção secundária da espécie *N. incompositus* no ELP;
- Comparar os resultados de produção secundária obtidos com as taxas de crescimento da espécie (apresentadas no Capítulo II) com equações da literatura.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Obtenção das amostras de zooplâncton e dados abióticos**

As amostras de zooplâncton utilizadas para determinação da produção secundária de *Notodiaptomus incompositus* foram coletadas durante o período de um ano, entre abril de 2009 e abril de 2010, através do projeto “Monitoramento contínuo do micro e mesozoplâncton do Canal de Rio

Grande” vinculado ao Programa Ecológico de Longa Duração (PELD). As estações onde foram realizadas as coletas localizam-se no Museu Oceanográfico (32°01'30" S 52°06'24"W) e na 4ª Secção da Barra (32°08'56" S 52°06'03" W) (Fig. 13).

As amostras foram coletadas através de arrastos horizontais sub-superficiais com rede de plâncton, com 30 cm de diâmetro e malha de 90 µm provida de fluxômetro e fixadas imediatamente após a coleta em solução de formaldeído a 4% neutralizado com Bórax para posterior análise e contagem (Steedman, 1976). Salinidade e temperatura foram obtidas em cada estação de coleta com a utilização de um termosalinômetro (HI 9828 Hanna Instruments). Além disso, amostras para análise de Clorofila *a* foram obtidas pela filtragem de 50-100 mL de água do ambiente, com o auxílio de seringas acopladas a retentores de filtros (Millipore – Swinnex 25) de fibra de vidro (Whatman GF/F). A Clorofila *a* foi determinada por fluorimetria seguindo o método de Welschmeyer (1994).

Neste período, um total de 37 amostras foi coletado mensalmente com a rede de 90 µm entre abril e novembro e quinzenalmente a partir de então, das quais foram analisadas alíquotas de 1,25 a 25 % da amostra total, com ênfase na identificação de copepoditos (CI – CV) e adultos (CVI) machos e fêmeas de *N. incompositus* que foram estagiados de acordo com o desenvolvimento das patas proposto no Capítulo I e seguindo Brian (1925) e Montú & Gloeden (1986) para identificação dos adultos. As demais espécies presentes foram identificados ao menor nível taxonômico possível com o auxílio de bibliografia especializada (Björnberg 1981, Boltovskoy 1981, 1999, Montú & Gloeden 1986)

e agrupados em grandes grupos. Os organismos considerados raros foram identificados e quantificados pela posterior análise da amostra total. Todas as amostras foram contadas com o auxílio de microscópio estereoscópico em câmaras de Bogorov (Boltovskoy 1981).

#### 4.2.2 Biomassa de *Notodiaptomus incompositus*

A biomassa de cada estágio de desenvolvimento de *Notodiaptomus incompositus* encontrado nas amostras foi estimada a partir do comprimento do prossoma de copepoditos (CI – CV) e adultos (CVI) machos e fêmeas da espécie. Estes dados foram obtidos com o auxílio de uma escala micrométrica ( $\pm 25 \mu\text{m}$ ) acoplada a ocular do microscópio estereoscópico (Olympus SZ40). O peso médio de cada um dos estágios foi estimado através da seguinte equação desenvolvida por Ortiz (2014) para *N. incompositus*:

$$\log_{10}(PS) = -6,241 + 2,4094 * \log_{10}(CP) \quad (r = 0,96)$$

Onde *PS* é o peso seco ( $\mu\text{g}$ ) e *CP* é o comprimento do prossoma ( $\mu\text{m}$ ).

#### 4.2.3 Produção secundária

A produção secundária foi calculada segundo o método do crescimento instantâneo (Runge & Roff 2000), no qual assume-se que todos os indivíduos dentro de uma classe de tamanho estão crescendo exponencialmente (Rigler & Downing 1984, Kimmerer 1987, Runge & Roff 2000). Desta forma, a produção pode ser calculada pela equação:

$$PR = \sum B_i g_i$$

Onde *PR* é a taxa de produção instantânea de um estágio particular por unidade de tempo, *B<sub>i</sub>* é a biomassa média do estágio *i* e *g<sub>i</sub>* é a taxa de crescimento instantânea dos organismos do estágio *i*.

As taxas de crescimento utilizadas foram obtidas através das equações generalistas propostas por Huntley & Boyd (1984), Huntley & Lopez (1992), Hirst & Lampitt (1998) e Hirst & Bunker (2003), que estão resumidas na Tabela 6, além das que foram estimadas neste trabalho (Capítulo II).

Tabela 6: Equações utilizadas para estimar a taxa de crescimento de copepoditos e adultos obtidas da literatura assim como as taxas de crescimento específicas para *Notodiaptomus incompositus* obtidas no Capítulo II, onde: g = taxa de crescimento; T = temperatura em °C;  $W_{ic}$  = peso de carbono médio do estágio *i* ( $\mu\text{g}$ ); Chl*a* = concentração de clorofila *a* ( $\mu\text{g Chl a L}^{-1}$ ).

Equação de crescimento	Estágio	Referência
$g = 0,0542 * e^{0,110 * (T)}$	Todos	Huntley & Boyd 1984
$g = 0,0445 * e^{0,111 * (T)}$	Todos	Huntley & Lopez 1992
$\text{Log}_{10}(g) = -1,7255 + [0,0464 * (T)]$	Todos	Hirst & Lampitt 1998
$\text{Log}_{10}(g) = -1,528 + [0,0333 * (T)] + [-0,163 * \text{log}_{10}(W_{ic})]$	Copepoditos	Hirst & Bunker 2003
$\text{Log}_{10}(g) = -1,591 + [0,0182 * (T)] + [0,193 * \text{log}_{10}(W_{ic})] + [0,195 * \text{log}_{10}(\text{Chl}a)]$	Adultos	Hirst & Bunker 2003
$g = 0,192515$	Copepodito I	Capítulo II (Pág. 62)
$g = 0,446662$	Copepodito II	Capítulo II (Pág. 62)
$g = 0,149549$	Copepodito III	Capítulo II (Pág. 62)
$g = 0,414911$	Copepodito IV	Capítulo II (Pág. 62)
$g = 0,072845$	Copepodito V	Capítulo II (Pág. 62)
$g = 0,132360$	Adultos	Capítulo II (Pág. 63)

Para estimativas de produção anual, assumiu-se que a produção diária e a biomassa calculada para um determinado estágio de desenvolvimento representam a média em um intervalo entre duas coletas sucessivas e que machos possuem taxas de crescimento similar à das fêmeas. Os valores obtidos foram convertidos para carbono assumindo a taxa de conversão de 44,21% obtida para *Acartia tonsa* do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia (Ara 2001) e utilizada por Muxagata *et al.* (2012) para *A. tonsa* do ELP. A produção total anual de *Notodiaptomus incompositus* é igual à soma de todos os incrementos de peso para todos os estágios durante o ano.

## 4.3 Resultados

### 4.3.1 Variáveis ambientais

Durante o período de estudo foi possível verificar uma marcada sazonalidade na temperatura, salinidade e clorofila a no ELP (Fig. 23). A temperatura da água variou de 12 °C durante o inverno de 2009 a 31 °C durante o verão de 2010. A salinidade variou entre 0 e 33, na qual foi possível observar uma forte influência de água doce entre novembro de 2009 a março de 2010, período em que a salinidade se manteve em 0 ou muito próximo, e alcançou os valores máximos em abril de 2009 na Estação Barra e em março de 2010 na Estação Museu (salinidade 33 e 30, respectivamente).

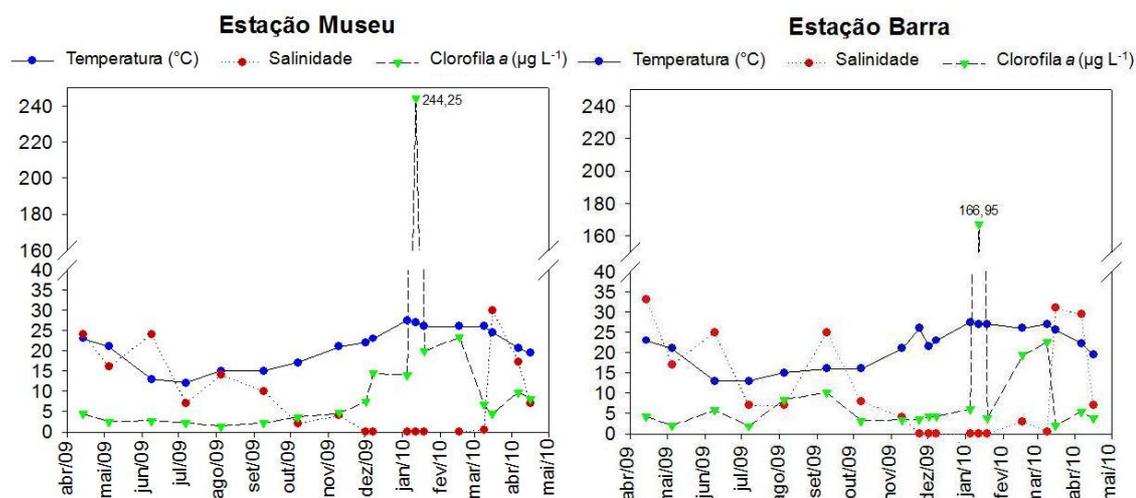


Figura 23: Variação temporal de temperatura (°C), salinidade e clorofila a ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (com indicações dos picos estimados) nas Estações Museu e Barra durante o período de abril de 2009 a abril de 2010.

Os valores de Clorofila a foram geralmente baixos ( $\sim 5 \mu\text{g L}^{-1}$ ) durante todo o período analisado em ambas as estações de coleta. Porém, durante o mês de janeiro de 2010 ocorreu um pico em ambas as estações, nas quais as concentrações de Clorofila a alcançaram valores de 166,95 e 244,25  $\mu\text{g L}^{-1}$  na Estação Barra e Museu, respectivamente. Os valores médios de temperatura,

salinidade e clorofila *a* para ambas as Estações para o período estudado foram  $21,33 \pm 4,87$  °C,  $9,53 \pm 11,0$  e  $17,77 \pm 46,80$   $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.

#### 4.3.2 Composição e abundância total

A composição zooplanctônica do Estuário da Lagoa dos Patos coletada com rede de 90  $\mu\text{m}$  pode ser dividida em seis grupos principais: Copepoda, Cladocera, Cirripedia, Rotifera, Polychaeta e Outros (Fig. 24). Houve uma mudança de composição ao longo do ano, sendo que os representantes marinhos dos grupos Copepoda, Cirripedia e Polychaeta foram encontrados até novembro de 2009, e depois tornam a aparecer a partir de março de 2010. Entre esse período ocorreu um predomínio de salinidades baixas e organismos de água doce como Cladocera e Rotifera, além de Copepoda de água doce, estiveram presentes em abundância. Para ambas as estações os crustáceos foram os organismos mais encontrados, representando aproximadamente 88% da composição zooplanctônica. Dentre as estações de coleta, houve diferenças entre a composição predominante. Maiores detalhes sobre a composição zooplanctônica e a correlação com os parâmetros ambientais já foram apresentados e discutidos por Muxagata *et al.* (2012) em estudo realizado no mesmo período amostral.

Na Estação Museu (Fig. 24), durante o predomínio de salinidades mais altas, foram encontrados os grupos Copepoda, Cirripedia e Polychaeta, enquanto durante o período com salinidades baixas houve um grande predomínio de Cladocera na maior parte do tempo, seguido por Copepoda e Rotifera. Os cirripédios apresentaram dois picos de elevadas densidades, um em maio de 2009 e outro em abril de 2010, de aproximadamente 57.000 e

59.000 org. m<sup>-3</sup>, respectivamente. Por sua vez, os poliquetas foram mais abundantes em junho de 2009 com 26.925 org. m<sup>-3</sup>. O grupo Rotifera alcançou um pico de abundância em março de 2010, no qual alcançou a densidade de aproximadamente 880.350 org. m<sup>-3</sup>. Já os cladóceros alcançaram densidade da ordem de 29.670 org. m<sup>-3</sup> em janeiro de 2010, e as espécies mais abundantes encontradas no presente estudo foram *Moina micrura* Kurz, 1874, *Moina minuta* Hansen, 1899, *Bosmina* spp. e *Diaphanosoma* spp..

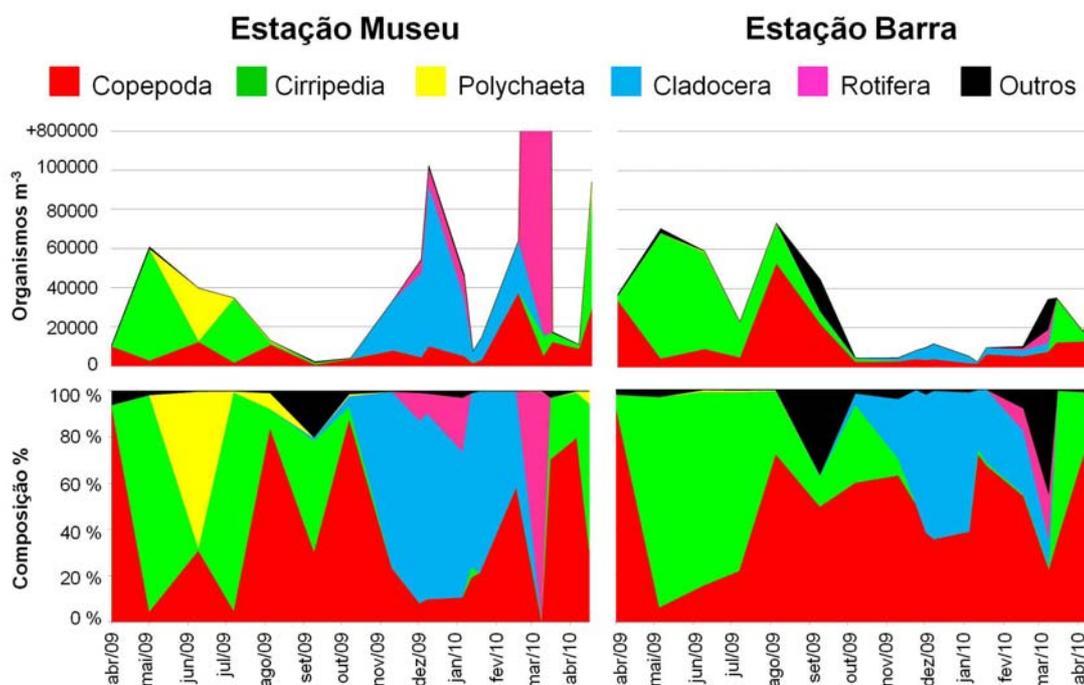


Figura 24: Variabilidade temporal e composição dos principais grupos zooplânctônicos presentes nas Estações Museu e Barra durante o período amostral (2009/2010).

Na Estação Barra (Fig. 24), o grupo Polychaeta não foi encontrado em abundância significativa, nem mesmo no período em que a salinidade se manteve elevada. Os cirripédios estiveram presentes durante quase todo o período amostral, porém a densidade mais elevada ocorreu em maio de 2009 quando foi possível encontrar aproximadamente 63.860 org. m<sup>-3</sup>. O grupo

Cladocera esteve presente durante todo o período de estudo e apresentou maior densidade de novembro de 2009 a março de 2010, mas a abundância não foi tão elevada como na Estação Museu e o pico de densidade ocorreu em dezembro de 2009 com 7.550 org. m<sup>-3</sup>. As espécies de cladóceros mais importantes foram as mesmas da Estação Museu. O grupo Rotifera, que na Estação Museu apresentou alta densidade, não mostrou tanta importância nesse local, sendo encontrado somente em fevereiro e março de 2010, com densidade máxima de 6.780 org. m<sup>-3</sup>.

Em relação ao grupo Copepoda, eles foram divididos em 7 grandes grupos em ambas as estações de coleta (Fig. 25), e foi possível verificar que copépodos Calanoida e Cyclopoida marinhos estiveram presentes em abundância até novembro de 2009, e voltam a aparecer a partir de março de 2010, quando a salinidade no ELP torna a aumentar. O copépodo *Acartia tonsa* é o organismo mais abundante durante esse período de salinidades elevadas. Porém, entre novembro e março o grupo Copepoda foi dominado por copépodos Cyclopoida de água doce e pelo copépodo *Notodiaptomus incompositus*. Durante este período, em que a salinidade se manteve próxima ou igual a zero, na Estação Museu a abundância maior é de Cyclopoida de água doce, enquanto na Estação Barra o copépodo *N. incompositus* é a espécie dominante.

Os copépodos Harpacticoidas estão presentes durante todo o período em ambas as estações de coleta, mas com menor representatividade.

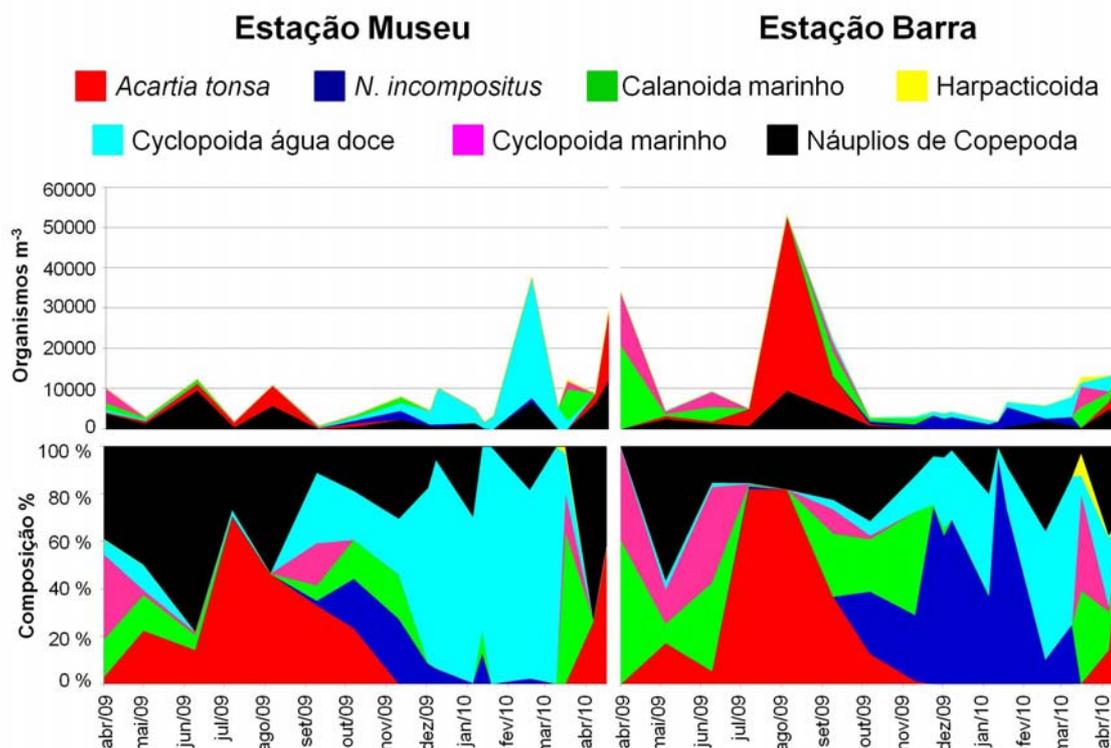


Figura 25: Variabilidade temporal e composição de Copepoda nas Estações Museu e Barra durante o período amostral (2009/2010).

Juntos, copepoditos e adultos das espécies *A. tonsa* e *N. incompositus* representaram aproximadamente 21 e 43% da comunidade de copépodos das Estações Museu e Barra, respectivamente. *Notodiaptomus incompositus* esteve presente nas amostras coletadas entre julho de 2009 a março de 2010. Porém, a abundância maior dessa espécie ocorreu de setembro de 2009 a março de 2010, com um pico observado em janeiro de 2010, em que foi possível encontrar 4.906 org. m<sup>-3</sup> na Estação Barra. Na Estação Museu a densidade de organismos foi menor durante o período de estudo, e o valor máximo observado ocorreu em novembro de 2009 com 2.185 org. m<sup>-3</sup>. Por sua vez, o copépodo *A. tonsa* esteve presente entre abril e novembro de 2009, mas desapareceu entre os meses de dezembro e fevereiro de 2010, e torna a ser encontrado nas amostras a partir de março de 2010. Durante o mês de agosto

de 2009 ocorreu um pico de abundância dessa espécie na Estação Barra, com 43.460 org. m<sup>-3</sup>.

#### 4.3.4 Produção secundária de *Notodiaptomus incompositus*

As medidas de comprimento total, comprimento do prossoma e largura do prossoma, bem como o peso seco estimado de copepoditos e adultos da espécie *Notodiaptomus incompositus* encontrados nas amostras coletadas no ELP estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7: Medidas morfométricas dos estágios de desenvolvimento do copépodo *Notodiaptomus incompositus* coletados no ELP e o peso seco estimado através da equação  $\log_{10}(\text{peso seco}) = -6,241 + 2,4094 * \log_{10}(\text{comprimento do prossoma})$ . Valores mínimos, máximos e médias e desvios padrões apresentados entre parênteses. CI - copepodito 1; CII - copepodito 2; CIII - copepodito 3; CIV - copepodito 4; CV - copepodito 5; N - número de organismos medidos.

Estágio	Comprimento total (µg)	Comprimento do prossoma (µg)	Largura do prossoma (µg)	Peso seco (µm)	N
CI	325 – 475 (393,81 ± 33,21)	250 – 375 (307,86 ± 26,25)	100 – 150 (127,38 ± 10,12)	0,34 – 0,91 (0,58 ± 0,12)	105
CII	400 – 600 (485,63 ± 34,86)	325 – 450 (380,63 ± 24,35)	125 – 175 (148,96 ± 9,39)	0,65 – 1,42 (0,95 ± 0,15)	120
CIII	475 – 675 (579,38 ± 43,44)	375 – 525 (456,46 ± 32,81)	150 – 200 (172,08 ± 12,21)	0,91 – 2,05 (1,48 ± 0,25)	120
CIV	600 – 850 (711,04 ± 53,14)	450 – 625 (550,00 ± 37,38)	175 – 225 (200,83 ± 15,18)	1,42 – 3,13 (2,32 ± 0,38)	120
CV	775 – 1000 (862,61 ± 57,48)	575 – 775 (656,62 ± 41,83)	200 – 300 (237,39 ± 17,56)	2,56 – 5,25 (3,55 ± 0,56)	115
Macho	875 – 1075 (951,01 ± 45,30)	625 – 825 (703,54 ± 40,10)	250 – 275 (256,31 ± 10,92)	3,13 – 6,11 (4,16 ± 0,58)	100
Fêmea	900 – 1175 (1036,17 ± 65,24)	675 – 925 (791,49 ± 52,18)	250 – 350 (286,44 ± 22,80)	3,77 – 8,05 (5,57 ± 0,90)	100

Como já verificado no Capítulo II com organismos cultivados em laboratório, os copepoditos aumentam de peso e tamanho a cada estágio de desenvolvimento, com as fêmeas de *N. incompositus* alcançando as maiores medidas morfométricas e o maior peso seco. As medidas de comprimento do prossoma e o peso seco estimado foram utilizados para calcular a produção secundária da espécie no ELP. Na Tabela 8 estão demonstrados os valores de produção para o período de estudo, a produção anual e a produção diária

obtidos com as equações da Tabela 6 e os valores de produção calculados com a taxa de crescimento (g) da espécie de estudo, encontrado no Capítulo II através do cultivo dos organismos em laboratório.

Tabela 8: Produção total para o período de estudo (380 dias), anual e diária (em mg C m<sup>-3</sup>) da espécie *Notodiaptomus incompositus* obtidas utilizando as equações resumidas na Tabela 1 e a taxa de crescimento (g) obtida para a espécie no Capítulo II.

Estação	Museu			Barra			Total		
	Período	Anual	Diária	Período	Anual	Diária	Período	Anual	Diária
Huntley & Boyd 1984	111,50	107,10	0,29	257,00	246,85	0,68	368,50	353,95	0,97
Huntley & Lopez 1992	93,67	89,97	0,25	216,40	207,85	0,57	310,07	297,82	0,82
Hirst & Lampitt 1998	36,03	34,60	0,09	82,37	79,12	0,22	118,40	113,72	0,31
Hirst & Bunker 2003	23,56	22,63	0,06	52,35	50,28	0,14	75,91	72,91	0,20
g da espécie	31,02	29,80	0,08	69,52	66,77	0,18	100,54	96,57	0,26

A produção média anual de *N. incompositus* para o período de estudo utilizando o g obtido no Capítulo II foi de 48,29 mg C m<sup>-3</sup>, enquanto a produção média diária foi de 0,13 mg C m<sup>-3</sup> (Fig. 26). A produção foi maior na Estação Barra do que na Estação Museu, e quando presentes no ELP, os copepoditos e adultos da espécie representaram 55 e 45% e 65 e 35% da produção nas Estações Museu e Barra, respectivamente.

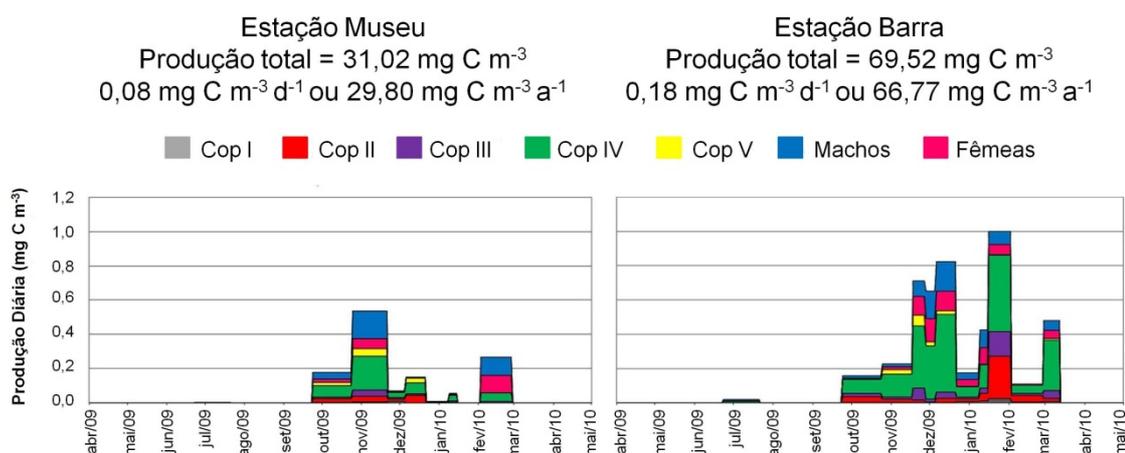


Figura 26: Produção secundária de *Notodiaptomus incompositus* nas Estações Museu e Barra para o período amostral (2009/2010).

## 4.4 Discussão

### 4.4.1 Variáveis ambientais e a comunidade zooplanctônica do ELP

De acordo com o Australian Government Bureau of Meteorology (2015), durante o período de estudo o hemisfério sul esteve sob a influência de um *El Niño* moderado de maio de 2009 a março de 2010. As consequências desse fenômeno puderam ser observadas no presente estudo, pois segundo o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET 2015), durante o período de 2009-2010 houve um aumento na precipitação observada para a região comparada a valores médios, e a salinidade no ELP se manteve baixa por meses devido à descarga de água doce. Os eventos ENSO são conhecidos por causar variações na descarga dos rios, influenciando a circulação e consequentemente a salinização do ELP (Möller & Fernandes 2010). Segundo Abreu *et al.* (2010), a descarga de rios é a principal fonte de entrada de nutrientes no ELP e este fator associado as temperaturas mais elevadas de primavera e verão favoreceram a ocorrência de picos de produção primária. Sendo assim, as elevadas taxas de precipitação e descarga de água doce observadas durante o ano de estudo podem explicar os elevados valores de clorofila *a* encontrados no final de 2009 e início de 2010.

As variações de salinidade no ELP causadas pelo efeito *El Niño*, que intensificou a descarga de água doce e manteve a salinidade muito próxima ou igual a zero durante um extenso período entre o ano de 2009 e 2010, alterou a comunidade zooplanctônica. A partir de dezembro de 2009 até março de 2010 o copépodo *A. tonsa*, principal contribuinte para a produção secundária do ELP (Muxagata *et al.* 2012, Teixeira-Amaral *et al.* unpublished) esteve totalmente

ausente. Essa ausência total da espécie é incomum, uma vez que trabalhos anteriores demonstram que durante a primavera e verão esse organismo é encontrado em altas densidades no ELP (Montú *et al.* 1998, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010). Uma vez que a espécie *A. tonsa* já foi encontrada no ELP em salinidade 0 (Montú 1980), é possível atribuir sua ausência total durante o período de *El Niño* a alterações no potencial reprodutivo dos organismos. Segundo Hansen *et al.* (2012), os ovos de *A. tonsa* são incapazes de eclodir em salinidades baixas (< 2). Sendo assim, o período prolongado de salinidades baixas favoreceu a ocorrência de espécies de origem límnic, como o copépodo *N. incompositus*, copépodos ciclopóidas, cladóceros e rotíferos.

Em relação aos rotíferos, o pico reportado de 880.354 org. m<sup>-3</sup>, segundo Muxagata *et al.* (2012) pode refletir o tamanho de malha empregada (90 µm) no presente estudo, sugerindo que esse grupo, assim como outros estágios e organismos menores, podem ser subestimados pela utilização de aberturas de malhas maiores. Dessa forma, quando se deseja estimar a produção secundária, de todos os estágios de uma determinada espécie é aconselhável utilizar malhas mais finas para evitar esse tipo de equívoco.

Em condições normais, sem fenômenos ENSO, o copépodo *Acartia tonsa*, bem como larvas de *Amphibalanus improvisus* (Cirripedia), são os organismos mais comumente encontrados durante todo o ano no ELP, juntamente com outras espécies marinhas (Montú *et al.* 1998, Kaminski 2009, Muelbert *et al.* 2010, Teixeira-Amaral *et al.* unpublished). Entretanto, a ausência de *A. tonsa* entre julho de 1977 a janeiro de 1978 durante período de baixas salinidades no ELP, e consequente substituição pelo copépodo de água

doce *N. incompositus* e cladóceros já foi reportado por Montú (1980), e novamente verificado por Kaminski (2009), Muxagata *et al.* (2012) e Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished), confirmando que em anos de *El Niño*, *A. tonsa* é praticamente excluída do ELP no período que pode se estender de julho de um ano a março do ano seguinte.

#### **4.4.2 Produção secundária de *Notodiaptomus incompositus***

Os valores de produção secundária obtidos no presente estudo para o copépodo *Notodiaptomus incompositus* foram significativamente inferiores aos valores reportados por Muxagata *et al.* (2012) para o copépodo *Acartia tonsa*. A produção média anual de *N. incompositus* foi aproximadamente 15 vezes inferior ao valor de 740,15 mg C m<sup>-3</sup> estimado para *A. tonsa* para o mesmo período amostral e mesmo tamanho de malha empregado na obtenção das amostras. Porém, assim como verificado por Muxagata *et al.* (2012) e Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished), os valores de produção reportados no presente estudo foram maiores para a Estação Barra.

A produção de *A. tonsa* estimada com a rede de 90 µm foi cerca de 2 vezes superior à produção estimada com a rede de 200 µm, para o mesmo período amostral (Muxagata *et al.* 2012, Teixeira-Amaral *et al.* unpublished). Ao compararmos os valores de produção secundária de *N. incompositus* obtidos no presente estudo com os valores reportados por Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished) para o mesmo período amostral, coletados com a rede de 200 µm, os resultados de produção diária podem ser considerados bastante aproximados, mas a produção anual final é maior para a rede de 200 µm. Porém, era esperado que a produção secundária de *N. incompositus* em

amostras coletadas com a rede de 90  $\mu\text{m}$  fosse maior do que àquela coletada com rede de 200  $\mu\text{m}$ , assim como foi verificado para o copépodo *A. tonsa*, uma vez que as redes de malhas mais finas são capazes de amostrar organismos de estágios iniciais de desenvolvimento que muitas vezes são subestimados em coletas com malhas mais grossas.

Uma possível explicação para esse fato é que apesar de os copepoditos representarem a maior porcentagem de organismos coletados com a malha de 90  $\mu\text{m}$ , os adultos representavam boa parte da comunidade, principalmente na Estação Museu, onde 45% da população era composta por organismos adultos, que foram mais eficientemente amostrados pela malha de 200  $\mu\text{m}$ . Como verificado por Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished), a rede de 200  $\mu\text{m}$  perdeu copepoditos dos estágios iniciais (I a III), mas coletou eficientemente copepoditos dos estágios IV a VI. Em relação a proporção entre machos e fêmeas, no presente estudo os machos da espécie *N. incompositus* foram encontrados em maior abundância em ambas as estações e amostras em que estiveram presentes. Kaminski (2009) por sua vez verificou que as fêmeas da espécie eram sempre mais abundantes, possivelmente como uma estratégia reprodutiva para a baixa fecundidade de copépodos que produzem sacos ovígeros (Kjørboe & Sabatini 1994). A menor abundância de fêmeas em comparação aos machos pode explicar a baixa produção da espécie quando comparada com *A. tonsa* e com a produção estimada com a rede de malha mais grossa (Muxagata *et al.* 2012, Teixeira-Amaral *et al.* unpublished).

Os picos de densidade de *N. incompositus* encontrado por Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished) ocorreram na Estação Museu em novembro de

2009 e na Estação Barra em dezembro de 2009, com 2.702 e 9.038 org. m<sup>-3</sup>, respectivamente. Já Kaminski (2009) utilizando uma rede de 300 µm encontrou uma densidade de 4.938 org. m<sup>-3</sup> em novembro de 2003 na Estação Barra, após um período prolongado de baixa salinidade. Ambos os valores de densidade reportados foram superiores aos encontrados no presente estudo, mas aproximados. O pico de densidade na Estação Museu observado por Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished) ocorreu no mesmo mês que o verificado no presente estudo, com valores aproximados (2.185 org. m<sup>-3</sup> para este estudo). Porém, para Estação Barra o pico de densidade não coincidiu e o valor reportado para a malha de 200 µm foi quase duas vezes superior ao resultado encontrado nesse estudo, de 4.906 org. m<sup>-3</sup>.

Os resultados apresentados aqui sugerem que, apesar de substituir o copépodo *A. tonsa* em períodos com extensa influência límnic, a produção de *N. incompositus* é bastante inferior. Os valores reportados por Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished) para 4 anos amostrais (2009-2013) confirmam que a produção de *N. incompositus* nunca supera a produção de *A. tonsa*, até mesmo nos anos com influência do fenômeno *El Niño*. A baixa produção de *N. incompositus* comparada com a de *A. tonsa* pode ser explicada pela estratégia reprodutiva dessa espécie, que já foi extensamente explorada no Capítulo II. De maneira geral, o tempo de incubação dos ovos até a eclosão de náuplios e a produção de um novo saco ovífero somente após a eclosão do anterior, tornam a taxa de desenvolvimento da espécie baixa, resultando em um baixo recrutamento. Por outro lado, o copépodo *A. tonsa* libera seus ovos

diretamente na coluna d'água e a taxa de produção é bastante superior (Mauchline 1998).

Além disso, de acordo com estudo realizado por Kaminski *et al.* (2009), a espécie *N. incompositus* se mostrou bastante sensível a variações de salinidade, e os indivíduos apresentaram mortalidade total após 72 horas em salinidade 15 e produção de ovos nula em salinidade 10. Apesar de Montú & Gloeden (1986) reportarem a ocorrência de *N. incompositus* em salinidades variando de zero a 31,5, no presente estudo a espécie só foi coletada em salinidades variando de zero a 10. Por sua vez, Kaminski (2009) verificou que as maiores densidades da espécie ocorriam em salinidades variando de zero até 10. Os resultados obtidos aqui corroboram com Kaminski *et al.* (2009) que sugere que a espécie seja oligohalina (intervalo de salinidade 0,5 – 5) em virtude de sua baixa sobrevivência e produção de ovos em salinidade entre 5 e 10. Sendo assim, podemos atribuir a presença da espécie em salinidades maiores como uma ocorrência de curto prazo devido aos fluxos de vazante ou enchente que ocorrem no ELP, sem a permanência da espécie.

Como já foi discutida no Capítulo II, a taxa de crescimento de copépodos é regulada por fatores ambientais como a temperatura e o alimento disponível e, em última instância, esses parâmetros influenciam a produção secundária. Os valores de produção calculados com as equações temperatura-dependentes de Huntley & Boyd (1984) e Huntley & Lopez (1992) superestimaram em aproximadamente 3 vezes os resultados encontrados pela produção calculada com o g da espécie obtido no Capítulo II. Esses modelos consideram que a temperatura é a forçante principal e os organismos não

sofrem limitação de alimento. Já o modelo de Hirst & Bunker (2003), dentre os disponíveis na literatura, parece ser o mais completo, pois considera o peso dos organismos, a temperatura e a clorofila *a* como um indicador de alimento disponível para os organismos. Por esse motivo, as equações propostas têm sido bastante utilizadas para estudos de produção (Muxagata *et al.* 2012, Teixeira-Amaral *et al.* unpublished). Porém, esse modelo subestimou em aproximadamente 25% os valores de produção de *N. incompositus* obtidos com o *g* da espécie. Os resultados de produção obtidos com a equação de Hirst & Lampitt (1998) foram os que mais se aproximaram dos valores estimados com o *g* da espécie, sendo aproximadamente 17% superiores. Assim como Hirst & Bunker (2003), esse modelo foi baseado em dados de peso e temperatura de copépodos, sem considerar a clorofila *a*. Muxagata (2005) em seu estudo sobre a produtividade secundária de diversos componentes do zooplâncton, também verificou que a equação de crescimento de Hirst & Lampitt (1998) foi a que apresentou valores de produção mais próximos da média geral utilizando diversas equações e, por esse motivo, foi utilizada para ilustrar a contribuição diária de cada componente no estuário de Southampton Water, na Inglaterra.

Desta forma, podemos concluir que os modelos presentes na literatura são muito úteis para obtenção de valores de produção iniciais, mas devem ser usados com muita cautela, uma vez que podem subestimar ou superestimar a produção secundária. Sendo assim, a realização de experimentos de crescimento com a espécie alvo de interesse é extremamente necessária quando se deseja estimar a produção da forma mais realista possível. Os experimentos laboratoriais apresentam muitas falhas, devido à dificuldade de

reproduzir todas as condições ambientais, mas devem ser realizados sempre que possível quando se deseja estimar a produção aproximada de um ambiente.

Os resultados apresentados no presente estudo, juntamente com os trabalhos realizados por Montú (1980), Kaminski (2009) e Muxagata *et al.* (2012) e Teixeira-Amaral *et al.* (unpublished) reforçam a influência de fenômenos *El Niño* e *La Niña* na distribuição e abundância das espécies de zooplâncton no ELP. Sendo assim, as espécies *Notodiaptomus incompositus* e *Acartia tonsa* podem ser consideradas possíveis indicadoras da influência desses fenômenos no ELP. Entretanto, a hipótese investigada no presente estudo, de que a produção secundária de *N. incompositus* pode ser considerada tão elevada ou equiparada à produção de *A. tonsa* no ELP não foi confirmada, e os resultados obtidos demonstram que a produtividade de *N. incompositus* é bastante inferior.

#### 4.5 Conclusões

- Durante o período de influência límnic, o copépodo *Notodiaptomus incompositus* foi o organismo dominante na Estação Barra, enquanto na Estação Museu a abundância maior foi de Cyclopoida de água doce.
- O copépodo *Acartia tonsa* foi o organismo mais abundante durante o período em que a salinidade no ELP esteve elevada.
- A produção média anual de *N. incompositus* para o período de estudo foi de 48,29 mg C m<sup>-3</sup>;
- A produção média diária de *N. incompositus* para o período de estudo foi de 0,13 mg C m<sup>-3</sup>;

- A produtividade de *N. incompositus* é bastante inferior à de *A. tonsa* reportada em outros estudos no ELP.

#### 4.6 Referências Bibliográficas

- ABREU, PC, M BERGESCH, LA PROENÇA, CAE GARCIA & C ODEBRECHT. 2010. Short- and long- term chlorophyll-a variability in the shallow microtidal Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil. *Estuar. Coast.*, 33: 554-569.
- ARA, K. 2001. Length – weight relationships and chemical content of the planktonic copepods in the Cananéia Lagoon estuarine system, São Paulo, Brazil. *Plankton Biol. Ecol.*, 48(1): 121-127.
- ARA, K. 2002. Temporal variability and production of *Temora turbinata* (Copepoda: Calanoida) in the Cananéia Lagoon estuarine system, São Paulo, Brazil. *Sci. Mar.*, 66(4): 399-406.
- ARA, K. 2004. Temporal variability and production of the planktonic copepod community in the Cananéia Lagoon estuarine system, São Paulo, Brazil. *Zool. Stud.*, 43(2): 179-186.
- ASMUS, ML. 1998. A Planície Costeira e a Lagoa dos Patos. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande, Cap. 3: 9-12.
- AUSTRALIAN GOVERNMENT BUREAU OF METEOROLOGY. 2015. <http://www.bom.gov.au/climate/enso/>

- BANSE, K. 1995. Biomass and production measurements – Zooplankton: pivotal role in the control of ocean production. *ICES J. Mar. Sci.*, 52: 265-277.
- BENFIELD, MC. 2013. Estuarine Zooplankton. In: DAY JR, JW, BC CRUMP, WM KEMP & A YÁÑEZ-ARANCIBIA (Eds.). *Estuarine Ecology*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, Chap. 11: 285-302.
- BJÖRNBERG, TKS. 1981. Copepods. In: BOLTOVSKOY, D (Ed.). *Atlas del Zooplancton del Atlántico Sudoccidental y Métodos de Trabajo con el Zooplancton Marino*. INIDEP, Mar Del Plata, Argentina, 587-679.
- BOLTOVSKOY, D. 1981. *Atlas del Zooplancton del Atlántico Sudoccidental y Métodos de Trabajo con el Zooplancton Marino*. Mar del Plata, Argentina, INIDEP. 939p.
- BOLTOVSKOY, D. 1999. *South Atlantic Zooplankton*. Leiden, Backhuys Publishers. 1705p.
- BRIAN, A. 1925. Di alcuni copepodi d'acqua dolce dell'Argentina. *Mem. Soc. Entomol. Ital.*, 4: 177-200.
- BUSKEY, EJ. 1993. Annual pattern of micro- and mesozooplankton abundance and biomass in a subtropical estuary. *J. Plankton Res.*, 15(8): 907-924.
- CASTELLO, JP & OO MÖLLER. 1977. Sobre as condições oceanográficas no Rio Grande do Sul. *Atlântica*, 2(2): 25-110.
- DOWNING, JA. 1984. Assessment of secondary production: the first step. In: DOWNING, JA & FH RIGLER (Eds.). *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters (IBP Hand Book 17)*. Blackwell Scientific Publications, London, Chap. 1: 1-18.

- DUARTE, AK, I GLOEDEN & CJ RESGALLA. 1991. Fluctuações espaciais e temporais da comunidade zooplanctônica da Lagoa dos Patos (RS, Brasil). *Biol. Acuata.*, 15: 126-127.
- GARCIA, CAE. 1998. Características Hidrográficas. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande. Cap. 4.2: 18-21.
- GONÇALVES, DA, SC MARQUES, AL PRIMO, F MARTINHO, MD BORDALO & MA PARDAL. 2015. Mesozooplankton biomass and copepod estimated production in a temperate estuary (Mondego estuary): effects of processes operating at different timescales. *Zool. Stud.*, 54:57: 1-12.
- HANSEN, BW, G DRILLET, MF PEDERSEN, KP SJOGREEN & B VISMANN. 2012. Do *Acartia tonsa* (Dana) eggs regulate their volume and osmolality as salinity changes? *J. Comp. Physiol. B.*, 182: 613-623.
- HIRST, AG & RS LAMPITT. 1998. Towards a global model of in situ weight-specific growth in marine planktonic copepods. *Mar. Biol.*, 132: 247-257.
- HIRST, AG & AJ BUNKER. 2003. Growth of marine planktonic copepods: Global rates and patterns in relation to chlorophyll a, temperature, and body weight. *Limnol. Oceanogr.*, 48(5): 1988-2010.
- HUNTLEY, M & C BOYD. 1984. Food-Limited Growth of Marine Zooplankton. *Am. Nat.*, 124(4): 455 – 478.
- HUNTLEY, ME & MDG LOPEZ. 1992. Temperature-Dependent Production of Marine Copepods: A Global Synthesis. *Am. Nat.*, 140(2): 201 – 242.

- IKEDA, T & HR SKJOLDAL. 1989. Metabolism and elemental composition of zooplankton from the Barents Sea during early Arctic summer. *Mar. Biol.*, 100: 173-183.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET. 2015. <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>
- JERLING, HL & TH WOOLDRIDGE. 1991. Population dynamics and estimates of production for the calanoid copepod *Pseudodiaptomus hessei* in a warm temperate estuary. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 33: 121-135.
- KAMINSKI, SM. 2009. Mesozooplâncton do Estuário da Lagos dos Patos e zona costeira adjacente com ênfase para os copépodos *Acartia tonsa*, *Pseudodiaptomus richardi* e *Notodiaptomus incompositus* (2000-2005). Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica, Universidade Federal do Rio Grande, RS. 139p.
- KAMINSKI, SM, JGF BERSANO & WJA AMARAL. 2009. Efeitos da salinidade e dieta alimentar sobre os copépodes *Pseudodiaptomus richardi* e *Notodiaptomus incompositus* em estudos de laboratório. *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.*, 13(1): 25-36.
- KIMMERER, WJ. 1987. The theory of secondary production calculations for continuously reproducing populations. *Limnol. Oceanogr.*, 32: 1-13.
- KIØRBOE, T & M SABATINI. 1994. Reproductive and life cycle strategies in egg-carrying cyclopoid and free-spawning calanoid copepods. *J. Plankton Res.*, 16(10): 1353-1366.

- KJERFVE, B. 1986. Comparative oceanography of coastal lagoons. In: WOLFE, DA (Ed.). *Estuarine variability*. Academic Press, New York. 63-81.
- LEANDRO, SM, F MORGADO, F PEREIRA & H QUEIROGA. 2007. Temporal changes of abundance, biomass and production of copepod community in a shallow temperate estuary (Ria de Aveiro, Portugal). *Estuar. Coast. Shelf S.*, 74: 215-222.
- LENZ, J. 2000. Introduction. In: HARRIS, RP, PH WIEBE, J LENZ, HR SKJOLDAL & M HUNTLEY (Eds.). *ICES Zooplankton Methodology Manual*. Academic Press, London. Chap 1: 1-30.
- MAUCLINE, J. 1998. *The Biology of Calanoid Copepods: Advances in Marine Biology*. London, Academic Press. 710p.
- MÖLLER, OO, JA LORENZZENTI, JL STECH & MM MATA. 1996. The Patos Lagoon summertime circulation and dynamics. *Cont. Shelf Res.*, 16(3): 335-351.
- MÖLLER, O & E FERNANDES. 2010. Hidrologia e hidrodinâmica. In: SEELIGER, U & C ODEBRECHT (Eds.). *O Estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações*. FURG, Rio Grande. Cap. 2: 17-27.
- MONTÚ, M. 1980. Zooplâncton do Estuário da Lagoa dos Patos I – Estrutura e Variações Temporais e Espaciais da Comunidade. *Atlântica*, 4: 53-72.
- MONTÚ, M & IM GLOEDEN. 1986. Atlas dos Cladocera e Copepoda (Crustacea) do Estuário da Lagoa dos Patos (Rio Grande, Brasil). *Nerítica*, 1(2): 1-134.

- MONTÚ, M, AK DUARTE & IM GLOEDEN. 1998. Zooplâncton. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande. Cap. 4.9: 43-46.
- MUELBERT, JH, E MUXAGATA & SM KAMINSKI. 2010. As comunidades zooplanctônicas. In: SEELIGER, U & C ODEBRECHT (Eds.). O Estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações. FURG, Rio Grande. Cap. 6: 67-75.
- MUXAGATA, E, JA WILLIAMS & M SHEADER. 2004. Composition and temporal distribution of cirripede larvae in Southampton Water, England, with particular reference to the secondary production of *Elminius modestus*. *ICES J. Mar. Sci.*, 61: 585-595.
- MUXAGATA, E. 2005. Seasonal and spatial distribution of the mesozooplankton of Southampton Water with particular reference to the contribution of copepods and barnacle larvae to pelagic carbon flux. Tese de Doutorado, University of Southampton, Southampton, 285p.
- MUXAGATA, E, WJA AMARAL & CA BARBOSA. 2012. *Acartia tonsa* in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *ICES J. Mar. Sci.*, 69(3): 475-482.
- NIENCHESKI, LF & MG BAUMGARTEN. 1998. Química Ambiental. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande. Cap. 4.3: 21-25.
- OMORI, M. 1969. Weight and chemical composition of some important oceanic zooplankton in North Pacific Ocean. *Mar. Biol.*, 3: 4-10.

- ORTIZ, DO. 2014. Determinação da relação comprimento-peso para o copépodo calanoida *Notodiaptomus incompositus* (Brian, 1925). Monografia de Graduação, Curso de Oceanologia, Universidade Federal do Rio Grande, RS, 30p.
- RAYMONT, JEG. 1983. Plankton and productivity in the oceans. Second Edition. Vol 2. Zooplankton. Oxford, Pergamon Press, 824p.
- RIGLER, FH & JA DOWNING. 1984. The calculation of secondary productivity. In: DOWNING, JA & FH RIGLER (Eds.). A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell Scientific, Oxford. Chap 2: 19-58.
- RUNGE, JA & JC ROFF. 2000. The measurement of growth and reproductive rates. In: HARRIS, R, P WIEBE, J LENZ, HR SKJOLDAL & M HUNTLEY (Eds.). ICES Zooplankton Methodology Manual. Academic Press, London. Chap. 9: 401-454.
- SINQUE, C & JH MUELBERT. 1998. Ictioplâncton. In: SEELIGER, U, C ODEBRECHT & JP CASTELLO (Eds.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande. Cap. 4.13: 56-60.
- SPRINGER AL & DG ROSENEAU. 1985. Copepod-based food webs: auklets and oceanography in the Bering Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 21: 229-237.
- STEEDMAN, HF. 1976. Monographs on oceanography methodology No. 4 – Zooplankton fixation and preservation. Paris, Unesco Press. 350p.

- UYE, S, Y IWAI & S KASAHARA. 1983. Growth and production of the inshore marine copepod *Pseudodiaptomus marinus* in the central part of the inland sea of Japan. *Mar. Biol.*, 73: 91-98.
- VALENZUELA, LO, M SIRONI, VJ ROWNTREE & J SEGER. 2009. Isotopic and genetic evidence for culturally inherited site fidelity to feeding grounds in southern right whales (*Eubalaena australis*). *Mol. Ecol.*, 18: 782-791.
- WEISS, G. 1981. Ictioplâncton del Estuário de Lagoa dos Patos, Brasil. Tese de Doutorado, Universidade Nacional de La Plata, Argentina, 163p.
- WELSCHMEYER, NA. 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *b* and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.*, 39: 1985-1992.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente estudo apresentou dados inéditos sobre a espécie *Notodiaptomus incompositus*, apresentando pela primeira vez descrições taxonômicas dos estágios de copepodito (I – V), que até o momento eram inexistentes na literatura disponível. Além disso, diversas características reprodutivas da espécie foram elucidadas através de cultivo e experimentos laboratoriais, nos quais foi possível observar que *N. incompositus*, assim como outros copépodos que carregam os ovos, apresenta baixa fecundidade comparada às espécies que desovam livremente, como é o caso do copépodo *Acartia tonsa*. A taxa de crescimento da espécie foi determinada para todos os estágios de copepodito e permitiu estimar a produção secundária desse organismo no Estuário da Lagoa dos Patos (ELP). Foi possível verificar que, apesar de substituir o copépodo *A. tonsa* em períodos de baixa salinidade no ELP, *N. incompositus* apresenta produção consideravelmente inferior.

Desta forma, a hipótese inicial do trabalho de que *N. incompositus* apresentava produtividade comparada à de *A. tonsa* em períodos em que a salinidade se mantém próxima ou igual a zero no ELP não foi confirmada. Sendo assim, outros organismos zooplancctônicos devem complementar a ausência de *A. tonsa* e, por este motivo, novos estudos devem ser conduzidos nesse ambiente para determinação da produção de outros componentes da comunidade zooplancctônica. Como verificado no presente estudo, em períodos de influência límnic no ELP, são encontradas altas abundâncias de ciclopóidas de água doce, além de cladóceros. Já em períodos de salinidades

altas, além do copépodo *A. tonsa*, é possível observar picos de abundância de larvas de cirripédios.

Entretanto, em relação à espécie *N. incompositus*, ainda existem diversos estudos que podem ser feitos para melhor compreensão da espécie. Os estágios naupliares ainda não foram identificados morfológicamente, e poderiam ser investigados fazendo uso da técnica de microscopia confocal utilizada no presente estudo, mas aliada ao uso de marcados fluorescentes, ou mesmo a utilização de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Além disso, a tolerância de *N. incompositus* a variações de salinidade necessita ser avaliada, uma vez que existem divergências quanto ao intervalo salino em que a espécie ocorre, sendo considerada por alguns autores como oligohalina e eurihalina. Outro importante parâmetro a ser determinado é a concentração de carbono da espécie e produção de pelotas fecais, pois auxiliaria na obtenção de estimativas mais reais de produtividade. No presente estudo foram utilizados valores de carbono comumente reportados na literatura para copépodos, entretanto não se sabe se esses valores são adequados para este organismo.

No presente estudo, o cultivo de *N. incompositus* foi realizado e mantido a temperatura de 20 °C utilizando a clorófitica *Chlamydomonas* cf. *pumilioniformis* como única fonte alimentar e se mostrou bastante satisfatório. As taxas de crescimento estimadas foram determinadas nessas condições, entretanto diversos estudos mostram que elas sofrem alterações devido à temperatura e alimento disponível. Desta forma, diversos experimentos podem

ser conduzidos utilizando algas presentes no estuário como alimento e com variações de temperatura para verificar padrões diferentes de crescimento e desenvolvimento de *N. incompositus*.

Concluindo, o presente estudo apresentou dados que irão permitir a identificação e até mesmo estimativas de produtividade de *Notodiaptomus incompositus* em outros ambientes onde a espécie ocorre. Em relação à produtividade zooplanctônica no ELP, novos estudos devem ser conduzidos para estimar a contribuição de outros organismos no fluxo de matéria e energia nesse ambiente.

## 6. APÊNDICE

Apêndice I: Características morfológicas dos estágios de copepodito de *Notodiptomus incompositus*, onde: CI – copepodito I; CII – copepodito II; CIII – copepodito III; CIV – copepodito IV; CV – copepodito V; CVI – copepodito VI; M – macho; F – fêmea; CT – comprimento total; CP – comprimento do prossoma; LP – largura do prossoma; N – número de organismos medidos; esp. – espinho; cerd. – cerda; cer. plum. – cerda plumosa; serr. – cerda serrada; reduz. – segmento reduzido; seg. – segmentos.

Estágio	CI	CII	CIII	CIV	CV (N = 320)		CVI	
	(N = 230)	(N = 320)	(N = 320)	(N = 530)	M	F	M (N = 600)	F (N = 495)
CT (µm)	413,86±31,06 (325 – 475)	515,33±35,10 (400 – 600)	600,86±40,44 (475 – 675)	715,98±62,97 (600 – 875)	911,60 ± 68,35 (725 – 1050)		1026,16±44,58 (875 – 1100)	1140,55±68,46 (900 – 1250)
CP (µm)	319,67±23,60 (250 – 375)	395,43±22,86 (325 – 450)	467,93±28,30 (375 – 525)	556,86±42,70 (450 – 650)	690,42 ± 48,60 (575 – 800)		740,40±28,20 (625 – 825)	880,96 ± 54,40 (675 – 950)
LP (µm)	127,07 ± 8,33 (100 – 150)	150,15 ± 8,59 (125 – 175)	171,40±10,42 (150 – 200)	200,05±21,00 (175 – 250)	246,42 ± 17,64 (200 – 300)		260,67 ± 12,38 (250 – 275)	303,30 ± 16,58 (250 – 350)
<b>Pata I</b>								
Coxa	0	0	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.
Exopodito 1	1 esp.	1 esp.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp.	1 esp.	1 esp.	1 esp.
2	1 esp. 3 + 1 cerd.	1 esp. 4 + 1 cerd.	1 esp. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 3 + 1 + 1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.
3					1 esp. 3 + 1 + 1 cerd.			
Endopodito								
1	4 + 1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.
2		3 + 2 cerd.	1 + 3 + 2 cerd.	1 + 3 + 2 cerd.	1 + 3 + 2 cerd.	1 + 3 + 2 cerd.	1 + 3 + 2 cerd.	1 + 3 + 2 cerd.
<b>Pata II</b>								
Coxa	0	1 cer. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.
Exopodito 1	0	1 esp.	1 esp.	1 esp.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.
2	1 esp. 3 + 1 cerd.	1 esp. 3 + 1 cerd.	1 esp.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.
3			1 esp. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.
Endopodito								
1	3 + 1 cerd.	0	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.
2		3 + 1 cerd.	1 + 4 cerd.	2 cerd.	2 cerd.	2 cerd.	2 cerd.	2 cerd.
3				2 + 3 + 1 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.
<b>Pata III</b>								
Coxa		0	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.
Exopodito 1		1 esp.	1 esp.	1 esp.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.
2		1 esp. 3 + 1 cerd.	1 esp. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.
3				1 esp. 1 serr. 3 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.
Endopodito								
1		0	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.	1 cerd.
2		3 + 1 cerd.	3 + 1 cerd.	2 cerd.	2 cerd.	2 cerd.	2 cerd.	2 cerd.
3				2 + 3 + 1 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.	2 + 3 + 2 cerd.
<b>Pata IV</b>								
Coxa			0	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.	1 cerd. plum.
Exopodito 1			1 esp.	1 esp.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.
2			1 esp. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.	1 esp. 1 cerd.
3				1 esp. 1 serr. 3 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.	1 esp. 1 serr. 3 + 1 + 1 cerd.

Continua

