



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

OTONIEL GONÇALVES DE LIMA

**Ecologia populacional e parâmetros fisiológicos de *Emerita portoricensis* Schmitt, 1935
(Crustacea, Hippidae) de ambientes costeiros da Paraíba**

**JOÃO PESSOA
2018**

OTONIEL GONÇALVES DE LIMA

**Ecologia populacional e parâmetros fisiológicos de *Emerita portoricensis* Schmitt, 1935
(Crustacea, Hippidae) de ambientes costeiros da Paraíba**

Monografia apresentada como resultado do trabalho de CONCLUSÃO de curso da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Bacharelado em Ciências Biológicas

Área de concentração: Ecologia e Fisiologia Comparada

Orientadora: Prof. Dra. Enelise M. Amado.
Co-orientadora: Prof. Dra. Tacyana P. R. Oliveira

**JOÃO PESSOA
2018**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

L732e Lima, Otoniel Gonçalves de.
Ecologia populacional e parâmetros fisiológicos de *Emerita portoricensis* Schmitt, 1935 (Crustacea, Hippidae) de ambientes costeiros da Paraíba. [manuscrito] / Otoniel Gonçalves de Lima. - 2018.
73 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2018.
"Orientação : Profa. Dra. Enelise Marcelle Amado, Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."
"Coorientação: Profa. Dra. Tacyana P. R. de Oliveira, Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."
1. Zona entremarés. 2. Crustáceos bentônicos. 3. Fecundidade. 4. Densidade populacional. 5. Tatuis. 6. Rodamina. I. Título

21. ed. CDD 577

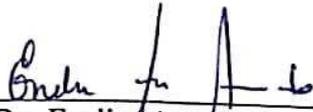
OTONIEL GONÇALVES DE LIMA

**Ecologia populacional e parâmetros fisiológicos de *Emerita portoricensis* Schmitt, 1935
(Crustacea, Hippidae) de ambientes costeiros da Paraíba**

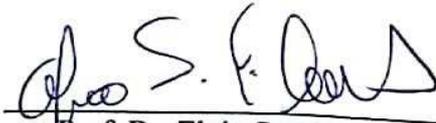
Monografia apresentada como resultado do trabalho de CONCLUSÃO de curso da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito à obtenção do título de Bacharelado em Ciências Biológicas
Área de concentração: Ecologia e Fisiologia comparada

Aprovada em: 01/12/2013.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra Enelise Amado (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Elvio Sergio Figueredo Medeiros
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Msc. Willian Fabiano da Silva
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

A toda minha família – sem eles, não sou nada –,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me sustentar em todo o tempo e não me deixar desistir dos meus sonhos. Sem ti não teria chegado até aqui, grato sou por seu amor incondicional. Obrigado, Deus, por tudo.

À minha família, principalmente a minha mãe e meu pai, que sempre acreditaram em mim, mesmo muitos dizendo que não tem futuro o que escolhi para seguir como profissão. Sempre me apoiaram, deram-me amor e me encorajaram a seguir adiante.

Iniciar esse curso foi uma conquista imensurável, pois a academia era algo surreal que em momento algum pensei em ingressar, porém estando nela pude viver e compartilhar momentos incríveis e marcantes. Nela encontrei tanta gente bacana, tanta gente doida "hahahahaha" mas acredite de coisas boas e de louco todo mundo tem um pouco.

Começar o curso foi um desafio, mas com muita persistência segui em frente. Era tudo muito novo, diferente de minha primeira graduação, e isso dava um gás para transpor os obstáculos mesmo com medo de não conseguir. Foram coletas intensas, noites sem dormir, experimentos que no início não faziam muito sentido porque eles sempre davam errado e me enlouqueciam, muita luta mesmo, mas venci a todas com meus momentos de alegria e tristeza quase sempre aparente sempre. Fui o menino das ostras, dos tatuís, dos ouriços, das anêmonas, dos passarinhos, enfim, onde tinha pesquisa estava lá eu metido, sempre animado para coletar ou quase sempre (ehehehehe).

Fiz amigos e colegas no curso, e junto aos servidores da instituição, conheci um corpo docente maravilhoso, impecável, do qual não tenho do que reclamar, enfim, aqui eu construí uma nova família. Viajei bastante, conheci lugares que eu nunca na galáxia achei que fosse conhecer. Em Cuiabá fiz uma nova família e pense numa lição de vida! Gabi, Tia Rose, Tia Pudim, Raquel, dentre outros pertencentes a essa família, espero ver vocês novamente em breve; São Paulo, Aaaaaah..... São Paulo abriu portas para mim, me fez viver de um jeito tão maravilhoso que avemaria foi bom demais bicho, foi lá que me senti livre, feliz; Rio Grande do Norte - Diogo Lopes – ah, aquele lugar maravilhoso de águas clarinhas e geladas (ahahha); Pernambuco - Praia de Carneiros outro lugar icônico de águas quentinhas que muitas das vezes pareciam ser da torneira.

Sou tão feliz, mas tão feliz em ter tido as melhores orientadoras, Profa. Enelise Amado e Profa. Tacyana Oliveira. Primeiramente quero agradecer a minha orientadora Enelise

Amado: muito obrigado por me ensinar tanta coisa, acreditar em meu potencial, sonhos e me abrir as portas desse laboratório que me fez sentir-me amado e acolhido, por ter acreditado em um projeto que nasceu dentro do meu coração e topou de cara orientar aquele aluno repleto de sonhos e com muita vontade de fazer ciência. Obrigado por ser tão humana e, acima de tudo, ser uma amiga que esteve ali sempre que precisei, sem restrições de horários nem superioridade. A senhora para mim foi um exemplo de orientadora a ser seguido. Obrigado. Ene. Por ser tão genial!! <3 Te amo muito.

A minha Co-orientadora Profa. Tacy, sou muitíssimo grato por tudo, pela paciência, carinho e também por ter topado auxiliar-me nesse projeto. A senhora significa muito para mim. Sou grato mesmo por tudo, pelos puxões de orelhas, por me manter disciplinado mesmo que muitas vezes estabonado. Espelhei-me muito em sua determinação para seguir adiante. Fui muito feliz em tê-la conhecido.

Todos meus amigos do LEFA que de forma unânime estiveram juntos a mim em todo tempo: Sarah, Alice, Bruna, Mikalle, Amanda, Ignácio, Júnior, vocês são maravilhosos e todos foram muitos especiais na realização desse projeto.

Em especial, queria agradecer à Kamila Amanda. Muito obrigado mesmo por tudo. Sem ti, tudo seria mais difícil; de coração, você foi meu braço direito em tudo, além de ser minha amiga <3. Nossos momentos nas dunas em Barra de Camaratuba, o pão cheio de areia, mortadela e queijo e o suco citrus nunca serão esquecidos. Foi muita areia no rosto, quilômetros andados, muito suor, muita ralação, mas conseguimos.

Também à “Era Laboratório das 4 Mulheres”, que para mim foi a melhor época. Sou tão grato à Profa. Brígida. Aaaaaaaaah, pense numa mulher que me anima a prosseguir. Obrigado por toda injeção de ânimo ao longo do curso. À Profa. Daniela Pontes, que com seu alto astral e seu jeito doce sempre me tratou com muito carinho. Fiz muitos amigos e colegas aqui e, enfim aprendi, muita coisa com todos.

À Daniela Dantas que está sempre na minha frente me ajudando a trilhar esse caminho. Obrigado por tudo, você é uma benção em minha vida, te amo.

E a todos os meus colegas e amigos de curso: Camis, Rogério, Felipe, Marine, Jesarela, Nathalia Raquel, Gabrielly Duarte, Jicaury, Rafaela Farias.

Em especial, a minha amiguinha do peito Maria Helena (vulgo MH), que me suporta em todos os momentos de chatice (que são muitos e quase sempre presentes), os tristes e os felizes. No início nossas energias não batiam, mas aprendi a amar muito essa menina. Valeu, amiga, por tudo.

Raissa de Fátima, sou grato por estar sempre ali para me ouvir, aconselhar, rir e tirar onda comigo - e mais, minhas “bads” não seriam as mesmas sem você. Obrigado de verdade por tudo.

Estendo meus agradecimentos aos funcionários terceirizados do Campus V da UEPB, os quais sempre foram solícitos e prestativos quando precisei, fiz bons amigos nesse grupo.

Por fim, não menos importante, gostaria de agradecer à Universidade Estadual da Paraíba, por ter proporcionado estrutura para o desenvolver desse projeto, onde por meio de da diretoria do Campus V, auxiliou-me sempre que solicitei, através de pessoas maravilhosas como Profa. Jaqueline, Prof. Ênio, Prof. Cleber e Prof. Vancarder. Muito obrigado.

Ao CNPq que custeou parte desse projeto e me ajudou com a disponibilidade de uma bolsa de iniciação científica.

Enfim, quero agradecer a todos de coração. Cada um de vocês me mostrou coisas que aprendi a usar como exemplo e a não usar também (risos), afinal somos humanos e temos nossos defeitos e valores. O que resta de tudo isso é uma baita lição de vida que guardei em cada cantinho de meu coração.

Acredito que tudo isso foi apenas o início de uma longa jornada que seguirei de cabeça erguida sempre.

Meu muito obrigado a todos! Sem vocês nada disso teria acontecido. ❤️

Otoniel Lima

“Quer? Lute. Tens sonhos? Acredite. Aposte
todas as fichas. Seja um apostador!”

OSHO

SUMARIO

Capítulo I - Ecologia populacional de *Emerita portoricensis* Schmitt, 1935 de ambientes costeiros da Paraíba.

RESUMO

ABSTRACT

1.	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	<i>Praias arenosas e efeitos de atividades antrópicas.....</i>	15
1.2	<i>Emerita portoricensis.....</i>	16
2.	Objetivo geral.....	18
2.1	<i>Objetivos específicos</i>	18
3.	Materiais e métodos.....	18
3.1	<i>Área de estudo.....</i>	18
3.2	<i>Amostragem</i>	19
3.2.1	<i>Coletas</i>	19
3.2.2	<i>Fatores abióticos das praias.....</i>	20
3.2.3	<i>Fluxo de pessoas.....</i>	21
3.2.4	<i>Densidade e biometria de Emerita portoricensis.....</i>	21
3.2.5	<i>Fecundidade.....</i>	22
3.2.6	<i>Análises estatísticas.....</i>	22
4.	Resultados e discussão.....	22
4.1	<i>Fatores abióticos e fluxo de pessoas nas praias.....</i>	22
4.2	<i>Abundância e densidade de Emerita portoricensis.....</i>	25
4.3	<i>Comprimento e peso de Emerita portoricensis.....</i>	31
4.4	<i>Fecundidade de Emerita portoricensis.....</i>	33
5.	CONCLUSÃO.....	35
	REFERÊNCIAS.....	37

Capítulo II - Aspectos fisiológicos de *Emerita portoricensis*: Uma análise da tolerância à variação de salinidade e avaliação do mecanismo MXR como biomarcador de contaminação aquática.

RESUMO

ABSTRACT

1.	INTRODUÇÃO.....	48
1.1	<i>Ambiente marinho.....</i>	48
1.2	<i>Brânquias e mecanismo de tolerância a salinidade.....</i>	48
1.3	<i>Uso de biomarcadores de contaminação aquática.....</i>	50
1.4	<i>Mecanismo (MXR).....</i>	52
2.	Objetivo geral.....	53
2.1	<i>Objetivos específicos.....</i>	53
3.	Materiais e métodos.....	53
3.1	<i>Área de estudo.....</i>	53
3.2	<i>Fatores abióticos.....</i>	54
3.3	<i>Coleta de indivíduos e manutenção dos animais.....</i>	55
3.4	<i>Experimento de tolerância a salinidade.....</i>	55
3.5	<i>Teor de hidratação tecidual.....</i>	56
3.6	<i>Atividade MXR através do ensaio de acúmulo de rodamina.....</i>	56
3.7	<i>Análises estatísticas.....</i>	57
4.	Resultados e discussão.....	58
4.1	<i>Teor de hidratação Tecidual.....</i>	58
4.2	<i>Mecanismo MXR.....</i>	58
5.	CONCLUSÃO.....	66
	REFERÊNCIAS.....	67

Estrutura populacional de *Emerita portoricensis* em praias da Paraíba sob diferentes níveis de perturbação antrópica.

Capítulo I

RESUMO

Praias arenosas são ambientes costeiros dinâmicos suscetíveis a atividades antrópicas que potencialmente afetam as comunidades bentônicas. Dentre os organismos bentônicos que respondem a perturbações antrópicas nesses ambientes, sendo considerado bioindicador, *Emerita portoricensis* é um crustáceo distribuído na costa do norte e nordeste do Brasil. Este capítulo aborda a estrutura populacional de *E. portoricensis* em duas praias da Paraíba sob níveis distintos de perturbação antrópica (fluxo de pessoas): Barra de Camaratuba (baixo fluxo de pessoas - menor perturbação) e Intermares (alto fluxo - maior perturbação). Os dados foram coletados utilizando transectos paralelos à linha da costa e um corer metálico, durante marés vazantes de sizígia, no período seco e chuvoso. Simultaneamente, foi contabilizado o fluxo de pessoas, através de censo visual. Foram analisados os seguintes parâmetros: variação morfológica, densidade, abundância, proporção e razão sexual, fecundidade, entre os períodos seco e chuvoso. *Emerita portoricensis* apresentou maior abundância na praia menos perturbada (B. Camaratuba: n = 171; Intermares: n = 81). A maioria dos espécimes era adulta em ambas as áreas (56,72% em B. Camaratuba; 75,30% em Intermares). Foi encontrado maior fluxo de pessoas em Intermares (período seco: $2,1 \pm 0,07$; período chuvoso: $1,9 \pm 0,03$). Observou-se dimorfismo sexual no tamanho e peso de *E. portoricensis* em ambas as praias (as fêmeas foram maiores e com maior peso). A praia de B. de Camaratuba (baixo fluxo de pessoas) apresentou maior densidade de *E. portoricensis* do que Intermares (alto fluxo) durante o período seco. Os adultos apresentaram maior densidade que os jovens nas duas praias (B. de Camaratuba: $0,15 \pm 0,08$ indivíduos/m²; Intermares $0,6 \pm 0,04$ indivíduos/m²) bem como os machos espermatóforos em B. de Camaratuba (U, P<0,005). Os machos mostraram-se mais abundantes que as fêmeas nas duas praias (U, P<0,005). *Emerita portoricensis* apresentou maior razão sexual em Barra de Camaratuba (1,1:1) do que em Intermares (0,8:1). As fêmeas de *E. portoricensis* de B. de Camaratuba apresentaram correlação positiva entre a massa de ovos com comprimento e peso, denotando fêmeas maiores e de maior peso possuem a tendência a produzir mais ovos. As menores densidade, abundância e fecundidade registrada em Intermares podem ser reflexo do fluxo de pessoas na praia, resultando assim em alterações na distribuição populacional.

Palavras-Chave: Zona entremarés. Crustáceos bentônicos. Fecundidade. Abundância. Densidade populacional. Fluxo de pessoas.

ABSTRACT

Sandy beaches are dynamic coastal environments susceptible to anthropogenic activities that potentially affect benthic communities. Among benthic organisms that respond to anthropogenic disturbances in these environments, being considered as bioindicator, *Emerita portoricensis* is a crustacean distributed in the North and northeast coast of Brazil. This chapter describes the population structure of *E. portoricensis* in two beaches of Paraíba under different levels of anthropogenic disturbance people flows in Barra de Camaratuba (low disturbance) and Intermares (high disturbance). Data were collected using transects parallels to the shoreline and a metal corer during the tide of syzygy in dry and rainy seasons. Simultaneously, people flows was assessed through visual census. The following parameters were analyzed: abundance, density, sex proportion and sex ratio, fecundity, between dry and rainy periods. *Emerita portoricensis* higher abundance was recorded on the less disturbed beach (B. Camaratuba: n = 171; Intermares: n = 81). Most of the specimens were adults in both areas (56.72% in B. Camaratuba; 75.30% in Intermares). Intermares beach showed higher people flows (dry period: 2.1 ± 0.07 ; rainy season: 1.9 ± 0.03). Sexual dimorphism was observed in size and weight in *E. portoricensis* on both beaches (females were larger and heavier). The beach of B. Camaratuba () showed higher density than Intermares (disturbed) during the dry period, as well as a higher abundance was found in B. Camaratuba (66.53%). Adults had higher density than juveniles on both beaches (B. de Camaratuba: 0.15 ± 0.08 , ind/m²; Intermares 0.6 ± 0.04 , ind/m²) as well as spermatophore male in B. Camaratuba (U, P < 0.005). Males were more abundant than females on both beaches (U, P < 0.005). *Emerita portoricensis* on B. Camaratuba beach had higher sex ratio male/female (1.1:1) and Intermares (0.8:1). Females of *E. portoricensis* of B. Camaratuba had positive correlation between the mass of eggs and length and weight, denoting that larger and heavier females have the tendency to produce more eggs. *Emerita portoricensis*'s lower density, abundance and fecundity on Intermares beach may reflect the stream of people, thus resulting in changes in the population distribution as well as in physiological aspects of reproduction and development.

Keywords: Intertidal zone. Benthic crustaceans. Fecundity. Abundance. Population density. People-flow

1. INTRODUÇÃO

1.1 Praias arenosas e efeitos de atividades antrópicas

Praias arenosas são consideradas ambientes públicos de livre acesso, representando um recurso natural de uso comum (GERCO, 1988). Existentes ao longo das costas, podem ser encontradas em latitudes e climas diversos pelo mundo, apresentando extensão, padrões de regime de marés, grau de exposição, morfologia e condições oceanográficas variáveis (RODIL & LASTRA, 2004). Consideradas um dos sistemas marinhos mais dinâmicos (SHORT, 1999) e sensíveis a perturbações causadas por aumento da poluição, crescimento urbano, tráfego de veículos e uso intenso por banhistas (SCHLACHER & MORRISON, 2008; DEFEO et al. 2009), apresentam estado morfodinâmico estruturado pela interação entre ação das ondas, da maré, do tipo de sedimento e da morfologia da praia (MCLACHLAN & BROWN, 2006).

O parâmetro de Dean classifica as praias de acordo com o seu comportamento morfodinâmico, categorizando-as em refletivas, intermediárias e dissipativas (CALLIARI et al. 2003). Praias refletivas possuem areia grossa, com ondas menores e de maior período quebrando diretamente na zona entre marés, com declividade mais acentuada e evidente inclinação; as intermediárias apresentam substrato composto por areia média a fina e declividade intermediária; as dissipativas são planas, com declividade baixa, areia fina, com ondas de curto período que se dissipam por toda a área da praia (CALLIARI et al. 2003).

As praias arenosas geralmente possuem comunidades com predomínio de poliquetas, crustáceos e moluscos (DEFEO & MCLACHLAN, 2005; MCLACHLAN & BROWN, 2006). Diversos fatores antrópicos, que podem afetar a estabilidade e estrutura da mesofauna bentônica e desencadear eventos de perturbação (mudanças nos padrões de distribuição, comportamento, reprodução, induzir o stress animal e outros) vêm se intensificando ao longo dos anos devido à procura para o desenvolvimento de atividades turismo e lazer.

Essas perturbações são ainda mais intensas em praias urbanas de cunho turístico, promovendo diversos impactos, seja por pisoteio, tráfego de veículos, uso do solo por banhistas (TALORA et al. 2007; DUGAN & HUBBARD, 2010; SCHLACHER & THOMPSON, 2012), por poluição direta através de resíduos sólidos (plástico, metal, dentre outros) ou impactos crônicos pela descaracterização vegetação nativa das dunas, liberação de esgoto urbano através ductos de drenagem pluvial, construção de empreendimentos imobiliários em sua extensão, alterando, assim, o comportamento (e.g comportamento de escape CANSI, 2007), reprodução (e.g. aspectos fecundidade das fêmeas, EUTRÓPIO et al.

2006; TOWNSEND et al. 2006), distribuição (e.g. diminuição/aumento da densidade, DEFEO et al. 2002; BRAZIERO & DEFEO, 1996) e abundância da mesofauna (BROWN & MCLACHLAN 2002; DEFEO et al. 2009; DAVENPORT & DAVENPORT 2006; KINDERMANN & GORMALLY 2010; MCLACHLAN et al. 2013).

Estudos sobre a macrofauna bentônica de praias arenosas evidenciam que a morfodinâmica das praias tem um importante papel sobre a estrutura populacional de muitas espécies (riqueza, abundância, zonation), bem como interferências antrópicas e outros fatores ambientais (temperatura, pH, salinidade, disponibilidade de recurso energético (OMENA & AMARAL, 2003; BRAUK, 2008, SILVA, 2008).

O crescente grau de urbanização (construção de quiosques, duchas) e a exploração recreativa e turística têm alterado a fisionomia vegetal nativa associada a dunas a fim de propor melhorias nos serviços prestados aos frequentadores (DEFEO et al. 2009; VELOSO et al. 2008).

Dentre os estudos realizados em relação à comunidade bentônica de praias urbanas, foi observado que o pisoteio resultante de atividades recreativas, por exemplo, desencadeou um possível efeito negativo alterando a composição e diminuindo abundância da macrofauna (COSTA et al. 2013). As atividades recreativas são responsáveis pela diminuição da densidade e modificações na estrutura das populações de alguns crustáceos (ROSA & SOUTO, 2010) e insetos (VIEIRA, 2011) e eventos de poluição por liberação de produtos químicos em praias resultam em eventos de alto impacto sobre a comunidade bentônica de praias (GESTEIRA, & DAUVIN, 2000; SAN VICENTE & SORBE, 2001; JUNOY et al. 2005; DE LA HUZ et al. 2005; AMARAL, 2016).

1.2 *Emerita portoricensis*

Emerita é um gênero de decápodes que pertence à família Hippidae, conhecidos popularmente como caranguejos de toupeira, caranguejos de areia ou tatuís. *Emerita portoricensis* SCHMITT, 1935 é um pequeno crustáceo que vive enterrado na zona entremarés de praias arenosas, tanto dissipativas como refletivas, podendo ser encontrada no Nordeste brasileiro, do Maranhão a Sergipe, e também nas Américas, desde a Venezuela, Colômbia, até as Antilhas e o Sudeste dos Estados Unidos, na Flórida (HUBBARD & DUGAN, 2003; LECARI & DEFEO, 1999; RODGERS, 1987). A espécie apresenta dimorfismo sexual ao alcançar a maturidade sexual, em que as fêmeas apresentam maior tamanho corporal que os machos (DELGADO & DEFEO, 2006) (Fig. 1).

Figura.1 *Emerita portoricensis*. Indivíduo fêmea: fotografia da região dorsal (A) e ventral (B); fotografia de indivíduo macho: região dorsal (C) e ventral (D). Fotografia. Otoniel Lima.



Apresentam uma alta plasticidade fisiológica e são considerados indicadores de qualidade ambiental, além de possuir um papel importante como recurso alimentar a vários predadores (PETRACCO et al. 2003; PEREZ, 1999), caracterizando assim uma espécie de importância relevante à saúde de praias onde é encontrada.

Os tatuís podem ser utilizados como organismos modelo para estudos ecológicos, fisiológicos, comportamentais uma vez que possuem sensibilidade a variações do ambiente decorrentes de impactos antrópico (e. g. ecológicos, SCHATZLEIN & COSTLOW, 1978; DEFEO & CARDOSO, 2002; e.g. fisiológicos SURESH. et al. 1995; CELENTANO & DEFEO, 2006; CANSI, 2007, e.g. padrões morfodinâmico do ambiente, PERRY, 1980.). Ao longo do dia, os tatuís migram entre as zonas da praia conforme a variação da maré, expondo-se sobre o substrato mediante a ação das ondas; e deslizam de uma área a outra por meio do deslizamento direcionado pela força do recuo da onda na zona de “swash”, realizando assim um mecanismo de fuga (CANSI, 2007).

Diversos estudos (FERDIN, et al. 2002; POERSH, et al. 2006; CANSI, 2007; PEREZ, 1999) evidenciam a importância de se estudar o gênero *Emerita*, uma vez que o diagnóstico da qualidade do ambiente é facilmente refletido pelos padrões de distribuição de ecologia populacional e comportamental dos representantes deste grupo de crustáceos (LECARI & DEFEO, 2003; VELOSO et al. 2006).

2. Objetivo geral

Avaliar a ecologia populacional de *E. portoricensis* nos períodos seco e chuvoso em duas praias sob diferentes níveis de pressão antrópica (i.e., fluxo de banhistas) na costa da Paraíba.

2.1 Objetivo específicos

- Comparar a densidade, abundância e razão sexual para as populações de *E. portoricensis* em praias com menor (Barra de Camaratuba - preservado) e maior fluxo de banhistas (Intermares- perturbado).
- Comparar o peso e comprimento dos indivíduos em ambas as praias.
- Comparar a fecundidade das fêmeas ovígeras de ambas as praias.

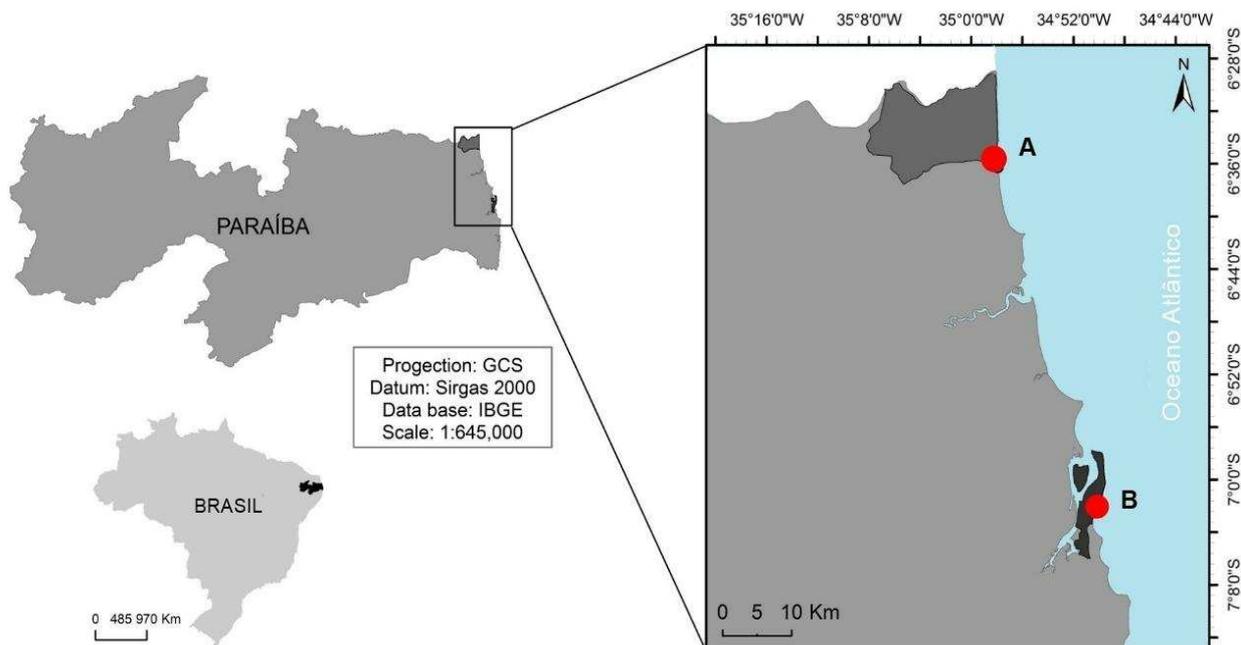
3. Materiais e métodos

3.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em duas praias arenosas do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, ambas definidas como intermediárias quanto à comportamento morfodinâmico (DEAM, 1973): a Praia de Barra de Camaratuba (6° 34'57.90" S, 34° 57 '59.80" O) e a Praia de Intermares (7° 02'48.38" S, 34° 50' 27,62" O) (Fig. 2). A praia de Intermares (praia urbana, com maior fluxo de pessoas, e denominada neste trabalho como “impactada”), situada no município de Cabedelo – PB, possui 3km de extensão e é caracterizada por ser uma praia frequentada por adeptos do surf, kitesurf e banhistas, e tem fluxo de pessoas intensificado durante período de férias (dezembro, janeiro, junho e julho).

A praia de Barra de Camaratuba (praia com menor fluxo de pessoas, denominada como “menos impactada”) está situada no município de Mataraca, ao norte da Paraíba possui cerca de 4,3 km de extensão, possui poucos empreendimentos imobiliários na região e o fluxo de pessoas é baixo, uma vez que está localizada distante dos centros urbanos.

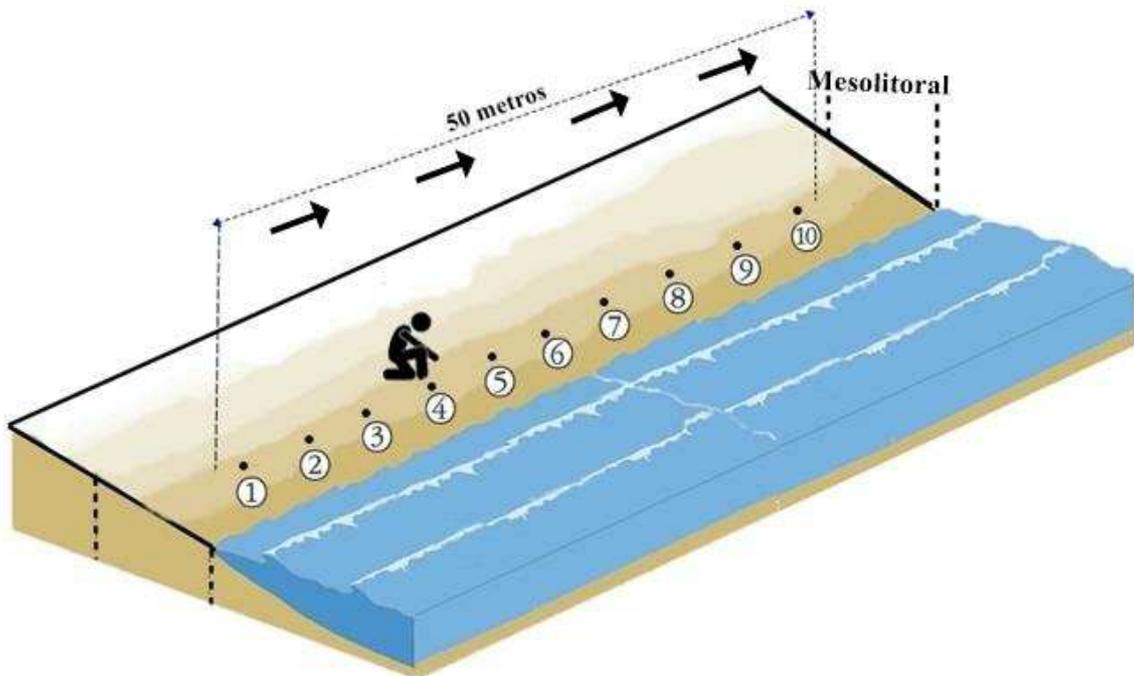
Figura. 2- Mapa de localização dos pontos de coleta (A) Praia de Barra de Camaratuba- Mamanguape (B) Praia de Intermares- Cabedelo – Paraíba. Autor: Otoniel Lima.



3.2 Amostragem

3.2.1 Coletas

O estudo foi realizado durante o período seco (fevereiro, março, abril) e chuvoso (julho, agosto e setembro) de 2016. Para a coleta dos espécimes foram selecionados, na região entremarés, três transectos (T1, T2 e T3) medindo 50 m paralelos à linha da praia com 100 m de distância entre eles. Em cada transecto foram feitas 10 amostras equidistantes 5m (horizontalmente), utilizando cilindro metálico (corer) de 28 cm de diâmetro por 30 cm de altura. (Fig. 3).



As coletas foram realizadas durante a maré vazante de sizígia. A triagem dos animais foi realizada *in situ*, com uma peneira de malha 2 mm, os animais coletados foram devidamente anestesiados (mentol 30%) e fixados com álcool a 70% e, em seguida, acondicionados em potes plásticos, devidamente etiquetados e levados para o laboratório, onde foram quantificados, identificados e mensurados. A captura dos exemplares foi assegurada por licença SISBIO (nº 50080-1). Os animais utilizados no desenvolvimento do projeto serão doados ao acervo de invertebrados marinhos da Universidade Estadual da Paraíba.

3.2.2 Fatores abióticos das praias

Foram medidos os seguintes parâmetros, temperatura, salinidade e perfil granulométrico de ambas as praias. A temperatura foi aferida a cada amostragem no centro do corer a cada 5 metros com um termômetro espeto Matsuri (Δv -50 a +300); a salinidade foi medida com um refratômetro portátil de alta resolução (RTS-101 ATC), a partir de amostras de água retiradas de dentro do corer durante a coleta de indivíduos.

Para a obtenção do perfil granulométrico de cada praia, foi feita a amostragem de 6 kg de areia das três regiões da praia (infralitoral, mesolitoral e supralitoral), sendo 2 kg para cada região. Em seguida as amostras foram secas e misturadas, processadas e agitadas numa

máquina de separação granulométrica, com peneiras onde a abertura variou de (2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,063; <0,063 mm). O substrato foi processado a separação por 15 min e todo material retido nas peneiras foi pesado para estimativa de proporção granulométrica.

3.2.3 Fluxo de pessoas

O fluxo de pessoas foi mensurado através da contagem direta das pessoas que frequentavam a praia no momento da coleta. O censo em ambos os períodos (seco e chuvoso) foi feito de maneira contínua em intervalos de 5 min durante a amostragem dos animais, de forma que todas as pessoas que estavam dentro dos limites do transecto (50m) eram contabilizadas. Para cada coleta realizada, eram feitos três transectos para contagem de pessoas, de forma que foram realizados nove censos por período amostrado, em cada praia.

3.2.4 Densidade e biometria de *Emerita portoricensis*

A densidade de *E. portoricensis* foi obtida utilizando a fórmula d (densidade) = número de indivíduos coletados/ área total amostrada. A biometria e identificação os animais coletados foi feita em laboratório (seguindo EUTRÓPIO, 2006). Para determinação sexual, a presença ou ausência de gonóporos na coxa do terceiro par de pernas foi utilizada na determinação dos machos, e, para as fêmeas, observou-se pleópodes maduros (estruturas pares que sustentam a massa de ovos). Fêmeas com massas de ovos foram definidas como ovígeras, e as que possuíam pleópodes sem ovos foram definidas como fêmeas não ovígeras (DELGADO & DEFEO, 2006); os machos reprodutivos foram classificados através da presença de papilas e gonóporos presos ao quarto par de pereópodes. O estágio de vida (adultos/jovens) dos indivíduos foi determinado pela presença gonóporos (DELGADO & DEFEO, 2006).

Com um paquímetro universal de metal (0,05mm-150mm) foram determinados: o comprimento longitudinal (mm), a partir do rostro (eixo anterior-posterior); a largura do corpo (mm), através do eixo transversal na região média do corpo; e a altura do corpo (mm), a partir do eixo ventral-dorsal (NAKAGAKI, 1999). A pesagem dos animais foi feita utilizando uma balança analítica (Schimadzu AUY220, 0,1 mg de precisão).

3.2.5 Fecundidade

Para estimativa de fecundidade, retirou-se a massa de ovos de cada fêmea e dissociou-se em placa de Petri em solução aquosa 5 ml com concentração de 2% de NaClO. (EUTRÓPIO, 2006). Após a dissociação, os ovos foram transferidos para uma placa de cultivo celular (24 poços) onde foram submetidos a uma leitura de absorvância (470 nm), perfazendo uma varredura por toda a extensão do poço em uma leitora de microplacas (SpectraMax I3x). Anteriormente, através de contagem manual, uma curva padrão foi construída relacionando número de ovos (0 – 5000) com a absorvância lida. O número de ovos de cada fêmea foi estimado através de regressão linear utilizando a curva padrão.

3.2.6 Análises estatísticas

Os dados foram testados quanto à normalidade (teste de Shapiro Willk) e homocedasticidade (teste de Levene). A distribuição dos dados mostrou-se não normal e não homogênea; dessa forma, foram utilizados testes não paramétricos para as análises populacionais.

O teste U de Mann Whitney foi utilizado para comparar o fluxo de pessoas entre as praias, a densidade, comprimento e peso dos indivíduos de acordo com o sexo, estágio de vida e estado reprodutivo.

Através do teste H de Kruskal Wallis, foi feita a comparação entre densidade geral de indivíduos coletados nas praias no período seco e chuvoso. Foi feita uma correlação de Spearman entre a proporção de ovos produzidos pelas fêmeas com seu comprimento e peso.

4. Resultados e discussão

4.1. Fatores abióticos e fluxo de pessoas nas praias

As praias de Barra de Camaratuba (referência) e Intermares (perturbado) apresentaram características morfodinâmicas semelhantes, ambas possuem substrato constituído por areia fina (0,250mm) e média (0,500mm) segundo a escala de Wentworth (SUGUIO, 1973) (Tab. 1), são levemente inclinadas, com forte atuação das ondas. Intermares possui 73,68% de seu substrato constituído de areia fina, Barra de Camaratuba tem maior proporção de areia média

(42,99%) e areia grossa (46,92%). Os padrões de composição do substrato da praia, influenciam no estabelecimento da população bentônica (COUTINHO, 2013.). Os dados abióticos analisados (salinidade e temperatura) também se apresentaram semelhantes em ambas as praias (Quad. 1). Os dados abióticos (tamanho da partícula de sedimento, salinidade e temperatura) obtidos em ambas as praias é semelhante. E seguindo os padrões estabelecidos por Wright & Short, (1984) ambas as praias são consideradas intermediárias.

Essas semelhanças entre as características abióticas são evidenciadas pela geolocalização na plataforma continental influenciadas assim pelo perfil climático da região (HALLERMEIER, 1980).

Quadro. 1- Temperatura e salinidade da água intersticial das praias arenosas amostradas no litoral da Paraíba: Barra de Camaratuba (baixo fluxo de banhistas) e Intermares (alto fluxo de banhistas), nos períodos seco (fevereiro, março, abril) e chuvoso (julho, agosto, setembro), 2016. Dados apresentados como média \pm erro padrão.

Periodos	Barra de Camaratuba		Intermares	
	Temperatura (°C)	Salinidade (%)	Temperatura (°C)	Salinidade (%)
Chuvoso	28,6 \pm 2,8	37,5 \pm 4,4	26,5 \pm 3,5	35,5 \pm 4,7
Seco	31,4 \pm 3,6	36,6 \pm 3,9	29,8 \pm 5,9	36,1 \pm 7,2

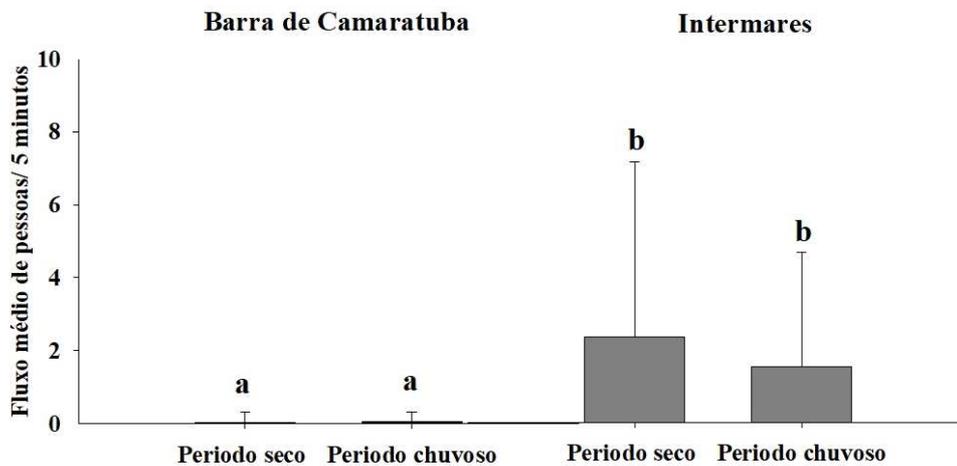
Tabela. 1 – Composição granulométrica (%) das praias de Barra de Camaratuba e Intermares, Paraíba, Brasil. Diâmetro de malha das peneiras em milímetros (mm).

Malha da peneira(mm)	Composição granulométrica	
	Praia de Intermares (%)	Praia de Barra de Camaratuba (%)
2	0	3.662667
1	0.258800	46.92667
0.5	4.051500	42.99867
0.25	73.68233	5.950283
0.125	19.76183	0.421167
0.063	2.024667	0.040550
< 0.063	0.220833	0.00
Total	100	100

O maior fluxo de pessoas pode constituir um fator estruturador importante das populações de *E. portoricensis* amostradas. Foi registrado um fluxo médio de pessoas variável

durante os meses em que o estudo foi realizado. Barra de Camaratuba apresentou o fluxo médio de pessoas (período seco: $0,05 \pm 0,01$ pessoas/5 minutos; período chuvoso: $0,06 \pm 0,03$ pessoas/5 minutos) e Intermares (período seco: $2,1 \pm 0,07$; período chuvoso: $1,9 \pm 0,03$). A praia de Intermares apresentou maior fluxo de pessoas em relação à Barra Camaratuba em ambos os períodos amostrados ($U=20029,50$, $p < 0,001$), chegando a ser 35 vezes maior no período seco, caracterizando maior ocupação e conseqüentemente maior atividade recreativa. (Fig. 4).

Figura 4 - Fluxo médio de pessoas nas praias de Barra de Camaratuba e Intermares durante a coleta nos períodos seco (fevereiro, março e abril) e chuvoso (julho, agosto e setembro), em 2017. As letras mostram a diferença estatística ($U=220029,50$, $P < 0,001$), barras com colunas indicam a média com desvio padrão.



Outros trabalhos utilizam análises do censo de pessoas para caracterizar o uso recreativo das praias (VELOSO et al. 2008; 2009; 2011; VIEIRA et al. 2012; VIEIRA 2015; REYES-MARTÍNEZ et al. 2015), classificando o pisoteio humano como um distúrbio temporário (DEFEO et al 2009), mas que pode ter efeitos crônicos no ambiente.

Organismos podem apresentar mudanças em seus padrões fisiológicos e de distribuição, uma vez que a perturbação do ambiente deixa de ser pontual tornando-se crônica. O desenvolvimento de aclimatizações, habituações ao fator estressor podem induzir mudanças na estrutura e ontogenia (crustáceos, moluscos, insetos, poliquetas dentre outros) da população afetada localmente (CHELAZZI & VANNINI, 1988; SCAPINI et al. 1995; BROWN, 1996; SCAPINI, 2006).

Estudos com ênfase na densidade de *Ocypode. quadrata* (Fabricius, 1787) (NORIEGA et al. 2012; VIERA. 2012) demonstraram que o pisoteio humano influencia negativamente a distribuição de espécimes na região praial; outros afirmam que o pisoteio intenso a longo prazo pode resultar em diminuição na densidade e distribuição de outros macroinvertebrados (LUCREZI et al.2009B; SCHLACHER et al. 2010).

Estudos como Vieira et al. (2012) e Dutra et al. (2011) demonstraram que praias com alto fluxo de pessoas apresentam maior compactação da areia, dificultando, assim o estabelecimento de indivíduos bentônicos na região afetada. Esses trabalhos corroboram os dados deste trabalho, uma vez que, durante o período seco (maior fluxo de pessoas) na praia de Intermares, a população de *E. portoricensis* apresentou as menores densidades. O fluxo de pessoas pode estar afetando a distribuição da espécie estudada em questão.

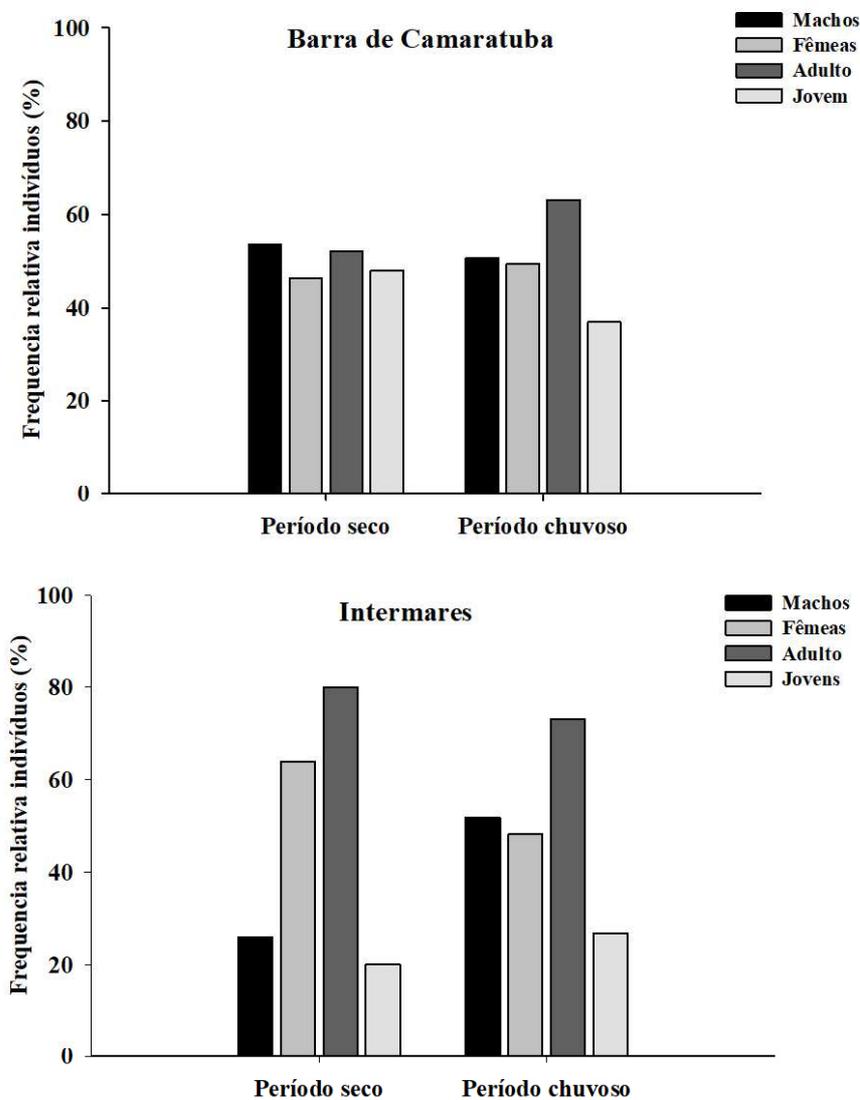
4.2. Abundância e densidade de *Emerita portoricensis*

Foi registrado um total de 252 espécimes de *E. portoricensis* nas duas praias amostradas. A abundância foi maior em Barra de Camaratuba (n = 171; $28,5 \pm 13,2$) do que em Intermares (n = 81; $13,5 \pm 15,2$; teste U=5183.000 p<0,0001). A maioria dos espécimes era adulta em ambas as áreas (56,72% em B. Camaratuba; 75,30% em Intermares). A razão sexual geral para Barra de Camaratuba (machos:89; fêmeas 82) e Intermares (machos: 38; fêmeas: 43) Chi quadrado=100,157, gl.1; P<0,001; Quad. 2).

Quadro. 2 - Proporção sexual média de *Emerita Portoricensis* das praias de Barra de Camaratuba (Mataraca) e Intermares (Cabedelo), Paraíba. 2016.

Proporção sexual			
Praias	Média de machos ± desvio padrão/ n° de indivíduos	Média de fêmeas ± desvio padrão/ n° de indivíduos	Razão sexual (M/F)
Barra de Camaratuba	14,8 ± 10,6 (n=89)	13,5 ± 5,9 (n=82)	1,1/1
Intermares	6,3 ± 8,2 (n=38)	7,1 ± 7,1 (n=43)	0,8/1

Figura. 5 - Frequência de *Emerita portoricensis* encontrados nas praias de (A) Intermares e (B) Barra de Camaratuba nos períodos seco (fevereiro, março e abril) e chuvoso (julho, agosto e setembro) 2016.

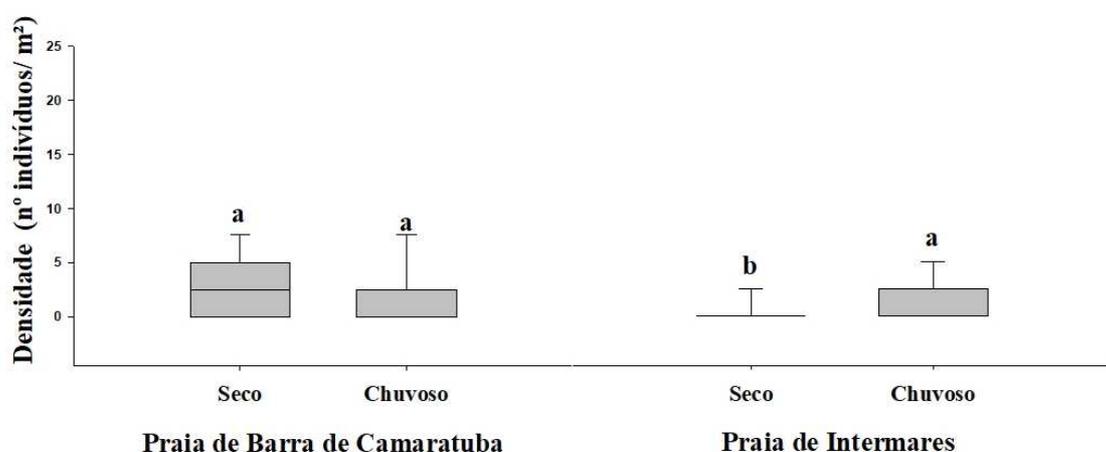


ab
ch
fo
se
se
fo

que em Barra de Camaratuba ($2,7 \pm 3,8$ indivíduos/m²; H=19,26, P<0,0005) no período seco.

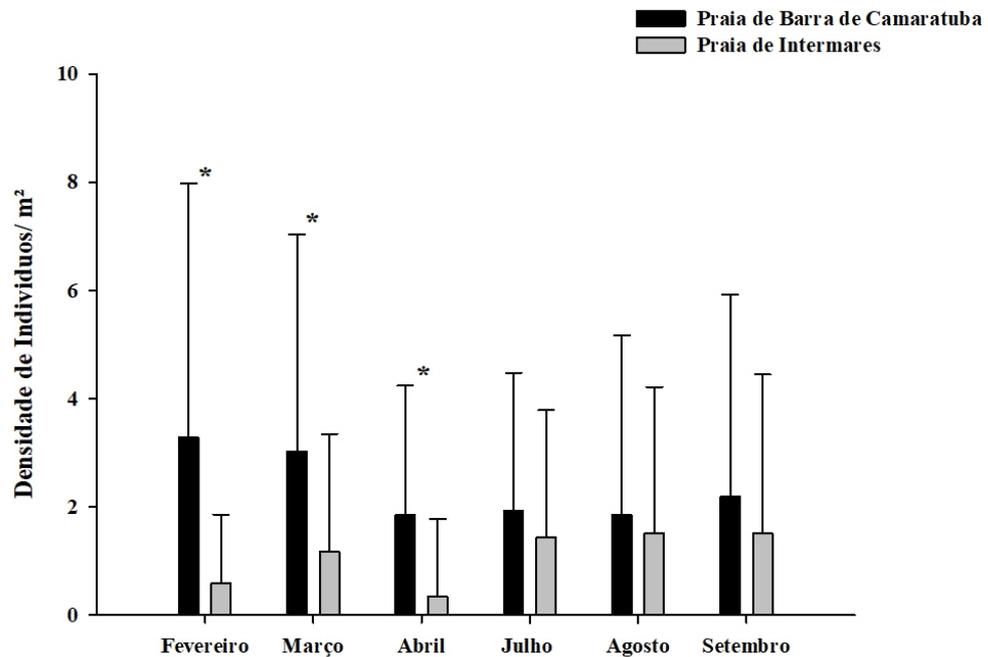
Ambas as praias no período chuvoso apresentaram densidades semelhantes: em Intermares, $1,48 \pm 2,6$ indivíduos/m², e em Barra de Camaratuba, $1,9 \pm 3,2$ indivíduos/m² ($H=0,375$, $P = 0,0846$) (Fig. 6).

Figura 6 – Densidade média de *Emerita portoricensis*, nos períodos seco (julho, agosto e setembro) e chuvoso (fevereiro, março e abril), nas praias de Barra de Camaratuba (maior densidade) e Intermares (menor densidade), Paraíba, Brasil. 2016. As letras representam a diferença estatística entre a densidade populacional geral de indivíduos coletados, pontos representam maiores densidades encontradas em cada período, os retângulos representam a média \pm desvio padrão. Teste H, $P<0,005$.



Não houve variação na densidade de *E. portoricensis* ao longo dos meses em ambas as praias. Entretanto, Barra de Camaratuba apresentou maiores densidades, quando comparada com Intermares, nos meses de fevereiro ($3,2 \pm 4,7$ indivíduos/m²; $0,6 \pm 1,1$ indivíduos/m²), março ($3,0 \pm 3,9$ indivíduos/m²; $1,1 \pm 2,0$ indivíduos/m²) e abril ($1,8 \pm 2,4$ indivíduos/m²; $0,3 \pm 1,6$ indivíduos/m²) (Teste U, $P<0,005$) (Fig. 7).

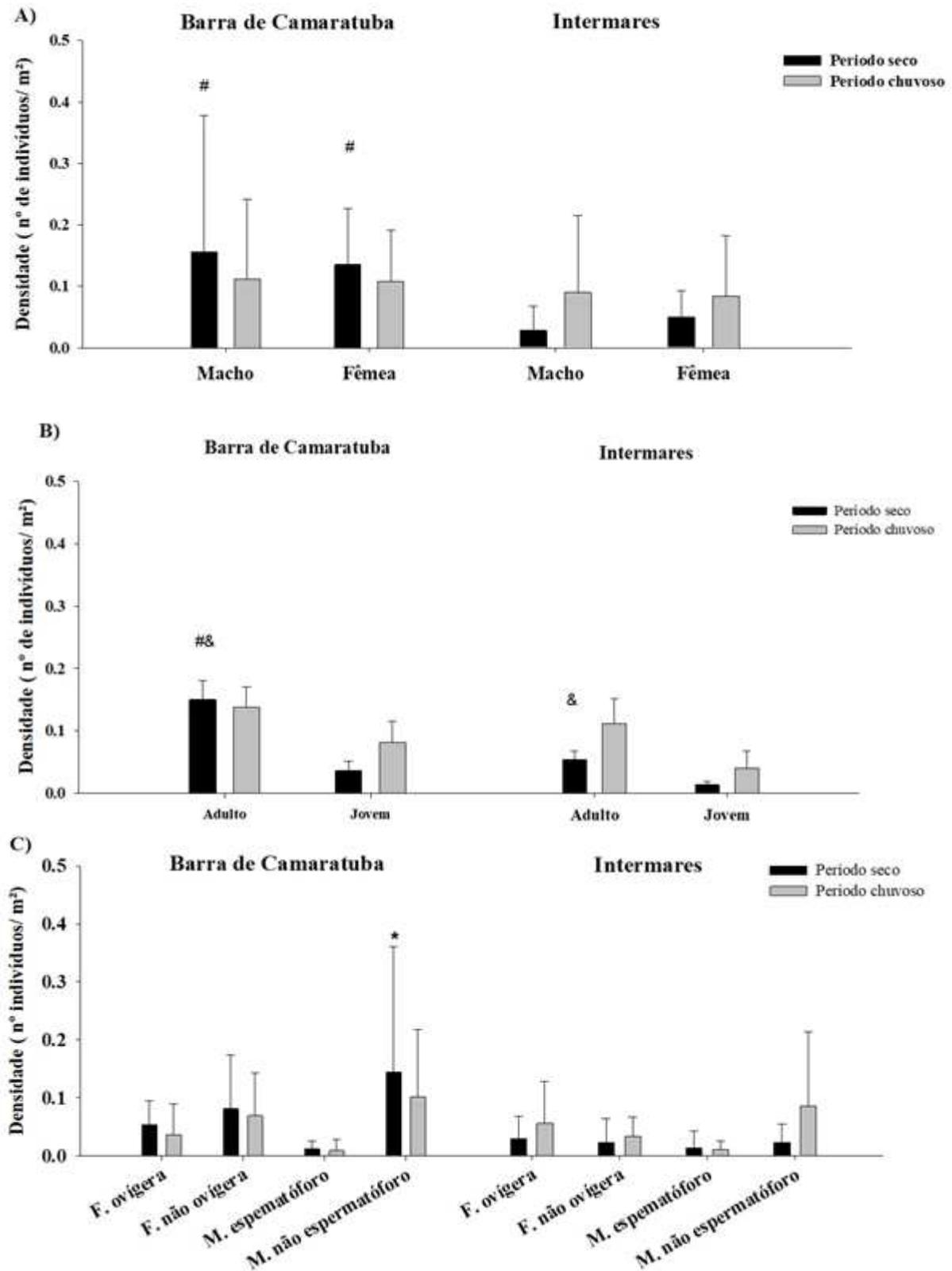
Figura 7 – Densidade média mensal de *Emerita portoricensis* nas praias de Barra de Camaratuba (Mataraca) e Intermares (Cabedelo), Paraíba, Brasil. Os asteriscos representam diferença estatística na densidade de indivíduos entre as praias, Teste U, $P<0,005$.



A densidade de fêmeas e machos em Barra de Camaratuba no período seco foi maior do que em Intermares. No período chuvoso ambas as praias apresentaram densidade de fêmeas e macho semelhante ($P < 0,005$) (Fig.8A). A densidade de adultos em Barra de Camaratuba foi maior que a de jovens (adultos - $0,13 \pm 0,08$; jovens- $0,03 \pm 0,04$ indivíduos/m²). A mesma densidade encontrada em barra de Camaratuba para indivíduos adultos também foi maior quando comparado à densidade de adultos de Intermares no período seco ($U, P < 0,005$); em Intermares, a densidade de adultos em relação a jovens foi maior no período seco ($0,06 \pm 0,04$ indivíduos/m²; jovens: $0,01 \pm 0,001$ indivíduos/m², $P < 0,049$) (Fig.8 B). No período chuvoso, as densidades de adultos e jovens para ambas as praias se mostraram semelhantes.

Foi registrado que em Barra de Camaratuba a densidade de machos não espermatóforos foi maior ($0,14 \pm 0,21$ indivíduos/m²) que os machos espermatóforos ($0,02 \pm 0,01$ indivíduos/m²; $U=10.500, P < 0,005$). (Fig.8C).

Figura. 8 - Densidade de *Emerita portoricensis* de acordo com (A) sexo, (B) maturidade, (C) estágio reprodutivo, nas praias de Barra de Camaratuba e Intermares, Paraíba. # indica diferença estatística entre as praias para cada categoria no período seco. & indica diferença estatística entre estágio de maturidade no período seco. * indica diferença estatística entre estágio reprodutivo dos machos no período seco (teste U, $P < 0,005$).



A densidade em ambas as praias é considerada baixa quando comparada com congêneres *E. brasiliensis* (5,8 indivíduos/m²) encontrado por VELOSO et al. (2006) na praia de Grumari/RJ, com características semelhantes a Camaratuba, distante de centros urbanos, onde, durante o período de primavera e verão, foram encontradas maiores densidades. Em contrapartida, Sastre (1990) observou maiores densidades de quê durante o período seco nas Baías de Mayaguez e Anasco em Porto Rico.

Em Barra de Camaratuba, foram encontradas maiores densidades de fêmeas nos meses de março e julho; em Intermares, foi encontrado maior densidade em julho. Calado (1990b) e Veloso et al. (1995) encontraram densidades de fêmeas ovígeras de *E. portoricensis* em fevereiro, junho e julho, corroborando assim os dados obtidos neste trabalho.

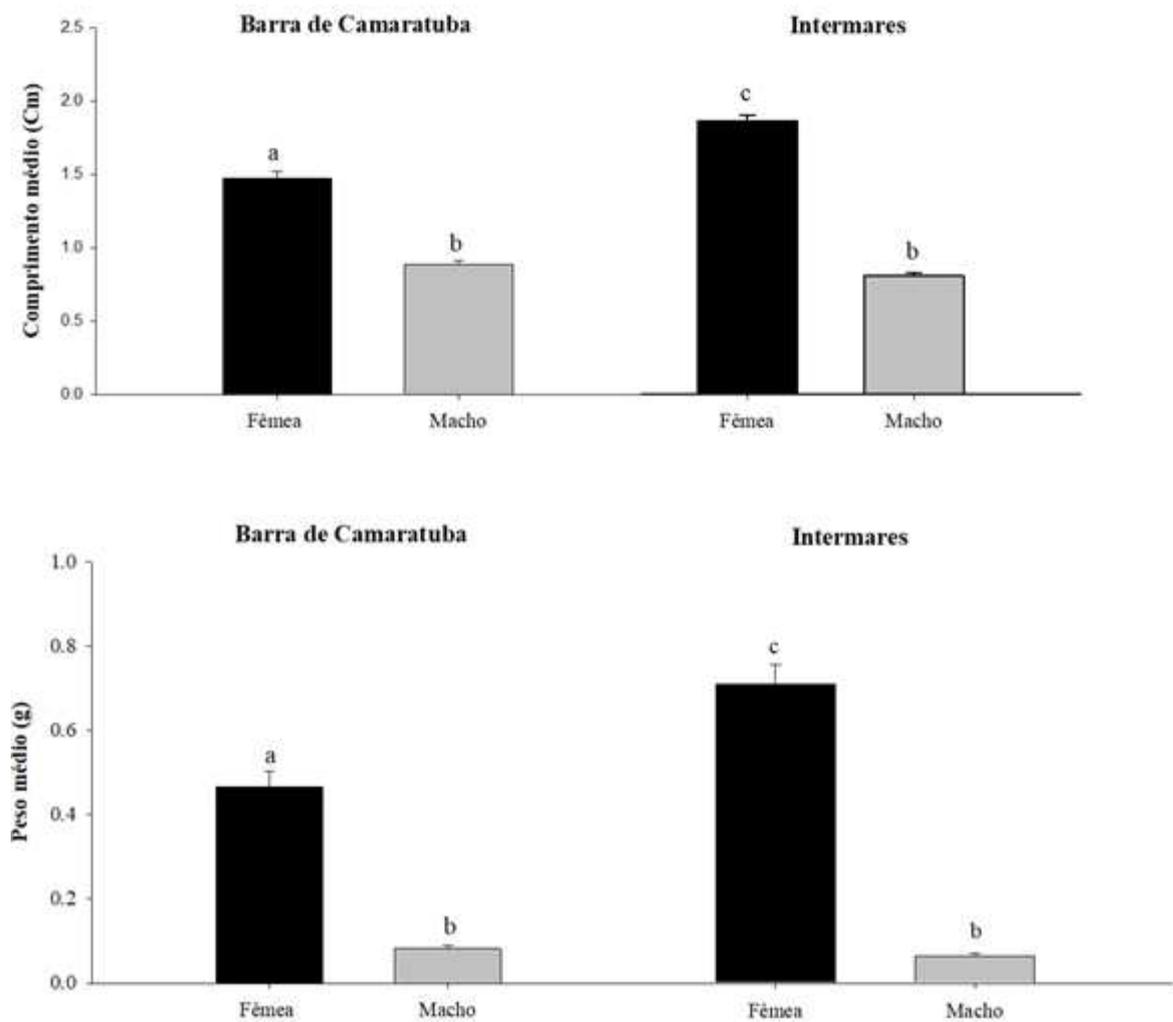
Curo (1989), Contreras et al. (1999 e 2000) e Petracco et al. (2003) encontraram maiores densidades no verão de fêmeas ovígeras de *Emerita analoga*. Osório et al. (1967) Contreras et al. (2003) após encontrar maior densidade de fêmea ovígera em fevereiro definiu esse como o de reprodução de *E. analoga*. Calado (1990d) e Herbest, 1971 encontraram maior densidade de fêmeas ovígeras do crustáceo *Hippa testudinaria* no período de janeiro a julho. Esses estudos evidenciam um padrão de preferência em utilizar períodos mais quentes para iniciar o período reprodutivo.

A praia de Intermares é muito frequentada por banhistas e para a prática de esportes como surfe, o que viabiliza maior fluxo de pessoas no local, pesca e atividades como caminhada, comércio informal. Essas atividades são realizadas continuamente e intensificadas nos meses de férias de dezembro a fevereiro e de julho a agosto, promovendo ainda mais os impactos antrópicos na região. O efeito causado pelo intenso pisoteio das praias é responsável pelo principal impacto oriundo das atividades recreativas (ANDERSEN 1995; MCLACHLAN & BROWN 2006; TALORA et al. 2007; DUGAN & HUBBARD 2010), uma vez que a região de areia descoberta no período de baixa mar com ausência de vegetação é caracterizada pela maior concentração dessas atividades determinando efeitos negativos sobre a população bentônica (SCHLACHER & THOMPSON 2012). A menor abundância e densidade de indivíduos podem estar associados a tais fatores negativos influenciando assim o recrutamento (mudança de estágio levando à maturidade sexual) e reprodução da espécie.

4.3. Comprimento e peso de *Emerita portoricensis*

Em ambas as praias as fêmeas foram maiores (Barra de Camaratuba: $1,4 \pm 0,4$ cm; Intermares: $1,9 \pm 0,9$ cm) que os machos (Barra de Camaratuba - $0,9 \pm 0,16$ cm; Intermares - $0,8 \pm 0,30$ cm, Teste H, $P < 0,001$). Entretanto as fêmeas encontradas em Intermares apresentaram maior peso e comprimento ($0,7 \pm 0,2$ g; $1,9 \pm 1,8$ cm) em comparativo a fêmeas de Barra de Camaratuba ($0,46 \pm 0,16$ g; $1,4 \pm 1,5$ cm) teste H, $P < 0,001$). (Fig.9).

Figura. 9 -Comprimento (A) e peso (B) médio de fêmeas e machos de *Emerita portoricensis* nas praias de Barra de Camaratuba e Intermares, Paraíba. Letras diferentes indicam diferença estatística no comprimento e peso de machos em fêmeas. Teste H, $P < 0,001$



Foi observada diferença entre o tamanho e peso entre machos e fêmeas para a espécie *E. portoricensis*. Outros estudos relatam a existência de dimorfismo sexual, maior peso das fêmeas em relação ao macho nas espécies *E. brasiliensis*, *E. analoga*, *E. talpoida*, *E. testudinária* (OSÓRIO et al. 1967; PENCHASZADEH, 1971; SÁNCHEZ & ÁLAMO, 1974; CALADO, 1990b, CONTRERAS et al. 2000 E LEPEZ et al. 2001). Calado (1990b) demonstrou que durante o período reprodutivo a massa corpórea das fêmeas ovígeras aumenta de forma significativa em relação as não ovígeras, destacando em parte a massa de ovos contribui para essa avaliação.

Segundo Veloso et al. (1995), o menor tamanho da carapaça do macho possibilita sucesso na cópula, permitindo a fixação dos machos nas fêmeas representando uma adaptação reprodutiva para a espécie, uma vez que as praias representam ambientes altamente dinâmicos devido a energia das ondas e oscilações das marés, Cansi (2006) relata que em fêmeas ovígeras o maior tamanho e peso garantem eficiência no cuidado parental no período reprodutivo porem limitam a mobilidade durante o comportamento de escape.

Em Barra de Camaratuba foram encontradas maiores fêmeas ovígeras ($2,6 \pm 0,9\text{cm}$) e com maior peso $1,43 \pm 0,13\text{mg}$ em relação a Intermares ($2,1 \pm 0,4\text{cm}$; $0,94 \pm 0,06\text{mg}$, respectivamente). Intermares proporciona maior grau de perturbação sobre a população local de *E. portoricensis* e as fêmeas, além de utilizarem o recurso energético obtido para garantir a produção de ovos e sobrevivência, podem estar direcionando parte desse recurso na manutenção do metabolismo (adquirindo resistência a patógenos e maior atividade de escape, recurso esse que poderia ser usado no crescimento e biomassa).

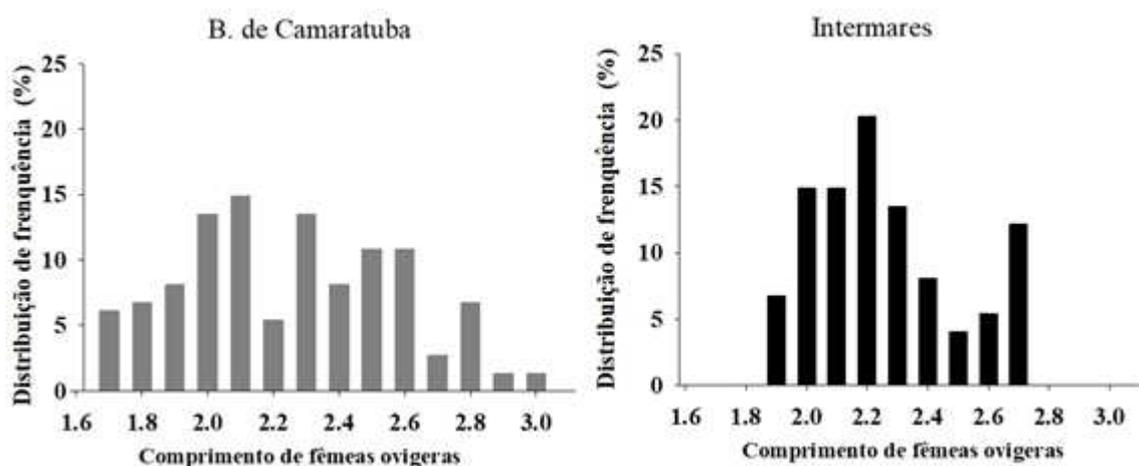
Isso foi demonstrado, por exemplo, em uma revisão descritiva (Livro vermelho) do status de preservação para o subfilo de crustácea, onde foi constatado a diminuição na taxa reprodutiva de diversas espécies na Ordem decápoda (Aeglidae, Caridea, Carpiliidae, Palaemonidae, Palinuridae, Atyidae) mediante a perturbações antrópica como, pesca, acesso de pessoas ao habitat, descaracterização do ambiente natural (PINHEIRO M. & BOOS H, 2014).

Em contrapartida, ambientes preservados contribuem positivamente na estabilidade das populações de crustáceos. Segundo Hill (2012) ambientes estáveis possibilitam aos organismos que nele habitam, melhor aproveitamento da energia obtida do meio garantindo assim seu desenvolvimento e reprodução. Uma vez que em Barra de Camaratuba (referência) está exposta a menor impacto antrópico, torna-se um ambiente mais estável que Intermares ambiente favorável ao crescimento e ganho de biomassa pela população local.

4.4 Fecundidade de *Emerita portoricensis*

Em ambas as praias, a quantidade de ovos encontrada nas fêmeas foi semelhante (Barra de Camaratuba - $723 \pm 3,3$ ovos/ fêmea; Intermares - $691,6 \pm 2,3$ ovos/ fêmea). Em Barra de Camaratuba a distribuição de frequência com enfoque na classe de comprimento demonstrou maior agrupamento de fêmeas ovígeras nas classes 2,1 - 2,3 cm, porém foram encontrados indivíduos nas classes de 1,6 - 3,0. Em Intermares, a maior frequência foi na classe 2,2 cm e foram encontradas fêmeas agrupadas entre as classes 1,9 – 2,7 cm (Fig. 10)

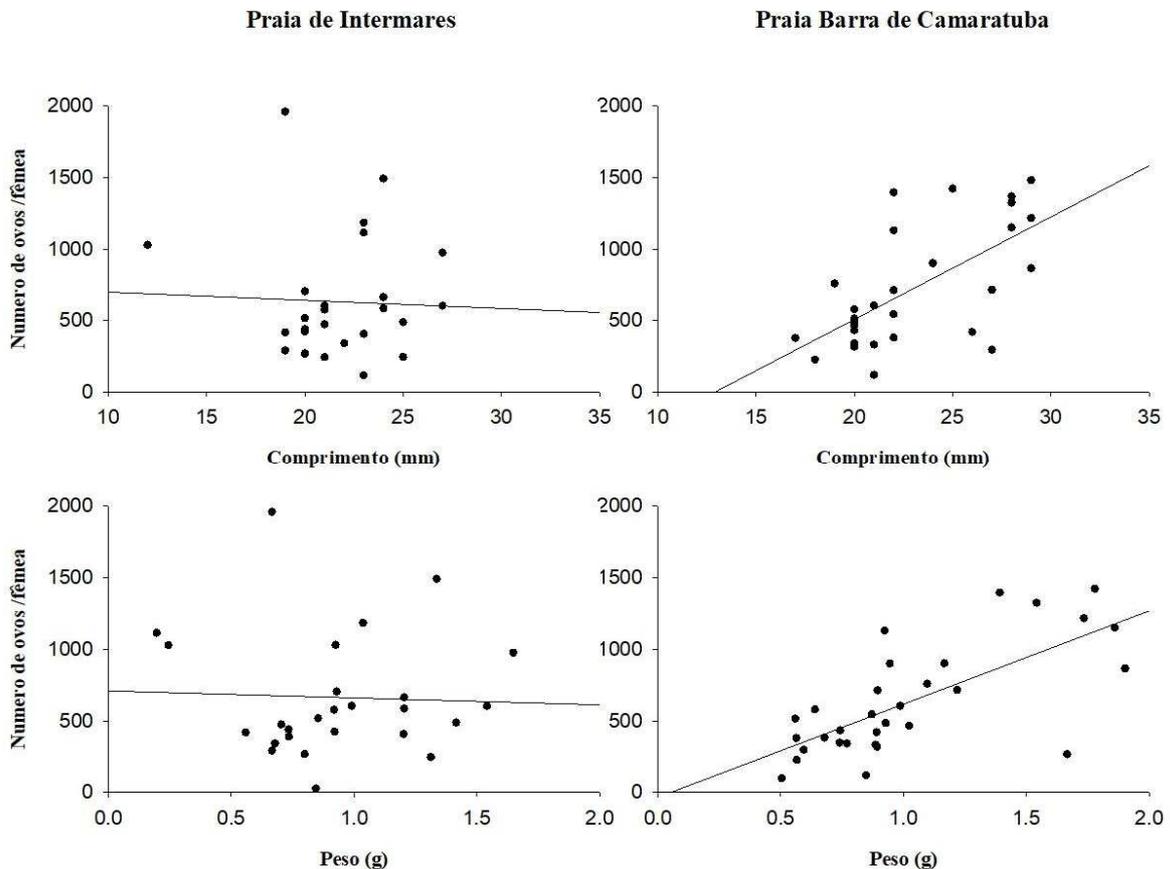
Figura 10 - Distribuição de frequência das fêmeas ovígeras encontradas nas praias de Intermares (Cabedelo) e Barra de Camaratuba (Mataraca), Paraíba.2017.



O número de ovos produzidos pelas fêmeas de *E. portoricensis* em Barra de Camaratuba apresentou uma correlação positiva em relação ao comprimento - fêmeas de maiores possuem a tendência a produzir mais ovos que as menores ($R^2 = 0,407$; $P < 0,005$). Em Intermares, entretanto, o comprimento não teve relação com a quantidade de ovos produzido pelas fêmeas ($R^2 = 0,0017$) (Fig.11).

Em Barra de Camaratuba a variação do peso das fêmeas ovígeras foi de 0,39 a 2,37g. com média de $1,43 \pm 0,13$ mg, em Intermares as fêmeas ovígeras apresentaram peso entre 0,19 a $2,50 \pm 0,04$ g. A correlação obtida através da análise do número de ovos e peso mostrou que em Barra de Camaratuba fêmeas com maior peso produziram mais ovos ($R^2 = 0,5016$) e em Intermares essa relação foi mínima ($R^2 = 0,0017$). (Fig. 11).

Figura 11 – Fecundidade: Correlação do N° de ovos com o (A) comprimento (mm) o (B) peso (g) das fêmeas ovígeras coletados nos períodos (seco e chuvoso) nas praias de A) Barra de Camaratuba (Mataraca) e B) Intermares (Cabedelo), Paraíba, Brasil, durante o período de fevereiro, março, abril, julho, agosto e setembro/2016



Foram encontradas fêmeas ovígeras durante todo período em que o estudo foi realizado em ambas as praias; não sendo registrados picos. Calado (1990b) descreveu o mesmo padrão reprodutivo para *E. portoricensis*, e evidenciou que houve aumento no aumento da fecundidade entre o verão e a primavera. Veloso et al. (1995) e Eutrópico et al. (2006) encontraram padrão semelhante para a espécie *E. brasiliensis*.

Diversos estudos demonstram a alta fecundidade presente no gênero, em que as fêmeas produzem grandes quantidades de ovos e os mantêm sob cuidado parental. Contreras (2000) encontrou para espécie de *E. analoga* fêmeas que produziram de 1386 a 11937 ovos demonstrando grande variação entre fecundidade, porém, Osório et al. (1967) encontraram, para a mesma espécie, valores bem inferiores, cerca de 538 a 886 ovos/fêmea, enquanto Sánchez & Álamo (1974) registraram de 675 a 9000 ovos.

A relação entre número de ovos e com o comprimento e peso permite comparar entre as fêmeas ovígeras a associação do seu padrão morfológico com grau de fecundidade. Eutrópio et al. (2006) observou em fêmeas de *E. brasiliensis* uma correlação positiva entre o comprimento e a quantidade de ovos produzidos. Para Intermares, esse padrão não foi registrado, sugerindo que algum fator estressor como (atividades recreativas, intenso fluxo de pessoas, contaminação aquática) pode estar causando alterações na produção de ovos das fêmeas.

Foi visto que as fêmeas maiores continham mais ovos e a capacidade que cada fêmea possui é proporcional ao seu tamanho, porém, a fecundidade das fêmeas está relacionada não somente ao seu comprimento, mas também a alterações do ambiente, como poluição, contaminação aquática, que podem desencadear interrupções do período reprodutivo, levando à ineficiência na renovação da população em questão afetada. Em *E. brasiliensis*, Veloso et al. (1995) observaram que variações na temperatura da água do mar por exemplo, induzem o aumento ou diminuição no número de ovos produzidos, indicando que a fecundidade das fêmeas possui íntima relação com fatores abióticos do meio em que vivem. Em ambas as praias a temperatura foi semelhante ao longo dos dois períodos demonstrando estabilidade, a relação entre a produção de ovos ser menor em Intermares pode estar associada ao impacto humano na região.

5. CONCLUSÃO

Em Intermares foi encontrado maior fluxo de banhistas em ambos os períodos, em contrapartida em Barra de Camaratuba o fluxo foi menor.

A densidade, abundância de indivíduos em Barra de Camaratuba foi maior do que a encontrada em Intermares.

Em Barra de Camaratuba foram encontradas maiores fêmeas ovígeras.

Foi visto uma correlação positiva entre o número de ovos das fêmeas ovígeras de Barra de Camaratuba com o comprimento e peso, em Intermares não houve correlação entre esses parâmetros

REFERÊNCIAS

AMARAL, A. C. Z. et al. Brazilian sandy beaches: characteristics, ecosystem services, impacts, knowledge and priorities. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 64, n. spe2, p. 5-16, 2016.

ANDERSEN U.V. Resistance of Danish coastal vegetation types to human trampling. **Biological Conservation**. v.71, p. 223-230. 1995.

BROWN, A. C.; MCLACHLAN, A. Sandy shore ecosystems and the threats facing them: some predictions for the year 2025. **Environmental Conservation**, v. 29, n. 1, p. 62-77, 2002.

BROWN, A.C. Behavioural plasticity as a key factor in the survival and evolution of the macrofauna on exposed sandy beaches. **Revista Chilena de Historia Natural** 69, 469–474 1996

BRAUKO, M.K. **Efeitos da passagem de sistemas frontais sobre a macrofauna béntica de praias arenosas do Paraná (Brasil)**. 2008, 75 f. Dissertação (Pós-Graduação em Zoologia), Univerisdade Federal do Paraná, Paraná. 2008.

BRAZEIRO, A; DEFEO, O. **Macroinfauna zonation in microtidal sandy beaches: is it possible to identify patterns in such variable environments?** Estuarine, Coastal and Shelf Science, v. 42, n. 4, p. 523-536, 1996.

CANSI, Edison Rogério. **Comportamento de escape de Emerita brasiliensis (Crustacea, Anomura Hippidae); Schmitt, 1935**. 2007. 113 f., il. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) -Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

CARDOSO, R. S.; VELOSO, V. G.; CAETANO, C. H. S. Life history of *Emerita brasiliensis* (Decapoda: Hippidae) on two beaches with different morphodynamic characteristics. **Journal of Coastal Research**, p. 392-401, 2003.

CALADO, TC S.; COELHO, P. A.; RAMOS-PORTO, M. Crustáceos decápodos da superfamília Hippoidea na costa brasileira. **Arq. Biol. Tecnol**, v. 33, n. 4, p. 743-757, 1990.

CALADO TCS. Revisão do Gênero Hippa FABRICIUS, 1787 na costa brasileira (Crustácea, Decapoda, Hippidae). **Anais da Sociedade Nordestina de Zoologia**. Maceió, 3: 277-288.1990d

CALLIARI, L.J et al. Morfodinâmica praias: uma breve revisão. **Revista brasileira de oceanografia**, v. 51, n. unico, p. 63-78, 2003.

CELENTANO, E.; DEFEO, O. Habitat harshness and morphodynamics: life history traits of the mole crab *Emerita brasiliensis* in Uruguayan sandy beaches. **Marine Biology**, v. 149, n. 6, p. 1453-1461, 2006.

CHELAZZI, G., VANNINI, M. Behavioural Adaptations to Intertidal Life. **Plenum Press**, New York, 524 p. 1988

CONTRERAS, H.; JARAMILLO, E.; DUARTE, C.; MCLACHLAN, A. Population abundances, growth and natural mortality of the crustacean macroinfauna at two sand beach morphodynamic types in southern Chile. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 76, p. 543-561, 2003.

CONTRERAS, H.; JARAMILLO, E.; QUIJON, P. Historia natural de *Emerita analoga* (Stimpson) (Anomura, Hippidae) en una playa arenosa del norte de Chile. **Revista Chilena de Historia Natural**. v. 73, p. 705-715, 2000.

CONTRERAS, H.; DEFEO, O.; JARAMILLO, E. Life history of *Emerita analoga* (Stimpson) (Anomura, Hippidae) in a sandy beach of south central Chile. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. v. 48, p. 101-112, 1999.

CURO P. 1989. **Estructura, tamaño de la población y aspectos bioecológicos del muy-muy *Emerita analoga* (Stimpson 1857) (Crustacea: Anomura) en la playa de Santa Rosa**. 1989, 89 p. Tesis para optar al título de Licenciado en Biología Pesquera. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú. 1989.

DAVENPORT, J.; DAVENPORT J.L. The impact of tourism and personal leisure transport on coastal environments. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. v. 67, p. 280-292, 2006.

DE LA HUZ, R. et al. Biological impacts of oil pollution and cleaning in the intertidal zone of exposed sandy beaches: preliminary study of the "Prestige" oil spill. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 65, n. 1-2, p. 19-29, 2005.

DEFEO, O, et al. 2009. Threats to sandy beach ecosystems: A review. **Estuar. Coast. Shelf Science**. v. 81, p. 1- 12, 2009.

DEFEO, O.; GOMEZ, J.; LERCARI, D. Testing the swash exclusion hypothesis in Sandy beach populations: the mole crab *Emerita brasiliensis* in Uruguay. **Marine Ecology Progress Series**, v. 212, p. 159-170, 2001.

DEFEO, O.; CARDOSO, R. S. Macroecology of population dynamics and life history traits of the mole crab *Emerita brasiliensis* in Atlantic sandy beaches of South America. **Marine Ecology Progress Series**, v. 239, p. 169-179, 2002.

DEFEO, O.; MCLACHLAN, A. Patterns, process and regulatory mechanisms in sandy beach macrofauna: a multi-scale analysis. **Marine Ecology Progress Series** v. 295, p. 1-20, 2005.

DELGADO, E; DEFEO, O. A complex sexual cycle in sandy beaches: the reproductive strategy of *Emerita brasiliensis* (Decapoda: Anomura). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 86, n. 2, p. 361-368, 2006.

DUGAN, J. E.; HUBBARD, D. M. Loss of coastal strand habitat in Southern California: the role of beach grooming. **Estuaries and Coasts**, v. 33, p. 67-77, 2010.

DUGAN, J. E.; HUBBARD, D. M.; LASTRA, M. Burrowing abilities and swash behavior of three crabs, *Emerita analoga Stimpson*, *Blepharipoda occidentalis* Randall, and *Lepidopa californica* Efford (Anomura, Hippoidea), of exposed sandy beaches. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 255, n. 2, p. 229-245, 2000.

DUTRA, et al. Effect of Roundup (glyphosate formulation) in the energy metabolism and reproductive traits of *Hyalella castroi* (Crustacea, Amphipoda, Dogielinotidae). **Ecotoxicology**, v. 20, n. 1, p. 255-263, 2011.

EUTRÓPIO et al. Ecologia populacional de *Emerita brasiliensis* SCHIMITT, 1935 (Crustacea, Hippidae) de um trecho da praia de Itapoã, Vila Velha, Espírito Santo, Brasil. **Nat, On Line**, v. 4, n. 2, p. 67-71, 2006.

FERDIN, M. E. et al. *Emerita analoga* (Stimpson) possible new indicator species for the phycotoxin domoic acid in California coastal waters. **Toxicon**, v. 40, n. 9, p. 1259-1265, 2002.

FUENTES, E. V. et al. **A influência do ambiente no tamanho e biomassa da tatuíra (*Emerita brasiliensis*) na ilha de Santa Catarina, Brasil**. Estudos Ecológicos na Ilha de Santa Catarina. Ecologia de Campo, Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

GERCO, **Lei Federal nº 7.661**, de 16 de maio de 1988.

GESTEIRA, J. L. G.; DAUVIN, J. C. Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 11, p. 1017-1027, 2000.

HALLERMEIER, R. J. Um zoneamento de perfis para praias de areia sazonais do clima de ondas. **Coastal engineering**. v. 4, p. 253-277, 1980.

HILL, R. W. et al. Fisiologia animal. 2ª edição. 920p. 2012

HUBBARD, D.M; DUGAN, J.E. Shorebird use of exposed sandy beach in southern California. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. n. 58S, p.41-54, 2003.

JUNOY, J. et al. A macroinfauna das praias arenosas galegas (NO Espanha) afectadas pelo derrame de petróleo do Prestige. **Boletim da Poluição Marinha**. v. 50, n. 5, p. 526-536, 2005.

KINDERMANN, G.; GORMALLY, M. J. Vehicle damage caused by recreational use of coastal dune systems in a Special Area of Conservation (SAC) on the west coast of Ireland. **Coast Conserv**. v. 14, p. 173–188, 2010.

LECARI, D.; DEFEO, O. Effects of freshwater discharge in sandy beach populations: the mole crab *Emerita brasiliensis* in Uruguay. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.49, p. 457-468, 1999.

LEPEZ, I.; FURET, L.; ARACENA, O. Poblacion de *Emerita analoga* (STIMPSON 1857) en playas Amarilla y Rinconada, Antofagasta: Aspectos abioticos, bioticos y concentración de cobre. **Gayana (Concepc.)** v. 65, p. 55-7, 2001.

LUCREZI, S.; SCHLACHER, T. A.; WALKER S. Monitoring human impacts on sandy shoreecosystems: a test of ghost crabs (*Ocypode* spp.) as biological indicators on an urban beach. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 152, p. 413-424, 2009

MCLACHLAN, A.; BROWN, A. The Ecology of Sandy Shores. 2 ed. **New York: Academic Press**. 2006.

MCLACHLAN, A. et al. Sandy beach conservation and recreation: Guidelines for optimising management strategies for multi-purpose use. **Ocean & Coastal Management**, v. 71, p. 256-268, 2013.

MCLACHLAN, A.; BROWN, A. The Ecology of Sandy Shores. **San Diego, Academic Press**. 2006.

NAKAGAKI, J.M. and M.L. Negreiros-Fransozo. Population biology of *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Decapoda: Penaeidae) from Ubatuba bay, São Paulo, Brazil. **Journal of Shellfish Research** 17:931–935.1998

NORIEGA, R.; SCHLACHER, T. A.; SMEUNINX, B. Reductions in ghost crab populations reflect urbanization of beaches and dunes. **Journal of Coastal Research**, v. 28, p. 123-131, 2012.

OMENA, E.P.; AMARAL, A.C.Z. Sandy Beach Morphodynamic and the Polychaete. Fauna in Southeast Brazil. **Journal of Coastal Research**. v. 35, p. 431-439, 2003.

OSÓRIO C, BAHAMONDE N & LÓPEZ MT. El limache *Emerita analoga* (Stimpson) en Chile. **Boletim do Museu Nacional de Historia Natural**, Chile, 29: 61-116.1967.

PERRY, D. M. Factors influencing aggregation patterns in the sand crab *Emerita analoga* (Crustacea: Hippidae). **Oecologia**, v. 45, n. 3, p. 379-384, 1980.

PÉREZ, D. Mercury levels in mole crabs *Hippa cubensis*, *Emerita brasiliensis*, *E. portoricensis*, and *Lepidopa richmondi* (Crustacea: Decapoda: Hippidae) from a sandy beach at Venezuela. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 63, n. 3, p. 320-326, 1999.

PETRACCO, M.; VELOSO, V.G.; CARDOSO, R. S. Population dynamics and secondary production of *Emerita brasiliensis* (Crustacea: Hippidae) at Prainha Beach, Brazil. **Marine Ecology**, v. 24, n. 3, p. 231-245, 2003.

PENCHASZADEH P. E. Observaciones cuantitativas preliminares en playas arenosas de la costa central del Perú, con especial referência a las poblaciones de muy-muy (*Emerita analoga*) (Crustacea, Anomura, Hippidae). **Instituto de Biología Marinade Mar del Plata, Contribución**, 177: 3-19.1971

PINHEIRO M; BOOS H. **Livro vermelho dos crustáceos do brasil: avaliação**. Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 2016. 466 p. 2014

REYES-MARTÍNEZ, M. J. et al. Response of intertidal sandy-beach macrofauna to human trampling: An urban vs. natural beach system approach. **Marine environmental research**, v. 103, p. 36-45, 2015.

RODIL, I. F.; LASTRA, M. Environmental factors affecting benthic macrofauna along a gradient of intermediate sandy beaches in northern Spain. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 61, n. 1, p. 37-44, 2004.

ROSA, L. C. E SOUSA-SOUTO, L. Interferência antrópica e seus efeitos sobre a densidade de *Bledius* sp. Leach, 1819 (Coleoptera, Staphylinidae) em praias arenosas de Sergipe. In: **Congresso Brasileiro de Oceanografia (CBO' 2010)**, Rio Grande, RS. RESUMOs do IV Congresso Brasileiro de Oceanografia (CBO' 2010). 2010.

SAN VICENTE, C.; SORBE, J. C. Temporal changes in the structure of the suprabenthic community from Hendaya beach (southern Bay of Biscay): A comparison with a northwestern Mediterranean beach community. **Boletín del Instituto Español de Oceanografía**, v. 17, n. 1-2, p. 107-120, 2001.

SASTRE, M. P. Sex-specific growth and survival in the mole crab *Emerita portoricensis* (Schmitt). **Journal of Crustacean Biology**, v. 11, n. 1, p. 103-112, 1991.

SÁNCHEZ, G.; ÁLAMO, V. Algunos aspectos de la biología del muy muy (*Emerita analoga*). **Serie de Informes Especiales N° IM 167. IMARPE**, Callao, Perú: 32 p., 1974.

SCAPINI, F. Keynote papers on sandhoppers orientation and navigation. **Marine and Fresh Water Behaviour and Physiology** 39, 73-85. 2006

SCAPINI, F., BUIATTI, M., DEMATTHAEIS, E., MATTOCCIA, M., Orientation behaviour and heterozygosity of sandhopper populations in relation to stability of beach environments. **Journal of Evolutionary Biology** 8, 43-52.1995

SILVA, P. de S. R.; NEVES, L. P; BEMVENUTI, C. E. Temporal variation of sandy beach macrofauna at two sites with distinct environmental conditions on Cassino Beach, extreme Southern Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**. 2008. v. 4. p.257-270

SCHATZLEIN, F. C.; COSTLOW JR, J. D. Oxygen consumption of the larvae of the decapod crustaceans, *Emerita talpoida* (Say) and *Libinia emarginata* Leach. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 61, n. 3, p. 441-450, 1978.

SCHLACHE, T.A; LUCREZI, S.; ROBINSON, W. Can storms and shore armouring exert additive effects on sandy-beach habitats and biota? **Marine and Freshwater Research**, v. 61, p. 951-962, 2010.

SCHLACHER, T. A.; MORRISON, J. M. Beach disturbance caused by off-road vehicles (ORVs) on sandy shores: relationship with traffic volumes and a new method to quantify impacts using image-based data acquisition and analysis. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 9, p. 1646-1649, 2008.

SCHLACHER, T. A.; THOMPSON, L. Beach recreation impacts benthic invertebrates on ocean exposed sandy shores. **Biological Conservation**, v. 147, p. 123-132, 2012.

SCHLACHER, T. A. et al. Open-coast sandy beaches and coastal dunes. **Coastal conservation**, v. 19, p. 37-92, 2014.

SHORT, A. D.; WRIGHT, L. D. Physical variability of sandy beaches. In: **Sandy beaches as ecosystems**. Springer, Dordrecht, p. 133-144, 1983.

SURESH, K. et al. Fisiologia ambiental do caranguejo mole *Emerita asiatica*, em uma área de descarga de usinas na costa leste da Índia. **Poluição Ambiental**, v. 88, n. 2, p. 133-136, 1995.

SUGUIO, K. **INTRODUÇÃO à sedimentologia**. São Paulo: E. Blücher: Ed. da USP xii. 1973. 317 p.

TALORA, D.C.; MAGRO, T.C.; SCHILLING, A.C. Impacts associated with trampling on tropical sand dune vegetation. **Forest Snow and Landscape Research**, v. 81, p. 151-162, 2007.

TOWNSEND, C.R. et al. **Fundamentos em ecologia**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 576p.

VELOSO, V.G.; CARDOSO, R.S.; FONSECA, D.B. Spatio temporal characterization of intertidal macrofauna at Prainha Beach (Rio de Janeiro State). **Oecologia Brasiliensis**, v. 3, p. 213-225, 1995.

VELOSO, V. G.; SILVA, E. S.; CAETANO, C. H. S.; CARDOSO, R. S. Comparison between the macroinfauna of urbanized and protected beaches in Rio de Janeiro State, Brazil. **Biological Conservation**, v. 27, p. 510-515, 2006.

VELOSO, V. G.; NEVES, G.; DE ALMEIDA CAPPER, L. Sensitivity of a cirrolanid isopod to human pressure. **Ecological Indicators**, v. 11, n. 3, p. 782-788, 2011.

VELOSO, V.G. et al. Responses of talitrid amphipods to a gradient of recreational pressure caused by beach urbanization. **Marine Ecology**, v. 29, n. 1, p. 126-133, 2008.

VELOSO, V.G. et al. *Atlantorchestoidea brasiliensis* (Crustacea: Amphipoda) as an indicator of disturbance caused by urbanization of a beach ecosystem. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 58, n. 1, p. 13-21, 2009.

VIEIRA, J. V. **Efeitos das atividades recreativas sobre a fauna bentônica de ambientes praias**. 2011, 96 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação), Universidade Federal de Paraná, Paraná, 2011.

VIEIRA, J.V. et al. Human impact on the benthic macrofauna of two beach environments with different morphodynamic characteristics in southern Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 60, n. 2, p. 137-150, 2012.

WRIGHT, L. D.; SHORT, A. D. Morphodynamic variability of surf zones and beaches: A synthesis. *Marine Geology*, 56 -118, **Elsevier Science Publishers**, Amsterdam. 1984

Análise da tolerância à salinidade e avaliação do mecanismo MXR como biomarcador de contaminação aquática em *Emerita portoricensis* Schmitt, 1935

Capítulo II

RESUMO

Os ambientes aquáticos são diversos com variações nas composições físico-químicas bem como são influenciados por fatores gerados por perturbações antropogênicas. Os crustáceos possuem adaptações estruturais, comportamentais e fisiológicas que lhes conferem eficiência no controle osmo-iônico e resistência a eventuais tóxicos liberados no meio aquático. O seguinte capítulo tem por objetivo avaliar a capacidade de regulação do teor de hidratação das brânquias e do músculo abdominal de *E. portoricensis* diante de variação de salinidade ao longo de 24h. Também, tem o propósito de identificar o mecanismo de resistência à multixenobióticos (MXR) e comparar a atividade do mecanismo em indivíduos coletados em praias com diferente nível de antropização. Foram coletados indivíduos em B. de Camaratuba, Intermares e Manaíra. Os indivíduos coletados em B. de Camaratuba (praia preservada) foram submetidos às salinidades 20, 30, 40‰ por 3, 6, 12, 24h para análise da capacidade de manutenção do teor de hidratação tecidual. Para tanto, a brânquia e o músculo abdominal foram amostrados e em seguida foi obtido peso úmido. Os tecidos foram secos em estufa por 24h (60°C) para obtenção do peso seco e foi calculada a porcentagem de água. A atividade do mecanismo MXR branquial foi avaliada em indivíduos coletados nas 3 praias através de ensaios de acúmulo de Rodamina-B na presença ou ausência de verapamil (inibidor da proteína P-gp, base molecular do mecanismo). Os dados obtidos foram tratados e submetidos a análises estatísticas. Em relação ao teor de hidratação tecidual, brânquia e músculo perderam água na salinidade mais alta, 40‰, em todos os tempos experimentais ($p < 0,001$ - One Way ANOVA). Quanto ao mecanismo MXR, não houve diferença no acúmulo de rodamina na presença ou ausência de verapamil, o que indica que a proteína P-gp pode ter importância secundária no mecanismo de defesa desses crustáceos. Entretanto, quando foi comparado o acúmulo de rodamina em espécimes das diferentes praias analisadas, foi encontrado um menor acúmulo de rodamina na brânquia de indivíduos coletados na praia de Manaíra ($p < 0,001$ - One Way ANOVA), o que indica uma maior atividade do mecanismo MXR, evidenciando assim uma possível contaminação aquática na região.

Palavras-chave: Tatuís. Rodamina. Verapamil. P-gp. Teor hídrico. Poluição

ABSTRACT

Aquatic environments are diverse with variations in physico-chemical compositions as well as being influenced by factors generated by anthropogenic disturbances. The crustaceans have structural, behavioral and physiological adaptations that give them efficiency in osmotic control and resistance to toxics released in the aquatic environment. The objective of this chapter is to evaluate the ability of *E. portoricencis* to regulate gill and abdominal muscle hydration upon salinity variation over 24 hours. It is also intended to identify the mechanism of resistance to multixenobiotics (MXR) and compare the mechanism activity in individuals collected on beaches with different levels of anthropization. Individuals were collected in B. de Camaratuba, Intermares and Manaíra. The individuals collected at B. de Camaratuba (preserved beach) were submitted to salinities 20, 30, 40 ‰ for 3, 6, 12, 24h, to analyze the capacity of maintenance of the tissue hydration content. For this, the gill and abdominal muscle were sampled, and then wet weight was obtained. The tissues were dried at 60 ° C for 24 h to obtain the dry weight and the percentage of water was calculated. The activity of the gill MXR mechanism was evaluated in individuals collected at the 3 beaches through Rhodamine-B accumulation assays in the presence or absence of verapamil (inhibitor of the P-gp protein, molecular basis of the mechanism). The obtained data were treated and submitted to statistical analysis. Regarding tissue hydration, muscle and gills lost water at higher salinity (40 ‰) in all experimental times ($p < 0,001$ - one-way ANOVA). Regarding the MXR mechanism, there was no difference in the accumulation of rhodamine in the presence or absence of verapamil, which indicates that the P-gp protein may have secondary importance in the defense mechanism of these crustaceans. However, when was compared the accumulation of rhodamine in specimens of the different beaches analyzed, a lower accumulation of rhodamine was found in the gills of individuals collected in the beach of Manaíra ($p < 0.001$ - One Way ANOVA), indicating a greater activity of the mechanism MXR, thus evidencing a possible aquatic contamination in the region.

Key words: Tatuís. Rodamina. Verapami. P-gp. Tissue hydration contet. Pollutio

1. INTRODUÇÃO

1.1 Ambiente marinho

Os organismos aquáticos são desafiados constantemente por oscilações que ocorrem no ambiente que vivem, seja por meio perturbação geradas pela antropização (contaminação aquática por metais, produtos químicos, poluição, etc.), variação na disponibilidade de recursos energéticos, resposta de escape a possíveis predadores e variação nos parâmetros físico-químicos da água (pH, salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido). Tais desafios determinam desde padrões de distribuição e o funcionamento de diversos processos fisiológicos (reprodução, desenvolvimento, osmorregulação, excreção dentre outros), desencadeando respostas comportamentais e/ou modulações de diversos mecanismos a garantir sua sobrevivência. Como um dos parâmetros que mais influencia os processos fisiológicos de invertebrados aquáticos, a salinidade afeta o balanço osmo-iônico induzindo maior gasto de energia para que possa ser reestabelecido o equilíbrio osmótico (FISHER & NEWELL, 1986).

1.2 Brânquias e mecanismos de tolerância a salinidade

Diversos organismos marinhos (crustáceos, moluscos, peixes) possuem brânquias que representam um órgão essencial para manutenção das principais funções fisiológicas garantindo assim a homeostase celular, além de constituir uma barreira seletiva entre o ambiente externo e o meio interno. Dessa forma a brânquia pode ser definida como um órgão multifuncional responsável pelas trocas gasosas, pelo transporte de eletrólitos e regulação osmótica, pela excreção de nitrogênio e regulação do equilíbrio ácido-base (PÉQUEUX, 1995; LUCU & TOWLE, 2003; FREIRE *et al*, 2008A).

A concentração de sais dissolvidos no ambiente aquático é variável resultando em ambientes distintos (água salgada, salobra e doce). Assim, a resposta adaptativa, bem como tolerância fisiológica dos organismos aquáticos, varia conforme o ambiente (WILLMER, 2005; GUTIERRE, 2011). Segundo padrões de regulação do equilíbrio osmo-iônico, os organismos aquáticos são classificados em dois grupos: osmorreguladores e osmoconformadores. Os osmorreguladores mantêm a concentração osmótica de seus fluidos corpóreos diferente da do meio externo, independente das condições externas. Os osmoconformadores apresentam a concentração osmótica de seus fluidos corpóreos

semelhante ao meio externo, e frente a mudanças ambientais, os osmoconformadores variam a concentração do líquido extracelular em função da variação osmótica do ambiente (WILLMER, 2005; EVANS, 2009; GUTIERRE, 2011).

Para osmoconformadores, o processo de regulação de volume celular é de fundamental importância, uma vez que diante de um estresse osmótico a célula retorna ao seu tamanho normal, mantendo suas funções celulares, e auxiliando os animais marinhos a regular o teor de hidratação de seus tecidos. Isso porque quando osmoconformadores são expostos a um meio aquático com concentração osmótica aumentada (alta salinidade) o organismo passa a ter uma hemolinfa mais concentrada devido à perda de água, dessa forma as células murcham. Entretanto, diante de uma redução na concentração osmótica do meio aquático (baixa salinidade) a hemolinfa se torna mais diluída e como consequência a célula incha devido ao aumento do volume de água intracelular e (HOFFMANN & DUNHAN, 1995; STRANGE; WILMER, 2004). Apesar de ser um processo fundamental para osmoconformadores, a regulação de volume celular também tem importância em osmorreguladores, principalmente nas brânquias, que são os órgãos em contato direto com o meio externo e sujeita a variações osmóticas do meio.

No processo de regulação de volume celular, o retorno ao volume anterior ao choque osmótico é promovido pelo transporte de osmólitos inorgânicos (Na^+ , Cl^- , K^+) inicialmente durante a exposição ao estresse ou em estresses de curta duração. Uma vez que o estresse possua longa duração os solutos transportados passam a ser orgânicos (aminoácidos dentre outros) (HOFFMANN & DUNHAN, 1995; HAUSSINGER, 1996; STRANGE, 2004; FOOSTER et al. 2010).

Dois mecanismos são responsáveis por garantir o controle do volume e a concentração osmótica intracelular. O aumento regulatório de volume ou RVI (Regulatory Volume Increase) e a redução regulatória de volume ou RVD (Regulatory Volume Decrease). Após um estresse hiperosmótico a célula precisa aumentar seu volume dessa forma ela realiza RVI, em contrapartida frente à um estresse hiposmótico é ativado mecanismo de RVD. Ambos RVD e RVI auxiliam o processo de regulação de volume celular através do transporte de solutos pela membrana celular (HALLOWS & KNAUF, 1994, LANG et al. 1998; WEHNER et al. 2003).

O ambiente marinho apresenta uma salinidade relativamente estável, sendo assim esses animais dificilmente adotam estratégia de fuga quando expostos a eventuais oscilações do meio. Os organismos marinhos podem manter as concentrações osmóticas dos seus fluidos extracelulares igual ao meio (isosmótico), acima (hiperosmótico) e abaixo (hiposmótico) dessa

forma os invertebrados marinhos frente a variação de salinidade adotam mecanismos a garantir o seu equilíbrio osmótico e melhor performance energético (WILLMER, 2005; EVANS, 2009).

Tanto animais osmoconformadores quanto osmorreguladores respondem diferentemente a condições de salinidades. Quanto à tolerância a amplitude de salinidades os animais podem ser classificados em eurihalinos (suportam ampla variação a condições salinas) e estenoalinos (suportam estreita faixa de condições salinas). Animais osmorreguladores e osmoconformadores podem ser tanto eurihalinos quanto estenoalinos, porém grande parte dos osmoconformadores apresentam uma estreita faixa de plasticidade a variação da salinidade ambiental. (PÉQUEUX, 1995; WILLMER, 2005; EVANS, 2009).

Crustáceos apresentam padrões de regulação osmo-iônica bastante variável (AUGUSTO, 2005; FOSTER et al. 2010). Os crustáceos marinhos em sua maioria são osmorreguladores, no entanto são encontrados osmoconformadores (PÉQUEUX, 1995; FOSTER et al. 2010), Dentro desse grupo as respostas fisiológicas são diversas quando desafiados a aumento de salinidade (PÉQUEUX, 1995; FOSTER ET AL. 2010).

No entanto crustáceos dentre outros organismos desenvolveram mecanismos celulares (regulação isosmótica intracelular) garantindo assim a manutenção do balanço hídrico intracelular permitindo assim a sobrevivência em ambientes com ampla variação da salinidade (PÉQUEUX, 1995). Foi observado por Péqueux, 1995 que em crustáceos como *Maia sp.* e *Cancer paguros* uma limitação a alterações da salinidade no meio, uma vez que a membrana de seus tecidos apresenta uma alta permeabilidade a perda de íons inorgânicos e absorção de água exacerbado leva a morte poucas horas após a exposição.

1.3 Uso de biomarcadores de contaminação aquática.

Após a criação do plástico, avanço da industrialização e aumento da exploração dos recursos naturais de ambientes aquáticos principalmente os que se localizam em regiões costeiras houve um aumento significativo da contaminação desses meios, tornando-se um problema global. Os ecossistemas aquáticos são amplamente impactados de diversas formas, tendo em vista que a bacia de drenagem em sua extensão estende-se do continente até desaguar no mar. Isso torna susceptível a contaminação por efluentes oriundos de atividades industriais, domésticos e agrícolas. Os compostos causadores da contaminação dos corpos aquáticos podem ser desde poluentes orgânicos, pesticidas, PCBs hidrocarbonetos e inorgânicos como metais (cobre, cádmio, zinco, chumbo). A toxicidade desses compostos aos organismos é

bastante variável e alguns são extremamente tóxicos para biota aquática, representando uma potencial ameaça à biodiversidade existente nesses ambientes (WALKER et al. 2012; AMIARD-TRIQUET & AMIARD 2013).

Muito tem sido a utilização de biomarcadores na avaliação do status de preservação dos ambientes naturais seja ele aquático ou terrestre. Os organismos aquáticos possuem sensibilidade fina do meio em que vivem e o uso de biomarcadores permitem avaliar os níveis de impacto no ambiente e consequentemente compreender alterações no comportamento e fisiologia das espécies e populações residentes (WALKER et al. 2012; AMIARD-TRIQUET & AMIARD 2013).

Biomarcadores são alterações bioquímicas, moleculares, celulares, ou fisiológicas que podem ser utilizados como parâmetro de avaliação amostrado de tecidos ou fluidos corpóreos de um organismo, caracterizando impactos, efeitos sobre os organismos e diagnóstico de contaminação do ambiente aquático (WALKER et al. 2012). Os biomarcadores atualmente consolidados na análise são diversos permitindo estimar desde a expressão de proteínas de defesa e desintoxicação celular, avaliar padrões de atividade de enzimas biotransformantes, proteínas que são sintetizadas em eventos de estresse, peroxidação lipídica, danos ao DNA (deleções, mutações e outros), comprometimento de função e composição celular, e resposta imune dentre outros (AMIARD-TRIQUET & AMIARD 2013).

O uso de biomarcadores para avaliação dos ambientes aquáticos tem sido amplamente estudado em organismos diversos desde dulcícolas (LAFONTAINE et al. 2000; FLAMMARION et al. 2002; TORRE ET AL, 2005; HALLARE et al. 2005; RUAS et al. 2008; QUESADA-GARCIA et al. 2013), estuarinos (FORGET et al. 2003; STENTIFORD 2003; NIGRO et al. 2006; ZANETTE et al. 2006; DOMINGOS et al. 2007; FONSECA et al. 2011) e marinhos (FERREIRA et al. 2012; HE et al. 2012; BEN-KHEDHER et al. 2013; COTOU et al. 2013; CHANDURVELAN et al. 2015).

Entretanto, a avaliação das praias arenosas utilizando biomarcadores é pouco estudada. Alguns trabalhos avaliaram o potencial de populações residentes na meiofauna levando a utilização da orientação solar como biomarcador comportamental de anfípoda *Talitrus saltator* quando expostos a metais pesados. Existem alguns trabalhos que avaliaram o potencial de populações da meiofauna em serem utilizados em estudos dessa natureza (UNGHERESE & UGOLINI, 2009).

O biomonitoramento da contaminação aquática tem sido realizado com diferentes espécies sentinelas. Um organismo sentinela ideal é aquele que acumula poluentes em seus tecidos sem um efeito adverso significativo, é abundante, fácil de coletar e identificar e grande o suficiente para fornecer material para as análises (BEEBY, 2001). Moluscos bivalves são organismos que se enquadram bem nesses requisitos e têm sido amplamente utilizados no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos também por serem cosmopolitas, sésseis, filtradores e algumas espécies apresentarem certa eurialinidade (RAINBOW 1995; (LAFONTAINE et al. 2000; RAINBOW et al. 2000; NASCI et al. 2002; RÓMEO et al. 2003; RICHMAN et al, 2011; MARIGÓMEZ et al., 2013). Entretanto sua utilização em praias arenosas é pouco eficiente devido à falta de um substrato duro para a fixação de mexilhões. Assim, uma abordagem diferente é necessária para estudar os efeitos da contaminação aquática em praias arenosas.

Os crustáceos do gênero *Emerita* (Anomura, Hippidae), conhecidos no Brasil como “tatuís” ou “tatuíras”, são constituintes da infauna de praias arenosas e atendem os requisitos de serem filtradores, abundantes e de fácil captura, constituindo assim um bom modelo para estudos de biomonitoramento ambiental. Os emeritas têm sido descritos como bons bioindicadores para poluentes pois sua distribuição e estrutura populacional são sensíveis às atividades humanas (LERCARI & DEFEO, 1999; VELOZO et al, 2006; SAUCO et al, 2010) e alguns estudos demonstram o potencial de acúmulo de poluentes em seus tecidos (PEREZ 1999).

1.4 Mecanismo MXR.

Diversos animais aquáticos dos mais diferentes filos expressam o fenótipo de resistência multixenobióticos-MXR (BARD, 2000; ŽAJA et al. 2006; ZHOU et al. 2009). O MXR possui base molecular semelhante ao MDR (“Multidrug resistance”) presente em bactérias e células tumorais, sua expressão resulta na atividade de uma proteína (glicoproteína P ou P-gp) que está localizada na membrana celular e é ativada pela presença de ATP. Dessa forma havendo eventos de contaminação a P-gp irá ligar-se aos substratos promovendo seu efluxo evitando assim o acúmulo dentro da célula conferindo resistência a eles (KURELEC, 1995; MINIER et al. 1999).

Muitos estudos *in vivo* e *in vitro* tem avaliado a resposta do mecanismo MXR em animais e que diversos componentes tóxicos resultam em sua indução (KURELEC, 1995; MINIER & MOORE, 1996; EUFEMIA & EPEL, 2000; ACHARD et al. 2004; IVANINA &

SOKOLOVA, 2008). Uma vez que sua indução e inespecificidade do mecanismo pode ser aferida na presença de contaminantes, a expressão do fenótipo MXR representa potencial biomarcador generalista de contaminação aquática (SMITAL & KURELEC, 1998; MINIER et al. 1999; KURELEC et al. 2000; BARD 2000). O mecanismo MXR tem sido utilizado com eficiência em estudos utilizando invertebrados aquáticos como modelo experimental, a fim de avaliar e monitorar a saúde de ecossistemas aquáticos (KURELEC et al. 1996; RINGWOOD et al. 1999; MINIER et al. 2006; PAIN & PARANT, 2007; YAWETZ et al. 2010).

2. Objetivo Geral

Avaliar a tolerância a salinidade e analisar a atividade do mecanismo MXR nas brânquias de *Emerita portoricensis* em praias da Paraíba.

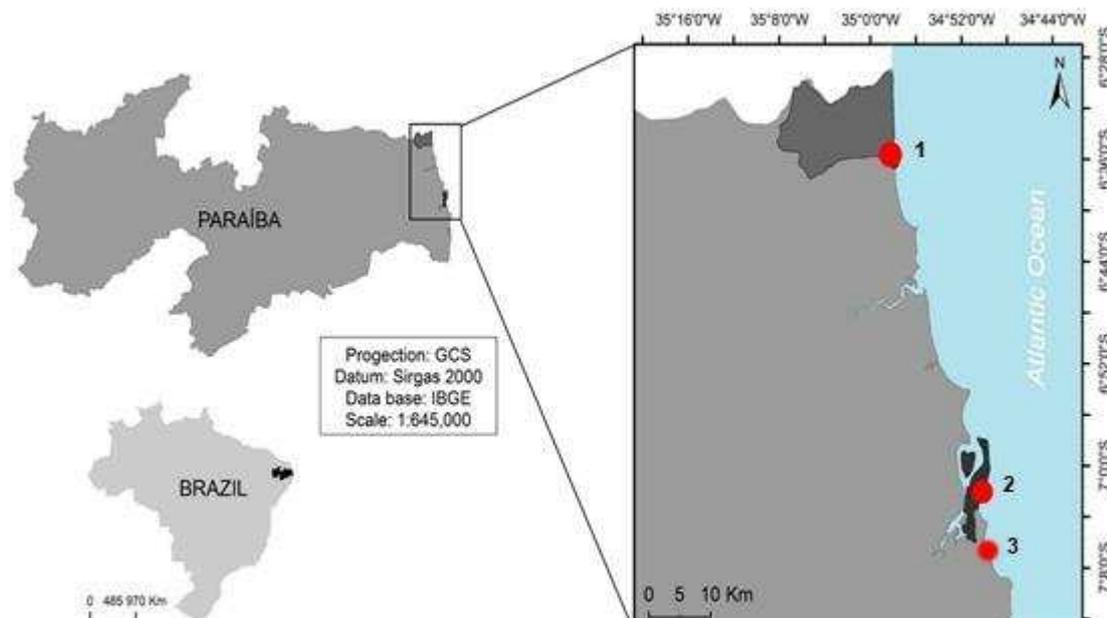
2.1 Objetivos específicos

- Analisar o teor de hidratação do tecido branquial e muscular de *E. portoricensis* coletados na praia de Barra de Camaratuba durante exposição às salinidades 20‰, 30‰, 40‰ por 24h.
- Detectar a atividade do mecanismo MXR nas brânquias de *E. portoricensis*, coletados em praias com diferentes níveis de interferência antrópica, usando o ensaio de acúmulo de rodamina.
- Relacionar a atividade do mecanismo MXR com o grau de impacto da praia.

3 Materiais e métodos

3.1 Área de estudo

Fig.1. Mapa dos pontos de coleta. 1- Praia de Barra de Camaratuba- Mataraca, 2-Praia de Intermares- Cabedelo, 3- Praia de Manaíra- João Pessoa, Paraíba.



As coletas foram realizadas entre agosto/2017 a julho/2018 nas praias de Barra de Camaratuba, Intermares e Manaíra. Para análise da tolerância a salinidade foram coletados indivíduos apenas da praia de Barra de Camaratuba (praia de menor impacto antrópico) considerando que nela se encontram os indivíduos de melhor *fitness* fisiológico.

A praia de Barra de Camaratuba (6° 34' 57.90" S, 34° 57' 59.80" O), situada no município de Mataraca, ao norte da Paraíba possui cerca de 20km de extensão, é ocupada por pescadores locais e possui poucos empreendimentos imobiliários na região. A praia de Intermares (7° 02' 48.38" S, 34° 50' 27.62" O), situada no município de Cabedelo – PB, possui 33 km de extensão e é caracterizada por ser uma praia muito frequentada por adeptos do surf, kitsurf e banhistas com maior fluxo de pessoas durante período de férias (dezembro, janeiro, junho e julho).

A praia de Manaíra possui extensão de 10 km (7°06' 31.4"S, 34°49' 29.3"O), localizada área urbana da capital João Pessoa possui sistema de drenagem pluvial desaguando em sua extensão com eventos de contaminação aquática diagnosticada (SUDEMA) e definidas como impróprias para o banho, possui sua fisionomia vegetal alterada, alto fluxo de pessoas e delimitada construções em todo seu perímetro, com alto impacto antrópico, Paraíba, Brasil.

3.2 *Fatores abióticos*

Os fatores abióticos mensurados foram temperatura e salinidade. A temperatura foi aferida 5 vezes durante a coleta dos espécimes com o auxílio de um termômetro espeto Matsuri (Δv - 50 a +300) e foi feita uma média para cada mês.

Para salinidade foram feitas 5 amostras da água do local e com o auxílio de um refratômetro portátil de alta resolução – RTS-101 ATC foi obtido o valor a partir de amostras de água. Os valores obtidos de temperatura e salinidade estão descritos no quadro

-de Mataraca - PB (agosto/2017-janeiro/2018)

<i>Dados abióticos</i>		
Barra de Camaratuba		
Mês	Temperatura °C	Salinidade (‰)
Agosto	27,8	37
Setembro	27,7	35
Outubro	29	38
Novembro	27.8	37
Dezembro	26.9	36
Janeiro	27.6	36
Média ± erro	27.8 ± 0.27	36.5 ± 0.42

3.3 Coleta de indivíduos e manutenção dos animais

Os animais foram coletados no período entre agosto e janeiro de 2017/2018. As amostras foram realizadas na região entremarés, numa distância aproximadamente 4 metros da linha de arrebentação, ao longo de toda a praia. Dois pesquisadores coletaram manualmente com o auxílio de uma pá de jardinagem e peneira com malha (0,2 mm) para retenção de indivíduos de *E. portoricensis* e por seguinte foi feita uma triagem *in situ* a selecionar indivíduos fêmeas adultos em período de entre mudas não ovíferas. Posteriormente os indivíduos coletados foram condicionados em caixas plásticas com areia e água do local de coleta, e transportados para ao laboratório

No laboratório os indivíduos foram mantidos em um aquário estoque com salinidade controlada (com água do ambiente onde foram coletados), temperatura ambiente de ~24° C e aeração constante, por um período de aclimação de três dias. Os animais foram alimentados a cada 48 horas com ração de peixe.

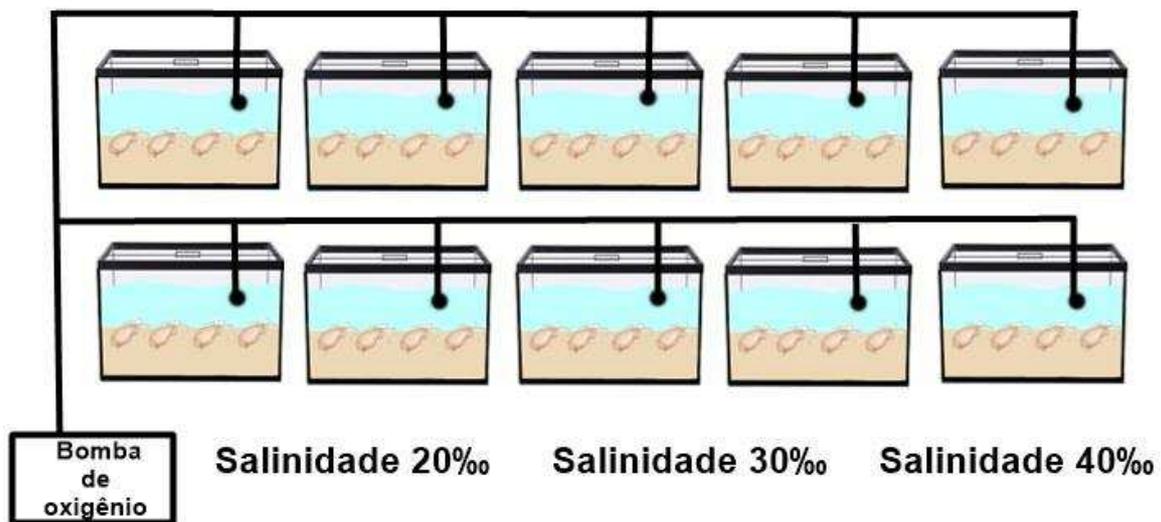
3.4 Experimento de tolerância a salinidade.

Para análise do teor de hidratação tecidual da brânquia e músculo foram utilizados espécimes coletados na praia de Barra de Camaratuba. Os mesmos foram previamente aclimatados foram submetidos à ensaios *in vivo* nas seguintes condições de salinidades (20, 30 e 40‰) por 24h. Para cada salinidade testada 10 aquários foram montados cada um com 1

litro de água formulada com salinidade desejada (20‰ – 20g de NaCl Ocean tech + 1L de água destilada; 30‰ – 30g de NaCl Ocean tech + 1L de água destilada; 40

‰ – 40g de NaCl Ocean tech + 1L de água destilada). Cada aquário recebeu 200g de areia/substrato do local onde foi feita coleta dos indivíduos (o substrato foi tratado previamente secado em estufa a 60 °C por 24h e reutilizado nos ensaios posteriores). Foram escolhidos aleatoriamente 40 exemplares *E. portoricensis* e adicionado 4 em cada aquário (replicado para cada salinidade) (Fig.2).

Figura 2- Esquema do ensaio *in vivo* de tolerância a salinidade. Autor: Otoniel Lima



O experimento teve duração de 24 horas. As amostragens foram realizadas nos tempos 3h, 6h, 12h e 24h, onde 1 animal era retirado do aquário no respectivo tempo experimental. Os animais foram anestesiados com gelo e eutanasiados utilizando-se por meio de material adequado (tesoura cirúrgica e pinça).

3.5 Teor de hidratação tecidual

Para mensuração do teor de hidratação tecidual foram colhidas amostras da brânquia e músculo e colocados em eppendorf previamente etiquetados e pesados. Cada eppendorf contendo o tecido foi pesado em balança analítica de precisão (SHIMADZU AUY 220) assim foi obtido o peso úmido (PU) em seguida foram levados a estufa (NOVA – NI 1524) a 60°C para secagem durante 24horas. Após o período de secagem os tecidos são novamente pesados para obtenção do peso seco (PS). O teor de hidratação tecidual foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

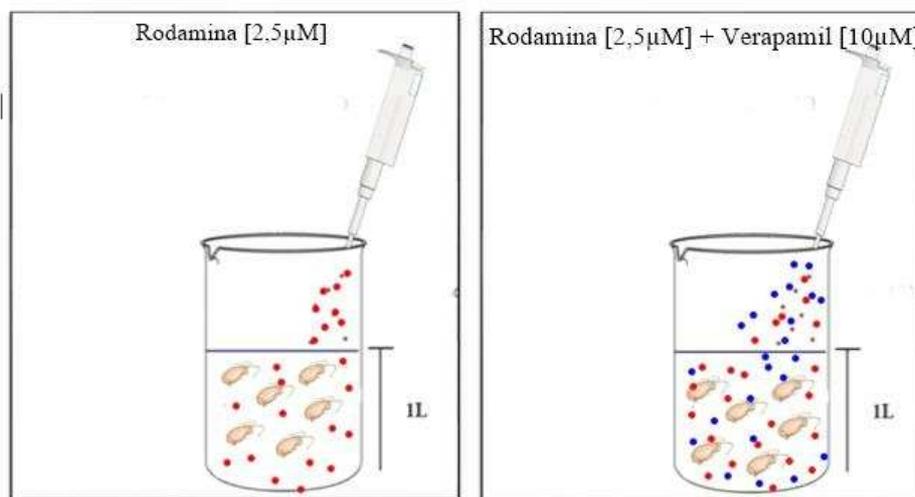
$$Th(\%) = \frac{(PU - PS)}{PU} \times 100$$

3.6 Atividade MXR através do ensaio de acúmulo de rodamina

Para análise da atividade MXR, os animais foram coletados em 3 praias da paraíba com diferentes níveis de impacto antrópico e foram submetidos à ensaios de acúmulo de rodamina, com a finalidade de analisar a atividade do mecanismo MXR branquial. Os ensaios de acúmulo de rodamina foram realizados utilizando dois aquários. Os animais foram expostos por 2 horas à água do mar reconstituída (salinidade 30‰) acrescida de rodamina B (substrato da P-gp, 2,5µM) na ausência e presença de verapamil (inibidor da P-gp, 10µM).

Após a exposição os animais foram eutanasiados e o tecido branquial foi amostrado, pesado, homogeneizado em 500µl de água destilada e centrifugado (25°C, 3000g, 7 minutos). O sobrenadante foi pipetado em triplicata numa placa de 96 poços (modelo: Standard Opaque Black) e a fluorescência do sobrenadante lida em um SpectraMax MiniMax 300 Molecular Devices (544nm excitação, 590nm emissão). A fluorescência medida é expressa em unidades de fluorescência x 10³ por miligramas de tecido (U.F./mg tecido).

Figura 3 - Esquema do ensaio *in vivo* de acúmulo de Rodamina. Autor: Otoniel Lima



3.7 Análises estatísticas

Os dados obtidos nos experimentos foram testados a normalidade e homocedasticidade e apresentados como média ± erro padrão da média. Em seguida foram

tratados e submetidos aos respectivos testes estatísticos. Foram feitas análises de variância (ANOVA) de uma via para avaliar o efeito da salinidade experimental sobre o teor de hidratação tecidual em cada tempo experimental analisado. Testes *t* foram utilizados para analisar o acúmulo de rodamina na presença ou ausência de verapamil. A diferença na atividade do mecanismo de MXR nas praias analisadas foi identificada através de ANOVA de uma via.

4. Resultados e discussão

4.1 Teor de hidratação Tecidual

Os espécimes submetidos às condições experimentais não apresentaram mortalidade nem muda ao longo do experimento (24 horas), porém através de observação durante o período experimental notou-se que houve uma maior exposição das antenas nos ensaios onde a salinidade eram 20‰ e 40‰ em comparativo com a salinidade 30‰.

É descrito que as antenas em crustáceos têm importante funções sensoriais permitindo perceber estímulos presentes no meio. Os tatuís e outros decápodes utilizam estruturas corpóreas associados a mecanismos sensoriais (quimiorrecepção e mecanorecepção) para localizar e reter partículas de alimento, presença de predadores dentre outros (ACHE, 1982; RUPPERT & BARNES, 1996).

O comportamento de expor as antenas além de auxiliar a captação do alimento retendo-os está relacionado no auxílio na detecção da salinidade do ambiente. Nos maxilípedes dentre outras estruturas bucais como dáctilos dos pereópodos, existem quimiorreceptores que percebem a variação da salinidade e o contato das antenas com essas estruturas melhor acuidade sensorial do parâmetro no meio (ANGER, 2001).

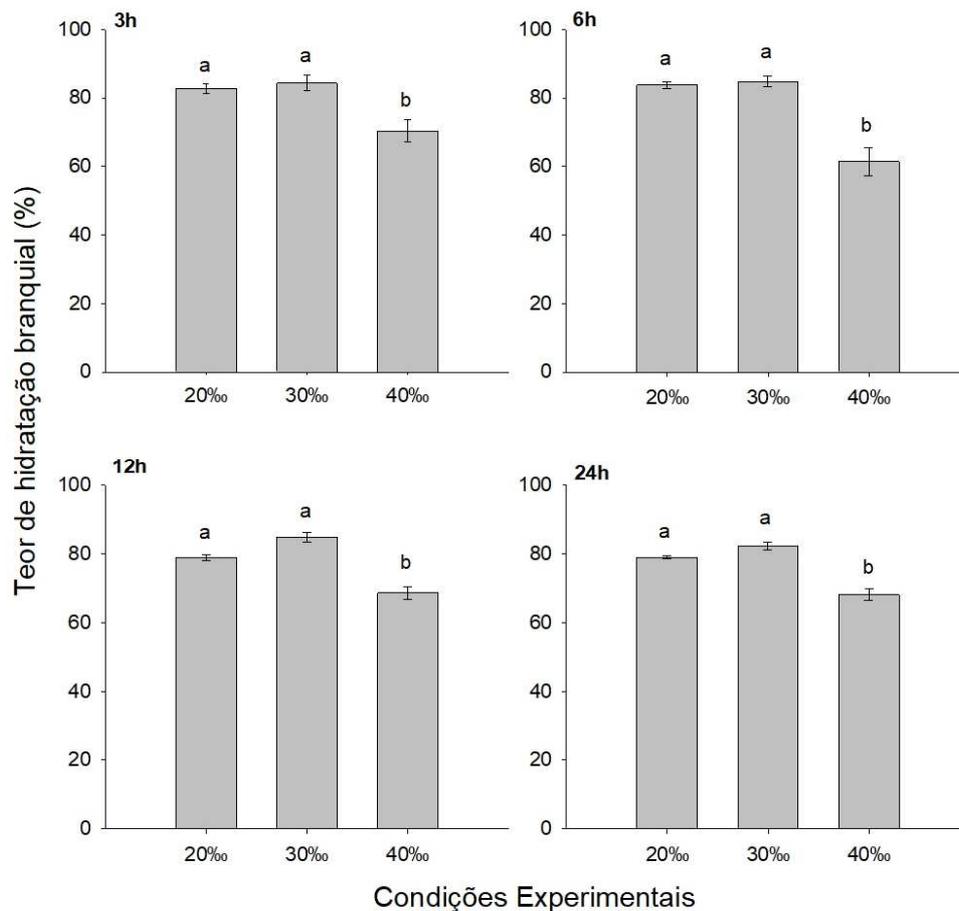
Comportamentos como natação, locomoção se mantiveram estáveis, todos mantiveram-se enterrados com exposição apenas da região anterior do rosto para fora do substrato em todos tratamentos. É descrito que a tolerância à salinidade dos organismos é resultante da combinação de fatores comportamentais (locomoção, padrão de exposição das brânquias) associados a mecanismos fisiológicos como: regulação iônica, metabolismo de aminoácidos, atividade NKA (PÉQUEUX, 1995, URBINA & GLOVER, 2015) e níveis moleculares, isoformas, regulação, transcrição e colocação de NKA (MCNAMARA & FARIA, 2012, URBINAE et al. 2013)

Após a exposição dos animais a diferentes salinidades no tempo de 3h as brânquias mantiveram sua hidratação semelhantes nas salinidades 20‰ ($82,2 \pm 1,3\%$) e 30‰ ($84,2 \pm 2,2\%$) e os indivíduos que foram submetidas a salinidade 40‰ apresentaram conteúdo hídrico reduzido ($70,3 \pm 3,3\%$). Após 6 horas de exposição as brânquias nas condições de salinidade 20‰ e 30‰ mantiveram o teor de água no tecido ($83,7 \pm 1,0\%$; $84,7 \pm 1,5\%$;) e as expostas a condição de salinidade 40‰ perderam água ($61,3 \pm 4,0\%$). (Fig. 4).

Ao longo do tempo experimental no tempo de 12 horas os indivíduos submetidos salinidade 20‰ e 30‰ apresentaram hidratação das brânquias semelhante aos que foram encontrados nos tempos anteriores 3 e 6 horas ($78,9 \pm 0,8$; $84,7 \pm 1,3\%$). Os que foram submetidos a salinidade 40‰ mostraram-se com brânquias mais hidratadas quando comparadas com a mesma condição 40‰ no tempo anterior ($68,5 \pm 1,7\%$). Mas ainda assim, a hidratação estava reduzida, se comparada à salinidade controle (30‰) e à salinidade hiposmótica. Concluído o tempo de 24 horas, as brânquias do indivíduos ainda tinham seu teor de água reduzido na salinidade mais alta e apresentaram os seguintes valores para teor de hidratação de suas brânquias nas condições 20‰ - $78,9 \pm 0,52\%$; 30‰ - $84,7 \pm 1,3\%$; 40‰ - $68,0 \pm 1,6\%$. (Fig. 4).

O estudo demonstrou nas condições onde a salinidade era de 20‰ e 30‰ os animais possuíam brânquias mais hidratadas e eram capazes de manter a hidratação do tecido durante as 24horas. Os indivíduos expostos a condição experimental contendo salinidade 40‰ demonstraram de perda de água no tecido, caracterizando desidratação em todos os tempos avaliados, porém nos dois últimos tempos (12 e 24 horas) foi observado um ligeiro reestabelecimento do teor de hidratação tecidual nas brânquias, mas ainda sim manteve o teor de água no tecido abaixo dos que foram testados as condições onde a salinidade foi inferior.

Figura. 4 - Teor de hidratação tecidual das brânquias dos indivíduos expostos à salinidades 20‰, 30‰ e 40‰ nos tempos experimentais 3, 6, 12, 24 horas. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as salinidades em cada tempo experimental ($p < 0,005$ - ANOVA)

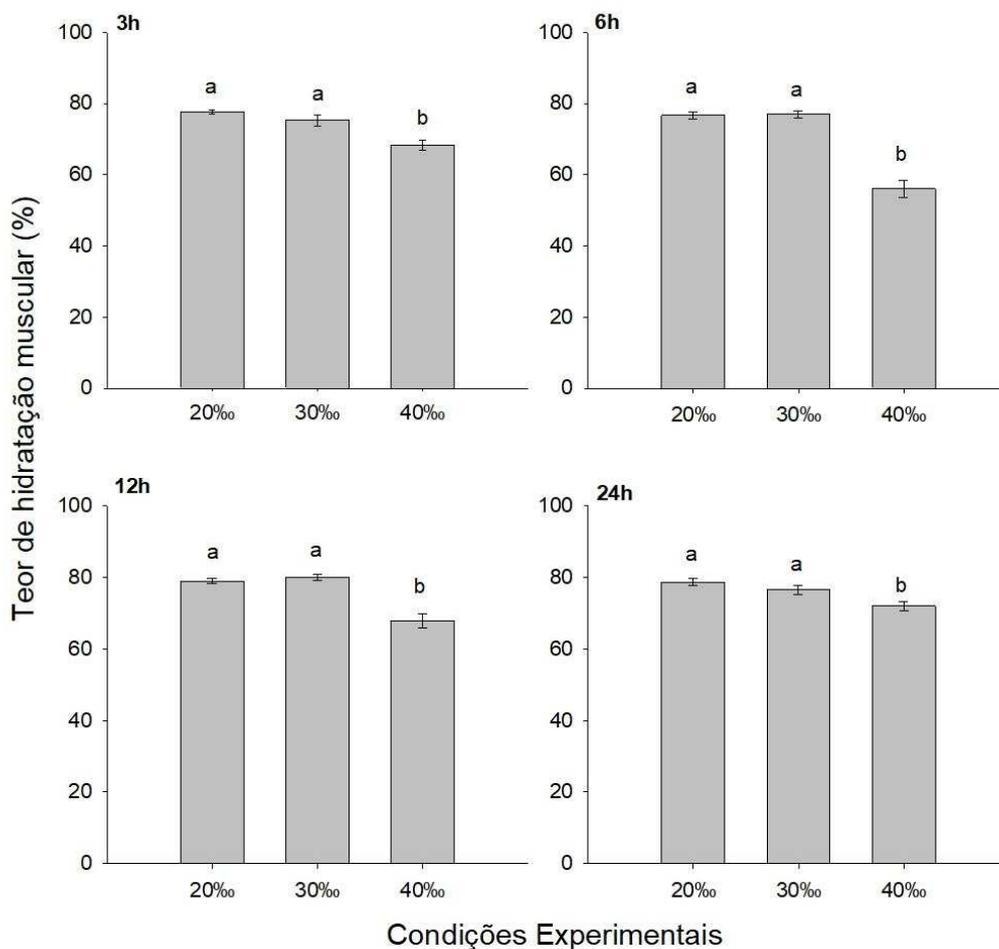


O tecido muscular abdominal seguiu a mesma tendência que o tecido branquial. Indivíduos submetidos à maior salinidade apresentaram menor teor de hidratação muscular. O teor de hidratação encontrado no músculo dos indivíduos expostos por 3 horas foram: 20‰ – $77,6 \pm 0,6\%$; 30‰ – $75,3 \pm 1,5\%$; 40‰ – $68,2 \pm 1,2\%$), demonstrando assim diminuição na hidratação na salinidade mais alta.

. Após 6 horas de exposição, na salinidade 20‰ o músculo manteve o teor de água ($76,6 \pm 0,9\%$), assim como na salinidade 30‰ ($76,9 \pm 1,9\%$). Nesse tempo experimental os animais expostos à salinidade 40‰ apresentaram a maior perda de água tecidual, sendo que o músculo manteve apenas $55,98 \pm 2,3\%$ de conteúdo de água. Em 12 horas o músculo em todas condições testadas ganhou água quando comparado ao tempo experimental anterior (20‰ - $79,6 \pm 0,6\%$; 30‰ - $80,07 \pm 0,83\%$; 40‰ – $67,9 \pm 2,0\%$, ANOVA, $P < 0,005$). O músculo dos indivíduos expostos a condição 40‰ obtiveram maior ganho água tecidual em comparativo com 20‰ e 30‰.

Após exposição dos animais por 24 horas, nas salinidades 20‰ e 30‰ houve manutenção dos níveis de hidratação tecidual (20‰ $-78,6 \pm 0,9\%$; 30‰ $-76,5 \pm 0,83\%$), porém os indivíduos à salinidade 40‰ apresentaram menor nível de hidratação (40‰ $-72,5 \pm 1,2 \%$). (Fig. 5).

Figura 5 - Teor de hidratação tecidual do músculo expostos a condições com salinidade (20‰, 30‰ e 40‰) nos tempos experimentais (3, 6, 12, 24 horas). Letras diferentes indicam diferença estatística entre as salinidades em cada tempo experimental ($p < 0,005$ - ANOVA)



Os tecidos branquial (externo) e muscular (interno) de *E. portoricensis* responderam de maneira semelhante à variação de salinidade do meio externo. A salinidade do meio impõe ao tecido branquial um maior desafio para a regulação do teor hídrico celular uma vez que esse tecido está em contato direto com a salinidade da água. Em contrapartida o tecido muscular é um tecido internalizado sem contato direto com o meio externo e submetido a choques osmóticos apenas se houver alteração na concentração osmótica da hemolinfa. O fato

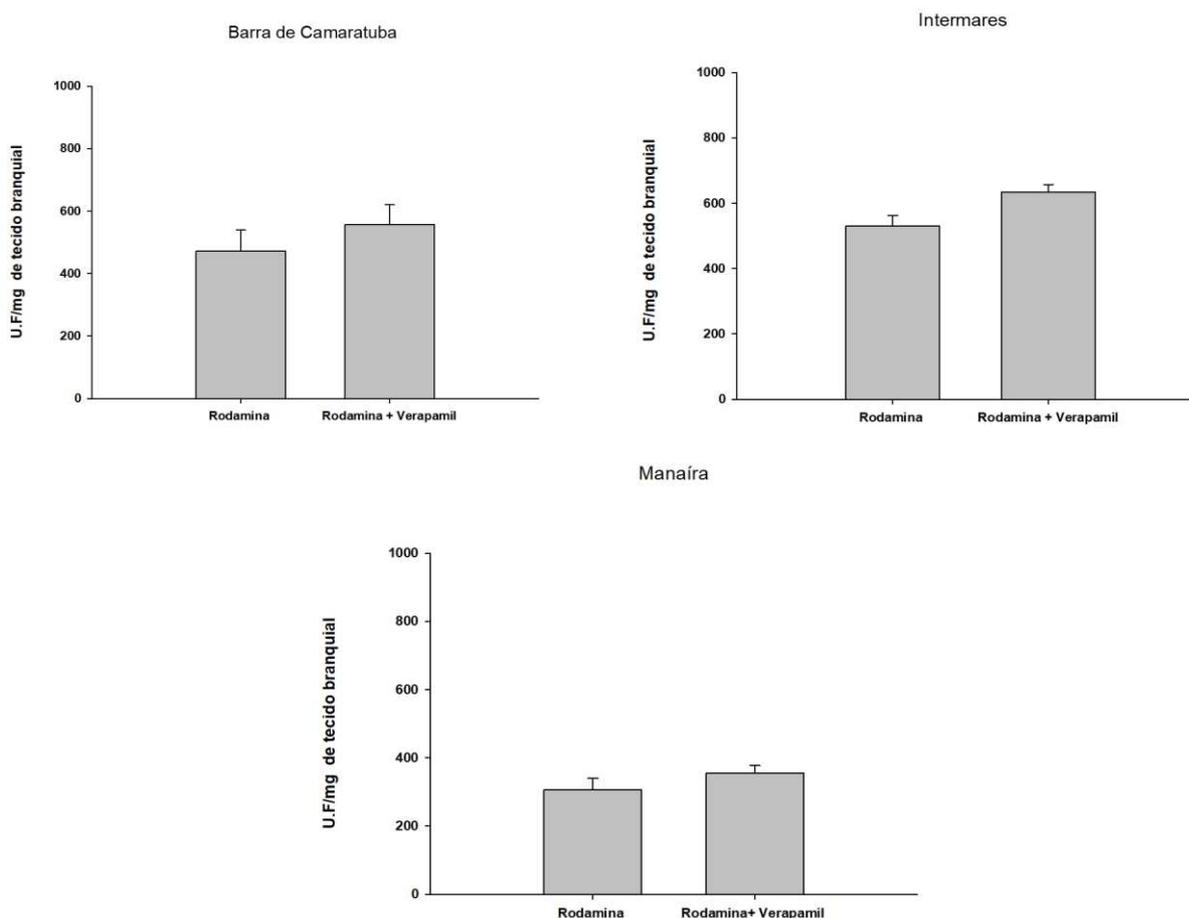
do músculo (tecido interno) perder água na salinidade 40‰ indica que o animal não foi capaz de manter a concentração osmótica de seus fluidos corpóreos diante de uma condição hiperosmótica e suas células musculares foram desafiadas, sem, no entanto, conseguir manter seu teor de hidratação tecidual. Na salinidade reduzida (20‰), o músculo conseguiu manter seu teor de hidratação. Esse resultado indica 2 cenários: 1) os animais osmorregularam e foram capazes de manter a concentração dos seus fluidos corpóreos, mesmo em salinidade reduzida, e assim o músculo não foi desafiado, ou 2) os animais não conseguiram manter a concentração dos seus fluidos corpóreos, apresentando um padrão osmoconformador, porém suas células musculares, apesar de desafiadas, conseguiram regular volume celular e isso refletiu na manutenção da hidratação tecidual. Futuras pesquisas com ênfase nos fluidos corpóreos podem determinar os padrões de regulação osmótica e iônica dessa espécie diante de variação de salinidade.

Segundo Freire *et al.* (2008b) e Foster *et al.* (2010) a capacidade de regular o teor de hidratação tecidual de seus tecidos internos confere eurialidade a muitos crustáceos. Foster *et al.* (2010) observou que o músculo do camarão marinho/estuarino osmorregulador (*Palaemon pandaliformis*) manteve o teor de hidratação quando submetidos ao choque hiposmótico (2‰) porém submetidos a condição hiperosmótica (35‰) perdeu água após exposição de 6 horas, corroborando assim com os nossos resultados. Por outro lado, nesse mesmo estudo (Foster *et al.*, 2010) foi observado que o caranguejo marinho osmoconformador *Hepatus pudibundus* manteve o teor de água muscular ao longo de 16 horas nas salinidades de 25‰ e 33‰. No presente estudo, o tecido muscular ao longo do experimento demonstrou menor teor de água tecidual em salinidade 40‰, os indivíduos submetidos à mesma condição salina por 24 horas mostraram uma ligeira recuperação de hidratação, mas ainda assim não conseguiram regular o teor de água em seus tecidos mostrando-se diferente do ensaio controle (30‰). Embora não seja possível afirmar se o animal osmorregulou ou osmoconformou em salinidade 40‰, nossos resultados permitem afirmar que *E. portoricensis* não conseguem regular a água tecidual de tecidos externos e internos em salinidade aumentada.

4.2 Mecanismo MXR

Quando os animais foram submetidos ao ensaio de acúmulo de rodamina na presença e ausência de verapamil (inibidor da P-gp), não houve diferença na intensidade de fluorescência (que indica o acúmulo de rodamina) entre os tratamentos (Barra de Camaratuba - Rodamina: $470,87 \pm 69,63$; Rodamina + Verapamil: $556,36 \pm 63,94$ ($P > 0,005$, teste $t = 0,257$, $n = 41$); Intermares - Rodamina: $530,97 \pm 31,48$; Rodamina + Verapamil: $634,67 \pm 342,3694$; ($P > 0,005$, teste $t = 0,024$, $n = 40$); Manaíra - Rodamina: $306,76 \pm 33,01$; Rodamina + Verapamil: $355,41 \pm 22,01$ 94 ($P > 0,005$, teste $t = 0,220$, $n = 42$) mU. F/mg tecido) (Fig.6).

Figura 6 - Fluorescência média em brânquia de *Emerita portoricensis* após 2 horas de exposição ao tratamento rodamina/ rodamina+ verapamil em espécimes das praias de Barra de Camaratuba ($n = 41$), Intermares ($n = 40$) e Manaíra ($n = 42$), Paraíba. Os testes t revelaram não existir diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$).



Considerado um inibidor da P-gp, a principal base molecular do mecanismo MXR, o verapamil é muito utilizado em ensaios com brânquias de invertebrados aquáticos mostrando

eficácia na inibição do mecanismo principalmente em moluscos (*Mytilus californianus* e *Crassostrea rizophorae*) (DAVID et al., 2018; LUCKENBACH & EPEL, 2005).

Amado (2010) demonstrou a eficiência na utilização do verapamil na inibição da proteína P-gp evidenciando o mecanismo MXR em brânquias *Hepatus pudibundus* e *Callinectes ornatus*. Porém nossos resultados relatam baixo potencial inibitório do verapamil em brânquias de *E. portoricensis* assim como encontrado por Zaja et al. (2007), Zaja et al. (2008) em linhagens de hepatoma de peixes, levando a CONCLUSÃO de que existe variação na sensibilidade ao verapamil entre grupos e tecidos animais (moluscos, peixes, mamíferos dentre outros).

Toomey e Epel (1993) demonstraram diferença na atividade de proteínas semelhantes a P-gp entre do verme marinho (*Urechis campo*) onde o acúmulo de rodamina era diretamente influenciado pela presença de verapamil, ao contrário da espécie de ouriço do mar (*Lytechinus anamesus*) que não apresentou variação no efluxo de rodamina na presença de verapamil.

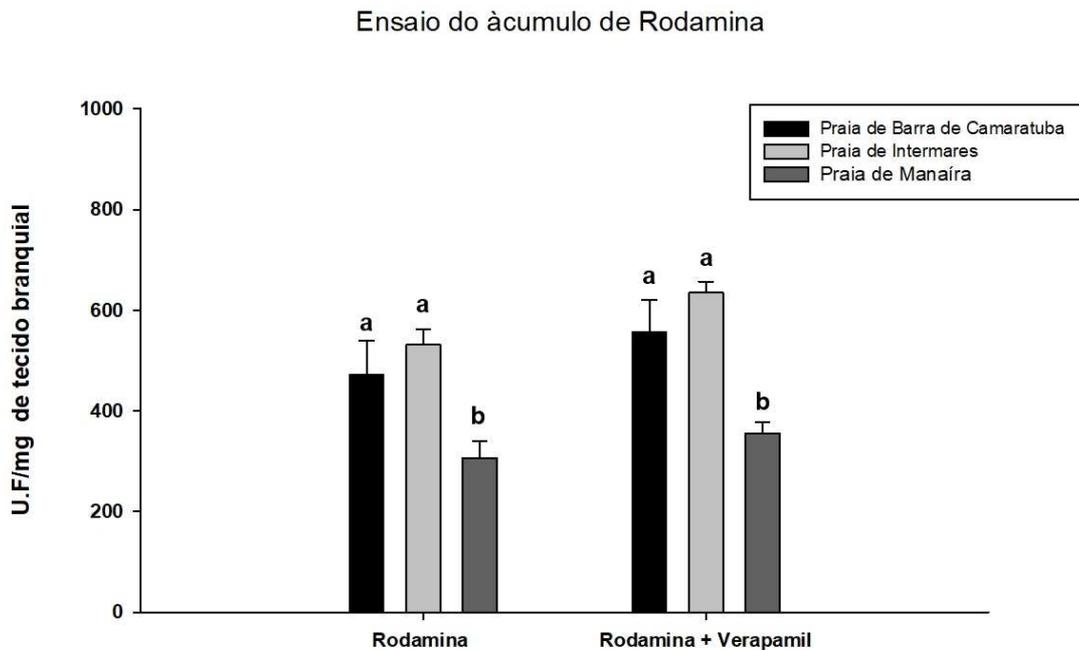
Estudos (BOŠNJAK, et al. 2012; DELLA et al. 2009) ainda evidenciam a existência de outras bases moleculares para o mecanismo, como por exemplo proteínas da família ABCC/ MRP. O fato do verapamil não ter sido eficiente na inativação do mecanismo MXR pode-se estar relacionado com o constituinte celular das brânquias dos *E. portoriscensis*. Muito difundido em estudos de fisiologia de mamíferos o MK571 representa outro inibidor de proteínas transportadores MRP que atuam sobre o efluxo de fármacos e xenobióticos intracelular.

Lopes (2018) (comunicação pessoal, resultados dissertação de mestrado ainda não publicados) observou que em espécies de artrópodes da Ordem Collembola (*Cyphoderos agnotus*, *Cyphoderos innominatus*, *Trogolaphysa goiana*) uma maior sensibilidade ao MK571 quando comparado ao verapamil no intestino desses animais. Bielen et al 2014 demonstrou que o padrão de atividade das proteínas responsáveis pelo mecanismo MXR em tecidos (brânquias, hepatopancreas e músculo) do crustáceo (*P. leniusculus*) possui maior sensibilidade ao inibidor MK571 do que ao Verapamil após expostos ao MK571 demonstrando variação de acúmulo de Rodamina. A espécie *E. Portoriscensis* pode apresentar maior expressão nos genes para proteínas ABCC/ MRP ou invés de ABCB/P-gp e esse pode ser sua base molecular de resistência a xenobióticos, futuras pesquisas com enfoque em MRP pode responder essa dúvida.

Na análise comparativa entre as praias, o acúmulo de rodamina no tecido branquial de *E. portoricensis* foi menor em indivíduos coletados em Manaíra quando comparado aos

indivíduos da praia de Barra de Camaratuba e Intermares ($P < 0,001$ - Two Way ANOVA). (Fig. 7).

Figura 7 - Fluorescência média no tecido branquial de *Emerita portoricensis* (n=123) coletados nas praias as praias Barra de Camaratuba, Intermares e Manaíra, PB. As letras diferentes mostram a diferença estatística entre os tratamentos (rodamina e rodamina + verapamil) entre as praias - Two Way ANOVA.



Os resultados mostraram diferenças no acúmulo de rodamina nas brânquias dos Tatuís das praias de Barra de Camaratuba, Intermares e Manaíra possivelmente pela maior eficiência do mecanismo MXR dos animais de Manaíra, refletindo assim a sensibilidade desses animais a perturbações no ambiente que vivem. A eficiência do mecanismo em contrapartida demonstra que os indivíduos ao apresentarem menor acúmulo da rodamina possuem maior atividade de resistência à xenobióticos garantindo assim o não acúmulo dos eventuais contaminantes evitando seu efeito deletério na célula.

Manaíra representa uma área altamente impactada por fatores antropogênicos dessa forma o ambiente pode estar passando por processos de contaminação aquática na região, podendo estar influenciado um aumento na atividade da proteína P-gp. A SUDEMA órgão que avalia a balneabilidade das praias do litoral paraibano quase sempre classifica a praia de Manaíra como imprópria ao banho caracterizando os problemas de contaminação da mesma.

Frente a esses contaminantes os organismos necessitam expressar genes que garantam a síntese de proteínas de resistência. Três fatores fisiológicos (síntese da proteína P-gp,

manutenção da proteína na membrana celular sob a variação de eventos de contaminação e atividade na exclusão dos xenobióticos para o meio extracelular) utilizam energia que poderia ser empregado em fatores como reprodução, crescimento, recrutamento e homeostase básica podem ser comprometidos, promovendo assim um alto custo a sobrevivência nesse ambiente. A resistência é um evento natural, mas sua eficiência impõe limitações à fisiologia natural dos organismos.

5. CONCLUSÃO

A brânquia e o músculo dos animais expostos à salinidade 40‰ não conseguiram regular o teor de hidratação tecidual, demonstrando após 24 horas de exposição que o animal tem dificuldade em manter os níveis ideais de água nos tecidos.

Para espécie *E. portoricensis* as brânquias não apresentaram sensibilidade ao verapamil inibidor da P-gp.

Foi encontrado maior atividade da proteína P-gp em *E. portoricensis* de Manaíra quando comparada as demais praias avaliadas.

Os resultados indicam que possivelmente a variação no acúmulo esteja relacionado com a contaminação do local, tendo em vista que na praia de Manaíra foi encontrado maior atividade de efluxo de rodamina.

REFERÊNCIAS

- ACHARD, M. et al. Induction of a multixenobiotic resistance protein (MXR) in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* after heavy metals exposure. **Aquat.Toxicol.** v. 67, p. 347-357, 2004.
- AMADO, E. M. **O efeito do chumbo sobre a fisiologia celular branquial de crustáceos.** 2006, p. 157 f. Doutorado. (Pós-Graduação em Biologia Celular), Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2006.
- BARD, S.M. Multixebiotic resistance as a cellular defense mechanism in aquatic organism. **Aquat.Toxicol.** v. 48, p. 357-389, 2000.
- BEEBY, A. What do sentinels stand for? **Environ. Poll.** v. 112, p. 285-298, 2001.
- BEN-KHEDHER, S. et al. Biochemical effects in crabs (*Carcinus maenas*) and contamination levels in the Bizerta Lagoon: an integrated approach in biomonitoring of marine complex pollution. **Environ. Sci. Poll. Res.** v. 20, p. 2616-2631, 2012.
- BIELEN, A. et al. First evidence of the presence of Multixenobiotic Resistance Mechanism activity in freshwater invasive species, signal crayfish *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852). **Periodicum biologorum**, v. 116, n. 3, p. 267-273, 2014.
- BOŠNJAK, I. et al. Multidrug Efflux Transporters Limit Accumulation of Inorganic, but Not Organic, Mercury in Sea Urchin Embryos. **Environ Sci Technol.** v. 43, p.8374–8380, 2009.
- CHANDURVELAN, R.; MARSDEN, I.D.; GLOVER, C.N.; GAW, S. Assessment of a mussel as a metal bioindicator of coastal contamination: Relationships between metal bioaccumulation and multiple biomarker responses. **Science of The Total Environment.** v. 511, p. 663-675, 2015.
- COTOU, E.; TSANGARIS, C.; HENRY, M. Comparative study of biochemical and immunological biomarkers in three marine bivalves exposed at a polluted site. **Environ. Sci. Poll. Res.** v. 20, p. 1812-18d22, 2013.

DOMINGOS, F. X. et al. C.A. Multibiomarker assessment of three Brazilian estuaries using oysters as bioindicators. **Environ. Res.** v. 105, p. 350-363, 2007.

EVANS, D. H. Osmotic and ionic regulation: cells and animals. **CRC Press.** 2009.

EUFEMIA, N.A.; EPEL, D. Induction of the multixenobiotic defense mechanism (MXR), P-glycoprotein, in the mussel *Mytilus californianus* as a general cellular response to environmental stresses. **Aquatic Toxicol.** v. 49, p. 89 – 100, 2000.

FERREIRA, R.S., et al. Biomarkers of organic contamination in the south american fish *Poecilia vivipara* and *Jenynsia multidentata*. **J. Toxicol. Environ. Health.** v. 75, p.1023-1034, 2012.

FISHER, W.S.; NEWELL, R.I. Efeitos da salinidade na atividade de hemócitos granulares de ostras americanas, *Crassostrea virginia*. **The Biological Bulletin** , v. 170, n. 1, p. 122-134, 1986.

FLAMMARION, P. et al. Multibiomarker responses in fish from the Moselle River (France). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 51, n. 2, p. 145-153, 2002.

FONSECA, V. F. et al. Multi-biomarker responses to estuarine habitat contamination in three fish species: *Dicentrarchus labrax*, *Solea senegalensis* and *Pomatoschistus microps*. **Aquatic toxicology**, v. 102, n. 3-4, p. 216-227, 2011.

FOSTER, Clarice et al. Do osmoregulators have lower capacity of muscle water regulation than osmoconformers? A study on decapod crustaceans. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 313, n. 2, p. 80-94, 2010.

FOSTER, C. **Crustáceos osmoconformadores possuem maior capacidade de regular o volume de suas células do que crustáceos osmorreguladores?** 2006. 70 f. Mestrado (Pós-Graduação em Biologia Celular), Universidade Federal do Paraná.

FREIRE, C. A; ONKEN, H.; MCNAMARA, J. C. A structure-function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. Comparative biochemistry and physiology. Part A, **Molecular & integrative physiology**, v. 151, n. 3, p. 272–304, 2008.

FREIRE, C. A. et al. Muscle water control in crustaceans and fishes as a function of habitat, osmoregulatory capacity, and degree of euryhalinity. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 149, n. 4, p. 435-446, 2008.

GUTIERRE, S. M. M. **Ferramentas fisiológicas para avaliação do potencial invasor de peixes dulcícolas**. 2011. 73 f. Mestrado (Pós-Graduação e Ecologia e Conservação), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

IVANINA, A. V.; SOKOLOVA, I. M. Effects of cadmium exposure on expression and activity of P-glycoprotein in eastern oysters, *Crassostrea virginica* Gmelin. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 1, p. 19-28, 2008.

KURELEC, B. Inhibition of multixenobiotic resistance mechanism in aquatic organisms: ecotoxic consequences. **Science of the total environment**, v. 171, n. 1-3, p. 197-204, 1995.

KURELEC, B.; KRČA, S.; LUCIĆ, D. Expression of multixenobiotic resistance mechanism in a marine mussel *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of exposure to polluted environments. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 113, n. 2, p. 283-289, 1996.

KURELEC, B. et al. Multixenobiotic resistance, P-glycoprotein, and chemosensitizers. **Ecotoxicology**, v. 9, n. 5, p. 307-327, 2000.

LERCARI, D.; DEFEO, O. Effects of freshwater discharge in sandy beach populations: the mole crab *Emerita brasiliensis* in Uruguay. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 49, n. 4, p. 457-468, 1999.

LUCU, Č.; TOWLE, D. W. Na⁺⁺ K⁺-ATPase in gills of aquatic crustacea. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 135, n. 2, p. 195-214, 2003.

LUCKENBACH, Till; EPEL, David. Nitromusk and polycyclic musk compounds as long-term inhibitors of cellular xenobiotic defense systems mediated by multidrug transporters. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 1, p. 17-24, 2005.

MARIGÓMEZ, I. et al. Combined use of native and caged mussels to assess biological effects of pollution through the integrative biomarker approach. **Aquatic toxicology**, v. 136, p. 32-48, 2013.

MCNAMARA, J.C; FARIA, S. C. Evolution of osmoregulatory patterns and gill ion transport mechanisms in the decapod Crustacea: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 182, n. 8, p. 997-1014, 2012.

MINIER, C.; EUFEMIA, N.; EPEL, D. The multi-xenobiotic resistance phenotype as a tool to biomonitor the environment. **Biomarkers**, v. 4, n. 6, p. 442-454, 1999.

MINIER, C.; MOORE, M. N. Induction of multixenobiotic resistance in mussel blood cells. **Marine Environmental Research**, v. 42, n. 1-4, p. 389-392, 1996.

MINIER, C. et al. A pollution-monitoring pilot study involving contaminant and biomarker measurements in the Seine Estuary, France, using zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 1, p. 112-119, 2006.

NASCI, C. et al. Field application of biochemical markers and a physiological index in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*: transplantation and biomonitoring studies in the lagoon of Venice (NE Italy). **Marine environmental research**, v. 54, n. 3-5, p. 811-816, 2002.

NIGRO, M. et al. Cellular biomarkers for monitoring estuarine environments: transplanted versus native mussels. **Aquatic Toxicology**, v. 77, n. 4, p. 339-347, 2006.

PAIN, S.; PARANT, M. Identification of multixenobiotic defence mechanism (MXR) background activities in the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha* as reference values for its use as biomarker in contaminated ecosystems. **Chemosphere**, v. 67, n. 6, p. 1258-1263, 2007.

PÉQUEUX, A. Osmotic Regulation in Crustaceans. *Journal of Crustacean Biology*, v. 1, n. 15, p. 1-60, 1995.

PÉREZ, D. Mercury levels in mole crabs *Hippa cubensis*, *Emerita brasiliensis*, *E. portoricensis*, and *Lepidopa richmondi* (Crustacea: Decapoda: Hippidae) from a sandy beach at Venezuela. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 63, n. 3, p. 320-326, 1999.

QUESADA-GARCÍA, Alba et al. Use of fish farms to assess river contamination: combining biomarker responses, active biomonitoring, and chemical analysis. **Aquatic toxicology**, v. 140, p. 439-448, 2013.

RUPPERT, E.; BARNES, R. D. *Zoologia dos Invertebrados*. Ed. Roca. 6ed. S. Paulo. p. 1028, 1996.

RAINBOW, P. S. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. **Marine pollution bulletin**, v. 31, n. 4-12, p. 183-192, 1995.

RAINBOW, P. S. et al. Biomonitoring of trace metals in the Gulf of Gdansk, using mussels (*Mytilus trossulus*) and barnacles (*Balanus improvisus*). **Water Research**, v. 34, n. 6, p. 1823-1829, 2000.

RICHMAN, L. A. et al. The Niagara River mussel biomonitoring program (*Elliptio complanata*): 1983–2009. **Journal of Great Lakes Research**, v. 37, n. 2, p. 213-225, 2011.

RINGWOOD, A. H. et al. Biomarker studies with juvenile oysters (*Crassostrea virginica*) deployed in-situ. **Biomarkers**, v. 4, n. 6, p. 400-414, 1999.

RUAS, C.B.G. et al. Oxidative stress biomarkers of exposure in the blood of cichlid species from a metal-contaminated river. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 1, p. 86-93, 2008.

SAUCO, S. et al. Effects of herbicides and freshwater discharge on water chemistry, toxicity and benthos in a Uruguayan sandy beach. **Marine environmental research**, v. 70, n. 3-4, p. 300-307, 2010.

SMITAL, T.; KURELEC, B. The activity of multixenobiotic resistance mechanism determined by rhodamine B-efflux method as a biomarker of exposure. **Marine environmental research**, v. 46, n. 1-5, p. 443-447, 1998.

SKINNER, D. M. The structure and metabolism of a crustacean integumentary tissue during a molt cycle. **The Biological Bulletin**, v. 123, n. 3, p. 635-647, 1962.

SKINNER, D. M. Interacting factors in the control of the crustacean molt cycle. **American zoologist**, v. 25, n. 1, p. 275-284, 1985.

STENTIFORD, G. D. et al. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Marine Environmental Research**, v. 55, n. 2, p. 137-159, 2003.

TORRE, F.R.; FERRARIA L.; SALIBIÁNA A. Biomarkers of a native fish species (*Cnesterodon decemmaculatus*) application to the water toxicity assessment of a peri-urban polluted river of Argentina. **Chemosphere**, v. 59, n. 4, p. 577-583, 2005.

TRIQUET C. A., AMIARD J.C., RAINBOW P.S. Ecological Biomarkers: indicators of ecotoxicological effects. **CRC Press: New York**. p.450, 2013

UNGHERESE, G.; UGOLINI, A. Sandhopper solar orientation as a behavioural biomarker of trace metals contamination. **Environmental pollution**, v. 157, n. 4, p. 1360-1364, 2009.

URBINA, M. A.; GLOVER, C.N. Effect of salinity on osmoregulation, metabolism and nitrogen excretion in the amphidromous fish, inanga (*Galaxias maculatus*). **Journal of experimental marine biology and ecology**, v. 473, p. 7-15, 2015.

URBINA, M. et al. Physiological energetics of the estuarine crab *Hemigrapsus crenulatus* (Crustacea: Decapoda: Varunidae): responses to different salinity levels. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 90, n. 2, p. 267-273, 2010.

URBINA, M. A. et al. Differential expression of Na⁺, K⁺-ATPase α -1 isoforms during seawater acclimation in the amphidromous galaxiid fish *Galaxias maculatus*. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 183, n. 3, p. 345-357, 2013.

VELOSO, V. G. et al. Comparison between the macroinfauna of urbanized and protected beaches in Rio de Janeiro State, Brazil. **Biological Conservation**, v. 127, n. 4, p. 510-515, 2006.

WALKER, C.H.; SIBLY R.M.; HOPKIN S.P.; PEAKALL D.B. **Principles of Ecotoxicology**. 4ed. CRC Press: London, 386 p. 2012.

WILLMER, P.; STONE, G.; JOHNSTON, I. **Environmental physiology of animals**. John Wiley & Sons, 2009.

YAWETZ, A. et al. Comparison of the effects of pollution on the marine bivalve *Donax trunculus* in the vicinity of polluted sites with specimens from a clean reference site (Mediterranean Sea). **Marine pollution bulletin**, v. 60, n. 2, p. 225-229, 2010.

ZAJA, R. et al. Development and characterization of P-glycoprotein 1 (Pgp1, ABCB1)-mediated doxorubicin-resistant PLHC-1 hepatoma fish cell line. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 227, n. 2, p. 207-218, 2008.

ZAJA, R.; KLOBUČAR, R. S.; SMITAL, T. Detection and functional characterization of Pgp1 (ABCB1) and MRP3 (ABCC3) efflux transporters in the PLHC-1 fish hepatoma cell line. **Aquatic toxicology**, v. 81, n. 4, p. 365-376, 2007.

ZAJA, R. et al. Haemolymph as compartment for efficient and non-destructive determination of P-glycoprotein (Pgp) mediated MXR activity in bivalves. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 143, n. 1, p. 103-112, 2006.

ZANETTE, Juliano; MONSERRAT, José Maria; BIANCHINI, Adalto. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 143, n. 2, p. 187-195, 2006.

ZHOU, Jun et al. Molecular cloning and characterization of an ATP-binding cassette (ABC) transmembrane transporter from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 150, n. 4, p. 450-458, 2009.