ELIZABETH DE SOUZA MARTINS

DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAL DE *ENCOPE EMARGINATA* (LESKE, 1778) (ECHINODERMATA: ECHINOIDEA), E VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS INTERPOPULACIONAIS AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA ENTRE 13º S E 30º S.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia), Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia).

Orientador:

Prof. Dr. Carlos Renato Rezende Ventura

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Museu Nacional - UFRJ

Rio de Janeiro

2008

ELIZABETH DE SOUZA MARTINS

DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAL DE *ENCOPE EMARGINATA* (LESKE, 1778) (ECHINODERMATA: ECHINOIDEA) E VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS INTERPOPULACIONAIS AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA ENTRE 13ºS E 30ºS.

_____

Dr. Carlos Renato Rezende Ventura (Presidente)
Museu Nacional – Universidade Federal do Rio de Janeiro

_____

Dr. Flávio da Costa Fernandes
Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira
Membro Titular

_____

Dr. Abílio Soares Gomes
Universidade Federal Fluminense
Membro Titular

_____

Dr. Paulo César de Paiva
Instituto de Biologia - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Membro Titular

_____

Dra. Andréa de Oliveira Ribeiro Junqueira
Instituto de Biologia - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Membro Titular

_____

Dr. Alexandre Dias Pimenta
Museu Nacional - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Membro Suplente

_____

Dr. Fabio Bettini Pitombo
Universidade Federal Fluminense
Membro Suplente

Rio de Janeiro, 28 de março de 2008

FICHA CATALOGRÁFICA

MARTINS, Elizabeth de Souza.

Desenvolvimento embrionário e larval de *Encope emarginata* (Leske, 1778) (Echinodermata: Echinoidea), e variações morfológicas interpopulacionais ao longo da costa brasileira entre 13º S e 30º S. Rio de Janeiro. UFRJ/ Museu Nacional. 2008. xvi, 117p.

Orientador: Carlos Renato Rezende Ventura. Tese (Doutorado) – UFRJ/ MN / Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2008.

1. *Encope emarginata* 2. Dispersão 3. Larvas 4. Morfometria 5. Planctotrofia

I. Universidade Federal do Rio de Janeiro – Museu Nacional

II. Teses

AGRADECIMENTOS

Ao Diretor do Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira, Contra-Almirante Sergio Roberto Fernandes dos Santos pelo apoio constante.

Ao Departamento de Invertebrados do Museu Nacional por todo o apoio recebido durante o curso.

Ao Professor e Orientador Carlos Renato Rezende Ventura, primeiramente por ter confiado no meu profissionalismo, por todo o apoio, incentivo e dedicação que o caracterizam como um verdadeiro Mestre.

A Chefe e amiga do Departamento de Oceanografia do IEAPM, Dra. Eliane Gonzalez Rodriguez pela compreensão durante estes últimos quatro anos.

Ao meu querido amigo, irmão e grande incentivador Flávio da Costa Fernandes que jamais mediu esforços para que eu realizasse este curso.

A todos os meus amigos e companheiros do IEAPM: Maria Helena Baeta, Jurema Quintanilha, Fátima Winter, Tânia Oda, Wanda Ribas, Lúcia Artusi, Olga Danelon, Karen Larsen, Luiz Ricardo Gaelzer, Eduardo Fagundes, Ricardo Coutinho, Sargento Roberto, Luciano, Márcio, Pedro, Dagles, Fernanda, Casarin, Márcia, Marcos Lourenço, Roberto Carlos, além de todo o pessoal de apoio.

Ao Dr. Rogério Candella pela grande e valiosa ajuda na compreensão física da área do Arraial do Cabo.

Ao Prof. Paulo César Paiva pela gentileza e valiosa colaboração estatística.

Aos Professores da Malacologia do Museu Nacional Arnaldo Coelho e Norma Salgado, aos quais muito admiro, o meu muito obrigada pelo incentivo.

Ao Prof. Álvaro Migotto (IO-USP) pela extrema gentileza enviando animais da Ilha de São Sebastião (SP).

Ao meu amigo e companheiro do IEAPM “Da Silva” que sempre colaborou tanto com a edição dos filmes, fotografias, informática e principalmente pela sua maravilhosa ajuda neste estressante período de final de tese.

Aos meus queridos estagiários, Roberto, Francisco, Marcos Paulo, Moana, Patrícia e Karina, responsáveis por tantas ajudas em campo e no laboratório.

Ao Nicolau, Orlemir, Thiago e Sávio por toda ajuda e colaboração.

Um agradecimento especial ao MSc. Carlos Gustavo Werner Ferreira “Guga” que tantas vezes coletou os animais na Ilha de Cabo Frio.

A Ana Carolina Mazzuco, pelo apoio e ajuda com as análises estatísticas. O meu agradecimento também a Maria Soledade e Estevão pela parceria.

As amigas da turma 2004, Paula Zama, Renata Lima, Carla Nobre, Carolina Rodrigues (carcino). Foi um grande prazer e alegria compartilhar dos cursos de equinodermatologia ao lado de vocês.

Aos amigos do laboratório de Equinodermatologia, Mariana Contins, Adriano Magesky, Iuri Veríssimo, Carmem Pazzoto e Elinia Lopes, os meus agradecimentos pela forma como me receberam, pelo carinho e amizade que me dispensaram durante todos esses anos.

Ao meu querido amigo, companheiro do Museu Nacional, Adriano Magesky que coletou os animais do Espírito Santo.

Este trabalho é dedicado "*In Memorian*"

a meus pais Ayrton e Lêda

A minha querida filha Bruna, pela compreensão que sempre teve com o meu trabalho, ao longo de todos esses anos. Pelas alegrias, tristezas, vitórias e derrotas que compartilhamos juntas.

RESUMO

Encope emarginata (Leske, 1778) é um ouriço irregular da Ordem Clypeasteroida com ampla distribuição na costa brasileira. Não há, até este estudo, informações sobre seu desenvolvimento embrionário e larval na literatura, e conseqüentemente seu potencial de dispersão. Neste trabalho foram realizados experimentos de nutrição larval sob vários regimes alimentares: água autoclavada, água filtrada em 0,80 µm, água filtrada em 0,80 µm com suplemento da microalga *Dunaliella tertiolecta*, água natural, água natural com adição de *Dunaliella tertiolecta*. À medida que as larvas mudaram de estágio, algumas foram retiradas das culturas para o aferimento do comprimento mediano do corpo e do braço larval pós-oral. A larva de *Encope emarginata* foi considerada planctotrófica, capaz de construir todas as suas estruturas sem a presença de alimento, porém, neste caso, sendo incapaz de sofrer a metamorfose. A presença do alimento é fundamental para que os juvenis sejam formados. Os melhores resultados no crescimento do corpo e do braço pós-oral das larvas, assim como no crescimento do diâmetro das carapaças dos juvenis foram obtidos nos tratamentos com água natural.

Em uma outra abordagem, foi realizado neste trabalho o estudo da forma utilizando a análise da morfometria. Métodos mutivariados como análise de componentes principais e análises de variáveis canônicas foram utilizados. Foram estudados de 11 a 40 exemplares de *Encope emarginata* provenientes de 7 localidades diferentes, desde Salvador (BA) até Rio Grande (RS). Foram medidos 33 parâmetros nas faces oral e aboral de cada animal. Os resultados indicaram que 5 das 7 populações estudadas são morfologicamente distintas. A diferença entre as populações está baseada principalmente na espessura da carapaça e na posição das lúnulas em relação ao madreporito. Os espécimes provenientes de Cabo Frio foram os que apresentaram maior assimetria na carapaça.

A época que fêmeas maduras foram encontradas na região da Ilha de Cabo Frio coincide com a maior freqüência de passagens de frentes frias podendo limitar a dispersão larval daquela população às cercanias da região. Quanto às demais populações, a formação de eco-fenótipos parece explicar as grandes diferenças encontradas na forma da carapaça de *Encope emarginata* ao longo de toda a extensão latitudinal estudada.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS iv

RESUMO viii

ÍNDICE DE FIGURAS xiii

ÍNDICE DE TABELAS xvi

INTRODUÇÃO GERAL 1

Evolução 1

Habitat e Nutrição 2

Morfologia 2

Importância dos equinodermos 3

Classe Echinoidea 3

Ordem Clypeasteroida 7

Classificação de *Encope emarginata* 9

Diagnose 10

Considerações Gerais 12

OBJETIVOS 15

HIPÓTESES 15

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 16

CAPÍTULO I: DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAL

RESUMO 21

ABSTRACT 22

INTRODUÇÃO 23

OBJETIVOS 26

METODOLOGIA 27

1.1- Área de Estudo 27

1.2- Coletas 27

1.3- Indução à liberação de Gametas 28

1.4- Fertilização 29

1.5- Desenvolvimento Embrionário e Larval 30

1.6- Metamorfose 31

1.7- Estratégia Alimentar das Larvas de *Encope emarginata* 32

1.7.1- Experimento 1: Variação da quantidade e qualidade na alimentação larval. 32

1.7.2- Experimento 2: Larvas submetidas a um período de inanição. 34

1.7.3- Larvas mantidas em água filtrada em 0,80 µm e autoclavada. 34

1.7.4- Análises Estatísticas. 35

RESULTADOS 37

2.1- Descrição do Desenvolvimento Embrionário. 38

2.2- Descrição do Desenvolvimento Larval. 40

2.3- Estratégia Alimentar das Larvas de *Encope emarginata* 47

2.3.1- Experimento 1: Variação da quantidade e qualidade na alimentação larval. 47

2.3.2- Experimento 2: Larvas submetidas a um período de inanição. 50

2.3.3- Larvas mantidas em água filtrada em 0,80 µm e autoclavada. 56

DISCUSSÃO 62

CONCLUSÕES 70

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 72

CAPÍTULO II: MORFOMETRIA

RESUMO 79

ABSTRACT 80

INTRODUÇÃO 81

OBJETIVOS 86

METODOLOGIA 87

Área de Estudo 87

Análises Morfométricas 88

RESULTADOS 92

DISCUSSÃO 100

CONCLUSÕES 107

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 109

CONSIDERAÇÕES FINAIS 116

ÍNDICE DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1. Esquema do Sistema de Orientação de Lóven. 5

Figura 2a. Face aboral de *Encope emarginata*. b. Madreporito e gonopóros 11

Figura 3. Face oral de *Encope emarginata*. 11

CAPÍTULO I

Figura 4. Mapa da área de estudo (Ilha de Cabo Frio). 27

Figura 5. Indução à liberação de gametas. 28

Figura 6. Adultos de *Encope* com a superfície aboral voltada para baixo. 29

Figura 7. Medidas morfométricas realizadas em larva plúteo. 33

Figura 8. Liberação de óvulos. 37

Figura 9. Liberação de espermatozóides. 37

Figura 10. Óvulo com membrana gelatinosa. 38

Figura 11. Célula-ovo com as membranas gelatinosa e de fertilização. 38

Figura 12. Embriões nos primeiros estágios do desenvolvimento. 39

Figura 13. Embrião com 32 células. 39

Figura 14. Início de Blástula. 39

Figura 15. Final de Blástula. 39

Figura 16. Início de Gástrula. 39

Figura 17. Gástrula. 39

Figura 18. Final de Gástrula. 39

Figura 19. Larvas Prisma. 43

Figura 20. Larva plúteo com o primeiro par de braço. 43

Figura 21. Larva plúteo com dois pares de braços. 43

Figura 22. Larva plúteo com três pares de braços. 43

Figura 23. Larva plúteo com quatro pares de braços. 44

Figura 24. Comparação do crescimento entre o comprimento mediano do corpo e do braço pós-oral, quando cultivados em água do mar natural. 44

Figura 25: Vista ventral de uma larva com 8 braços. 45

Figura 26. Larva plúteo com pigmentação avermelhada nas extremidades dos braços. 45

Figura 27. Larvas pré-metamórficas iniciando o processo de reabsorção dos braços. 45

Figura 28. Metamorfose, primeiros pés ambulacrais. 45

Figura 29. Juvenil completo, com espinhos, pés ambulacrais e lanterna de Aristóteles. 45

Figura 30. Juvenis no sedimento. 45

Figura 31. Face aboral do juvenil com pigmentação na carapaça. 46

Figura 32. Face oral do juvenil com detalhamento da lanterna de Aristóteles. 46

Figura 33. Larvas plúteo de 4 dias cultivadas em água do mar filtrada. 52

Figura 34. . Larvas plúteo de 4 dias cultivadas em água do mar natural. 52

Figura 35. Tratamento de inanição: relação entre o comprimento mediano do corpo e o tempo de desenvolvimento em dias. 54

Figura 36. Tratamento de inanição: relação entre o comprimento do braço pós-oral e o tempo de desenvolvimento em dias. 54

Figura 37. Comparação do crescimento do braço pós-oral, em água do mar filtrada e natural. 55

Figura 38. Comparação do crescimento mediano do corpo, em água do mar filtrada e natural. 56

Figura 39. Comparação do crescimento mediano do corpo em cinco diferentes tratamentos de água. 58

Figura 40. Comparação do crescimento do braço pós-oral, quando as larvas foram submetidas a cinco diferentes tratamentos de água. 59

Figura 41. Comparação do crescimento do diâmetro da carapaça de juvenis, submetidos a 3 tipos de tratamentos de água. 60

CAPÍTULO II

Figura 42. Mapa da área de estudo: localização das sete populações estudadas. 87

Figura 43a. Medidas morfométricas realizadas na face oral; b. Medidas morfométricas realizadas na face aboral. 89

Figura 44. Perfil transversal de *Encope emarginata*. 89

Figura 45. Análises Canônicas realizadas com os resíduos da ACP. 95

Figura 46a. Espécime de *E. emarginata* proveniente do ES e BA; b. Parâmetros que caracterizaram os espécimes do ES e BA. 96

Figura 47. Medidas de espessura da carapaça que caracterizaram os espécimes do RS e PR. 97

Figura 48. Parâmetros morfométricos que caracterizaram os espécimes do RS e PR na sua face aboral. 97

Figura 49. Carapaça assimétrica dos espécimes de Cabo Frio. 98

Figura 50. Análise discriminante representada pelos centróides. 99

Figura 51. Perfil de temperatura e salinidade medidos na Ilha de Cabo Frio. 106

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I.

Tabela I. Cronologia do desenvolvimento embrionário e larval. 42

Tabela II. Porcentagem de sobrevivência larval em todos os tratamentos de água utilizados. 59

Tabela III. Cronologia do desenvolvimento larval nos testes com alimentação. 61

Tabela IV. Diâmetro dos óvulos, período larval e temperatura de algumas espécies de ouriços irregulares. 69

CAPÍTULO II.

Tabela V. Localização das populações, códigos, número de espécimes. 88

Tabela VI. Parâmetros morfológicos utilizados nas análises da carapaça. 90

Tabela VII. Coeficientes de Correlação de Pearson entre parâmetros morfológicos. 94

INTRODUÇÃO GERAL

O termo Echinodermata (do grego echinos: espinho e derma: pele) foi utilizado pela primeira vez em 1734 por Klein ao se referir aos ouriços-do-mar. Em 1758, Linnaeus reuniu os equinodermos com outros grupos animais no táxon Mollusca. Devido à simetria radial, Cuvier (1817) reuniu os Echinodermata com os Cnidaria no subreino Radiata. Em 1847, Frey & Leuckart foram os primeiros a considerá-los como um grupo a parte dos Radiata, assim proposto por Lamarck (BRUSCA & BRUSCA, 2003).

O filo Echinodermata é constituído por cerca de 19.700 espécies, dentre as quais, mais de 13.000 são fósseis. As 6.700 espécies conhecidas atualmente são distribuídas em cinco classes: Asteroidea com 1.800 espécies, Ophiuroidea (possui em torno de 2.000 espécies, se constituindo na classe com maior número de espécies descritas), Echinoidea (900 espécies), Holothuroidea (1.400 espécies) e Crinoidea com apenas 700 espécies descritas. (HENDLER *et al*., 1995; ROWE & GATES, 1995; BRUSCA & BRUSCA, 2003; VENTURA *et al*., 2006).

EVOLUÇÃO

O filo Echinodermata surgiu no período Cambriano, início da Era Paleozóica (600 a 570 milhões de anos). Entre os períodos Cambriano e Ordoviciano (570 a 480 milhões de anos) provavelmente existiram vinte classes de equinodermos (PAUL & SMITH, 1984; SMITH, 1988a).

As cinco classes atuais sofreram divergência no período Ordoviciano, mas continuaram sua evolução, enquanto as outras classes se extinguiram (PAUL & SMITH, 1984; SMITH, 1988a). Na era Mesozóica (280 a 190 milhões de anos) houve uma drástica redução do número de classes em um intervalo de tempo conhecido como Fronteira Permo-Triássica. Este período foi caracterizado pela extinção de vários grupos de invertebrados

marinhos. A seguir, um grande aumento ocorreu no número de famílias, gêneros e espécies para os equinodermos. Os organismos que conseguiram se adaptar às novas condições ambientais obtiveram êxito durante sua evolução, originando novas espécies (SPRINKLE, 1983; SMITH, 1988a).

HABITAT E NUTRIÇÃO

Os equinodermos são animais exclusivamente marinhos, vivem do médio litoral até profundidades maiores do que 10.000 m (Fossa das Filipinas). Possuem hábitos bentônicos, são epi ou endofaunais vivendo nos substratos não consolidados e também em substratos consolidados, nas cavidades das rochas ou entre elas. Os equinodermos ocupam vários níveis tróficos podendo ser carnívoros, herbívoros, filtradores, detritívoros e onívoros. Podem ser de vida livre, pedunculados ou fixos a um substrato. Tendem a apresentar distribuição agregada, sendo encontrados em altas densidades e estão hoje entre os mais diversificados, adaptados e abundantes organismos das regiões abissais, podendo representar mais de 1/3 da macrofauna bêntica daquelas regiões, especialmente os Holothurioidea (TOMMASI , 1988).

MORFOLOGIA

As larvas de todos os equinodermos possuem simetria bilateral. No entanto, os adultos apresentam a característica mais importante do filo, a simetria radial pentâmera, isto é, o corpo é dividido em cinco partes dispostas ao redor de um eixo central. Na comparação com os ouriços regulares, esta simetria pode apresentar variações na carapaça, posição da boca e do ânus e no eixo da simetria, a exemplo do que acontece com alguns

grupos de holotúrias, estrelas e ofiuróides fissíparos e ouriços irregulares (BRUSCA & BRUSCA, 2003).

São consideradas também características de todos os equinodermos, a presença de um esqueleto interno ou endoesqueleto, composto por ossículos calcários, que podem articular-se entre si e a estrutura da parede corporal composta por cristais de calcita, envolvidos por um tecido conectivo mutável (colágeno). Outra característica importante do filo é a presença de um sistema de canais de origem celômica (sistema hidrovascular) (BARNES, 1968; VENTURA *et al*., 2006).

IMPORTÂNCIA DOS EQUINODERMOS

Os equinodermos desempenham papéis importantes em estudos de embriologia e fisiologia geral. Seus ovos e embriões são utilizados para testes em bioensaios de toxidez. São considerados bons indicadores de poluição, devido à alta sensibilidade que possuem a mudanças ocorridas no ambiente. Várias espécies são dominantes na plataforma continental. Algumas espécies de ouriços e holotúrias possuem interesse comercial, pois servem de alimento para o homem. Importância ecológica de espécies que servem de alimento para peixes e caranguejos, como herbívoros predadores de marismas e de bancos de algas e como carnívoros predadores de bivalves e de recifes artificiais (CASO, 1978; HENDLER *et al*., 1995; VENTURA *et al*., 2006).

CLASSE ECHINOIDEA

Segundo Smith (1984), as principais características da classe que podem ser consideradas da sistemática do grupo estão relacionadas com: a forma da carapaça, o

arranjo das placas da carapaça, o aparato mandibular (lanterna de Aristóteles), os apêndices (espinhos, pedicelárias e pódios) e a posição interna do sistema hidrovascular.

Os equinóides são caracterizados por apresentarem uma forma de corpo globóide, ovóide ou discóide. A carapaça rígida é formada por placas calcárias firmemente suturadas entre si, proporcionando grande resistência aos animais (BRUSCA & BRUSCA, 2003).

O sistema apical é constituído por placas oculares e genitais constituindo-se em um importante caráter taxonômico. As placas desse sistema são as primeiras a se formarem durante a metamorfose da larva.

O Sistema de Lóven é utilizado como referência para a orientação e comparação do arranjo das placas. Considerando-se o conjunto de pequenas placas presente na região aboral dos equinóides (sistema apical) podem-se distinguir dois conjuntos: placas genitais (que contêm o gonopóro) e placas oculares, menores e não perfuradas. Dentre as placas genitais há uma diferenciada, cheia de perfurações, chamada madreporito. O Sistema de Lóven usa o madreporito como ponto de referência. Assim, as placas genitais recebem números arábicos e as placas oculares são identificadas por números romanos. Partindo de uma visão aboral, a placa genital à direita do madreporito recebe o número 1. A numeração segue o sentido anti-horário. A placa ocular que se encontra à direita da placa genital 1, recebe o número I .

O Sistema de orientação de Lóven é esquematizado na figura 1, para um ouriço irregular.

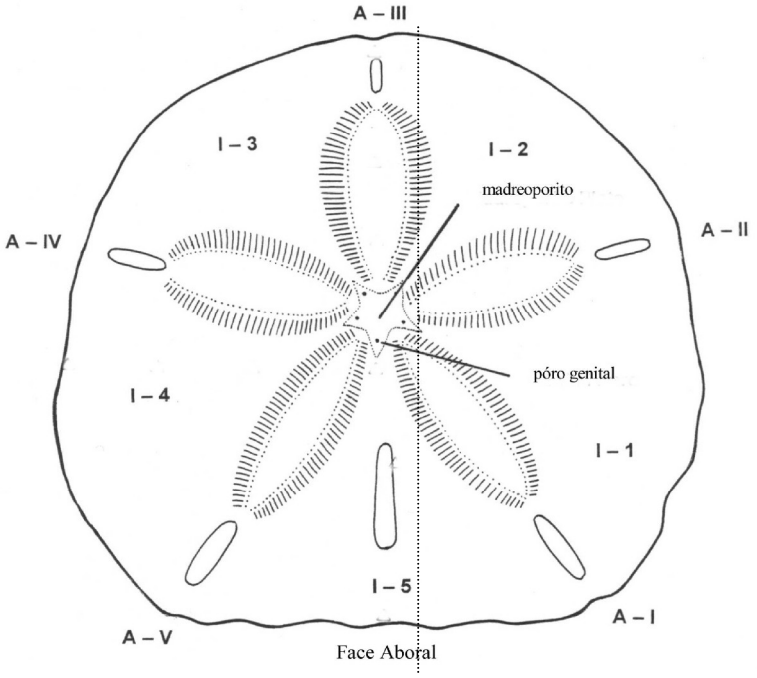

Figura 1: Sistema de orientação de Lóven para um ouriço irregular (*Encope emarginata*), mostrando o eixo de simetria antero-posterior (III-5) (linha pontilhada), característico dos equinóides irregulares. A= áreas ambulacrais; I= áreas interambulacrais. A numeração romana é dada para as áreas ambulacrais e a numeração arábica para as áreas interambulacrais, assim como as placas oculares e genitais, respectivamente, seguindo a orientação de Lóven. Retirado de DURHAM *et al*., (1966).

A presença do ânus dentro ou fora do sistema apical também se constitui em outro carater taxonômico importante. O número de placas genitais é variado no sistema apical para diversos grupos de equinóides, e pode ser classificado como monobasal, tribasal e tetrabasal.

As placas ambulacrais podem variar muito em relação ao número de perfurações que contêm os pódios ou pés ambulacrais (utilizados na locomoção e na captação de

partículas alimentares). Essa região é chamada ambulacro ou região ambulacral. De cada placa genital parte um conjunto de placas meridionais não perfuradas que forma a região interambulacral.

A lanterna de Aristóteles é um complexo mandibular situado no interior da carapaça. É constituído por ossículos ambulacrais modificados e espinhos orais fundidos. De acordo com o grupo de equinóides, pode-se observar uma grande variação em suas peças. Por isso, esta constitui-se em um importante caráter taxonômico. É composta por até 40 peças arranjadas em cinco unidades idênticas. Quando totalmente completa, cada unidade consiste em um par de hemi-pirâmides, um par de epífises, um dente, uma rótula e um compasso formado por duas peças. Este mecanismo é movido por 60 músculos e funciona com simplicidade apesar de sua complexidade morfológica. A lanterna está ausente nos Holasteroida e Spatangoida, e está presente apenas em indivíduos jovens dos Cassiduloida (BRUSCA & BRUSCA, 2003).

As irregularidades resultantes do deslocamento do ânus para a região latero/ ventral da carapaça bem como do desaparecimento da Lanterna de Aristóteles, são acompanhadas de uma mudança de hábitos alimentares, tornando-se os animais cada vez mais detritívoros. Há também uma diferenciação destinada ao processo respiratório, com o desenvolvimento de pódios respiratórios na região dorsal, que formam as pétalas. Diferenciam-se também, conjuntos de pés ambulacrais em volta do peristômio, especializados na alimentação do animal, propiciando-lhe maiores volumes de alimentos. Esses conjuntos constituem os filódios, característicos da ordem Cassiduloida. Essas modificações permitiram aos Echinoidea invadir os extensos fundos não consolidados marinhos (LAWRENCE, 1987).

Ordem Clypeasteroida

Clypeasteroida é o grupo dentre os equinóides que divergiu mais recentemente. Sua origem data do Paleoceno Superior (cerca de 55 milhões de anos atrás), na costa oeste africana. O grupo se diversificou rapidamente no Oligoceno (entre 34 e 23 milhões de anos atrás), alcançando a maior diversidade ao nível de família ao longo do Mioceno (entre 23 e 5 milhões de anos atrás) (SEILACHER,1979; KIER, 1982; SMITH, 1984). O primeiro registro de um exemplar com forma de disco (Superfamília Scutellidea) ocorreu no sudeste americano (região do Golfo do México e Caribe) no final do Eoceno (cerca de 40 a 33 milhões de anos atrás). A partir deste, o grupo se diversificou e espalhou-se em três linhagens independentes (Arachnoididae, Rotulidae, Scutellidae) (SMITH, 1984).

Os clipeasteróides possuem 130 espécies distribuídas em 15 gêneros diferentes. Os Clypeasteroida juntamente com os Spatangoida possuem a maior riqueza de espécies nas regiões do oceano Indo-Pacífico e do mar caribenho (GHIOLD, 1988). Quase 1/3 de todos os clipeasteróides ocorrem no oceano Indo-Pacífico. Os clipeasteróides que habitam o mar caribenho são diferentes daqueles encontrados no oceano Indo-Pacífico. São as espécies mais comuns (GHIOLD, 1988).

Os clipeasteróides estão ausentes no Ártico e na Antártica e são escassos nos mares europeus. No nordeste do Atlântico há 2 espécies de bolachas-da-praia: *Echinarachnius parma* e *Mellita quinquiesperforata*. No oeste africano ocorrem apenas 2 espécies do gênero *Rotula* e uma espécie de *Clypeaster* (GHIOLD, 1988).

Os fatores mais importantes na determinação da distribuição dos Clypeasteroidea são: a profundidade, a temperatura, a salinidade da água e o tipo de sedimento (GHIOLD & HOFFMAN, 1986). Sabe-se que a distribuição de algumas “bolachas-da-praia” está fortemente relacionada com o tamanho das partículas do fundo oceânico (PHELAN, 1972).

Encope L. Agassiz, 1841, é um gênero pertencente à Ordem Clypeasteroida. No litoral brasileiro, encontramos a espécie *Encope emarginata* (Leske, 1778), vulgarmente conhecida como "bolacha-da-praia". Sua distribuição geográfica estende-se desde a Península de Yucatan (Golfo do México) até a Argentina (GHIOLD, 1988). É encontrada em águas rasas, possui hábitos bentônicos, sendo geralmente encontrada enterrada, coberta por apenas uma pequena camada de sedimento, cuja granulometria vai da areia fina a média. Possui hábito alimentar depositívoro, se caracterizando por possuir um mecanismo alimentar altamente especializado e eficiente, através de sua movimentação pelo sedimento. O alimento utilizado pelos ouriços irregulares é constituído por sedimento, endofauna e material particulado (De RIDDER & LAWRENCE, 1982). A trituração do sedimento é realizada pela lanterna de Aristóteles cuja forma é bastante modificada, quando comparada com a lanterna dos ouriços regulares. Há um forte achatamento das pirâmides, ausência de várias peças e a seção transversal dos dentes possui a forma de diamante.

Classificação de Encope emarginata

Com base na metodologia cladística, SMITH (1984) propôs a seguinte classificação para *Encope emarginata* Leske, 1778

Filo: Echinodermata

Subfilo: Eleutherozoa

Classe : Echinoidea

Subclasse: Euechinoidea Bronn, 1860

Infraclasse: Acroechinoidea Smith, 1981

Coorte: Irregularia Latreille, 1825

Ordem: Clypeasteroida Agassiz,1872

Subordem: Scutellina Haeckel, 1896

Superfamília: Scutellidae, Gray, 1825

Família: Mellitidae Stefanini, 1911

Gênero: Encope L. Agassiz, 1841

Espécie: *Encope emarginata* Leske, 1778

Diagnose de ***Encope emarginata*** (Leske, 1778), baseada nos trabalhos de Mortensen, (1921) e de observações realizadas neste trabalho.

Carapaça com base plana; margem da carapaça ligeiramente abrupta. Ápice da carapaça, com localização variável podendo estar entre o sistema apical e a lúnula posterior, entre o sistema apical e a lúnula III ou apresenta uma localização mediana (próxima ao madreporito). Disco apical com cinco gonoporos. Carapaça com cinco pétalas ligeiramente encurvadas e convergindo perifericamente, mas permanecendo abertas. Placas ambulacrais e interambulacrais com larguras similares na margem. Peristômio de tamanho intermediário quando comparado com o de *Encope michelini* (pequeno) e *Encope aberrans* (grande). Poros expandidos pela placa interambulacral. Carapaça com cinco lúnulas ou recortes bem marcados e uma lúnula anal. Lúnulas ambulacrais das áreas anteriores e posteriores podem ser abertas ou fechadas. Lúnula anal entre o par posterior de petalóides. Apresenta comprimento e largura variável. Extremidades distais das pétalas posteriores alinhadas, aproximadamente, no ponto mediando da lúnula. Periprocto aberto situado acima da lúnula anal. Duas placas ambulacrais e o primeiro par de placas interambulacrais pós-basicoronais em contato com o periprocto. Sulcos alimentares bifurcados, encurvados, tornando-se ramificados. Largura e profundidade intermediárias, quando comparados à *E. michelini* e *E. aberrans*. Coloração marrom. Podem alcançar cerca de 130 mm de comprimento.

Algumas características morfológicas são mostradas nas figuras 2 a, b e figura 3.

Encope emarginata **(**Leske, 1778)

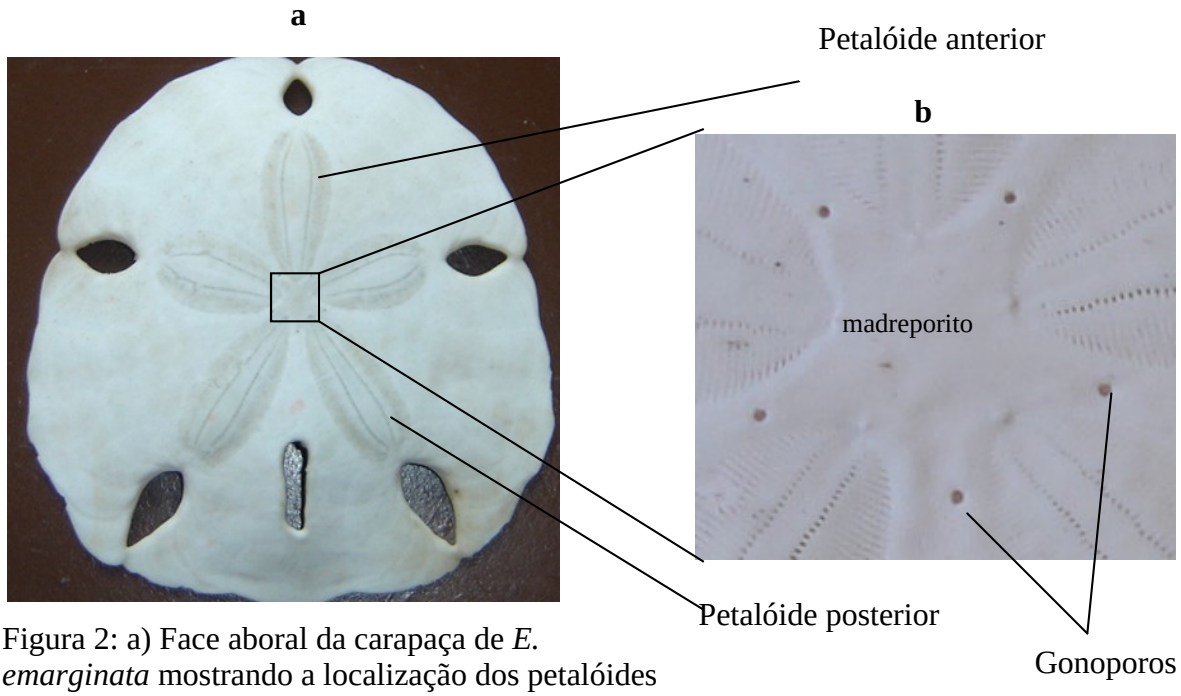

Figura 2: a) Face aboral da carapaça de *E. emarginata* mostrando a localização dos petalóides (anteriores e posteriores). b) detalhamento do madreporito com os cinco gonoporos.

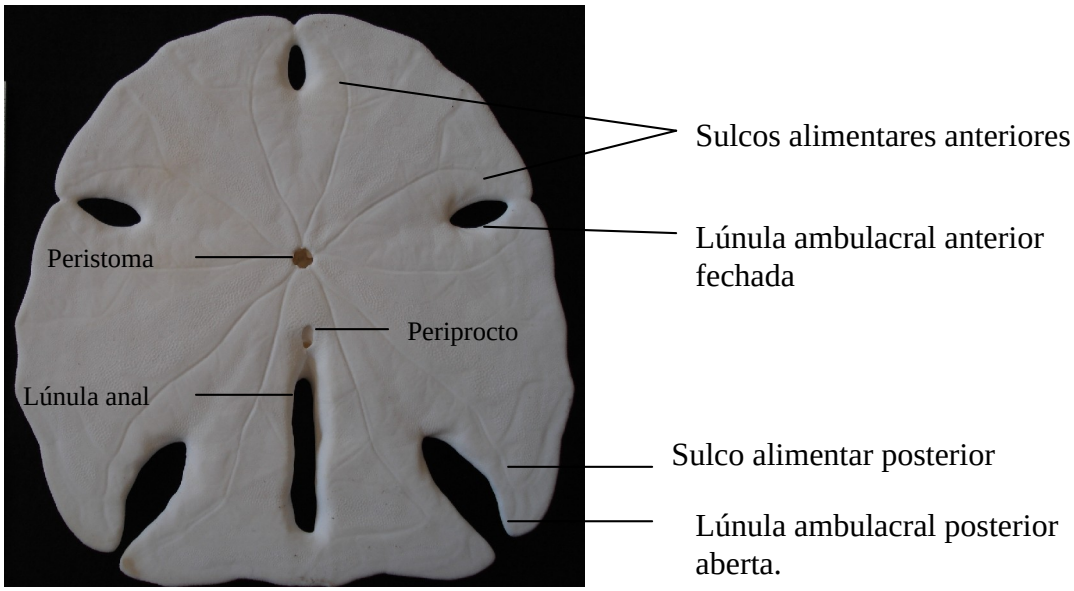

Figura 3: Face oral da carapaça de *E. emarginata* mostrando a localização do peristoma, periprocto, sulcos alimentares anteriores e posteriores, lúnula ambulacral anterior fechada, lúnula ambulacral aberta e lúnula anal.

Considerações Gerais

Conceituar “Espécie” é um dos temas de debates mais difíceis, essenciais e controversos. Mas, apesar de todas as discussões, podemos dividir esses conceitos em duas abordagens: 1) os que enfatizam os processos biológicos, destacando os conceitos evolutivo e biológico de espécie e 2) aqueles que enfatizam os meios operacionais, cujas definições são baseadas em características morfológicas (“morfoespécie”) e em metodologias utilizadas nas escolas fenética e filogenética (SMITH, 1994). Todos os conceitos têm suas limitações. Por exemplo, o conceito biológico de espécie, que se baseia na capacidade de cruzamento entre indivíduos, não leva em consideração grande variações morfológicas, além de utilizar critérios pouco práticos (SMITH, 1994 e WINSTON, 1999). Já as definições operacionais são criticadas por serem subjetivas (SILVA, 2002). É bom ressaltar que nenhum conceito está totalmente certo ou errado, simplesmente são distintos e promovem modelos que podem ser utilizados para diferentes propósitos. O processo de formação de novas espécies é conseqüentemente e igualmente controverso, apesar de ser fundamental para a compreensão da evolução da biodiversidade. Levando-se em conta o fator geográfico, pode-se classificar o processo de “especiação” em três modos básicos: alopátrica, parapátrica e simpátrica (GAVRILETS, 2003). Entretanto, nenhum desses modos, baseados em características geográficas, indica a força divergente que leva à especiação. Por ser um processo complexo, a especiação pode ser afetada por fatores genéticos, ligados a fatores ambientais, que se integram de modo não linear. GAVRILETS (2003) assinala que a especiação simpátrica pode ser induzida por mutação e a alopátrica por fatores ecológicos.

O processo de especiação alopátrica é, provavelmente, o principal mecanismo de especiação em animais (WINSTON, 1999). Um fenômeno oceanográfico como a ressurgência, que provoca alterações abióticas e bióticas na massa d’água, pode funcionar como uma barreira geográfica e influenciar na diferenciação entre populações de uma

mesma espécie (SILVA, 2002; WALTER & ROY, 2004; VENTURA *et al.*, 2004) e o litoral sudeste brasileiro é caracterizado por uma ressurgência costeira na região de Cabo Frio (23° S), cuja hidrologia local depende diretamente das condições meteorológicas e o padrão dos ventos é responsável pela distribuição das massas d' água (Água Costeira, Água Tropical e Água Central do Atlântico Sul, estas mais profundas e frias) (VALENTIN & COUTINHO, 1990).

Em invertebrados marinhos, a principal fase de dispersão é a larval. Portanto, a maior parte da diferenciação entre populações depende basicamente da duração do período planctônico (SILVA & RUSSO, 2000). As populações de invertebrados marinhos com larvas planctotróficas, tendem ser geneticamente mais homogêneas ao longo de grandes distâncias. Já espécies com larvas lecitotróficas são, em geral, mais bem estruturadas devido à menor capacidade de dispersão e, ao longo do tempo, têm maiores taxas de especiação e extinção (SCHELTEMA, 1986). Entretanto, barreiras físicas (como correntes e longas distâncias) podem ter uma grande importância na limitação do fluxo gênico e podem criar populações oceânicas geneticamente estruturadas, mesmo quando as larvas são planctotróficas (PALUMBI, 1994). O mesmo autor assinala que poucas barreiras ao fluxo gênico existem nos oceanos, sendo assim, mesmo populações de regiões distantes podem trocar informações genéticas. Entretanto, segundo MAYR (1954) e PALUMBI & LESSIOS (2005), a profundidade e as diferenças de temperatura das massas d'água podem causar especiação em grupos de ouriços-do-mar de águas rasas tropicais. As características reprodutivas de equinóides mostram variação em periodicidade e intensidade de liberação de gametas entre anos e populações.

A literatura relata vários estudos sobre o processo de reprodução e estratégia alimentar em alguns grupos de clipeasteróides (STRATHMANN 1971; MCEDWARDS 1984, 1986; EMLET 1986; BOIDRON-METAIRON 1988; FENAUX et al., 1988; FENAUX *et al.*, 1994;

ECKERT 1995; PODOLSKY 2002; TAVARES & BORZONE, 2006; REITZEL & MINER, 2007), porém, essas informações são inexistentes para *Encope emarginata*.

Em um trabalho preliminar, VENTURA *et al.* (2004), analisando duas populações de *Encope emarginata* provenientes de Salvador (BA) e Arraial do Cabo (RJ) encontraram diferenças morfológicas marcantes que poderiam refletir o isolamento dessas populações. Na ocasião, os autores sugeriram que esses estudos fossem aprofundados, devido à possibilidade de existirem duas espécies de *Encope* no litoral brasileiro.

OBJETIVOS

- Descrever o desenvolvimento larval e a estratégia alimentar da larva de *Encope emarginata* e, consequentemente, conhecer o seu potencial de dispersão.

- Analisar morfologicamente as populações de *Encope emarginata* ao longo da costa brasileira entre 13º S e 30º S.

HIPÓTESES

- *Encope emarginata* tem um grande potencial de dispersão, pois possui um desenvolvimento larval planctotrófico.
- Não há diferenças morfológicas entre as populações estudadas e, portanto, *Encope emarginata* pode ser considerada uma única espécie ao longo de sua distribuição na costa brasileira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNES, R.D., 1968. **Zoologia de los invertebrados**. Nueva Editorial Interamericana, S.A., Segunda edición. 761p.

BOIDRON-METAIRON, I.F**.,** 1988. Morphological plasticity in laboratory-reared echinoplutei of *Dendraster excentricus* (Eschscholtz) and *Lytechinus variegatus* (Lamarck) in response to food conditions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 119**: 31 – 41.

BRUSCA, R.C. & BRUSCA, G.J., 2003. **Invertebrates**. 2nd ed. Sunderland: Sinauer. 935 p.

CASO, M.E., 1978. Ciência y técnica de los Equinodermos em relación con el hombre. Primeira Parte. Aspecto Científico. **Anales del Instituto de Ciências del Mar y Limnologia**. Universidad Nacional Autónoma de México. 6(1): 255-286.

DE RIDDER, C. & LAWRENCE, J.M., 1982. Food and feeding mechanisms: Echinoidea. *In* JANGOUX, M. & LAWRENCE J.M. (eds). **Echinoderm nutrition**. Rotterdam: AA Balkema, 57-116.

DURHAM, J.M.; FELL, H.B.; FISHER, A.G.; KIER, P.M.; MELVILLE, R.V.; PAWSON, D.L. & WAGNER, C.D., 1966. Echinoids. In: **Treatise on Invertebrate Palaeontology,** part U, Echinodermata, 3. MOORE, R.C. (ed.) University Kansas Press and Geological Society of America, Lawrence, Kansas.

ECKERT, G.L., 1995. A novel larval feeding strategy of the tropical sand dollar, *Encope michelini* (Agassiz): Adaptation to food limitation and an evolutionary link between planktotrophy and lecithotrophy. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 187**: 103-128.

EMLET, R.B., 1986. Facultative planctotrophy in the tropical echinoid *Clypeaster rosaceus* (Linnaeus) and a comparison with obligate planktotrophy in *Clypeaster subdepressus* (Gray) (Clypeasteroida: Echinoidea). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 95**: 183-202.

FENAUX, L. & RASSOULZADEGAN, F., 1988. Sensitivity of different morphological stages of the larva of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) to quantity and quality of food. In BURKE R.D. (ed.) **Echinoderm Biology**. Balkema. P. 259-266.

FENAUX, L; M.F. STRATHMANN & R.R. STRATHMANN, 1994. Five tests of food-limited growth of larvae in coastal waters by comparisons of rates of development and form of echinoplutei. **Limnology and Oceanography, 39**(1): 84 – 98.

GHIOLD, J. & HOFFMAN, A., 1986. Biogeography and biogeographic history of clypeasteroid echinoids. **Journal of Biogeography**, **13**: 183 – 206.

GHIOLD, J., 1988. Species distributions of irregular echinoid. **Biological Oceanography**, **6**: 79 – 162.

GAVRILETS, S., 2003. Perspective: models of speciation: what have learned in 40 years?. **Evolution, 57** (10): 2197 – 2215.

HENDLER, G.; MILLER, J.E.; PAWSON, D.L. & KIER, P.M., 1995. **Sea stars, sea urchins and allies: echinoderms of Florida and the Caribbean**. Washington: Smithsonian Institution Press. 390 p.

KIER, P. M., 1982. Rapid evolution in echinoids. **Paleontology, 25**(1):1-9.

LAWRENCE, J.M., 1987. **Functional biology of echinoderms**. London: Croom Helm Ltd. 340 p.

MAYR, E., 1954. Geographic speciation in tropical Echinoid. **Evolution, 8** (1): 1 – 18.

McEDWARDS, L.R., 1984. Morphometric and etabolic analysis of the growth and form of echinopluteus. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 82**: 259 – 287.

McEDWARDS, L.R., 1986. Comparative morphometrics of echinoderm larvae. II. Larval size, shape, growth and the scaling of feeding and metabolism in echinoplutei. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 96**(3): 267-286.

PALUMBI, S. R., 1994. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. **Annual Review of Ecology and Systematics,** 25: 547 – 572.

PALUMBI, S. R. & LESSIOS, H.A., (2005). Evolutionary animation: How do molecular phylogenies compare to Mayr's reconstruction of speciation patterns in the sea. **Proceedings of the National Academy of Sciences, 102**(1): 6566-6572.

PAUL, C.R. & SMITH, A.B., 1984. The early radiation and phylogeny of echinoderms. **Biological Reviews**, Chicago. **59**, 443-481.

PHELAN, T. F., 1972. Comments on the echinoid genus *Encope*, and a new subgenus. **Proceedings of the Biological Society of Washington, 85** (8): 109 – 130.

PODOLSKY, R.D., 2002. Fertilization ecology of egg coats: physical *versus* chemical contributions to fertilization success of free-spawned eggs. **Journal of Experimental Biology, 05**: 1657-1668.

REITZEL, A.M. & MINER, B.G., 2007. Reduced planktotrophy in larvae of *Clypeaster rosaceus* (Echinodermata, Echinoidea). **Marine Biology, 151**: 1525- 1534.

ROWE, R.W. & GATES, J., 1995. **Echinodermata**. Zoological Catalogue of Australia. Melbourne: CSIRO. Vol. 33, 509 p.

SCHELTEMA, R., 1986. On dispersal and plactonic larvae of benthic invertebrates: an eclectic overview and summary of problems. **Bulletin of Marine Science, 39**(2): 290-322.

SEILACHER, A., 1979. Constructional morphology of sand dollars. **Paleobiology, 5**, 191-221.

SILVA, E. P. & RUSSO, C. A., 2000. Technique and statistical data analysis in molecular population genetics. **Hydrobiologia, 420**: 119 – 135.

SILVA, E. P., 2002. Especiação no ambiente marinho. In: PEREIRA, R. C. & SOARES-GOMES (eds.**). Biologia Marinha**. Interciência, Rio de Janeiro. 382 p.

SMITH, A. B. & GHIOLD, J**.,** 1982. Roles for holes insand dollars (Echinoidea): a review of lunule function and evolution. **Paleobiology, 8** (3): 242 – 253.

SMITH, A., 1984. Classification of the Echinodermata. **Paleontology**, Iowa City, vol 27, p. 431-459.

SMITH, A., 1988a. Fossil evidence for the relationship of extant echinoderm classes and their times of divergence. *In*: PAUL, C.R. & SMITH, A.B. (eds). **Echinoderm phylogeny and evolutionary biology.** Oxford: Claredon Press. p. 85-97.

SMITH, A.B., 1994. **Systematics and the fossil record: documenting evolutionary patterns**. Blackwell Science, London. 223p.

SPRINKLE, J., 1983. Patterns and problems in echinoderm evolution. In: JANGOUX, M. & LAWRENCE, J.M. (eds). **Echinoderms Studies**. Rotterdam:Balkema Publishers. Vol 1, p. 1-18.

STRATHMANN, R.R**.,** 1971. The feeding behavior of planktotrophic echinoderm larvae: mechanisms, regulation, and rates of suspension-feedings. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 6**: 109-160.

TAVARES, Y.A.G. & BORZONE, C.A., 2006. Reproductive cycle of *Mellita quinquiesperforata* (Leske) (Echinodermata, Echinoidea) in two contrasting beach environments. **Revista Brasileira de Zoologia, 23** (2): 573-580.

VALENTIN, J. L. & COUTINHO R., 1990. Modelling maximum chlorophyll in the Cabo Frio (Brazil) upwelling: a preliminary approach. **Ecological Modelling, 52**: 103 – 113.

VALENTIN, J.L**.,** 2001. The Cabo Frio upwelling system, Brazil. *IN*: **Coastal Marine Ecosystems of Latin America**. SEELIGER, U. & KJERVE, B. (eds.), Springer-Verlag, Heidelberg, : 97–105.

VENTURA, C. R. R.; HOPKINS, T. S. & KUHAJDA, B. R**.,** 2004. Morphological dimensional differences in two geographically separated populations of *Encope emarginata* (Leske) from the coast of Brazil. **Echinoderma**: Müchen – HEINZELLER & NEBELSICK (eds.): 261 - 265. Taylor & Francis Group, London.

VENTURA, C.R.R.; LIMA, R.P.N.; NOBRE, C. C.; VERÍSSIMO, I. & ZAMA, P.C., 2006. **Biodiversidade bentônica da costa central da Zona Econômica Exclusiva brasileira**. LAVRADO, H.P. & IGNÁCIO, B.L. (eds). Rio de Janeiro: Museu Nacional. 339-389.

WALTER, J. & ROY, M.S., 2004. Phylogeogarphy of a high-dispersal New Zealand sea-star: does upwelling block gene-flow? **Molecular Ecology**, p. 1-10.

WINSTON, J. E., 1999. **Describing species: practical taxonomic procedure for biologists.** Columbia University Press, New York. 518 p.

CAPÍTULO I – DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E LARVAL DE *ENCOPE EMARGINATA* (LESKE, 1778).

RESUMO

O desenvolvimento embrionário e larval de *Encope emarginata*, até então desconhecidos na literatura, foram realizados *in vitro* até a obtenção de juvenil. Os

objetivos deste trabalho são descrever o desenvolvimento embrionário, larval e a estratégia alimentar utilizada pelas larvas de *Encope emarginata* e inferir sobre seu potencial de dispersão. Indivíduos adultos foram coletados na Ilha de Cabo Frio. A liberação dos gametas foi induzida pela introdução de 0,55M de KCl na cavidade perivisceral dos adultos. O processo embrionário foi rápido e intenso. Ao final de 8 dias, as larvas possuíam 8 braços completos. A metamorfose foi alcançada em 23 dias e os juvenis em 30 dias. Três experimentos de nutrição larval foram realizados com o objetivo de conhecermos a estratégia alimentar dessas larvas: no primeiro foi testado a variação da quantidade e qualidade da alimentação larval, no segundo foi testado o efeito que um período de inanição de 7 dias ocasiona no crescimento e desenvolvimento larval e no terceiro experimento foi testado o efeito que as larvas sofrem ao serem cultivadas em água do mar autoclavada sem a presença de qualquer partícula viva. Entre os tratamentos, os melhores resultados foram obtidos com água do mar natural e adição de *Dunaliella tertiolecta.* As larvas de *Encope emarginata* possuem hábitos alimentares planctotróficos, construindo todas as suas estruturas larvais apenas com suas reservas vitelínicas, porém necessitam de alimento para alcançar a metamorfose.

ABSTRACT

As *Encope emarginata* don’t have literature data about embryonic and larval development we carried out *in vitro* experiments until juvenile stage. The aim of this study is to describe its embryonic and larval development and the larval feeding strategy to know its dispersion potential. Adults were collected from Cabo Frio Island and they were

induced to spawn by injecting of 0,55 M KCl into the body cavity. The embryonic process was quick and intense. After eight days, larvae had well-developed-8 armed. Larvae reached metamorphosis in 23 days and juveniles in 30 days. Three experiments were conducted to examine the novel feeding strategy of these larvae: the first tested the effect of varying the quantity and quality in the larval feeding, the second one was to see how the effect of 7 days starvation affects the larval growth and development and, finally, the last experiment tested the effect of culturing larvae in sterile, autoclaved seawater without any particle alive. Among the treatments, the best results were obtained with natural seawater with enrichment of *Dunaliella tertiolecta*. *Encope emarginata* larvae have planctotrofic feeding strategy. They can develop all larval structures with their maternal reserves, but require external food to undergo metamorphosis.

Key words: *Encope emarginata*, larval development, dispersal, planktotrophy, metamorphosis.

INTRODUÇÃO

A especiação alopátrica, também no ambiente marinho, depende do isolamento geográfico. Entretanto, as barreiras são relativas, sendo sua eficiência dependente da ocorrência de dispersão (MAYR, 1954). Isso justifica a importância do estudo da dispersão no processo de especiação. Nos equinodermos, como na maioria dos inverebrados marinhos, a principal fase de dispersão é a larval. Entre espécies distintas, podem ocorrer

diferenças em relação à duração do período larvar ou em relação à tolerância a condições adversas do ambiente. Até entre populações, tais diferenças podem ocorrer.

As larvas de invertebrados marinhos podem ser classificadas em dois tipos distintos em relação à nutrição: larvas planctotróficas e lecitotróficas. As larvas planctotróficas necessitam retirar o alimento do ambiente em que vivem durante o desenvolvimento até alcançar a metamorfose. Estas possuem um alto poder de dispersão e são provenientes de numerosos ovos de pequeno tamanho com baixo teor energético. As larvas lecitotróficas são originárias de ovos grandes, ricos em vitelo, com energia suficiente para completar seu desenvolvimento e se metamorfosear, sem que haja necessidade de alimento externo. Embora raro, há uma estratégia alimentar intermediária entre a planctotrofia e a lecitotrofia chamada por VANCE (1973) e CHIA (1974) de planctotrofia facultativa que pode representar uma importante transição na evolução das estratégias de vida de invertebrados marinhos (MINER *et al*., 2002). Estas larvas possuem suficientes reservas vitelínicas capazes de se desenvolver e se metamorfosear, mas também podem se alimentar no plâncton. THORSON (1946) se referiu a estas larvas como ”larvas planctotróficas com pequenos períodos planctônicos”. THOMPSON (1958) foi o primeiro a mostrar que larvas do nudibrânquio *Adalaria proxi*ma podem se alimentar, mas o alimento não é essencial para alcançarem a metamorfose. Este tipo de estratégia parece incorporar as vantagens e desvantagens tanto da planctotrofia quanto da lecitotrofia (EMLET, 1986). As larvas planctotróficas facultativas podem estocar reservas que permitem estender o período competente próximo à metamorfose e, se o ambiente não tiver condições ideais de alimento, suas reservas são capazes de suprir tal carência.

A quantidade de lipídio no óvulo determina o momento em que a alimentação se torna obrigatória para o desenvolvimento. O início da alimentação larval depende de duas características para que o desenvolvimento continue: (1) o momento em que a larva se

torna capaz de obter alimento e, 2) o início da necessidade de se alimentar (HERRERA *et al*., 1996). O intervalo de tempo entre essas duas situações é chamado "período de alimentação facultativo". Igualmente, o período de tempo entre o início da necessidade de se alimentar e a metamorfose é definido como "período obrigatório de alimentação" (HERRERA *et al*, 1996).

"Períodos de alimentação facultativa" são diferentes de "larvas planctotróficas facultativas" (EMLET, 1986; HART, 1996, MCEDWARD, 1997). Uma larva planctotrófica facultativa representa um extremo dos períodos de alimentação facultativa onde as larvas são constituídas com energia suficiente para completar a metamorfose sem alimento do meio externo. Entretanto, estas larvas mantêm a morfologia característica daquelas planctotróficas com períodos de alimentação obrigatórios apesar de possuírem reservas vitelínicas até a metamorfose. As espécies que necessitam de alimento diretamente após a diferenciação da boca e do sistema digestivo para continuar o desenvolvimento estão em um outro extremo do período de alimentação facultativa. Este tipo de estratégia alimentar pode resultar de óvulos com poucas reservas vitelínicas ou de dependência de um fator externo (por exemplo: algum mineral e/ou hormônio) para o desenvolvimento seguir adiante. Um exemplo deste tipo nutricional pode ser representado por alguns crustáceos que necessitam de alimento para que possam alcançar os diversos estágios de mudas. (ANGER, 1987). Por essa razão, todas as larvas planctotróficas têm um período de alimentação facultativa durante o curso do seu desenvolvimento, período este que será determinado pela quantidade de lipídios presentes em seus óvulos.

Segundo ECKERT (1995), as larvas da espécie *Encope michelini* podem se alimentar na coluna d'água (planctontrofia) ou por suas reservas vitelínicas (lecitotrofia), aumentando ou diminuindo as possibilidades de dispersão. Na literatura, não há informações sobre o desenvolvimento embrionário e larval, assim como a estratégia

alimentar adotada pelas larvas de *Encope emarginata* e, conseqüentemente, seu potencial de dispersão é desconhecido.

Os equinóides desenvolvem uma larva pelágica complexa (chamada equinoplúteo) que possui braços margeados por uma banda ciliada, utilizada na locomoção e na captura de alimentos (OKAZAKI, 1975). Entretanto, há uma grande diversidade nas formas larvais dentro da classe Echinoidea, com variação no número e tamanho de seus braços (MCEDWARD & MINER, 2001; EMLET *et al*., 2002).

MCEDWARD (1984,1986 a,b) foi o pioneiro dos estudos morfométricos das larvas, que possibilitou a utilização de métodos capazes de quantificar as modificações das formas plúteo entre as espécies de equinóides. Essas técnicas morfométricas têm sido utilizadas para elucidar relações complexas entre determinados fatores, como tamanho do óvulo (SINERVO & MCEDWARD, 1988), nutrição larval (BERTRAM & STRATHMANN, 1998; MEIDEL *et al*., 1999) e/ou filogenia das formas larvais (MCEDWARD,1986 a,b; MCEDWARD & HERRERA, 1999). A maior aplicação das técnicas morfométricas tem sido em estudos de plasticidade fenotípica quanto à forma, tamanho e desenvolvimento da trajetória da larva plúteo em relação à disponibilidade de partículas alimentares (SEWELL *et al*., 2004). Após os trabalhos pioneiros de McEdwards, surgiram inúmeros artigos com larvas de equinodermos utilizando também análises morfométricas (BOIDRON-METAIRON, 1988; FENAUX *et al*., 1988; SINERVO & MCEDWARD, 1988; STRATHMANN *et al*., 1992; FENAUX *et al*., 1994; ECKERT, 1995; SHILLING, 1995; MCEDWARD & HERRERA, 1999; LEVITAN, 2000; BYME *et al.*, 2001; MINER *et al*., 2002; SEWELL *et al*., 2004; MORGAN & JANGOUX, 2005; MINER, 2005; REITZEL & MINER, 2007; REITZEL & HEYLAND, 2007).

Segundo BRADSHAW (1965), a plasticidade fenotípica é definida como a capacidade que o ambiente tem em influenciar o fenótipo de um indivíduo. Embora esta definição seja aceita pela maioria dos biólogos, ainda existem controvérsias.

A plasticidade da forma larval e do desenvolvimento inicial pode afetar a evolução das estruturas, comportamentos e histórias de vida de invertebrados marinhos (MINER, 2005). As larvas de invertebrados marinhos exibem uma plasticidade fenotípica modulada pela abundância de alimento planctônico (STRATHMANN *et al*., 1993). As larvas equinoplúteos dos ouriços-do-mar (incluindo as bolachas-da-praia) possuem como estrutura alimentar a banda ciliada que margeia os braços larvais, cujo tamanho é influenciado pela presença ou escassez do alimento. O batimento desses cílios é responsável pela locomoção e alimentação das larvas (STRATHMANN, 1971). Experimentos com larvas de *Dendraster excentrica* demonstraram uma plasticidade fenotípica sob escassez de alimento, aumentando a taxa de filtração, o crescimento dos braços e da banda ciliada (HART & STRATHMANN, 1994).

OBJETIVOS

- Descrever o desenvolvimento embrionário de *Encope emarginata*
- Descrever o desenvolvimento larval de *Encope emarginata* e, consequentemente conhecer seu potencial de dispersão.
- Descrever a estratégia alimentar utilizada pelas larvas de *Encope emarginata.*

METODOLOGIA

1.1. Área de Estudo

Devido à falta de informações sobre o ciclo reprodutivo de *Encope emarginata*, a partir de fevereiro de 2005, até agosto de 2007 foram realizadas coletas mensais desses animais na Ilha do Cabo Frio (22° 59’ 259 S e 042° 00’ 497 W) (Fig.4), para posterior indução à desova.

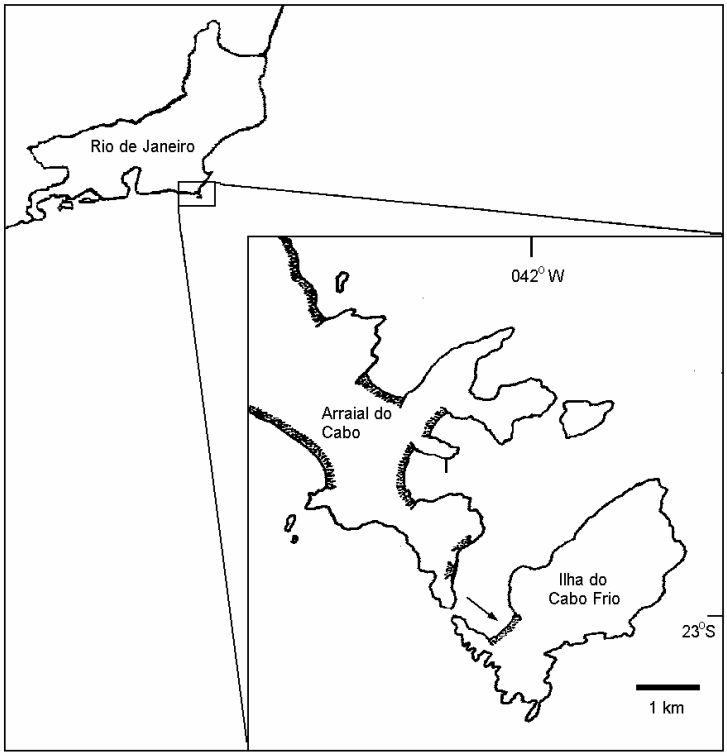

Figura 4: Mapa do litoral do estado do Rio de Janeiro mostrando com detalhamento a área do Arraial do Cabo. A seta indica o local onde foram realizadas as coletas dos indivíduos adultos utilizados nos experimentos.

1.2. Coletas

Os experimentos foram realizados em junho de 2006 e nos meses de julho e agosto de 2007. Os espécimes (n= 10) foram coletados a uma profundidade de 3 metros, levados ao laboratório de reprodução de organismos marinhos do Instituto de Estudos do Mar Almirante Paulo Moreira (IEAPM) e mantidos em um tanque de 250 litros com areia no fundo e água do mar corrente, por um período de aclimatação de uma semana.

Em julho de 2006, dez indivíduos provenientes de São Sebastião (SP) foram trazidos ao laboratório do IEAPM e estimulados a desovar, para comparar os períodos reprodutivos das duas localidades.

1.3. Indução à liberação de gametas

Inicialmente, os animais foram lavados com água do mar para remoção de detritos e fezes. Como *E. emarginata* possui sexos separados e não havendo diferença morfológica entre eles, a identificação foi realizada através da coloração dos gametas no momento de sua liberação.

A indução foi realizada através da introdução de um pequeno volume (1 a 2 ml) de solução isotônica de 0,55M de cloreto de potássio (STRATHMANN, 1987) na cavidade perivisceral com auxílio de uma seringa de 5 ml (Fig.5), causando uma contração da musculatura e por conseguinte a liberação dos gametas.

Figura 5: Indução a liberação de gametas através de solução 0,55M de KCl

À medida que as fêmeas liberavam gametas, eram colocadas sobre a superfície de béqueres com capacidade de 200 ml contendo água do mar filtrada em filtro Millipore de 0.45 µm, com a superfície aboral voltada para baixo, de forma que os gonoporos fôssem mantidos imersos na água, assim permanecendo até que a desova se completasse (Fig. 6). O número de óvulos por desova foi contado, primeiramente concentrando-os em um béquer de 100 ml. A seguir a solução foi homogeneizada e uma alíquota de 1 ml foi retirada e colocada em uma cuba de Dolfus e os óvulos contados. Este procedimento foi

efetuado três vezes e o número de óvulos considerado foi a média resultante do somatório dessas três amostragens dividido por três.

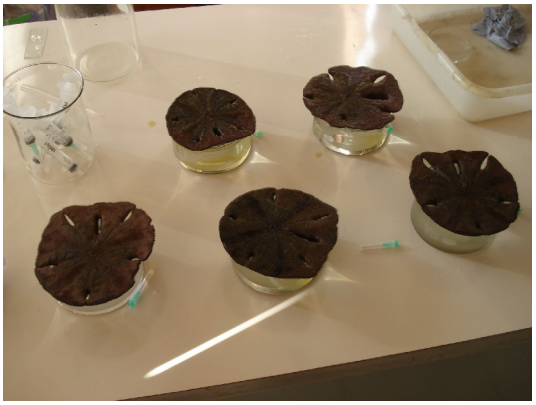

Figura 6: Adultos de *Encope emarginata* colocados nos recipientes com a superfície aboral voltada para baixo, logo após a introdução da solução de KCl.

A partir da liberação dos gametas, os óvulos foram transferidos para um béquer com capacidade de 3 litros contendo água do mar filtrada em 0,45 μm. O diâmetro dos óvulos foi medido (excluindo a membrana gelatinosa) em um total de 20 óvulos para cada fêmea, utilizando-se o programa de medidas de um microscópio binocular de epifluorescência Olympus.

Os espermatozóides foram coletados a seco diretamente dos gonoporos localizados na superfície aboral, com auxílio de uma pipeta de Pasteur e sua mobilidade observada através de exame microscópico para que pudessem ser utilizados no processo de fertilização. Uma gota contendo espermatozóides concentrados foi diluída em 10 ml de água do mar. A utilização tanto de óvulos quanto dos espermatozóides não ultrapassou o período de 1 hora antes da inseminação dos gametas.

1.4. Fertilização

Após a decantação dos óvulos no béquer, a água foi trocada duas vezes (este procedimento lava os óvulos do fluido visceral que interfere na fertilização, assim como, é retirado o excesso de espermatozóides). A seguir, 1 ml da solução diluída de espermatozóides foi adicionada à solução contendo os óvulos. A partir deste momento, em intervalos regulares de 10 minutos, amostras desta solução foram observadas em um microscópio binocular para verificar o sucesso da fertilização.

1.5. Desenvolvimento embrionário e larval

A partir da fertilização, os embriões foram mantidos em um béquer com capacidade para 4 litros, contendo água do mar filtrada em 0,80 μm, sob temperatura média de 23ºC (± 1ºC) e salinidade média de 35 ups. Todas as fases embrionárias e larvais foram acompanhadas com auxílio de um microscópio binocular e fotografadas.

A partir da larva equinoplúteo, a cultura foi mantida em água do mar natural (filtrada apenas em malha de 50μm para retirada de possíveis predadores) e não foi esterilizada com luz ultravioleta. Por utilizarmos água do mar natural durante a realização dos experimentos, a concentração de clorofila *a* foi determinada de acordo com STRICKLAND & PARSONS (1972) e um exame qualitativo do microfitoplâncton da água do mar foi realizado, mas não quantificado.

As análises do microfitoplâncton foram realizadas a partir de alíquotas de 250 ml, sedimentadas durante 24 horas e analisadas no microscópio óptico binocular invertido Olympus, com um aumento de 200 x. Este procedimento foi realizado todas as vezes que a água dos béqueres foi trocada.

A água utilizada nos experimentos foi trazida para o laboratório em galões de 20 litros cada, provenientes da Ilha do Cabo Frio. A água das culturas foi trocada diariamente através de sifões e as larvas retidas em redes de náilon, primeiramente com abertura de

125µm. Foram também utilizadas malhas de 150µm, 175µm, 200µm, 250µm, 275µm e 300µm durante o desenvolvimento larval.

Com auxílio de um microscópio binocular de epifluorescência Olympus, equipado com uma câmera fotográfica, foram realizadas medições do corpo e dos braços das larvas, utilizando o programa de medidas do próprio microscópio. Essas larvas foram separadas (N = 3) e medidas em cada estágio alcançado, isto é, larva plúteo com 2, 4, 6 e 8 braços. Também foi medido o diâmetro dos juvenis. Para a descrição do corpo e braços larvais seguiu-se a nomenclatura referenciada por MORTENSEN (1921) e MCEDWARDS & HERRERA (1999). Essas larvas foram conservadas em glutaraldeído a 25%, para posterior análise em microscopia eletrônica de varredura.

1.6. Metamorfose

Com o aparecimento do rudimento e pés ambulacrais, os indivíduos foram transferidos para recipientes de vidro *pyrex* medindo 100 x 50 mm, contendo sedimento do local onde os adultos foram coletados, com a finalidade de auxiliar na finalização da metamorfose.

O diâmetro do corpo dos juvenis foi medido e estes foram fixados e conservados em glutaraldeído à 25% para posterior análise em microscopia eletrônica de varredura.

1.7. Estratégia alimentar das larvas de Encope emarginata

Os testes descritos abaixo foram realizados em 2 etapas: junho de 2006 e agosto de 2007.

Com o objetivo de verificar a estratégia alimentar de *Encope emarginata*, foram realizados três experimentos em laboratório testando o efeito que a alimentação provoca na sobrevivência, crescimento e desenvolvimento larval.

1.7.1- Experimento 1: Variação da quantidade e qualidade na alimentação larval.

Neste experimento, utilizou-se água do mar filtrada em filtro “Millipore” de 0,80 μm e água do mar natural (filtrada apenas em malha de 50μm, para retirada de possíveis predadores presentes na água, sem comprometer o fitoplâncton natural que alimentaria as larvas).

Foram realizados 4 testes cultivando-se as larvas em:

1) água do mar filtrada em 0,80 μm, sem qualquer enriquecimento alimentar;

2) água do mar natural;

3) água do mar filtrada em 0,80 μm e enriquecidas com 5 cels. μl^{-1} da microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher), Classe Clorophyceae; e

4) água do mar natural enriquecidas com 5 cels. μl^{-1} de *Dunaliella tertiolecta*.

Em uma dieta unialgal ou associada à outra espécie, *Dunaliella tertiolecta* é um bom alimento para larvas de equinodermos, durante todo o seu desenvolvimento larval até a metamorfose (STRATHMANN, 1987). O meio de cultura utilizado no cultivo de *Dunaliela tertiolecta* foi o de Conway (WALNE, 1966), por ser o mais utilizado pela maioria dos autores para produção em massa de espécies fitoplanctônicas marinhas.

Para cada tratamento foram utilizados béqueres com capacidade para 1litro contendo 100 larvas cada um e duplicados. A temperatura da água do mar nos béqueres foi mantida em 23ºC (± 1ºC). As trocas da água foram realizadas diariamente nos primeiros dez dias e a partir daí, dependendo das condições das culturas, as trocas foram efetuadas a cada dois dias. A sobrevivência das larvas foi observada a cada troca d’água, quando as larvas foram contadas. Após o final de cada estágio, três larvas foram retiradas de cada experimento e fixadas em uma solução a 4% de formalina para que as medidas de comprimento do corpo e do braço pós-oral das larvas (Fig. 7) fossem efetuadas posteriormente. Essas medidas são biologicamente importantes porque o comprimento da banda ciliada (local de captura do

alimento) corresponde a quase o dobro do comprimento do corpo e o quadrado do comprimento do braço (McEdward,1984).

Ao apresentarem sinais de metamorfose (aparecimento dos primeiros pés ambulacrais), as larvas foram transferidas para recipientes contendo sedimento, ali permanecendo até que a metamorfose se completasse. Assim como para as larvas, a água destas culturas também foi trocada diariamente e medido o diâmetro da carapaça dos juvenis. Para a microscopia eletrônica de varredura, as larvas e juvenis foram fixados e preservados em glutaraldeído à 25% .

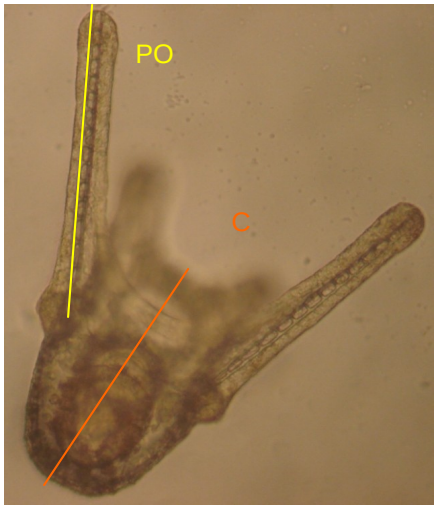

Figura 7: Larva plúteo mostrando as medidas efetuadas em cada um dos experimentos, onde: C= comprimento mediano do corpo e PO= comprimento do braço pós-oral.

1.7.2- Experimento 2: Larvas submetidas à um período de inanição

Neste experimento, testamos o efeito que as larvas sofrem no seu crescimento e desenvolvimento após um período de inanição de 7 dias. As larvas foram mantidas a uma temperatura de 23ºC, sob 3 tratamentos de água do mar:

1) água filtrada em 1μm (sem esterilização em luz ultravioleta).

2) água do mar filtrada em 1μm e após um período de 7 dias de inanição foi adicionado

à cultura, a microalga *Dunaliella tertiolecta* em uma concentração de 50 cells.μl^{-1} ; e 3) água do mar natural filtrada em malha de 50 µm.

Este experimento resultou em 3 possíveis regimes alimentares para as larvas: 1) sob condições de inanição; 2) inicialmente sob condições de inanição e a seguir alimentadas; e 3) sempre alimentadas. Para cada tratamento, foram utilizadas 100 larvas em béquer de 1000 ml e duplicado. Para as medidas de crescimento, as larvas foram separadas (N=3) nos 1º, 3º, 5º e 8º dias para os tratamentos 1 e 3. Para o tratamento 2, também foram considerados os 12º e 15º dias. A sobrevivência foi quantificada a cada estágio larval alcançado. Quando as larvas começaram a apresentar sinais de metamorfose, placas de acrílico foram colocadas em água do mar corrente por 2 dias e com a formação do biofilme, essas placas foram colocadas no fundo dos béqueres contendo as larvas. Ao atingirem a metamorfose, os juvenis foram separados e medido o diâmetro da carapaça.

1.7.3- Experimento 3: Larvas mantidas em água do mar sem qualquer partícula viva.

Neste experimento foi observado se as larvas poderiam crescer, desenvolver e sobreviver sob um regime alimentar sem a presença de qualquer partícula viva na água do mar, ou seja, utilizariam apenas suas reservas vitelínicas.

As larvas foram cultivadas em água do mar filtrada em 0,80 µm e esterilizada em autoclave a uma temperatura de 120ºC durante 30 minutos. A utilização desta água só pôde ser efetuada 24 horas após o desligamento do aparelho, e conseqüente esfriamento da água a ser utilizada. Esta cultura também foi realizada em duplicata, em béqueres de 1000 ml contendo 100 larvas cada um. As trocas de água foram realizadas diariamente. Após o final de cada estágio, três larvas foram retiradas para posterior medição e fixadas em uma solução de formalina a 4%. O registro da sobrevivência das larvas foi realizado no início e no final do experimento.

1.7.4- Análises Estatísticas

Devido à utilização de réplicas em cada experimento, primeiramente foi analisado o contraste de crescimento das larvas entre os béqueres ao longo do tempo, por meio de uma análise de variância (anova) bifatorial. foram utilizadas como variáveis dependentes, em ambas as análises, medidas do comprimento do corpo e dos braços pós-orais (po) das larvas, para todos os tratamentos de água em seus respectivos tempos separadamente. dessa forma, os fatores estabelecidos foram: fator 1, 'béquer' com dois níveis (béquer 1; béquer 2); fator 2 (fixo e ortogonal), 'tempo' com cinco níveis (1º dia; 2º dia; 3º dia; 5º dia; 8º dia). quando não foram encontradas diferenças significativas entre os béqueres, as análises de variância foram realizadas posteriormente e os béqueres foram considerados semelhantes, aumentando o número de réplicas de 3 para 6.

Para o experimento 1 (variação da quantidade e qualidade na alimentação larval) e experimento 3 (larvas mantidas em água do mar autoclavada) foram feitas comparações dos tratamentos de água e ao longo do tempo de desenvolvimento, aplicando ANOVA Unifatorial (One-way), utilizando como variável dependente o comprimento do corpo e do braço pós-oral. Os fatores considerados foram 'tipo de água' como primeiro fator (fixo) com cinco níveis (Autoclavada; Filtrada; Filtrada com *Dunalliela tertiolecta*; Natural; Natural com *Dunaliella tertiolecta*); e 'tempo', como segundo fator (fixo e ortogonal) com cinco níveis (1º dia; 2º dia; 3º dia; 5º dia; 8º dia). Estes cinco níveis estão relacionados à mudança dos estágios larvais. Os contrastes entre os pares foram identificados pelo teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls (SNK). O programa utilizado nas análises estatísticas foi o ESTATISTICA 6.0.

No experimento 2, foram consideradas duas situações: o desenvolvimento das larvas submetidas ao período de inanição nos dias 3º, 5º, 8º, 12º e 15º dias e o desenvolvimento

das larvas em água natural, juntamente com as larvas da situação anterior nos 3º, 5º e 8º dias. O experimento com larvas cultivadas apenas em água filtrada não foi submetido aos tratamentos estatísticos por ter sido a origem do cultivo de inanição.

A variação do diâmetro da carapaça dos juvenis em função dos tratamentos também foi comparada utilizando ANOVA Unifatorial (One-way), contendo este fator três níveis: água filtrada e adição de *Dunaliella tertiolecta*; água do mar natural sem enriquecimento algal; e água do mar natural com a adição de *Dunaliella tertiolecta.* Apenas esses tratamentos foram utilizados porque somente nestes as larvas conseguiram alcançar a metamorfose.

Antes de cada análise, as premissas da ANOVA foram verificadas por meio do teste shapiro wilk e cochrane, para a normalidade e para a homogeneidade de variâncias, respectivamente. Quando os dados não respeitavam o princípio da normalidade, foi necessária a transformação dos dados em logaritmos (log (x + 1)).

RESULTADOS

O período reprodutivo de *Encope emarginata* é no final de outono e início de inverno, para os espécimes da Ilha de Cabo Frio (RJ). Entre os dez indivíduos provenientes de São Sebastião (SP), quatro fêmeas responderam positivamente aos estímulos, conferindo às duas populações o mesmo período reprodutivo.

Após 7 minutos da introdução de cloreto de potássio (KCl) 0,55 M, fêmeas e machos começaram a liberação dos gametas. As fêmeas apresentaram óvulos com uma coloração alaranjada (Fig. 8), enquanto que os espermatozóides, bege claro (Fig. 9).

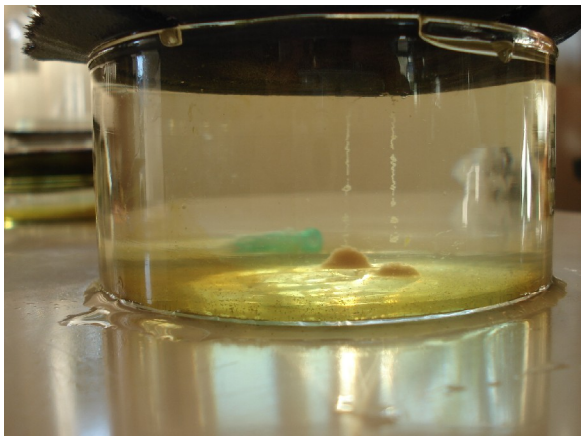

Figura 8: Fêmeas liberando óvulos.

Figura 9: Machos começando a liberação de gametas.

Dependendo do estado de maturação das gônadas, uma fêmea libera em média, entre 68.000 à 1.400.000 óvulos, segundo contagens efetuadas em nossos experimentos.

2.1. Descrição do desenvolvimento embrionário.

Os óvulos desta espécie são circundados por uma membrana constituída por um complexo polissacarídeo glico-proteico chamado membrana gelatinosa (Fig.10). Seu diâmetro médio foi de 143 ± 6,8μm. Com observações microscópicas regulares, a

membrana de fertilização (Fig.11) foi observada 15 minutos após a inseminação. A taxa de fertilização estimada foi >90%.

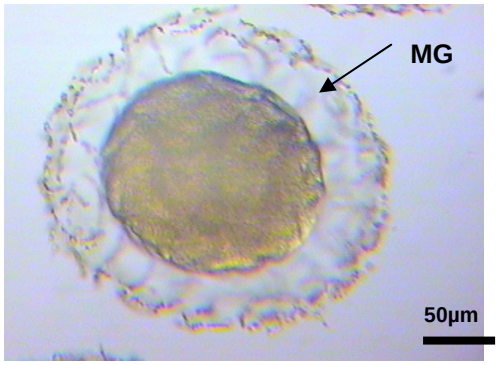

Figura 10: óvulo de *E. emarginata*, com a membrana gelatinosa (MG).

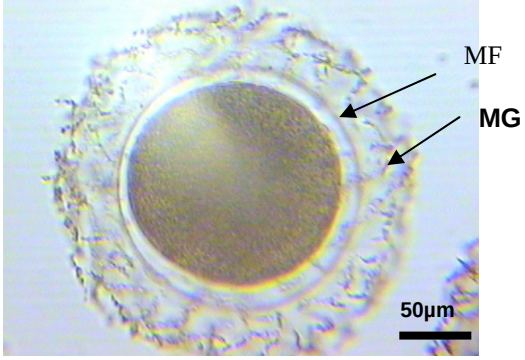

Figura 11: Célula ovo com a membrana de fertilização (MF) e a membrana gelatinosa (MG).

O processo de divisão celular teve início 50 minutos após a inseminação de óvulos e espermatozóides, quando o zigoto se dividiu em 2 células. Uma hora e meia após, 4 células; duas horas após, 8 células (Fig.12). Duas horas e trinta minutos após foram observadas 16 células e 3 horas após, 32 células (Fig. 13). A clivagem foi radial e holoblástica. As primeiras duas divisões foram iguais e meridionais. O estágio de mórula foi alcançado 4 horas após a inseminação. O início do estágio de blástula (Fig. 14) foi alcançado em 5-6 horas, cuja característica foi a formação da blastocele, desenvolvimento dos cílios e o início da movimentação do embrião ainda dentro da membrana de fertilização. Esta movimentação começou a se intensificar, e 9 horas após a inseminação houve o rompimento da membrana de fertilização e a perda definitiva da membrana gelatinosa (Fig.15). O estágio de gástrula foi alcançado em 12 horas com início do processo de invaginação do arquêntero (Figs. 16 e 17). Este estágio foi completado 15 horas e trinta minutos após a inseminação (Fig. 18).

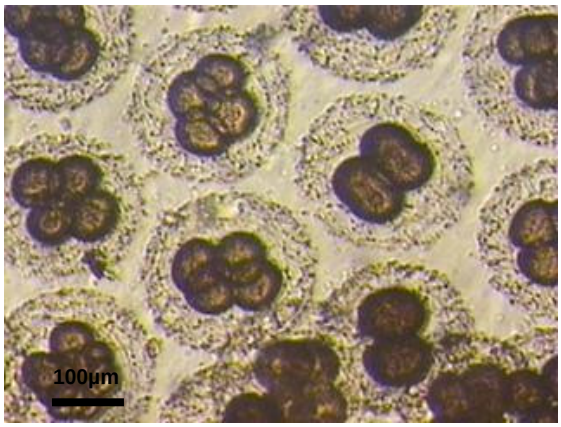

Figura 12: Embriões em vários estágios do desenvolvimento, com 2, 4 e 8 células.

Figura 13: Embrião com 32 células.

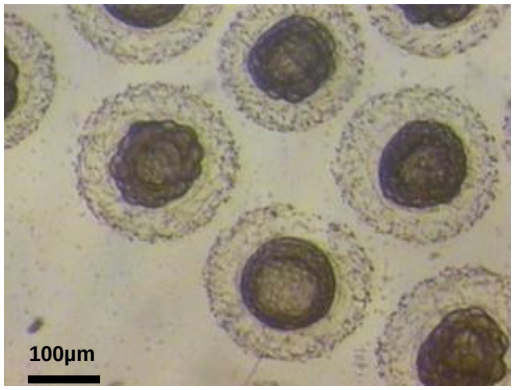

Figura 14: Início de blástula

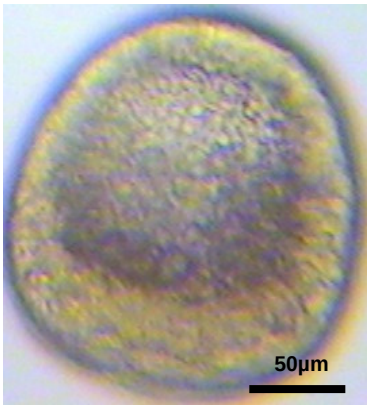

Figura 15: Blástula (final)

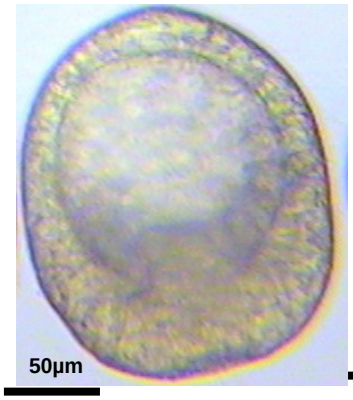

Figura 16: Início de gástrula

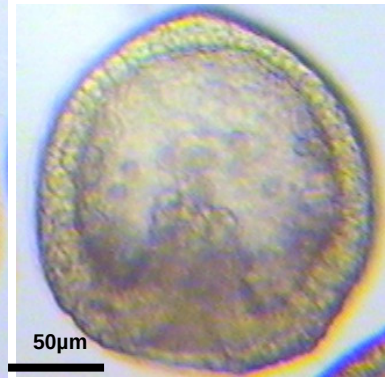

Figura 17: Gástrula.

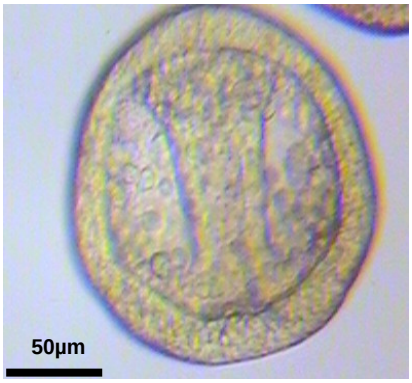

Figura 18: Final de gástrula.

2.2. Descrição do desenvolvimento larval

A partir do desenvolvimento larval utilizou-se água do mar natural sem enriquecimento algal e o exame qualitativo desta água indicou (em ordem decrescente de

importância), a presença de diatomáceas penatas dos gêneros *Navicula* e *Nitschia*, bactérias em forma de bastonete (principalmente *Pseudomonas sp*.), diatomáceas cêntricas (*Chaetoceros spp*.) e fitoflagelados.

Seguindo o processo do desenvolvimento, a larva prisma (Fig. 19) foi alcançada 17 horas após a inseminação, conferindo à larva uma simetria bilateral. Este é o estágio inicial do desenvolvimento larval.

A larva plúteo apresentou o início dos 2 primeiros braços (pós-orais) 25 horas após a inseminação (Fig. 20). Neste estágio, o corpo apresentou um comprimento médio de 186,20 ± 3,94 µm e o braço pós-oral 190,1 ± 5,32 µm.

A larva plúteo com 4 braços (1 par de braços pós-orais (267,79 ± 9,47µm) e 1 par de braços anterolaterais (98,24 ± 3,48 µm)) teve início 40 horas após. Esses braços são sustentados por hastes fenestradas constituídas por carbonato de cálcio (Fig. 21) e seu corpo atingiu um comprimento médio de 247,27± 7,43 µm. A sobrevivência neste estágio foi alta, alcançando 92%.

O aparecimento do terceiro par de braços larvais (posterodorsais) se deu no 3º dia após a fertilização, cujo comprimento inicial foi de 174,09 ± 4,67µm (Fig. 22). Neste estágio, o corpo apresentou um comprimento médio de 268,73 ± 10,83 µm e os pares de braços pós-orais e anterolaterais apresentaram um comprimento médio de 286,01± 11,61µm e 127,94 ± 5,74 µm respectivamente. A sobrevivência das larvas foi de 83% neste estágio.

O 4º par de braços (pré-orais) teve início no 5º dia, apresentando comprimento médio de 104,61 ± 4,42 µm. O comprimento médio do corpo foi de 297,61 ± 16,92 µm. Os braços pós-orais anterolaterais e posterodorsais apresentaram comprimento médio de

326,57 ± 18,85 µm; 156,97 ± 6,94 µm e 233,62 ± 12,59 µm respectivamente. Não foram observados sinais de mortalidade.

Ao final de oito dias, as larvas apresentaram os 8 braços completos (Fig. 23). O comprimento médio do corpo foi de 413,49 ± 8,97 µm. Os comprimentos médios dos braços ao final deste período foram: pós-orais (418,88 ± 20,02 µm), anterolaterais (192,62 ± 21,48 µm), posterodorsais (380,69 ± 10,25 µm) e pré-oral (193,73 ± 5,73 µm). As larvas alcançaram uma sobrevivência de 70% neste estágio.

Sob essas condições de cultivo, o crescimento dos braços pós-orais (PO) acompanhou a mesma tendência de crescimento do corpo durante os primeiros 8 dias da cultura larval, como é ilustrado na figura 24.

As larvas de *Encope emarginata* apresentaram uma coloração transparente exceto na região onde se localiza o rudimento e uma pigmentação avermelhada concentrada no corpo, nas extremidades dos braços e ao longo da banda ciliada (Fig. 25). Uma visão ventral de uma larva com 8 braços completos é mostrada na figura 26.

O início da reabsorção dos braços foi observado 20 dias após a fertilização (Fig.27) e o aparecimento dos primeiros pés ambulacrais iniciou 23 dias após a fertilização (Fig.28). No 26º dia, as larvas haviam reabsorvido quase todos os braços. Os primeiros juvenis apareceram 30 dias após a fertilização (Figs. 29 e 30) apresentando um diâmetro médio de 331,30 ± 18,97 µm. A pigmentação avermelhada observada nas larvas foi também observada no corpo dos juvenis. As figuras 31 e 32 ilustram esta pigmentação nas faces aboral e oral respectivamente.

Portanto, as larvas cultivadas em laboratório, em água do mar natural sem suplemento alimentar, sem esterilização em luz ultravioleta e mantidas à temperatura de 23º C podem permanecer no plâncton pelo período mínimo de 23 dias, sob essas condições

de cultivo. A duração desta cultura foi de 85 dias. A taxa de sobrevivência dos juvenis foi de 22%. A cronologia deste desenvolvimento larval está organizada na Tabela I.

Tabela I: Desenvolvimento embrionário e larval de ***Encope emarginata*** (Leske, 1778), sob condições controladas de laboratório (23ºC).

Estágios do desenvolvimento	23º C
Membrana de fertilização	15 min
2 células	50 min
4 células	1,5 h
8 células	2 h
16 células	2,5 h
32 células	3 h
Mórula	4 h
Blástula (início)	5-6 h
Blástula rotativa	8,5 h
Gástrula	12 h
Final de gástrula	15,5h
Prisma	17 h
Plúteo (2 braços)	25 h
4 braços	40 h
6 braços	3 dias
Inicio de 8 braços	5 dias
8 braços completos	8 dias
Pés ambulacrais	23 dias
Juvenil	30 dias

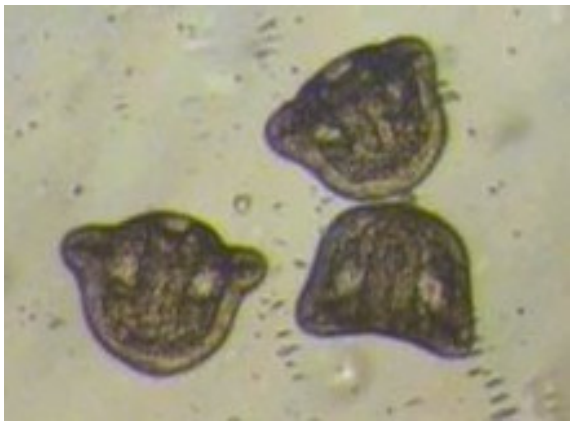

Figura 19: Larvas prisma

Figura 20: Larva plúteo com o 1º par de braços (PO= pós-orais).

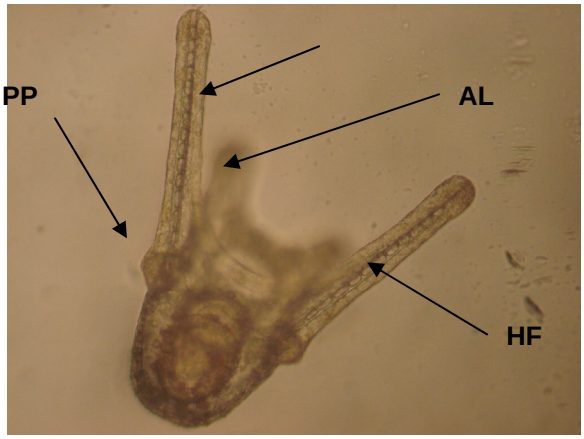

Figura 21: Larva plúteo com 4 braços (PO= pós-oral, AL= anterolateral); HF= haste fenestrada e PP= processo posterolateral.

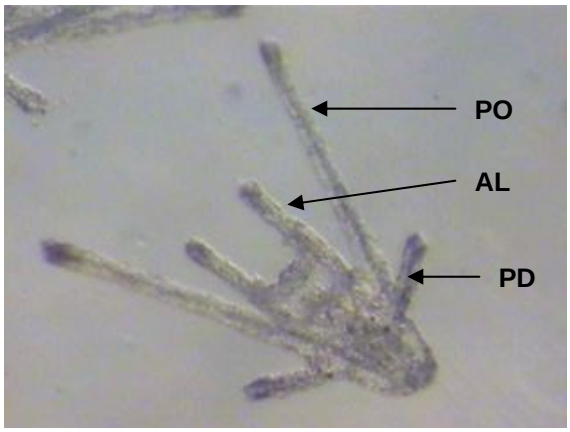

Figura 22: Larva plúteo com 6 braços (PO= pós-oral, AL= anterolateral, PD= posterodorsal).

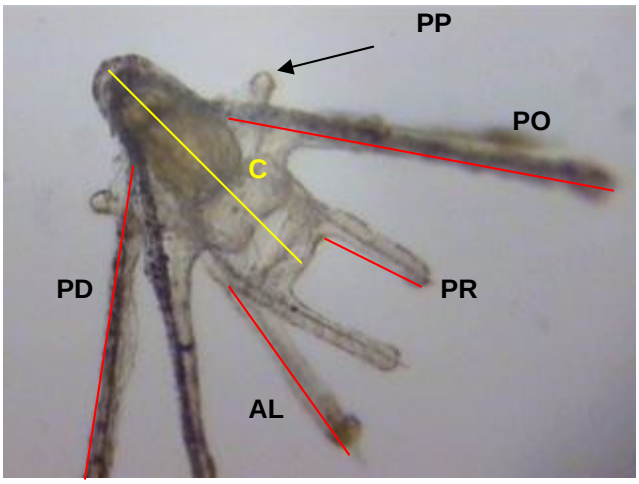

Figura 23: Larva equinoplúteo com 8 braços completos (PO= pós-oral, AL= anterolateral, PD= posterodorsal, PR= pré-oral), PP= processo posterolateral e C= comprimento mediano do corpo.

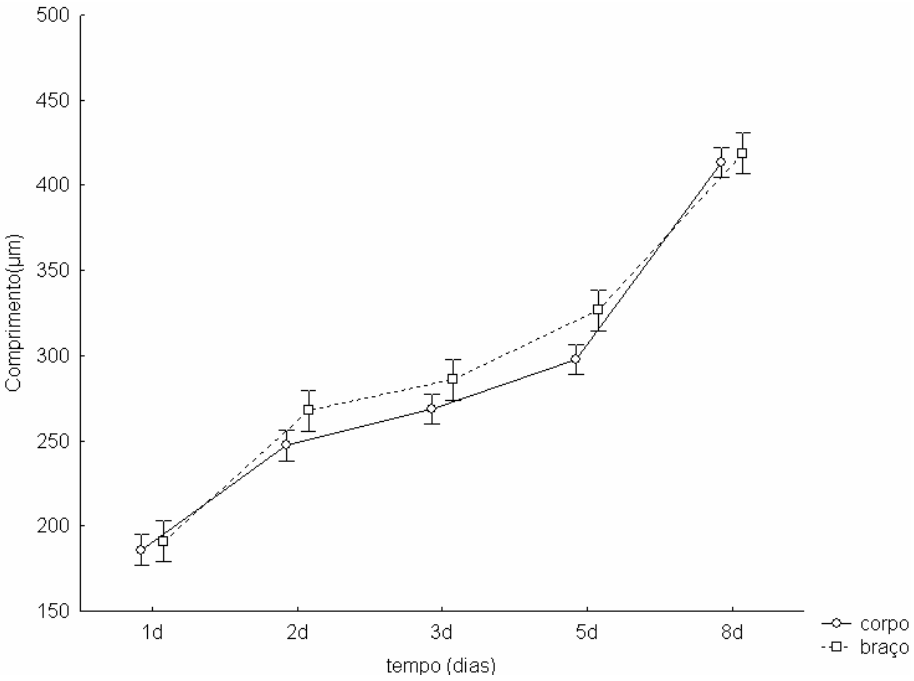

Figura 24: Comparação entre o comprimento mediano do corpo (µm) e o comprimento do braço pós-oral (µm) durante os primeiros oito dias do desenvolvimento larval, quando cultivados em água do mar natural.

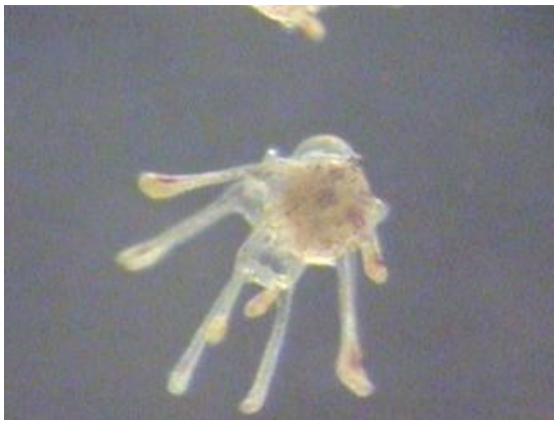

Figura 25: Larvas com pigmentação avermelhada nas extremidades dos braços.

Figura 26: Vista ventral de uma larva plúteo com 8 braços.

Figura 27: Larvas iniciando o processo de reabsorção dos braços.

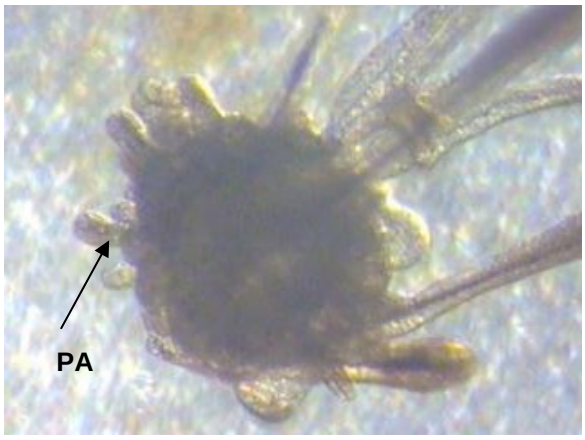

Figura 28: Início do período metamorfórfico (PA= pés ambulacrais).

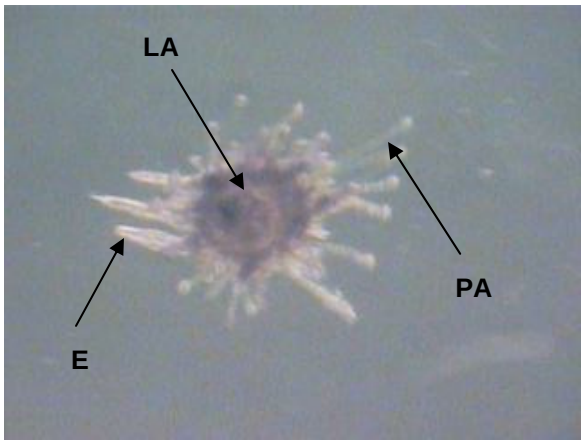

Figura 29: Juvenis apresentando lanterna de Aristóteles (LA), pés ambulacrais (PA) e espinhos (E).

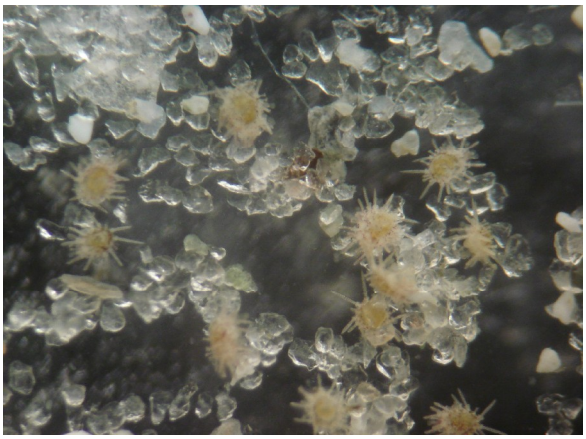

Figura 30: Juvenis no sedimento.

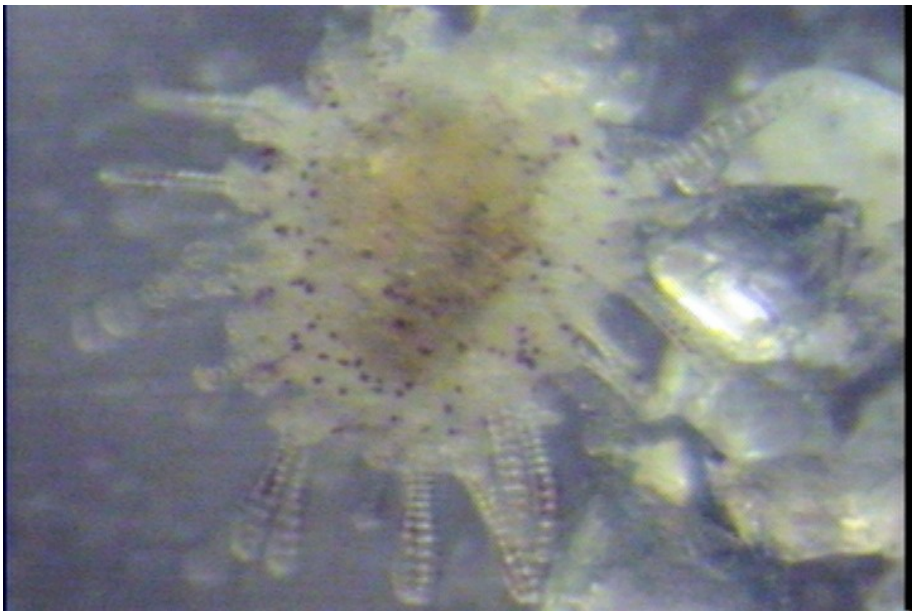

Figura 31: Face aboral do juvenil mostrando a pigmentação avermelhada presente tanto na carapaça quanto nos espinhos.

100 µm

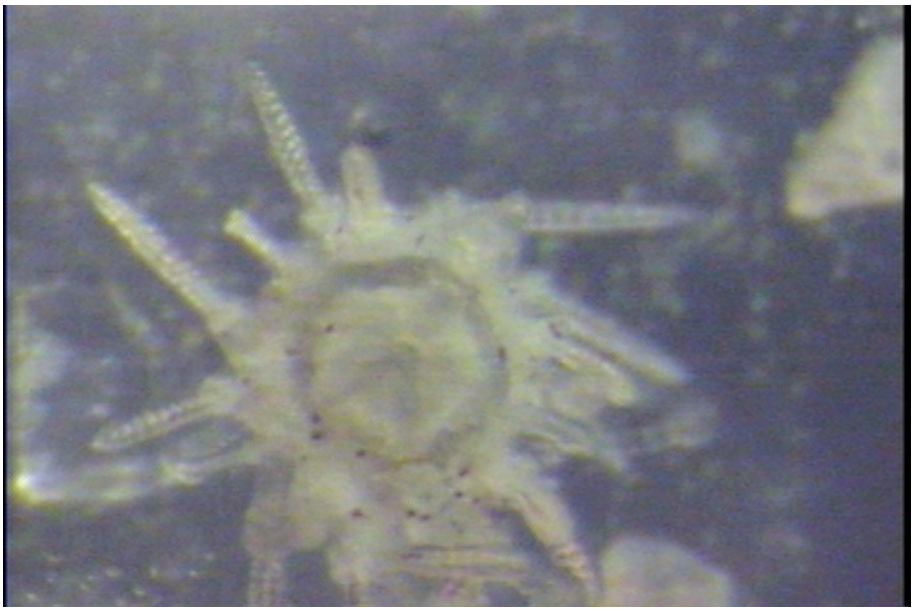

Figura 32: Face oral do juvenil mostrando a Lanterna de Aristóteles e a pigmentação avermelhada presente tanto na carapaça quanto nos espinhos.

2.3. Estratégia alimentar das larvas de Encope emarginata.

As larvas de *E. emarginata* desenvolveram todas as estruturas larvais (8 braços) sem a presença de alimento externo, podendo permanecer por um longo período no plâncton. Porém, a partir desse estágio, as larvas necessitam de alimento para alcançar a metamorfose. Nos três experimentos que se seguem, as culturas foram mantidas a 23º C e não houve esterilização com luz ultravioleta nos diferentes tipos de água utilizados nos tratamentos. A Tabela II mostra a porcentagem de sobrevivência larval em cada um dos experimentos.

2.3.1- Experimento 1: Variação da quantidade e qualidade na alimentação larval.

Este experimento de nutrição larval, revelou que o crescimento das larvas de *Encope emarginata* até o estágio de 8 braços completos não é limitada pela quantidade de alimento externo disponível, possuindo reservas vitelínicas suficientes para construção de suas estruturas larvais (braços). Entretanto, para alcançar a metamorfose, o alimento foi um fator limitante. Em todos os tratamentos, o tempo de desenvolvimento larval foi semelhante, estando o alimento presente ou não na água do mar. A sobrevivência larval entre os tratamentos foi maior para as culturas mantidas em água do mar natural, principalmente quando havia suplementação alimentar do que nos tratamentos com água filtrada.

No 1º tratamento (água do mar filtrada sem enriquecimento algal), as larvas construíram todas as suas estruturas, mas não se metamorfosearam, tendo sobrevivido por 23 dias.

- No início da cultura, o corpo das larvas plúteo apresentou comprimento médio de 185,90 ± 3,76 µm e comprimento médio do braço 191,10 ± 5,64 µm.

- 2º dia da cultura (larvas com 4 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 209,16 ± 6,36 µm e comprimento médio do braço 229,54 ± 13,81 µm. A sobrevivência foi de 90%.

- 3º dia (larvas com 6 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 232,80 ± 10,55 µm e comprimento médio do braço 245,21 ± 10,11 µm. A sobrevivência foi de 80%.

- 5º dia da cultura (início de 8 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 260,87 ± 12,02 µm e comprimento médio do braço 290,60 ± 8,46 µm. Neste estágio a cultura teve uma sobrevivência de 72%.

- No 8º dia da cultura (final de 8 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 348,86 ± 20,28 µm e comprimento médio do braço 373,22 ± 15,27 µm. A sobrevivência foi de 60%.

No 2º tratamento (água do mar natural sem enriquecimento algal), as larvas construíram todas as suas estruturas e se metamorfosearam no 30º dia da cultura. Este tratamento já foi descrito anteriormente.

No 3º tratamento (água do mar filtrada enriquecida com *Dunaliella tertiolecta*), as larvas não se metamorfosearam, mas sobreviveram por 30 dias.

- No início da cultura (larvas plúteo com 2 braços), o corpo das larvas apresentaram comprimento médio de 185,72 ± 2,85 µm e comprimento médio do braço 193,44 ± 4,32 µm.

- 2º dia da cultura (larvas com 4 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 238,82 ± 6,48 µm e comprimento médio do braço 252,67 ± 6,64 µm. Neste estágio, a sobrevivência foi de 92%.

- 3º dia (larvas com 6 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 261,03 ± 15,22 µm e comprimento médio do braço de 278,01± 17,59 µm. A sobrevivência foi de 82%.

- 5º dia da cultura (início do último par de braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 284,46 ± 21,44 µm e comprimento médio do braço de 304,14 ± 25,14 µm. A sobrevivência foi de 80%.

- 8º dia da cultura (8 braços completos), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 363,03 ± 12,29 µm e comprimento médio do braço de 402,54 ± 24,45 µm. A sobrevivência neste estágio foi de 75%.

No 4º tratamento (água do mar enriquecida com *Dunaliella tertiolecta*) as larvas obtiveram maior sobrevivência, o corpo e as estruturas larvais alcançaram as maiores dimensões, incluindo os juvenis, comparando com os demais tratamentos.

As larvas apresentaram no início da cultura um comprimento médio do corpo de 185,24 ± 3,72 µm e comprimento médio do braço 189,43 ± 4,89 µm.

- No 2º dia da cultura (larvas com 4 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 255,45 ± 5,37 µm e comprimento médio do braço de 266,04 ± 15,48 µm. A sobrevivência foi de 94%.

- No 3º dia (larvas com 6 braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 266,99 ± 8,02 µm e comprimento médio do braço 280,75 ± 6,69 µm. As larvas tiveram uma sobrevivência de 85%.

- No 5º dia da cultura (início do 4º par de braços), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 303,30 ± 14,93 µm e comprimento médio do braço 363,99 ± 32,21 µm. Neste estágio as larvas apresentaram uma sobrevivência de 95%.

- No 8º dia da cultura (8 braços completos), as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 450,09 ± 24,05 µm e comprimento médio do braço de 479,99 ± 20,14 µm. A sobrevivência larval desde o seu início foi de 75%.

Os primeiros pés ambulacrais apareceram no 16º dia e os juvenis totalmente formados no 25º dia. O diâmetro médio das carapaças dos juvenis foi de 343,43 ± 15,64 µm e a sobrevivência foi de 32%. Esta cultura sobreviveu por 83 dias.

A cronologia do desenvolvimento larval dos 4 tratamentos está sumarizada na Tabela III.

2.3.2- Experimento 2: Larvas submetidas à inanição.

Tratamento 1: Larvas mantidas sempre alimentadas (água do mar natural). Este tratamento serviu como controle do tratamento de inanição.

Neste tratamento, as larvas foram mantidas em água do mar natural e iniciaram a cultura com um comprimento médio do corpo de 177,05 ± 9,34 µm e um comprimento médio do braço de 189,23 ± 10,45 µm.

- No 2º dia da cultura (larvas com 4 braços), o corpo das larvas apresentou um comprimento médio de 240,52 ± 6,51 µm e comprimento médio de braço de 253,94 ± 8,45 µm. A sobrevivência foi de 90%.

- No 3º dia da cultura (larvas com 6 braços), o corpo das larvas apresentou um comprimento médio de 240,52 ± 6,51 µm e comprimento médio de braço de 253,94 ± 8,45 µm. A cultura apresentou uma sobrevivência larval de 85%.

- No 5º dia da cultura (início do último par de braços), o corpo das larvas apresentou um comprimento médio de 276,09 ± 4,94 µm e comprimento médio de braço de 306,71 ± 12,12 µm. A sobrevivência foi de 72%.

- No 8º dia da cultura (8 braços completos), o corpo das larvas apresentou um comprimento médio de 298,39 ± 10,27 µm e comprimento médio de braço de 330,99 ± 15,43 µm. A sobrevivência foi de 70%

Nesta cultura, as larvas não alcançaram a metamorfose, porque houve mortalidade total da cultura entre o 10º e o 11º dia, devido à problemas de contaminação.

Tratamentos 2 e 3: Larvas mantidas sempre em inanição (água filtrada sem suplemento alimentar) e larvas mantidas em um período de inanição por 7 dias e a seguir alimentadas. Esses tratamentos foram reunidos porque as larvas mantidas em um período de inanição e depois alimentadas tiveram sua origem na cultura mantida em água filtrada (sempre em inanição).

As larvas iniciaram esta cultura apenas em água do mar filtrada, apresentando um comprimento médio do corpo de 177,47 ± 10,04 µm e um comprimento médio do braço de 189,92 ± 12,14 µm.

No 2º dia da cultura, o corpo das larvas apresentou um comprimento médio de 197,96 ± 14,54 µm e comprimento médio de braço de 201,81 ± 17,62 µm. A sobrevivência larval foi de 84%

No 3º dia da cultura, o corpo das larvas apresentou um comprimento médio de 229,10 ± 4,46 µm e comprimento médio de braço de 231,32 ± 6,22 µm. Este estágio apresentou uma sobrevivência de 70%.

Neste experimento, as diferenças de tamanho entre as larvas mantidas em água filtrada e natural começaram a surgir a partir do 4º dia após a fertilização, ou seja, as larvas mantidas em água do mar natural apresentaram 4 braços completos e 2 braços começando a crescer, enquanto que as larvas mantidas em água do mar filtrada em 1 µm apresentaram

um desenvolvimento mais lento (Fig. 33), com tamanho de corpo e braço pós-oral menores comparado com as larvas cultivadas em água natural (Fig. 34).

Figura 33: Larvas com 4 dias cultivadas em água filtrada a 1 µm.

Figura 34: Larvas com 4 dias cultivadas em água natural.

Sete dias após a fertilização, a cultura de larvas com água filtrada em 1 µm foi dividida em duas. Um béquer contendo larvas mantidas apenas em água do mar filtrada em 1 µm (tratamento 2) e o outro, contendo larvas mantidas em água do mar filtrada com a adição de 50 cels.μl^{-1} de *Dunaliella tertiolecta* à cultura (tratamento 3).

Foi a partir do 9º dia que as larvas mantidas em água do mar filtrada em 1 µm com a adição de *Dunaliella tertiolecta* começaram a apresentar o crescimento dos braços. A sobrevivência foi de 80% nesta fase. O comprimento médio do braço foi de 265,03 ± 20,98 µm e comprimento médio do corpo de 266,12 ± 13,57 µm. As larvas mantidas em água do mar filtrada sem alimento continuaram pequenas, com crescimento lento.

As larvas mantidas em água filtrada com adição de *Dunaliella tertiolecta* continuaram o crescimento dos braços e corpo, mas devido à falta do suplemento alimentar inicial, o último par de braços começou a aparecer no 12º dia após a

fertilização (comprimento médio do corpo de 317,83 ± 13,85 µm e comprimento médio do braço de 332,72 ± 8,82 µm) e com 15 dias, as larvas nesta cultura já apresentavam os 8 braços totalmente desenvolvidos (comprimento médio do corpo de 381,44 ± 30,06 µm e comprimento médio do braço de 387,43 ± 19,25 µm). O aparecimento dos primeiros pés ambulacrais teve início 28 dias após a fertilização.

Com 35 dias, a lanterna de Aristóteles pôde ser observada nos juvenis. Esta cultura teve uma sobrevivência de 5% e duração de 64 dias em relação ao início da cultura.

As larvas mantidas em água do mar filtrada sem enriquecimento algal tiveram a duração de 32 dias, sem ter completado o desenvolvimento dos 8 braços larvais, por conseguinte não alcançaram a metamorfose. A cronologia do desenvolvimento larval deste experimento é sumarizada na Tabela III.

As análises estatísticas mostraram um crescimento significativo no corpo e no braço das larvas (Figs. 35 e 36) ao longo de todos os estágios larvais (corpo: $F = 213.8$; $p < 0.00001$; $a = 0.01$ / braço: $F = 216.37$; $p < 0.00001$; $a = 0.00001$), mesmo permanecendo em estado de inanição até o 7º dia. A figura 32 mostra que não houve diferença de crescimento do braço entre o 1º e o 2º dia da cultura ($p = 0,20$; $a = 0.01$).

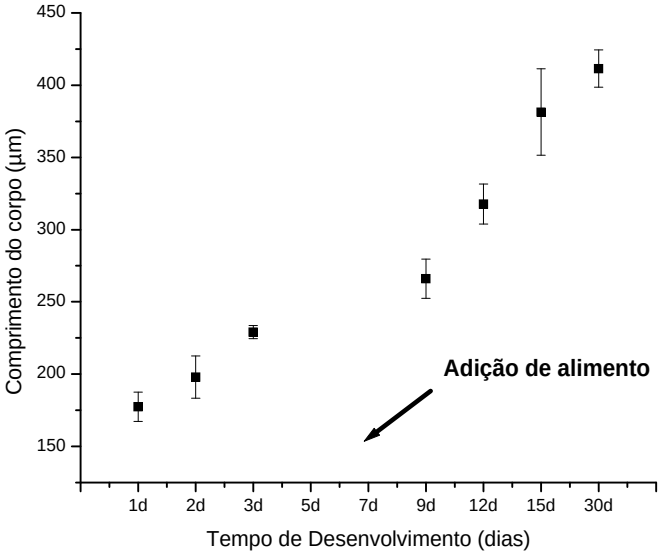

Figura 35: Relação entre o crescimento do corpo (µm) e o tempo de desenvolvimento (dias) das larvas no tratamento de inanição.

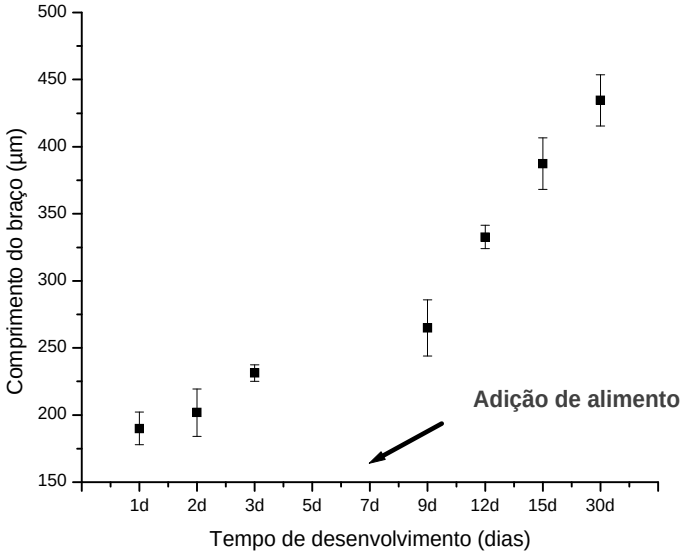

Figura 36: Relação entre o comprimento do braço (µm) e o tempo de desenvolvimento (dias) das larvas no tratamento de inanição.

As figuras 37 e 38 comparam o crescimento dos braços larvais e do corpo respectivamente, quando cultivados em água filtrada e água natural. A diferença entre os tamanhos das larvas ocorreu logo a partir do segundo dia da cultura ($p<0.00001$; $a = 0.05$). Também, a partir do 3º dia, as larvas cultivadas em água filtrada mostraram uma diferença no tamanho quando comparadas às larvas mantidas em água natural. Essa tendência se manteve ao longo do tempo.

Possivelmente, a interação estatística registrada pela ANOVA ($p = 0.0015$; $a = 0.05$) deve-se a alteração de tendência que diferiu ao longo do tempo, cujo início foi semelhante.

Aparentemente, o efeito entre os tratamentos foi mais intenso no tamanho do braço do que no corpo das larvas (observação visual do gráfico).

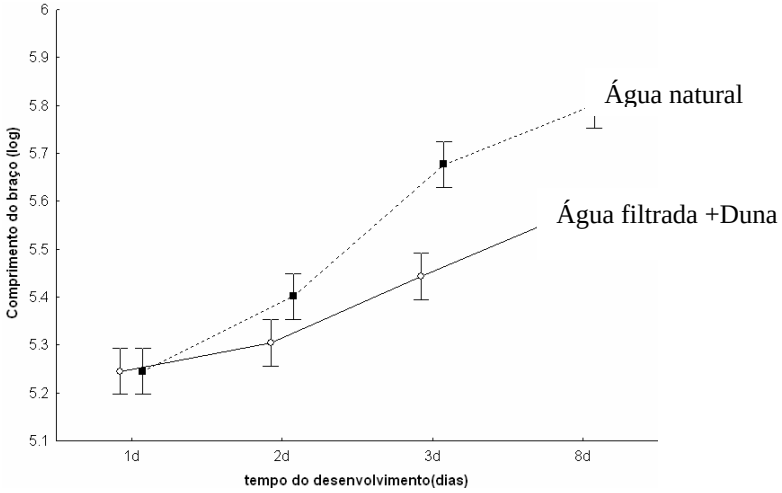

Figura 37: Comparação do crescimento do braço pós-oral ao longo do tempo (dias), quando submetidos aos tratamentos de água filtrada e água do mar natural .

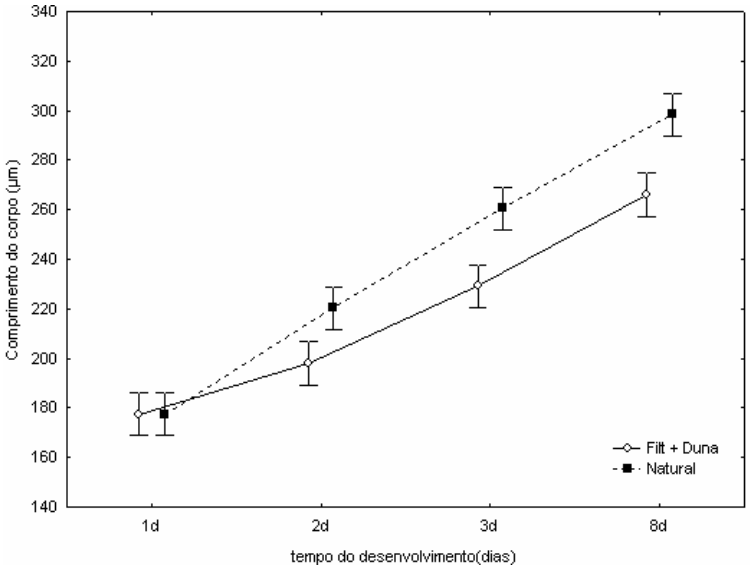

Figura 38: Comparação do crescimento do comprimento mediano do corpo larval ao longo do tempo (dias), quando submetidos aos tratamentos de água filtrada e em água do mar natural.

2.3.3- Experimento 3: Larvas mantidas em água do mar sem a presença de qualquer partícula viva.

As larvas mantidas nesta cultura, sem qualquer partícula alimentar presente na água, desenvolveram todas as suas estruturas, isto é, os 8 braços completos no 9º dia após a fertilização, diferentemente das demais culturas que alcançaram este estágio no 8º dia. A partir daí, as larvas não foram capazes de desenvolver os pés ambulacrais, portanto, não se metamorfosearam, indicando a necessidade que as larvas têm em consumir qualquer partícula viva. Esta cultura sobreviveu por 12 dias.

Em relação ao crescimento larval, foi o experimento que apresentou os menores resultados em relação ao comprimento do corpo e do braço pós-oral, quando comparados com aqueles obtidos nos tratamentos do experimento 1. No início da cultura, o corpo das larvas apresentou um comprimento médio de 185,34 ± 3,24 µm e comprimento médio do

braço de 189,42 ± 4,43 µm. No 2º dia da cultura, as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 207,73 ± 7,57 µm e comprimento médio do braço de 214,50 ± 7,75 µm.

No 3º dia, as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 238,44 ± 6,36 µm e comprimento médio do braço 248,86 ± 6,59 µm.

No 5º dia da cultura, as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 265,32 ± 7,37 µm e comprimento médio do braço 275,25 ± 8,87 µm. No 8º dia da cultura, as larvas apresentaram comprimento médio do corpo de 268,45 ± 22,03 µm e comprimento médio do braço de 275,21 ± 22,93 µm.

Análises estatísticas para os experimentos 1 e 3.

Quando comparou-se o crescimento das larvas cultivadas sob diferentes tipos de água, obteve-se uma diferença significativa entre as larvas cultivadas com água autoclavada e água filtrada, em comparação com os outros tratamentos ($p<0.00001$; a = 0.05). Essa diferença se manteve ao longo do tempo de desenvolvimento das larvas ($p<0.00001$; a = 0.05).

A partir do 3º dia de desenvolvimento larval, as larvas cultivadas em água autoclavada mantiveram um tamanho menor do que aquelas cultivadas nos outros tratamentos ($p<0.00001$; a = 0.05). O mesmo ocorreu com as larvas mantidas em água filtrada, entretanto ao final do cultivo, as larvas voltaram a aumentar de tamanho, mas não alcançaram as médias daquelas cultivadas com os tratamentos eficientes ($p<0.00001$; a = 0.05).

As larvas cultivadas em água filtrada com adição de *Dunaliella tertiolecta* tiveram o mesmo desempenho daquelas cultivadas em água natural e natural com *Dunaliella tertiolecta*. Essa tendência se manteve constante até o 5º dia. Entretanto, no 8º dia, as

larvas cultivadas em água natural com adição de *Dunaliella tertiolecta* mostraram melhor desempenho ($p<0.00001$; $a = 0.05$).

Segundo as análises estatísticas, houve uma interação entre os tratamentos dos experimentos 1 e 3, provavelmente devido ao último estágio larval na água do mar autoclavada não responder na mesma tendência que os demais. Outra contribuição para essa interação, possivelmente se deve às pequenas variações registradas entre as médias dos tratamentos, que mostraram tendências contrárias ao longo do tempo.

Entre os tratamentos do experimento 1 e 3, os melhores resultados de crescimento de corpo e de braços foram obtidos na água do mar natural com *Dunaliella tertiolecta*, seguido por água do mar natural, água do mar filtrada e *Dunaliella tertiolecta*, e água do mar filtrada em 0,80 µm, em ordem decrescente de importância (Fig 39 e 40).

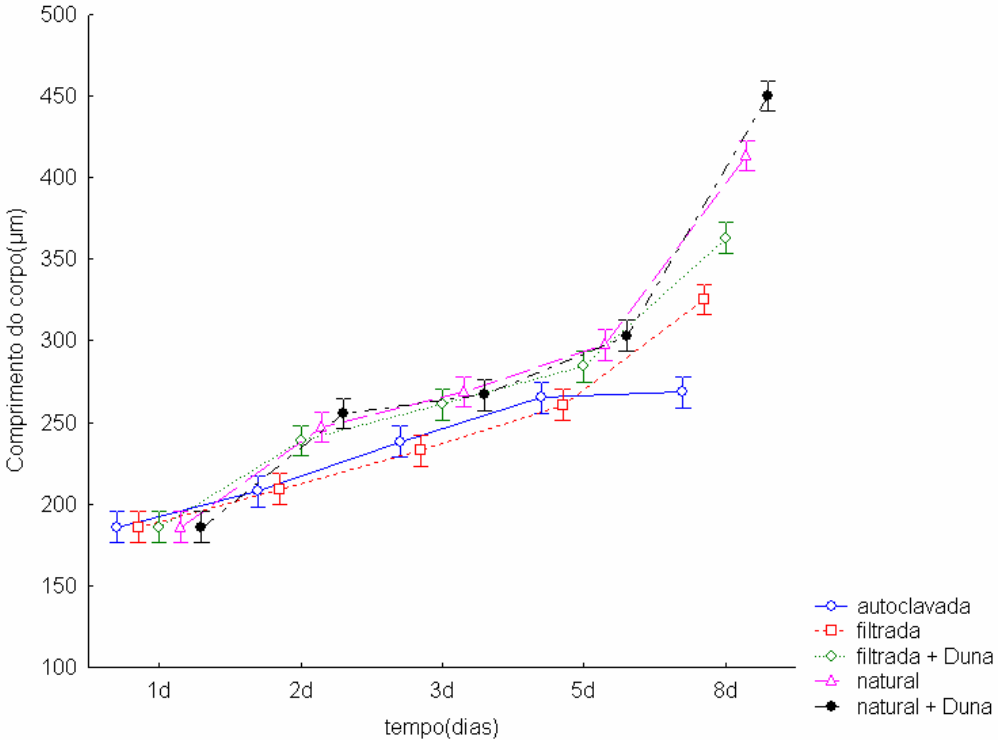

Figura 39: Comparação do crescimento mediano do corpo larval (µm) ao longo do tempo (dias), quando submetidos aos tratamentos de água: autoclavada, filtrada, filtrada com adição de *Dunaliella tertiolecta*, natural e natural com adição de *Dunaliella tertiolecta*.

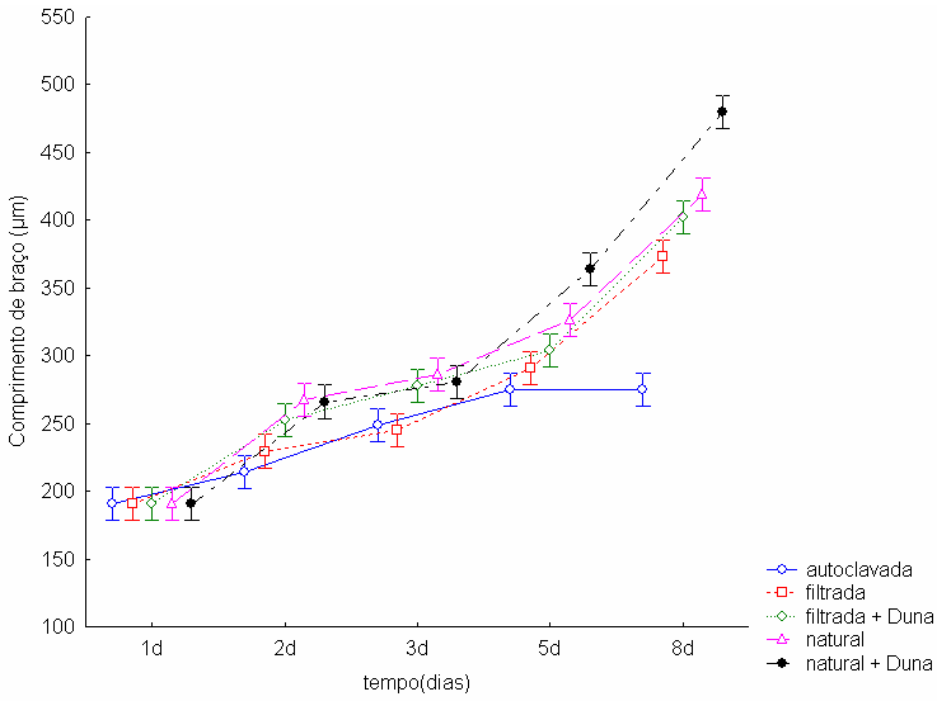

Figura 40: Comparação do crescimento do braço pós-oral (µm) ao longo do tempo (dias), quando submetidos aos tratamentos de água: autoclavada, filtrada, filtrada com adição de *Dunaliella tertiolecta*, natural e natural com adição de *Dunaliella tertiolecta*.

Tabela II: Porcentagem de sobrevivência larval correspondente aos estágios larvais alcançados em todos os tratamentos de água utilizados.

Tratamentos de água do mar	Larva plúteo 4 braços	Larva plúteo 6 braços	Larva plúteo início 8 braços	Larva plúteo 8 braços completos
Filtrada	90%	80%	72%	60%
Filtrada com *Dunaliella*	92%	82%	80%	75%
Natural	92%	83%	100%	70%
Natural com *Dunaliella*	94%	85%	95%	75%
Autoclavada	90%	-	-	52%

Juvenis

Os tratamentos aplicados nos cultivos das larvas também surtiram efeito sobre o tamanho do juvenil (figura 41). O diâmetro da carapaça dos juvenis cultivados em água do mar natural com adição de *Dunaliella tertiolecta* (351,53±15,94 µm) foi significativamente maior do que o diâmetro daqueles cultivados sob os outros tratamentos (F = 6,74; p = 0.008; a = 0.05), 'água do mar natural' e 'água do mar filtrada com adição de *Dunaliella tertiolecta*'. O diâmetro da carapaça dos juvenis cultivados sob 'água do mar natural (331,30±18,97 µm) e 'água do mar filtrada com *Dunaliella tertiolecta* (319,27±9,79 µm)' não pode ser considerado estatisticamente distinto (p = 0.1956; a = 0.05), apesar da diferença registrada entre as médias.

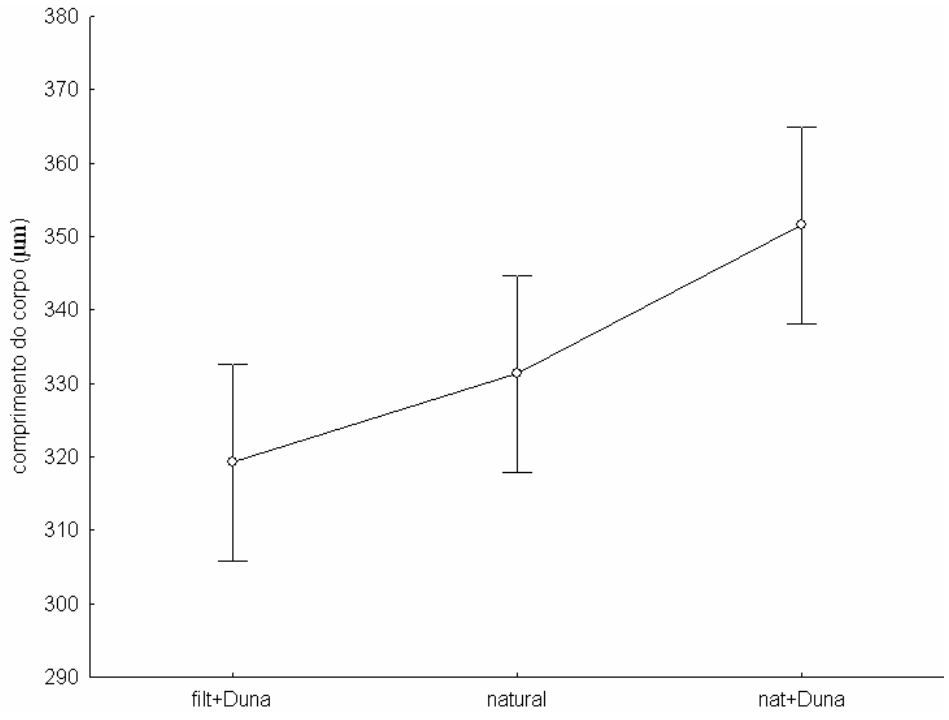

Figura 41: Comparação do crescimento da carapaça dos juvenis (µm) quando submetidos aos diferentes tipos de tratamento de água (água do mar filtrada com adição de *Dunaliella tertiolecta*, água do mar natural e água do mar natural com adição de *Dunaliella tertiolecta*).

Tabela II: Cronologia do desenvolvimento larval de *Encope emarginata* a partir da larva plúteo com 4 braços, de todos os experimentos realizados nos anos de 2006 e 2007

Estágios do Desenvolvimento larval quando cultivados em uma temperatura de 23ºC.	Água do mar filtrada em 0,80 µm (2006)	Água do mar filtrada + 50 cels.µl^{-1} de *Dunaliella tertiolecta* após período de inanição (2006)	Água do mar natural (2006)	Água do mar filtrada em 0,80 µm (2007)	Água do mar filtrada em 0,80 µm + 5 cels.µl-1 de *Dunaliella tertiolecta* (2007)	Água do mar natural (2007)	Água do mar Natural + 5 cels.µl^{-1} de *Dunaliella tertiolecta* (2007)	Água do mar filtrada e autoclavada (2007)
Larva pluteo 4 braços	45 h	45 h	45 h	40 h	40 h	40 h	40 h	40 h
Larva pluteo 6 braços	3 dias	3 dias	3 dias	3 dias	3 dias	3 dias	3 dias	3 dias
Larva plúteo início 8 braços	não	12 dias	5 dias	5 dias	5 dias	5 dias	5 dias	5 dias
Larva pluteo 8 braços completos	não	15 dias	8 dias	8 dias	8 dias	8 dias	8 dias	9 dias
Pés ambulacrais	Não	28 dias	não	não	não	23 dias	16 dias	não
Juvenil	não	35 dias	não	não	não	30 dias	25 dias	não

DISCUSSÃO

As larvas de espécies planctotróficas se desenvolvem a partir de óvulos relativamente pequenos, pouca quantidade de vitelo e prolongados períodos de desenvolvimento no plâncton (ALLEN & PERNET, 2007). STRATHMANN (1987) considera pequeno o diâmetro dos óvulos de equinóides encontrados numa faixa entre 80 a 170 µm. Dentro da ordem Clypeasteroida, poucas espécies apresentam óvulos grandes e algumas apresentam óvulos de tamanho intermediário e a maioria das espécies possui óvulos pequenos. EMLET (1986) considera que os óvulos de espécies planctotróficas possuem um diâmetro médio de 116,9 µm (entre 90–152 µm), enquanto que, óvulos de espécies lecitotróficas e com planctotrofia facultativa possuem um diâmetro médio de 285,3 µm (entre 276-300 µm). ECKERT (1995) adiciona ao critério de tamanho do óvulo/estratégia alimentar, o "tipo *E. michelini*", cujo diâmetro médio é de 180,7 µm (entre 174-190 µm). Neste estudo, consideramos pequeno o diâmetro dos óvulos encontrados para *Encope emarginata*. A tabela IV faz uma comparação do diâmetro de óvulos de 11 ouriços irregulares encontrados na literatura, sendo 6 espécies da família Mellitidae, com aquele encontrado para *Encope emarginata* neste trabalho.

Segundo LAWRENCE & HERRERA (2000), os óvulos são de coloração púrpura para *Echinodiscus bisperforatus*, ao contrário dos óvulos de *Dendraster excentricus* e *Clypeaster subdepressus*, cuja coloração vai do amarelo ao amarelo-alaranjado, típico de óvulos com alimentação planctotrófica. Esta coloração alaranjada foi encontrada para os óvulos de *Encope emarginata*.

O desenvolvimento embrionário de *Encope emarginata* comparado ao de uma outra espécie de ouriço irregular tropical, *Encope michelini*, difere inicialmente quanto ao diâmetro dos óvulos, maiores para *E. michelini* (ECKERT, 1995). As culturas mantidas sob as mesmas condições de laboratório para as duas espécies, conferem a *E. emarginata* um desenvolvimento mais acelerado até atingirem o estágio de larva prisma. A partir da larva

plúteo, *E. michelini* promove um desenvolvimento larval mais rápido, alcançando o último estágio larval (plúteo 8 braços) em 5 dias, contra 8 dias para *E. emarginata*. A metamorfose de *E. michelini* é alcançada entre 10 a 11 dias (ECKERT, 1995), enquanto que *E. emarginata* leva de 16 a 23 dias considerando as melhores condições de cultivo. Essas diferenças no tempo de desenvolvimento e crescimento larval entre as duas espécies, podem estar relacionadas às reservas vitelínicas contidas em seus respectivos óvulos. Esta hipótese foi confirmada com o trabalho de GEORGE *et al*., (1997) quando determinaram a composição de óvulos e larvas de *Encope michelini* comprovando que os óvulos desta espécie possuem um investimento energético maior do que outros óvulos com alimentação planctotrófica. Trabalhos sobre alocação de energia estão bem documentados na literatura (BOIDRON-METARION, 1988; STRATHMANN *et al*., 1993; FENAUX *et al*., 1994; TAVARES & BORZONE, 2006; REITZEL & HEYLAND, 2007; REITZEL & MINER, 2007).

MORTENSEN (1921,1937,1938) utilizou água do mar natural em todos os seus experimentos e conststou que esta possui alimento suficiente para que as larvas sobrevivam, cresçam e se metamorfoseiam com esta dieta devido à presença de protozoários, bactérias e material orgânico particulado. Durante os experimentos com *E.emarginata* no ano de 2007, foi possível comprovar estatisticamente a evolução do comprimento do corpo e do braço pós-oral medidos em função do fator alimento. Nas culturas mantidas em água do mar natural e água do mar natural suplementada com *Dunaliella tertiolecta*, o crescimento e o desenvolvimento larval foram maiores, alcançando a metamorfose e a obtenção dos juvenis em um período de tempo menor quando comparados aos outros tratamentos. Nos experimentos de ECKERT (1995) com *Encope michelini* os resultados foram semelhantes.

Um fator importante no cultivo de larvas é a influência da quantidade de alimento na sobrevivência e crescimento. OLSON & OLSON (1989) sugeriram que as larvas de

equinodermos são especialmente insensíveis a baixas concentrações de alimento. ECKERT (1995) demonstrou que uma concentração de 5 cels.µl^{-1} de *Dunaliella tertiolecta* é suficiente para cultivar larvas de *Encope michelini*. Neste trabalho, não foram observadas diferenças na sobrevivência, crescimento e desenvolvimento das larvas quando cultivadas em concentrações de 50 cels.µl^{-1} ou 5 cels.µl^{-1} de *Dunaliella tertiolecta,* quando adicionadas em água filtrada ou água natural. REITZEL *et al*. (2005) utilizaram 2 cels.µl^{-1} e 6 cels.µl^{-1} para cultivarem larvas de outras duas espécies de clipeasteróides, *Leodia sexiesperforata* e *Mellita tenuis.* Para as larvas de *Encope emarginata*, não foram observados efeitos negativos quando cultivadas em altas concentrações de *Dunaliella tertiolecta* (50 cels.µl^{-1}). A concentração de 5 cels.µl^{-1} de *Dunaliella tertiolecta* utilizada nos experimentos de 2007 também não afetou o crescimento e o desenvolvimento das larvas de *Encope emarginata*.

Se por um lado ECKERT (1995) não teve problemas com as altas concentrações de *Dunaliella tertiolecta* em seus experimentos, foram observados efeitos negativos em relação à sobrevivência das larvas em todas as suas réplicas, ao utilizar altas concentrações de *Isochrysis galbana* em água do mar natural. Segundo WILSON (1981), talvez esta espécie de microalga possa expelir metabólitos que são tóxicos às larvas em altas concentrações larvais quando utilizadas em experimentos com água do mar natural.

Os resultados obtidos para a sobrevivência, crescimento e desenvolvimento das larvas de *E. emarginata* revelaram que esta espécie possui uma estratégia alimentar planctotrófica porque suas larvas não constroem o rudimento (início do juvenil), nem alcança a metamorfose na ausência de alimento. Entretanto, assim como ECKERT (1995) descreveu para larvas de *Encope michelini*, as larvas de *E. emarginata* são diferentes das espécies previamente descritas como planctotróficas porque desenvolvem todas as suas estruturas larvais utilizando apenas seu material de reserva e ainda podem sobreviver por

um determinado tempo na coluna d'água na ausência de alimento particulado. Para FENAUX *et al*. (1988), este é um resultado considerado raro porque a maioria das larvas planctotróficas interrompe o crescimento em um estágio inicial, quando na ausência do alimento. Seus experimentos de inanição com larvas de *Paracentrotus lividus* mostraram que as larvas (cultivadas apenas em água do mar filtrada) cessaram seu crescimento após 5 dias e não alcançaram o estágio de 4 braços, demonstrando que larvas de *Paracentrotus lividus* são altamente dependentes do alimento.

Segundo STRATHMANN (1987), as larvas de equinóides alocam mais energia nas estruturas alimentares (braços larvais ciliados e nas hastes internas que os suportam) quando o alimento no ambiente é escasso. Quantificar o crescimento dos braços é uma forma de sabermos o quanto de energia a larva aloca em sua banda ciliada auxiliando na alimentação (MCEDWARD, 1984, 1986a,b). Outras larvas de equinodermos de espécies temperadas e tropicais têm demonstrado a capacidade de aumentar o comprimento da banda ciliada para auxiliar na alimentação, sob concentrações muito baixas de alimento (HART & SCHEIBLING, 1988; STRATHMANN *et al*., 1992; MINER, 2003).

Os resultados dos experimentos de inanição de *Encope emarginata* sugerem a existência de uma plasticidade fenotípica nas larvas considerando o fator alimento. Larvas de *Dendraster excentricus* tiveram um comportamento semelhante (BOIDRON-METAIRON, 1988) após passarem por um período de inanição, parando seu desenvolvimento no estágio plúteo de 4 braços. Após este período, voltaram a se alimentar produzindo larvas com braços maiores e um corpo menor. Para ECKERT (1995), esta plasticidade não ficou muito clara em seus experimentos com *Encope michelini*. Os resultados que ele obteve com as larvas cultivadas em água autoclavada em muito se assemelham aos resultados obtidos com o mesmo experimento em *Encope emarginata*, quando as larvas apresentaram braços

menores do que quando foram cultivadas em água filtrada sem qualquer suplemento alimentar.

O desenvolvimento larval de *E. emarginata* cultivadas apenas em água filtrada não ultrapassou os primeiros 6 braços nos experimentos realizados no ano de 2006, mas as larvas sobreviveram por 32 dias. Estas não completaram o crescimento e desenvolvimento dos 8 braços larvais, por conseguinte não alcançaram a metamorfose. Provavelmente, este resultado está associado a pouca alocação de energia contida nas larvas. Portanto, comparando os experimentos realizados nos anos de 2006 e 2007, os progenitores foram diferentes, assim como, as culturas foram realizadas em meses diferentes de cada ano, o que pode ter influenciado nos resultados. Segundo McEdwards (1984), o crescimento e desenvolvimento larval de equinóides até o estágio de 8 braços consomem muito menos energia do que quando o rudimento está sendo construído (início da metamorfose). A atividade metabólica chega mais do que triplicar durante este período. Esta relação pode explicar os diferentes resultados apresentados para as larvas mantidas em água do mar filtrada nos experimentos de 2006 e 2007. Provavelmente nos experimentos de 2006, as reservas vitelínicas dos progenitores foram baixas e, conseqüentemente, foram consumidas nos primeiros estágios do desenvolvimento. Já naqueles de 2007, a alocação de energia provavelmente foi maior, promovendo a construção de todas as estruturas larvais, contudo não se metamorfosearam.

O efeito que a alimentação tem no tempo de desenvolvimento larval planctotrófico, na sobrevivência e subseqüente tamanho dos juvenis têm sido bastante estudado para um grande número de invertebrados marinhos (Boidron-Metarion, 1995). As larvas cultivadas em uma concentração maior de alimento reduzem o tempo do seu desenvolvimento e do processo da metamorfose, produzindo juvenis com diâmetros de carapaça maiores, quando comparadas com larvas cultivadas em menor quantidade de

alimento (REITZEL *et al*, 2005). Experimentos utilizando alimentos de melhor qualidade têm resultado em menores tempos de desenvolvimento e/ou tamanhos maiores de juvenis (HINEGARDNER, 1969; ANGER *et al*., 1986; MCEDWARD & HERRERA, 1999). *Encope emarginata* teve seu período larval reduzido sob condições de maior quantidade e qualidade de alimento. O mesmo foi observado para os juvenis resultantes desse tipo de tratamento, cujas carapaças tiveram um crescimento maior, quando comparados aos outros tratamentos.

O desenvolvimento alimentar lecitotrófico é incomum entre as espécies de clipeasteróides (LAWRENCE & HERRERA, 2000). Espécies com planctotrofia facultativa têm sido estudadas em algumas espécies de equinóides (HERRERA *et al*., 1996) e nudibrânquios (KEMPF & HADFIELD, 1985; KEMPF & TODD, 1989). Esses autores enfatizaram que esta capacidade é uma adaptação das larvas às condições limitantes de alimento. Segundo EMLET (1986), a estratégia alimentar de planctotrofia facultativa até a metamorfose ocorre apenas em uma única espécie de clipeasteróide, *Clypeaster rosaceus*.

REITZEL *et al.* (2005) utilizaram dois clipeasteróides subtropicais bem próximos filogeneticamente, que diferem na quantidade de reservas vitelínicas para comparar os períodos de alimentação facultativa: *Mellita tenuis* (possui óvulos menores, pequeno período de alimentação facultativa) e *Leodia sexiesperforata* (possui óvulos maiores, período de alimentação facultativa longo). ECKERT (1995) não fez essa abordagem em seus experimentos com *Encope michelini*. Em sua opinião, a existência de diferentes estratégias alimentares (facultativa, planctotrófica, planctotrófica de óvulos grandes e lecitotróficas) dentro da ordem Clypeasteroida indica que a distribuição das estratégias alimentares é muito mais abrangente do que se pensava anteriormente.

Por saber que *Encope michelini* possui altos valores de lipídios, carboidratos e proteína, provavelmente possui um longo período alimentar planctotrófico facultativo.

Ainda não podemos comparar esses resultados com as larvas de *Encope emarginata* porque durante este trabalho não foram realizadas análises do conteúdo lipídico e de carboidratos de seus óvulos e larvas, o que é essencial para esta avaliação.

Tabela IV: Diâmetro dos óvulos (µm), período larval (dias), temperatura da cultura (ºC) e referência de algumas espécies de ouriços irregulares.

CONCLUSÕES

Taxa	Diâmetro do óvulo (µm)	Período larval (dias)	Temperatura (ºC)	Referência
Família Mellitidae				
Encope aberrans	190	6	27	Herrera *et al*. 1996
Encope michelini	170	9	27	Herrera *et al*. 1996
	174	10	23	Eckert, 1995
Encope emarginata	**143**	**23**	**23**	**Este trabalho**
Leodia sexiesperforata	208	6.5	27	Herrera *et al*. 1996
Mellita quinquiesperforata	110	6	27	Herrera *et al*. 1996
Mellita quinquiesperforata	110	7	27	Caldwell, 1972; Emlet *et al*., 1987
Mellita tenuis	122	-	-	Reitzel *et al*. 2005
Família Clypeasteridae				
Clypeaster rosaceus	280	7	27	Emlet, 1986
Clypeaster rosaceus	280	6	27	Herrera *et al*. 1996
Clypeaster rosaceus	274			Miner *et al*.,2002
Clypeaster subdepressus	150	11	27	Herrera *et al*. 1996
Clypeaster subdepressus	150	16	27	Emlet *et al*., 1987
Família Dendrasteridae				
Dendraster excentricus	118	38	12.5	Highsmith,1982; Strathmann, 1987
Dendraster excentricu	118	21	15	Emlet *et al*., 1987
Dendraster excentricu	128	-	-	Podolsky,2002
Família Echinarachniidae				
Echinarachnius parma	145	31.5	10	Harvey, 1956; Emlet *et al*., 1987
Família Astriclypeidae				
Astriclypeus manni	190	25	20	Tominaga, 1998
Echinodiscus tenuissimus	210	25	20	Tominaga, 1998

- Os óvulos de *Encope emarginata* possuem um diâmetro pequeno (de 143 µm, em média), coloração alaranjada e são envolvidos por uma membrana gelatinosa. As desovas podem ser numerosas dependendo do estado de maturação das fêmeas. O desenvolvimento embrionário é rápido e intenso com a membrana de fertilização formada quinze minutos após a inseminação dos gametas e a primeira divisão celular ocorrendo 50 minutos após. Seu período embrionário dura pelo menos 16 horas.

- As larvas de *Encope emarginata* possuem quatro pares de braços: pós-oral, anterolateral, pré-oral e posterodorsal. São transparentes e apresentam uma pigmentação avermelhada no corpo, nas extremidades dos braços e ao longo da banda ciliada. As hastes de sustentação dos braços larvais são fenestradas, típica das larvas de clipeasteróides. A duração do período planctônico está relacionada às partículas alimentares presentes na coluna d'água.

- As larvas de *Encope emarginata* não possuem alimentação planctotrófica facultativa, pois apesar de construirem todas as estruturas larvais e sobreviverem sem a presença de alimento, não conseguem se metamorfosear na ausência dele. Essas larvas possuem hábitos alimentares planctotróficos, porém, essa estratégia permite que as larvas permaneçam por longos períodos sem se alimentar diretamente do plâncton, utilizando eneria apenas de suas reservas vitelínicas.

- As larvas de *Encope emarginata* apresentaram plasticidade fenotípica, alterando suas estruturas larvais em função da disponibilidade alimentar.

- *Encope emarginata* desenvolve larvas com um alto poder de dispersão devido às características de seus óvulos, aliadas aos hábitos alimentares larvais que determinam um período de 23 dias no plâncton.

- Os juvenis apresentaram plasticidade fenotípica em função do alimento disponível e mantiveram a pigmentação avermelhada encontrada durante o período larval em suas carapaças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGER, K; ANGER, V. & HAGMEIER, E**.,** 1987. Laboratory studies on larval growth of *Polydora ligni*, *Polydora ciliate* and *Pygospio elegans* (Polychaeta, Spionidae). **Helgolander Meeresuntersuchungen, 40**: 377-395.

ALLEN, J. D. & PERNET, B., 2007. Intermediate modes of larval development: bridging the gap between planktotrophy and lecithotrophy. **Evolution & Development, 9**:6, 643 – 653.

BERTRAM, D.F. & STRATHMANN, R.R**.,** 1988. Effects of maternal and larval nutrition on growth and form planktotrophic larvae. **Ecology, 79:** 315- 327.

BOIDRON-METAIRON, I.F., 1988. Morphological plasticity in laboratory reared echinoplutei *of Dendraster excentricus* (Eschscholtz) and *Lytechinus variegatus* (Lamarck) in response to food conditions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 119** (1): 31:41.

BOIDRON-METAIRON, I.F., 1995. Larval nutrition. In: McEDWARD, L. R. (ed.), **Ecology of Marine Invertebrate Larvae**. CRC Press, Boca Raton, FL, 223-248.

BYME, M.; EMLET, R.B. & CERRA, A., 2001. Ciliated band structure in planktotrophic and lecitotrophic larvae of Heliocidaris species (Echinodermata: Echinoidea): a demonstration of conservation and change. **Acta Zoologica, 82** (3): 189-199.

BRADSHAW, A.D**.,** 1965. Evolutionary significance of phenotypic in plants. **Avances in Genetics, 13**: 115-155.

CHIA, F.S., 1974. Classification and adaptative significance of developmental patterns in marine invertebrates. **Thalassia Jugoslavica, 10**: 121- 130.

ECKERT, G.L., 1995. A novel larval feeding strategy of the tropical sand dollar, *Encope michelini* (Agassiz): Adaptation to food limitation and an evolutionary link between

planktotrophy and lecithotrophy. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, **187**: 103-128.

EMLET, R.B., 1986. Facultative planktotrophy in the tropical echinoid *Clypeaster rosaceus* (Linnaeus) and a comparison with obligate planktotrophy in *Clypeaster subdepressus* (Gray) (Clypeasteroida:Echinoidea) **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, **95**(2): 183-202.

EMLET, R.B.; YOUNG, C.M. & GEORGE, S. B., 2002. Phylum Echinodermata: Echinoidea. **Atlas of Marine Invertebrate Larvae**, **28**: 531- 551.

FENAUX, L. & RASSOULZADEGAN, F., 1988. Sensitivity of different morphological stages of the larva of *Paracentrotus lividus* (Lamarck) to quantity and quality of food. In BURKE R.D. (ed.) **Echinoderm biology**. Balkema. P. 259-266.

FENAUX, L; M.F. STRATHMANN & R.R. STRATHMANN, 1994. Five tests of food-limited growth of larvae in coastal waters by comparisons of rates of development and form of echinoplutei. **Limnology and Oceanography, 39**(1): 84 – 98.

GEORGE, S.B.; YOUNG, C. M. & FENAUX, L., 1997. Proximate composition of eggs and larvae of the sand dollar *Encope michelini* (Agassiz): the advantage of higher investment in planktotrophic eggs. **Journal of Invertebrate, Reproduction and Development, 32**: 11 – 19.

HART, M. W. & STRATHMANN, R.R., 1994. Functional consequences of phenotypic plasticity in echinoid larvae. **Biological Bulletin, 186**: 291 – 299.

HART, M.W., 1996. Evolutionary loss of larval feeding: development, form and function in a facultatively feeding larva, *Brisaster latifrons*. **Evolution, 50**: 174 – 187.

HERRERA, J.C.; McWEENEY, S.K. & McEDWARD, L.R., 1996. Diversity of energetic strategies among echinoid larvae and the transition from feeding to nonfeeding development. **Oceanological Acta, 19**: 313-321.

HINEGARDNER, R.T., 1969. Growth and development of the laboratory cultured sea urchin. **Biological Bulletin, 137**: 465-475.

KEMPF, S.C. & HADFIELD, M.G., 1985. Planktotrophy by the lecithotrophic larvae of a nudibranch, *Phestilla sibogae* (Gastropoda). **Biological Bulletin,** 169: 119- 129.

KEMPF, S.C. & TODD, C.D., 1989. Feeding potential in the lecithotrophic larvae of *Adalaria proxima* and *Tritonia hombergi*: an evolutionary prospective. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 69**: 659-682.

LAWRENCE, J.M. & HERRERA, J., 2000. Stress and deviant reproduction in echinoderms. **Zoological Studies, 39** (3): 151 – 171.

LEVITAN, D.R., 2000. Optimal egg size in marine invertebrates: Theory and phylogenetic analysis of the critical relationship between egg size and development time in echinoids. **The American Naturalist, 156** (2): 175 – 192.

MAYR, E., 1954. "Geographic speciation in tropical Echinoid. **Evolution, 8** (1): 1 – 18.

McEDWARDS, L.R., 1984. Morphometric and metabolic analysis of the growth and form of an echinoplutei. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 82** (2-3): 259-287.

McEDWARDS, L.R., 1986b. Comparative morphometrics of echinoderm larvae. II. Larval size, shape, growth and the scaling of feeding and metabolism in echinoplutei. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 96** (3): 267-286.

McEDWARD, L.R., 1997. Reproductive strategies of marine benthic invertebrates revisited: facultative feeding by planktotrophic larvae. **The American Naturalist, 150**: 48-72.

McEDWARD, L.R. & HERRERA, J.C., 1999. Body form and skeletal morphometrics during larval development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* Lamarck. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 232:** 151-176.

McEDWARD, L.R. & MINER, B.G., 2001. Larval and life-cycle patterns in echinoderms. **Canadian Journal of Zoology, 79**: 1125-1170.

MEIDEL, S.K.; SCHEIBLING, R.E. & METAXAS, A., 1999. Relative importance of parental and larval nutrition on larval development and metamorphosis of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 240**: 161-178.

MINER, B.G.; COWART, J.D. & McEDWARD, L.R., 2002. Egg energetics for the facultative planktotroph *Clypeaster rosaceus* (Echinodermata: Echinoidea), revisited. **Biological Bulletin, 202**: 97 – 99.

MINER, B.G., 2005. Evolution of feeding structure plasticity in marine invertebrate larvae: a possible trade-off between arm length and stomach size. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 315**: 117-125.

MORGAN, R. & JANGOUX, M., 2005. Larval morphometrics and influence of adults on settlement in the gregarious Ophiuroid *Ophiothrix fragilis*. **Biological Bulletin, 208**: 92 – 99.

MORTENSEN, T., 1921. **Studies on the development and larval forms of echinoderms**. G. E. C. Gad, Copenhagen, 261 p.

MORTENSEN, T., 1937. Contributions to the study of the development and larval forms of echinoderms III. **Dan. Vidensky. Selsk. 9**(7): 1– 65.

MORTENSEN, T., 1938. Contributions to the study of the development and larval forms of echinoderms IV. **Dan. Vidensky. Selsk. 9**(7): 1– 59.

OKAZAKI, K., 1975 b. Normal development to metamorphosis. In: **Czihak**: p.177-232.

OLSON, R.R. & OLSON, M.H.**,** 1989. Food alimentation of planktotrophic arine invertebrate larvae: Does it control recruitment success? **Annual Review of Ecology and Systematics, 20**: 225-247.

PODOLSKY, R.D., 2002. Fertilization ecology of eggs coats: physical versus chemical contributions to fertilization sucess of free-spawned eggs. **Journal of Experimental Biology, 205**: 1657 - 1668.

REITZEL, A. M.; MILES, C.M.; HEYLAND, A.; COWART, J.D. & MCEDWARD, L. R., 2005. The contribution of the facultative feeding period to echinoid larval development and size at metamorphosis: a comparative approach. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 317**: 189 – 201.

REITZEL, A. M. & MINER, B.G**.,** 2007. Reduction planctotrophy in larvae of *Clypeaster rosaceus* (Echinodermata, Echinoidea). **Marine Biology, 151**: 1525 – 1534.

REITZEL, A . M. & HEYLAND, A., 2007. Reduction morphological plasticity in echinoid larvae: relationship of plasticity with maternal investment and food availability. **Evolutionary Ecology Research, 9**: 109-121.

SEWELL, M. A.; M.J. CAMERON & McARDLE, B. H., 2004. Development plasticity in larval development in the echinometrid sea urchin *Evechinus chloroticus* with varying food ration. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 309**: 219 – 237.

SHILLING, F.M., 1995. Morphological and physiological responses of echinoderm larvae to nutritive signals. **American Zoological**, **35**: 399-414.

SINERVO, B. & MCEDWARD, L.R., 1988. Developmental consequences of an evolutionary change in egg size: an experimental test. **Evolution, 42**: 888-899.

STRATHMANN, R.R., 1971. The feeding behavior of planktotrophic echinoderm larvae: mechanisms, regulation and rates of suspension feeding. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 6**(2): 109-160.

STRATHMANN, M.F., 1987. **Reproduction and development of marine invertebrates of the Pacific coast.** University of Washington Press, Seattle, 670 p.

STRATHMANN, R.R., 1993. Hypotheses on the origins of marine larvae. **Annual Review of Ecology and Systematics, 24**: 89 – 117.

STRATHMANN, R.R.; FENAUX, L.; SEWEL, A.T. & STRATHMANN, M.F., 1993. Abundance of food affects relative size of larval and postlarval structures of a molluscan veliger. **Biological Bulletin, 185**: 232-239.

STRICKLAND, J.D.H. & PARSONS, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. **Bulletin Fisheries Research Board of Canada**, 7:310 p.

TAVARES, Y.A.G. & BORZONE, C.A., 2006. Reproductive cycle of *Mellita quinquiesperforata* (Leske) (Echinodermata, Echinoidea) in two contasting beach environments. **Revista Brasileira de Zoologia, 23**(2): 573 – 580.

THOMPSON, T.E., 1958. The natural history, embryology, larval biology and post larval development of *Adalaria proxima*. **Philosophical Transactions Royal Society, 242**: 1-58.

THORSON, G., 1946. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. **Biological Reviews, 25**: 1-45.

TOMINAGA, H., 1998. Development of the Japanese keyhole sea urchins, *Astriclypeus manni* Verril and *Echinodiscus tenuissimus* (L.Agassiz & Desor). In: R.MOOI & M.TELFORD (eds.). **Proceedings of the 9th International Conference of Echinoderms**. Balkema, Rotterdam.

TOMINAGA, H.; NAKAMURA, S. & KOMATSU, M., 2004. Reproduction and development of the conspicuously dimorphic brittle star *Ophiodaphne formata* (Ophiuroidea). **Biological Bulletin, 206**: 25 – 34.

VANCE, R.R., 1973. On reproductive strategiers in marine benthic invertebrates. **The American Naturalist, 107**: 339-352.

WALNE, P.R., 1966. Experiments in the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis*. **Fishery Investigations**, London, Serie 2, 25 (4): 1-53.

WILSON, D.P., 1981. An experimental search for phytoplanktonic algae producing external metabolites which condition natural sea waters. **Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom, 61**: 972-986.

CAPÍTULO II: VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS INTERPOPULACIONAIS DE *ENCOPE EMARGINATA* (Leske, 1778) AO LONGO DA COSTA BRASILEIRA, ENTRE 13º S E 30º S.

RESUMO

Encope emarginata é uma espécie com ampla distribuição geográfica (desde o Golfo do México até a Argentina). Foram realizadas comparações morfológicas entre sete populações entre Salvador (BA) e Rio Grande (RS) utilizando 33 parâmetros morfométricos. A distância entre as populações variou de 50 a 1.000 km. Análises multivariadas foram aplicadas para a comparação morfológica das populações. A regressão de cada variável morfométrica foi realizada através do primeiro fator da Análise de Componentes Principais (ACP) responsável por 82,8% da variação total, representando o tamanho dos espécimes. As análises canônicas realizadas com os resíduos da ACP (variação livre do tamanho) separaram todas as populações nas duas primeiras variáveis canônicas (75% da variação total), exceto aquelas populações geograficamente próximas (Parati e Angra dos Reis). O padrão de diferenciação parece estar associado com as características morfológicas e condições ambientais: os espécimes provenientes da Bahia e Espírito Santo apresentaram a lúnula V mais comprida e o canal de drenagem V mais largo; espécimes do Rio Grande do Sul e Paraná apresentaram a carapaça mais espessa na parte posterior e suas lúnulas são mais próximas ao madreporito, principalmente as lúnulas V e anal; entre as populações do Rio de Janeiro (Angra dos Reis, Parati e Ilha de Cabo Frio), apenas os espécimes da Ilha de Cabo Frio mostraram as carapaças assimétricas, mais espessas na sua parte anterior. Dois processos principais podem ser considerados para explicar este padrão: diferenciação alopátrica através de barreiras para dispersão larval e fluxo gênico e, a plasticidade fenotípica ocasionada por correntes marinhas e condições térmicas que poderiam determinar a espessura da carapaça de *Encope emarginata.*

ABSTRACT

Encope emarginata has an extensive distribution range, from Gulf of Mexico to Argentina. Morphological comparisons of seven populations from Salvador (BA) to Rio Grande (RS) were based on 33 measured features. Distance between adjacent populations ranged from 50 to 1,000 km. Species discrimination was assessed by means of the size-free Canonical Variate Analysis (CVA). Regression of each morphometric variable on the first factor provided by a Principal Component Analysis was calculated first to remove the effect of size. Residuals were submitted to the CVA. All populations were discriminated in the first two canonical variables (75% of total variation) except for the closest geographical populations (Parati and Angra dos Reis). The pattern of discrimination seems to be associated with morphological features and environmental conditions: specimens from Bahia and Espírito Santo have longer lunule V and wider pressure drainage channel V; specimens from Rio Grande do Sul and Paraná were mainly distinguished by thicker tests at the posterior part and high-domed. Their lunules are closer to the madreporite, mainly regarding lunule V and the anal lunule; among populations from Rio de Janeiro (Parati, Angra dos Reis and Cabo Frio), only specimens from Cabo Frio showed a contrasting pattern with asymmetrical tests, thicker at the anterior part. Two main processes may be considered for explaining the recorded pattern: allopatric differentiation through barriers to larval dispersal and gene flow; and phenotypic plasticity regarding sea-water current and thermal conditions that could determine test thickness in *Encope emarginata*.

Key words: Encope, populations, phenotypic plasticity, morphological features, barriers.

INTRODUÇÃO

Comparar as características anatômicas dos organismos tem sido tema central do estudo da biologia comparada através dos séculos. A classificação taxonômica dos organismos e a compreensão da diversidade da vida biológica foram historicamente baseadas nas descrições da morfologia.

Os estudos morfológicos incluíam dados quantitativos para uma ou mais variáveis, sumarizadas em valores médios e comparados entre os grupos (BUMPUS, 1898). Distâncias lineares de medidas como, comprimento, largura e altura, eram utilizadas nas análises. Com essas abordagens, a covariância das medidas morfológicas era quantificada e os padrões de variação dentro e entre as amostras podiam ser determinados.

O desenvolvimento de métodos estatísticos tais como: coeficiente de correlação (PEARSON, 1901), análises de variância (FISHER, 1935) e análises de componentes principais (PEARSON, 1901; HOTELLING, 1933) foram fundamentais no desenvolvimento dos estudos morfométricos. Nesse período, a biologia passou de um campo descritivo para uma ciência quantitativa, o que BOOKSTEIN (1998) chamou de “revolução quantitativa”.

Nas décadas de 60 e 70 do século XX, a descrição quantitativa da morfologia combinada com análises estatísticas descrevia padrões na variação da forma, dentro e entre os grupos. Esta abordagem foi chamada de morfometria tradicional (MARCUS, 1990; REYMENT, 1991) ou morfometria mutltivariada (BLACKITH & REYMENT, 1971) que consiste na aplicação de análises multivariadas a um conjunto de variáveis morfológicas.

Devido às medidas lineares estarem altamente correlacionadas com o tamanho (BOOKSTEIN *et al*., 1985), muito se fez no desenvolvimento de métodos capazes de retirar o efeito do tamanho das variáveis da forma e explicar seus padrões de variação (SUNDBERG, 1989; JUNGERS *et al*., 1995).

Por definição, a morfometria é o estudo da forma e sua covariação com outras variáveis (BOOKSTEIN, 1989, 1998; DRYDEN & MARDIA, 1998). Após um estudo morfométrico, as causas das diferenças na forma entre os organismos são consideradas, sejam elas ecológicas ou filogenéticas (MONTEIRO & REIS, 1999).

As populações de ouriço-do-mar, freqüentemente, apresentam diferentes características morfológicas e fisiológicas de acordo com o ambiente em que vivem (EBERT, 1996). Quando as populações não são geneticamente isoladas, as variações observadas podem ser atribuídas às diferentes condições ambientais. Essas variações podem afetar vários parâmentros, tais como: taxa de crescimento, reprodução e morfologia corporal (RÉGIS, 1978; LUMINGAS, 1994; LOZANO *et al*., 1995; TURON *et al*., 1995). Assim, os ouriços-do-mar podem adaptar seus parâmetros fisiológicos em resposta à temperatura, hidrodinamismo e, particularmente, à qualidade e quantidade de alimento disponível (LAWRENCE & LANE, 1982).

Outro fator que tem um forte impacto sobre a estrutura da carapaça e no padrão de crescimento dos equinodermos é a poluição. A deformação causada na carapaça de ouriços não está relacionada apenas com as mudanças ambientais ou genéticas (DAFNI, 1983), mas também por influência de altas concentrações de substâncias poluidoras. O crescimento anormal da carapaça pode ser uma conseqüência de força mecânica, causando estresse nas placas da carapaça. Esta força pode ser gerada pelos músculos retratores da lanterna de Aristóteles (BOTTGER & KLINGER, 1998).

A morfologia de diversas espécies de bolachas-da-praia tem sido bem estudada através de abordagens funcionais, ontogênicas e evolutivas. ALEXANDER & GHIOLD (1980) estudaram a função das lúnulas de *Mellita quinquiesperforata* analisando seu crescimento e desenvolvimento em espécimes mortos e vivos.

Os trabalhos sobre hidrodinamismo realizados por TELFORD (1981), TELFORD & HAROLD (1982) em muito contribuíram para a compreensão da estabilidade das bolachas-da-praia no sedimento. Em 1988, TELFORD realizou trabalhos envolvendo estudos ontogenéticos e de evolução com as lúnulas dos melitídeos.

TELFORD & MOOI (1987) examinaram a relação entre as dimensões de pódios e o tamanho das partículas capturadas durante o processo de alimentação. Para esses experimentos utilizaram as bolachas *Mellita quinquiesperforata* (que vive em sedimentos de origem silicosos terrígenos) e *Leodia sexiesperforata* (que vive em sedimentos de origem biogênico).

As bolachas-da-praia possuem uma morfologia rígida na sua carapaça, possuem margens bem definidas e características marcantes (tais como: lúnulas, recortes, sulcos alimentares, boca, ânus, petalóides, etc.) que podem ser facilmente identificadas. Neste sentido, técnicas morfométricas são utilizadas para comparar variações morfológicas entre populações (HAROLD AND TELFORD, 1990).

As espécies que possuem uma ampla faixa de distribuição geográfica, como é o caso de *Encope emarginata*, são boas candidatas a uma investigação exploratória mais profunda em sua variação morfológica porque as populações podem estar sob diferentes condições ambientais e, o fluxo gênico pode ser um fator limitante entre algumas delas.

Nos oceanos, as barreiras físicas para o fluxo gênico são raras. Neles, os microrganismos planctônicos constituem uma biota caracterizada pelo alto poder de dispersão e alta fecundidade (BENTON & PEARSON, 2001).

O surgimento do Istmo do Panamá há 3 milhões de anos, é um exemplo de barreira geográfica ao fluxo gênico. Ele isolou biotas entre o oceano Pacífico e o Mar do Caribe, envolvendo espécies de peixes, ouriços-do-mar, crustáceos, entre outros, promovendo o processo de especiação alopátrica (WEINBERG & STARCZAK, 1989).

Fenômenos como a ressurgência também podem constituir em uma barreira ao fluxo gênico. O litoral sudeste brasileiro é caracterizado por uma ressurgência costeira na região de Cabo Frio (23º S). A hidrologia local depende diretamente das condições meteorológicas, onde o padrão dos ventos é responsável pela distribuição das massas d'água (Água Costeira, Corrente do Brasil e das águas profundas e frias da Água Central do Atlântico Sul) (VALENTIN & COUTINHO, 1990). Sob a influência dos ventos E-NE e, como a plataforma continental é relativamente estreita nesta região, a água superficial costeira é deslocada para a direção leste, sendo substituída pela ACAS (Água Central do Atlântico Sul). Ao penetrar na camada eufótica, essa massa d'água sub-antártica profunda e fria influencia a estrutura desse ecossistema costeiro (VALENTIN & COUTINHO, 1990).

Estudos feitos com populações da estrela-do-mar *Coscinasterias tenuispina* (Lamarck, 1816) e do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) na região da ressurgência de Cabo Frio e fora desta, mostraram que o fluxo gênico entre populações é menor do que o esperado para tais distâncias geográficas (VENTURA *et al*., 1998; SILVA, 2002). Um fenômeno oceanográfico como a ressurgência, que provoca alterações abióticas e bióticas na massa d'água, pode funcionar como uma barreira geográfica e influenciar na diferenciação entre as populações de uma mesma espécie (VENTURA *et al*., 1998; SILVA, 2002).

A especiação no mar é pouco entendida, porque a biota marinha é constituída de táxon com alta capacidade dispersiva, o que em princípio proporcionaria altos níveis do fluxo gênico, com conseqüente homogeneização das populações, impedindo a formação de novas espécies. A capacidade de dispersão de um organismo marinho está relacionada com correntes e ondas, assim como o modo de reprodução dos organismos, propágulos e indivíduos, na coluna d'água. Além disso, para que a dispersão se efetive em fluxo gênico,

os novos recrutas deverão sobreviver até a idade reprodutiva (GOSLING, 1994; SILVA, 2002).

Em trabalho prévio com *Encope emarginata*, HOPKINS & VENTURA, 2001 encontraram diferenças morfológicas entre as populações de Salvador e Rio de Janeiro. Na ocasião, os autores enfatizaram a necessidade de estudos mais aprofundados (estudos de genética de populações e morfométricos abrangendo um maior número de populações), para testar a hipótese de existência de duas espécies diferentes na costa brasileira.

OBJETIVO

- Analisar morfologicamente, sob a abordagem da morfometria tradicional, as populações de *Encope emarginata* em sete localidades da costa brasileira, entre 13º S e 30º S, verificando a formação de eco-fenótipos ao longo da sua distribuição.

METODOLOGIA

Área de Estudo

Para as análises morfométricas foram utilizados entre 13 e 40 indivíduos provenientes de sete localidades entre as regiões sul, sudeste e nordeste da costa brasileira abrangendo uma extensão de 3.000 km (Tabela V). As distâncias entre as populações variaram entre 50 a 1.000 km (fig.42). Os espécimes provenientes do Espírito Santo foram coletados na Ilha do Boi, Vitória. Os do Cabo Frio foram coletados na Ilha de Cabo Frio. Os espécimes das demais populações foram coletados anteriormente e pertencem à Coleção de Echinodermata do Museu Nacional, RJ.

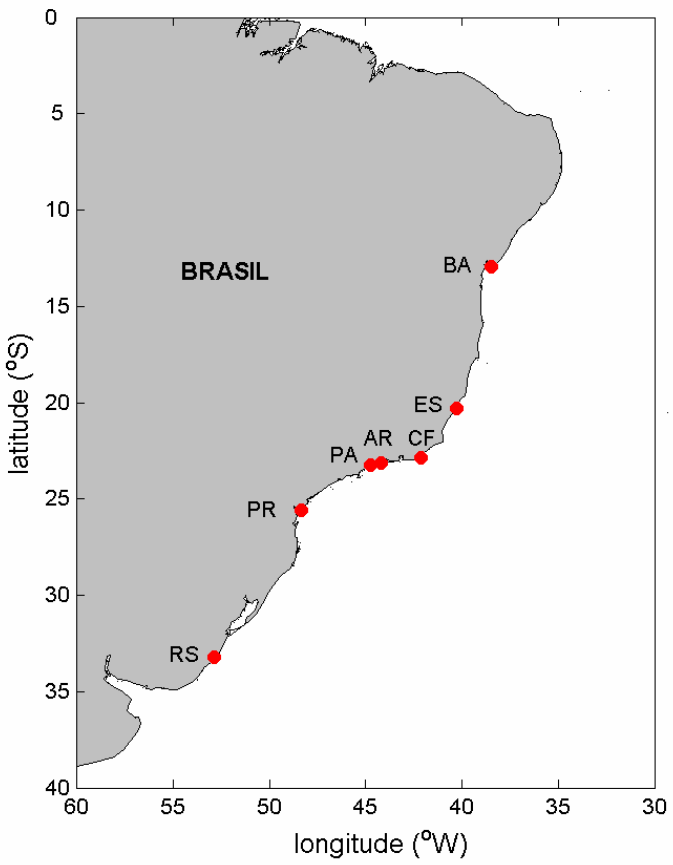

Figura 42: Mapa do litoral brasileiro mostrando a localização das sete populações de *Encope emarginata* estudadas. Salvador (BA), Vitória (ES), Ilha de Cabo Frio (CF), Parati (PA), Angra dos Reis (AR), Pontal do Sul (PR) e Rio Grande (RS).

A localização das populações, seus respectivos códigos e número de espécimes utilizados nas análises encontram-se na Tabela V.

Tabela V: Localização das populações, seus respectivos códigos e número de espécimes (N) utilizados nas análises.

Localidades	Códigos	Coordenadas		N
Rio Grande do Sul	RS	33°12’15”S	052°42’05”W	19
Paraná	PR	25°34’57”S	048°21’05”W	19
Parati	PA	23°12’55”S	044°42’40”W	13
Angra dos Reis	AR	23°06’34”S	044°12’42”W	40
Ilha de Cabo Frio	CF	23º00’03”S	042º00’20”W	40
Espírito Santo	ES	20°18’19”S	040°17’22”W	40
Bahia	BA	12°56’36”S	038°30’12”W	23

Análises morfométricas

Nas análises morfométricas, foram considerados 33 parâmetros baseados na variação da forma da carapaça, posições e dimensões das lúnulas e largura dos sulcos alimentares (HAROLD & TELFORD, 1990; VENTURA *et al.*, 2004). As variáveis e suas abreviações estão descritas na Tabela VI. As figuras 43a e b representam, respectivamente, as faces oral e aboral de *Encope emarginata*, onde foram realizadas as medidas morfométricas. A numeração segue o Sistema de Lóven, no qual o ambulacro é representado por algarismos romanos e o interambulacro por algarismos arábicos. A figura 44 mostra as medidas da espessura máxima (MAX) e sua posição na carapaça (POSTMAX). Para a realização das medidas foi utilizado um paquímetro digital com 0,01 mm de precisão.

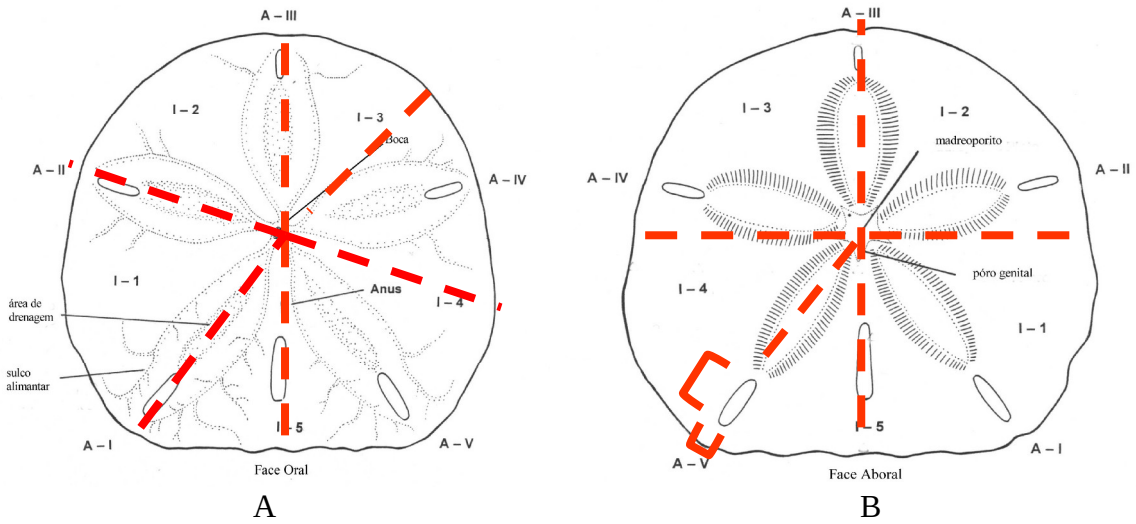

Figura 43: Esquema de *Encope emarginata*. A – Vista oral. B – Vista aboral. As linhas pontilhadas em vermelho são exemplos de medidas realizadas nas faces oral e aboral de *Encope emarginata* para o estudo morfométrico.

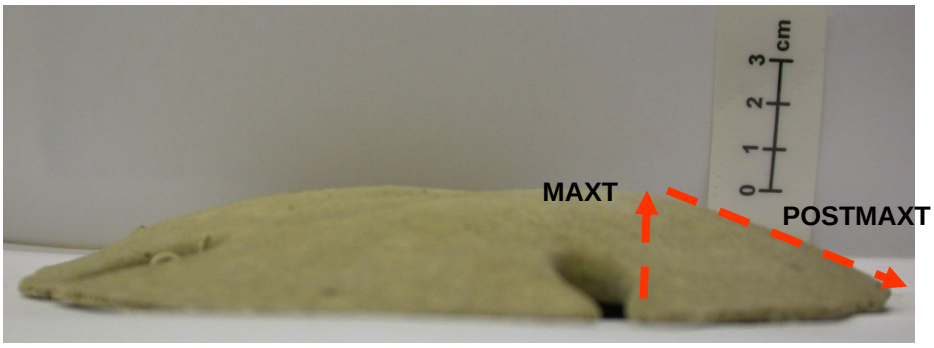

Figura 44: Perfil transversal de *Encope emarginata* mostrando as medidas da espessura máxima (MAX) e sua posição na carapaça (POSTMAX).

Tabela VI: Parâmetros morfológicos utilizados na análise morfométrica de *Encope emarginata*.

Parâmetros	**Abreviaturas**	**Descrições**
1. largura da carapaça	**W**	Distância entre a porção anterior e a posterior de maneira que passe pelo ponto central do indivíduo.
2. comprimento da carapaça	**L**	Distância entre o âmbito do ambulacro III (terminação anterior) e o âmbito do interambulacro V (terminação posterior)
3-5. comp. dos ambulacros I, II e III	**A-1, A-2 e A-3**	Desde a margem do peristômio até o âmbito dos ambulacros 1, 2 e 3
6-8. comp. dos interambulacros 3, 4 e 5	**I-3, I-4 e I-5**	Desde a margem do peristômio até o âmbito dos interambulacros 3, 4 e 5
9-10. comp. das lúnulas IV e V	**ALL-IV e ALL-V**	Medidas na face aboral
11-12. largura das lúnulas IV e V	**ALW-IV e ALW-V**	Medidas na face aboral, passando pela metade da lúnula
13-14. posição das lúnulas IV e V	**ALP-IV e ALP-V**	Desde a margem adapical aboral da lúnula até o centro do madreporito
15-17. Área de drenagem III, IV e V	**PD-III, PD-IV e PD-V**	Distancia máxima entre a área de drenagem e o sulco alimentar, na face oral
18-24. perfil longitudinal	**LP-1, LP-2, LP-3, LP-4,LP-5, LP-6 e LP-7**	Espessura da carapaça (“forma”) em sete (7) pontos eqüidistantes, passando por uma linha imaginária desde o âmbito do ambulacro III até o âmbito do interambulacro 5
25-27. perfil transversal	**TP-1, TP-2 e TP-3**	Espessura da carapaça em 3 pontos eqüidistantes, localizados no lado esquerdo da superfície aboral iniciando–se no ponto médio do eixo longitudinal e indo perpendicularmente ao eixo até o âmbito esquerdo.
28. espessura máxima	**MAXT**	Espessura máxima do perfil vertical ao longo do eixo anterior/posterior (do lado aboral ao oral)
29. comprimento da lúnula anal	**ANLUL**	Comprimento da lúnula que se encontra abaixo do ânus
30. largura da lúnula anal	**ANLUNW**	Largura da lúnula que se encontra abaixo do ânus
31. posição da lúnula anal	**ANLUNP**	Posição da lúnula que se encontra abaixo do ânus, medida na face aboral desde a margem da lúnula até o centro do madreporito
32. posição das placas apicais	**POSAP**	Medida a partir do centro do madreporito até o âmbito do ambulacro III
33. posição da espessura máxima	**POSMAXT**	Na superfície aboral é medido desde o âmbito anterior até a posição da espessura máxima

Dentre as análises multivariadas, foram utilizadas a análise de componentes principais (“ACP”) (BOOKSTEIN *et al.*, 1985) e a análise de variáveis canônica (“AVC”) com os resíduos da ACP, para retirar a influência do tamanho (REIS *et al.*, 1990).

A importância de cada caráter, como discriminante dos espécimes, foi avaliada por uma correlação (coeficiente de Pearson) entre os valores individuais canônicos e os valores de caracteres de cada indivíduo (STRAUSS,1985). A probabilidade de cada coeficiente de correlação ($P < 0.05$) foi calculada pelo método Bonferroni, usando o programa SYSTAT 10.0.

RESULTADOS

Um total de cento e noventa e quatro indivíduos de *Encope emarginata* foi medido, apresentando um comprimento médio de carapaça de 101 mm. O primeiro fator da ACP responsável por 82,8% da variação total, representa o tamanho dos espécimes. As análises canônicas realizadas com os resíduos da ACP (variação livre do tamanho) separaram todas as populações nas duas primeiras variáveis canônicas (75% da variação total), exceto para populações geograficamente próximas (Parati e Angra). Ambas, MANOVA para todas as variáveis (Wilks' Λ = 0.025; $F_{[186, 935]} = 4.37$; $p < 0.0001$) e ANOVA para cada duas primeiras variáveis canônicas foram significativas (CV1: $F_{[6, 187]} = 95.74$, $p < 0.001$; CV2: $F_{[6, 187]} = 54.41$, $p<0.001$). A porcentagem média de contribuições corretas dos indivíduos para as populações foi de 85%, exceto para a população de Angra dos Reis com 58%. Todas as outras populações mostraram valores entre 87% (Bahia) e 100% (Parati, Paraná e Rio Grande do Sul).

A variável Canônica 1 está associada principalmente pelas características: espessura da carapaça em 2 pontos situados entre o âmbito da ambulacro III até o âmbito do interambulacro 5 (LP-3, LP-4 e LP-7), espessura máxima do perfil vertical ao longo do eixo anterior/posterior (MAXT) e posição da lúnula anal (ANLUNP). Entretanto, a primeira variável é uma combinação de características relacionadas à espessura da carapaça e a posição da lúnula anal.

A variável Canônica 2 está associada à posição das lúnulas IV e V (ALP-IV e ALP-V), distância máxima entre a área de drenagem V e o sulco alimentar (PD-V), largura da lúnula V (ALW-V) e a espessura da carapaça em sua parte anterior (LP-1). Assim, a variável 2 é composta pelas características marginais da carapaça (comprimento e largura) (Tab. VII) (Fig. 45).

O padrão de distinção entre as populações parece estar associado com algumas características morfológicas. Por exemplo:

(1) os espécimes provenientes da Bahia e Espírito Santo possuem a lúnula V (ALL-V) mais comprida e o canal de drenagem V (PD-V) mais largo (Fig. 46 a,b);

(2) os espécimes provenientes do Rio Grande do Sul e do Paraná foram distintos principalmente pela carapaça mais espessa na parte posterior (LP-V) para os animais do RS e mais elevada (MAXT) para os do PR (Fig. 47). Suas lúnulas são menos marginais, isto é, mais próximas ao madreporito, do que em outras populações, considerando principalmente a lúnula V (ALP-V) e a lúnula anal (ANLUNP) (Fig. 48);

(3) No conjunto de populações do estado do Rio de Janeiro, as de Angra dos Reis e Parati mostraram grande semelhança entre si e com alguma interseção com as demais, assumindo uma posição intermediária. Apenas os espécimes da Ilha de Cabo Frio mostraram um padrão contrastante, com carapaças assimétricas, mais espessas na parte anterior (LP-2, LP-3 e LP-4) (Fig. 49).

Os resultados acima são mais evidentes quando apenas os centróides são representados (Figura 50). Portanto, as duas principais variáveis canônicas são uma combinação da espessura da carapaça, características marginais desta (razão largura/comprimento, posição das lúnulas e comprimento dos sulcos alimentares).

Considerando a espessura da carapaça, uma assimetria marcante foi observada entre as populações. A carapaça é mais espessa na parte anterior em espécimes da Ilha de Cabo Frio. Por outro lado, a carapaça é mais espessa na parte posterior nos espécimes provenientes do Paraná e Rio Grande do Sul. Todas as outras populações possuem carapaças simétricas.

Tabela VII: Coeficientes de Correlação de Pearson entre parâmetros morfológicos e as primeiras duas variáveis canônicas para espécimes de sete localidades diferentes ao longo da costa brasileira. (*) relacionado a diferenças significativas ($p < 0.05$)/ (**) relacionado as diferenças significativas ($p<0.01$).

Parâmetros morfológicos	CV 1	CV 2
L	*0.246	0.082
W	- 0.133	0.202
A -1	**0.318	0.137
A -2	* 0.263	**0.319
A -3	-0.147	- 0.014
I -3	-0.054	** 0.345
I -4	0.171	* 0.268
I -5	-0.223	0.215
ALL – IV	* 0.242	- 0.213
ALL –V	** 0.413	** -0.438
ALW- IV	0.008	-0.114
ALW –V	0.021	** -0.425
ALP –IV	-0.067	** 0.616
ALP –V	**-0.284	** 0.435
P.D. – III	0.058	0.066
P.D. – IV	0.214	-0.164
P.D. – V	** 0.360	** -0.457
LP -1	0.221	** -0.343
LP-2	** -0.313	** -0.299
LP -3	** -0.639	0.194
LP -4	** -0.765	-0.016
LP -5	-0.132	** 0.342
LP -6	** 0.311	** 0.297
LP -7	** 0.596	** 0.302
TP -1	**0.330	-0.050
TP -2	0.150	-0.029
TP -3	** -0.441	0.122
MAXT	** -0.635	** 0.286
ANLUL	** 0.313	-0.103
ANLUNW	** 0.381	0.085
ANLUNP	** -0.524	-0.021
POSAP	-0.149	0.136
POSMAXT	0.127	0,091

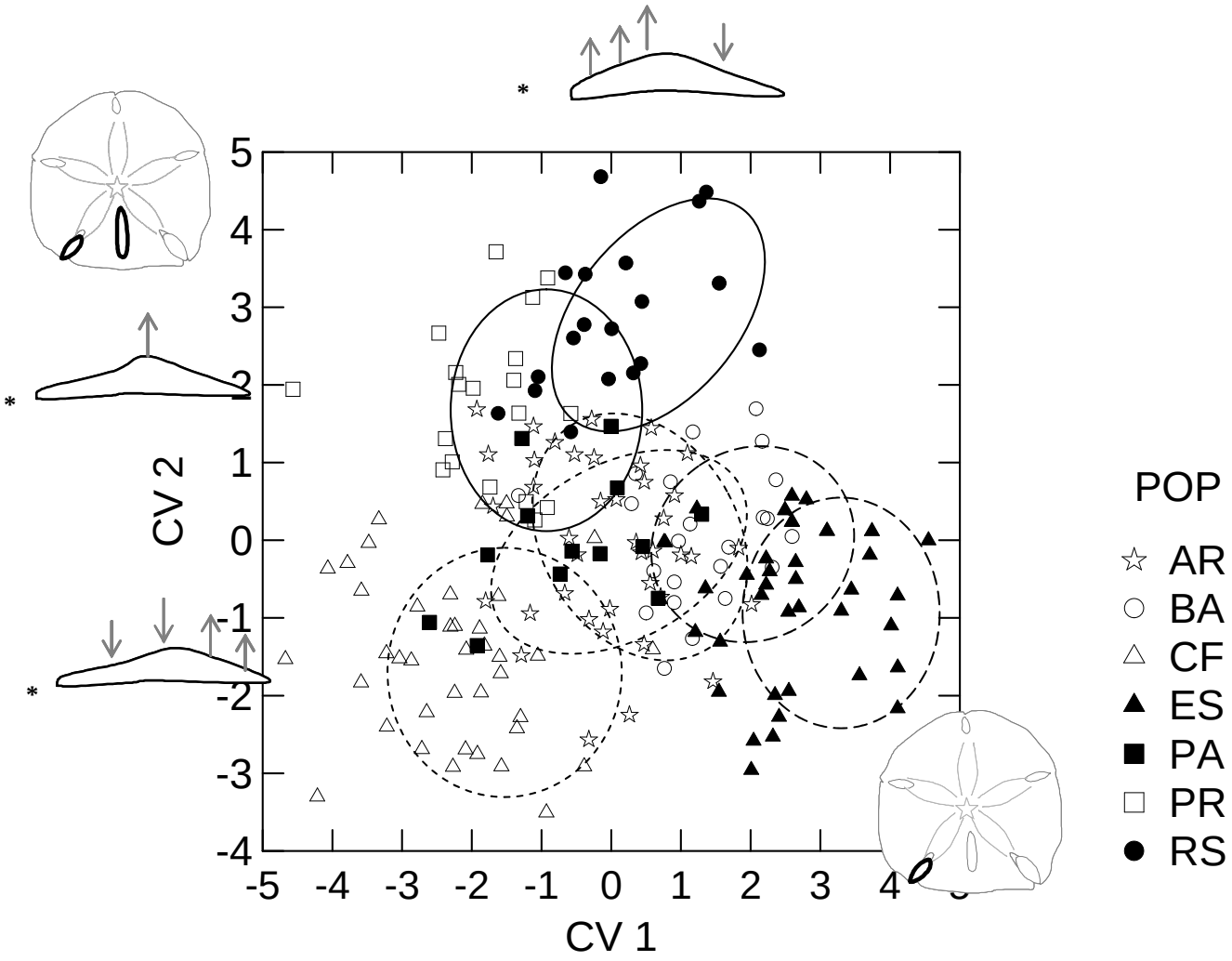

Figura 45: Análises canônicas realizadas com os resíduos da ACP (variação livre do tamanho). AR= Angra dos Reis; BA= Bahia; CF= Cabo Frio; ES= Espírito Santo; PA= Parati; PR= Paraná e RS= Rio Grande do Sul. Os círculos e elipses representam os intervalos de confiança. As elipses são os desvios padrões médios de cada população. As figuras dos ouriços representam as variações das características principais (linhas e setas pretas). Setas voltadas para cima significam pontos mais espessos na carapaça. Setas voltadas para baixo significam pontos menos espessos na carapaça. (*) indica a região posterior da carapaça.

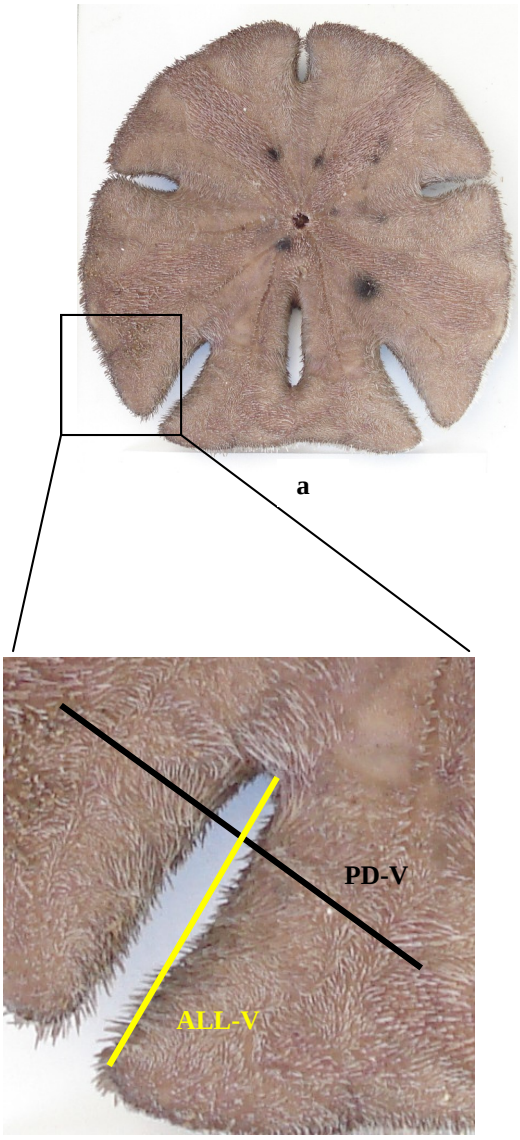

Figura 46a: Espécime representante das populações da Bahia (BA) e Espírito Santo (ES) que se caracterizaram por apresentar a lúnula V (ALL-V) mais comprida e o canal de drenagem V mais largo (PD-V). b: mostra o detalhamento dessas características.

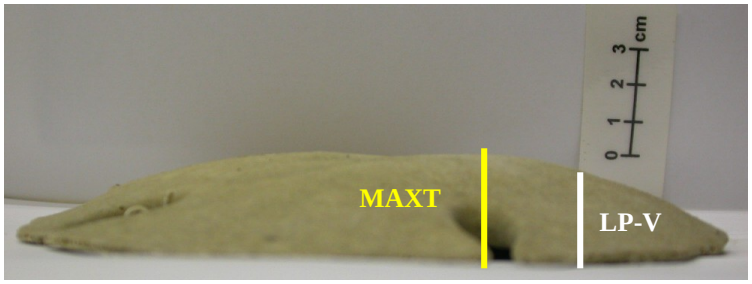

Figura 47: Espécime representante das populações do Rio Grande do Sul (RS) e Paraná (PR). Medidas de espessura da carapaça mais espessa na parte posterior (LP-V) para RS e mais elevada (MAXT) para os espécimes do PR.

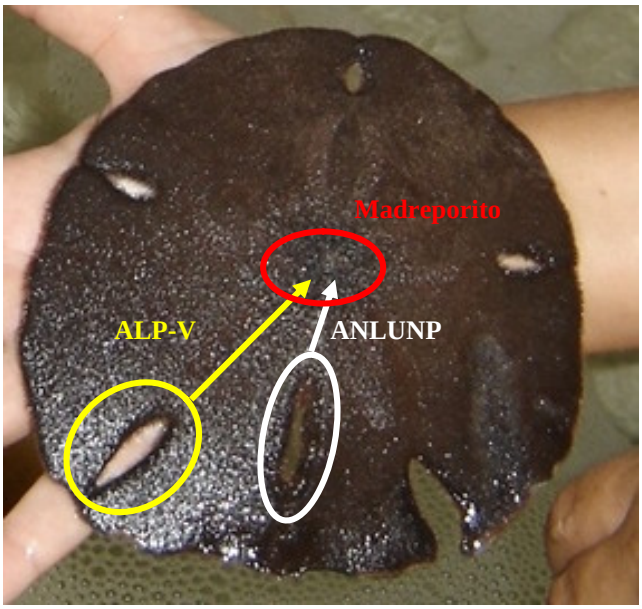

Figura 48: Espécime representante da população do Espírito Santo (ES) que possui lúnulas mais próximas ao madreporito, principalmente a lúnula V (ALP-V) e a lúnula anal (ANLUNP).

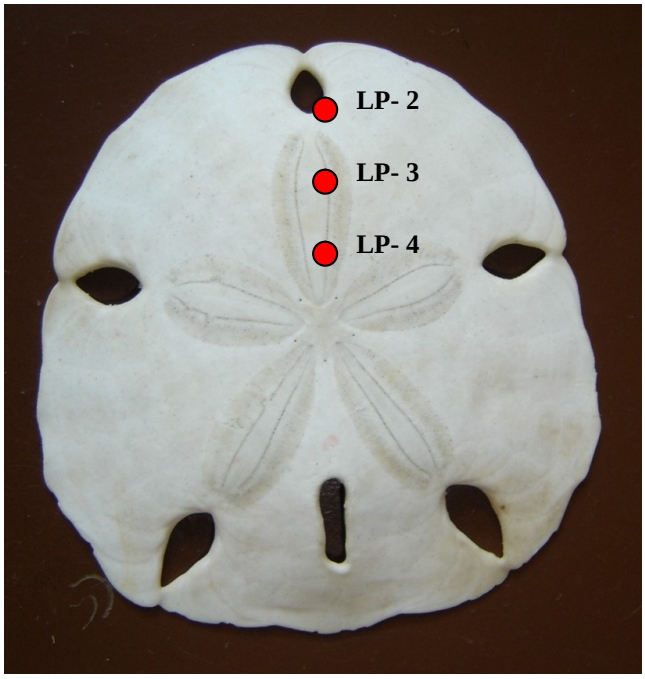

Figura 49: Espécime representante da população da Ilha de Cabo Frio (CF). Carapaças assimétricas, mais espessas na parte anterior. Os círculos em vermelho representam os 3 pontos do ambulacro III, onde a espessura foi maior (LP-2, LP-3 e LP-4).

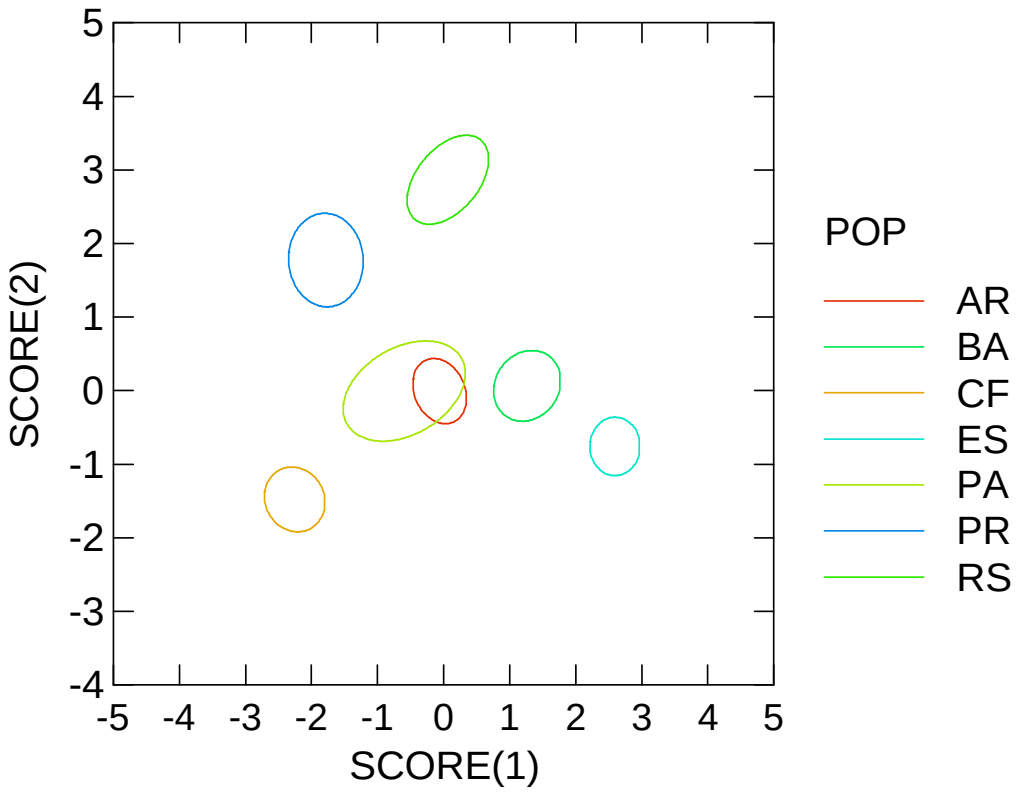

Figura 50: Análise discriminante dos resíduos resultantes da análise fatorial (ACP), representando os intervalos de confiança das médias. AR=Angra dos Reis; BA=Bahia; CF=Cabo Frio; ES=Espírito Santo; PA=Parati; PR=Paraná e RS=Rio Grande do Sul.

DISCUSSÃO

Diferenças morfológicas entre populações de *Encope emarginata* provenientes do Caribe e Brasil, já foram registradas por HOPKINS & VENTURA (2001) e KUHAJDA & HOPKINS (2004).

As análises bioestatísticas realizadas neste estudo indicaram que 5 das 7 populações de *Encope emarginata* são morfologicamente distintas. A diferença entre as populações está baseada principalmente na forma da carapaça (espessura e contorno) e na posição das lúnulas em relação ao madreporito. TELFORD (1981) e TELFORD & HAROLD (1982) mostraram experimentalmente que a espessura da carapaça e a presença de lúnulas são importantes hidrodinamicamente, impedindo que algumas espécies de bolachas-da-praia (incluindo *Encope emarginata*), sejam desenterradas e arrastadas do sedimento em função da velocidade da corrente.

Utilizando um tanque de flume, TELFORD (1981) observou os efeitos hidrodinâmicos em *Encope emarginata*. Ele afirma que esta espécie se posiciona de forma hidrodinamicamente estável contra o fluxo de água. Isto se deve à anatomia da carapaça (inclinação suave na parte anterior e abrupta na posterior) e do contorno de sua superfície. O fluxo principal circula rente às lúnulas e recortes periféricos (ambitais) e pela lúnula anal, desde a superfície oral até a aboral.

Os espécimes do Rio Grande do Sul (RS) diferem dos demais pelo contorno de superfície assimétrico, mostrando a região anterior da carapaça plana e a região posterior abrupta. Contrariamente, os espécimes da Ilha de Cabo Frio (CF) foram distinguidos dos outros por apresentarem um contorno de superfície assimétrico no lado oposto, ou seja, inclinação suave na região posterior e abrupta na região anterior. Além destas diferenças, espécimes com maior altura de carapaça (mais convexas) foram encontrados no Paraná

(PR), região sul da costa brasileira. Provavelmente, essas diferenças morfológicas têm conseqüências funcionais quando consideramos as correntes de fundo em cada localidade. TELFORD & HAROLD (1982) mostraram que, para *Echinarachnius parma*, a água circula suavemente em torno dos espécimes planos e mais espessos, embora menos convexos. Ao contrário, turbulências ao redor de indivíduos mais convexos foram observadas especialmente sobre a região posterior da carapaça. Em geral, para bolachas-da-praia, o fluxo d'água circula mais rente às áreas da carapaça que são levemente mais inclinadas e com curvaturas íngremes, como a região dos petalóides, como demonstrado para *Encope emarginata*, *Leodia sexiesperforata* e *Echinarachnius parma* (TELFORD, 1981).

Segundo TELFORD & HAROLD (1982), indivíduos muito planos e finos são mais facilmente desenterrados pela velocidade das correntes do que aqueles com maior espessura. Embora os espécimes mais convexos possam ser estáveis em um fluxo de 55 $cm.seg^{-1}$, eles também seriam deslocados sob condições com maiores velocidades de fluxo, talvez porque, estes indivíduos são cavadores menos eficientes do que os menos convexos. Portanto, os primeiros podem não escapar de uma forte correnteza, ao contrário dos indivíduos menos espessos que podem se proteger se enterrando no sedimento.

Os trabalhos experimentais de TELFORD (1981) e TELFORD & HAROLD (1982) corroboraram o trabalho anteriormente realizado por DURHAM (1955), com a bolacha-da-praia *Dendraster*, quando observou que a excentricidade do sistema apical e o desenvolvimento maior dos sulcos alimentares no eixo posterior da carapaça (onde não são afetadas pela forte ação das ondas) estão relacionados com seu habitat.

Os padrões de diferenças morfológicas encontrados neste trabalho para *Encope emarginata* podem estar associados às diversas condições ambientais, uma vez que as sete populações estudadas estavam distribuídas ao longo em uma linha de costa maior que 2.500 km. Ao longo desta variação latitudinal, há uma grande diferença nas condições

hidrográficas e interação entre massas d´água frias e quentes (CASTRO-FILHO & MIRANDA, 1998).

Uma outra característica importante na morfologia da carapaça das bolachas-da-praia é a presença de lúnulas ambulacrais e de uma única lúnula anal, situada na região interambulacral. ALEXANDER & GHIOLD (1980) mostraram através de seus experimentos que as lúnulas ambulacrais crescem alometricamente, aumentando seu comprimento muito mais rápido do que o diâmetro do corpo do animal. SEILACHER (1979) sugeriu que as lúnulas podem resultar em um aumento alométrico na margem da carapaça. Ele também observou que algumas bolachas parecem mostrar uma alometria negativa da largura das lúnulas. Se a lúnula é aproximadamente comprida e estreita (ou seja, apresentando alometria negativa para a largura e positiva para o comprimento) a geometria básica da carapaça produz um aumento alométrico no seu perímetro (âmbito). Assumindo que as taxas metabólicas permaneçam constantes, uma bolacha-da-praia sempre crescerá suas lúnulas mais rapidamente do que suas dimensões lineares (SMITH & GHIOLD, 1982).

Neste trabalho, os espécimes da Bahia e Espírito Santo apresentaram a lúnula V mais comprida quando comparadas às outras localidades, o que pode indicar uma alometria positiva desta lúnula tendo como conseqüência o aumento da largura do sulco alimentar V.

Uma outra e importante questão é aquela relacionada com o substrato que *Encope emarginata* vive. De acordo com o critério adotado por CODDINGTON (1988), os indivíduos pertencentes às ordens Cassiduloida e Clypeasteroida podem ser considerados bem adaptados à vida nos sedimentos não consolidados devido ao seu mecanismo de captação de partículas alimentares através dos pódios. Os Clypeasteroida coletam e ingerem grãos que estão disponíveis, especialmente aqueles que estão mais facilmente ao alcance dos pódios (TELFORD, 1990). TELFORD e*t al*. (1985) relataram que *Leodia sexiesperforata* e *Encope michelini* agregam altas porcentagens de frações de partículas entre 100–200 µm

em seus sulcos alimentares. *Leodia* seleciona partículas entre 50–100 µm, mas evita partículas acima de 200 µm. *Encope michelini* captura poucas partículas menores que 100 µm e agrega quantidades significantes (26%) de partículas maiores que 200 µm. Em um outro estudo com *Leodia sexiesperforata* e *Encope michelini* coletadas no mesmo substrato, TELFORD (1990) assinalou que as duas espécies se alimentam de diferentes frações de partícula; 67% abaixo de 200 µm para *Leodia* e 90% acima de 200 µm para *Encope michelini.*

Em uma comparação de *Encope aberrans* com *Encope michelini*, PHELAN (1972) considerou que essas espécies talvez tenham preferências por partículas de tamanho diferentes e observou que as dimensões dos sulcos alimentares e do peristoma eram diferenciados. Não existem informações sobre esta preferência para *Encope emarginata*. No entanto, análises granulométricas do local onde foram coletados os indivíduos do Espírito Santo (Ilha do Boi) identificaram uma granulometria média. Já o sedimento da Ilha de Cabo Frio (onde os espécimes foram coletados) foi caracterizado como areias finas. O tamanho do grão é importante, uma vez que as bolachas-da-praia ingerem o sedimento (sua fonte alimentar). Como a região dos sulcos alimentares seleciona os grãos a serem utilizados na alimentação, quanto maior for a granulometria do sedimento, maior será a energia gasta para o desenvolvimento de uma ampla área de drenagem dos sulcos alimentares. O padrão morfométrico encontrado nos exemplares provenientes da Bahia (BA) e Espírito Santo (ES) (lúnula V mais comprida e sulco alimentar V mais largo) parece ser, portanto, uma resposta ao tamanho do grão característico do substrato de cada localidade. Provavelmente, o sedimento da localidade onde os espécimes da Bahia foram amostrados (Praia da Ribeira, Salvador) possui uma granulometria similar àquela da Ilha do Boi, considerando a alometria positiva para a lúnula V nas duas populações.

RAUP (1958), investigando a relação entre a temperatura da água e a morfologia em *Dendraster* encontrou carapaças mais espessas de *Dendraster excentricus* **(**Eschscholtz) em águas mais frias. Nessa ocasião, esta correlação foi interpretada como resultado da adaptação fenotípica à temperatura da água. Resultados semelhantes foram encontrados por LOHAVANIJAYA (1965) para *Echinarachnius parma* na costa Atlântica dos Estados Unidos, ao comparar a morfologia desta espécie em seis localidades diferentes. Este estudo indicou uma tendência que esses animais têm em desenvolver carapaças mais compridas do que largas quando vivem em ambientes de águas mais abrigadas e carapaças mais largas do que compridas quando expostas em ambientes de maior energia. Esses resultados sugeriram que, de alguma forma, as características físicas da água onde esses animais vivem podem influenciar na forma da carapaça.

BORZONE & TAVARES (1996) encontraram diferenças morfométricas na carapaça de *Mellita quinquiesperforata* em 3 praias do Paraná e uma em Rio Grande (RS). Foram encontradas diferenças significativas nas análises separando totalmente os exemplares do Rio Grande com os indivíduos oriundos das três praias do Paraná. Os autores sugeriram que o morfodinamismo das praias produz ecotipos com grandes diferenças na forma da carapaça.

Considerando a temperatura das massas d'água, as populações do sul (RS e PR) estão periodicamente sob a influência das massas d'água mais frias, enquanto que as populações de Parati (PA) e Angra dos Reis (AR) estão localizadas em uma região onde a influência de águas frias é menos freqüente em pequenas profundidades (< 15 m). As populações localizadas mais ao norte, Espírito Santo (ES) e Bahia (BA) estão sob influência de massas d´água mais quentes (CASTRO-FILHO & MIRANDA, 1998). Esses padrões de diferenças morfológicas podem ser interpretados como um cline morfológico.

Espécimes do Cabo Frio (CF) não se encaixam nesta hipótese de mudanças graduais na morfologia. Embora esta população esteja localizada em uma região tropical, ela sofre influência de uma ressurgência costeira (afloramento da Água Central do Atlântico Sul – ACAS) e, particularmente, o ponto de coleta desses indivíduos, é influenciado (episodicamente) pelas águas oriundas desse evento. Tal condição hidrográfica pode ser leventada para explicar as diferenças morfológicas registradas nesta população. A presença do fenômeno da ressurgência faz com que a água do mar possua temperaturas bastante frias, quando comparáveis com o restante da região (CANDELLA, 1999). A Água Central do Atlântico Sul (ACAS) tem como índices termohalinos os pares de temperatura e salinidade (6,0^{o}C; 34,6 unidade prática de salinidade) e (18,0^{o}C; 36,0 ups). Na figura 51 estão representadas as temperaturas e salinidades coletadas semanalmente no local de coleta dos espécimes, entre os anos de 2000 e 2005. Nota-se que, na maior do tempo, as temperaturas tendem a estar acima de 18°C, mas há vários pontos em que a mesma está abaixo desse valor, o que comprova a afirmativa acima (CANDELLA, comunicação pessoal).

Ensaios numéricos apoiados em medições de campo indicam que a localidade de coleta pode estar sujeita a intensidades de corrente significativas em algumas situações, tanto o sentido NE-SW quanto no sentido SW-NE. O primeiro caso, situação mais comum e mais persistente, está relacionado com a intensificação do anticiclone semi-permanente do Atlântico Sul, que gera ventos de nordeste (NE). Já o segundo ocorre na passagem de frentes frias, com ventos do quadrante sul, sendo eventos mais intensos e curtos que o anterior. Além disso, a corrente de maré também é relevante na hidrodinâmica local, contribuindo para intensificação das correntes naquele ponto (CANDELLA, comunicação pessoal).

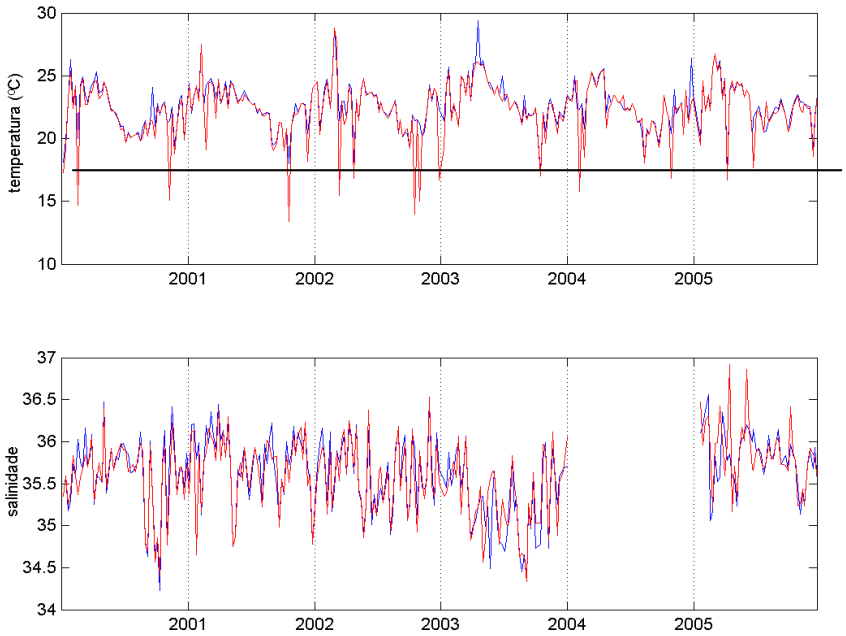

Figura 51: Representação gráfica de temperatura (ºC) e salinidade (ups) medidas semanalmente entre os anos de 2000 e 2005, no local onde os espécimes de Cabo Frio foram coletados. A cor azul é representada por coletas realizadas na superfície da água e a vermelha, coletas de fundo. No gráfico da temperatura, a linha preta corresponde a 17,5ºC. No gráfico da salinidade, a interrupção entre os anos de 2004 e 2005 foi devida à perda das amostras.

Os espécimes do Cabo Frio apresentaram uma grande distinção na forma da carapaça em relação àqueles das demais localidades, o que pode ser explicado pelos diferentes eventos ocasionais do ambiente em que vivem, uma vez que estão diretamente expostos a baixas temperaturas e intensidade de velocidade de correntes elevadas, diferentemente das demais praias que compõem as Enseadas do Arraial do Cabo, RJ. A influência desses eventos hidrográficos pode atuar não somente na morfologia dos adultos, mas também diretamente nas larvas ali produzidas, limitando sua dispersão para as populações da Ilha do Cabo Frio.

CONCLUSÕES

- Os resultados deste estudo não permitem propor um complexo de espécies para *Encope emarginata*. Entretanto, é possível identificar pelo menos três populações que merecem uma investigação mais detalhada, são elas: do Rio Grande do Sul, do Paraná e, especialmente, da Ilha de Cabo Frio.

- Se por um lado não podemos afirmar que existe mais de uma espécie de *Encope emarginata* ao longo de sua distribuição latitudinal (onde encontramos diferentes condições hidrográficas e interação entre massas d´água frias e quentes), é provável que esta espécie tenha produzido eco-fenótipos com grandes diferenças na forma da carapaça, ao longo de toda a extensão de sua distribuição geográfica**.**

- Comparações moleculares entre as populações de *Encope emarginata* são necessárias para entender mais sobre a dispersão e a identidade genética desses grupos morfologicamente distintos.

- Existem dois processos para serem considerados na explicação desses padrões encontrados: a diferenciação alopátrica, através de barreiras para a dispersão larval e fluxo gênico, como é o caso da ressurgência de Cabo Frio; e a plasticidade fenotípica considerando não só as condições termais e de correntes, mas também o substrato que esses animais vivem. Essas características são importantes e podem determinar a espessura e a forma da carapaça de *Encope emarginata.*

- Os espécimes da Ilha de Cabo Frio apresentaram uma grande distinção na forma da carapaça em relação às demais localidades, o que pode ser explicado pelos diferentes eventos ocasionais do ambiente em que vivem, uma vez que estão diretamente expostos à baixas temperaturas e intensidade de velocidade de correntes elevadas.

- Embora investigações mais profundas na taxonomia ainda sejam necessárias, essas evidentes diferenças morfológicas entre populações ao longo de sua distribuição na costa brasileira são relevantes. A diversidade intraespecífica é considerada uma fonte

potencial para a especiação. Por outro lado, a viabilidade de uma espécie também pode estar relacionada a sua variabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, D.E. & GHIOLD, J., 1980. The functional significance of the lunules in the sand dollar, *Mellita quinquiesperforata*. **Biological Bulletin, 159**: 561-570.

APTE, S. & GARDNER, J.P.A., 2002. Population genetic subdivision in the New Zealand greenshell mussel (*Perna canaliculus*) inferred from single-strand conformation polymorphism analysis of mitochondrial DNA. **Molecular Ecology, 11**: 1617-1628.

ASPLIN, L.; SALVANES, A.G.V. & KRISTOFFERSON, J.B., 1999. Nonlocal wind driven fjord-coast advection and its potential effect on plankton and fish recruitment. **Fisheries Oceanography, 8**: 255-263.

BENTON, M.J. & PEARSON, P.N., 2001. Speciation in the fossil record. **TRENDS in Ecology & Evolution. 16** (7): 405-411.

BLACKITH, R. & REYMENT, R.A., 1971. **Multivariate morphometrics**. Academic Press, New York. 258 p.

BOOKSTEIN, F.L.; CHERNOFF, B.; ELDER, R.L.; HUMPHRIES JR., J.M.; SMITH, G.R. & STRAUSS, R. E., 1985. **Morphometrics in evolutionary biology** – The geometry of size and shape change with examples from fishes. The Academy of Natural Science of Philadelphia, Special Publications 15.

BOOKSTEIN, F.L., 1989. "Size and Shape": A comment on semantics. **Systematic Zoology, 38**(2): 173 – 180.

BOOKSTEIN, F.L., 1998. A hundred years of morfometrics. **Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 44**: 7-59.

BORZONE, C.A.; TAVARES, Y.A.G. & BARROS JR.,F.C.R**.,** 1998. Beach morphodynamics and distribution of *Mellita quinquiesperforata* (Leske, 1778) on sandy beaches of southern Brazil. *In*: Echinoderms. R.MOOI & M.TELFORD (Eds.). **Proceedings of the 9th International Conference of Echinoderms.** Balkema, Rotterdam, p. 581 – 586.

BOOTGER, S.A. & KLINGER, 1998. Responses of *Arbacia punctulata* (Echinodermata:Echinoidea) to stress induced by elevated phosphate levels. *In*: Echinoderms. MOOI, R. & TELFORD, M. (eds). **Proceedings of the 9th International Echinoderms Conference**, San Francisco, p. 587-589.

BOWEN, B.W.; BASS, A.L.; ROCHA, L.A.;GRANT,, W.S. & ROBERTSON, D.R., 2001. Phylogeography of the trumpetfishes (*Aulostomus*): ring species complex on a global scale. **Evolution, 55**: 1029-1039.

BUCKLIN, A., 1991. Population genetic responses of the planktonic copepod *Metridia pacifica* to a coastal eddy in the California current. **Journal of Geophysical Research: Oceans, 96**: 14799-14808.

BUMPUS, H.C., 1898. The elimination of the unfit as illustrated by the introduced sparrow *Passer domesticus*. **Biological Lectures**, **11**: 209-226.

CANDELLA, R.N., 1999. Correlação temperatura x salinidade e variação sazonal da água central do Atlântico Sul no quadrado de Marsden 376. **Pesquisa Naval, 12**: 135- 146.

CASTRO-FILHO, B.M.; MIRANDA, L.B.D., 1998. Physical oceanography of the western Atlantic continental shelf located between 4°N and 34°S coastal segment (4,W). *IN*: **The Sea**. ROBINSON, A.R., BRINK, K.H. (eds.), John Wiley and Sons, New York, p. 209–251.

CODDINGTON, J.A., 1999. Cladistic tests of adaptation hypotheses. **Cladistics, 4**: 3-22.

DAFNI, J., 1983. Abnormal depressions in the test of the sea urchin *Tripneustes CF. gratilla* (L.) in the Gulf of Eilat, Red Sea. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 67**: 1-15.

DRYDEN, I. & MARDIA, K. (1998). **Statistical shape analysis**. Chichester: John Wiley and Sons. 356p.

DURHAM, J.W., 1955. Classification of clypasteroid echinoids. **University of California 31** (4): 73: 198.

EBERT, T.A., 1996. Adaptative aspects of phenotypic plasticity in echinoderms. **Oceanologica Acta, 19** (3-4): 347-355.

FISHER, R.A., 1935. The logic of inductive inference. **Journal of the Royal Statistical Society, 98**: 39-82.

GOSLING, E., Speciation and species concepts in the marine environment. In: **Genetics and Evolution of Aquatic Organisms**. BEAUMONT, A.R. (ed.).Chapman & Hall, London. 1-15.

HAROLD, A. S., 1981. A hydrodynamic interpretation of sand dollar morphology. **Bulletin of Marine Science, 31**: 605-622.

HAROLD, A. S., 1988. Ontogenic regulatory mechanisms and evolution of mellitid lunules (Echinoidea, Clypeasteroida). **Paleobiology, 14**(1): 52- 63.

HAROLD, A. S. & TELFORD, M., 1990. Systematics, phylogeny and biogeography of the genus *Mellita* (Echinoidea: Clypeasteroidae). **Journal of Natural Hystory, 24**: 987-1026.

HOTELLING, H. 1933. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. **Journal of Education Psychology, 24**: 417-441.

HOPKINS, T. S. & VENTURA, C. R. R., 2001. The many 'facies' of *Encope emarginata* (Leske). *In*: Echinoderms, **Proceedings of the 10th International Conference**, Dunedin. BARKER (ed.). A.A.Balkema, Rotterdam. p. 453 - 457.

HOPKINS, T.S. & KUHAJDA, B.R., 2004. Morphological dimensional differences in two geographically separated populations of *Encope emarginata* (Leske) from the coast of Brazil. *In* **Echinoderms**: Müchen – HEINZELLER & NEBELSICK (eds.) Taylor & Francis Group, London, p. 261 - 265.

JUNGERS, W.L.; FALSETTI, A.B. & WALL, C.E., 1995. Shape, relative size, and size adjustments in morphometrics. **Yearbook of Physical Anthropology, 38**: 137-161.

LAWRENCE, J.M. & LANE, J., 1982. The utilization of nutrients by post metamorphic echinoderms. *In*: JANGOUX, M. & LAWRENCE, J.M. (eds.). **Echinoderm nutrition**. A.A.Balkema, Rotterdam, p. 331-371.

LESSIOS, H.A.; KESSING, B.D.; ROBERTSON, D.R. & PAULAY, G., 1999. Phylogeography of the pantropical sea urchin *Eucidaris* in relation to land barriers and ocean currents. **Evolution, 53**: 806-817.

LESSIOS, H.A.; KANE, J. & ROBERTSON, D.R., 2003. Phylogeography of the pantropical sea urchin *Tripneustes*: contrasting patterns of population structure between oceans. **Evolution, 57**: 20226-20236.

LOHAVANIJAYA, P., 1965. Variation in linear dimensions, test weight and ambulacral pores in the sand dollar, *Echinarachnius parma* (Lamarck). **Biological Bulletin, 128** (3): 401- 414.

LOZANO, J.; GALERA, J.; LOPEZ, S.; TURON, X. & MORERA, G., 1995. Biological cycles and recruitment of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in 2 contrasting habitats. **Marine Ecology Progress Series, 122**: 179-191.

LUMINGAS, L.J.L., 1994. La plasticité chez l'oursin *Sphaerechinus granularis* en rade de Brest (Bretagne, France). **Marine Ecology Progress Series, 88**: 124-137.

MARCUS, L.F., 1990. Traditional morphometrics. In: **Proceedings of the Michigan morphometrics workshop.** ROHLF, F.J. & BOOKSTEIN, F.L. (eds.). University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor. Special Punlication Number 2, 77-122.

MONTEIRO, L. R. & REIS, S. F., 1999. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Holos Editora, Ribeirão Preto. 198 p.

MORTENSEN, T.H., 1948b. **A Monograph of the Echinoidea IV**. 2. Clypeasteroida, 471p.

PEARSON, K., 1901. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. **Philosophical Magazine Series, 6**(2): 559-572.

PERES-NETO, P.R., 1995. Introdução a análises morfométricas. In: PERES-NETO, P.R.; VALENTIN, J.L. & FERNÁNDEZ, F.A.S. (eds.). **Oecologia Brasiliensis**, *vol. II:* Tópicos em Tratamento de Dados Biológicos, 57 – 89.

PHELAN, T. F., 1972. Comments on the echinoid genus Encope, and a new subgenus. **Proceedings of the Biological Society of Washington, 85** (8): 109 – 130.p

RAUP, D.M., 1958. The relation between water temperature and morphology in *Dendraster*. **Journal of Geology, 66**(6): 668-677.

REGIS, M.B., 1978. Analyse des fluctuations des indices physiologiques chez deux echinoids (*Paracentrotus lividus* (Lmk) et *Arbacia lixula* (L.) du golfe du Marseille. **Téthys 9** (2): 167-181.

REIS, S.F., PESSÔA, L. M. & STRAUSS, R.E., 1990. Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. **Revista Brasileira de Genetica, 13** (3): 509 – 520.

REYMENT, R.A., 1991. **Multidimensional paleobiology**. Pergamon Press, New York.

ROHLF, F.J., 1990. Morphometrics. **Annual Review of Ecology and Systematics, 21**: 299 – 316.

SEILACHER, A., 1979. Constructional morphology of sand dollars. **Paleobiology, 5**: 191-221.

SILVA, E.P., 2002. “Especiação no ambiente marinho”. In: PEREIRA, R.C. & SOARES-GOMES, A. (eds). **Biologia Marinha**. Interciência, Rio de Janeiro. 382 p.

SMITH, A.B. & GHIOLD, J., 1982. Roles for holes in sand dollars (Echinoidea): a review of lunule function and evolution. **Paleobiology, 8**: 242 – 253.

STRAUSS, R.E., 1985. Static allometry and variation in body form in the South American catfish genus *Corydoras* (Callichthyidae). **Systematic Zoology**, **34**: 381 – 396.

SUNDBERG, P., 1989. Shape and size-constrained principal component analysis. **Systematic Zoology. 38**: 166-168.

TELFORD, M., 1981. A hydrodynamic interpretation of sand dollar morphology. **Bulletin of Marine Science, 31**: 605 – 622.

TELFORD, M. & HAROLD, A.S., 1982. Lift, drag and camber in the northern sand dollar, *Echinarachnius parma*. In Echinoderms: **Proceedings of the International Conference,** Tampa Bay, J. LAWRENCE *(ed.*), A.A. Balkema, Rotterdam, p. 235 - 241

TELFORD, M.; MOOI, R. & ELLERS, O., 1985. A new model of podial deposit feeding in the sand dollar, *Mellita quinquiesperforata* (Leske): the sieve hypothesis challenged. **Biological Bulletin, 169**: 431-448.

TELFORD, M. & MOOI, R., 1986. Resource portioning by sand dollars in carbonate and siliceous sediments: evidence from podial and particle dimensions. **Biological Bulletin, 171**: 197-207.

TELFORD, M., 1988. Ontogenetic of regulatory mechanisms and evolution of mellitid lunules (Echinoidea, Clypeasteroida). **Paleobiology, 14**: 52 – 63.

TELFORD, M., 1990. Computer simulation of deposit-feeding by sand dollars and sea biscuits (Echinoidea: Clypeasteroida). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 142**: 75 -90.

TOMMASI, L., 1966b. Lista dos Equinóides recentes do Brasil. Contribuições Avulsas do Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, série Oceanografia Biológica 194 **(11): 1-50.**

TURON, X.; GIBIRET,G.; LOPEZ, S. & PALACIN, C., 1995. Growth and population structure of *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) in 2 contrasting habitats. Marine Ecology Progress Series, 122**: 193-200.**

VALENTIN, J. L. & COUTINHO R., 1990. Modelling maximum chlorophyll in the Cabo Frio (Brazil) upwelling: a preliminary approach. **Ecological Modelling, 52**: 103 – 113.

VENTURA, C.R.R.; SANTOS, J.C.; FALCÃO, A.P.C. & FIORI, C.S., 1998. Reproduction and food intake in *Astropecten cingulatus* (Asteroidea: Paxillosida) in the upwelling environment of Cabo Frio (Brazil). *In*: MOOI, R. & TELFORD, M. (eds). **Proceedings of the International Echinoderms Conference.** Echinoderma, San Francisco, p. 313-318.

VENTURA, C.R.R.; HOPKINS, T.S. & KUHAJDA, B.R., 2004. Morphological dimensional differences in two geographically separated populations of *Encope emarginata* (Leske) from the coast of Brazil. *In*: **Echinoderma**: Müchen – HEINZELLER & NEBELSICK (eds.): Taylor & Francis Group, London. p. 261 - 265.

WEINBERG, J.R. & STARCZAK, V.R., 1988. Morphological differences and low dispersal between local populations of the tropical beach isopod, *Excirolana braziliensis*. **Bulletin of Marine Science, 42**: 296-309.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A morfologia da carapaça de *Encope emarginata* apresentou diferenças em 5 das 7 localidades estudadas, em uma linha de costa de quase 3.000 km. Esta diferença poderia ser ainda maior se a área de estudo fosse expandida devido às características de cada região.

- De acordo com os caracteres morfométricos utilizados nesta análise, o padrão de distinção entre as localidades parece estar associado a algumas características morfológicas da carapaça. Essas localidades foram divididas em 4 grupos distintos: 1) Bahia e Espírito Santo, 2) Cabo Frio, 3) Angra dos Reis e Parati, 4) Paraná e Rio Grande do Sul.

- Experimentos laboratoriais revelaram que as larvas de *Encope emarginata* possuem alto poder de dispersão, assim como, dependendo das condições ambientais, as larvas podem permanecer no plâncton por longos períodos.

- Para a população da Ilha de Cabo Frio, que a partir dos resultados morfométricos foi a mais distinta entre as 7 populações estudadas, os espécimes provenientes desta região mostraram a ocorrência de fêmeas maduras de *Encope emarginata* durante os meses de junho, julho e agosto.

- Estudos sobre a ressurgência de Cabo Frio comprovam que o ciclo desse fenômeno tem em média, a duração de 6 meses, com temperaturas da água do mar abaixo de 18°C, durante os meses de setembro a fevereiro, e próximas a 23°C no restante do ano (março a agosto). Porém, no período citado, eventos episódicos de ressurgência podem ocorrer, submetendo as larvas a condições de baixa temperatura. Portanto, a temperatura da água do mar parece ser o fator de distinção entre a população de Cabo Frio e as demais. Considerando-se as correntes marinhas, em grande escala, a principal feição da costa

brasileira é a Corrente do Brasil, com fluxo médio de nordeste para sudoeste. No entanto, em pequena escala, as correntes costeiras são influenciadas por diversos outros fatores, como vento local, eventos remotos e maré, por exemplo. A presença de ventos de nordeste (NE), o mais freqüente na região de Cabo Frio, tende a dirigir a corrente costeira para o sul (na verdade, sudoeste). Nos meses de junho, julho e agosto, época em que foram encontradas fêmeas aptas a desovar, a freqüência da passagem de frentes frias na região é bastante intensa, com ventos de sudoeste associados, o que reduz a tendência normal de transporte de larvas de norte para sul. Assim, a dispersão larval pode se limitar às cercanias dessa região diminuindo o fluxo gênico devido a esta pequena dispersão. De qualquer forma, estudos envolvendo marcadores moleculares (aloenzimas ou DNA) dessa população de *Encope emarginata* deverão ser realizados para comprovar ou não esta hipótese.

Quanto às demais populações, a formação de eco-fenótipos parece explicar as grandes diferenças encontradas na forma da carapaça de *Encope emarginata* ao longo de toda a extensão latitudinal estudada.