

UFRRJ

INSTITUTO DE BIOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
ANIMAL**

DISSERTAÇÃO

**Efeitos do cobre em tinta anti-incrustante sobre as
estratégias de colonização de substrato e
reprodução do poliqueta *Hydroides elegans* na
região de Jurujuba, Niterói – RJ**

Isabela dos Santos Schwan

2013



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**EFEITOS DO COBRE EM TINTA ANTI-INCRUSTANTE SOBRE AS
ESTRATÉGIAS DE COLONIZAÇÃO DE SUBSTRATO E
REPRODUÇÃO DO POLIQUETA *Hydroides elegans* NA REGIÃO DE
JURUJUBA, NITERÓI - RJ**

ISABELA DOS SANTOS SCHWAN

Sob a Orientação do Professor
Gustavo Muniz Dias

Sob a Co-Orientação da Professora
Ana Claudia dos Santos Brasil

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Biologia, Área de Concentração em Biologia Animal.

Seropédica, RJ
Setembro de 2013

592.62 Schwan, Isabela dos Santos, 1987-
S498e Efeitos do cobre em tinta anti-
T incrustante sobre as estratégias de
colonização de substrato e reprodução
do poliqueta hidroides elegans na
região de Jurujuba, Niterói - RJ /
Isabela dos Santos Schwan - 2013.

63 f.: il.

Orientador: Gustavo Muniz Dias.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Biologia Animal.

1. Poliqueta - Teses. 2. Poliqueta
- Niterói(RJ) - Teses. 3. poliqueta -
Efeito dos metais pesados -
Niterói(RJ) - Teses. 4. Poliqueta -
Niterói(RJ) - Ecologia - Teses. 5.
Anelídio - Teses. I. Gustavo Muniz
Dias, 1980-. II. Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-
Graduação em Biologia Animal. III.
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

ISABELA DOS SANTOS SCHWAN

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências, área de Concentração em Biologia Animal.

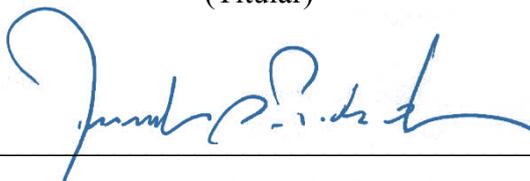
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 05 / 09 / 2013



Gustavo Muniz Dias. Dr. UFABC
(Orientador)



Paulo Cesar de Paiva. Dr. UFRJ
(Titular)



Bernardo Antonio Perez da Gama Dr. UFF
(Titular)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a meu orientador, o Professor Dr. Gustavo Muniz Dias, por confiar em mim para ser sua primeira aluna de pós-graduação, mesmo com a distância, e por me passar um pouco do seu conhecimento durante a realização deste trabalho tão importante (e legal!). Agradeço também a sua esposa, Taís Nazareth, que sempre me recebeu muito bem na sua casa quando eu estava enrolada pra escrever a dissertação!

À minha co-orientadora, e querida mamãe científica, a Professora Dra. Ana Claudia dos Santos Brasil, que desde a graduação me fez entender o que é a vida de um pesquisador e como torná-la agradável. São mais de quatro anos de convívio quase diário, com momentos de seriedade, descontração e puxões de orelha!

À minha família por mais que estivessem tão distantes durante grande parte da minha vida acadêmica, estavam sempre perto em meus pensamentos. À minha mãe Genilda dos Santos Schwan, que sempre se preocupou em me passar os preceitos de certo e errado, que se sacrificou ao longo de todos esses anos para me possibilitar crescer e seguir em frente. Mesmo sem entender muito porque eu gosto de poliquetas e o que eu faço com elas, mas teve paciência e compreensão nesta etapa na minha vida para a minha formação acadêmica.

Agradeço também ao Maximiliano Ossa, que além de me ajudar na execução deste trabalho, tanto na montagem quanto na coleta e triagem do material, me acompanhou com sua alegria, carinho e dedicação e me ouviu e aconselhou na reta final.

Agradeço à banca avaliadora, os Doutores Paulo Paiva, Bernardo Antonio Perez da Gama, Ronaldo Adriano Christofolletti e Jayme Magalhães Santangelo por aceitarem o convite para compor a banca avaliadora. Desde já agradeço as críticas e sugestões para uma futura publicação.

A todos os integrantes do LaPol da UFRRJ: Vinícius Miranda, Fernanda Amaro, Aline Ferreira, Guilherme Guimarães, Tamires Resende, Ayra Rodrigues, Mariana Vallis, Joana Gama, Caroline Farah e também aos incontáveis agregados, pela ajuda no laboratório. Assim como as boas conversas, risadas e cafezinhos durante o trabalho. Foi um prazer trabalhar com vocês.

As minhas amigas desde sempre: Cássia Serrazine, Liliane Borges, Nathália Velasco, Ana Letícia pela amizade e por sempre ouvirem minhas dificuldades durante a execução do

minha dissertação mesmo sem entender muito bem o que eu faço. Aos meus amigos biólogos: Ticiane Esteves, Leandro Medeiros e Guilherme Henrique que mesmo longe se mostraram presentes o tempo todo. Aos meus amigos de moradia: Francine Monken, pela companhia nas incríveis aventuras pela cidade de Seropédica, Luiz Gomes pela paciência comigo na ajuda do meu entendimento nas análises e Vinícius Miranda (de novo) por, quando disponível, me ajudar com a identificação dos bichos. Aos meus amigos da pós-graduação: Ayesha, Alex, Fernandinha, Luiz (de novo), Vinícius, Taynara, Edicarlos, Marcia, Maíra, Rogério, Thiago e Adriana, que em pouco tempo se tornaram muito queridos. E a todos do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, alunos e professores, que me acolheram e me ajudaram em vários momentos.

Ao David Neves pela ajuda nos experimentos de dominância.

Agradeço também ao Clube Naval Charitas (CNC), por ceder o espaço e autorizar a realização deste projeto. Assim como ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal da UFRRJ e a CAPES pela bolsa recebida durante a realização desta dissertação.

“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem.”

(Guimarães Rosa)

RESUMO

SCHWAN, Isabela dos Santos. **EFEITOS DO COBRE EM TINTA ANTI-INCROSTANTE SOBRE AS ESTRATÉGIAS DE COLONIZAÇÃO DE SUBSTRATO E REPRODUÇÃO DO POLIQUETA *Hydroides elegans* NA REGIÃO DE JURUJUBA, NITERÓI - RJ.** 2013. 49p. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal, Zoologia) Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

O transporte de organismos incrustantes nos cascos de embarcações é um mecanismo importante de introdução de espécies marinhas exóticas, assim como fator preponderante para a navegabilidade dessas embarcações. Para minimizar este problema, tintas à base de metais pesados como o cobre têm sido aplicadas nos cascos. Nos últimos anos, proprietários de embarcações atracadas no Clube Naval Charitas (CNC), Niterói, RJ, observaram um aumento na ocorrência de um poliqueta, que foi identificado como o Serpulidae *Hydroides elegans* (Haswell, 1883). Neste trabalho *H. elegans* foi caracterizado e sua distribuição na costa brasileira discutida. Para avaliar como o cobre afeta as estratégias de recrutamento, crescimento e reprodução deste poliqueta, placas de PVC foram submersas na região do CNC durante três meses, e submetidas a dois tratamentos distintos: metade das placas foi pintada com uma tinta anti-incrustante, que possui cobre na forma de óxido cuproso (Cu_2O) como composto ativo, e a outra metade com uma tinta controle, sem o cobre. Após 15, 30, 45, 60 e 75 dias foram avaliados o número e o tamanho dos indivíduos de *H. elegans* nas placas tratamento e controle. No final do experimento foi induzida a liberação de gametas e quantificado o número de óvulos produzidos pelas fêmeas. Para cada amostra também foi realizada a fecundação dos gametas de 10 fêmeas e 10 machos e avaliada a produção larval por indivíduos do tratamento e do controle e a resistência dessas larvas a uma solução de cobre. Para avaliar se o cobre torna também os indivíduos e sua prole resistentes a outros fatores de estresse foi testada também a sobrevivência dos adultos e de sua prole a outros fatores de estresse naturais como: baixa salinidade, temperatura elevada e a uma fonte de estresse artificial, o ácido acético. *H. elegans* foi mais abundante nas placas sem cobre e essa diferença de abundância aumentou ao longo do tempo. Já o tamanho de *H. elegans* inicialmente foi maior nas placas com cobre do que nas placas sem cobre, mas essa diferença se inverteu ao longo do tempo. O cobre afetou também a reprodução de *H. elegans* reduzindo número de gametas femininos e larvas, porém aumentou o tamanho dos gametas femininos. Além disso, larvas oriundas de adultos expostos ao cobre apresentaram maior sobrevivência no cobre do que larvas vindas de adultos do controle na primeira repetição do experimento. A exposição ao cobre não atribuiu nenhuma vantagem ou desvantagens às larvas quando expostas a outras fontes de estresse: baixa salinidade, alta temperatura ou ácido acético, mas em alguns casos, independente das condições do ambiente, larvas e adultos oriundos de ambientes com cobre apresentaram maior mortalidade do que aqueles oriundos de placas controle. O ácido acético levou a mortalidade total das larvas e dos adultos independente da origem. Os resultados demonstram que apesar de reduzir a incrustação por *H. elegans*, o cobre das tintas antiincrustantes induz modificações na biologia reprodutiva do poliqueta que fazem com que indivíduos vivendo em ambientes com cobre maximizem seu sucesso reprodutivos produzindo menor número de larvas, mas larvas mais resistentes ao cobre, mas isso leva a um custo com uma baixa sobrevivência, sugerindo que a resistência ao cobre é energeticamente custosa.

Palavras-chave: Bioincrustação, bioinvasão, metal pesado, substratos artificiais.

ABSTRACT

SCHWAN, Isabela dos Santos. **EFFECTS OF COPPER IN ANTIFOULING PAINTS ON RECRUITMENT AND REPRODUCTION OF THE POLYCHAETA *Hydroides elegans* IN NITERÓI – RJ.** 2013. 49p. Dissertation (Master Science in Animal Biology, Zoology) Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica , RJ, 2013.

The transport of fouling organisms on the hulls of vessels is an important mechanism of introduction of exotic marine species, as well as a major factor for the speed of these vessels. To minimize this problem, paints made of heavy metals such as copper have been applied to the hulls. In recent years, owners of boats moored at the Club Naval Charitas (CNC), Niterói, RJ, observed an increase in the occurrence of a polychaete, which I identified as the Serpulidae *Hydroides elegans* (Haswell, 1883). In this work I characterized *H. elegans* and discussed its distribution along the Brazilian coast. To assess how copper affects recruitment strategies, growth and reproduction of the polychaete, I deployed PVC plates in the CNC area for three months. I exposed the plates to two treatments: half of the plate was painted with antifouling paint, which has copper as cuprous oxide (Cu_2O) as active compound, and the other half with a control paint without copper. After 15, 30, 45, 60 and 75 days I evaluated the number and size of individuals of *H. elegans* in treatment and control plates. At the end of the experiment I induced spawning and quantified the number of eggs produced by females. For each sample I also combined the gametes of 10 females and 10 males and evaluated larval production per individual in treatment and control plates and the resistance of the larvae to a copper solution. To assess whether copper also makes individuals and their offspring resistant to other stress factors I quantified larval and adult survival when exposed to other natural stress factors such as low salinity, high temperature and a source of artificial stress, the acetic acid. *H. elegans* was most abundant in the plates without copper and this difference in abundance increased over time. But the *H. elegans* was initially larger in copper plates than in plates without copper, but this difference inverted over time. Copper also affected the reproduction of *H. elegans* reducing the number of female gametes and larvae, but increased the size of the female gametes. Furthermore, larvae from adults exposed to copper showed higher survival in copper than larvae coming from adult control, but this effect was only observed during the first run of the experiment. Copper exposure did not provide any advantage or disadvantage to the larvae when exposed to other sources of stress: low salinity, high temperature or acetic acid, but in some cases, regardless of ambient conditions, larvae and adults from plates with copper showed higher mortality than those from control plates. The acetic acid induced total mortality of larvae and adults, regardless of their origin. The results show that besides copper reduced fouling by *H. elegans*, it induces changes in the reproductive biology of the polychaete. Individuals living in environments with copper maximize their reproductive success producing a small number of larvae but more resistant to copper, what led in some experiments to a lower adult survival, suggesting that the resistance to copper is energetically costly.

Key-words: Artificial substrates, biofouling, bioinvasion and heavy metal.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1: Localização (seta) da área de coleta no Clube Naval Charitas, na enseada de Jurujuba, município de Niterói, na Baía de Guanabara. **Pág. 7**

Figura 2: *Hydroides elegans* A) Barco incrustado, B) Barco durante limpeza do casco; C) pedaço de agregado da limpeza; D) placa de PVC depois de 3 meses submersa; E) Microscopia eletrônica de varredura do opérculo; F) Fotografia de um espécime vivo e anestesiado; G) Fotografia de material fixado e conservado em álcool à 70%; H) Estrutura do tubo sob microscopia eletrônica de varredura. **Pág. 12**

Figura 3: Distribuição mundial de *H. elegans*. Os círculos pretos representam sua distribuição nas águas tropicais e subtropicais do mundo, o círculo branco de margem preta significa sua distribuição no sudeste do Brasil confirmada pelo presente estudo. **Pág. 13**

Figura 4: Área ocupada (%) pelas diferentes espécies e grupos taxômicos em placas dispostas na linha média das marés (raso) e um metro abaixo da linha média das marés (profundo). **Pág. 15**

CAPÍTULO II

Figura 05: Esquema do desenho amostral do experimento para teste da resistência dos adultos e das larvas de *H. elegans* provindos das placas de PVC cultivadas em campo (no esquema esta representado apenas uma dentre as 40 placa de PVC). **Pág. 26**

Figura 6: Densidade (média \pm erro padrão) dos indivíduos de <i>H. elegans</i> nas placas com e sem cobre ao longo do tempo. A) Outubro de 2011 e B) Maio de 2013	Pág. 28
Figura 7: Tamanho em cm (média \pm erro padrão) de <i>H. elegans</i> medido pelo diâmetro do tubo nas placas com e sem cobre ao longo do tempo em Outubro de 2011	Pág. 29
Figura 8: A) Diâmetro dos ovos em cm (média \pm erro padrão), B) número de óvulos liberados pelas fêmeas de <i>H. elegans</i> que cresceram nas placas com e sem cobre (controle) (média \pm erro padrão). C) Número de larvas viáveis (média \pm erro padrão), produzidas pelos indivíduos de <i>H. elegans</i> das placas com e sem cobre (controle). D) Sobrevivência das larvas viáveis de <i>H. elegans</i> oriundas das placas com e sem cobre (controle) em uma solução de 150 μ g/L de cobre.	Pág. 30
Figura 9: Percentual de sobrevivência (média \pm erro padrão) dos adultos e larvas oriundos das placas tratadas com cobre e controle usados nos testes de resistência. A) Temperatura; B) Salinidade e C) Cobre (Cu). Barras pretas representam adultos e larvas oriundos de placas controle (sem cobre) e barras brancas representam adultos e larvas oriundos de placas com cobre.....	Pág. 32

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

TABELA 1: ANOVA de amostras repetidas testando o efeito do tratamento com a tinta com cobre e sem cobre, ao longo do tempo e das duas repetições (Outubro de 2011 e Maio de 2012) sobre a abundância de *H. elegans*..... **Pág. 28**

TABELA 2: ANOVA de amostras repetidas testando o efeito da tinta com cobre e sem cobre, entre as réplicas ao longo do tempo sobre o crescimento medido pelo diâmetro do tubo de *H. elegans*..... **Pág. 29**

TABELA 3: ANOVA testando o ambiente de origem (placas tratadas com cobre e sem cobre), o teste realizado (Ambiente Teste), tipo de teste realizado nos indivíduos: temperatura, salinidade e cobre) e do Bloco sobre o percentual de sobrevivência dos adultos e larvas de *H. elegans*..... **Pág. 33**

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	xi
Efeitos da tinta anti-incrustante sobre as estratégias de colonização de substrato e reprodução do poliqueta <i>Hydroides elegans</i> na região de Jurujuba, Niterói - RJ.	
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I: Caracterização do poliqueta invasor <i>Hydroides elegans</i> (Haswell, 1883) no litoral do estado do Rio de Janeiro e descrição da sua capacidade de monopolizar o substrato em comunidades incrustantes	4
INTRODUÇÃO	4
MATERIAL E MÉTODOS	7
RESULTADOS	10
DISCUSSÃO	16
CAPÍTULO II: Efeito do cobre no recrutamento, reprodução e resistência da prole do poliqueta invasor <i>Hydroides elegans</i> (Haswell, 1883)	19
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS	22
RESULTADOS	27
DISCUSSÃO	34
CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

INTRODUÇÃO GERAL

Uma das grandes preocupações ecológicas atuais refere-se ao impacto ambiental causado pela ação antrópica nos diversos ambientes e principalmente naqueles onde há intensa exploração por populações humanas, como as regiões costeiras (Dieges *et al.*, 1989). Essa perturbação em ambientes marinhos vem facilitando a introdução acidental de espécies por meio da água ou sedimentos presentes nos tanques de lastro, ou pela adesão de organismos incrustantes ao casco ou demais partes submersas dos transportes marítimos (Coutts *et al.*, 2003; Drake & Lodge, 2007). As espécies exóticas normalmente possuem vantagens competitivas em relação a espécies nativas, como por exemplo, a ausência de predadores especializados (Bruno *et al.*, 2005) e a maior habilidade de sobreviver e reproduzir em ambientes degradados, e por isso acabam dominando os nichos previamente ocupados pelas espécies nativas (Calton & Geller, 1993). Portos e marinas fornecem condições ideais de sobrevivência para os organismos incrustantes, devido ao aumento da disponibilidade de locais para assentamento, além da grande quantidade de matéria orgânica. Entretanto o desenvolvimento desses empreendimentos também altera as condições locais sujeitando as comunidades incrustantes ao lançamento de agentes tóxicos agrícolas, industriais e domésticos, aumento de matéria orgânica, além da liberação de biocidas, que normalmente leva a uma perda da diversidade nativa (Piola & Johnston, 2009).

Metais pesados estão entre os biocidas que podem exercer fortes pressões seletivas para aumento da resistência por parte dos organismos incrustantes (Klerks & Weis, 1987; Levinton *et al.*, 2003). Destes metais pesados, o cobre (Cu) é o mais comum em sistemas estuarinos, provenientes de fontes diversas, tais como tintas anti-incrustantes nas embarcações (Piola & Johnston, 2006b). O cobre exerce pressão seletiva tanto nos organismos alvo como nos não alvo (Floerl *et al.*, 2004; Piola & Johnston, 2009). Com isso, o uso do cobre como base nas tintas anti-incrustantes nos cascos dos navios tem potencial tanto para selecionar espécies invasoras, quanto indivíduos resistentes à poluição pelo metal, o que pode acelerar o processo de resistência dos organismos a esse poluente. Se estes indivíduos tolerantes são posteriormente transportados para locais poluídos por este metal, é possível que se beneficiem sobre as espécies nativas (Piola & Johnston, 2008a, 2009).

Poliquetas são animais comuns nas comunidades bênticas marinhas (Rouse & Pliejel, 2001) e apresentam grande diversidade de hábitos (Wilson, 1991) e modos reprodutivos

(Giangrande, 1997). Esses animais, geralmete, apresentam fertilização externa, sendo os gametas lançados na água com os períodos de desenvolvimento larval no plâncton extremamente variáveis. A plasticidade reprodutiva do grupo é devida, em parte, ao sistema reprodutivo simples, fundamental para o sucesso do grupo nos sistemas bênticos marinhos (Dales, 1962).

Hydroides elegans (Haswell, 1883) é um poliqueta da família Serpulidae (Annelida: Polychaeta) que apresenta um curto período larval (Hadfield *et al.*, 1994; Carpizo-Ituarte & Hadfield, 1998), rápida colonização de superfícies recém-submersas (Unabia & Hadfield, 1999) e maturidade sexual em um curto período de tempo (Paul, 1937). *Hydroides elegans* produz tubos calcáreos e geralmente forma populações densas em estruturas feitas pelo homem, como pilares de cais e cascos de navios, sendo considerada uma espécie invasora em várias partes do mundo (Zibrowius 1973, 1992), principalmente em águas costeiras tropicais e subtropicais (Huang & Cai, 1984) incluindo o Brasil (Knight-Jones & Knight-Jones, 1991; Batista-Zavala, 2008). No Brasil um dos dois registros da espécie apresenta poucos detalhes de sua morfologia e história de vida e o outro se resume a descrever a ocorrência da espécie, dentre uma lista de outras espécies incrustantes sem maiores detalhes, com o registro também de outra espécie facilmente confundida, o que aumenta a incerteza de sua distribuição.

No litoral do Estado do Rio de Janeiro, a Baía de Guanabara (BG) está localizada entre as latitudes 22° 41' e 22° 58'S e os meridianos de 43° 02' e 43° 18'W. Apesar de sua importância histórica, econômica, cultural e científica, a Baía de Guanabara está entre os ecossistemas costeiros mais degradados do país. Circundada pela região metropolitana do Rio de Janeiro e os municípios de Niterói, São Gonçalo, Itaboraí, Rio Bonito, Cachoeiras de Macacu, Guapimirim, Magé, Petrópolis, Duque de Caxias, São João de Meriti, Nova Iguaçu, Nilópolis e Queimados, a Baía de Guanarabara é caracterizada por intensa atividade humana, como a pesca, turismo, tráfego marinho e a crescente industrialização (Maranhão *et al.*, 2009) que lança diretamente substâncias químicas de despejos industriais e domésticos, sendo as regiões costeiras as mais sujeitas a esses impactos (Nipper, 2000). Dentre os efluentes líquidos e resíduos sólidos que são descartados no ambiente marinho, os efluentes e resíduos derivados das atividades de desenvolvimento e produção de petróleo e gás natural têm despertado particular interesse, pois as atividades decorrentes da indústria do petróleo envolvem as etapas de exploração, perfuração, produção, transporte, refino e distribuição, com potenciais de causar uma série de impactos ao meio ambiente (Silva, 1996).

Nos últimos anos, proprietários de embarcações atracadas no Clube Naval Charitas em Niterói / RJ observaram um aumento na ocorrência de um organismo nos cascos de seus navios, posteriormente identificado com o poliqueta serpulídeo *Hydroides elegans*, aumentando também os custos de manutenção dos mesmos. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo geral caracterizar os exemplares de *H. elegans* da costa brasileira e adquirir informações sobre seu potencial de colonização em novos substratos. Além disso, esse estudo buscou testar os efeitos do cobre presente nas tintas anti-incrustantes sobre a colonização, reprodução e indução de resistência em *H. elegans*, assim como testar possíveis mecanismos para redução da incrustação. Para isso, esta dissertação foi dividida em dois capítulos:

O primeiro capítulo, intitulado **“Caracterização do poliqueta invasor *Hydroides elegans* (Haswell, 1883) no litoral do estado do Rio de Janeiro e descrição da sua capacidade de monopolizar espaço em comunidades incrustantes”** apresenta resultados sobre a análise taxonômica de *H. elegans* e sua distribuição na costa brasileira, com o intuito de esclarecer a ocorrência da espécie, sua identidade taxonômica e informações sobre seu potencial de colonização em novos substratos. Assim, pode-se analisar sua possível influência como monopolizador de espaço, ameaçando a biota nativa, e apresentar sua atual distribuição mundial.

No segundo capítulo, intitulado **“Efeito do cobre no recrutamento, reprodução e resistência da prole do poliqueta invasor *Hydroides elegans* (Haswell, 1883)”**, foi examinado como o cobre presente em tintas anti-incrustantes utilizadas nos cascos de embarcações afetam o recrutamento, crescimento e reprodução do poliqueta invasor *H. elegans*. Além disso, foi testada a resistência da prole produzida por animais vindos de áreas com e sem cobre a diferentes fatores de estresse: alta temperatura, baixa salinidade e ácido acético. A questão central deste capítulo foi avaliar se o cobre seleciona organismos resistentes a esse poluente e o quanto específica é a resistência da prole oriunda de ambientes com e sem cobre.

CAPÍTULO I
CARACTERIZAÇÃO DO POLIQUETA INVASOR *Hydroides elegans* (Haswell, 1883)
NO LITORAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO E DESCRIÇÃO DA SUA
CAPACIDADE DE MONOPOLIZAR O SUBSTRATO EM COMUNIDADES
INCRUSTANTES

INTRODUÇÃO

Fragmentação e perturbação de habitats e alterações na estrutura da comunidade e funcionamento do ecossistema têm sido identificados como fatores chave para o estabelecimento de espécies invasoras (Elton, 1958; Lonsdale, 1999; Prieur-Richard *et al.*; 2000; Ruiz *et al.*, 2000; Celesti-Grapow *et al.*, 2006; Piola & Johnston, 2008b), o que muitas vezes leva à perda de biodiversidade e também a problemas econômicos. O processo dinâmico de invasão biológica envolve várias etapas, desde a chegada das espécies até a expansão e o equilíbrio das mesmas no ambiente (Ruiz *et al.*, 2000; Lockwood *et al.*, 2005). A maioria dos estudos está focada em entender os efeitos nocivos das espécies invasoras (EI) quando estas já se fixaram no novo ambiente, mas as estratégias que lidam com o momento inicial da introdução são mais favoráveis para impedir o sucesso de fixação da espécie invasora. Invasões biológicas estão diretamente relacionadas aos avanços tecnológicos, intensificados a partir do século XX como resultado do aumento do transporte humano através das fronteiras naturais (Souza *et al.*, 2008; Dajoz, 2005).

Como a maioria das grandes cidades do mundo está localizada no litoral ou perto da costa, estuários e baías costeiras muitas vezes estão sujeitas a uma combinação de intenso tráfego de navios e degradação do habitat. Enquanto a degradação aumenta a susceptibilidade desses habitats à invasão, reduzindo a diversidade nativa (Stachowicz *et al.*, 2002), os navios oferecem transporte para as espécies invasoras em seus cascos ou na água de lastro, tornando estuários e baías costeiras habitats extremamente vulneráveis à invasão (Piola & Johnston, 2006b; Ruiz *et al.*, 1997). Por exemplo, na Costa da Califórnia - EUA, o caranguejo verde *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758), introduzido da Europa, compete com os caranguejos nativos pela presa, uma ostra nativa, facilitando a introdução de outras espécies invasoras

(Grosholz, 2005). No Canadá, a ascídia invasora *Ciona intestinalis* (Linnaeus, 1767) quando cresce em fazendas de mexilhões reduz o tamanho e o índice de condição dos mexilhões, aumentando a mortalidade em até 50% (Daigle & Herbinger, 2009).

Nos últimos anos, várias espécies de poliquetas invasoras têm sido relatadas na costa brasileira. *Branchiomma luctuosum* (Grube, 1870) foi reportada em São Paulo, sudeste do Brasil, próximo ao Porto de Santos, o principal porto internacional no Brasil (Nogueira *et al.*, 2006). Posteriormente, essa mesma espécie também foi observada em áreas mais ao norte (Costa-Paiva, 2006). Outras espécies, como *Polydora cornuta* Bosc, 1802 e *Pseudopolydora antennata* (Claparède, 1869), foram provavelmente introduzidas pela água de lastro ou pelos cascos de navios (Radashevsky, 2004, 2008), enquanto que *Boccardiella bihamata* (Kudenov & Blake, 1978), foi provavelmente introduzida associada ao cultivo de ostras (Radashevsky, 2004).

Poliquetas da família Serpulidae produzem tubos de calcário e geralmente formam populações densas em estruturas feitas pelo homem, tais como estacas de cais e cascos de navios, o que aumenta o peso e reduz o hidrodinamismo das estruturas, aumentando os custos de manutenção e causando maior consumo de combustível pelas embarcações (Schwindt, 2001). *Ficopomatus enigmaticus* (Fauvel, 1923), uma espécie pertencente à família Serpulidae, é classificada como invasora em várias lagoas e estuários do mundo, por exemplo, na América do Sul (Orensanz & Estivariz, 1972; Luppi, 2002; Muniz *et al.*, 2005), Grã-Bretanha (Thorp, 1987), Mediterrâneo (Bianchi & Morri, 2001) e Nova Zelândia (Read & Gordon, 1991). Essa espécie constrói grandes recifes circulares (Obenat & Pezzani, 1994; Schwindt *et al.*, 2004b), que nas últimas décadas têm aumentado em densidade e tamanho, cobrindo até 86% de lagoas salobras costeiras na Argentina (Schwindt *et al.*, 2004a), funcionando como uma espécie engenheira do ecossistema, proporcionando refúgios (Luppi & Bas, 2002) e modificando o fluxo de água e padrões de sedimentação (Schwindt *et al.*, 2001).

Outros serpulídeos que também incrustam em águas costeiras são as espécies pertencentes ao gênero *Hydroides*. A espécie mais conhecida, *Hydroides elegans* (Haswell, 1883), é um membro comum das comunidades incrustantes em todos os mares tropicais e subtropicais (Ten Hove, 1974; Hadfield *et al.*, 1994; Unabia & Hadfield, 1999; Bastida-Zavala & Ten Hove, 2002, 2003), principalmente em regiões portuárias que costumam ser

áreas degradadas. Tais observações sugerem que esta espécie ocupa nichos ecológicos amplos e usados também por outras espécies, utilizando-se de estratégias biológicas que sustentam sua permanência nestes ambientes antropizados. *H. elegans* é considerada invasora em várias partes do mundo (Zibrowius 1973, 1992), incluindo o Brasil (Knight-Jones & Knight-Jones, 1991; Batista-Zavala, 2008), África do Sul, Índia, Mar Mediterrâneo, Golfo do México, Micronésia, EUA, na Califórnia e no Haváí (Zibrowius 1971, Bastida-Zavala & Hove 2003). Devido a essa expansão, seu status taxonômico tem sido questionado, principalmente pela falta de identificação minuciosa. Entre os fatores que dificultam o processo de identificação está a grande variabilidade do gênero. Informações importantes da morfologia da espécie são encontradas essencialmente na região anterior do animal. A falta de estudos taxonômicos mais precisos torna as informações sobre a ocorrência da espécie questionáveis. Até o início do presente estudo, *H. elegans* só havia sido registrado em um local da costa brasileira: a Baía de Guanabara por Knight-Jones & Knight-Jones (1991) e posteriormente por Monteiro & Silva (1995) ainda como *H. norvegicus*, espécie que é constantemente confundida com *H. elegans*.

Além dos estudos taxonômicos, também não existem muitos estudos sobre a dinâmica populacional de *H. elegans* no Brasil. Suas características como o curto período larval (Hadfield *et al.*, 1994; Carpizo-Ituarte & Hadfield, 1998), a rápida colonização de superfícies recém-submersas (Unabia & Hadfield, 1999), o fato de crescerem até 1,5 mm por dia e atingirem a maturidade sexual em um curto período de tempo, de apenas 9 dias em mares tropicais (Paul, 1937), além de formar agregados de seus tubos calcificados que podem chegar a vários centímetros de espessura (Edmondson, 1944), a transforma em uma potencial ameaça à biota inscrutante brasileira. Nos últimos anos, *H. elegans* foi registrado na costa do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil, onde começou a formar agregados em piers e cascos de navios, chegando a entupir as tubulações de entrada de água. Desta forma, o objetivo deste capítulo foi caracterizar a espécie *H. elegans* na costa brasileira, incluindo informações sobre seu potencial de colonização de novos substratos, sua possível influência como monopolizador de espaço (ameaçando a biota nativa) e apresentar sua atual distribuição mundial.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo:

Conduzi o estudo no Clube Naval Charitas (CNC). A marina é composta por sete piers, que, juntamente com os barcos, fornecem substrato para o desenvolvimento da comunidade sésil. O CNC está localizado dentro da Baía de Guanabara (BG), em Niterói, região Sudeste do Brasil (Figura 1). Pelo fato da BG ser altamente eutrofizada, ela compõe um mosaico de condições ambientais, sendo capaz de abrigar muitos organismos que compartilham o mesmo ambiente. Na BG também está localizada a segunda maior cidade do Brasil, Rio de Janeiro (Maranhão *et al.*, 2009), que tem sido amplamente impactada pela urbanização, vazamentos de óleo e esgoto não tratado. Além da cidade do Rio de Janeiro, hoje a BG tem na sua vizinhança o segundo maior aeroporto internacional e o quinto maior porto do Brasil, sendo expostos aos navios de passageiros e de carga e à alta poluição.

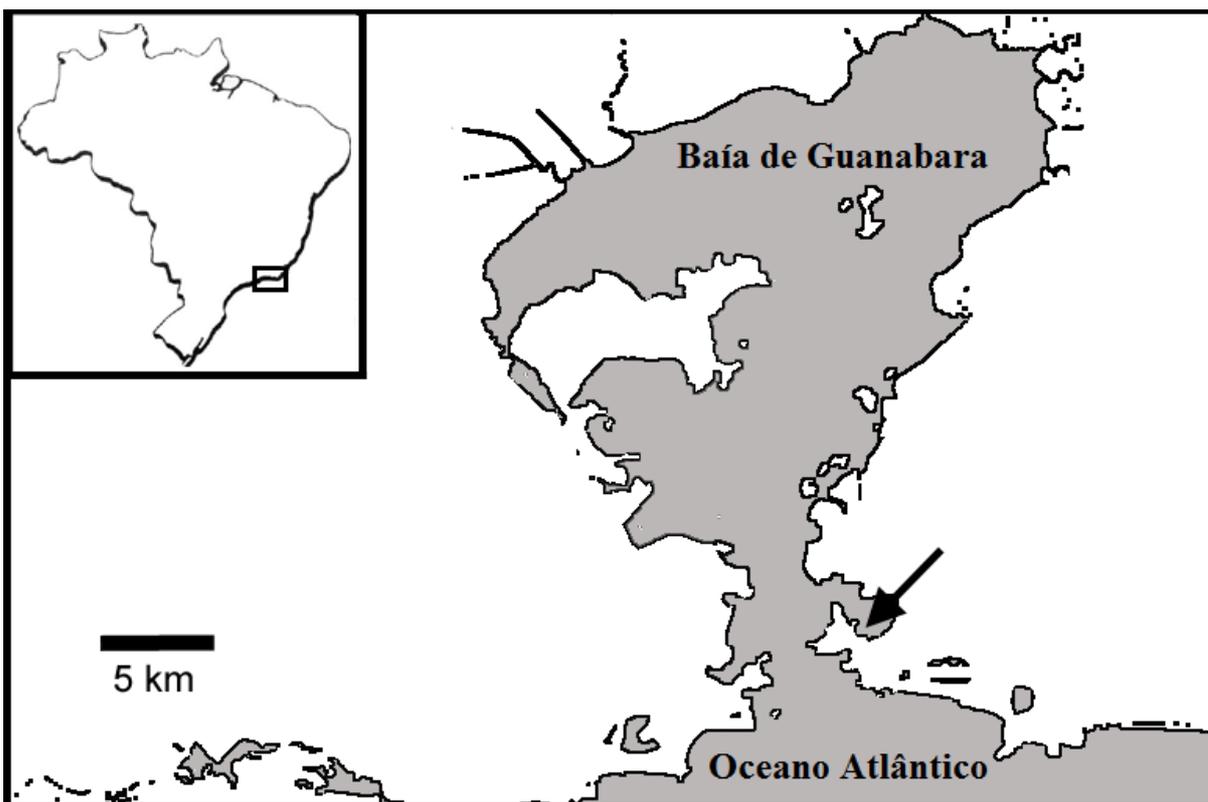


Figura 1: Localização (seta) da área de coleta no Clube Naval Charitas, na enseada de Jurujuba, município de Niterói, na Baía de Ganabara.

Caracterização de *Hydroides elegans* (Haswell, 1883)

Entre outubro de 2011 e setembro de 2012 coletei amostras da espécie nos cabos, colunas de madeira, dos pilares e também das placas de PVC que implantei no campo. Transporte os serpulídeos em recipientes plásticos para o laboratório de Polychaeta, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde eles foram mantidos em tanques com água do mar e aeração. Também obtive amostras adicionais de outra população da mesma espécie de embarcações de uma baía diferente, a Baía de Sepetiba (BS), que está localizada mais ao sul, no Estado do Rio de Janeiro.

No laboratório, removi os espécimes dos tubos e examinei sob o microscópio estereoscópico Zeiss Descoberta V8 e Olympus BX40. Realizei fotos e filmagens utilizando uma câmera Cybershot W350 Sony. Anestesiéi as amostras com cloreto de magnésio a 8% em água do mar, fixei com formalina a 10% e depois armazenei em álcool a 70%. Montei as lâminas com meio de Hoyer Mediuon (Humason, 1979). Algumas amostras fixei diretamente em álcool absoluto para futuras análises moleculares. Depositei os espécimes na coleção científica Edmundo Ferraz Nonato, localizada no Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Preparei os espécimes escolhidos para microscopia eletrônica de varredura segundo o método descrito por Fitzhugh (com. pess.). Neste método, submeti o material à desidratação alcoólica, com concentrações de álcool variando, gradativamente, de 70% a 100% e permanecendo nestas diferentes gradações por, no mínimo, 15 minutos. Posteriormente o ponto crítico químico foi realizado substituindo o etanol por Hexametildisilazano (HMDS) progressivamente em quatro etapas de, também no mínimo, 15 minutos. Após esses procedimentos os espécimes foram recobertos com uma liga metálica de ouro-paládio (Au-Pd). Fotografei e metalizei os espécimes em microscópio eletrônico modelo Jeol - JEOL JSM-6390LV, do Centro de Microscopia Eletrônica do Museu Nacional (UFRJ).

Para discutir a distribuição mundial de *H. elegans* utilizei como fonte complementar de referência as bases de dados WoRMS – World Register of Marine Species (<http://www.marinespecies.org>), a lista de espécies de Polychaeta fornecida por Amaral *et al.* (2012) e a NONATObase (<http://nonatobase.ufsc.br>).

Experimento de Dominância

Para avaliar quão rápido *H. elegans* poderia dominar os substratos disponíveis, implantei no campo 40 placas de PVC de 10 x 10 x 2 cm, fixadas horizontalmente por cordas aos piers. Dividi as placas em dois grupos: (1) Placas rasas, com as faces implantadas na franja do infralitoral (FI) as quais foram expostas ao ar durante a maré baixa, enquanto que; (2) Placas profundas foram implantadas no infralitoral, um metro abaixo da FI e, portanto, estiveram constantemente imersas em água.

Após 15, 30 e 60 dias, emergi as placas e fotografei a face inferior da placa para medir a área coberta por *H. elegans* e por outros organismos incrustantes, usando o software ImageTool UTHSCSA para Windows. Após 60 dias, utilizei os dados de cobertura para produzir uma matriz de morfespecies X profundidade que foi usada para avaliar as diferenças entre as comunidades nas duas profundidades através do teste PERMANOVA. A contribuição de *H. elegans* e de outras espécies para as diferenças de a profundidade foi avaliada através de um teste SIMPER.

RESULTADOS

Caracterização de *Hydroides elegans* (Haswell, 1883)

Utilizei um total de 40 espécimes, adultos e jovens, de *H. elegans* para caracterizar as estruturas dos tubos e a morfologia das populações que ocorrem na costa brasileira (Baía de Guanabara e Baía de Sepetiba) (Figuras 2A-C e D).

Sistemática:

Família: Serpulidae Rafinesque, 1815

Gênero: *Hydroides* Gunnerus, 1768

Espécies Tipo: *Hydroides elegans* (Haswell, 1883)

Material examinado: 30 exemplares do CNC, na Baía de Guanabara, Niterói - RJ, e 10 espécimes da Baía de Sepetiba, Itacuruçá - RJ.

Diagnose: Segundo a diagnose de Sun, *et al.*, (2012), *Hydroides elegans* (Haswell, 1883) possui tubo branco, circular na secção transversal. Quilhas distintas ausentes. Opérculo com um funil basal mole de raios fundidos e uma coroa distal com espinhos. Verticilo quitinizado resultantes do centro dos raios do funil. Pedúnculo cilíndrico, liso, sem abas. Pseudo-opérculo presente. Radiolos dispostos em semicírculos e olhos branquiais ausentes. Tórax com sete setígeros. Colar trilobado. Membranas torácicas longas, formando colarinho ventral. Cerdas do colar em baioneta e limbadas. Cerdas subsequentes de dois tamanhos, limbadas e capilares. Uncini ao longo de todo tórax. Notocerca abdominal em forma de Uncini, neurocerdas planas em forma de trombeta.

Descrição das amostras brasileiras do *Hydroides elegans*: Coloração: espécimes preservados: amarelo pálido, sem marcações coloridas. Espécimes vivos: laranja e vermelho. Tubo: tubo branco com nervuras circulares. Diâmetro do tubo: de 0,5 mm a 1,6 mm (n = 10) (Figura 2). Brânquias: de 10-20 radiolos de cada lado. Cada radiolo com 3 mm de comprimento. Membrana Interradiolar: ausente. Terminal de filamentos de cerca de 1/5 do

comprimento total radiolar. Opérculo: em forma de funil, com 23-28 raios e com 0,3-0,9 mm de comprimento e 0,3-0,9 mm de largura (Figura 2E). Ranhuras interradaiais com 1/4 do comprimento da tampa do recipiente. Com 6-8 espinhos laterais e 0-4 espículas internas. Dente central presente. Todos os espinhos são semelhantes em tamanho e forma. Espinhos externos ausentes. Peito de membrana e colarinho: colarinho alto e membro anterior bem desenvolvido. Colarinho com cerdas de dois tipos: na zona proximal cerdas em baioneta com 4 serras afiadas e várias serras menores e na zona distal com linhas de pequenos entalhes serriados. 80 mm de comprimento. Tórax com 6-7 setígeros. Cerdas de tórax com formato Uncini com 6 dentes curvos de dois tamanhos limbados e capilar. Abdômen: Número total de setígeros abdominais varia de 26-64. Cerdas abdominais planas e em forma de trombeta. Uncines abdominais com 3 a 5 com dentes. Capilares se apresentam posteriormente, almofada glandular ausente. Tamanho: comprimento total de 7 a 35 mm e de peito com o terceiro setígero: 0,5-1 mm.

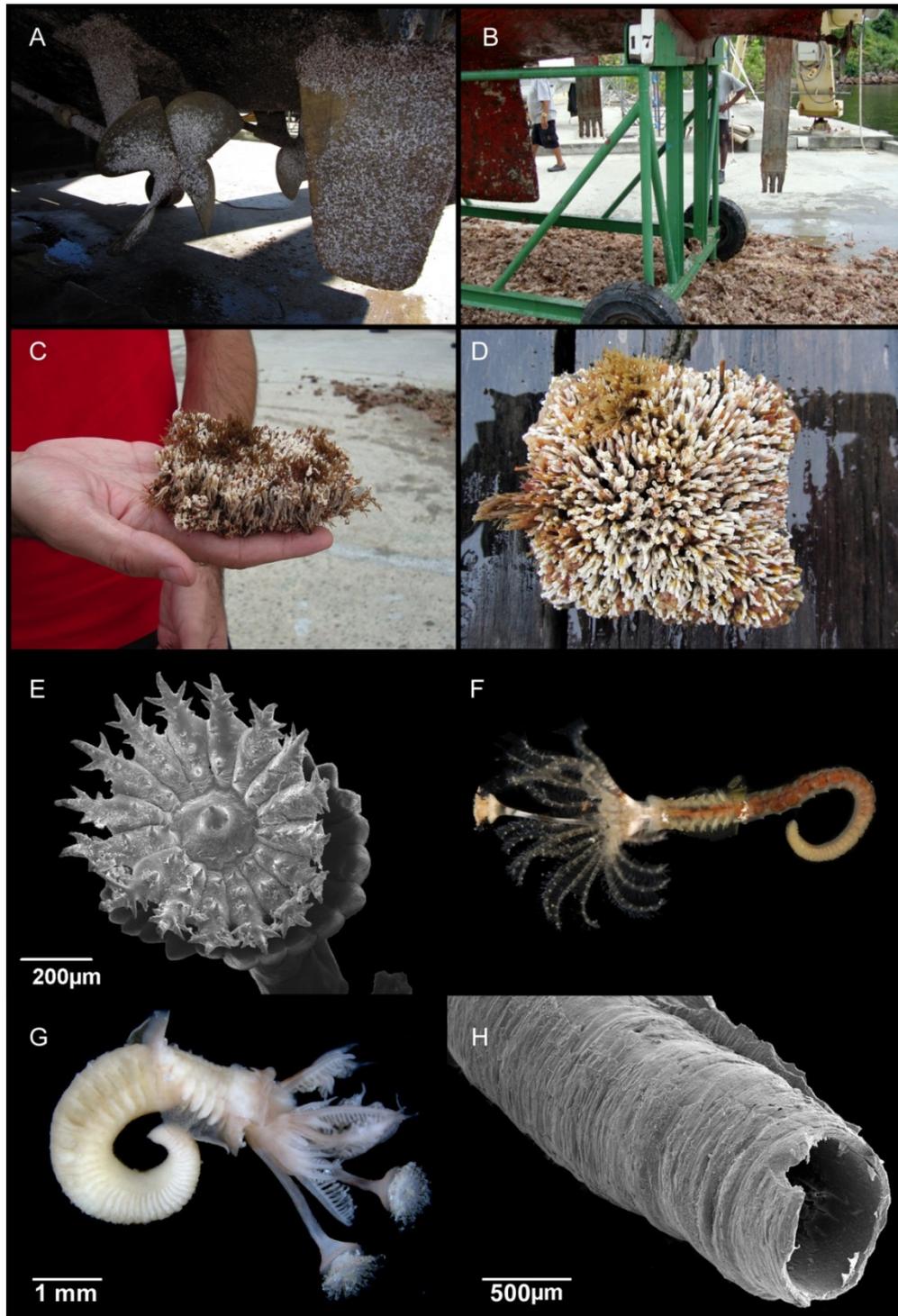


Figura 2: *Hydroides elegans* A) Barco incrustado, B) Barco durante limpeza do casco; C) pedaço de agregado da limpeza; D) placa de PVC depois de 3 meses submersa; E) Microscopia eletrônica de varredura do opérculo; F) Fotografia de um espécime vivo e anestesiado; G) Fotografia de material fixado e conservado em álcool à 70%; H) Estrutura do tubo sob microscopia eletrônica de varredura.

Habitat: Ocorre na região entremarés até 2 m de profundidade.

Localidade tipo: Port Jackson, na Austrália.

Distribuição: *Hydroides elegans* é uma espécie distribuída em águas tropicais e subtropicais do mundo (Sun, Ten Hove & Qiu, 2012): África do Sul, Austrália, Baja California Sur (México), Brasil (Baía de Guanabara e Baía de Sepetiba), EUA (Caribe, Califórnia, Havaí e Flórida), México (Golfo do México), Índia, Mar do Norte, (Batista & Zavala, 2008). Holanda, Inglaterra, França e Itália (Mediterrâneo), Malta, Tunísia, Gana, Mazambique, Sri Lanka, Argentina (Mar del Plata), Curaçao, Cartagena, Colômbia (atlântica da Colômbia) e Venezuela (Figura 3).

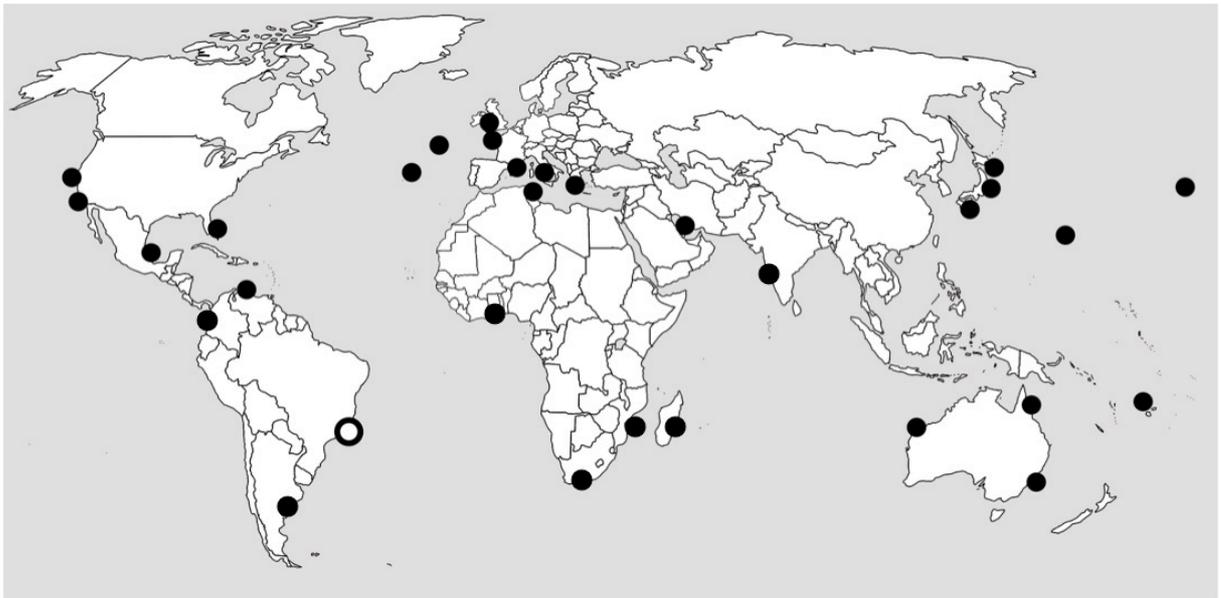


Figura 3: Distribuição mundial de *H. elegans*. Os círculos pretos representam sua distribuição nas águas tropicais e subtropicais do mundo, o círculo branco de margem preta significa sua distribuição no sudeste do Brasil confirmada pelo presente estudo.

4.2 Chave dicotômica de identificação e diferenciação do *Hydroide elegans*

1

1_a Opérculo com dente central ausente, em forma de funil com a ponta afiada. Verticilo com 10 a 11 espinhos curvados (às vezes torcido) para a parte interior do mesmo, sendo espinhos dorsais maiores do que as ventrais.....*H. dianthus*

1_b Opérculo com dente central presente.....2

2

2_a Opérculo em forma de funil, com raios fundidos na base e verticilo distal (coroa) de espinhos quitinizada. Collar trilobado com cerdas do tipo baioneta e limbadas...*H. norvegicus*

2_b Opérculo em forma de funil, com o número de raios variando de 22 a 27, com pontas arredondadas, não quitinizadas. Cerdas do colarinho do tipo baioneta com duas zonas bem definidas: uma distal com quatro grandes dentes pontiagudos e muitos dentículos menores.....*H. elegans*

4.3 Experimento de Dominância

Após 15 e 30 dias, hidrozoários dominaram as placas profundas enquanto que as cracas dominaram as placas rasas. Após 60 dias, *Hydroides elegans* foi a espécie que mais contribuiu para a dissimilaridade entre as comunidades rasas e profundas (32%). Em placas profundas a ascídia *Styela plicata* (Lesueur, 1823) ocupou 53% do substrato disponível, enquanto nas placas rasas *Hydroides elegans* dominou 51% das placas, resultando em duas comunidades distintas (PERMANOVA, $P < 0,05$) (Figura 4).

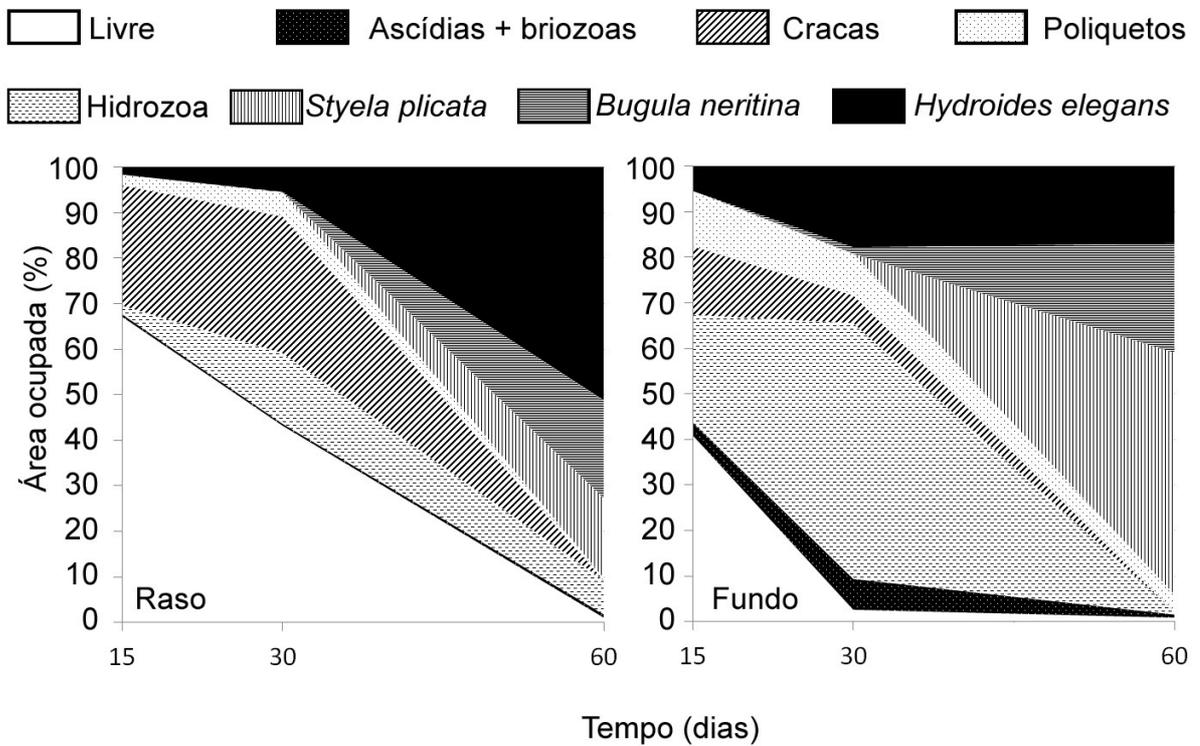


Figura 4: Área ocupada (%) pelas diferentes espécies e grupos taxômicos em placas dispostas na linha média das marés (raso) e um metro abaixo da linha média das marés (profundo).

DISCUSSÃO

O fato de *Hydroides elegans* ser considerada uma espécie invasora em várias partes do mundo (Zibrowius, 1973, 1992) demonstra seu potencial de dispersão e de dominância em superfícies submersas. Este potencial de dispersão fez com que a espécie fosse capaz de alcançar a região do Atlântico Sul e chegar até a BG, no Rio de Janeiro, Brasil, segundo o registro feito por Knight-Jones (1991) e posteriormente por Monteiro & Silva (1995) ainda como *H. norvegicus*. Essa espécie é frequentemente confundida como *H. elegans*. Atualmente, aproximadamente 20 anos após o primeiro registro da espécie na costa brasileira, esse estudo demonstra que além de dominar a comunidade incrustante na BG, *H. elegans* também colonizou a Baía de Sepetiba mais ao sul. Esses resultados conciliados com a dominância da espécie na franja do infralitoral demonstram que *H. elegans* tem o potencial de se propagar para outras regiões costeiras do Atlântico sul, como já registrado em regiões da Europa e Estados Unidos (Ten Hove, 1974; Hadfield *et al.*, 1994; Unabia & Hadfield, 1999; Bastida-Zavala & Ten Hove, 2002, 2003).

Pelo fato de possuir uma morfologia parecida com outras espécies de poliquetas do seu gênero (Zibrowius, 1994; Bastida-Zavala & Hove, 2002) *H. elegans* foi frequentemente confundido com outras espécies que também ocorrem em regiões tropicais (Zibrowius, 1971), como: *H. centrospina* Wu & Chen, 1981; *H. longispinosus* Imajima, 1976; *H. multispinosus* Marenzeller, 1885 e *H. nanhaiensis* Wu & Chen, 1981 (Ten Hove & Kupriyanova, 2009). Essa confusão taxonômica pode ocorrer em função da crescente demanda por estudos ecológicos combinada com a falta de especialistas no grupo, fazendo com que o espécime seja identificado através da observação de caracteres que não são essenciais para a sua identificação. *H. elegans* foi frequentemente confundido como *H. norvegica* Gunnerus, 1768, antiga grafia errada, ou *H. norvegicus* Gunnerus, 1768, atual grafia correta e aceita atualmente (Zibrowius, 1971, 1972), uma outra espécie que não ocorre no Brasil (Ben-Eliahu & Ten Hove, 2001), ao contrário do que afirmam Monteiro & Silva (1995). Os exemplares relatados por Monteiro & Silva (1995) devem ser na realidade *H. elegans*. Essa confusão taxonômica pode ter ocorrido devido a problemas de identificação, quanto à presença de espinhos na base da cerda, os quais estão presentes em *H. elegans* e ausentes em *H. norvegicus*.

O recrutamento e o desenvolvimento da larva de alguns invertebrados marinhos podem exigir diferentes estímulos ambientais (Chia, 1989). As larvas de *H. elegans* respondem a sinais provenientes de várias fontes, inclusive as liberadas por larvas e adultos já fixados (Bryan *et al.*, 1998; Pechenik & Qian, 1998). Segundo Carpizo-Ituarte & Hadfield (1998), *H. elegans* domina rapidamente o substrato assim que ele se torna disponível. Em um experimento semelhante ao conduzido nesse estudo, Edmondson (1944) submergiu uma tela, em Pearl Harbor, no Havaí, que foi coberta por agregados de *H. elegans* de vários centímetros de espessura em um tempo tão curto quanto 1 a 2 meses, de forma similar aos nossos espécimes brasileiros. Sabe-se que pulsos sazonais de matéria orgânica podem alterar a dinâmica populacional, a reprodução e o ciclo de crescimento de alguns animais (Goday, 2002). Assim, os resultados sugerem que a rápida dominância de *H. elegans* na franja do infralitoral pode estar relacionada à degradação da região costeira, devido aos níveis de poluição orgânica, causados pela atividade antrópica, e pela presença de populações já estabelecidas nesta região. Conseqüentemente, essa degradação pode levar à perda de diversidade, o que frequentemente aumenta a susceptibilidade da comunidade a espécies invasoras (Stachowicz, 2002). Johnston *et al.* (2002) demonstraram que pulsos de cobre diminuem a ocorrência de competidores superiores como ascídias e briozoários, levando a uma maior cobertura por *H. elegans*. No presente estudo, a dominância de *H. elegans* no infralitoral não foi tão intensa porque outra espécie invasora, a ascídia *Styela plicata* (Lesueur, 1823), se tornou abundante após 30 dias, quando jovens dessa ascídia foram observados recrutando entre os tubos de *H. elegans*. Com o crescimento de *S. plicata* os tubos de *H. elegans* foram comprimidos entre as ascídias, limitando a ocorrência de *H. elegans*. Desta forma, apesar de não dominar o substrato no infralitoral, *H. elegans* parece favorecer a ocorrência de outra espécie invasora.

Acredita-se que a região de origem de *H. elegans* seja a Austrália, em Port Jackson, sua localidade tipo (Zibrowius, 1994). Atualmente *H. elegans* é encontrado em regiões portuárias em várias partes do mundo, onde costuma causar impactos econômicos. O fato desta espécie possuir a sua localidade tipo em um porto reforça a idéia de que talvez ela também tenha sido introduzida nesta região. Atualmente a distribuição mundial de *H. elegans* esta principalmente restrita a áreas portuárias (Ten Hove & Kupriyanova, 2009). No Brasil, apesar desta espécie ser abundante na BG, dos registros anteriores a esse estudo, um mostra a descrição da espécie e o outro apenas menciona sua ocorrência. Através dos dados obtidos

neste estudo, podemos confirmar a ocorrência de *H. elegans* no Atlântico sul, sem evidência da ocorrência de *H. norvegicus*. Podemos ainda afirmar que *H. elegans* domina as camadas superficiais do substrato artificial do Clube Naval Charitas, na Baía de Guanabara, justamente onde estão localizados os cascos das embarcações. Essa capacidade de ocupação do substrato e o fato da espécie não estar mais restrita a área da Baía de Guanabara, ocorrendo no sul do Estado do Rio de Janeiro, na Baía de Sepetiba, ressalta a necessidade de estudos de monitoramento da sua distribuição e expansão, de forma a pontuar a expansão de *H. elegans* em outras áreas no litoral brasileiro e com isso minimizar os impactos ecológicos e econômicos causados pela espécie.

3 CAPÍTULO II

EFEITO DO COBRE NO RECRUTAMENTO, REPRODUÇÃO E RESISTÊNCIA DA PROLE DO POLYCHAETA INVASOR *Hydroides elegans* (Haswell, 1883)

INTRODUÇÃO

Espécies invasoras são espécies, fora da sua área de distribuição natural, introduzidas intencionalmente ou não, por ação humana (Rejmanek, 1995; Williamson, 2006). Dentre as formas de invasão mediada pelo homem, o transporte marítimo é um dos vetores mais importantes na transferência de espécies marinhas invasoras, seja por meio da água e sedimentos presentes nos tanques de lastro ou pela incrustação de organismos aos cascos ou demais partes submersas das embarcações (Coutts *et al.*, 2003; Drake & Lodge, 2007). Com o aumento no fluxo de navios, um grande número de espécies vem ultrapassando barreiras geográficas naturais com facilidade. Estas espécies geralmente possuem vantagens competitivas em relação às espécies nativas, pois são favorecidas pela ausência de predadores especializados (Bruno *et al.*, 2005) e pela degradação dos ambientes naturais. Isso faz com que espécies invasoras acabem dominando os nichos ocupados previamente pelas espécies nativas (Calton & Geller, 1993), ao ponto de estabelecer populações em diversas regiões portuárias do mundo. Além disso, essa degradação nos ambientes de portos fornece condições ideais para garantir a sobrevivência de algas e animais filtradores e sésseis, devido à elevada acumulação de matéria orgânica e à baixa intensidade da ação das ondas, resultado das alterações causadas pela ação do homem (Batista, 2006). Como resultado, os portos atuam como “entrada” para os organismos invasores (Lambert & Lambert, 2003), fazendo com que a composição de suas espécies apresente grandes diferenças em relação a aquela de ambientes naturais adjacentes (Tyrrel & Byers, 2007).

As incrustações dos organismos marinhos em regiões portuárias causam diversos prejuízos econômicos, como por exemplo: aumento dos custos na manutenção dos piers, portos e marinas, na aquicultura e na manutenção e desempenho das embarcações (Glasby *et*

al., 2007). No caso das embarcações, as incrustações promovem a diminuição da velocidade e, conseqüentemente, aumento no gasto de combustível. Por exemplo, uma incrustação de 5% de área do casco da embarcação pode aumentar o gasto com combustível em 17%, e 1 mm de espessura da incrustação no casco pode causar a perda de 15% de velocidade final (Lewis, 2001).

A fim de minimizar este problema, foram criadas tintas anti-incrustantes com biocidas que são aplicadas nos cascos de embarcações. Entretanto, estes biocidas possuem metais pesados em sua composição, que podem causar diversos impactos ambientais, prejudicando os organismos marinhos (Piola & Johnston, 2009). Por exemplo, na Austrália, larvas do briozóario invasor *Bugula neritina* (Linnaeus, 1758) tiveram seu recrutamento, crescimento e, conseqüentemente, incrustação afetados por distúrbios causados pela poluição de metais pesados (Piola & Johnston, 2006a). Destes metais pesados, o cobre é um poluente comum no ecossistema marinho, e tem sido reconhecido como um dos três metais pesados mais tóxicos para invertebrados marinhos, que acabam afetando na composição da comunidade (Hall *et al.*, 1998). Também na Austrália, comunidades incrustantes que se desenvolveram na presença do cobre apresentaram menor riqueza de espécies do que as comunidades na ausência de cobre (Piola & Johnston, 2008a). O cobre altera também a história de vida dos organismos que compõem essa comunidade, induzindo em alguns casos a manifestação de efeitos maternos que tornam a prole resistente ao cobre, alterando também o tamanho da prole produzida (Floerl *et al.*, 2004; Marshall, 2008; Piola & Johnston, 2009). Mas essa plasticidade normalmente tem um custo (Tollrian & Dodson, 1999), podendo diminuir a sobrevivência da prole quando em alta competição (Marshall, 2008) ou em baixas salinidades (Moran *et al.*, 2010). Alguns estudos já mostraram que populações sujeitas a baixas concentrações de cobre podem levar a manifestação de efeitos maternos e que em populações sujeitas a altas concentrações, o cobre funciona como agente de seleção natural provocando a mortalidade dos indivíduos ou espécies não resistentes (Floerl *et al.*, 2004; Marshall, 2008; Piola & Johnston, 2009). Desta forma, o cobre deve induzir a formação de linhagens resistentes a curto prazo, tanto por plasticidade quanto por seleção natural, o que pode acelerar a dominância das espécies em área poluídas como portos e marinas (Moran *et al.*, 2010; Marshall & Keough 2008).

Recentemente, proprietários de embarcações atracadas no Clube Naval Charitas (CNC), Niterói, RJ, observaram um aumento na ocorrência de um poliqueta nos cascos de suas embarcações. Essa espécie foi identificada como o poliqueta invasor *Hydroides elegans* (Haswell, 1883) (Capítulo 1), uma espécie sensível ao cobre, o qual afeta na embriogênese e no desenvolvimento larval (Xie *et al.*, 2005) e, conseqüentemente, no seu estabelecimento em substratos consolidados. Como outros representantes da família Serpulidae, *H. elegans* constrói tubos calcários que se entrelaçam, podendo formar grandes agregados incrustantes de recifes (Cohen, 2005; Schwindt, 2001). Neste estudo examinei como o cobre presente em tintas anti-incrustantes utilizadas no casco de embarcações afeta o recrutamento, crescimento e reprodução de *H. elegans*. O desenvolvimento e o crescimento de uma espécie ocorre dentro de estreitos limites de tolerância (Kinne, 1970; Newell & Branchi, 1980), entretanto essas tolerâncias podem não ser as mesmas para os adultos e para as larvas (Fong, 1998). Sabendo disso, testei ainda como o ambiente de origem (com e sem cobre) colonizado pelo poliqueta determina a sobrevivência da prole a esse metal pesado. Para avaliar o quão específica é a resistência da prole, testei também a sobrevivência da prole e dos adultos a outros fatores de estresse naturais como: baixa salinidade, temperatura elevada e uma fonte de estresse artificial que poderia ser empregada no controle da espécie, o ácido acético. É esperado que o recrutamento de *H. elegans* seja mais intenso no ambiente sem cobre, mas que as larvas oriundas de adultos de *H. elegans* que cresceram no ambiente com cobre, sejam mais resistentes a esse poluente. Se a resistência é específica para o cobre, é esperado que indivíduos oriundos de locais com cobre sejam mais susceptíveis a outras fontes de estresse.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

Realizei este estudo na região sudeste do Brasil, na cidade de Niterói, na BG, que é uma das baías mais importantes da costa brasileira (Soares-Gomes *et al.*, 2010). Desde o século passado, a área de influência em torno da Baía foi fortemente modificada pelas atividades humanas. Hoje, a BG tem a segunda maior área industrial no Brasil, com duas bases navais, um pátio e um grande número de barcos de pesca e iates (Fonseca *et al.*, 2009).

Mais especificamente, os experimentos foram realizados dentro do Clube Naval Charitas (CNC), o qual é composto por uma marina com sete píeres de madeira, sustentado por pilares. Os píers, juntamente com os cascos dos barcos de passeio atuam como substrato para as comunidades sésseis, compostas principalmente pelos poliquetas da família Serpulidae.

Espécie de estudo

H. elegans é uma espécie de poliqueta que apresenta um curto período larval (Hadfield *et al.*, 1994; Carpizo-Ituarte & Hadfield, 1998), colonizando rapidamente superfícies recém-submersas (Unabia & Hadfield, 1999), podendo crescer até 1,5 mm por dia e atingindo a maturidade sexual em um curto espaço de tempo, até 9 dias no mar tropical (Paul, 1937). Desta forma é comum a formação de tubos calcificados que formam agregados capazes de chegar a vários centímetros de espessura (Edmondson, 1944).

Experimento 1. Efeito do cobre no recrutamento, crescimento e na produção de larvas pelo *H. elegans*

Para testar como o cobre das tintas anti-incrustantes afeta os atributos da história de vida de *H. elegans*, em outubro de 2011, montei um experimento, onde 40 placas de PVC (10 x 10 x 2 cm) foram submersas na água aleatoriamente ao longo do píer do CNC com a finalidade de simular um substrato artificial (casco de embarcações). Suspendi as placas

horizontalmente no campo por cabos, um metro abaixo da linha média das marés. Para simular a exposição da espécie ao cobre, as placas foram divididas em dois grupos que foram expostos a duas condições diferentes: (1) Tratamento: pintei um dos lados de metade das placas (20) com duas demãos de tinta anti-incrustante da marca Tritão®, que tem o óxido de cobre (CuO) como principal componente ativo. (2) Controle: pintei o lado inferior das 20 placas restantes com duas demãos de tinta azul equivalente produzida e fornecida pela International®, produtora original da tinta anti-incrustante da marca Tritão®, mas sem conter o óxido de cobre. Desta forma, a única diferença entre as placas sujeitas ao tratamento e as placas sujeitas ao controle é a presença ou ausência do cobre, de forma que qualquer diferença entre os grupos pode ser atribuída a este poluente.

Para avaliar como o cobre afeta no recrutamento e crescimento de *H. elegans*, depois de 15, 30, 45, 60 e 75 dias do início do experimento, retirei, fotografei e devolvi as placas ao seu lugar original, exceto durante a última amostragem, quando as placas foram levadas para o laboratório e as mantive em aquários com água do mar e aeração, até serem realizados todos os procedimentos. A partir das fotografias quantifiquei e medi: (1) Abundância: o número de indivíduos de *H. elegans* em cada placa controle e tratamento para avaliar o recrutamento e (2) Tamanho: medi o diâmetro do tubo de 10 indivíduos aleatórios de cada placa em cada intervalo de tempo usando o programa ImageTool UTHSCSA 3.0 para Windows. O experimento foi repetido duas vezes: em Outubro de 2011 e em Maio de 2012 para avaliar a heterogeneidade temporal no recrutamento. Os dados de recrutamento foram obtidos a partir das duas repetições, mas devido ao baixo recrutamento da segunda repetição principalmente na placas com cobre, em maio de 2012, os dados de tamanho e reprodução foram obtidos a partir da primeira repetição apenas.

Sabendo que a poluição também pode afetar os atributos do ciclo de vida dos organismos, tais como a reprodução sexuada (Marshall & Keough, 2008), e que o cobre é um poluente comum em regiões de portos e marinas, para cada réplica (placa de PVC) do experimento induzi, em laboratório, a liberação de gametas por *H. elegans*. Para isso, removi os poliquetas de seus tubos calcários fragmentando o tubo com uma pinça e expondo os segmentos abdominais dos indivíduos. Este processo provocou a liberação de ovos (com aproximadamente 45 µm de diâmetro) ou nuvens brancas de espermatozóide dos segmentos abdominais. Para cada placa, removi 12 fêmeas de seus tubos que tiveram seus ovos fixados

em formalina 4% em água do mar, sem serem fecundados, depois contei e medi os ovos para poder estimar o investimento reprodutivo das fêmeas. Em seguida, em cada placa, induzi a liberação de gametas por, dez machos e dez fêmeas, misturando os gametas em um recipiente estéril com aproximadamente 200 ml de água do mar e incubei os ovos a uma temperatura de 26° C até as larvas eclodirem. A fertilização ocorre minutos após a exposição dos ovos ao esperma, a primeira clivagem ocorre cerca de 1 h após a fertilização, a uma temperatura de aproximadamente 26° C. Após 24hs recolhi as larvas e as fixei em formalina a 10% em água do mar, para posteriormente contá-las. Dez larvas oriundas da fecundação dos dez casais de cada placa foram colocadas em placas de petri contendo uma solução de 150µg/L de CuO para avaliar a importância do ambiente de origem (com e sem cobre) na sobrevivência das larvas no cobre. Os dez primeiros indivíduos removidos de seus tubos foram utilizados para calcular a razão sexual nas placas controle e tratamento.

Experimento 2: A exposição dos poliquetas ao cobre aumenta a resistência de adultos e larvas a outros fatores de estresse?

Para testar a resistência dos poliquetas ao cobre, eu repeti o experimento acima e avaliei se os adultos e a prole dos indivíduos de *H. elegans* que viveram em ambientes com cobre, apresentam maior resistência a esse poluente do que a prole de indivíduos não expostos ao cobre. Para isso, expus as larvas, produzidas da fecundação induzida em laboratório pelos adultos, e outros adultos oriundos das placas com e sem cobre a esse poluente e quantifiquei a sobrevivência nos dois grupos. Visando avaliar se essa possível resistência ao cobre gera custos quando esses indivíduos são expostos a outros fatores de estresse ou se a resistência não é específica ao cobre, também avaliei a sobrevivência dos adultos e larvas a outros fatores de estresse naturais como: baixa salinidade e alta temperatura, e, a um estresse artificial e barato que poderia ser empregado para o controle da população, o ácido acético (vinagre).

Para determinar as concentrações subletais de cada um dos fatores de estresse que seriam expostos (temperatura, salinidade, cobre e ácido acético), realizei um experimento piloto antes da realização dos experimentos. Coletei amostras de indivíduos das cordas, dos pedaços de madeira e do próprio píer para realizar os pilotos. Desta forma pude comparar a

sobrevivência de larvas e adultos oriundos de ambientes diferentes sem correr o risco de ter 0% ou 100% de mortalidade nos dois tratamentos.

Para avaliar a sobrevivência das larvas e adultos nos diferentes níveis dos fatores de estresse a serem testados no experimento piloto, utilizei três réplicas para cada nível. Sendo cada réplica uma placa de petri contendo, 10 adultos de *H. elegans* fora de seus tubos e 10 larvas. Testei: (1) Temperaturas: 20, 25, 30, 35 e 40° C; (2) Salinidade nas concentrações: 26, 30 e 34 ‰; (3) Ácido acético nas concentrações: 4, 2, 1 e 0% e (4) Cobre (Cu) na forma de CuSO₄ nas concentrações: 0, 50, 75, 100, 150, 200 e 300µg/L. A sobrevivência foi verificada e anotada ao longo do tempo de: 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48 horas e até atingir 100% de mortalidade das amostras de larvas e adultos (dados não apresentados). A temperatura e as concentrações consideradas subletais para cada um dos fatores que seriam utilizados no experimento foram a temperatura e as concentrações que levaram entre 40 e 70% de mortalidade para adultos após 24 horas e para larvas após 12 horas. O tempo foi determinado em função da mortalidade de larvas e adultos dos testes controle, uma vez que após os períodos descritos acima, larvas e adultos no controle começaram a morrer sugerindo que outros fatores estariam determinando a sobrevivência.

Obtidas as temperaturas e concentrações ideais para os experimentos, dispus 40 placas de PVC no campo, sendo 20 controle e 20 tratamento, da mesma forma como descritos no item anterior e aguardei 75 dias para crescimento de *H. elegans*, quando então, os levei para o laboratório em caixas térmicas com água do mar para a realização dos experimentos. Vinte placas (10 controle e 10 tratamento) foram utilizadas para testar o efeito da temperatura e salinidade, enquanto as 20 restantes foram utilizadas para testar o efeito do ácido acético e do cobre. Para cada placa, cinco adultos de sexos indiferentes, ainda dentro de seu tubo de calcário e cinco larvas nascidas da fecundação induzida em laboratório de cinco fêmeas e de cinco machos de cada uma das 20 placas foram selecionados para testar o efeito do ambiente de origem (com ou sem cobre) sobre a sobrevivência dos adultos e das larvas a: (1) Temperatura: 31° C (temperatura elevada) e no controle de 25° C (temperatura ambiente); (2) Salinidade: na concentração de 20 ‰ (baixa salinidade) e no controle de 34‰ (salinidade ambiente); (3) Ácido acético: na concentração de 0,5% e controle de 0% e (4) Cobre (Cu) na concentração de 150 µg e controle de 0 µg, durante 24 horas para os adultos e 12 horas para as larvas (Figura 5).

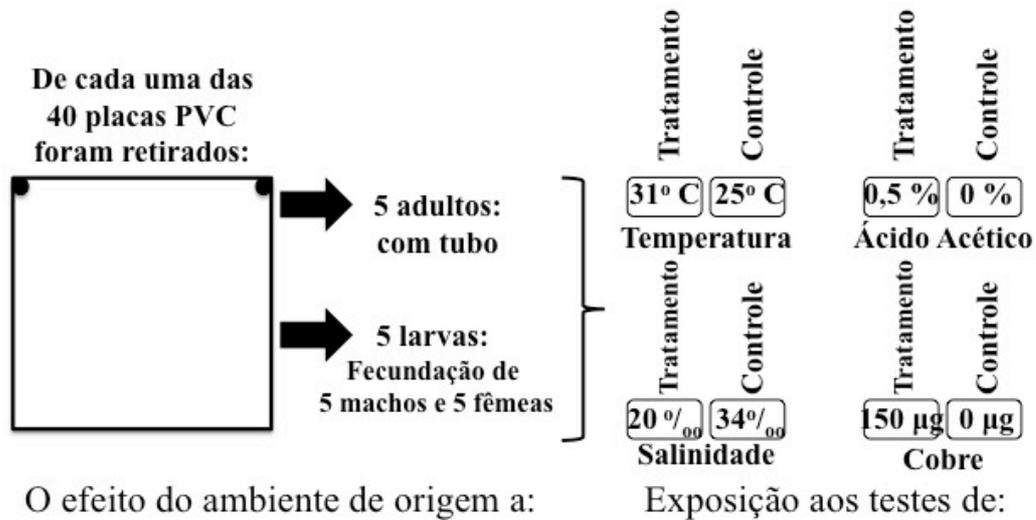


Figura 5: Esquema do desenho amostral do experimento para teste da resistência dos adultos e das larvas de *H. elegans* provindos das placas de PVC cultivadas em campo (no esquema esta representado apenas uma dentre as 40 placa de PVC).

Análise Estatística

Todos os testes foram realizados no pacote estatístico SYSTAT 12.

Recrutamento e Crescimento

Para avaliar o efeito da tinta-anti-incrustante sobre o recrutamento de *H. elegans*, comparei o número de recrutas entre as placas tratamento e controle ao longo do tempo através de uma ANOVA de amostras repetidas onde o tempo, o tipo de tratamento (Cobre e Controle) e as duas repetições temporais foram as variáveis preditoras e o número de indivíduos foi a variável resposta. Já para o crescimento foi utilizado o mesmo modelo, porém apenas o tipo de tratamento e o tempo foram utilizados como variáveis preditoras, sem as duas repetições, e o diâmetro do tubo como variável resposta. Transformei os dados em log para minimizar problemas de homocedasticidade.

Frequência sexual, reprodução e sobrevivência larval no cobre

Comparei a razão entre machos e fêmeas dos indivíduos amostrados, o número de óvulos produzidos pelas fêmeas e o número de larvas produzidas pelos dez casais entre placas controle e tratamento através de um teste t de student. Comparei a sobrevivência das larvas no cobre através do teste de Mann-Whithney pois os dados não atenderam às premissas dos testes paramétricos.

Resistência

Para avaliar como cada um dos fatores testados (temperatura, salinidade, ácido acético e cobre) afetou a sobrevivência de adultos e larvas de *H. elegans*, realizei para cada um dos fatores uma ANOVA com os fatores (1) Ambiente de origem (placas com ou sem cobre), (2) ambiente de teste (placa de petri com os diferentes níveis dos fatores testados) e (3) bloco (a placa de origen do animal) e variável resposta o percentual de sobrevivência transformado para o arcoseno da raiz quadrada.

RESULTADOS

Recrutamento e Crescimento

O recrutamento foi menor nas placas com cobre do que nas placas controle, mas a densidade dos indivíduos aumentou de forma diferente nas duas repetições, sendo maior em outubro de 2011 do que em maio de 2012 (Tabela 1, Figura 6). Já o tamanho de *H. elegans*, inicialmente foi maior nas placas com cobre do que nas placas sem cobre, mas esse parâmetro se inverteu ao longo do tempo: os indivíduos que recrutaram nas placas sem cobre no final dos 3 meses atingiram um tamanho maior do que os indivíduos nas placas com cobre (Tabela 2, Figura 7).

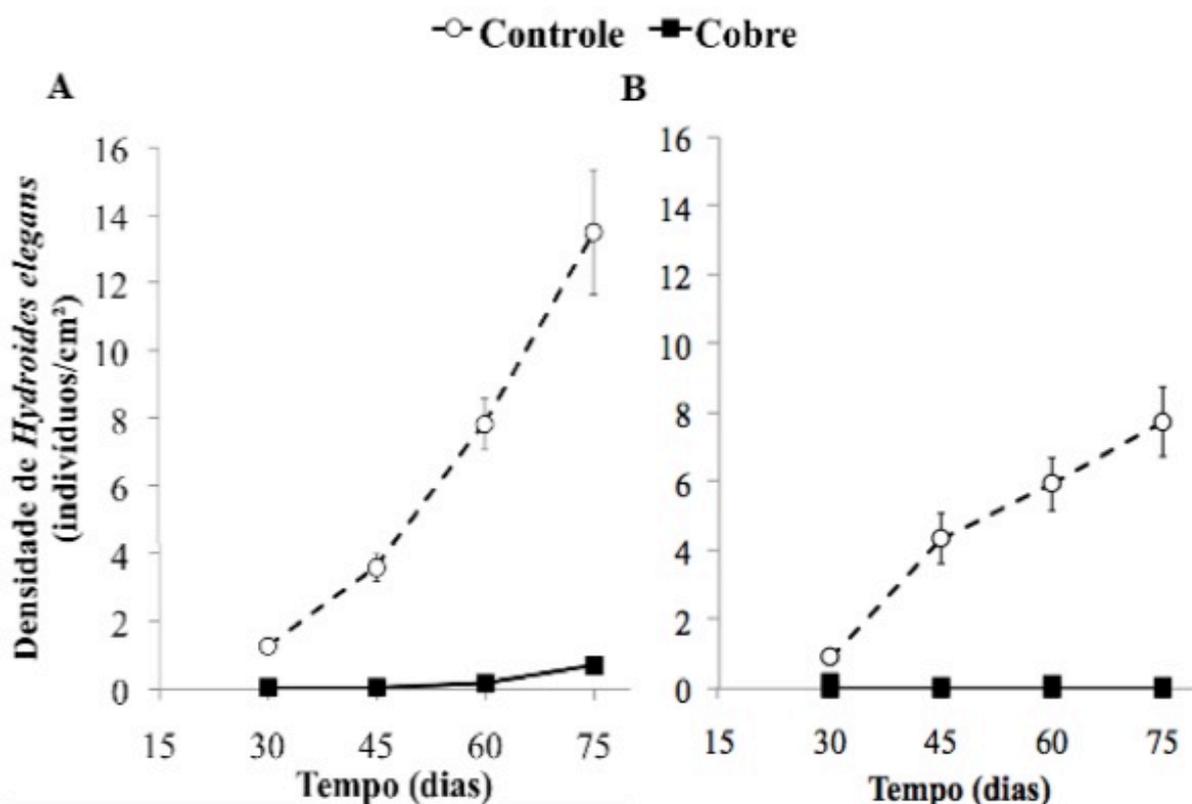


Figura 6: Densidade (média \pm erro padrão) dos indivíduos de *H. elegans* nas placas com e sem cobre ao longo do tempo. A) Outubro de 2011 e B) Maio de 2013.

Tabela 1. ANOVA de amostras repetidas testando o efeito do tratamento com a tinta com cobre e sem cobre, ao longo do tempo e das duas repetições (Outubro de 2011 e Maio de 2012) sobre a abundância de *H. elegans*.

Fonte	QM	GL	F	P
Repetição	56,614	1	22,522	<0,01
Tratamento	77,966	1	31,015	<0,01
Repetição X Tratamento	10,005	1	3,98	0,05
Erro	2,514	72		
Tempo	25,14	3	42,644	<0,01
Tempo X Repetição	9,017	3	15,294	<0,01
Tempo X Tratamento	8,217	3	13,938	<0,01
Tempo X Trat X Repetição	14,806	3	25,114	<0,01
Erro	0,59	216		

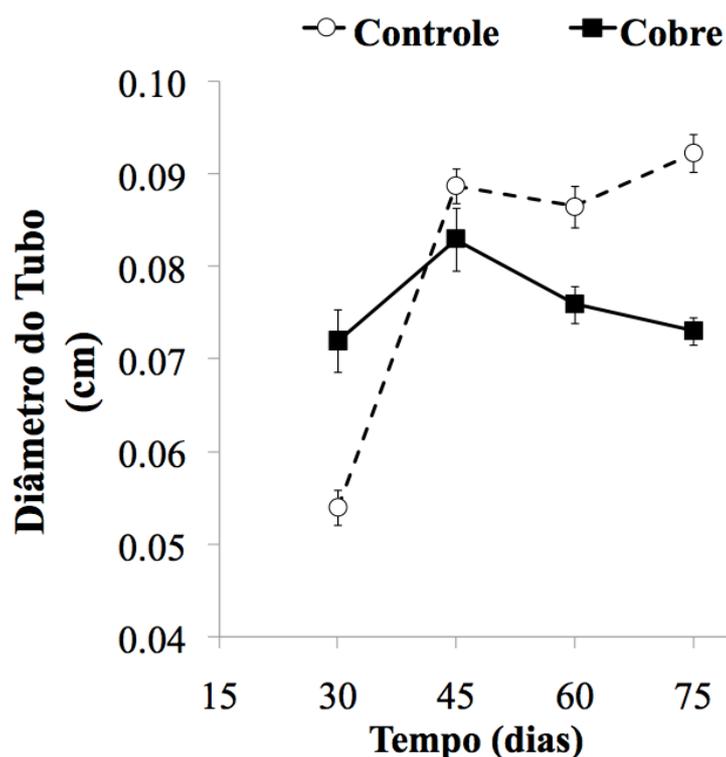


Figura 7: Tamanho em cm (média \pm erro padrão) de *H. elegans* medido pelo diâmetro do tubo nas placas com e sem cobre ao longo do tempo em Outubro de 2011.

Tabela 2. ANOVA de amostras repetidas testando o efeito da tinta com cobre e sem cobre, entre as réplicas ao longo do tempo sobre o crescimento medido pelo diâmetro do tubo de *H. elegans*.

Fonte	QM	GL	F	P
Tratamento	0,536	1	0,166	0,687
Erro	3,228	26		
Tempo	39,197	3	13,164	<0,01
Tempo X Tratamento	10,149	3	3,408	0,022
Erro	2,978	78		

Frequência sexual, reprodução e sobrevivência larval no cobre

A razão entre machos e fêmeas nas placas controle foi $0,6 \pm 0,09$ (média \pm EP) e não diferiu da razão nas placas com cobre que foi $0,83 \pm 0,12$ ($t = 0,662$; $gl=27,9$; $p = 0,51$). Indivíduos que recrutaram em placas com cobre produziram óvulos maiores ($t = 9,02$; $gl=33$; $p < 0,001$) (Figura 8A), em menor número ($t = 3,362$; $gl=38$; $p = 0,002$) (Figura 8B),

resultando também em um menor número de larvas viáveis ($t = 7,288$; $gl=38$; $p < 0,001$) (Figura 8C), entretanto essas larvas apresentaram uma maior taxa de sobrevivência em uma solução de cobre ($U = 4,964$; $gl= 1$ $p = 0,026$) (Figura 8D).

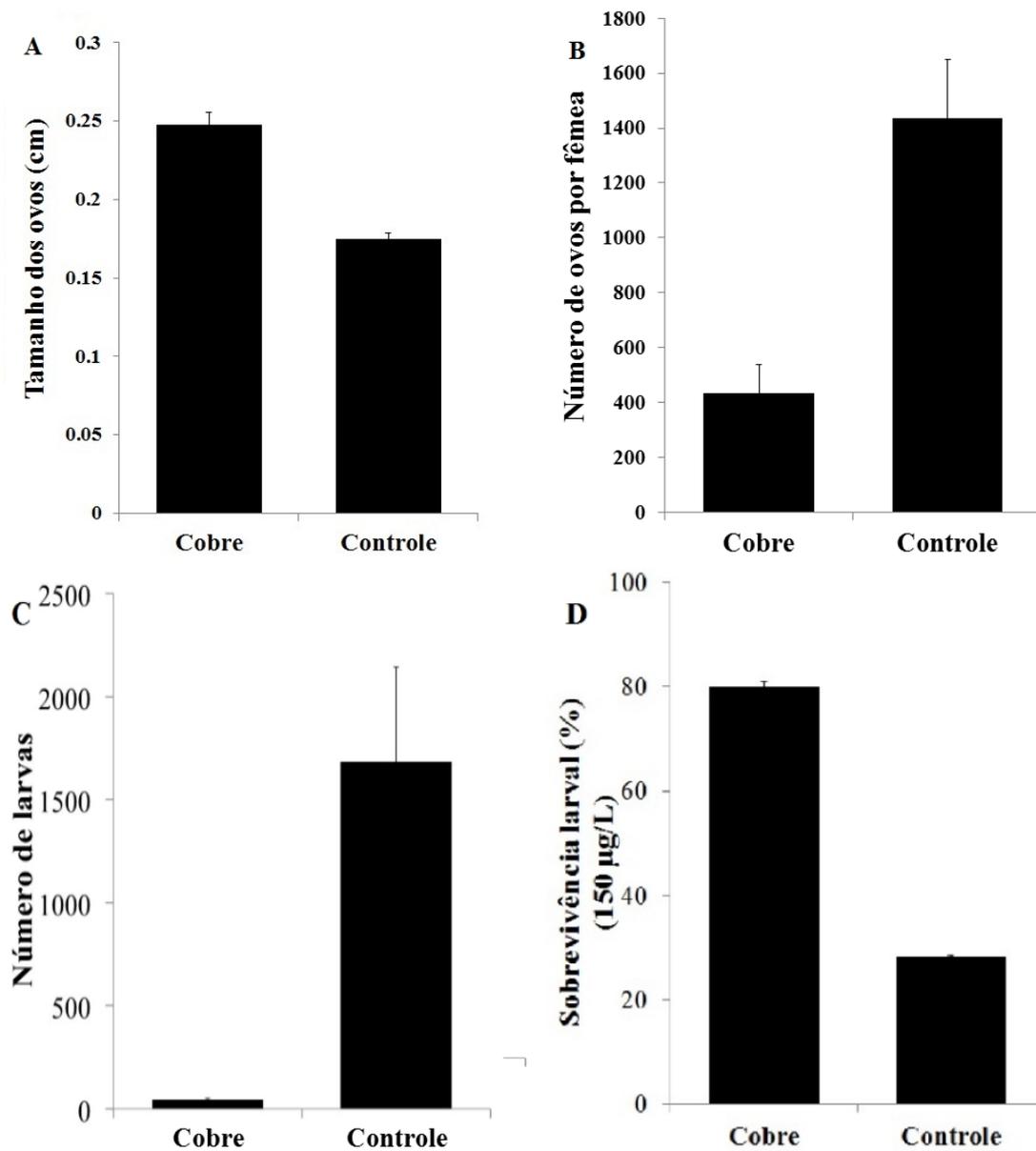


Figura 8. A) Diâmetro dos ovos em cm (média \pm erro padrão), B) número de óvulos liberados pelas fêmeas de *H. elegans* que cresceram nas placas com e sem cobre (controle) (média \pm erro padrão). C) Número de larvas viáveis (média \pm erro padrão), produzidas pelos indivíduos de *H. elegans* das placas com e sem cobre (controle). D) Sobrevivência das larvas viáveis de *H. elegans* oriundas das placas com e sem cobre (controle) em uma solução de 150 μ g/L de cobre.

Resistência

Quanto testei a sobrevivência de adultos à temperatura elevada, o ambiente de origem (placa com e sem cobre), não afetou a sobrevivência dos adultos, mas independente do ambiente de origem, como esperado, adultos a 31° C apresentaram menor sobrevivência do que adultos a 25° C. Já para larvas, o ambiente de origem afetou a sobrevivência tanto a 25° C quanto a 31° C, sendo que larvas oriundas de placas com cobre sobreviveram menos do que larvas oriundas de placas controle (Tabela 3, Figura 9A).

Em relação à salinidade, o ambiente de origem afetou a sobrevivência dos adultos mas não de larvas. Adultos provindos das placas sem cobre tiveram uma maior sobrevivência tanto a 20‰ quanto a 34‰ do que os adultos oriundos das placas com cobre. Larvas sobreviveram mais em 34‰ do que em 20‰ independente de sua placa de origem (com e sem cobre) (Tabela 4, Figura 9.B).

Adultos e larvas oriundos de placas sem cobre foram tão resistentes ao cobre quanto adultos e larvas que vieram de placas com cobre contrariando os resultados apresentados no item anterior, entretanto houve uma tendência de adultos expostos ao cobre sobreviverem mais a esse fator de estresse (interação não significante $p = 0,086$). Independente da origem, tanto adultos quanto larvas apresentaram maior sobrevivência na ausência do cobre do que na solução à 150µg/L de cobre, ou seja, o ambiente de origem não afetou a resistência de adultos e larvas ao cobre (Tabela 4, Figura 9.C). Os experimentos realizados com o ácido acético não foram testados, pois ocorreu mortalidade de 100% tanto dos adultos quando das larvas a 0,5% de ácido acético e não houve mortalidade nas soluções controle.

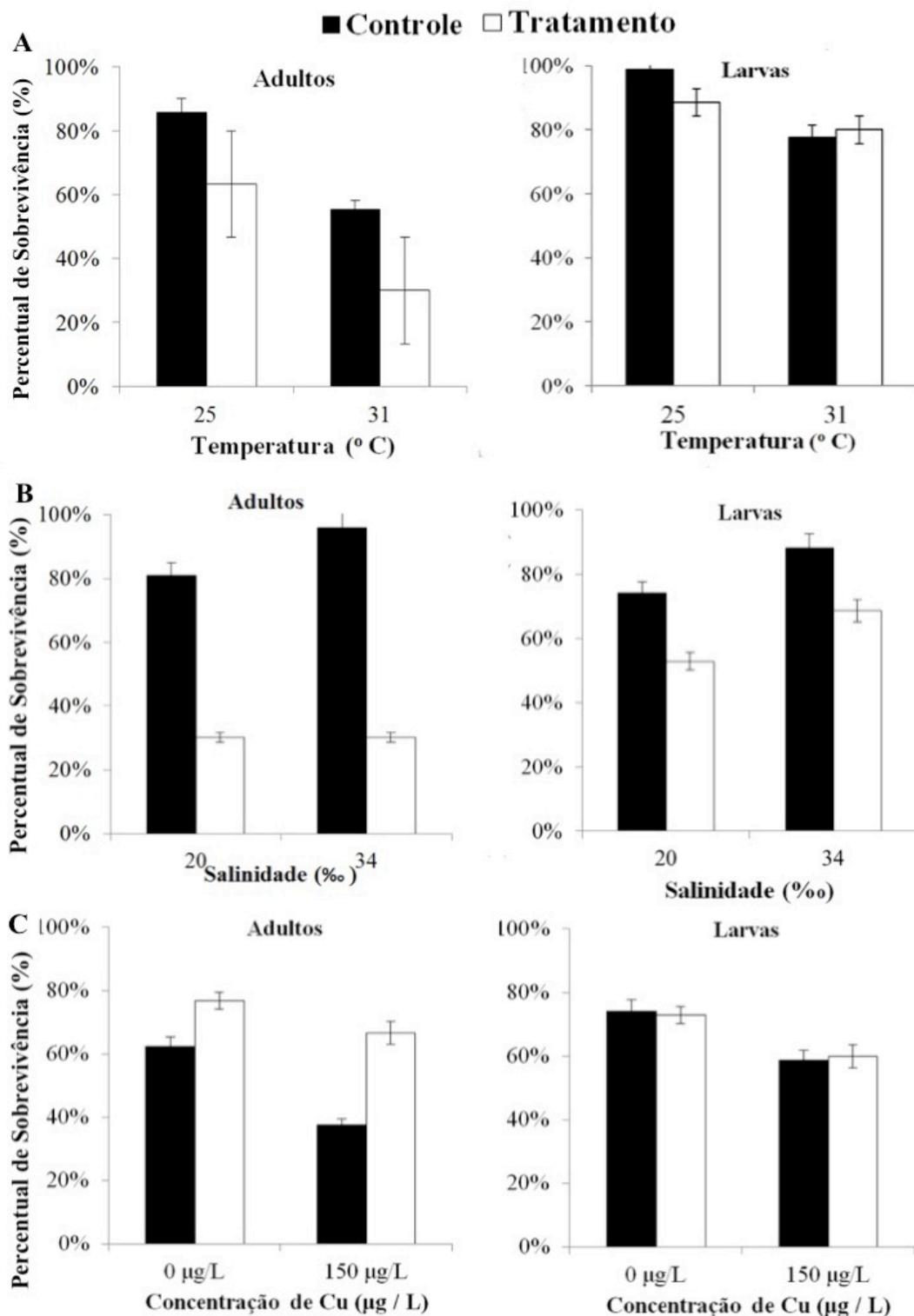


Figura 9: Percentual de sobrevivência (média \pm erro padrão) dos adultos e larvas oriundos das placas tratadas com cobre e controle usados nos testes de resistência. A) Temperatura; B) Salinidade e C) Cobre (Cu). Barras pretas representam adultos e larvas oriundos de placas controle (sem cobre) e barras brancas representam larvas oriundas de placas com cobre.

Tabela 3. ANOVA testando o ambiente de origem (placas tratadas com cobre e sem cobre), o teste realizado (Ambiente Teste), tipo de teste realizado nos indivíduos: temperatura, salinidade e cobre) e do Bloco sobre o percentual de sobrevivência dos adultos e larvas de *H. elegans*.

Fonte	QM	GL	F	P
Temperatura: Larvas				
Ambiente de origem	0,319	1	4,46	0,043
Ambiente Teste	1,087	1	15,182	0,001
Amb Orig x Amb Teste	0,293	1	4,089	0,052
Blocos	0,066	29	0,918	0,59
Erro	0,072	29		
Temperatura: Adultos				
Ambiente de origem	0	1	0	0,995
Ambiente Teste	2,143	1	15,743	0,001
Amb Orig x Amb Teste	0,011	1	0,082	0,778
Blocos	0,256	21	1,878	0,078
Erro	0,136	21		
Salinidade: Larvas				
Ambiente de origem	0,031	1	0,473	0,497
Ambiente Teste	0,695	1	10,713	0,003
Amb Orig x Amb Teste	0,029	1	0,443	0,511
Blocos	2,481	29	1,319	0,23
Erro	1,881	29		
Salinidade: Adultos				
Ambiente de origem	0,87	1	9,758	0,005
Ambiente Teste	1,773	1	19,887	<0,001
Amb Orig x Amb Teste	0,289	1	3,24	0,086
Blocos	0,097	21	1,087	0,425
Erro	0,089	21		
Cobre (Cu): Larvas				
Ambiente de origem	0,001	1	0,058	0,811
Ambiente Teste	0,343	1	13,376	0,001
Amb Orig x Amb Teste	0,002	1	0,08	0,78
Blocos	0,015	29	0,58	0,926
Erro	0,026	29		
Cobre (Cu): Adultos				
Ambiente de origem	0,118	1	1,351	0,258
Ambiente Teste	0,773	1	8,872	0,007
Amb Orig x Amb Teste	0,09	1	1,029	0,322
Blocos	0,244	21	2,802	0,011
Erro	0,087	21		

DISCUSSÃO

Os resultados indicam que, como esperado, o cobre limita a ocorrência de *Hydroides elegans* afetando também o tamanho e a reprodução da espécie como já demonstrado para outros organismos marinhos como os briozoários *Watersipora subtorquata* (d'Orbigny, 1852) e *Bugula neritina* (Linnaeus, 1758) (Floerl *et al.*, 2004; Marshall, 2008; Piola & Johnston, 2009). O cobre reduziu o número de gametas produzidos pelas fêmeas de *H. elegans* e, conseqüentemente, o número de larvas viáveis, porém aumentou o tamanho dos gametas femininos. Os testes de resistência da prole geraram resultados contraditórios, uma vez que no primeiro experimento larvas oriundas de poliquetas que cresceram no ambiente (placas) com cobre apresentaram maior sobrevivência quando expostas a esse poluente do que larvas oriundas de indivíduos que não foram expostos ao poluente. Entretanto, durante o segundo experimento, no qual testei a importância da exposição dos adultos ao cobre para a resistência das larvas a diversos fatores ambientais de estresse, a exposição materna ao cobre não atribuiu nenhuma vantagem às larvas. Além disso, o ambiente de origem (com ou sem cobre) parece não atribuir nenhuma resistência de adultos e larvas a outros fatores de estresse como baixa salinidade e alta temperatura, mas consistentemente larvas e adultos expostos a esse poluente apresentaram maior mortalidade do que organismos não expostos.

Através dos dados obtidos podemos afirmar que o tratamento com cobre foi eficiente em repelir os organismos incrustantes. Os estágios reprodutivos iniciais de *Hydroides elegans* são altamente sensíveis a poluentes como o cobre e TBT (Tributilestanhos) (Gopalakrishnan *et al.*, 2007; Dafforn *et al.*, 2008) o que pode ter limitado o recrutamento. Ou ainda, o cobre pode ter reduzido o número de larvas viáveis nas proximidades das placas (Wong *et al.*, 2006). Pelo fato do assentamento larval ser um processo dinâmico, as larvas podem ainda ter rejeitado o assentamento no substrato devido aos estímulos biológicos, físicos ou químicos daquele ambiente (Wilson, 1937, 1952; Chia, 1989; Pawlik, 1992), já que, esse poluente pode ter alterado a formação do biofilme reduzindo o assentamento larval como demonstrado por Bao *et al.*, (2010).

Já os poucos indivíduos que conseguiram assentar nas placas com cobre, foram inicialmente maiores do que os indivíduos que cresceram nas placas sem cobre, porém, ao longo do tempo, este padrão se inverteu. Marshall (2008) demonstrou que o briozoário

Bugula neritina (Linnaeus, 1758), quando exposto ao cobre, produz larvas maiores e mais resistentes ao cobre do que colônias nunca expostas a esse poluente. Se para *H. elegans* o tamanho larval também está ligado à resistência ao cobre como em *B. neritina*, podemos supor que inicialmente o cobre restringiu o assentamento de larvas pequenas, resultando em uma diferença no tamanho inicial dos recrutas. Entretanto, mesmo conseguindo assentar em locais com cobre, estes indivíduos possuem dificuldade para crescer, fazendo com que após três meses os adultos de *H. elegans* crescendo em placas sem cobre atingissem um tamanho maior do que os adultos crescendo em placas com cobre.

Apesar do cobre da tinta reduzir a incrustação de *H. elegans* nas placas, os resultados também demonstram que o cobre induz modificações na sua biologia reprodutiva. Fêmeas das placas com cobre produziram ovos maiores, porém em menor número do que as fêmeas das placas sem cobre, resultando em um menor número de larvas viáveis. Além da seleção dos indivíduos mais resistentes de *H. elegans*, que são capazes de sobreviverem no ambiente com cobre, esse poluente também pode estar induzindo efeitos maternos, que são uma forma de plasticidade fenotípica na qual o ambiente materno, neste estudo as placas com e sem cobre, induz alterações no fenótipo da prole (Marshall *et al.*, 2008). Para outros grupos de invertebrados, como ascídias e briozoários, ovos maiores normalmente resultam em larvas maiores e, conseqüentemente, em recrutas maiores (Dias & Marshall, 2010; Rius *et al.*, 2010). Se essa relação se mantém, podemos sugerir que o maior tamanho dos ovos produzidos pelas fêmeas de *H. elegans* crescidas nas placas com cobre pode ser evidência de um processo evolutivo, entre o ambiente com cobre da tinta anti-incrustante dos cascos das embarcações e os organismos incrustantes (Russell & Morris, 1973), levando à resistência ao cobre, o que é corroborado pelo tamanho inicial dos recrutas de *H. elegans* nas placas com cobre. O menor número de larvas produzidas das placas com cobre pode representar uma demanda conflitante entre número e tamanho larval, ou seja, fêmeas de *H. elegans* vivendo em locais poluídos por cobre devem produzir larvas maiores, porém menos numerosas, o que poderia lhes conferir maior sobrevivência da prole nesse tipo de ambiente.

As concentrações de cobre geralmente são baixas nas águas dos ecossistemas naturais, mas em águas costeiras poluídas podem ser muito elevadas, inclusive na Baía de Guanabara (Soegianto *et al.*, 1999). A tolerância ao cobre de *H. elegans*, em portos e marinas pode estar relacionada com o seu transporte em cascos de embarcações pintados com tinta anti-

incrustante (Dafforn, *et al.*, 2008), ou seja, os indivíduos selecionados que incrustaram e sobreviveram às viagens nos cascos pintados com tinta a base de cobre, podem ter passado, ao longo do tempo, sua capacidade de tolerar o cobre aos seus descendentes, como mostram os resultados obtidos na primeira repetição do experimento. Entretanto, esses resultados não se repetiram no segundo teste de tolerância ao cobre. Duas hipóteses podem explicar essa oposição entre as repetições. A primeira hipótese é a de que essa variação pode ter sido um problema experimental, pois na segunda réplica temporal eu usei um número menor de indivíduos, 5 larvas e 5 adultos devido a menor abundância da população, o que pode ter influenciado os resultados. Com essa amostra, cada animal representa 20% do total e por isso a morte de um único indivíduo tem grande influência nos resultados finais. Outra hipótese é a de que outros fatores que diferem entre os momentos amostrais combinem com o cobre de forma simultânea para gerar os resultados encontrados. Jones (1975) mostra que o aumento da temperatura e a baixa salinidade potencializam a toxicidade de metais pesados, como o cádmio, zinco e chumbo, em duas espécies de caranguejos. Holmstrup *et al.*, (1998) mostram que a combinação do cobre com baixas temperaturas potencializaram a mortalidade de minhocas. Em parte, isso poderia explicar a diferença encontrada entre as repetições. Pois, se a temperatura mais baixa pode funcionar como um estresse para *H. elegans*, já que sua distribuição é tropical, e os dados mostraram que a população diminuiu no inverno, a combinação da baixa temperatura com o cobre na segunda repetição (Maio a Julho de 2012) pode ter gerado um efeito sinérgico que limita a resistência da prole. Trabalhos que explorem efeitos sinérgicos de poluentes como o cobre com fatores ambientais como temperatura e salinidade podem contribuir para entender o quão rápido os organismos podem desenvolver resistência a esses poluentes.

Mesmo não gerando nenhum tipo de resistência a outras fontes de estresse como baixa salinidade ou alta temperatura, assim como nenhum custo específico, como a diminuição da resistência a essas fontes de estresses durante os experimentos, adultos e larvas que vieram do ambiente tratado com cobre morreram mais do que os que não vieram, independentes de estarem sujeitos a estresses ou não. Esses resultados sugerem que viver em locais poluídos por cobre geram um custo em longo prazo. Essa custo é corroborado por Dafforn *et. al* (2008) que sugerem que *H. elegans* é moderadamente resistente ao cobre, diferente de outras espécies como o briozoário *Watersipora subtorquata*, que apresenta grande tolerância ao cobre. Dentre os estresses testados, o ácido acético se mostrou bastante eficaz em controlar as

populações de *H. elegans* mesmo em concentrações tão baixas quanto 0,5%. Se essa espécie vem causando grandes problemas econômicos e ambientais como sugere esse estudo, talvez seja interessante estudar maneiras de implementar a utilização do ácido acético que pode ser facilmente obtido através do vinagre, para controlar o crescimento populacional de *H. elegans*.

Em conclusão, os resultados sugerem que a tinta anti-incrustante baseada no cobre reduz a proliferação de *Hydroides elegans* e induz mudanças na biologia reprodutiva deste poliqueta, induzindo a formação de uma prole menos numerosa, porém maior e, conforme sugerido pelo primeiro experimento de tolerância, mais resistente ao cobre, o que pode diminuir a eficácia das tintas ao longo do tempo. Apesar dessa resistência não representar nenhum custo específico quando as larvas são deparadas com outros fatores de estresse como temperatura elevada e baixa salinidade, frequentemente durante os experimentos de resistência, larvas e adultos oriundos de locais com cobre apresentaram maior mortalidade do que adultos e larvas oriundos de locais sem cobre. Além disso, o ácido acético mesmo em concentrações tão baixas quanto 0,5% levaram à mortalidade total das larvas independente do seu ambiente de origem, sugerindo que esse ácido possa ser empregado para redução da cobertura por *H. elegans*.

4. CONCLUSÕES

Este trabalho confirma a ocorrência de *Hydroides elegans* no Atlântico Sul, mais especificamente no litoral do Rio de Janeiro, tanto na Baía de Guanabara quanto na Baía de Sepetiba, sugerindo que a espécie vem expandindo sua distribuição desde o seu primeiro registro para a costa brasileira em 1991.

Hydroides elegans apresenta uma grande habilidade de dominar o substrato consolidado na franja do infralitoral, mas tem sua dominância limitada pela ascídia *Styela plicata* no infralitoral.

O cobre presente na tinta anti-incrustante diminuiu a densidade das populações e reduziu o crescimento dos indivíduos que conseguiram recrutar nas placas com cobre, mostrando que a tinta é eficaz em evitar a incrustação por *H. elegans*, mas também pode alterar a forma como a espécie investe na produção da prole, induzindo a formação de óvulos maiores e larvas mais numerosas.

O cobre pode induzir a formação de linhagens resistentes a esse poluente, como mostram os resultados obtidos na primeira repetição do experimento de resistência. A indução dessa resistência, porém, parece depender de outras condições ambientais, como foi visto variando entre as repetições do experimento.

A resistência ao cobre não gera nenhum benefício ou custo para *H. elegans* quando em alta temperatura ou baixa salinidade. Mas, tanto adultos quanto larvas que vieram de um local com cobre, tenderam a apresentar maior mortalidade do que os que não vieram, independente das condições dos testes, sugerindo que viver em locais com cobre reduz a sobrevivência de *H. elegans*.

O ácido acético induziu a mortalidade total dos adultos e das larvas, independente do seu ambiente de origem, mesmo em baixas concentrações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALCÂNTARA, F., WASHINGTON, D.C. An analytical synoptic-dynamic study about the severe weather event over the city of Rio de Janeiro on Jan 2, 1987. In: Magoon, O.; Neves, C. (Ed.). **Coastlines of Brazil** American Society of Civil Engineers, New York, N.Y. 195-204. 1989.
- AMARAL, A.C.Z., NALLIN, S.A.H. & STEINER, T.M. Catálogo das espécies de Annelida Polychaeta do Brasil. 2010. http://www.ib.unicamp.br/destaques\biota\bentos_marinho\prod_cien\texto_poli.pdf (consultado em 21/05/2013).
- BAO, W., LEE, O., CHUNG, H., LI, M. & QIAN, P. Copper affects biofilm inductiveness to larval settlement of the serpulid polychaete *Hydroides elegans* (Haswell), **Biofouling** 26: 119-128. 2010.
- BASTIDA-ZAVALA, J.R. Serpulids (Annelida: Polychaeta) from the Eastern Pacific, including a brief mention of Hawaiian serpulids. **Zootaxa** 1722:1 - 61. 2008.
- BASTIDA-ZAVALA, J.R. & TEN HOVE, H.A. Revision of *Hydroides* Gunnerus, 1768 (Polychaeta: Serpulidae) from the western Atlantic region. **Beaufortia** 52: 103–178. 2002.
- BASTIDA-ZAVALA, J.R. & TEN HOVE, H.A. Revision of *Hydroides* Gunnerus, 1768 (Polychaeta: Serpulidae) from the eastern Pacific Region and Hawaii. **Beaufortia** 53: 67–110. 2003.
- BATISTA, W.R. Avaliação da atividade antiincrustante. **Revista Pesquisa Naval, Brasília** 19: 140-145. 2006.
- BEN-ELIAHU, M.N. & TEN HOVE, H.A. Serpulidae (Annelida: Polychaeta) from the Suez Canal - From a Lessepsian Migration Perspective (a Monograph). **Zootaxa** 2848: 1 - 147. 2001.

- BIANCHI, C.N. Policheti Serpuloidei. Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque lagunari e costiere italiane. **Consiglio Nazionale delle Ricerche** 965: 1–187. 1981.
- BIANCHI, C.N. & MORRI, C. The battle is not to the strong: serpulid reefs in the Lagoon of Orbetello (Tuscany, Italy). **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 53: 215-220. 2001.
- BRUNO, J.F., FRIDLEY, J.D., BROMBERG, K. & BERTNESS, M.D. Insights into biotic interactions from studies of species invasions. **Species Invasions: Insights into Ecology, Evolution, and Biogeography** (eds D.F. Sax, J.J. Stachowicz & S.D. Gaines), Sinauer Sunderland, MA. 13 – 40. 2005.
- BRYAN, J.P., KREIDER, J.L. & QIAN, P. Y. Settlement of the polychaete *Hydroides elegans* on surfaces of the cheilostome bryozoan *Bugula neritina*: Evidence for a chemically mediated relationship. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 220: 171–190. 1998.
- BRYAN, J.P., QIAN, P.Y., KREIDER, J.L. & CHIA, F.S. Chemical induction of settlement and metamorphosis of the serpulid polychaete *Hydroides elegans*. **Marine Ecology Progress Series** 146: 81–90. 1997.
- CARLTON, J.T. & GELLER, J.B. Ecological roulette: the global transport of nonindigenous marine organisms. **Science** 261: 78-82. 1993.
- CARPIZO-ITUARTE E. & HADFIELD M.G. Stimulation of metamorphosis in the polychaete *Hydroides elegans* Haswell (Serpulidae). **Biological Bulletin** 194: 14–24. 1998.
- CARVALHO, C.S. & FERNANDES, M.N. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. **Aquaculture** 251: 109–117. 2006.
- CELESTI-GRAPPOW, L., PYSEK, P., JAROSIK, V. & BLASI, C. Determinants of native and alien species richness in the urban flora of Rome. **Diversity and Distributions** 12: 490–501. 2006.

- CHIA, F. S. Differential larval settlement of benthic marine invertebrates. In Ryland, J.S. & Tyler, P.A. **Reproduction, Genetics and Distributions of Marine Organisms** Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark 3–12. 1989.
- COHEN, A.N. Guide to the Exotic Species of San Francisco Bay. **San Francisco Estuary Institute, Oakland, CA.** 2005. <http://www.exoticsguide.org>. (consultado em 21/05/2013)
- COSTA-PAIVA, E.M. Estudo taxonômico de *Branchiomma nigromaculatum* (Baird, 1865) (Annelida: Polychaeta: Sabellidae) na costa brasileira. Rio de Janeiro. **Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro.** 159. 2006.
- COUTTS, A.D.M., MOORE, K.M. & HEWITT, C.L. Ship's sea-chests: an overlooked transfer mechanism for non-indigenous marine species? **Marine Pollution Bulletin** 46: 1504-1515. 2003.
- DAFFORN, K.A., GLASBY, T.M. & JOHNSTON, E.L. Differential effects of tributyltin and copper antifoulants on recruitment on non-indigenous species. **Biofouling** 24: 23-33. 2008.
- DAIGLE, R.M. & HERBINGER, C.M. Ecological interactions between the vase tunicate (*Ciona intestinalis*) and the farmed blue mussel (*Mytilus edulis*) in Nova Scotia, Canada. **Aquatic Invasions** 4: 177-187. 2009.
- DAJOZ, R. Princípios de Ecologia. 7a ed. Porto Alegre: **Editora Artmed.** 520. 2005
- DALES, R.P. The polychaete stomodeum and inter-relationships of the families of Polychaeta. **Proceedings of the Zoological Society of London** 139: 389-428, 1962.
- DIAS, G.M. & MARSHALL, D.J. Does the relationship between offspring size and performance change across the life-history? **Oikos** 119: 154-162. 2010.
- DIEGUES, A.C. Desenvolvimento sustentado, gerenciamento geoambiental e o de recursos naturais. **Cadernos FUNAP** 9 (16): 33-45. 1989.

- DRAKE, J.M. & LODGE, D.M. Hull fouling is a risk for intercontinental species exchange in aquatic ecosystems. **Aquatic Invasions** 2: 121-131. 2007.
- EDMONDSON, C.H. Incidence of fouling in Pearl Harbor. **Occasional Papers of Bernice Pauahi Bishop Museum** 18(1): 1–34. 1944.
- ELTON, C.S. **The ecology of invasions by animals and plants**. Methuen, London. 1958.
- FLOERL, O., POOL, T.K. & INGLIS, G.J. Positive interactions between nonindigenous species facilitate transport by human vectors. **Ecological Applications** 14: 1724–1736. 2004.
- FONG, P.P. Zebra Mussel spawning is induced in low concentrations of putative serotonin reuptake inhibitors. **Biological Bulletin** 194: 143–149. 1998.
- FONSECA, E.M., BAPTISTA., NETO, J.A., CRAPEZ, M.C., MCALLISTER, J.J., FERNANDEZ, M.A. & BISPO, M.G., Bioavailability of Heavy Metals in Guanabara Bay, Rio de Janeiro (Brazil). **Journal of Coastal Research** 56: 802 – 806. 2009.
- GIANGRANDE, A. Polychaete reproductive patterns, life cycles and life histories: an overview. **Oceanography and Marine Biology: An Annual Review** 35: 323-386. 1997.
- GLASBY, T.M., CONNELL, S.D., HOLLOWAY, M.G. & HEWITT, C.H. Nonindigenous biota on artificial structures: could habitat creation facilitate biological invasions? **Marine Biology** 151, 887-895. 2007.
- GODAY, A.J. Biological responses to seasonally varying fluxes of organic matter to the ocean floor: a review. **Journal of Ocean** 58: 305-332. 2002.
- GOPALAKRISHNAN, S., THILAGAM, H. & RAJA, P.V. Toxicity of heavy metals on embryogenesis and larvae of the marine sedentary polychaete *Hydroides elegans*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 52: 171– 178. 2007.
- GROSHOLZ, E.D. Recent biological invasion may hasten invasional meltdown by accelerating historical introductions. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.** 102: 1088-1091. 2005.

- HADFIELD, M.G., UNABIA, C.C., SMITH, C.M. & MICHAEL, T.M. Recent Development in Biofouling Control, Settlement Preferences of the Ubiquitous Fouler *Hydroides elegans*. **August Aimé Balkema Rotterdam** 65–74. 1994.
- HALL, L.W., SCOTT, M.C. & KILLEN W.D. Ecological risk assessment of copper and cadmium in surface waters of Chesapeake Bay watershed. **Environmental Toxicology and Chemistry** 17: 1172–1189. 1998.
- HOLMSTRUP, M., PETERSEN, B.F. & LARSEN, M.M. Combined effects of copper, desiccation, and frost on the viability of earthworm cocoons. **Environmental Toxicology and Chemistry** 17 (5): 897–901. 1998.
- HUANG, Z.G. & CAI, R.X. Marine fouling organisms and their control. **Oceanic Press Beijing** 1: 61–138. 1984.
- HUMASON, G.L. **Animal Tissue Techniques**. W. H. Freeman and Company, San Francisco, 661. 1979.
- JOHNSTON, E.L., KEOUGH, M.J. & QIAN, P. Maintenance of species dominance through pulse disturbances to a sessile marine invertebrate assemblage in Port Shelter, Hong Kong. **Marine Ecology Progress Series** 26: 103–114, 2002.
- JONES, M.B. Synergistic Effects of Salinity, Temperature and Heavy-Metals on Mortality and Osmoregulation in Marine and Estuarine Isopods (Crustacea). **Marine Biology** 30: 13-20. 1975.
- KINNE, O. Temperature-invertebrates Wiley-Interscience, London. **Marine Ecology** 1: 405–514. 1970.
- KLERKS, P.L. & WEIS, J.S. Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: a review. **Environmental Pollution** 45: 173–205 1987.
- KNIGHT-JONES, P. & KNIGHT-JONES, E.W. Ecology and distribution of Serpuloidea (Polychaeta) round South America. Proceedings of the Second International Polychaete Conference, Copenhagen, 1986. **Ophelia Supplement** 5: 579–586. 1991.

- LAMBERT, C. & LAMBERT, G. Persistence and differential distribution of nonindigenous ascidians in harbors of the Southern California Bight. **Marine Ecology Progress Series** 259: 145-161. 2003.
- LEGRAS, S., MOUNEYRAC, C., AMIARD, J.C., AMIARD-TRIQUET, C. & RAINBOW, P.S. Changes in metallothionein concentrations in response to variation in natural factors (salinity, sex, weight) and metal contamination in crabs from a metal-rich estuary. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 246: 259–279. 2000.
- LEVINTON, J.S., SUATONI, E., WALLACE, W., JUNKINS, R., KELAHER, B. & ALLEN, B.J. Rapid loss of genetically based resistance to metals after the cleanup of a Superfund site. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 100: 9889–9891. 2003.
- LEWIS, J.A. **Ship anti-foulants – tributyltin and substitutes**. National Shipping Industry Conference Sydney Australia. 16. 2001. http://www.amsa.gov.au/about_amsa/Corporate_information/AMSA_speeches/Shipping_In_The_AsiaPacific_Conference/PDFs/dsto.pdf. (Consultado em: 29/07/ 2013).
- LOCKWOOD, J.L., CASSEY, P. & BLACKBURN, T. The role of propagule pressure in explaining species invasions. **Trends in Ecology & Evolution** 20: 223–228. 2005.
- LONSDALE, W.M. Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. **Ecology** 80: 1522 – 1536. 1999.
- LUPPI, T.A. & BAS, C.C. The role of the invasive polychaete *Ficopomatus enigmaticus* Fauvel 1923 (Polychaeta: Serpulidae) reefs in the recruitment of *Cyrtograpsus angulatus* Dana 1851 (Brachyura: Grapsidae), in the Mar Chiquita coastal lagoon, Argentina. **Ciencias Marinas** 28: 319- 330. 2002.
- MARANHÃO, L.A., ABREU, I., SANTELLI, R., CORDEIRO, R.C., SOARES-GOMES, A. MOREIRA, L.B., MORAIS, R.D. & ABESSA, D.M.S., Sediment toxicity assessment of Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Coastal Research** 56: 851 – 855. 2009.

- MARSHALL, D.J. & KEOUGH, M.J. The relationship between offspring size and performance in the sea. **American Naturalist** 171: 214-224. 2008.
- MARSHALL, D.J. Transgenerational plasticity in the sea: context-dependant maternal effects across the life history. **Ecology** 89, 418–427. 2008.
- MONTEIRO, L.P. & SILVA, S.H.G. Influência da exposição a ar sobre a epifauna, crescimento e índice de condição do mexilhão *Perna perna*, na Baía da Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil. **Publicação Especial do Instituto de Oceanografia da Universidade de São Paulo** 11: 115-121. 1995.
- MORAN, D.T., DIAS, G.M. & MARSHALL, D.J. Associated costs and benefits of a defended phenotype across multiple environments. **Functional Ecology** 24: 1299–1305. 2010.
- MUNIZ, P., CLEMENTE, J. & BRUGNOLI, E. Benthic invasive pests in Uruguay: A new problem or an old one recently perceived? **Marine Pollution Bulletin** 50: 993–1018. 2005.
- NEWELL, R.C. & BRANCH, G.M. The effects of temperature on the maintenance of metabolic energy balance in marine invertebrates. **Advances in Marine Biology** 17: 329–396. 1980.
- NIPPER, M. 2000. Current approaches and future directions for contaminant-related impact assessments in coastal environments: Brazilian perspective. **Aquatic Ecosystem Health and Management**, no 3, pp 433-447.
- NOGUEIRA, J.M.M., ROSSI, M.C.S. & LÓPEZ, E. Intertidal species of *Branchiomma* Kolliker and *Pseudobranchiomma* Jones (Polychaeta: Sabellidae: Sabellinae) occurring on rocky shores the State of São Paulo, Southeastern Brazil. **Zoological Studies** 45: 586-610. 2006.
- OBENAT, S.M. & PEZZANI, S.E. Life cycle and population structure of the polychaete *Ficopomatus enigmaticus* (Serpulidae) in Mar-Chiquita coastal lagoon, Argentina. **Estuaries** 17: 263-270. 1994.

- ORENSANZ, J.M. & ESTIVARIZ, M.C. Los Anelídeos Poliquetas de aguas salobres de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. **Revista del Museo de La Plata** (Argentina) 11: 95-112. 1972.
- PAUL, M.D. Sexual maturity of some organisms in the Mardras Harbor. **Current Science Bangalore** 5: 478–479. 1937.
- PAWLIK, J.R. Chemical ecology of the settlement of benthic marine invertebrates. **Oceanography and marine biology: an annual review** 30: 273–335. 1992.
- PECHENIK, J.A. & QIAN, P.Y. Onset and maintenance of meta- morphic competence in the marine polychaete *Hydroides elegans* Haswell in response to three chemical cues. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 226: 51–74. 1998.
- PIOLA, R.F. & JOHNSTON, E.L. Differential tolerance to metals among populations of the introduced bryozoan *Bugula neritina*. **Marine Biology** 148: 997–1010 2006a.
- PIOLA, R.F. & JOHNSTON, E.L. Differential resistance to extended copper exposure in four introduced bryozoans. **Marine Ecology-Progress Series** 311: 103–114. 2006b.
- PIOLA, R.F. & JOHNSTON, E.L. Comparing differential tolerance of native and non-indigenous marine species to metal pollution using novel assay techniques. **Environmental Pollution** 157: 2853–2864. 2009.
- PIOLA, R.F. & JOHNSTON, E.L. Pollution reduces native diversity and increases invader dominance in marine hard-substrate communities Diversity and Distributions. **Diversity and Distributions** 14: 329–342. 2008a.
- PIOLA, R.F. & JOHNSTON, E. L. The potential for translocation of marine species via small-scale disruptions to antifouling surfaces. **Biofouling** 24: 145 - 155. 2008b.
- PRIEUR-RICHARD, A.H., LAVOREL, S., GRIGULIS, K. & DOS SANTOS, A. Plant community diversity and invasibility by exotics: invasion of Mediterranean old fields by *Conyza bonariensis* and *Conyza canadensis*. **Ecology Letters** 3: 412–422. 2000.

- RADASHEVSKY, V.I. Polychaetes - Distribution through man's activities. **II Simpósio Brasileiro de Oceanografia, Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo**. 2004.
- RADASHEVSKY, V.I. Unknown vector of organism transportation with ballast water between the Northwest Pacific and Southwest Atlantic. **North Pacific Marine Science Organization** 17: 100. 2008.
- READ, G.B. & GORDON, D.P. Adventive occurrence of the fouling serpulid *Ficopomatus enigmaticus* (Polychaeta) in New-Zealand. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research** 25: 269–273. 1991.
- REJMANEK, M. What makes a species invasive? In: Pysek, P., Prach, K., Rejmanek, M. & Wade, M. (eds.) *Plant Invasions*. **SPB Academic Publishing bv, Amsterdam** 3–13. 1995.
- RIUS, M., TURON, X., DIAS, G.M. & MARSHALL, D.J. Propagule size effects across multiple life-history stages in a marine invertebrate. **Functional Ecology** 24: 685–693. 2010.
- ROUSE, G.W. & PLEIJEL, F. **Polychaetes**. Oxford. Oxford University Press 354. 2001.
- RUIZ, G.M., CARLTON, J.T., GROSHOLZ, E.D. & HINES, A.H. Global invasions of marine and estuarine habitats by non-indigenous species: Mechanisms, extent, and consequences. **American Zoologist** 37: 621–632. 1997.
- RUIZ, G.M., FOFONOFF, P.W., CARLTON, J.T., WONHAM, M. J. & HINES, A.H. Invasion of coastal marine communities in North America: Apparent patterns, processes, and biases. **Annual Review of Ecology and Systematics** 31: 481–531. 2000.
- RUSSELL, G. & MORRIS, O.P. Ship fouling as an evolutionary process, *Proceedings of the 3rd International Congress of Marine Corrosion and Fouling, Washington, DC* 719-730, 1973

- SCHWINDT, E., BORTOLUS, A. & IRIBARNE, O.O. Invasion of a reef-builder polychaete: direct and indirect impacts on the native benthic community structure **Biological Invasions** 3: 137–149, 2001.
- SILVA, G.H. 1996. Percepção ambiental da indústria de petróleo no litoral brasileiro. **Tese de D.Sc.**, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.
- STACHOWICZ, J.J., FRIED, H., OSMAN, R.W. & WHITLATCH, R.B. Biodiversity, invasion resistance, and marine ecosystem function: Reconciling pattern and process. **Ecology** 83: 2575-2590. 2002.
- SCHWINDT, E., DE FRANCESCO, C.G. & IRIBARNE, O.O. Individual and reef growth of the invasive reef-building polychaete *Ficopomatus enigmaticus* in a South-Western Atlantic coastal lagoon. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** 84: 987– 993. 2004b.
- SCHWINDT, E. & IRIBARNE, O.O. Isla, F.I.. Physical effects of an invading reef-building polychaete on an Argentinean estuarine environment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 59: 109– 120. 2004a.
- SOARES-GOMES, A., NEVES, R. L., AUCÉLIO, R., VAN DER VEN, P. H., PITOMBO, F. B., MENDES, C.L.T & ZIOLLI, R.L. Changes and variations of polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in fish, barnacles and crabs following an oil spill in a mangrove of Guanabara Bay, Southeast Brazil. **Marine Pollution Bulletin** 60: 1359–1363. 2010.
- SOEGIANTO, A., CHARMANTIER-DAURES, M., TRILLES, J.P. & CHARMANTIER, G. Impact of copper on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus* (Decapoda). **Journal of Crustacean Biology** 19:209–223. 1999.
- SOUZA, R.C.C.L., CALAZANS, S.H. & SILVA, E.P. Impacto das espécies invasoras no ambiente aquático. **Espécies invasoras** 35-41. 2008.
- SUN, Y., TEN-HOVE, H.A. & QIU, J. Serpulidae (Annelida: Polychaeta) from Hong Kong. **Zootaxa** 3424: 1–42. 2012.

- TEN HOVE, H.A. Notes on *Hydroides elegans* (Haswell, 1883) and *Mercierella enigmatica* Fauvel, 1923, alien serpulid polychaetes introduced into the Netherlands. **Bulletin of the Zoological Museum of the University of Amsterdam** 4(6): 45-51. 1974
- TEN HOVE, H.A. & KUPRIYANOVA, E.K. Taxonomy of Serpulidae (Annelida, Polychaeta): The state of affairs. **Zootaxa** 1 – 126. 2009.
- THORP, C.H., PYNE, S. & WEST, S.A. *Hydroides ezoensis* Okuda, a fouling serpulid new to British coastal waters. **Journal of Natural History** 21: 863-877. 1987.
- TOLLRIAN, R. & DODSON, S.I. Inducible defenses in cladocera: constraints, costs, and multipredator environments. **The Ecology and Evolution of Inducible Defenses** (eds R. Tollrian & C.D. Harvell). Princeton University Press, Princeton. 177–202. 1999.
- TYRREL, M.C. & BYERS, J.E. Do artificial substrates favor nonindigenous fouling species over native species? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 342: 54-60. 2007.
- UNABIA, C.R.C. & HADFIELD, M.G. Role of bacteria in larval settlement and metamorphosis of the polychaete *Hydroides elegans*. **Marine Biology** 133:55–64. 1999.
- WILLIAMSON, M. Explaining and predicting the success of invading species at different stages of invasion. **Biological Invasions** 8:1561–1568. 2006.
- WILSON, D.P. The influence of the substratum on the metamorphosis of *Notomastus* larvae. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** 22: 227–243. 1937.
- WILSON, D.P. The influence of the nature of the substratum on the metamorphosis of the larvae of marine animals, especially the larvae of *Ophelia bicornis* Savigny. **Annales de l'Institut océanographique** 27: 49–156. 1952.
- WILSON, W.H. Sexual reproductive modes in polychaetes: classification and diversity. **Bulletin of Marine Science** 48: 500-516. 1991.
- WONG, N.C., WONG, M.H., SHIU, K.K. & QIU, J. Dependency of copper toxicity to polychaete larvae on algal concentration. **Aquatic Toxicology** 77: 117–125. 2006.

- XIE, Z., WONG, N.C., QIAN, P. & QIU, J. Sensitivity of *Hydroides elegans* to copper stress. **Marine Ecology Progress Series** 285: 89–96, 2005.
- ZIBROWIUS, H. Les espèces Méditerranéennes du genre *Hydroides* (Polychaeta Serpulidae): remarques sur le prétendu polymorphisme de *Hydroides uncinata*. **Tethys** 2: 691–746. 1971.
- ZIBROWIUS, H. Ongoing modification of the Mediterranean marine fauna and flora by the establishment of exotic species. **Mésogée** 51: 83-107. 1992.
- ZIBROWIUS, H. Remarques sur trois espèces de Serpulidae acclimatées en Méditerranée: *Hydroides dianthus* (Verrill, 1873), *Hydroides dirampha* Mörch, 1863, et *Hydroides elegans* (Haswell, 1883). **Rapport de la Commission Internationale pour l'Exploration scientifique de la Mer Méditerranée** 21: 683-686. 1973.
- ZIBROWIUS, H. *Hydroides norvegica* Gunnerus, *Hydroides azorica* n.sp. et *Hydroides capensis* n.sp. (Polychaeta Serpulidae) espèces vicariantes dans l'Atlantique. **Bulletin de la Musée d'Histoire Naturelle de Paris** 33: 433-446. 1972.
- ZIBROWIUS, H. Introduced invertebrates: examples of success and nuisance in the European Atlantic and in the Mediterranean. **European Commission** 15309: 44–49. 1994.