



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



GABRIELA MOURA DE OLIVEIRA

**EFEITO DA SALINIDADE NA ECLOSÃO DAS GÊMULAS E NO INÍCIO DO DESENVOLVIMENTO DE
HETEROMEYENIA CRISTALINA BATISTA, VOLKMER-RIBEIRO & MELÃO, 2007 (PORIFERA:
SPONGILLIDAE)**

RECIFE

2023

GABRIELA MOURA DE OLIVEIRA

**EFEITO DA SALINIDADE NA ECLOSÃO DAS GÊMULAS E NO INÍCIO DO DESENVOLVIMENTO DE
HETEROMEYENIA CRISTALINA BATISTA, VOLKMER-RIBEIRO & MELÃO, 2007 (PORIFERA:
SPONGILLIDAE)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ulisses Pinheiro
Co-orientadora: Dra. Ludimila Calheira

RECIFE
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Oliveira, Gabriela Moura de.

Efeito da salinidade na eclosão das gêmulas e no início do desenvolvimento de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 (Porifera: Spongillidae) / Gabriela Moura de Oliveira. - Recife, 2023.

33 : il., tab.

Orientador(a): Ulisses dos Santos Pinheiro

Coorientador(a): Ludimila Calheira Laurindo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

1. Distribuição. 2. Dispersão. 3. Fisiologia. 4. Bioinvasão. 5. Spongillida. I. Pinheiro, Ulisses dos Santos . (Orientação). II. Laurindo, Ludimila Calheira. (Coorientação). III. Título.

590 CDD (22.ed.)

GABRIELA MOURA DE OLIVEIRA

**EFEITO DA SALINIDADE NA ECLOSÃO DAS GÊMULAS E NO INÍCIO DO DESENVOLVIMENTO DE
HETEROMEYENIA CRISTALINA BATISTA, VOLKMER-RIBEIRO & MELÃO, 2007 (PORIFERA:
SPONGILLIDAE)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

APROVADO EM: 13/04/2023

BANCA EXAMINADORA

PROF. DR. ULISSES DOS SANTOS PINHEIRO (ORIENTADOR)
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

PROF. DRA. LUDIMILA CALHEIRA LAURINDO (CO-ORIENTADORA)
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA

PROF. ME. ELIELTON FRANCISCO NASCIMENTO (1º TITULAR)
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

PROF. DR. GILBERTO NICACIO BATISTA (2º TITULAR)
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

PROF. ME. ALAN DIAS CAVALCANTI (SUPLENTE)
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força e determinação para permanecer firme e conseguir passar por todos os desafios que me deparei ao longo da minha vida pessoal e acadêmica.

Agradeço a minha família por sempre me apoiarem nos estudos. Meu agradecimento em especial aos meus pais, Maria do Socorro Moura de Oliveira e Carlos Marques de Oliveira, que me acompanharam de perto por toda a minha vida, que fizeram o possível e o impossível para que eu alcançasse minhas metas, sempre me motivando a evoluir cada vez mais como pessoa e como pesquisadora.

Agradeço aos meus dois queridos orientadores, Ulisses dos Santos Pinheiro e Ludimila Calheira Laurindo, que me apresentaram ao mundo acadêmico, sendo meus pilares na jornada que tive até o presente momento. Ao professor Ulisses, obrigada por me receber em seu laboratório, pelo conhecimento compartilhado, o incentivo e pela confiança em mim depositada. Agradeço à Ludimila por todos os ensinamentos, por toda paciência que teve comigo, por me fornecer experiência de campo coletando esponjas, mesmo que aleguem que nossa coleta seja “nutella”, foi gratificante ter essa oportunidade. Agradeço aos meus companheiros do LABPOR, Elielton, Alan, Sabrina, Thales e Jeny, por todo o apoio, cumplicidade e risadas compartilhadas.

Não poderia deixar de agradecer o maior tesouro que a graduação me deu, meu companheiro André Otávio, que nunca deixou me apoiar e me incentivar nos piores e melhores momentos nesses 5 anos que nos conhecemos, obrigada pela diversão, carinho e paciência, você foi, é e sempre será uma parte fundamental da minha jornada.

Agradeço aos meus amigos da graduação: Sabrina, Thamirys, Jayrla, Luana, Vitória, Jennifer, Débora, Samantha, Paulo e todos aqueles outros que participaram comigo nessa batalha acadêmica, estudando e lutando para conquistar tudo o que almejamos.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha formação, que participaram da minha construção profissional, mostrando que o conhecimento científico é uma arma poderosa que se usada de forma certa é capaz de conscientizar, e mudar a percepção do ser humano. À Universidade Federal de Pernambuco, pelas oportunidades. À Propesqi e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela concessão da bolsa de iniciação científica que foi fundamental para a execução do projeto. Agradeço também, a banca examinadora, por aceitarem o convite para esse Trabalho de Conclusão de Curso.

RESUMO

Ambientes de águas continentais estão suscetíveis a sofrer uma ampla variação dos fatores abióticos, sendo comum sua fauna apresentar estratégias adaptativas para essas condições instáveis. No caso das esponjas, elas produzem gêmulas, estrutura reprodutiva e de dispersão. As gêmulas quando formadas exibem baixas taxas metabólicas e podem tornar-se dormentes durante períodos de estresse ambiental. Para algumas espécies as condições de estresses, como baixa temperatura e dessecação, podem ser cruciais para o sucesso da eclosão de gêmula. Já a tolerância à salinidade parece variar amplamente dependendo da espécie, e até o presente, poucos foram os estudos realizados sobre essa tolerância. Assim, entender sua fisiologia é crucial para explicar o padrão de distribuição da espécie, pois a tolerância aos fatores de estresse como a salinidade podem ser fundamentais para a dispersão e perpetuação em novos ambientes. Aqui iremos testar se as gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 conseguem sobreviver à exposição à água do mar. Para tal, foram realizados 7 tratamentos: (C) controle; (T1) somente água do mar; (T2); (T3); (T4); (T5) e (T6) gêmulas expostas a água do mar por 1, 3, 5, 7 e 9 dias, respectivamente. Para cada tratamento foram utilizadas três réplicas, com 30 gêmulas cada, com duração de 21 dias. No T1, não ocorreu eclosão. Nos demais tratamentos, além da eclosão das gêmulas foi possível verificar a formação de esponjas juvenis. Não houve diferença significativa da taxa de eclosão das gêmulas e da formação de esponjas entre os tratamentos. Contudo, houve um atraso nos estágios de desenvolvimento dos tratamentos T3, T4, T5 e T6, quando comparados ao tratamento controle. Por tolerar um período de exposição à água do mar (de até 9 dias), a *H. cristalina* pode se dispersar por meio da incrustação em navios oceânicos que transitam em portos dulciaquícolos. No entanto, pouco se sabe sobre a tolerância das esponjas a efeitos abióticos, como a tolerância à salinidade. Assim, se faz necessário mais estudos para entendermos a fisiologia e distribuição das gêmulas para a ampliação do conhecimento a respeito desse organismo.

Palavras-chave: distribuição, dispersão, fisiologia, bioinvasão, Spongillida.

ABSTRACT

Inland water environments are susceptible to a wide range of abiotic factors, being common it's fauna to present adaptive strategies for these unstable conditions. In the case of sponges, they produce gemmules, a reproductive and dispersal structure. Gemmules when formed exhibit low metabolic rates and may become dormant during periods of environmental stress. For some species, stress conditions, such as low temperature and desiccation, may be crucial for the success of gemmule hatching. On the other hand, salinity tolerance seems to vary widely depending on the species, and to date, few studies have been carried out on this tolerance. Thus, understanding its physiology is crucial to explain the distribution pattern of the species, as tolerance to stress factors such as salinity can be essential for dispersal and perpetuation in new environments. Here we will test whether the gemmules of *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 can survive exposure to sea water. For this, 7 treatments were performed: (C) control; (T1) only sea water; (T2); (T3); (T4); (T5) and (T6) gemmules exposed to sea water for 1, 3, 5, 7 and 9 days, respectively. For each treatment, three replicates were used, with 30 buds each, lasting 21 days. At T1, there was no hatching. In the other treatments, in addition to the hatching of the buds, it was possible to verify the formation of juvenile sponges. There was no significant difference in the rate of gemmule hatching and in the formation of sponges between treatments. However, there was a delay in the development stages of treatments T3, T4, T5 and T6, when compared to the control. Because it tolerates a period of exposure to sea water (up to 9 days), *H. cristalina* can be dispersed through encrustation on ocean-going ships that transit in freshwater ports. However, little is known about sponge tolerance to abiotic effects such as salinity tolerance. Thus, further studies are needed to understand the physiology and distribution of gemmules to expand knowledge about this organism.

Keyword: distribution, dispersion, physiology, bioinvasion, Spongillida.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Diagrama esquemático indicando os principais componentes do sistema das esponjas. Imagem adaptada de Reiswig (2010) 13
- Figura 2.** Ciclo de vida de uma esponja de águas continentais. (A) Reprodução sexuada. (B) Reprodução assexuada. *a* Esponja ativa (crescimento vegetativo); *b* Larva parenquimela; *c* Estágio pós-larval; *d* Degeneração da esponja e gemulação; *e* Gêmulas em estágio de repouso; *f* Morfologia da gêmula; *g* Eclosão da gêmula e regeneração da esponja ativa. Imagem extraída de Manconi & Pronzato (2016) 14
- Figura 3.** Gêmula vista sob microscopia eletrônica de varredura. A, Gêmula inteira; B, corte transversal de uma gêmula mostrando suas parte. *ct* células totipotentes, *gm* gemosclera, *m* micrópila. Escala: A, B = 300 μ m..... 17
- Figura 4.** Local amostrado e a espécie investigada no presente estudo. (A) Mapa do Brasil e Estado de Pernambuco, destacando o local da coleta; (B) Local onde as esponjas foram coletadas. *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007; (C) Fotografia *in situ*; (D) Fotografia feita no Estereomicroscópio. Escalas: C: 2cm; D: 1cm. Imagem adaptada de Calheira et al. (2019) 19
- Figura 5.** Efeito da salinidade sobre as gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 expostas à água do mar em diferentes períodos para cada tratamento. (C) controle, (T1) gêmulas expostas por 21 dias, (T2), (T3), (T4), (T5), (T6) gêmulas expostas por 1,3,5,7 e 9 dias, respectivamente. (A) Valores do percentual de eclosão das gêmulas (média \pm desvio padrão, n = 30). (B) Valores do percentual de esponjas juvenis formadas (média \pm desvio padrão, n = 30) 23
- Figura 6.** Estágios de desenvolvimento de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007. (A) estágio 0 - gêmula em repouso; (B) estágio 1 - células migrando da gêmula através da micrópila; (C) estágio 2 - formação das espículas; (D) estágio 3 - formação das câmaras coanocitárias; (E) estágio 4 - formação do ósculo (esponja juvenil). Escala: 200 μ m 24
- Figura 7.** Progressão e percentual das gêmulas atingindo os estágios de desenvolvimento (S1) - gêmulas eclodidas (células migrando da gêmula pela micrópila), e (S4) formação de ósculo (esponja juvenil), no período de 21 dias; (A) Gêmulas que atingiram o estágio 1 (S1); (B) Gêmulas que atingiram o estágio 4 (S4)..... 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fatores abióticos aferidos das águas utilizadas nos tratamentos	20
Tabela 2. ANOVA <i>one-way</i> para o efeito dos tratamentos (controle, T2, T3, T5, T7 e T9) sobre a eclosão das gêmulas e a formação de esponjas juvenis	23

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DO FILO PORIFERA	11
2.2	ASPECTOS ECOLÓGICOS E PADRÕES DE DISTRIBUIÇÃO DAS ESPONJAS CONTINENTAIS	15
2.3	GÊMULAS	16
3	OBJETIVO	18
3.1	GERAL	18
3.2	ESPECÍFICO	18
4	METODOLOGIA	18
4.1	ESPÉCIE ESTUDADA	18
4.2	COLETA E IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA	19
4.3	PREPARAÇÃO DOS TRATAMENTOS	20
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
5	RESULTADOS	21
6	DISCUSSÃO	25
7	CONCLUSÃO	28
	REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

No Filo Porifera há cerca de 9.500 espécies válidas conhecidas em todo o mundo, distribuídas em quatro Classes atuais: Hexactinellida Schmidt, 1870, Calcarea Bowerbank, 1862, Homoscleromorpha Bergquist, 1978 e Demospongiae Sollas, 1885 (de VOOGD et al, 2023). Sendo essa última a mais diversa, com cerca de 85% das espécies atuais, e a mais amplamente distribuída em todos os ambientes aquáticos, incluindo as espécies que habitam águas continentais (MORROW & CÁRDENAS, 2015; MURICY & HAJDU, 2006; HOOPER & VAN SOEST, 2002). Espécies de águas continentais pertencem à Ordem Spongillida Manconi & Pronzato, 2002 e representam aproximadamente 3% de toda diversidade do filo (MANCONI & PRONZATO, 2007; PINHEIRO et al., 2015). Esta baixa diversidade, provavelmente, está relacionada com a escassez de taxonomistas no grupo e a dificuldade em realizar inventários nesses ambientes (PINHEIRO et al., 2015). Ambientes de águas continentais estão suscetíveis a uma ampla variação dos seus fatores abióticos, como dessecação, congelamento e aumento da salinidade. Neste sentido, é comum que sua fauna possua várias estratégias adaptativas para estas condições instáveis.

No caso das esponjas continentais, elas produzem corpo de resistência conhecido como gêmula, estrutura reprodutiva e de dispersão. As gêmulas são compostas por células totipotentes revestidas de espículas especiais chamadas de gemoscleras (MANCONI & PRONZATO, 2007; 2016). Geralmente, as gêmulas das espécies pertencentes às Famílias, Potamolepidae Brien, 1967, Spongillidae Gray, 1867 e Metaniidae Volkmer-Ribeiro, 1986. Sendo que nestas duas últimas as gêmulas possuem uma camada pneumática bem desenvolvida e revestida por gemoscleras espinadas, tais características conferem um grande potencial de dispersão para essas gêmulas (PRONZATO & MANCONI, 1994; MANCONI et al., 2015). Enquanto que em Potamolepidae as gêmulas apresentam teca simples de espongina compacta e espículas não especializadas (MANCONI & PRONZATO 2002; 2007). Manconi & Pronzato (2007) sugeriram que a distribuição das esponjas de águas continentais está relacionada com a eficiência das suas gêmulas como dispositivo de dispersão.

Para algumas espécies as condições de estresses podem ser cruciais para o sucesso da eclosão da gêmula. Por exemplo, Fell (1987) e Melão & Rocha (1996) mostraram, respectivamente, que esponjas das espécies *Eunapius fragilis* (Leidy, 1851) e *Metania spinata* (Carter, 1881) quando submetidas a condições estressantes, como congelamento e dessecação, podem estimular a eclosão das gêmulas quando novamente expostas à condição ideal. Então, parece que as gêmulas têm tolerância a certos estresses ambientais, incluindo baixa

temperatura e dessecação (FELL, 1992). Enquanto que a tolerância a salinidade parece variar amplamente dependendo da espécie. Em *Ephydatia fluviatilis* (Linnaeus, 1759), Francis et al. (1982) observaram que a taxa de crescimento da esponja diminuiu com o aumento da salinidade, e as gêmulas de *Spongilla lacustris* (Linnaeus, 1759) não sobrevivem a diluição da solução de NaCl (23mOsmolar) (SIMPSON & VACCARO, 1973). Já as gêmulas de *Eunapius fragilis* sobrevivem a exposição de 5% da solução de NaCl (cerca de 1400 mOsmolar) por 9 dias (FELL, 1990), além de serem capazes de suportar exposição de 30ppt água do mar por até 4 semana e de 37ppt por 9 dias (FELL, 1992). Contudo, foram poucos os estudos realizados sobre a tolerância das gêmulas à salinidade.

A distribuição das espécies de esponjas de águas continentais está amplamente limitada pelo ambiente físico, e as propriedades químicas da água como pH, salinidade, sílica, parecem desempenhar um papel importante na determinação de quais espécies estão presentes em um lago ou rio específico de uma região (REISWIG et al., 2009). Entender a fisiologia da gêmula é crucial para explicar o padrão de distribuição de determinada espécie. Nesse sentido, o presente projeto teve como finalidade determinar se as gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 são capazes de sobreviver à exposição à água do mar. Pois a alta tolerância à salinidade pode permitir a dispersão da esponja por meio da incrustação nos cascos de embarcações marinhas que transitam em portos de água doce (FELL, 1992).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO FILO PORIFERA

No Filo Porifera, popularmente conhecido como esponja, está inserido os organismos invertebrados, sésseis e filtradores que não apresentam órgãos e tecidos verdadeiros, com exceção da Classe Homoscleromorpha Bergquist, 1978 (GAZAVE et al., 2012). Esse filo, hoje, se encontra inserido dentro de Metazoa, e é um grupo monofilético sustentado morfológicamente por apresentar ciclo de vida bifásico, hábitos de alimentação por filtro em conjunto com a forma adulta sésstil, pinacócitos, coanócitos e sistema aquífero, embora existam exceções (e.g. as esponjas carnívoras não possuem sistema aquífero) (WÖRHEIDE et al., 2012).

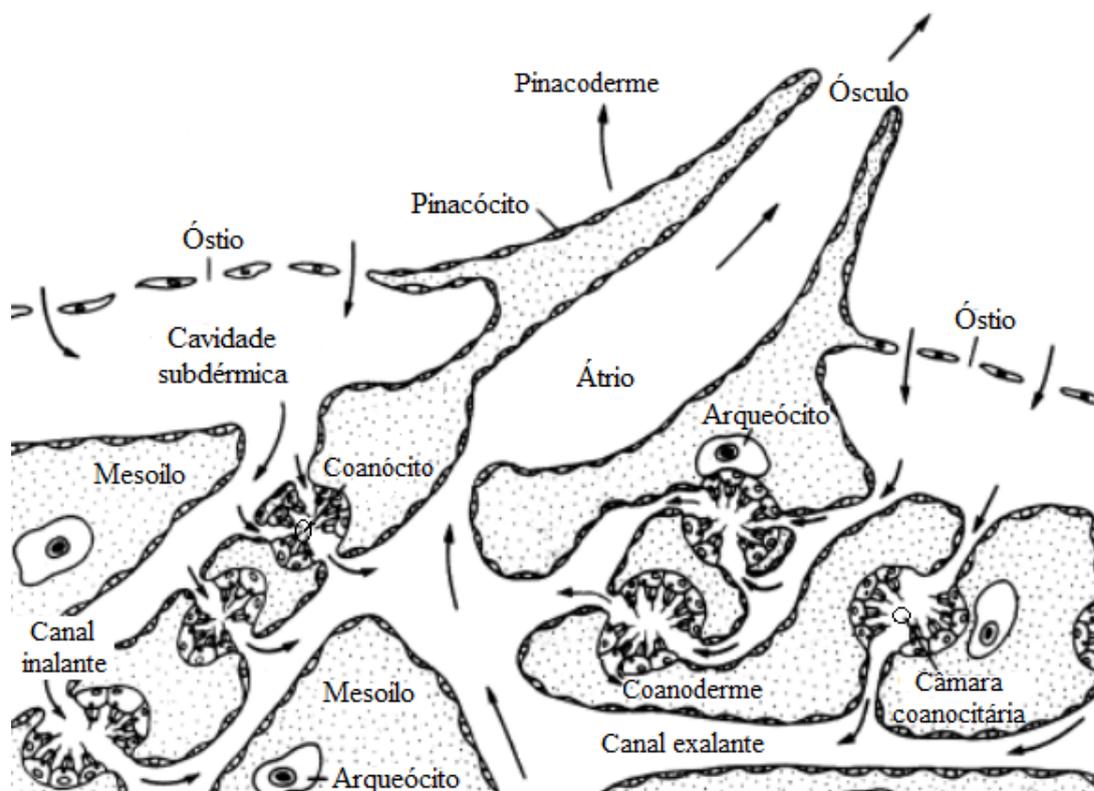
As esponjas habitam, exclusivamente, ambientes aquáticos, ocorrendo em todos os ambientes oceânicos, desde habitats temperados, tropicais e polares, como em comunidades

bentônicas, em recifes de corais, em entremarés e profundezas oceânicas; há também esponjas que habitam lagos, lagoas, cachoeiras, açudes e riachos (MURICY & HAJDU, 2006; HAJDU et al., 2011; SIMPSON, 1984). Nesses diversos ambientes, as esponjas atuam como importantes membros na comunidade faunística bentônica, por exemplo, ao serem membros da cadeia alimentar sendo fonte de alimento para outros organismos, por realizarem a reciclagem de nutrientes, protegerem e beneficiarem fisicamente outros organismos, por possuírem um potencial de alterar a coluna de água e seus processos através da filtração de água e exalação de metabólitos secundários e também, por meio da mesma (filtração) conseguem limpar a coluna d'água (DIAZ & RÜTZLER, 2001; BELL, 2008). Tais organismos são considerados como um dos animais mais antigos, tendo registro fóssil de 760 milhões de anos atrás que datam do período do Mioceno, Plioceno e Pleistoceno, colonizando águas continentais no período Jurássico (MANCONI & PRONZATO, 2002; YIN et al., 2015).

Estruturalmente as esponjas são formadas por três camadas: a pinacoderme em sua superfície externa, composta células chamadas de pinacócitos, que funciona como um epitélio verdadeiro; uma superfície interna com células flageladas chamadas de coanócitos, a coanoderme, essa parede interna envolve uma cavidade central chamada de átrio que se abre ao exterior com um ósculo; e o mesófilo, que se localiza entre a pinacoderme e a coanoderme. A pinacoderme possui pequenas perfurações onde se encontram os óstios, caminho pelo qual a água é puxada e levada pela ação dos batimentos dos flagelos dos coanócitos (HAJDU et al., 2011; HOOPER & VAN SOEST, 2002; MALDONADO & RIESGO, 2008; RUPPERT & BARNES, 1996) (Figura 1). Ainda existem diversas células, com diferentes funções que podem variar com a Classe, como células que secretam o esqueleto, células contráteis e de regeneração (REISWIG, 2010).

A principal característica desse grupo se encontra na presença do sistema aquífero, que é responsável pelas principais atividades fisiológicas como alimentação, liberação de excretas, reprodução, respiração, entre outros (BERGQUIST, 1978; CAVALCANTE & KLAUTAU, 2011; MALDONADO & RIESGO, 2008). As esponjas apresentam diferentes tipos de organização do sistema aquífero, podendo ser asconóide, siconóide, leuconóide, sileibide e solenóide (CAVALCANTE & KLAUTAU, 2011). Em Demospongiae, está presente o sistema do tipo leuconóide, com canais hídricos que apresentam serem mais complexos, ramificados e com câmaras flageladas, que auxiliam nas funções fisiológicas por aumentar a superfície de contato com o meio em que vivem (CAVALCANTE & KLAUTAU, 2011; ERESKOVSKY & LAVROV, 2021).

Figura 1. Diagrama esquemático indicando os principais componentes do sistema das esponjas



Fonte: Reiswig (2010) - imagem adaptada.

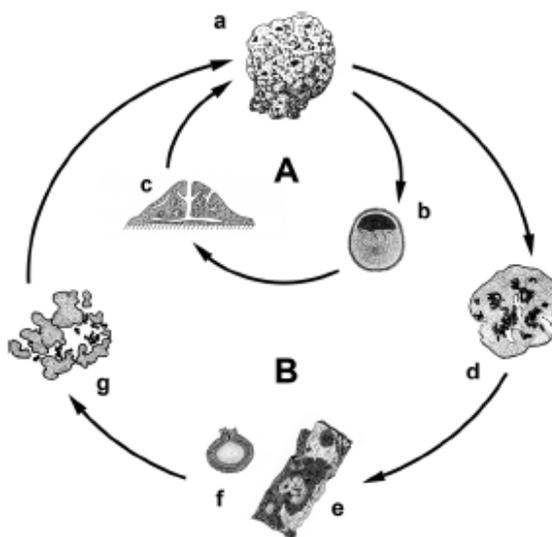
O filo é classificado principalmente pelas características morfológicas de suas estruturas orgânicas e inorgânicas, as esponjas são divididas em quatro Classes atuais, Hexactinellida Schmidt, 1870, Calcarea Bowerbank, 1862, Homoscleromorpha Bergquist, 1978 e Demospongiae Sollas, 1885 (de VOOGD et al., 2023). Nesta última estão incluídas tanto as esponjas marinhas quanto as de águas continentais, sendo a Classe mais diversa e mais bem distribuída (HOOPER & VAN SOEST, 2002). Dentro desta Classe encontra-se a Ordem Spongillida Manconi & Pronzato, 2002, a qual compõe as esponjas de águas continentais distribuídas em seis famílias atuais: Lubomirskiidae Rezvoi, 1936; Malawispongiidae Manconi & Pronzato, 2002; Metaniidae Volkmer-Ribeiro, 1986; Metschnikowiidae Czerniawsky, 1880; Potamolepidae Brien, 1967; e Spongillidae Gray, 1867 (MANCONI & PRONZATO, 2007; PINHEIRO & CALHEIRA, 2020; de VOOGD et al., 2023).

As esponjas da Ordem Spongillida são conhecidas por terem um esqueleto inorgânico organizado em megasclera, microsclera e a gemosclera (MANCONI & PRONZATO, 2002; REISWIG, 2010). A megasclera é caracterizada pela presença de espículas que estruturam a esponjas, formando feixes junto com a esponjina; a microsclera, quando presente, atua na

estrutura superficial das esponjas ou se encontra distribuída por seu corpo; já a gemosclera é uma estrutura de revestimento das gêmulas (estrutura assexuada, que atua como corpos de dispersão e de resistência). As gemoscleras são importantes para a identificação das espécies de esponjas de água doce, no menor nível taxonômico (MANCONI & PRONZATO, 2002).

As esponjas possuem diversas formas de reprodução, sendo uma dessas, a reprodução sexuada, onde há a liberação da larva (Figura 2A). Mas, para algumas Demospongiae o estágio larval foi perdido, de forma que o embrião se desenvolve diretamente na esponja juvenil (MALDONADO & BERGQUIST, 2002; MALDONADO & RIESGO, 2008). As esponjas, além de realizarem reprodução sexuada, também podem realizar reprodução assexuada, que ocorre através de brotamento, fragmentação ou por gêmulas (MALDONADO & RIESGO, 2008). O ciclo de vida de esponjas produtoras de gêmulas, é caracterizado pelas seguintes etapas: crescimento vegetativo, produção de gêmulas/reprodução assexuada, gêmulas em estágio repouso, eclosão de gêmulas e regeneração (Figura 2B) (MANCONI & PRONZATO, 2007, 2016).

Figura 2. Ciclo de vida de uma esponja de águas continentais. (A) Reprodução sexuada. (B) Reprodução assexuada. *a* Esponja ativa (crescimento vegetativo); *b* Larva parenquimela; *c* Estágio pós-larval; *d* Degeneração da esponja e gemulação; *e* Gêmulas em estágio de repouso; *f* Morfologia da gêmula; *g* Eclosão da gêmula e regeneração da esponja ativa



Fonte: Manconi & Pronzato (2016).

2.2 ASPECTOS ECOLÓGICOS E PADRÕES DE DISTRIBUIÇÃO DAS ESPONJAS CONTINENTAIS

A distribuição das esponjas de águas continentais tem como fator principal a dispersão, podendo ocorrer pelos mais variados vetores, como a dispersão através da corrente d'água, pelo vento e por animais (aves, peixes, bivalves, entre outros) (MOREIRA & ZUANON, 2002; MANCONI & PRONZATO, 2016; VOLKMER-RIBEIRO & GROSSER, 1981; REISWIG, 2010; VAN LEEUWEN et al., 2017). A dispersão também é de grande importância para a sobrevivência das esponjas de águas continentais, uma vez que esses ambientes estão propensos a sofrerem variações ambientais, como seca, alteração de temperatura e/ou pH, salinidade, inundações, congelamento, entre outros, que podem dificultar a sobrevivência das esponjas. nesses ambientes (PRONZATO & MANCONI, 1994). Diante dessas variações é comum que os organismos que habitam tais ambientes desenvolvam estratégias adaptativas para sobreviver (VAN LEEUWEN et al., 2017; CÁCERES, 1997). No caso das esponjas de água doce, elas produzem gêmulas, corpos capazes de resistir às variações ambientais, que podem ser inviáveis para a esponja, quando morre, apenas as gêmulas permanecem no ambiente, e quando as condições se tornam estáveis e favoráveis as gêmulas podem eclodir (MANCONI & PRONZATO, 2007).

Dentro da Ordem Spongillida, as espécies pertencentes as famílias Malawispongiidae, Lubomirskiidae e Metschnikowiidae não produzem gêmulas, então podem reproduzir sexuadamente, por fragmentação ou por brotamento (MANCONI & PRONZATO, 2007). As espécies de Lubomirskiidae e Metschnikowiidae ocorrem em ambientes restritos, faixa restrita no Lago Baikal e no Mar Cáspio, respectivamente. Já a família Metschnikowiidae se encontra presente em lagos ancestrais localizados na África (lago Tanganyika e Malawi), Europa (lago Ohrid), Israel (lago Tiberíades) e Indonésia (lago Poso) (MANCONI & PRONZATO, 2007). Por outro lado, as famílias, Metaniidae, Potamolepidae e Spongillidae, produtoras de gêmulas, possuem uma distribuição maior quando comparada com as famílias que não produzem gêmulas, sendo Metaniidae e Potamolepidae circumtropicais, e a Spongillidae apresenta uma distribuição cosmopolita (MANCONI & PRONZATO, 2007).

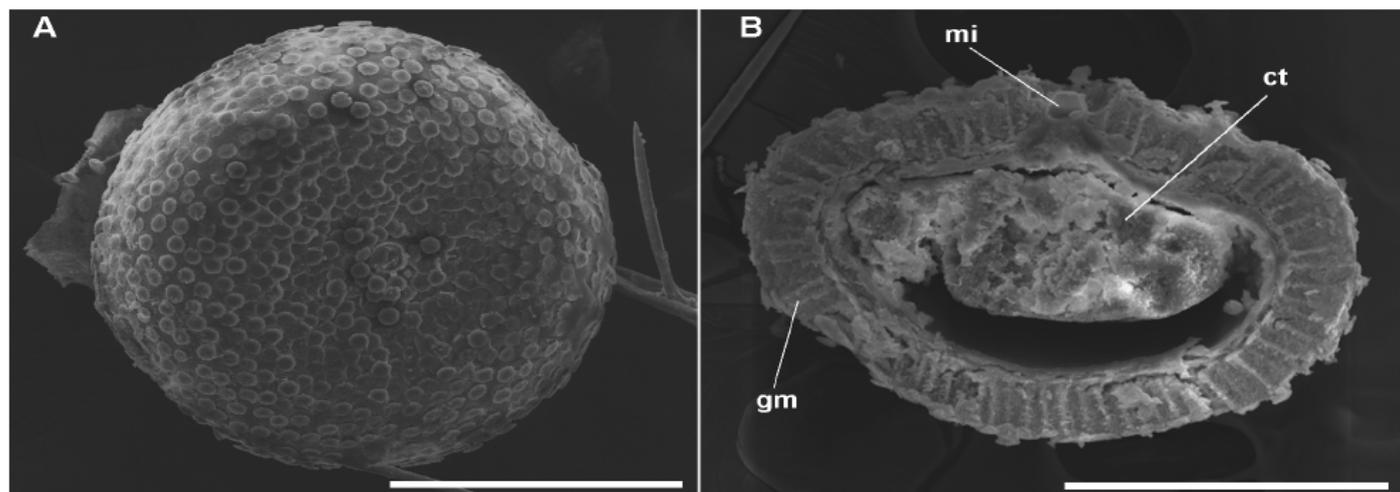
A distribuição das espécies de Spongillida pode estar relacionada com a capacidade de produzir gêmulas, estruturas assexuadas que também funcionam como dispositivos de dispersão. Além disso, as gêmulas podem apresentar arquitetura morfológica simples, com uma simples teca de espongina compacta reforçada com espículas não especializadas, ou arquitetura complexa, com teca organizada em duas camadas de espongina (interna e externa)

e uma camada alveolar no meio de espongina trabeculada reforçada com espículas espinhosas (MANCONI & PRONZATO). De acordo com Manconi & Pronzato (2007) a morfologia gemular pode influenciar na distribuição das espécies. Outro fator que pode explicar a distribuição das esponjas de águas continentais, é a fisiologia das esponjas (REISWIG, 2010). Por sua vez, algumas características fisiológicas das esponjas podem estar relacionadas à dormência (FELL, 1998) de forma a implicar na tolerância das gêmulas ao estresse, e assim, vir a permitir ou limitar que a esponja consiga se dispersar para locais não habituais para determinada espécie (CALHEIRA, 2020). No entanto, os mecanismos fisiológicos que levam à dormência da gêmula por determinado período até que um fator (externo ou interno) e os fatores que induzem a eclosão das gêmulas, ainda precisam ser compreendidos mais a fundo pela comunidade acadêmica (FELL, 1998; REISWIG; FROST; RICCIARDI, 2009).

2.3 GÊMULAS

As gêmulas são estruturas assexuadas que apresentam pequeno, revestido por uma camada externa de colágeno, possui uma camada pneumática, células totipotentes, chamadas de tesócitos (arqueócitos em repouso) e a gemosclera (espículas especializadas) (Figura 3) (MANCONI & PRONZATO, 2002; 2007; 2016). As gêmulas ainda possuem um pequeno orifício chamado de micrópila, por onde as células, que darão origem a futura esponja, migram para o meio externo no momento em que a gêmula eclode (GAINO & BURLANDO, 1990). Quanto ao papel biológico, as gêmulas possuem função semelhante aos estatoblastos, ovos em repouso, etc (SIMPSON & FELL, 1974).

Figura 3. Gêmula vista sob microscopia eletrônica de varredura. A, Gêmula inteira; B, corte transversal de uma gêmula mostrando suas parte. *ct* células totipotentes, *gm* gemosclera, *m* micrópila. Escala: A, B = 300 μ m.



Fonte: Laurindo (2020)

As gêmulas podem ser altamente resistentes às adversidades encontradas no ambiente, como temperatura, dessecação, congelamento, condição possível pelo baixo metabolismo das gêmulas, que conferem resistência para sobreviver às condições extremas que lhes causam estresse (MANCONI & PRONZATO, 2007). Experimentos têm sido realizados para investigar a possível tolerância que as gêmulas podem apresentar sob variações ambientais às quais elas são expostas.

As variações ambientais que podem causar estresse nas esponjas e nas gêmulas ainda podem induzir a eclosão das gêmulas dormentes. Em *Metania spinata*, foi relatado que as gêmulas que aparentemente não sofreram estresse apresentaram menor percentual de eclosão (20%) do que as expostas a baixa temperatura (26,7%), dessecação (60%) ou à matéria orgânica em decomposição (40%) (MELÃO & ROCHA, 1996). Já no estudo com as gêmulas da espécie *Heteromeyenia cristalina*, os autores observaram maior percentual de eclosão (92%) sem sofrerem estresse e ao serem expostas a dessecação, o percentual diminuiu (66%) e não eclodiram em águas húmicas (CALHEIRA et al., 2020).

Aparentemente, a tolerância das gêmulas parece variar com a espécie e com o fator a ser exposta, como exemplo as gêmulas de *Eunapius fragilis* e de *Ephydatia muelleri*, sobreviveram após serem expostas a -30°C e -70°C ($>50\%$), diferente das gêmulas de *Spongilla lacustris*, que não foram capazes de eclodir após a exposição à baixa temperatura e quando submetidas a -10°C , apresentaram menos de 25% de eclosão (UNGERMACH et al., 1997). Já em *Metania spinata*, as gêmulas apresentaram um percentual de eclosão de 26,7% ao serem expostas entre 4°C e 5°C (MELÃO & ROCHA, 1996). No estudo com pH as

gêmulas de *Ephydatia mulleri* submetidas a 8,0; 7,5; 7,0; 6,5 e 5,3 pH sob 20°C, apresentaram 98% de eclosão, mas sob 5°C, nos mesmos níveis de pH, elas não sobreviveram (BENFREY & REISWIG, 1982).

Com relação a salinidade, a tolerância das gêmulas entre as espécies também parece variar amplamente, as gêmulas da espécie *Spongilla lacustris* não sobreviveram a diluição de 23mOsmolar (SIMPSON & VACCARO, 1973), a taxa de crescimento das gêmulas de *Ephydatia fluviatilis* diminuiu ao aumentarem a salinidade (FRANCIS et al., 1982) e as gêmulas de *Eunapius fragilis* sobreviveram a diluição de 1400 mOsmolar por 9 dias (FELL, 1990). A possível tolerância à salinidade das gêmulas pode permitir que essa suporte a exposição à condição adversa marinha, por diferentes períodos de tempo, caso alguma delas se prenda a cascos de embarcações que transitam em ambientes marinhos e de águas continentais (FELL, 1992). Tendo em vista isso, as esponjas podem conseguir se dispersar e potencialmente, habitar novos ambientes. Nesse sentido, este estudo tem como objetivo principal determinar a tolerância à salinidade das gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* sob exposição à água do mar.

3 OBJETIVO

3.1 GERAL

Determinar se as gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 são capazes de sobreviver à exposição à água do mar.

3.2 ESPECÍFICO

→ Analisar as etapas do início do desenvolvimento da *H. cristalina* a partir da eclosão das gêmulas sob os diferentes tratamentos (tempo de exposição à salinidade).

→ Verificar o efeito da salinidade na eclosão das gêmulas de *H. cristalina*.

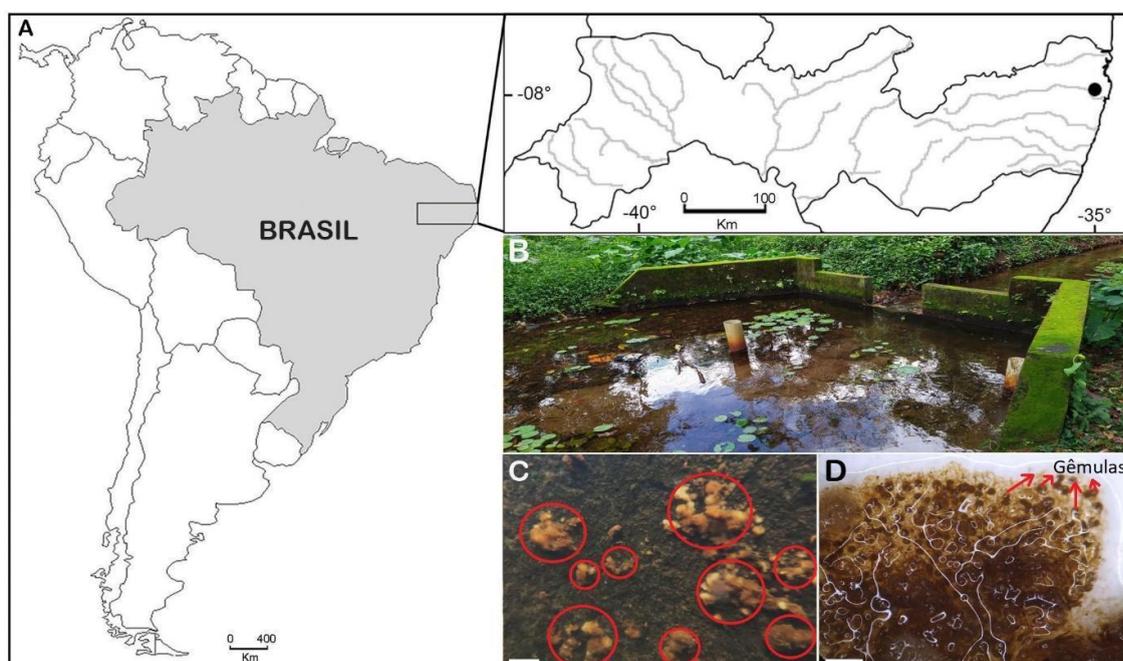
4 METODOLOGIA

4.1 ESPÉCIE ESTUDADA

Heteromeyenia cristalina é amplamente distribuída na Região Neotropical (MURICY et al., 2011; de VOOGD et al., 2023). A espécie aqui investigada é comum no córrego do Rio Prada e nas proximidades da Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE

(8°00'58.6"S 34°56'45.7"W) (Figura 4), além disso produz gêmulas durante o ano todo, e suas gêmulas são facilmente cultivadas em condições laboratoriais (CALHEIRA et al., 2019).

Figura 4. Local amostrado e a espécie investigada no presente estudo. (A) Mapa do Brasil e Estado de Pernambuco, destacando o local da coleta; (B) Local onde as esponjas foram coletadas. *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007; (C) Fotografia *in situ*; (D) Fotografia do espécime com gêmulas feita no Estereomicroscópio. Escalas: C: 2 cm; D: 1 cm



Fonte: Calheira et al. (2019) - imagem adaptada.

4.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA

Os espécimes foram coletados, fotografados e acondicionados individualmente em recipientes contendo água do local. A água do local também foi coletada e estocada em recipiente de vidro de 6L. Água do mar foi coletada na Praia do Pina, Recife - Pernambuco (8° 05' 54.9"S 34° 52' 58.4"W) e estocada em garrafa plástica até a chegada no laboratório, onde foi transferida para uma garrafa de vidro. Ambas as águas coletadas foram mantidas na geladeira em frasco de vidro âmbar. Os parâmetros abióticos das águas foram aferidos - temperatura (°C), oxigênio dissolvido (OD mg/L), condutividade (µS/cm), pH e salinidade - por intermédio de um analisador multiparâmetro (YSI-Professional Plus) (Tab. 1). A identificação da espécie foi confirmada no laboratório por meio da análise das lâminas de espículas dissociadas e das gêmulas usando microscópio óptico. Para a preparação das lâminas seguiu a metodologia descrita por Hajdu et al. (2011) e Volkmer-Ribeiro (1985). A

descrição morfológica de *H. cristalina* para esta localidade está disponível em Nicácio e Pinheiro (2015)

Tabela 1. Fatores abióticos aferidos das águas utilizadas nos tratamentos

Água	Temperatura (C°)	Oxigênio dissolvido (mg/L)	Condutividade (μ S/cm)	pH	Salinidade (g/L)
Córrego UFRPE	24.09	19.02	96.5	6.78	0.06
Praia do Pina	22.9	2.46	50.476	6.45	33.22

Fonte: O autor (2023).

4.3 PREPARAÇÃO DOS TRATAMENTOS

No laboratório, as gêmulas foram removidas da esponja com o auxílio de uma pinça e estereomicroscópio. É importante montar o experimento logo após a coleta, pois as gêmulas tendem a eclodir mais rápido quando recém coletadas (LEYS et al., 2019). As gêmulas foram selecionadas seguindo um padrão de tamanho (cerca de 500 μ m de diâmetro) e coloração (amarelo vivo), e depositadas em uma placa de Petri contendo água do local para evitar ressecamento. Em seguida, as gêmulas foram transferidas, com o auxílio de uma pipeta descartável, para outra placa de Petri contendo peróxido de hidrogênio a 1% (H₂O₂) por 1 minuto para a remoção de bactérias e fungos de sua camada superficial, e depois desse tempo foram lavadas várias vezes com água destilada (FUNAYAMA et al., 2005). Após isso, elas voltaram para uma placa de Petri contendo água do local da coleta. As gêmulas ainda passaram por uma limpeza manual, onde foram retiradas partes do esqueleto da esponja que ainda estavam aderidos na camada externa das gêmulas. Esse procedimento foi realizado com o auxílio de uma agulha de seringa e um estereomicroscópio. Por fim, as gêmulas foram colocadas em placas de Petri contendo água do mar por um período de 1 a 9 dias, ao decorrer desse período, as gêmulas foram sendo retiradas no 1º, 3º, 5º, 7º e 9º dia, respectivamente. Em seguida foram alocadas em placas contendo 24 poços, uma gêmula por poço, contendo 3 ml de água do local da coleta da esponja, retirada previamente da geladeira para ficar em temperatura ambiente, sendo também filtrada em filtro de papel. Para que assim, sua capacidade de eclosão fosse testada, bem como os estágios iniciais do desenvolvimento da

esponja. Ainda testamos as gêmulas quando expostas somente a água do mar, a fim de verificar sua resposta quanto ao estresse.

Um total de sete tratamentos (T) foram realizados: (C) tratamento controle, gêmulas sem exposição a água do mar; (T1) gêmulas expostas a água do mar durante todo experimento; (T2) gêmulas expostas por 1 dia a água do mar; (T3) gêmulas expostas por 3 dias a água do mar; (T4) gêmulas expostas por 5 dias a água do mar; (T5) gêmulas expostas por 7 dias a água do mar; (T6) gêmulas expostas por 9 dias a água do mar. Para cada tratamento, foram utilizadas três réplicas com 30 gêmulas cada, totalizando 90 gêmulas por tratamento. O experimento teve a duração de 21 dias, durante esse período foram realizadas troca de 2 ml de água a cada 48 horas. A água foi retirada da geladeira horas antes da troca para que ficasse em temperatura ambiente. As gêmulas foram observadas diariamente com o auxílio do estereomicroscópio para a contagem do número de gêmulas eclodidas e de esponjas juvenis formadas. Além disso, os estágios de desenvolvimento, como descrito por Calheira et al. (2019) também foram observados.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

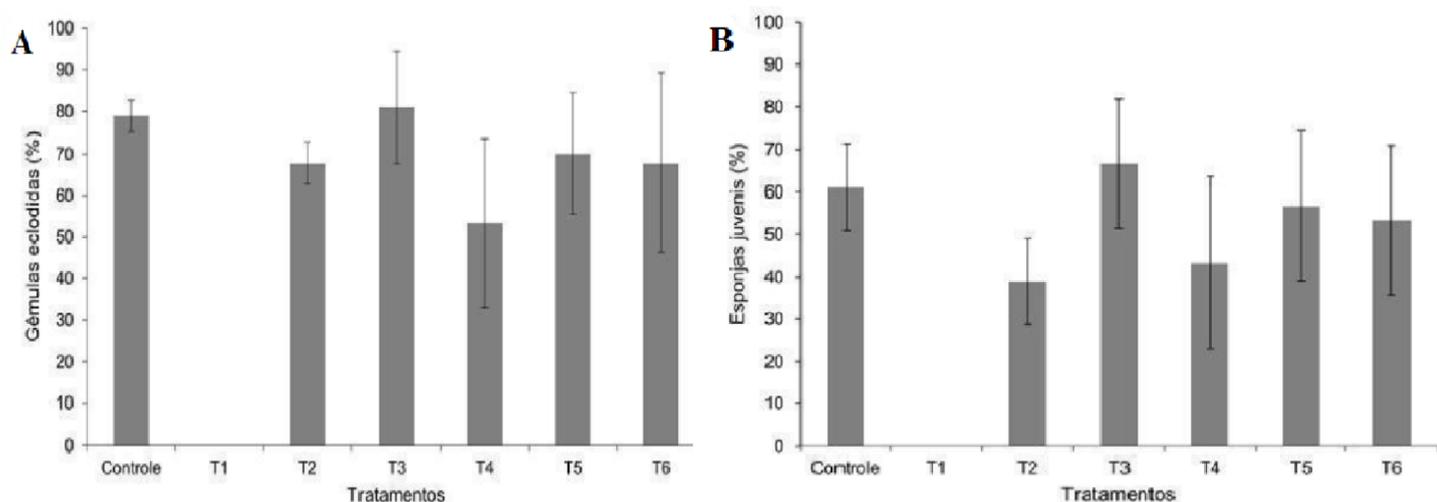
O teste de Bartlett foi utilizado para testar a homogeneidade das variâncias. E a Análise de Variância (ANOVA) *one-way* foi realizada para verificar se existem diferenças entre a média da eclosão das gêmulas nos tratamentos. O nível de significância de 5% foi adotado e a análise foi realizada usando o software STATISTICA v.7.

5 RESULTADOS

O percentual de eclosão das gêmulas para os tratamentos: C, T1, T2, T3, T4, T5 e T6 foi de 79%, 0%, 68%, 81%, 53% 70% e 68%, respectivamente (Figura 5A). No T1, tratamento no qual as gêmulas ficaram 21 dias expostas à água do mar, não ocorreu eclosão. Sendo assim, esse tratamento foi retirado da análise de dados para evitar ruído estatístico. Nos demais tratamentos, a partir das gêmulas eclodidas foi possível verificar a formação de esponjas juvenis com um percentual de 61,1%, 38,8%, 66,6%, 43,3%, 56,6% e 53,3%, para cada um dos tratamentos (C, T2, T3, T4, T5 e T6), respectivamente (Figura 5B). Contudo, não houve diferença significativa entre a taxa de eclosão das gêmulas entre os tratamentos (ANOVA $F_{5,12} = 1.353, p > 0.05$). E também, na formação de esponja juvenil (ANOVA $F_{5,12} = 1,363, p > 0.05$) (Tab. 2).

No presente trabalho foi possível observar os estágios iniciais do desenvolvimento da esponja: estágio 0, a gêmula em repouso; estágio 1, ocorre quando uma massa de células sai da micrópila; estágio 2, caracteriza-se pelo aparecimento de espículas; estágio 3, quando surgem as câmaras coanocitárias; estágio 4, o sistema aquífero está formado, e podemos observar a presença de um ou mais ósculos, tendo assim a formação de uma esponja juvenil funcional (Figura 6). Seguindo isso, observamos que os demais tratamentos quando comparados com o controle apresentaram certa demora para iniciar o desenvolvimento das gêmulas eclodidas. No controle, as gêmulas começaram a eclodir no 3º dia de experimento, com 15 gêmulas eclodidas, e no 4º dia já foi possível observar a formação de esponjas juvenis funcionais. No T2, o tempo do início da eclosão foi o mesmo observado no controle, contudo apenas cinco gêmulas eclodiram, enquanto no controle foi o triplo. Nos demais tratamentos foi preciso 4 dias (T3 e T6) e 5 dias (T4 e T5) para observarmos as primeiras eclosões. Em relação ao tempo necessário para formação de esponjas juvenis foi possível constatar um maior período de tempo nos demais tratamentos, 5 dias (T2), 6 dias (T5), 8 dias (T4 e T6) e 10 dias (T3) quando comparados ao controle (cerca de 4 dias), após a eclosão das gêmulas. Quando expostas à água do mar durante todo o experimento (T1) as gêmulas de *H. cristalina* também não eclodiram, mas quando expostas a um curto período (1 a 9 dias) eclodiram (Figura 7).

Figura 5. Efeito da salinidade sobre as gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 expostas à água do mar em diferentes períodos para cada tratamento. (C) controle, (T1) gêmulas expostas por 21 dias, (T2), (T3), (T4), (T5), (T6) gêmulas expostas por 1,3,5,7 e 9 dias, respectivamente. (A) Valores do percentual de eclosão das gêmulas (média \pm desvio padrão, n = 30). (B) Valores do percentual de esponjas juvenis formadas (média \pm desvio padrão, n = 30)



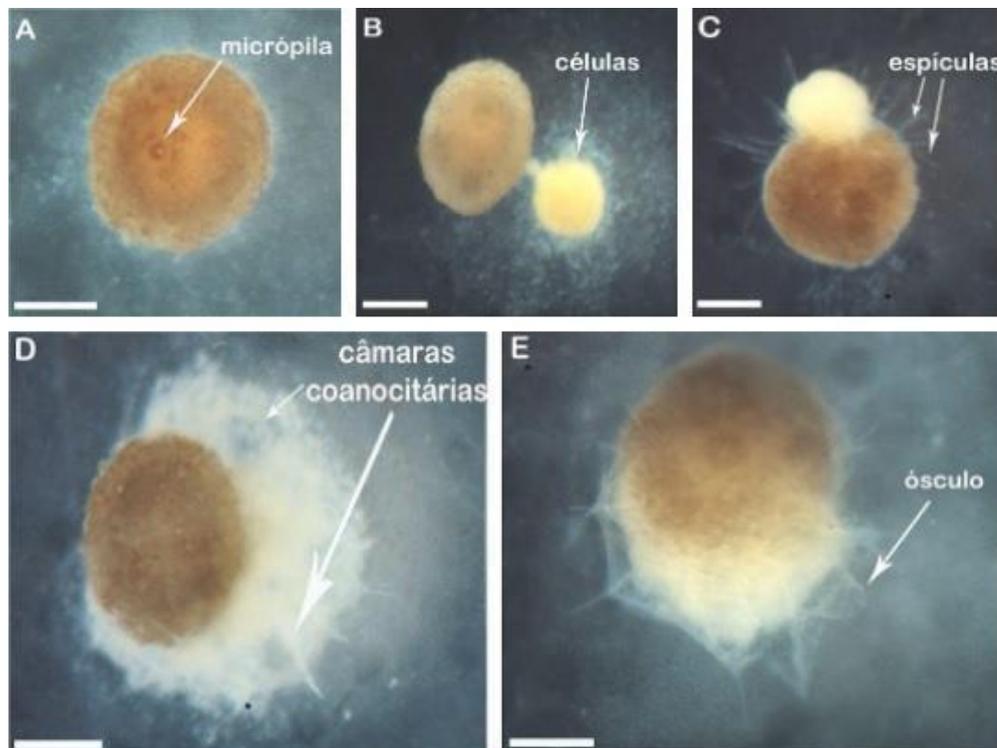
Fonte: O autor (2023)

Tabela 2. ANOVA *one-way* para o efeito dos tratamentos (controle, T2, T3, T5, T7 e T9) sobre a eclosão das gêmulas e a formação de esponjas juvenis

Variável	Fatores	Grau de Liberdade	F	P
Eclosão	Tratamento	5	1.353	0.308
	Erro	12		
Esponjas juvenis	Tratamento	5	1.363	0.305
	Erro	12		

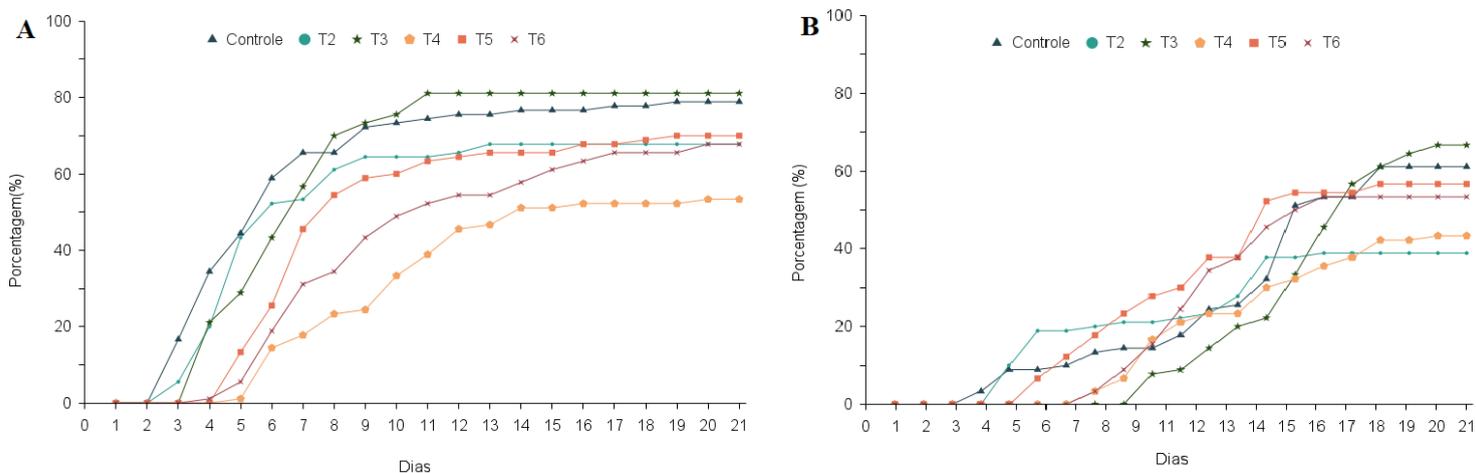
Fonte: O autor (2023)

Figura 6. Estágios de desenvolvimento de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007. (A) estágio 0 - gêmula em repouso; (B) estágio 1 - células migrando da gêmula através da micrópila; (C) estágio 2 - formação das espículas; (D) estágio 3 - formação das câmaras coanocitárias; (E) estágio 4 - formação do ósculo (esponja juvenil). Escala: 200µm.



Fonte: O autor (2023)

Figura 7. Progressão e percentual das gêmulas atingindo os estágios de desenvolvimento (S1) - gêmulas eclodidas (células migrando da gêmula pela micrópila), e (S4) formação de ósculo (esponja juvenil), no período de 21 dias; (A) Gêmulas que atingiram o estágio 1 (S1); (B) Gêmulas que atingiram o estágio 4 (S4).



Fonte: O autor (2023)

6 DISCUSSÃO

A partir dos resultados aqui obtidos podemos inferir que a exposição à salinidade (de 1 a 9 dias de exposição) parece não provocar efeito negativo sobre o percentual de eclosão das gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* e na formação de esponjas juvenis. Uma vez que não houve diferença estatística significativa tanto no percentual de gêmulas eclodidas quanto nas esponjas juvenis formadas. Contudo, quando comparamos o controle com os demais tratamentos foi possível observar um atraso no início do desenvolvimento. Para as gêmulas de *Eunapius fragilis*, quando submetidas a água do seu local de coleta (4°C), eclodiram com 9 dias após sua transferência para água com temperatura de 20°C (FELL, 1992). Quanto as gêmulas de *Ephydatia fluviatis*, mostraram um atraso na eclosão quando irradiadas por 32 Kr e 128 Kr de raios γ , sendo necessário 3 e 4,5 respectivamente para eclodirem, enquanto que no tratamento controle, as gêmulas levaram 2 dias para eclodir (SHIMADA & EGAMI, 1985). Aparentemente, o tempo de eclosão e início do desenvolvimento parece variar com o estresse ao qual as gêmulas são expostas. Aqui, além do retardo no início da eclosão, também foi observado um atraso na formação de esponjas juvenis.

Calheira e colaboradores (2020) testaram a capacidade de eclosão das gêmulas de *H. cristalina* em águas continentais de diferentes localidades, e observaram um alto percentual de eclosão das gêmulas do controle (92%). Por outro lado, quando as gêmulas foram submetidas a um estresse (dessecação) o percentual de eclosão diminuiu (66%) e quando submetidas a águas húmicas elas não eclodiram, provavelmente devido à alta condutividade. No presente estudo, durante todo experimento, as gêmulas de *H. cristalina* submetidas a água do mar (T1) também não eclodiram, semelhante à Calheira et al. (2020) com salinidade de 0,08. Ainda observamos, em nosso estudo, que o percentual de eclosão das gêmulas do controle (79%) foi menor que o observado por Calheira et al. (2020), isso pode estar relacionado a época do ano em que as coletas foram realizadas, Calheira e colaboradores coletaram as gêmulas em maio de 2015, período com precipitação entre 2,2 e 8,4mm (WEATHER SPARK, 2023), já em nosso estudo, coletamos no mês de julho de 2022, precipitação acima de 55,3mm (WEATHER SPARK, 2023). Então parece que a taxa de eclosão das gêmulas pode estar relacionada com a pluviosidade, que pode influenciar na quantidade de matéria orgânica no ambiente em que a esponja está habitando. Para *H. cristalina*, investigações futuras podem ser realizadas a respeito dessa possível influência, visto que essa relação não foi aqui testada.

Gêmulas de outras espécies de esponjas também tiveram sua capacidade de eclosão testadas quando submetidas a condições desfavoráveis (FELL, 1987; FELL, 1992; MELÃO &

ROCHA, 1996). Melão & Rocha (1996) observaram que a exposição das gêmulas de *Metania spinata* a apenas um fator estressante, como dessecação ou matéria orgânica, resultou no percentual de eclosão de 60% e 40%, respectivamente, ao contrário do que foi observado com as gêmulas expostas a dois fatores estressantes (baixa temperatura e dessecação; matéria orgânica e dessecação) onde a eclosão foi reduzida ou inibida. Por outro lado, Fell (1987) observou que condições estressantes, congelamento e dessecação, podem induzir a eclosão das gêmulas de *Eunapius fragilis*, e que quando combinadas a taxa de eclosão aumenta. Então, as gêmulas das espécies *E. fragilis* e *M. spinata* quando submetidas a condições estressantes podem ser estimuladas a eclodir quando expostas à condição ideal, e que a combinação dos estresses pode ser favorável ou não para a eclosão. No presente trabalho testamos apenas uma condição estressante (salinidade) nas gêmulas de *H. cristalina*, e o tempo de exposição das gêmulas a salinidade não foi inibitório para a eclosão, pois quando submetidas a condição ideal elas eclodiram.

A exposição à salinidade também foi testada anteriormente. Francis et al. (1982) observaram que a taxa de crescimento da esponja em *Ephydatia fluviatilis*, diminuiu com o aumento da salinidade, e as gêmulas de *Spongilla lacustris* não sobrevivem a diluição da solução de NaCl (23 mOsmolar) (SIMPSON & VACCARO, 1973). Contudo, as gêmulas de *E. fragilis*, como relatado por Fell (1990), sobrevivem a exposição de 5% da solução de NaCl (cerca de 1400 mOsmolar) por 9 dias, além de serem capazes de suportar exposição de 30ppt água do mar por até 4 semana e de 37ppt por 9 dias (FELL, 1992). Fell (1992) ainda observou que as gêmulas dessa mesma espécie quando mantidas na água do local da coleta sob 4°C por menos de 10 semanas, eclodiram em 9 dias após serem transferidas à água com temperatura de 20°C, por outro lado, as gêmulas submetidas a água do mar (4°C), ou outras soluções salinas a 20°C, no mesmo período de tempo, não apresentaram eclosão. Aqui observamos que não houve diferença significativa na taxa de eclosão e na formação de esponjas juvenis quando as gêmulas foram expostas a água do mar por até 9 dias, mas houve um atraso no início do desenvolvimento quando comparamos com o controle. Além disso, as gêmulas do controle, mantidas na água do local da coleta, eclodiram primeiro (3 dias) quando comparadas com as gêmulas expostas por 9 dias (5 dias). Então, a tolerância à salinidade parece variar dependendo da espécie.

Outros organismos de água doce, além das esponjas, também possuem a capacidade de tolerar a salinidade, como os mexilhões, onde a espécie *Limnoperna fortunei* Dunker, 1857, conhecida como mexilhão dourado, é amplamente distribuída em rios e lagos, ficou conhecida por sua alta tolerância à salinidade (0-12‰) (DEATON et al., 1989), essa espécie acabou

sendo introduzida involuntariamente em diversos ambientes, tornando-se uma praga aquática à biota dos locais invadidos (RICCIARDI, 1998). Para os zooplânctons, foram testados os ovos em diapausa (corpo funcionalmente semelhante às gêmulas), observando-se que tolerância à flutuações de salinidade também parece variar com a espécie, onde para a espécie *Bosmina liederi* De Melo & Hebert, 1994 não houve eclosão dos ovos, enquanto *Daphnia longiremis* Sars, 1862 apresentou grau moderado de tolerância, e *Brachionus calyciflorus* Pallas, 1766 teve 78% dos ovos eclodidos, sendo a única espécie a eclodir com 8‰ de salinidade de 0-10 dias (BAILEY et al., 2004). No presente estudo foi apresentado que as gêmulas de *H. cristalina* possuem a capacidade de suportar um período de até 9 dias a água do mar, e isso pode influenciar na sua dispersão, tendo em vista que a alta tolerância à salinidade pode permitir a dispersão da esponja por meio da incrustação nos cascos de navios oceânicos que transitam em portos de água doce (FELL, 1992), caso as gêmulas encontrem condições ideais no novo ambiente.

A incrustação em casco de embarcações é um dos principais mecanismos de dispersão atualmente para espécies exóticas (SILVA, 2001; SOUZA et al., 2009). Para as esponjas, foram registrados alguns casos de espécies exóticas no Brasil, sendo elas espécies de ambiente marinho, a *Heteropia glomerosa* Bowerbank, 1873, espécie calcárea classificada como "espécie exótica estabelecida", que foi introduzida no Brasil e, conseqüentemente, no Oceano Atlântico (KLAUTAU et al., 2020); *Sycettusa hastifera* Row, 1909, com origem no Mar Vermelho, encontrada no Rio de Janeiro (MURICY et al., 1991), posteriormente, também encontrada na Baía da Ilha Grande (AZEVEDO & KLATAU, 2007); *Borojevia aspina* Klautau, Solé-Cava & Borojevic, 1994, espécie nativa do Brasil introduzida no Mar Vermelho ou vice-versa (VOIGT et al., 2017); e a *Paraleucilla magna* Klautau, Monteiro & Borojevic, 2004, vinda da região Indo-Pacífica, foi encontrada pela costa do nordeste brasileiro (GUARDIOLA et al., 2016), sendo também encontrada incrustada em barcos no litoral de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro (RIBEIRO et al., 2022).

Além da dispersão por incrustação em embarcações, os organismos também podem ser transportados artificialmente através da água de lastro. Kipp e colaboradores (2010) encontraram estatoblastos, estruturas assexuadas em estágio de repouso, semelhantes às gêmulas produzidas por briozoários de águas continentais, sendo transportados em tanques de água de lastro de navios transoceânicos. Nesse estudo eles identificaram 11 espécies, dessas incluindo duas espécies exóticas não registradas e outra já estabelecida. Além disso, encontraram gêmulas de *Eunapius fragilis*. Até o presente momento ainda não houve registro de espécies exóticas de esponjas de águas continentais em nenhuma parte do mundo.

Contudo, com a possibilidade da dispersão das gêmulas em águas de lastro, e da tolerância de espécies à salinidade, como vimos aqui, é possível que já existam a ocorrência dessas espécies exóticas, no entanto, ainda não foram descobertas pela ciência. Sendo assim, mais estudos para entendermos a fisiologia e distribuição das gêmulas se fazem necessários para a ampliação do conhecimento a respeito desse organismo.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, podemos afirmar que a salinidade pode influenciar na eclosão das gêmulas de *Heteromeyenia cristalina*, de forma que as gêmulas consigam tolerar por certo período a exposição a água do mar. A tolerância das gêmulas à salinidade pode ser fundamental para a dispersão e a perpetuação em novos ambientes, pois a partir dela as esponjas de água doce, nesse caso, a *H. cristalina* tem potencial de se dispersar para outros portos de água doce, ampliando sua distribuição devido à incrustação em embarcações (cascos de navios e barcos, águas de lastro, incrustação em boias, etc.) que transitam em ambientes marinhos e ambientes de água doce. Contudo, há uma escassez quanto a estudos relacionados à eclosão das gêmulas sob condições estressantes, como a matéria orgânica, pluviosidade e a própria salinidade, e para melhor compreensão seria necessário realizar mais estudos sobre o tema. Somado a isso, também se faz necessário estudos relacionados a estação do ano ao qual são realizadas as coletas das gêmulas; estudos sobre dispersão, para uma melhor compreensão dos processos que envolvem o padrão de distribuição das esponjas e sobre a fisiologia das gêmulas, sendo essa crucial para entendermos os mecanismos e os processos que influenciam ou não na eclosão das gêmulas.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, Fernanda; KLAUTAU, Michelle. Calcareous sponges (Porifera, Calcarea) from Ilha Grande Bay, Brazil, with descriptions of three new species. **Zootaxa**, v. 1402, n. 1, p. 1–22-1–22, 2007.

BATISTA, Twiggy., VOLKMER-RIBEIRO, Cecília, & MELÃO, Maria da Graça M. Sponge fauna of the protected area of Meandros do Rio Araguaia (GO, MT, TO), Brazil, with description of *Heteromeyenia cristalina* sp. nov. (Porifera, Demospongiae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 3, p. 608-630, 2007.

BAILEY, Sarah A. et al. Salinity tolerance of diapausing eggs of freshwater zooplankton. **Freshwater Biology**, v. 49, n. 3, p. 286-295, 2004.

BELL, James J. The functional roles of marine sponges. **Estuarine, coastal and shelf science**, v. 79, n. 3, p. 341-353, 2008.

BENFEY, Tillmann J.; REISWIG, Henry M. Temperature, pH, and photoperiod effects upon gemmule hatching in the freshwater sponge, *Ephydatia muelleri* (Porifera, Spongillidae). **Journal of Experimental Zoology**, v. 221, n. 1, p. 13-21, 1982.

BERGQUIST, Patricia R. **Sponges**. Univ of California Press, 1978.

CÁCERES, Carla E. Dormancy in invertebrates. **Invertebrate biology**, p. 371-383, 1997.

CALHEIRA, Ludimila; LANNA, Emilio; PINHEIRO, Ulisses. Tropical freshwater sponges develop from gemmules faster than their temperate-region counterparts. **Zoomorphology**, v. 138, p. 425-436, 2019.

CALHEIRA, Ludimila; SANTOS, Paulo JP; PINHEIRO, Ulisses. Eclosão de gêmulas em duas esponjas dulciaquícolas neotropicais (Porifera: Spongillida) em diferentes águas continentais. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 110, 2020.

CAVALCANTI, Fernanda F.; KLAUTAU, Michelle. Solenoid: a new aquiferous system to Porifera. **Zoomorphology**, v. 130, p. 255-260, 2011.

DEATON, Lewis E. et al. Osmoregulation and salinity tolerance in two species of bivalve mollusc: *Limnoperna fortunei* and *Mytilopsis leucophaeta*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 133, n. 1-2, p. 67-79, 1989.

DIAZ, M. Cristina; RÜTZLER, Klaus. Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. **Bulletin of marine science**, v. 69, n. 2, p. 535-546, 2001.

ERESKOVSKY, Alexander; LAVROV, Andrey. Porifera. **Invertebrate histology**, p. 19-54, 2021.

FELL, Paul E. Influences of Temperature and Desiccation on Breaking Diapause in the Gemmules of *Eunapius fragilis* (Leidy). **International journal of invertebrate reproduction and development**, v. 11, n. 3, p. 305-315, 1987.

FELL, Paul E. Environmental factors affecting dormancy in the freshwater sponge *Eunapius fragilis* (Leidy). **Invertebrate reproduction & development**, v. 18, n. 3, p. 213-219, 1990.

FELL, Paul E. Salinity tolerance of the gemmules of *Eunapius fragilis* (Leidy) and the inhibition of germination by various salts. **Hydrobiologia**, v. 242, p. 33-39, 1992.

FRANCIS, John C.; POIRRIER, Michael A.; LABICHE, Ronald A. Effects of calcium and salinity on the growth rate of *Ephydatia fluviatilis* (Porifera: Spongillidae). **Hydrobiologia**, v. 89, p. 225-229, 1982.

FUNAYAMA, Noriko et al. Isolation of the choanocyte in the freshwater sponge, *Ephydatia fluviatilis* and its lineage marker, Ef annexin. **Development, growth & differentiation**, v. 47, n. 4, p. 243-253, 2005.

GAINO, Elda; BURLANDO, Bruno. Sponge cell motility: a model system for the study of morphogenetic processes. **Italian Journal of Zoology**, v. 57, n. 2, p. 109-118, 1990.

GAZAVE, Eve et al. No longer Demospongiae: Homoscleromorpha formal nomination as a fourth class of Porifera. **Hydrobiologia**, v. 687, p. 3-10, 2012.

GUARDIOLA, Magdalena; FROTSCHER, Johanna; URIZ, Maria-J. High genetic diversity, phenotypic plasticity, and invasive potential of a recently introduced calcareous sponge, fast spreading across the Atlanto-Mediterranean basin. **Marine biology**, v. 163, p. 1-16, 2016.

HAJDU, Eduardo; PEIXINHO, Solange; FERNANDEZ, Júlio CC. **Esponjas marinhas da Bahia: guia de campo e laboratório**. Museu Nacional, 2011.

HOOPER, John NA; VAN SOEST, Rob WM. **Systema Porifera. A guide to the classification of sponges**. Springer Us, 2002.

KIPP, R et al. Transoceanic ships as vectors for nonindigenous freshwater bryozoans. **Diversity and Distributions**, v. 16, n. 1, p. 77-83, 2010.

KLAUTAU, Michelle et al. Heteropia glomerosa (Bowerbank, 1873)(Porifera, Calcarea, Calcaronea), a new alien species in the Atlantic. **Systematics and biodiversity**, v. 18, n. 4, p. 362-376, 2020.

LEYS, Sally; GROMBACHER, Lauren; HILL, April. Hatching and freezing gemmules from the freshwater sponge Ephydatia muelleri. **Protocols. io**, 2019.

LAURINDO, Ludimila Calheira. Reprodução de esponjas de águas continentais como modelo para estudo de ecotoxicologia e distribuição. 2020

MALDONADO, Manuel; BERGQUIST, Patricia R. Phylum Porifera. In 'Atlas of Marine Invertebrate Larvae'.(Ed. CM Young.) pp. 21–50. 2002.

MALDONADO, Manuel; RIESGO, Ana. Reproduction in the phylum Porifera: a synoptic overview. **Treballs de la Societat Catalana de Biologia**, v. 59, p. 29-49, 2009.

MANCONI, Renata; CADEDDU, Barbara; PRONZATO, Roberto. Adaptive morpho-traits, taxonomy and biogeography of Metania Gray, 1867 (Porifera: Spongillina: Metaniidae) with the description of a new species from Madagascar. **Zootaxa**, v. 3918, n. 1, p. 39-56, 2015.

MANCONI, Renata; PRONZATO, Roberto. Suborder Spongillina subord. nov.: Freshwater sponges. **Systema Porifera: a guide to the classification of sponges**, p. 921-1019, 2002.

MANCONI, Renata; PRONZATO, Roberto. Gemmules as a key structure for the adaptive radiation of freshwater sponges: a morphofunctional and biogeographical study. **Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability**. Museu Nacional, Rio de Janeiro, p. 61-77, 2007.

MANCONI, Renata; PRONZATO, Roberto. How to survive and persist in temporary freshwater? Adaptive traits of sponges (Porifera: Spongillida): A review. **Hydrobiologia**, v. 782, p. 11-22, 2016.

MELÃO, Maria da Graça M.; ROCHA, Odete. Germinação de gêmulas de Metania spinata (Porifera, Metaniidae). **Anais do VII Seminário Regional de Ecologia, São Carlos, SP, Brasil**, v. 7, p. 81-85, 1996.

- MOREIRA, Sandra Socorro; ZUANON, Jansen. The diet of retroculus lapidifer (perciformes: cichlidae), a rheophilic cichlid fish from araguaia river, Tocantins State, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 32, p. 691-691, 2002.
- MORROW, Christine; CÁRDENAS, Paco. Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). **Frontiers in Zoology**, v. 12, p. 1-27, 2015.
- MURICY, Guilherme et al. Sponge distribution at Arraial do Cabo, SE Brazil. In: **Coastal Zone'91**. ASCE, 1991. p. 1183-1196.
- MURICY, Guilherme; HAJDU, Eduardo; BERLINCK, Roberto GS. **Porifera Brasilis: guia de identificação das esponjas marinhas mais comuns do Sudeste do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2006.
- MURICY, Guilherme et al. **Catalogue of Brazilian porifera**. Museu Nacional, 2011.
- PINHEIRO, Ulisses; CALHEIRA, Ludimila; HAJDU, Eduardo. A new species of freshwater sponge, *Heteromeyenia barlettai* sp. nov. from an aquarium in São Paulo, Brazil (Spongillida: Spongillidae). **Zootaxa**, v. 4034, n. 2, p. 351-363, 2015.
- PINHEIRO, Ulisses; CALHEIRA, Ludimila. Phylum Porifera. In: C. Damborenea, J.H. Thorp & D.C. Rogers. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, Volume 5: Keys to Neotropical and Antarctic Fauna, Fourth Edition, Academic Press, pp. 79–92, 2020
- PRONZATO, Roberto; MANCONI, Renata. Adaptive strategies of sponges in inland waters. 1994.
- REISWIG, Henry M.; FROST, Thomas M.; RICCIARDI, Anthony. Porifera. In: **Ecology and classification of North American freshwater invertebrates**. Academic Press, p. 91-123, 2010.
- RIBEIRO, Bárbara; PADUA, André; KLAUTAU, Michelle. Sessile exotic species moving around: calcareous sponges on boat hulls. **Marine Biodiversity**, v. 52, p. 1-2, 2022.
- RICCIARDI, Anthony. Global range expansion of the Asian mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): another fouling threat to freshwater systems. **Biofouling**, v. 13, n. 2, p. 97-106, 1998.
- RUPPERT, Edward. Zoologia dos invertebrados. 1996 (pp. 1029-1029).
- SHIMADA, Atsuko; EGAMI, Nobuo. Comparação da radiosensibilidade de ovos dormentes secos, gêmulas e estatoblastos de três formas de invertebrados. **Journal of Radiation Research**, v. 26, n. 1, pág. 123-130, 1985.
- SILVA, João V. & SOUZA, Rosa Cristina C. L. (Org.). **Água de Lastro e Bioinvasão**. 1ª. Ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência Ltda, 224 p, 2004.
- SIMPSON, Tracy L.; FELL, Paul E. Dormancy among the Porifera: gemmule formation and germination in fresh-water and marine sponges. **Transactions of the American Microscopical Society**, p. 544-577, 1974.
- SIMPSON, Tracy L.; VACCARO, Charles A.; SHA'AFI, R. I. The role of intragemmular osmotic pressure in cell division and hatching of gemmules of the fresh-water sponge *Spongilla lacustris* (Porifera). **Zeitschrift Fuer Morphologie Der Tiere**, v. 76, n. 4, p. 339-357, 1973.

SIMPSON, Tracy L. **The cell biology of sponges**. Springer Science & Business Media, 2012.

SOUZA, R. C. C. L.; FERREIRA, C. E. L.; PEREIRA, R. C. Bioinvasão marinha. **Biologia marinha. Livraria Interciência, Rio de Janeiro**, p. 555-577, 2009.

UNGEMACH, Louis F. et al. Possession and loss of cold tolerance by sponge gemmules: a comparative study. **Invertebrate Biology**, p. 1-5, 1997.

VAN LEEUWEN, Casper HA et al. Great cormorants reveal overlooked secondary dispersal of plants and invertebrates by piscivorous waterbirds. **Biology Letters**, v. 13, n. 10, p. 20170406, 2017.

de Voogd, N.J.; Alvarez, B.; Boury-Esnault, N.; Carballo, J.L.; Cárdenas, P.; Díaz, M.-C.; Dohrmann, M.; Downey, R.; Goodwin, C.; Hajdu, E.; Hooper, J.N.A.; Kelly, M.; Klautau, M.; Lim, S.C.; Manconi, R.; Morrow, C.; Pinheiro, U.; Pisera, A.B.; Ríos, P.; Rützler, K.; Schönberg, C.; Vacelet, J.; van Soest, R.W.M.; Xavier, J. (2023). World Porifera Database. Accessed at <https://www.marinespecies.org/porifera> on 2023-04-24. doi:10.14284/359

VOIGT, Oliver et al. Calcinea of the Red Sea: providing a DNA barcode inventory with description of four new species. **Marine Biodiversity**, v. 47, p. 1009-1034, 2017.

VOLKMER-RIBEIRO, C.; GROSSER, K. M. Gut Contents of *Leporinus obtusidens*" Sensu" von Ihering (Pisces, Characoidei) Used in a Survey for Freshwater Sponges. **REV. BRASIL. BIOL.**, v. 41, n. 1, p. 175-183, 1981.

VOLKMER-RIBEIRO, C. Manual de técnicas para a preparação de coleções zoológicas 3. **Esponjas de Água Doce**, 1985.

WeatherSpark

<<https://pt.weatherspark.com/m/31432/5/Condi%C3%A7%C3%B5es-meteorol%C3%B3gicas-caracter%C3%ADsticas-de-Recife-Brasil-em-maio#Figures-ObservedWeather>> Acesso em 05 Fev. 2023

WÖRHEIDE, Gert et al. Deep phylogeny and evolution of sponges (phylum Porifera). **Advances in marine biology**, v. 61, p. 1-78, 2012.

YIN, Zongjun et al. Sponge grade body fossil with cellular resolution dating 60 Myr before the Cambrian. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 12, p. E1453-E1460, 2015.