



**CAPTAR**  
ciência e ambiente para todos

volume 6 • número 2 • p 11 - 21

## **A vida entre dois mundos - a metamorfose não apaga a história larvar de invertebrados marinhos com ciclos de vida bifásicos**

O ciclo de vida da maioria dos invertebrados marinhos alterna entre o ambiente pelágico (na coluna de água) e bentónico (no fundo). As larvas desenvolvem-se no meio pelágico, enquanto os adultos ocupam o bentos, cabendo às formas larvares realizarem a interface entre estes dois ambientes. As condições a que as larvas estão sujeitas durante o desenvolvimento e nos momentos de interface, podem influenciar a sobrevivência ou o fenótipo das mesmas, refletindo-se nas fases subsequentes do seu ciclo de vida. Neste estudo avaliamos o efeito da exposição a baixas salinidades de megalopas (último estado de desenvolvimento larvar dos caranguejos braquiúros) do caranguejo verde *Carcinus maenas* no momento em que estas regressam ao estuário para realizar a sua metamorfose (transição entre os modos de vida pelágico e bentónico). Foram simuladas condições resultantes de períodos de chuva intensa, que se refletem na salinidade do estuário. Deste modo, as megalopas selvagens recolhidas do plâncton foram expostas a dois tratamentos: salinidade 10 (extrema) e 25 (controlo), em condições de inanição (ausência de alimento) até morrerem ou realizarem a metamorfose. Após a metamorfose, todos os caranguejos juvenis em estágio 1 (C1) foram aclimatados a uma salinidade de 25 e mantidos em condições constantes de temperatura e alimento até caranguejo em estágio 5 (C5). Apesar da resistência das larvas à baixa salinidade, a vulnerabilidade nutricional e o custo do stress osmótico repercutiu-se no desempenho dos juvenis. Os indivíduos que foram expostos mais tempo a condições adversas, apresentaram os tamanhos mais pequenos e os pesos mais baixos, dando lugar a juvenis de menor qualidade. O início da vida bentónica é assim condicionado pela experiência pelágica, confirmando que a metamorfose não apaga a história larvar.

### **Palavras-chave**

stress osmótico  
*Carcinus maenas*  
interações fenotípicas  
ciclos de vida complexos

Felisa Rey<sup>1\*</sup>

Gina M. Silva Neto<sup>1</sup>

Rui Rosa<sup>2</sup>

Henrique Queiroga<sup>1</sup>

Ricardo Calado<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biologia & CESAM, Universidade de Aveiro, Portugal.

<sup>2</sup> MARE – Marine and Environmental Sciences Centre, Laboratório Marítimo da Guia, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Portugal.

\* felisa.rey@gmail.com (F. Rey)

\* rjcalado@hotmail.com (R. Calado)

## INTRODUÇÃO

As condições ambientais são determinantes no ciclo de vida dos organismos marinhos, controlando o seu desenvolvimento, fenótipo, desempenho e sobrevivência (Walther et al. 2002; Edwards e Richardson 2004; Allen e Marshall 2010, Calado e Leal 2015). A maioria dos invertebrados marinhos desenvolve-se através de ciclos de vida complexos e bifásicos (Roughgarden et al. 1988; Levin e Bridges 1995). As populações de adultos e juvenis vivem no meio bentónico, enquanto as fases larvares se desenvolvem em ambientes pelágicos, voltando ao ambiente bentónico durante o processo de assentamento (Figura 1). Esta alternância entre ambientes gera dois momentos críticos: a eclosão das larvas e o assentamento (metamorfose). A interface entre os dois ambientes é um desafio para as larvas, uma vez que têm de se adaptar às novas condições do meio em que vivem (Marshall e Morgan 2011).

A abordagem clássica na ecologia e biologia marinha estabelecia uma relação entre o desempenho dos indivíduos e as condições ambientais a que estes estavam expostos. Nas últimas décadas, foram realizados vários estudos (Pechenik 2006; Marshall e Morgan 2011) que confirmaram o impacto que as condições bióticas e abióticas vigentes durante o período larvar podem vir a ter nas fases seguintes do ciclo de vida de invertebrados marinhos (Giménez 2006). As larvas são especialmente vulneráveis às mudanças das condições ambientais, que podem causar danos potencialmente transferíveis para os estádios posteriores do ciclo de vida, os denominados efeitos latentes (*carry-over effects*) (Anger 2006; Allen e Marshall 2010; Smith et al. 2013). Durante a metamorfose a forma, fisiologia e comportamento dos indivíduos (Pechenik 2006), sendo o seu desempenho influenciado pelas condições ambientais e tróficas a que foram sujeitos durante a sua fase de vida pelágica. Os indivíduos que apresentem as melhores condições aquando do processo de assentamento gerarão juvenis mais competitivos que terão mais sucesso no recrutamento dentro da população e darão origem a descendência (Giménez 2010).

O caranguejo verde, *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758), é um crustáceo decápode típico de estuários e lagoas costeiras, sendo uma espécie autóctone na costa atlântica Europeia. No entanto, esta espécie ocorre igualmente noutros pontos do planeta onde é invasora, sendo mesmo considerada como uma das 100 piores espécies invasoras em todo o mundo (GISD 2009). O caranguejo *C. maenas* apresenta um ciclo de vida bifásico, sendo que o primeiro estágio larvar (zoea I)

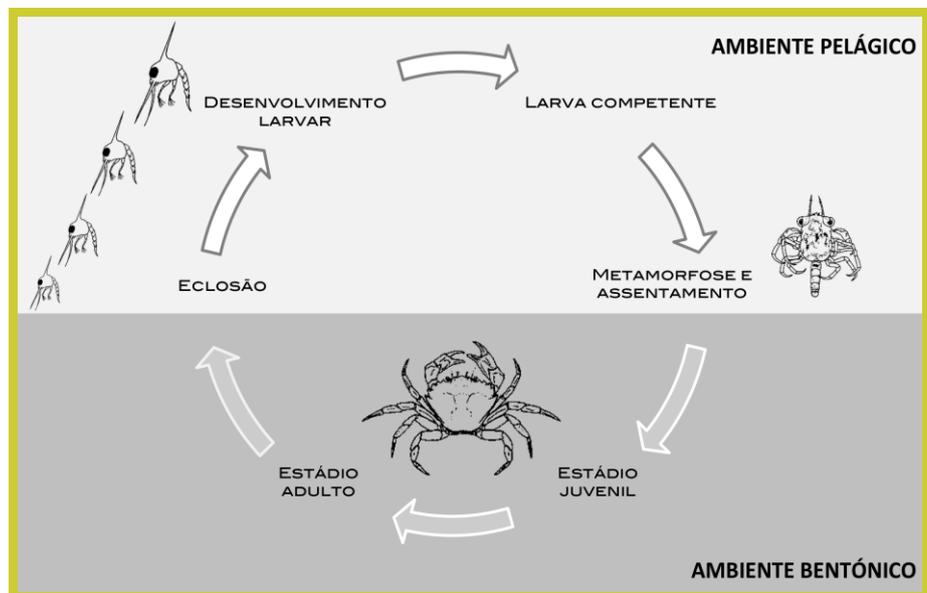


FIGURA 1: Representação esquemática do ciclo de vida bifásico do caranguejo verde *Carcinus maenas*. Após a eclosão, as larvas são libertadas para a coluna de água onde se desenvolvem através de quatro estádios de zoea. O último estágio larvar, a megalopa, regressa ao habitat ocupado pelos adultos quando for competente (ou seja quando a larva está recetiva aos sinais que promovem o assentamento) para fazer a metamorfose e iniciar a sua vida no bentos.

eclode durante as noites de marés mortas (Zeng e Naylor 1997). Esta estratégia permite que as larvas sejam rapidamente exportadas para águas oceânicas (Queiroga et al. 1997) onde se desenvolvem através de quatro estádios de zoea (zoea I até zoea IV) (Figura 1). Após 4 ou 6 semanas, dependendo da temperatura da água (Dawirs 1985), atingem o seu último estádio larvar, a megalopa. As megalopas regressam ao *habitat* ocupado pelos adultos durante o período de enchente das marés noturnas (Queiroga et al. 1994) para realizar a metamorfose, sendo o primeiro estádio juvenil que se estabelece com um modo de vida exclusivamente bentónico.

Durante a fase pelágica, a salinidade exerce um papel crucial no crescimento e sobrevivência das larvas marinhas (Anger 2003). A diminuição da salinidade a grande escala é uma das principais fontes de mortalidade das larvas planctónicas em estuários (Morgan 1995). Na Ria de Aveiro verificou-se a ocorrência de múltiplos e prolongados períodos de chuva intensa durante a primavera e início do verão de 2013. Em consequência destes eventos, foi confirmada uma redução da salinidade em toda a coluna de água. Neste sentido, foi desenvolvida uma abordagem experimental para verificar em que medida a exposição das megalopas de *C. maenas* a baixas salinidades poderia influenciar o processo de metamorfose e o desempenho dos seus primeiros estádios juvenis. Embora as megalopas de *C. maenas* tenham a capacidade de osmorregular, quando submetidas a baixas salinidades, esta capacidade é inferior à que apresentam os primeiros estádios juvenis (Cieluch 2004). A metamorfose é em si mesmo um processo que requer um elevado gasto energético e, se a isto acrescentamos o esforço de osmorregulação, estes indivíduos devem apresentar uma maior vulnerabilidade energética relativamente aos que não sofrem stress osmótico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Capturas das megalopas

As megalopas de *C. maenas* foram recolhidas no Canal de Mira, na Ria de Aveiro (40° 37' 17" N, 8° 44' 56" W) em Junho de 2013, tendo sido utilizadas duas redes de plâncton (Figura 2) (descritas em detalhe por Queiroga et al. 2006) posicionadas a 0,1 m da superfície da água. O desenho das redes permite que a amostra de plâncton seja deslocada pela corrente até ao copo coletor, evitando assim a sua saída. Depois de 24 h submersas, as redes foram recolhidas e as amostras de plâncton acondicionadas para ser transportadas para o laboratório.



FIGURA 2: A. Rede de plâncton usada para a captura das megalopas selvagens de *Carcinus maenas* na Ria de Aveiro. B. Copo coletor onde a amostra de plâncton fica retida. (Fotografia: Felisa Rey).

## Desenho experimental

Um total de 70 megalopas foram aleatoriamente selecionadas da amostra de plâncton e separadas em dois grupos de 35 organismos cada (Figura 3). O primeiro grupo foi aclimatado a uma salinidade de 25 (Salinidade 25), o mesmo valor da salinidade registado no local de amostragem. Este grupo (Salinidade 25) foi considerado como o grupo controlo do procedimento experimental. O segundo grupo de megalopas foi aclimatado a uma salinidade de 10 (Salinidade 10), uma salinidade que pode ser registada no local amostragem, selecionado na Ria de Aveiro, durante períodos de chuva extrema. As megalopas foram colocadas em água do mar sintética, preparada com sal *Tropic Marin ProReef* (Tropic Marine®, Alemanha) e água da torneira purificada através de um sistema de osmose inversa. As megalopas do tratamento Salinidade 10 foram aclimatadas gradualmente até uma salinidade de 10. Durante 5 h foi acrescentada água doce para fazer descer a salinidade de forma gradual. Ambos os tratamentos (Salinidade 10 e Salinidade 25) foram realizados em condições de laboratório controladas ao nível da temperatura (19 °C) e fotoperíodo (12h<sup>D</sup>:12h<sup>N</sup>). Cada megalopa foi posicionada dentro de um recipiente de PVC (volume ~300 mL), não tendo sido alimentadas até realizarem a metamorfose. Após a metamorfose, cada caranguejo (juvenil em estágio 1, C1) foi transferido para uma salinidade de 25 (assumiu-se assim que os caranguejos juvenis já se podem deslocar com mais facilidade no ambiente estuarino e escolher condições mais apropriadas ao seu desenvolvimento). Os caranguejos procedentes do tratamento Salinidade 10 foram aclimatados seguindo o protocolo anteriormente descrito, incrementando de forma progressiva a salinidade até atingir a salinidade 25. Uma aclimação progressiva para uma nova salinidade minimiza o dano causado pelo stress osmótico, reduzindo a probabilidade de efeitos secundários externos ao procedimento experimental. Os caranguejos procedentes de megalopas que realizaram a metamorfose durante os primeiros 5 dias após a amostragem foram classificados como colonizadores precoces (Colonizadores Precoces 10 e Colonizadores Precoces 25, para Salinidade 10 e Salinidade 25, respetivamente), enquanto aqueles que demoraram mais do que 5 dias foram classificados como colonizadores tardios (Colonizadores Tardios 10 e Colonizadores Tardios 25, para Salinidade 10 e Salinidade 25, respetivamente). Todos os indivíduos foram cultivados até o estágio juvenil caranguejo 5 (C5, ou seja após a metamorfose o caranguejo ter realizado 4 mudas), sendo alimentados com náuplios de *Artemia* recém-eclodidos (condições de alimentação *ad libitum*). Diariamente, a água de cada recipiente foi renovada na sua totalidade. Os indivíduos foram inspecionados visualmente todos os dias para verificar a existência de mudas ou indivíduos mortos. Todas as mudas foram preservadas individualmente, numa solução 8:2 (v/v) de álcool etílico (97%) e glicerina, para posterior análise morfométrica. Nas megalopas foi registado o comprimento da carapaça, medido desde a ponta do rostro até à extremidade posterior do cefalotórax; nos caranguejos juvenis foi registada a largura da carapaça, medida entre o primeiro par de espinhos laterais. Tanto o comprimento como a largura da carapaça foram medidos numa lupa com micrómetro ocular calibrado (margem de erro 0,01 mm). Todos os indivíduos que chegaram a C5 foram medidos (largura da carapaça) e pesados (peso húmido) (margem de erro 0,01 mg).

## Análise estatística

O tempo até à metamorfose, comprimento da carapaça, os dias após a metamorfose até atingir o estágio C5, largura da carapaça (em C1 e C5) e peso húmido (em C5) foram analisados usando uma análise de variância (ANOVA) de dois fatores (salinidade - 25 e 10 - e momento da metamorfose - Colonizadores Precoces e Colonizadores Tardios). O tempo de cada estágio (desde C1 até C4) foi analisado usando uma

análise de variância (ANOVA) de três fatores (salinidade - 25 e 10 ‰, momento da metamorfose - Colonizadores Precoces e Colonizadores Tardios - e estágio juvenil - C1 – C4). A normalidade dos dados e homogeneidade das variâncias foram verificados com a análise de Shapiro-Wilks e o teste de Levene, respetivamente. A análise de Tukey foi usada para uma comparação das médias por pares. O nível de significância adotado foi de 0,05. Todas as análises foram realizadas no programa estatístico R versão 2.13.2 (R Development Core Team 2011).

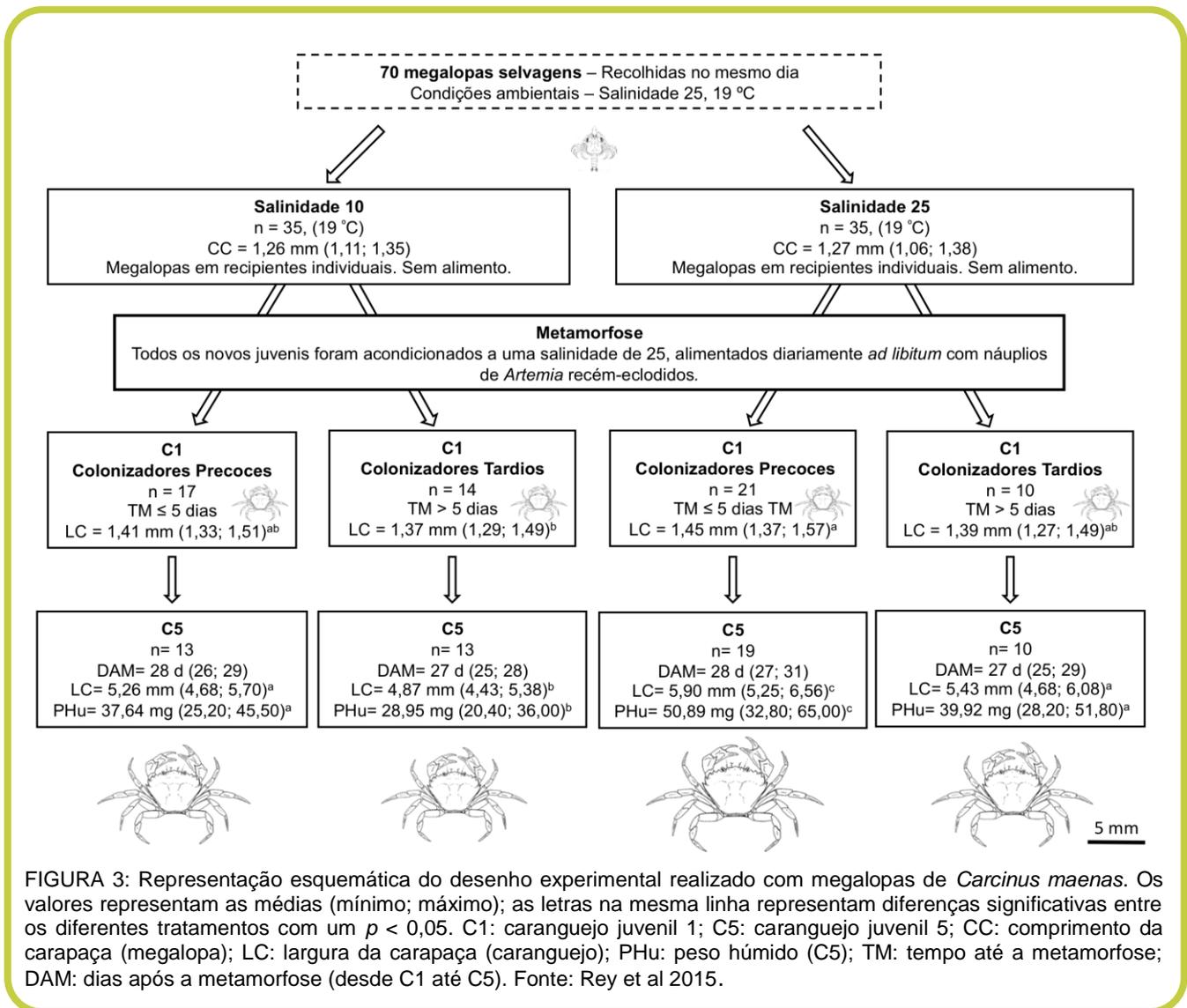


FIGURA 3: Representação esquemática do desenho experimental realizado com megalopas de *Carcinus maenas*. Os valores representam as médias (mínimo; máximo); as letras na mesma linha representam diferenças significativas entre os diferentes tratamentos com um  $p < 0,05$ . C1: caranguejo juvenil 1; C5: caranguejo juvenil 5; CC: comprimento da carapaça (megalopa); LC: largura da carapaça (caranguejo); PHu: peso húmido (C5); TM: tempo até a metamorfose; DAM: dias após a metamorfose (desde C1 até C5). Fonte: Rey et al 2015.

## RESULTADOS

A mortalidade registada anteriormente à metamorfose não foi afetada pela salinidade, sendo que 89% das megalopas (Salinidade 10 ou Salinidade 25) sobreviveram a este processo dramático de transição entre modos de vida (Tabela I). Embora os indivíduos no tratamento Salinidade 10 tenham apresentado um maior tempo até a metamorfose (Figura 4), as diferenças nesta variável (media  $\pm$  desvio padrão) entre ambos os tratamentos (Salinidade 10 e Salinidade 25) não foram estatisticamente significativas ( $p = 0,987$ ) ( $5,3 \pm 1,2$  e  $4,9 \pm 1,5$  dias, respetivamente). Embora não tenham sido registadas diferenças significativas no comprimento da carapaça das megalopas utilizadas para este estudo ( $p = 0,693$ ; Figura 3), os juvenis em

C1 apresentaram uma largura da carapaça variável. Não se verificaram diferenças significativas ( $p > 0,069$ ) na largura da carapaça do C1 entre Colonizadores Precoces 10 e Colonizadores Tardios 10 (o mesmo foi registado para Colonizadores Precoces 25 e Colonizadores Tardios 25). No entanto, os C1 do tratamento Colonizadores Tardios 10 ( $1,37 \pm 0,02$  mm) apresentaram um tamanho significativamente inferior aos de Colonizadores Precoces 25 ( $1,45 \pm 0,03$  mm) ( $p = 0,003$ ). O tempo médio para atingir o estágio C5 não foi significativamente diferente entre Colonizadores

Precoces e Colonizadores Tardios ( $p = 0,958$ ) (o número de dias após a metamorfose médio varia entre 27 - 28 d em todos os tratamentos). Contudo, o tempo médio entre cada estágio variou entre Colonizadores Precoces e Colonizadores Tardios (Figura 4). Os tempos de inter-muda dos Colonizadores Precoces 25 no estágio C4 ( $8,3 \pm 0,9$  dias) foram significativamente superiores ( $p < 0,001$ ) àqueles apresentados nos outros tratamentos. Este resultado está em linha com um tamanho significativamente maior ( $p < 0,003$ )

apresentado pelos C5 (largura da carapaça:  $5,90 \pm 0,33$  mm) procedente do tratamento Colonizadores Precoces 25. Os tamanhos C5 mais pequenos corresponderam a indivíduos do tratamento Colonizadores Tardios 10 ( $4,87 \pm 0,28$  mm) (Figura 3). Embora os indivíduos submetidos à mesma salinidade não tenham apresentado diferenças significativas entre Colonizadores Precoces e Colonizadores Tardios nos tamanhos da largura da carapaça no estágio C1, estas diferenças foram sendo ampliadas até serem estatisticamente significativas no estágio C5. Os C5 procedentes das megalopas

que metamorfosearam mais cedo (Colonizadores Precoces) apresentaram uma maior largura da carapaça do que aqueles que realizaram a metamorfose mais tarde (Colonizadores Tardios) ( $p = 0,002$ ) (Figura 3). O peso húmido dos C5 procedentes de Colonizadores Precoces e Colonizadores Tardios (inicialmente acondicionados à mesma salinidade) foi significativamente diferente ( $p < 0,007$ ), sendo que os C5

TABELA I: Sobrevivência (%) durante o início da vida bentónica de *Carcinus maenas* depois da exposição das megalopas (M) a duas salinidades diferentes: 10 e 25. C1: caranguejo juvenil 1; C2: caranguejo juvenil 2; C3: caranguejo juvenil 3; C4: caranguejo juvenil 4; C5: caranguejo juvenil 5; CP: Colonizadores Precoces (tempo até a metamorfose  $\leq 5$  dias); CT: Colonizadores Tardios (tempo até a metamorfose  $> 5$  dias). Fonte: (Rey et al 2015).

Sobrevivência	CP10	CT10	CP 25	CT 25
M – C5	76,5	92,9	90,5	100,0
M – C1	100,0	100,0	100,0	100,0
C1 – C2	82,4	92,9	90,5	100,0
C2 – C3	100,0	100,0	100,0	100,0
C3 – C4	100,0	100,0	100,0	100,0
C4 – C5	92,9	100,0	100,0	100,0

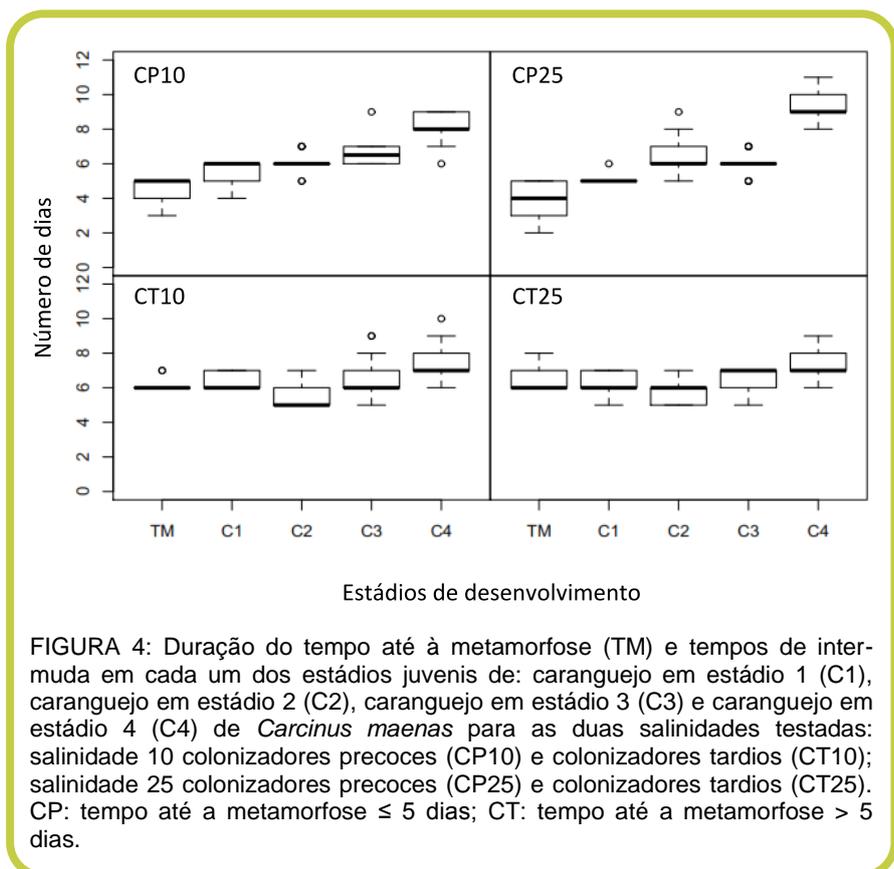


FIGURA 4: Duração do tempo até à metamorfose (TM) e tempos de inter-muda em cada um dos estádios juvenis de: caranguejo em estágio 1 (C1), caranguejo em estágio 2 (C2), caranguejo em estágio 3 (C3) e caranguejo em estágio 4 (C4) de *Carcinus maenas* para as duas salinidades testadas: salinidade 10 colonizadores precoces (CP10) e colonizadores tardios (CT10); salinidade 25 colonizadores precoces (CP25) e colonizadores tardios (CT25). CP: tempo até a metamorfose  $\leq 5$  dias; CT: tempo até a metamorfose  $> 5$  dias.

procedentes dos Colonizadores Precoces apresentaram sempre um maior peso húmido quando comparados com os Colonizadores Tardios da mesma salinidade (peso húmido:  $50,89 \pm 8,15$  e  $37,64 \pm 5,75$  mg para Colonizadores Precoces 25 e Colonizadores Precoces 10, respetivamente) (Figura 3). Os pesos húmidos mais baixos corresponderam a indivíduos do tratamento Colonizadores Tardios 10 (peso húmido:  $28,95 \pm 4,62$  mg) (Figura 3).

## DISCUSSÃO

O elevado número de megalopas que conseguiu realizar a metamorfose na ausência de alimento confirma que a maioria dos indivíduos amostrados tinha já atingido o ponto de saturação de reservas (“Point of Reserve Saturation”, PRS). Quando as larvas atingem o PRS estas acumularam um nível de reservas energéticas suficiente para completar o ciclo de muda e passar para o estágio seguinte, ou realizar a metamorfose, mesmo que sejam subsequentemente privadas de qualquer tipo de alimento (Anger e Dawirs 1981). Este resultado indica-nos que as condições alimentares das megalopas previamente à sua entrada no local de estudo são adequadas para que estas possam realizar a sua metamorfose. Embora ambos os tratamentos tenham apresentado uma sobrevivência elevada até a metamorfose, as megalopas em condições de stress osmótico (Salinidade 10) deverão ter sofrido um maior desgaste energético do que as megalopas do tratamento controlo (Salinidade 25) (tal como anteriormente sugerido por Torres et al. 2007 para uma outra espécie de caranguejo braquiúro).

As diferenças nos tempos até a metamorfose demonstram que as megalopas que invadem o estuário exibem níveis variáveis de competência para a metamorfose. É possível que, por vezes, as megalopas entrem no estuário “antes do tempo”, ou seja, antes de atingir o limiar energético que possa permitir à larva fazer a metamorfose (PRS). Muitas vezes a entrada das megalopas no estuário é episódica, pelo que esta entrada “forçada” poderia ser explicada por condições oceanográficas (Giménez e Dick 2007; Domingues et al. 2011).

Os resultados do nosso estudo confirmam a capacidade que as megalopas têm de hiper-regular a salinidades inferiores a 25 (Cieluch 2004) sem condicionar de forma negativa a sua sobrevivência (Zeng et al. 1997). Esta capacidade de realizar a metamorfose em condições pouco favoráveis, (Salinidade 10 e ausência de alimento) poderão de algum modo explicar o sucesso notável desta espécie enquanto invasora, contribuindo naturalmente para que seja uma das espécies invasoras mais bem-sucedidas do planeta (GISD 2009).

A variabilidade natural nos tamanhos das megalopas selvagens no momento da metamorfose repercute-se no tamanho dos indivíduos no processo de assentamento (Giménez 2010). O facto de a megalopa adiar a sua metamorfose, implica inevitavelmente o consumo das reservas internas e, portanto, dará origem a um juvenil C1 de pequeno tamanho (Gebauer et al. 1999). O presente estudo não mostrou diferenças significativas no comprimento da carapaça das megalopas, pelo que assumimos que todas as megalopas tiveram condições de vida pelágica similares e que as diferenças registadas nos estádios posteriores têm origem nas diferentes condições experimentais testadas. O menor tamanho na largura da carapaça dos juvenis C1 procedentes do tratamento Salinidade 10, é provavelmente uma consequência do maior consumo energético que estes poderão ter apresentado devido ao custo de regulação osmótica. As

condições de cultivo, após a metamorfose, foram padronizadas para ambos os tratamentos e consequentemente seria de esperar que perante condições favoráveis de cultivo (i.e., alimento *ad libitum*, salinidade e temperatura constantes) fosse possível aos caranguejos procedentes do tratamento Salinidade 10 compensar os défices nutricionais associados à regulação osmótica. A análise dos resultados da largura da carapaça indicou que as diferenças presentes nos juvenis C1 não só persistiram no estágio C5, como foram amplificadas. Em *C. maenas*, o incremento na largura da carapaça é significativamente maior nos primeiros quatro estádios (Shen 1935) e o crescimento compensatório exibido por certos crustáceos decápodes (Wickins e Lee 2002) permite que os organismos inicialmente expostos a condições sub-ótimas atinjam tamanhos similares ao dos seus conspecificos que cresceram sempre em condições ótimas. No entanto, tal não foi verificado no presente estudo. Os caranguejos C5 procedentes de megalopas expostas a condições de stress osmótico durante mais tempo (Colonizadores Tardios 10), apresentaram as larguras das carapaças mais reduzidas. Embora nos juvenis C1 a largura da carapaça dos Colonizadores Tardios procedentes do tratamento Salinidade 10 tenha apresentado tamanhos similares aos Colonizadores Tardios de Salinidade 25, no estágio juvenil C5 a largura da carapaça dos Colonizadores Tardios de Salinidade 10 apresentou tamanhos significativamente inferiores aos Colonizadores Tardios de Salinidade 25. Wu et al. (2000) demonstraram que os crustáceos decápodes sujeitos a prolongados períodos de inanição, apresentam uma menor eficiência na conversão alimentar após o início da alimentação. Este estudo permite-nos explicar por que motivo os Colonizadores Tardios (aqueles que estiveram mais tempo em condições de inanição) foram ultrapassados pelos Colonizadores Precoces correspondentes, em qualquer um dos tratamentos. Deste modo, o reduzido crescimento dos juvenis (C1 e C5) procedentes do Colonizadores Tardios 10, será uma consequência da falta de crescimento compensatório e/ou uma menor eficiência na conversão alimentar.

O incremento nos tempos de inter-muda verificado para os caranguejos em estádios superiores está em concordância com a premissa estabelecida para crustáceos decápodes: os indivíduos maiores exibem tempos de inter-muda maiores (Hartnoll 1982). Por esta razão, o tempo em juvenil C4 aumentou em todos os tratamentos. Concretamente, os caranguejos C5 do tratamento Colonizadores Precoces 25 apresentaram um valor médio de largura da carapaça ( $5,90 \pm 0,33$  mm) e, consequentemente, uma maior duração dos tempos de inter-muda.

O presente estudo parece sugerir que após um período de inanição e posterior alimentação, a energia derivada do alimento é distribuída de uma forma diferente, em função do passado recente do indivíduo. Os indivíduos provenientes dos tratamentos Colonizadores Tardios permaneceram mais tempo em inanição e deste modo, uma maior proporção da energia derivada da alimentação terá sido desviada para compensar o défice nutricional promovido pelo longo período de inanição (e não para o crescimento somático). Isto justificaria a reduzida largura da carapaça e peso húmido dos C5 nos tratamentos Colonizadores Tardios em relação aos respetivos Colonizadores Precoces (Figura 3). Em crustáceos eurialinos, como *C. maenas*, o crescimento das larvas não parece ser afetado pelo custo energético da osmorregulação (Torres et al 2011). No entanto, no presente estudo, as megalopas não sofreram apenas stress osmótico, também foram expostas a um stress nutricional acrescido. A soma de ambas as limitações exerceu um efeito negativo ampliado no crescimento dos indivíduos após a metamorfose, como pode ser observado no tratamento Colonizadores Tardios de Salinidade 10.

As zonas costeiras das regiões temperadas, tal como a Ria de Aveiro, estão expostas ocasionalmente a alterações extremas das condições meteorológicas (e.g., períodos prolongados de chuva intensa), as quais promovem perturbações dramáticas (Pickett et al. 1989) que chegam a alterar a estrutura da comunidade do plâncton (Nogueira et al. 2000). Embora o fitoplâncton e bacterioplâncton sejam as comunidades mais rapidamente afetadas por estes distúrbios (Guadayol et al. 2009), o zooplâncton, que possui uma maior tolerância ao stress osmótico, também pode vir a ser negativamente afetado através da cadeia trófica ou por falta de alimento disponível. Neste sentido, os cenários testados neste estudo recriam uma exposição variável a condições de falta de alimento (desde 1 até 8 dias) e stress osmótico, imediatamente antes da metamorfose, as quais têm uma forte probabilidade de ocorrer no meio marinho, durante períodos prolongados de chuva extrema. Este estudo demonstra que tais condições têm um impacto negativo no início da vida bentónica de *C. maenas*. A predação desta espécie está inversamente relacionada com a largura da sua carapaça (Almeida et al. 2011, Moksnes et al. 1998) (a predação diminui com o aumento da largura da carapaça). Consequentemente, o stress osmótico sofrido pelas megalopas que demoraram mais do que 5 dias a fazer a metamorfose tem o potencial de gerar juvenis de *C. maenas* mais pequenos e portanto mais vulneráveis à predação e ao canibalismo.

## CONCLUSÃO

A diminuição da salinidade como consequência dos períodos de chuva intensa, parece ter pouco efeito sobre a sobrevivência e a capacidade das megalopas de *C. maenas* fazerem a metamorfose. No entanto, apesar da sua capacidade de hiper-regulação, este estudo demonstrou que a exposição das megalopas a baixas salinidades, antes da metamorfose, dá origem a uma série de efeitos negativos no desempenho dos indivíduos. Neste sentido, a exposição a este tipo de eventos climáticos extremos pode afetar desfavoravelmente o crescimento e o sucesso dos juvenis durante o início da sua vida bentónica. Por este motivo, é importante incluir conexões fenotípicas nos estudos de invertebrados marinhos com ciclos de vida bifásicos, principalmente quando existem determinadas fases do seu ciclo de vida (e.g., metamorfose) que são vulneráveis aos efeitos promovidos por flutuações extremas nas condições ambientais (e.g., períodos prolongados de chuva intensa).

---

**agradecimentos** • Os autores querem agradecer a Bruna Silva e Daniela Ramos pelo seu apoio técnico. Os autores também agradecem à Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) a atribuição de bolsas de Doutoramento a Felisa Rey e Gina M. Silva Neto (SFRH/BD/62594/2009 e SFRH/BD/88423/2012, respetivamente) através dos fundos atribuídos pelo Quadro de Referencia Estratégico Nacional – Programa Operacional Potencial Humano (QREN-POPH, Tipo 4.1) co-financiados pelo Fundo Social Europeu e por fundos nacionais do Ministério de Educação e Ciência (MEC). O presente estudo foi financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) no âmbito do Programa Operacional Factores de Competitividade (COMPETE) e por fundos nacionais pela FCT no âmbito do projeto de investigação NO RESET PTDC/BIA-BIC/116871/2010.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen RM, Marshall DJ (2010) The larval legacy: cascading effects of recruit phenotype on post-recruitment interactions. *Oikos* 119:1977–1983.
- Almeida MJ, Gonzalez-Gordillo JI, Flores AAV, Queiroga H (2011) Cannibalism, post-settlement growth rate and size refuge in a recruitment-limited population of the shore crab *Carcinus maenas*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 410:72–79.
- Anger K (2006) Contributions of larval biology to crustacean research: a review. *Invertebrate Reproduction and Development* 49:175–205.
- Anger K (2003) Salinity as a key parameter in the larval biology of decapod crustaceans. *Invertebrate Reproduction and Development* 43:29–45.
- Anger K, Dawirs RR (1981) Influence of starvation on the larval development of *Hyas araneus* (Decapoda, Majidae). *Helgolander Meeresuntersuchungen* 34:287–311.
- Calado R, Leal MC (2015) Trophic ecology of benthic marine invertebrates with bi-phasic life cycles – what are we still missing? In press: *Advances in Marine Biology*
- Cieluch U (2004) Ontogeny of osmoregulatory structures and functions in the green crab *Carcinus maenas* (Crustacea, Decapoda). *Journal of Experimental Biology* 207:325–336.
- Dawirs RR (1985) Temperature and larval development of *Carcinus maenas* (Decapoda) in the laboratory; predictions of larval dynamics in the sea. *Marine Ecology Progress Series* 24:297–302.
- Domingues CP, Almeida MJ, Dubert J, Nolasco R, Cordeiro N, Waap S, Sequeira A, Tavares S, Queiroga H (2011) Supply of crab larvae to an estuary in the eastern Atlantic upwelling system exhibits predictable and haphazard variation at different temporal scales. *Marine Ecology Progress Series* 425:113–124.
- Edwards M, Richardson AJ (2004) Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature* 430:881–884.
- Gebauer P, Paschke K, Anger K (1999) Costs of delayed metamorphosis: reduced growth and survival in early juveniles of an estuarine grapsid crab, *Chasmagnathus granulata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 238:271–281.
- Giménez L (2006) Phenotypic links in complex life cycles: conclusions from studies with decapod crustaceans. *Integrative and Comparative Biology* 46:615–22.
- Giménez L (2010) Relationships between habitat conditions, larval traits, and juvenile performance in a marine invertebrate. *Ecology* 91:1401–1413.
- Giménez L, Dick S (2007) Settlement of shore crab *Carcinus maenas* on a mesotidal open habitat as a function of transport mechanisms. *Marine Ecology Progress Series* 338:159–168.
- Global Invasive Species Database (2009) In: Narberhaus, Ingo IUCN/SSC Invasive Species <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=114&fr=1&sts=&lang=EN>. (accessed: 1.08.2015)
- Guadayol Ò, Peters F, Marrasé C, Gasol JM, Roldán C, Berdalet E, Massana R, Sabata A (2009) Episodic meteorological and nutrient-load events as drivers of coastal planktonic ecosystem dynamics: a time-series analysis. *Marine Ecology Progress Series* 381:139–155.
- Hartnoll R (1982) Growth. In: Abele L. (ed) *The Biology of Crustacea: 2. Embryology, Morphology and Genetic*. Academic Press, New York, USA, pp 111–196
- Levin LA, Bridges TS (1995) Pattern and diversity in reproduction and development. *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 1–48
- Marshall DJ, Morgan SG (2011) Ecological and evolutionary consequences of linked life-history stages in the sea. *Current Biology* 21:R718–R725.
- Moksnes PO, Pihl L, Van Montfrans J (1998) Predation on postlarvae and juveniles of the shore crab *Carcinus maenas*: importance of shelter, size and cannibalism. *Marine Ecology Progress Series* 166:211–225.
- Morgan SG (1995) Life and death in the plankton: larval mortality and adaptation. In: McEdward LR (ed) *Ecology of Marine Invertebrate Larvae*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 279–321
- Nogueira E, Ibanez F, Figueiras FG (2000) Effect of meteorological and hydrographic disturbances on the microplankton community structure in the Ria de Vigo (NW Spain). *Marine Ecology Progress Series* 203:23–45.
- Pechenik JA (2006) Larval experience and latent effects - metamorphosis is not a new beginning. *Integrative and Comparative Biology* 46:323–333.
- Pickett STA, Kolasa J, Armesto JJ, Collins SL (1989) The ecological concept of disturbance and its expression at various hierarchical levels. *Oikos* 54:129–136.

- Queiroga H, Almeida MJ, Alpuim T, Flores AAV, Francisco S, González-Gordillo I, Miranda AI, Silva I, Paula J (2006) Tide and wind control of megalopal supply to estuarine crab populations on the Portuguese west coast. *Marine Ecology Progress Series* 307:21–36.
- Queiroga H, Costlow JD, Moreira MH (1997) Vertical migration of the crab *Carcinus maenas* first zoea in an estuary: Implications for tidal stream transport. *Marine Ecology Progress Series* 149:121–132.
- Queiroga H, Costlow JD, Moreira MH (1994) Larval abundance patterns of *Carcinus maenas* (Decapoda, Brachyura) in Canal de Mira (Ria de Aveiro, Portugal). *Marine Ecology Progress Series* 111:63–72.
- R Development Core Team (2011) R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Rey F, Neto GMS, Rosa R, Queiroga H, Calado R (2015) Laboratory trials reveal that exposure to extreme raining events prior to metamorphosis affect the post-settlement performance of an estuarine crab. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 154:179–183.
- Roughgarden J, Gaines S, Possingham H (1988) Recruitment dynamics in complex life cycles. *Science* 241:1460–1466.
- Shen CJ (1935) An investigation of the post-larval development of the shore-crab *Carcinus maenas*, with special reference to the external secondary characters. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1–33.
- Smith D de J de B, Diele K, Abrunhosa FA (2013) Carry-over effects of delayed larval metamorphosis on early juvenile performance in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Ucididae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 440:61–68.
- Torres G, Giménez L, Anger K (2011) Growth, tolerance to low salinity, and osmoregulation in decapod crustacean larvae. *Aquatic Biology* 12:249–260.
- Torres G, Giménez L, Anger K (2007) Effects of osmotic stress on crustacean larval growth and protein and lipid levels are related to life-histories: the genus *Armases* as a model. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 148:209–24.
- Walther G-R, Post E, Convey P, Menzel A, Parmesan C, Beebee TJC, Fromentin JM, Hoegh-Guldberg O, Bairlein F (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416:389–395.
- Wickins JF, Lee DO. (2002) Crustacean Farming: Ranching and Culture, Second. Oxford
- Wu LX, Dong SL, Wang F, Tian XL (2000) Compensatory growth response following periods of starvation in Chinese shrimp, *Penaeus chinensis* Osbeck. *Journal of Shellfish Research* 19:717–722.
- Zeng C, Naylor E, Abello P (1997) Endogenous control of timing of metamorphosis in megalopae of the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Biology* 128:299–305.
- Zeng CS, Naylor E (1997) Rhythms of larval release in the shore crab *Carcinus maenas* (Decapoda: Brachyura). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 77:451–461.