



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

LETÍCIA PEREIRA PONTES

**EFEITO LETAL E SUB-LETAL DE FENANTRENO SOB A PERSPECTIVA DO
AQUECIMENTO GLOBAL, UM ESTUDO DE CASO SOBRE A FAUNA
INTERSTICIAL DE AMBIENTE PRAIAL**

Recife
2019

LETÍCIA PEREIRA PONTES

**EFEITO LETAL E SUB-LETAL DE FENANTRENO SOB A PERSPECTIVA DO
AQUECIMENTO GLOBAL, UM ESTUDO DE CASO SOBRE A FAUNA
INTERSTICIAL DE AMBIENTE PRAIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Centro de Biociências, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Área de Concentração: Biologia Animal

Orientador: Prof^o Dr. Giovanni Amadeu Paiva dos Santos

Coorientador: Prof^o Dr Paulo Sérgio Martins de Carvalho

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Pontes, Letícia Pereira

Efeito letal e sub-letal de fenantreno sob a perspectiva do aquecimento global, um estudo de caso sobre a fauna intersticial de ambiente praial / Letícia Pereira Pontes - 2019.

96 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Giovanni Amadeu Paiva dos Santos

Coorientador: Paulo Sérgio Martins de Carvalho

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Hidrocarbonetos 2. Aquecimento Global 3. Meiofauna

I. Santos, Giovanni Amadeu Paiva dos (orient.) II. Carvalho, Paulo Sérgio Martins de (coorient.) III. Título

592.57

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-345

LETÍCIA PEREIRA PONTES

**EFEITO LETAL E SUB-LETAL DE FENANTRENO SOB A PERSPECTIVA DO
AQUECIMENTO GLOBAL, UM ESTUDO DE CASO SOBRE A FAUNA
INTERSTICIAL DE AMBIENTE PRAIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Centro de Biociências, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Aprovada em: 30/07/2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Giovanni Amadeu Paiva dos Santos (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº Dr. André Morgado Esteves (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº Dra. Yirina Valdes Vazquez (Examinadora Externa)
Universidade Federal da Paraíba

Profº Dr. Taciana Kramer de Oliveira Pinto (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Alagoas

“Com todo meu amor, às pessoas que são fundamentais na minha vida: minha mãe Maria do Carmo, que fez de tudo para eu chegar até aqui”

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Gostaria primeiramente agradecer a Deus, pois sem ele, eu não existiria.

Segundo, agradeço o apoio do meus pais: Maria do Carmo Pereira Da Silva e Clarivaldo Bezerra Pontes por me criarem com muito amor a carinho e me apoiarem em todos os meus sonhos, inclusive, no sonho em seguir minha carreira acadêmica.

Terceiro, gostaria de agradecer a meu irmão Leon Pereira Pontes por ser um irmão maravilhoso e apoiar durante toda esta minha jornada acadêmica.

Ao meu orientador Giovanni Amadeu Paiva dos Santos que me “adotou” desde o começo da minha graduação e me ensinou muitas coisas, não só no profissional, mas também como no pessoal. Me levantou eu vários momentos onde eu mais precisava e por último não desistiu de mim em nenhum momento.

As minhas amigas e eternas irmãs, Tayná do Nascimento, Alexsandra Cavalcante e Lais Santos por me “adotarem” desde que entrei no laboratório e me ensinarem muitas coisas do profissional e também do pessoal que levo até hoje no coração.

A mana mais maravilhosa do mundo todo, Marina Lima que me acompanhou desde o começo da graduação e me apoia até hoje em todas as minhas decisões.

Ao meu amigo Júlio Gama, por me alegrar todos os dias na Universidade e me acompanhar em todos os momentos bons e ruins dentro do mundo pessoal e acadêmico.

As alunas de graduação Raianne e Débora do LACIMME por me ajudarem em todos os experimentos durante o meu mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por todo financiamento durante o mestrado, pois sem ele, este mestrado não aconteceria.

A mim, por não desistir dos meus sonhos...

“Educar é impregnar de sentido o que fazemos a cada instante”.
(FREIRE, 1996)

RESUMO

O fenantreno é um dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) mais abundantes no ambiente marinho. Apresentando alta persistência ambiental, o mesmo pode provocar impactos severos a diversos organismos, incluindo organismos bentônicos como os da meiofauna e dentre eles, os nematoides. Embora o fenantreno já demonstre efeitos bastante negativos para diversos organismos marinhos, esses efeitos podem ser agravados quando somados com outros impactos como o aumento da temperatura global. Logo, o objetivo do presente trabalho investiga os efeitos do fenantreno isoladamente e em combinação com aumentos de temperatura em estudos laboratoriais focados numa comunidade meiobentônica marinha em experimentos de microcosmo, e no ciclo de vida de uma população do nematoide marinho da espécie *Diplolaimellobates delyi* em cultivo monoespecífico em laboratório. No total, 6 experimentos foram realizados, 3 em microcosmos, que consistiam em beakers de 1L com 300g de sedimento e água marinha com salinidade a 25 e aerada, dentre esses 3 experimentos, o 1º avalia o efeito de diferentes concentrações de fenantreno na meiofauna, 2º avalia o efeito de diferentes temperaturas na meiofauna e o 3º avalia o efeito de diferentes concentrações de fenantreno expostas a uma temperatura mais elevada na meiofauna. Os outros 3 experimentos, foram realizados em cultivos monoespecíficos, os mesmos foram realizados em placas de Petri com 5 cm de diâmetro e 5ml de ágar bacteriológico. O 1º experimento avaliou diferentes concentrações de fenantreno na população de nematoides *Diplolaimellobates delyi*, os 2º efeitos de diferentes temperaturas na população de *Diplolaimellobates delyi* e o 3º avalia o efeito de diferentes concentrações de fenantreno a uma temperatura mais elevada (30°C). As concentrações de fenantreno utilizadas em todos os experimentos de microcosmos sejam eles, em sedimento ou em cultivo no ágar foram de 0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 ppm. As temperaturas utilizadas em todos os experimentos de temperaturas foram 25°C, 28°C 30°C, 32°C e 35°C e os experimentos para avaliação de efeitos somados foram realizados em 35°C (experimento da meiofauna) e 30°C (cultivo monoespecífico). Em relação aos experimentos para análise da meiofauna, as diferentes concentrações de fenantreno ocasionaram mudanças na densidade e estrutura da fauna, além de redução da riqueza e equitabilidade de acordo com o aumento das concentrações. Quando a fauna foi submetida ao fenantreno com uma temperatura mais elevada, foi possível observar redução das densidades totais sem seu reestabelecimento, diferenças na riqueza e equitabilidade além da extinção de alguns taxa mesmo em concentrações consideradas baixas (quando comparadas ao estudo apenas com

fenantreno). O fenantreno também se mostrou tóxico para os nematoides da espécie *Diplolaimelloides delyi* modificando seu crescimento populacional a partir da concentração de 1,0 ppm, seus tempos de desenvolvimento e fecundidade foram afetados a partir da concentração de 2,5 ppm. Esses efeitos se mostraram potencializados com o aumento da temperatura, causando mortalidade em 100% da população, fato que não ocorre nessas mesmas concentrações em interação com a menor temperatura testada. Com isso pode-se concluir que o aumento da temperatura pode potencializar o efeito do fenantreno tanto nas comunidades da meiofauna quanto nas populações dos nematoides da espécie *Diplolaimelloides delyi*.

Palavras-Chaves: Hidrocarbonetos. Aquecimento Global. Meiofauna. Nematoda.

ABSTRACT

Phenanthrene is one of the most abundant polycyclic aromatic hydrocarbons (HPA's) in the marine environment. With high environmental persistence, it can cause severe impacts to several organisms, including benthic organisms such as meiofauna and nematodes. Although Phenanthrene already has quite negative effects on several marine organisms, these effects may be aggravated when added to other impacts such as increasing global temperature. Therefore, the objective of the present work investigates the effects of Phenanthrene alone and in combination with temperature increases in laboratory studies focused on a marine meiobenthic community in microcosm experiments, and on the life cycle of a marine nematode population of the species *Diplolaimelloides delyi* in monospecific cultivation in the laboratory. In total, 6 experiments were performed, 3 in microcosms, which consisted of 1L beakers with 300g of sediment and marine water at 25 aerated, among these 3 experiments, the 1st evaluates the effect of different concentrations of Phenanthrene in meiofauna, the 2nd evaluates the effect of different temperatures in meiofauna and the 3rd evaluates the effect of different concentrations of Phenanthrene exposed to a higher temperature in meiofauna. The other 3 were carried out in monospecific cultures, the same ones were made in Petri plates with 5 cm diameter with 5 ml of bacteriological agar. The first experiment evaluated different concentrations of Phenanthrene in the nematode population *Diplolaimelloides delyi*, the 2nd effects of different temperatures in the population of *Diplolaimelloides delyi* and the 3rd evaluates the effect of different concentrations of Phenanthrene at a higher temperature (30°C). The concentrations of Phenanthrene used in all microcosm experiments, whether in sediment or agar culture, were 0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 and 20.0 ppm. The temperatures used during the temperature experiments were 25 ° C, 28 ° C 30 ° C, 32 ° C and 35 ° C and the experiments for the evaluation of effects were carried out at 35 ° C (meiofauna experiment) and 30 ° C (monospecific cultivation). In relation to the meiofauna analysis, the different concentrations of Phenanthrene caused changes in the density and structure of the fauna, as well as the reduction of richness and equitability according to the increase in concentrations. When the fauna was submitted to Phenanthrene with a higher temperature, it was possible to observe a reduction of the total densities without their reestablishment, differences in wealth and equitability, besides the extinction of some taxa even in concentrations considered low (when compared to Phenanthrene only). Phenanthrene was also toxic for nematodes of the *Diplolaimelloides delyi* species, modifying their population growth from the concentration of 1.0 ppm, their development times and fecundity were affected from the concentration of 2.5 ppm. These effects were potentiated with increasing temperature,

causing mortality in 100% of the population, a fact that does not occur in these same concentrations in interaction with the lowest temperature tested. It can be concluded that the increase in temperature may potentiate the effect of Phenanthrene in both the meiofauna and nematode populations of the species *Diplolaimelloides delyi*.

Keywords: Hidrocarbons. Global warming. Meiofauna. Nematode.

LISTA DE FIGURAS

Introdução

- Figura 1 – Estrutura molecular dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos considerados prioridade em pesquisa pela agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA). Fonte: USEPA..... 19

Artigo 1

- Figura 1 – Média da densidade total (10cm-2) com erro padrão da meiofauna ao longo do tempo. Camb representa o controle ambiental, T0 controle após a estabilização, T15 após 15 dias de experimento e T30 após 30 dias de experimento. Cada cor representa uma concentração utilizada..... 31
- Figura 2 – Escalonamento Multidimensional não Métrico (nMDS) da fauna nas concentrações de fenantreno estudadas (C, CA, 0,1,1,0,2,5,5,0,10,0,20,0ppm) demonstrando a correlação dos taxa da meiofauna encontrados. Tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson, os taxa mostrados possuem correlação maior que 20%..... 32
- Figura 3 – Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna em cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 ppm) no tempo 15 (T15). Cada cor representa um táxon encontrado no experimento..... 33
- Figura 4 – Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna em cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0ppm) no tempo 30 (T30). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento..... 34
- Figura 5 – Média da densidade total (10cm-2) com erro padrão da meiofauna ao longo do tempo. Camb representa o controle ambiental, T0 controle após a estabilização, T15 após 15 dias de experimento e T30 após 30 dias de experimento. Cada cor representa uma temperatura utilizada e o Meio, representa a cor de tempos que não houveram diferentes temperaturas..... 36

Figura 6 –	Escalonamento Multidimensional não Métrico (nMDS) da fauna nas temperaturas estudadas (25°C, 28°C, 30°C, 32°C e 35°C) demonstrando a correlação dos taxa da meiofauna encontrados. Tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson, os taxa mostrados possuem correlação maior que 30%.....	37
Figura 7 –	Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna cada tratamento (Camb, T0, 25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C) no tempo 15 (T15). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.....	38
Figura 8 –	Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna cada tratamento (Camb, T0, 25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C) no tempo 30 (T30). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.....	38
Figura 9 –	Média da densidade total (10cm-2) com erro padrão da meiofauna ao longo do tempo exposto a uma temperatura de 35°C. Camb representa o controle ambiental, T0 controle após a estabilização, T15 após 15 dias de experimento e T30 após 30 dias de experimento. Cada cor representa uma concentração utilizada e o Meio, representa a cor de tempos que não houveram diferentes tratamentos.....	40
Figura 10 –	Proporção sexual de <i>D. delyi</i> , nas diferentes concentrações de fenantreno. O (***) refere-se a falta de machos e fêmeas para a presente análise.....	41
Figura 11 –	Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 e 20.0 PPM) no tempo 15 (T15) exposto a uma temperatura de 35°C. Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.....	43
Figura 12 –	Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna em cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 e 20.0 PPM) exposto a uma temperatura de 35°C no tempo 30 (T30). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.....	43

Artigo 2

Figura 1 –	Curvas ajustadas da tendência de variação das médias das abundâncias em 25 oC de indivíduos adultos (A), juvenis (B) e ovos (C) de <i>Diplolaimelloides delyi</i> ao longo do experimento no controle, controle de solvente, e nas diferentes concentrações de fenantreno testadas (0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$).....	64
Figura 2 –	Curvas ajustadas da tendência de variação das médias das abundâncias em indivíduos adultos (A), juvenis (B) e ovos (C) de <i>Diplolaimelloides delyi</i> ao longo do tempo (Dias) nas diferentes temperaturas estudadas (25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C).....	69
Figura 3 –	Curvas ajustadas da tendência de variação das médias das abundâncias em 30oC de indivíduos adultos (A), juvenis (B) e ovos (C) de <i>Diplolaimelloides delyi</i> ao longo do experimento no controle, controle de solvente, e nas diferentes concentrações de fenantreno testadas (0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$).....	74

LISTA DE TABELAS

Artigo 2

Tabela 1 –	Modo de como obter os valores dos Parâmetros populacionais de <i>Diplolaimeloides delyi</i> : Fecundidade Total, Fecundidade diária, Tempo de desenvolvimento total, Tempo de desenvolvimento pós-embrionário, Tempo de desenvolvimento pré-embrionário e Proporção sexual. Fonte: (Moens and Vincx, 2000)	62
Tabela 2 –	Médias e Erro Padrão do Tempo de desenvolvimento total (TDT), Tempo de desenvolvimento pré-embrionário (TDPRE) e Tempo de desenvolvimento pós-embrionário (TDPE) de <i>Diplolaimeloides delyi</i> , nas diferentes concentrações de fenantreno a 25°C. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente do controle ($p < 0,05$)	66
Tabela 3 –	Médias e Erro Padrões da Fecundidade total e Fecundidade diária de <i>D. delyi</i> , nas diferentes concentrações de fenantreno a 25 oC. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0, 05$). O (***) refere-se a falta de ovos para a presente análise	67
Tabela 4 –	Médias e erros padrão da proporção sexual de <i>D. delyi</i> , nas diferentes concentrações de fenantreno. O (***) refere-se a falta de machos e fêmeas para a presente análise	68
Tabela 5 –	Médias e Erro Padrão do Tempo de desenvolvimento total (TDT), Tempo de desenvolvimento pré-embrionário (TDPRE) e Tempo de desenvolvimento pós-embrionário (TDPE) de <i>Diplolaimeloides delyi</i> , nas diferentes temperaturas. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0,05$)	71
Tabela 6 –	Médias e Erro Padrões da Fecundidade total e Fecundidade diária de <i>D. delyi</i> , nas diferentes temperaturas (25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística ($p < 0,05$)	71

Tabela 7 –	Médias da proporção sexual e erro padrão de <i>D. delyi</i> , nas diferentes temperaturas. O (***) refere-se a falta do surgimento de machos e fêmeas para a presente análise.....	72
Tabela 8 –	Médias e Erro Padrão do Tempo de desenvolvimento total (TDT), Tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDPRE) e Tempo de desenvolvimento pós-embriônico (TDPE) de <i>Diplolaimeloides delyi</i> , nas diferentes concentrações de fenantreno, exposto a 30°C.O (*)refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0,05$).....	76
Tabela 9 –	Médias e Erro Padrões da Fecundidade total e Fecundidade diária de <i>D. delyi</i> , nas diferentes concentrações de fenantreno exposto a 30°C. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0,05$). O (***) refere-se a falta de ovos para a presente análise.....	77
Tabela 10 –	Proporção sexual de <i>D. delyi</i> , nas diferentes concentrações de fenantreno. O (***) refere-se a falta de machos e fêmeas para a presente análise.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grau Celsius
CEN	Concentração de efeito não observado
FD	Fecundidade diária
FT	Fecundidade total
HPA's	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
MOT	Teor de matéria orgânica
TDPE	Tempo de desenvolvimento pós-embrionário
TDPRE	Tempo de desenvolvimento pré-embrionário
TDT	Tempo de desenvolvimento total
PPM	Partes por milhão

SUMÁRIO

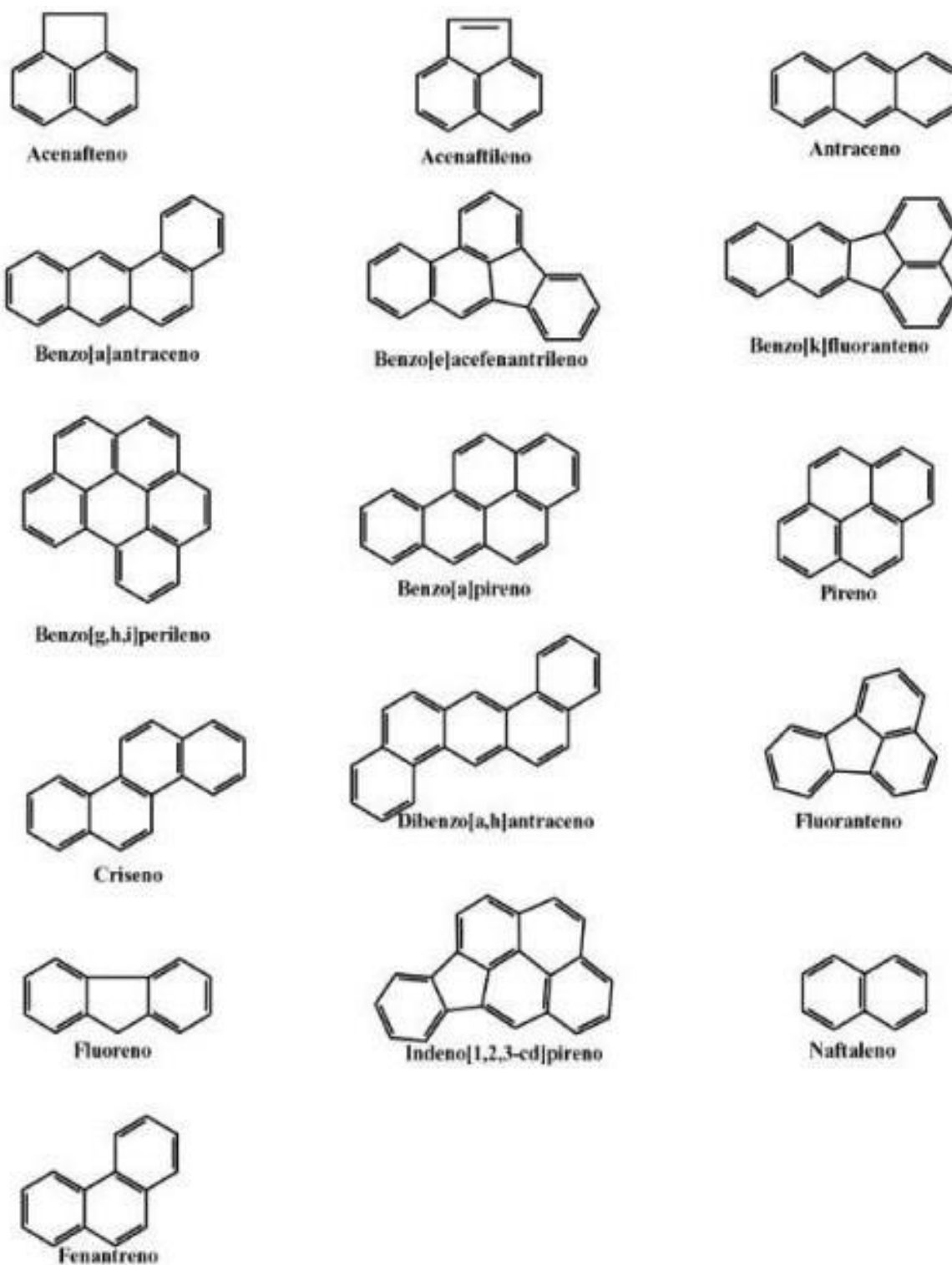
1.	INTRODUÇÃO	18
1.1	OBJETIVOS	23
1.1.1	Objetivo Geral	23
1.1.2	Objetivos Específicos	23
2	RESULTADOS	24
2.1	ARTIGO 1 – EFEITO LETAL E SUB-LETAL DE FENANTRENO SOB A PERSPECTIVA DO AQUECIMENTO GLOBAL, UM ESTUDO DE CASO SOBRE A FAUNA INTERSTICIAL DE AMBIENTE PRAIAL	24
2.2	ARTIGO 2 – EFEITOS DO FENANTRENO NA POPULAÇÃO DO NEMATOIDE DE VIDA-LIVRE DIPLOLAIMELLOIDES DELYI (ANDRASSY,1958) E SUA POSSÍVEL POTENCIALIZAÇÃO COM O AUMENTO DA TEMPERATURA	55
3	CONCLUSÃO FINAL.....	87
	REFERÊNCIAS	89

1 INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) são compostos que possuem tipicamente de dois a seis anéis aromáticos fundidos na sua estrutura molecular, e cujo peso molecular varia de 128 a 278 g mol⁻¹. Solubilidade e pressão de vapor são propriedades físicas e químicas importantes destas moléculas que regulam a sua distribuição entre os compartimentos ambientais atmosférico e aquático. A pressão de vapor é máxima no HPA'S naftaleno, que é significativamente volátil, sendo transferido da água para a atmosfera com relativa facilidade nas primeiras fases de um derramamento de petróleo. HPA's de três ou mais anéis aromáticos apresentam pressão de vapor significativamente menor que o naftaleno. A solubilidade em água dos HPA's é inversamente proporcional ao número de anéis aromáticos presentes na molécula, sendo igual a 31 mgL⁻¹ no HPA's mais solúvel representado pelo naftaleno com dois anéis aromáticos, 1,1 mgL⁻¹ no HPA's de três anéis fenantreno, e 0,0038 mgL⁻¹ no HPA's de 6 anéis Benzo (a)-pireno. Por outro lado, a solubilidade em lipídeos caracterizada pelo coeficiente de partição octanol-água (Kow ou LogKow) aumenta proporcionalmente ao número de anéis aromáticos presentes na molécula, sendo que o LogKow é igual a 3,38 para o naftaleno e atinge valores superiores a 6 nos HPA's de 6 anéis aromáticos (DOUBEN, 2003).

De todos os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos existentes, 16 são considerados importantes no monitoramento ambiental de acordo com a Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados unidos (CRISTALE e colab., 2008), pelo seu significativo potencial tóxico (Figura 1). Com relação a este potencial de toxicidade elevado, tem sido destacado o potencial de alguns HPA's atuarem como precursores mutagênicos e tumorais como já visto em peixes (NADLER, 2017) e mamíferos (SIDDENS e colab., 2015). Além da toxicidade relacionada ao potencial mutagênico e carcinogênico, HPA's podem provocar impactos sobre os seres vivos através de mudanças fisiológicas e metabólicas, e ocasionando problemas em seu desenvolvimento e sobrevivência (LOUATI e colab., 2014). Diversos estudos têm demonstrado os efeitos deletérios dos HPA's em organismos marinhos, incluindo problemas fisiológicos, metabólicos e sensoriais em moluscos (NAHRGANG e colab., 2013), crustáceos (REN e colab., 2015), anfípodas (ENGRAFF e colab., 2011) e peixes (ALVES e colab., 2017).

Figura 1- Estrutura molecular dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos considerados prioridade em pesquisa pela agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA). Fonte: USEPA



O fenantreno apresenta em sua estrutura molecular três anéis aromáticos (Figura 1), peso molecular igual a 178 g mol^{-1} , e logKow igual a 4,53 (JENSEN e colab., 2012). Este composto é considerado tóxico, é hidrofóbico, além de ter uma alta persistência ambiental (STRINGER e colab., 2012). Esta molécula é encontrada principalmente em óleo bruto e derivados, sendo também um dos principais HPA's encontrados em ambientes aquáticos (CERNIGLIA, 1993; LOTUFO, 1997). O fenantreno tende a ser liberado no ambiente principalmente através de derrames de petróleo e descargas industriais, chegando até os oceanos, onde tende a ligar-se a partículas em suspensão (seja sedimento ou orgânica) e decantar para o ambiente bentônico, onde tende acumular-se no sedimento (SOCLO e colab., 2000), potencialmente prejudicando a fauna ali encontrada (LOUATI e colab., 2014). Essa molécula é altamente tóxica para vários organismos marinhos entre eles se inclui gastrópodes, crustáceos e peixes (CORREIA e colab., 2007); dentre seus efeitos, podem ser exemplificados a redução do crescimento populacional em copépodos (STRINGER e colab., 2012), problemas histológicos como visto em bivalves (DOS REIS e colab., 2015), diminuição da qualidade visual e da captura de presas em peixes (CARVALHO e colab., 2008), assim como, malformação e mortalidade durante o desenvolvimento também em peixes (ALVES e colab., 2017).

As espécies componentes da meiofauna, por apresentarem uma vasta heterogeneidade e serem onipresentes nos ambientes bentônicos marinhos, se tornaram importantes bioindicadoras de impactos antropogênicos. Algumas características destas espécies que são convenientes neste sentido incluem o seu típico ciclo de vida curto, possibilitando o acompanhamento dos efeitos de fatores diversos ao longo de várias gerações num curto intervalo de tempo. Além disso, apresentam pouca capacidade de fuga (motilidade), tornando-os susceptíveis a alterações de fatores abióticos como a temperatura bem como a contaminação química dos sedimentos, tornando a utilização desses organismos adequada para uma análise rápida e de qualidade em estudos ecotoxicológicos com sedimentos (GIERE, 2009; SCHRATZBERGER e INGELS, 2018). Dentre os taxa da meiofauna, a nematofauna é o grupo mais abundante que oferece ótimas possibilidades de interpretação das condições ecológicas do ambiente (MOENS, e colab., 2013).

Os nematoides são considerados cosmopolitas e são encontrados com alta riqueza e abundância em todos ambientes marinhos (HEIP e colab., 1985; MOENS e colab., 2013). Os nematoides também são envolvidos em muitos processos ecossistêmicos como decomposição de matéria orgânica, estímulo de crescimento microbiano (COULL, 1999), e outros processos como fluxo de energia em teias alimentares bentônicas (SCHRATZBERGER e INGELS, 2018). Com a riqueza de espécies encontrada na nematofauna, tem-se desde espécies sensíveis

à tolerantes para uma vasta gama de estressores ambientais, como, contaminação por poluentes e aumento da temperatura (BONGERS e FERRIS, 1999; MOENS e colab., 2013), aumentando assim a sua importância nos estudos de bioindicadores ambientais.

Espécies da nematofauna já foram utilizadas como modelos em estudos de ecotoxicologia para avaliação do efeito de metais. Nestes estudos, foram vistos mudanças obtendo-se redução do crescimento populacional e mudanças em seu comportamento, respectivamente (LIRA e colab., 2011; MONTEIRO e colab., 2014). Com HPA's foi-se visto também a bioacumulação desses compostos em seus tecidos, levando a problemas em seu desenvolvimento e sobrevivência.

O gênero *Diplolaimeloides* é bastante utilizado como biomodelo para estudos de impactos, estes, são constituídos de oportunistas que habitam macrófitas em ambientes litorâneos com temperaturas semelhantes às tropicais, como outros da família Monhysteridae, também podem ser encontrados em sedimento infralitoral. *Diplolaimeloides* alimenta-se basicamente de bactérias, todavia, pequenos protistas também podem fazer parte da sua alimentação (MOENS e VINCX, 1997). Dentre os estudos realizados com o presente gênero há experimentações relacionadas a vários tipos de estresse como variação da temperatura ocasionando alterações no crescimento populacional (VAFEIADOU e CHINTIROGLOU e colab., 2018), salinidade afetando tempos de desenvolvimento (MOENS e VINCX, 2000a), alimentação afetando crescimento populacional das espécies (SANTOS e colab., 2008) e ecotoxicologicamente falando, com metais, desde mudanças no crescimento populacional à letalidade (BOGAERT e colab., 2000; NASIRA e colab., 2010).

O aquecimento global é um dos problemas ambientais mais notórios atualmente, sendo este causado pela intensificação do efeito estufa, devido às atividades antropogênicas. As atividades humanas como a queima de combustíveis fósseis, desmatamento, e atividades industriais são os grandes responsáveis pela emissão de gases do efeito estufa e estes, em exacerbada quantidade, ocasionam a formação de uma camada de gases, que impede os raios solares de se dissiparem para o espaço em forma de calor (HOUGHTON, 2009).

Em relação aos oceanos, a temperatura da superfície do mar (SST) aumentou cerca de 0,8°C nos últimos 100 anos e modelos de mudança climática indicam que esta temperatura aumentará de 1°C a 4°C na superfície, e de 0,6°C a 2°C nos primeiros 100 metros de profundidade até o final do século 21 (COLLINS e colab., 2013; IPCC, 2014).

Consequências ambientais como redução da abundância e distribuição das espécies causadas pelo aumento da temperatura já foram vistas em ecossistemas terrestres e marinhos nas últimas décadas (COLLINGHAM e colab., 2004; HARLEY e colab., 2006). Em ecossistemas marinhos, a vida marinha é bastante afetada por essas mudanças desde as regiões polares até os trópicos, modificando a dinâmica das populações e consequentemente todo o ecossistema ali

existente (COLLINGHAM e colab., 2004; HARLEY e colab., 2006; IPCC, 2014).

O aumento da temperatura na superfície do mar tem sido associado a graves consequências para a vida marinha, desde a nível de indivíduo, como a redução da abundância e tamanho de alguns organismos como copépodos (GARZKE e colab., 2015) até níveis de interações ecossistêmicas, como a redução de algas, prejudicando ouriços- do -mar entre outros (GARZKE e colab., 2015; WERNBERG e colab., 2011). Assim que a temperatura afeta o ecossistema marinho, a interação de espécies é modificada, alterando subsequentemente a dinâmica populacional e influenciando negativamente a estrutura da comunidade (WERNBERG e colab., 2011), causando assim, mudanças negativas nos nichos das espécies, levando a disfunção da comunidade marinha (DANOVARO e colab., 2001) e gerando um efeito devastador para o ecossistema com reflexo para a população humana (ROSENZWEIG e colab., 2008).

Em um cenário de aumento da temperatura global os organismos terrestres e aquáticos estariam sendo expostos a alteração deste fator abiótico fundamental em combinação com a exposição a contaminantes químicos, e, a avaliação de efeitos combinados destes dois fatores só atraiu atenção do mundo científico nas últimas décadas (NOYES e colab., 2009; SCHIEDEK e colab., 2007). Hoje em dia existem evidências de que aumentos da temperatura podem levar a um aumento da toxicidade de contaminantes pela aceleração da biotransformação desses contaminantes para metabólitos mais bioativos e mais potentes (NOYES e colab., 2009; SCHIEDEK e colab., 2007).

Embora os HPA's ligados ao aumento da temperatura possam causar efeitos adversos aos organismos, o número desse tipo de investigação é bastante escasso havendo a necessidade de estudos com esta combinação a nível populacional e de comunidade (NADAL e colab., 2015) já que ambos ocorrem simultaneamente no ambiente. Atualmente não há nenhum estudo em relação aos efeitos combinados de HPA's e o aumento da temperatura em comunidades meiobentônicas incluindo a nematofauna mesmo sendo eles organismos importantes para toda a cadeia ecossistêmica marinha. Com isso ressaltamos a importância de estudos de efeitos combinados em relação a contaminação e aumento da temperatura com o intuito de prever futuros impactos para mitigá-los posteriormente.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Analisar os efeitos do fenantreno isoladamente e em combinação com aumento de temperatura focados numa comunidade meiobentônica marinha em experimentos de microcosmo, e no ciclo de vida de uma população do nematoide marinho da espécie *Diplolaimelloides delyi* em cultivo monoespecífico em laboratório.

1.1.2 Objetivos específicos

Artigo 1

Analisar as mudanças na comunidade meiobentônica (alterações nas densidades, riqueza abundância e equitabilidade) sobre diferentes concentrações de fenantreno, assim como seu possível agravamento com o aumento da temperatura

Artigo 2

Analisar mudanças nos parâmetros populacionais de uma espécie de nematoide (*Diplolaimelloides delyi*) sob diferentes concentrações de fenantreno, assim como sua possível potencialização e incremento da letalidade com o aumento da temperatura.

2. RESULTADOS

2.1. ARTIGO 1

EFEITO LETAL E SUB-LETAL DE FENANTRENO SOB A PERSPECTIVA DO AQUECIMENTO GLOBAL, UM ESTUDO DE CASO SOBRE A FAUNA INTERSTICIAL DE AMBIENTE PRAIAL.

RESUMO

O fenantreno é um dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) mais abundantes no ambiente marinho. Apresentando alta persistência ambiental, o mesmo, pode provocar impactos severos a diversos organismos marinhos incluindo organismos bentônicos como a meiofauna. Embora o fenantreno já demonstre efeitos bastante negativos para diversos organismos marinhos, esses efeitos podem ser agravados quando somados com outros impactos como o aumento da temperatura global. Logo, o presente estudo tem o objetivo de avaliar mudanças na comunidade meiobentônica (alterações nas densidades, riqueza abundância e equitabilidade) sobre diferentes concentrações de fenantreno, assim como seu possível agravamento com o aumento da temperatura (previsões do IPCC sobre o clima). Os meiobentos foram expostos a diferentes concentrações de fenantreno, temperatura e diferentes concentrações de fenantreno com temperatura mais elevada, através de microcosmos consistindo 300g de sedimento. As diferentes concentrações de fenantreno ocasionaram mudanças na densidade e estrutura da fauna, além de redução da riqueza e equitabilidade de acordo com o aumento das concentrações. Quando a fauna foi submetida ao fenantreno com uma temperatura mais elevada, foi possível observar redução das densidades totais sem seu reestabelecimento, diferenças na riqueza e equitabilidade além do desaparecimento de algumas taxa mesmo em concentrações consideradas baixas, quando comparadas ao estudo apenas com fenantreno. Com isso pode-se concluir que o aumento da temperatura pode potencializar o efeito do fenantreno nas comunidades da meiofauna.

Palavras-Chaves: Ecotoxicologia, Meiofauna, Aquecimento global, Hidrocarbonetos.

ABSTRACT

Phenanthrene is one of the most abundant polycyclic aromatic hydrocarbons (HPA's) in the marine environment. Featuring high environmental persistence, it can severely impact various marine organisms including benthic organisms such as meiofauna. Although Phenanthrene

already has very negative effects on many marine organisms, these effects can be aggravated when added to other impacts such as global warming. Thus, the present study aims to evaluate changes in the midbenthic community (changes in density, richness abundance and evenness) over different Phenanthrene concentrations, as well as its possible worsening with temperature increase (IPCC climate predictions). The mediums were exposed to different concentrations of Phenanthrene, temperature and different concentrations of higher temperature Phenanthrene through microcosms consisting of 300g of sediment. The different concentrations of Phenanthrene caused changes in the density and structure of the fauna, as well as richness and evenness reduction as the concentrations increased. When the fauna was subjected to Phenanthrene at a higher temperature, it was possible to observe a reduction in total densities without reestablishment, differences in richness and evenness and the disappearance of some taxa even at low concentrations, when compared to the study with Phenanthrene alone. Thus, it can be concluded that the increase in temperature may potentiate the effect of Phenanthrene on meiofauna communities.

Keywords: Ecotoxicology, Meiofauna, Global Warming, Hydrocarbons.

1 INTRODUÇÃO

Muitos processos antropogênicos afetam o ecossistema marinho, um deles, é o derramamento de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's). Os HPA's são poluentes derivados de petróleo, encontrados em todos os ambientes marinhos, devido a descargas industriais, derrames acidentais, atividades de transporte marítimo, exploração de gás e óleos entre outros (CERNIGLIA, 1993; YE e colab., 2007). Há décadas, vem surgindo um grande interesse em estudar a origem, distribuição, destino ambiental e os impactos causados pelos HPA's (ARIAS e colab., 2010; KUCKLICK e colab., 1997; LIPIATOU e SALIOT, 1991; LOUATI, Afifa e colab., 2001; MAGI e colab., 2002; PERUGINI e colab., 2007; YUNKER e colab., 2002) devido a sua ocorrência generalizada, propriedades cancerígenas e sua persistência nos ambientes aquáticos (LOUATI, Afifa e colab., 2001). Esses compostos provocam impactos sobre os seres vivos através de mudanças fisiológicas e metabólicas, causando problemas em seu desenvolvimento e sobrevivência, como já visto em moluscos (NAHRGANG e colab., 2013), crustáceos (REN, Xianyun e colab., 2015), e mamíferos (SIDDENS e colab., 2015), incluindo humanos (GENKINGER e colab., 2015).

Embora os HPA's já tenham comprovado efeitos negativos em vários organismos, no Brasil os impactos dos HPA's ainda são bastante ignorados. O fenantreno é um dos HPA's mais abundantes no ambiente marinho (CERNIGLIA, 1993), sendo também, considerado um composto com toxicidade intermediária e alta persistência ambiental (STRINGER e colab., 2012), com comprovado impactos severos em organismos, incluindo gastrópodes, mexilhões, crustáceos e peixes (CORREIA e colab., 2007). Esses efeitos podem ser acentuados quando somados com outros impactos como o aumento da temperatura (SCHIEDEK e colab., 2007).

O aumento da temperatura global há décadas vem afetando e criando várias consequências aos ecossistemas marinhos em grande escala (IPCC, 2014). A temperatura da superfície do mar (SST) aumentou cerca de 0,8°C nos últimos 100 anos e modelos de mudança climática indicam que esta temperatura aumentará de 1°C a 4°C até o final do século 21 (COLLINS e colab., 2013; IPCC, 2014). Isso influencia negativamente os nichos das espécies levando a mudanças nas comunidades marinhas (DANOVARO e colab., 2001) gerando um efeito devastador para o ecossistema com reflexo para população humana (ROSENZWEIG e colab., 2008). Embora já se tenha a conscientização sobre consequências do aquecimento global (ROSENZWEIG e colab., 2008) e sobre os efeitos dos HPA's (LOUATI e colab., 2014; REN, Xianyun e colab., 2015) nos ecossistemas marinhos individualmente, apenas temos uma compreensão rústica de como múltiplos estressores interagem e afetam o equilíbrio ecológico (SCHIEDEK e colab., 2007).

Para o estudo de tais estresses, a meiofauna apresenta uma grande vantagem sobre os demais organismos bentônicos, pois ela é composta por um conjunto de metazoários que apresentam um ciclo de vida curto, possibilitando o acompanhamento do efeito em várias gerações, também apresentam um relacionamento íntimo com o substrato e pouca capacidade de fuga (motilidade) tornando-os susceptíveis a impactos ambientais, por isso, são utilizados como bioindicadores de impactos antropogênicos em ambientes marinhos (GIERE, 2009; SCHRATZBERGER e INGELS, 2018).

Estudos anteriores utilizando o fenantreno (LOUATI e colab., 2014) e temperatura (Vafeiadou et al., 2018) como um fator prejudicial a organismos da meiofauna já foram executados separadamente. Todavia, desestruturação das comunidades meiobentônica causados por diferentes concentrações de fenantreno e sua possível potencialização através do estresse térmico ainda não foram analisados. Com isso, o objetivo do presente trabalho é analisar as mudanças na comunidade meiobentônica (alterações na abundância, riqueza e equitabilidade) sobre diferentes concentrações de fenantreno, assim como seu possível

agravamento com o aumento da temperatura. Subsequentemente espera-se que H_1 - o meiobentos apresente uma redução na riqueza, abundância e equitabilidade ocasionados por diferentes concentrações de fenantreno $H_{1,1}$ - tendo seu efeito (alterações na abundância, riqueza e equitabilidade) potencializado através do aumento da temperatura.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Planejamento experimental e área de coleta

Para obtenção dos resultados foram feitos 3 experimentos de microcosmos, seguindo um design de microcosmo já realizado (VAFEIADOU e colab., 2018). O primeiro experimento, feito com diferentes concentrações de fenantreno (para indicação do efeito do contaminante), o segundo com diferentes temperaturas (para indicação do efeito da temperatura) e o terceiro com diferentes concentrações de fenantreno associados a temperatura de 35°C, (simulando um possível aquecimento daqui em média 100 anos segundo o painel intergovernamental de mudanças climáticas de 2014) (IPCC, 2014) .

As 3 coletas dos 3 experimentos foram realizadas na praia do Cupe que localizado na cidade de Ipojuca –PE (8°27'29.4"S 34°59'03.2"W), onde efetuou-se uma raspagem do sedimento superficial, que equivale aos dois primeiros centímetros do sedimento. Em seguida, o sedimento foi transferido para um compartimento e homogeneizados (para homogeneidade da fauna). Nas mesmas áreas de coleta, também se coletou uma quantidade extra de sedimento para controle ambiental (C.amb) e análise de fatores abióticos (matéria orgânica e granulometria).

2.2 Processamentos e estabilização da matriz sedimentar em laboratório

Após a chegada em laboratório, o sedimento rico em meiofauna foi armazenado e mantido em compartimentos com aeração, regulação da temperatura, salinidade e Ph por uma semana para a estabilização da fauna como já visto em outros trabalhos (LOUATI e colab., 2001; MONTEIRO e colab., 2019). Após a estabilização, retirou-se uma amostra de sedimento com 4 réplicas para análise da fauna encontrada antes das montagens dos experimentos (T0).

2.3 Processos de montagens dos 3 experimentos realizados

2.3.1 Contaminação e montagem do experimento de exposição da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

Uma parte do sedimento foi congelada e descongelada 3 vezes para defaunização e contaminação com uma mistura fenantreno (98% de pureza, Sigma Aldrich), diluídos ao solvente (acetona com 99% de pureza). Subsequentemente, usou-se o sedimento nos microcosmos, que consistiram em beakers de 1L com 300 g de sedimento (200g de sedimento com fauna e 100g de sedimento contaminado). No total, oito tratamentos foram realizados, para o experimento, sendo eles: Controle (sem contaminante), Controle do solvente (CA), 0,1ppm, 1,0ppm, 2,5ppm, 5,0ppm, 10,0ppm e 20,0ppm de fenantreno. Cada concentração foi efetuada em quadruplicata totalizando 32 beakers (microcosmos). Uma cobertura plástica (filme PVC) foi utilizado em cada becker afim de evitar a evaporação e subsequentemente o aumento radical da salinidade, durante todo o experimento. O experimento foi realizado em uma sala climatizada a 25°C, os beakers ficaram em banho Maria com termostatos para a manutenção da temperatura, no total, o experimento teve duração de 30 dias.

2.3.2. Montagem do experimento da exposição da meiofauna a diferentes temperaturas

O experimento com diferentes temperaturas consistiu também em microcosmos feitos com beakers de 1L com 300 g de sedimento. No total, 5 temperaturas foram utilizadas: 25°C, 28°C, 30°C, 32°C e 35°C. As temperaturas variaram desde a mínima (25°C) até a máxima (30°C) encontradas na praia, com duas temperaturas excedendo a máxima (32°C e 35°C), simulando assim, um aquecimento causado pelas mudanças climáticas futuras. Cada tratamento foi realizado em quadruplicata totalizando 20 beakers (microcosmos). Uma cobertura plástica (filme PVC) foi utilizada em cada becker para evitar a evaporação e subsequentemente o aumento exacerbado da salinidade. O experimento foi realizado em uma sala climatizada, os beakers ficaram em banho Maria com termostatos para a manutenção das temperaturas desejadas durante os 30 dias de experimento.

2.3.3 Montagem do experimento da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura aumentada (35°C)

A mesma metodologia utilizada para contaminação (com as mesmas concentrações) e montagem do experimento apenas com fenantreno foi utilizado neste experimento, onde também consistiu em beakers de 1 L com 300 g de sedimento (200g de sedimento com fauna e 100g de sedimento contaminado), seguindo o mesmo modelo dos dois experimentos anteriores (Vafeiadou et al., 2018). No total, 32 beakers foram utilizados para o presente experimento e o mesmo, foi realizado em uma sala climatizada a 35°C, simulando um possível aumento da

temperatura global. Os beakers ficaram em banho Maria com termostatos para a manutenção da temperatura e o experimento apresentou duração de 30 dias no total.

2.4. Coleta e processamento amostral

Para coleta do sedimento durante os experimentos, foi-se utilizado seringas com 3cm de diâmetro e 4 cm de profundidade, estas, foram utilizadas para coleta em cada microcosmo após 15 dias (T15) e 30 dias (T30) a contar do início de cada experimento. Subsequentemente as amostras foram lavadas usando peneiras de 300 μ m e 45 μ m e posteriormente, usada a técnica de elutriação para a separação do sedimento da meiofauna. Em seguida as amostras foram fixadas em formol 4%, triadas com a ajuda de um estereomicroscópio e identificadas a nível de ordem ou superior para posteriores análises de dados. A temperatura, Ph e salinidade foram monitorados diariamente durante todos os experimentos, sendo o Ph em torno de 8 e a salinidade 35.

2.5 Análise dos fatores abióticos

Para a análise de Ph e potencial redox foi utilizado o equipamento portátil, Compact Water Quality. O Teor de matéria orgânica TOM foi determinado com base na diferença entre o peso seco das amostras de sedimento após secagem em estufa a 60°C por 24h e o peso medido após a combustão a 450°C por 4 h, expresso como uma porcentagem do peso seco total (% TOM). Para granulometria foi utilizado o agitador magnético (Rotap), no qual separou os grãos de sedimento de acordo com seu tamanho. As análises dos fatores abióticos foram realizados em todas as réplicas de todos os experimentos aqui realizados.

2.6 Evitando hipoxia/anoxia

Um sistema de aeração foi utilizado para a ciclagem por pressão negativa do sedimento fazendo a total passagem de água pela coluna sedimentar contida nos beakers (Vafeiadou et al., 2018). Esse sistema foi utilizado em todos os experimentos anteriores aqui citados para evitar anoxia dos mesmos.

2.7 Análise de dados

Os dados para análise de comunidade foram analisados pelo programa PRIMER 6.1 + PERMANOVA, foi feito uma análise multivariada bidirecional da variância (PERMANOVA), usando o índice de similaridade de Bray-Curtis com 9999 permutações, para testar os efeitos das concentrações, temperaturas e tempo (de acordo com cada experimento realizado) na composição da comunidade. Comparações de pares (Pair-Wase) foram realizadas quando foram detectados efeitos significativos nas concentrações, temperaturas e tempos. A Análise Permutacional de Dispersões multivariadas (PERMDISP) com 9999 permutações foi realizada para testar a homogeneidade de dispersões multivariadas (variâncias) entre tratamentos com base nas distâncias médias para agrupar centróides para todos os grupos dentro de cada fator (concentração, temperatura e tempo). A análise de percentagem de similaridade (SIMPER) foi utilizada para determinar a contribuição relativa de cada taxa para as similaridades ou dissimilaridades dentro ou entre cada tratamento (de cada experimento). A ordenação de escalonamento multidimensional não-métrica (nMDS) foi usada para visualizar similaridades na fauna com efeito das concentrações e temperaturas. A riqueza (S) e equitatividade de Pielou (J), também foram calculadas utilizando o programa PRIMER 6.1 + PERMANOVA. Todas as análises realizadas foram feitas para os 3 experimentos.

3. RESULTADOS

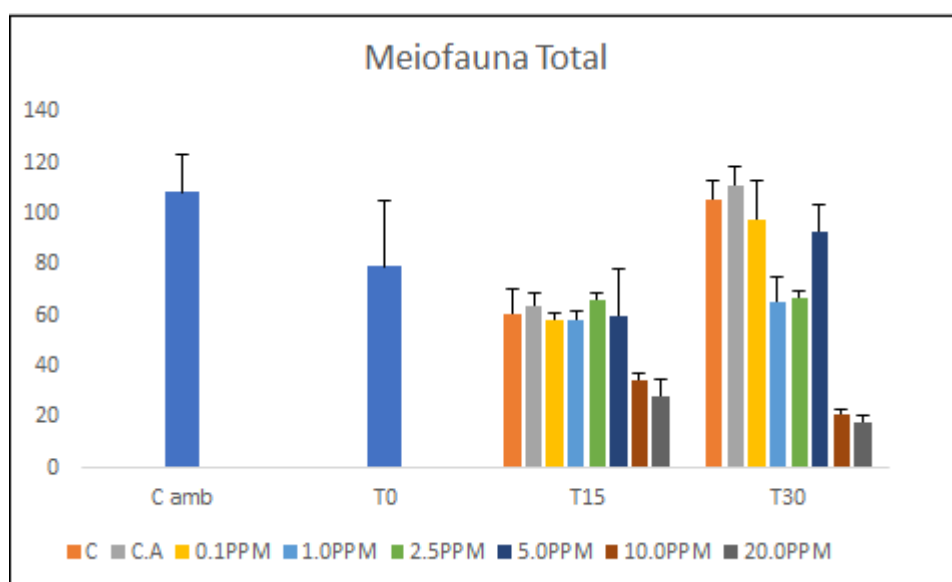
3.1 Efeitos da exposição da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

3.1.1 Respostas na densidade total da meiofauna

A densidade da meiofauna total (figura 1), diferiu significativamente entre os tratamentos (PERMANOVA: Pseudo-F = 4,79; $p = 0,045$), no qual, quando comparados aos pares (Pair wise), as duas maiores concentrações diferiram das demais, tanto no T15 quanto no T30 ($<0,05$). As densidades também variaram em relação aos tempos (PERMANOVA: Pseudo-F = 3,36; $p = 0,024$), no qual, o T15 apresentou uma redução de sua densidade em todas as concentrações diferindo este, dos demais tempos (0,05) (C.amb, T0, T15 e T30). Também foram vistas diferenças no cruzamento dos diferentes tratamentos em relação aos tempos (PERMANOVA: Pseudo-F=10,382; $p<0,05$), um exemplo das alterações do efeito das concentrações em relação ao tempo é visto nas duas maiores concentrações (10,0ppm e 20,0ppm), onde os mesmos, mostraram o decaimento da fauna sem seu reestabelecimento até o final do experimento (T30), enquanto os tratamentos C, CA, 0.1 e 5,0ppm apresentaram uma queda durante o T15 porém suas densidades voltaram a crescer durante o T30. A análise de

permutação multivariada PERMANOVA não apresentou diferença significativa entre C.amb e o T0 com $p = 0,20$.

Figura 1- Média da densidade total (10cm^{-2}) com erro padrão da meiofauna ao longo do tempo. Camb representa o controle ambiental, T0 controle após a estabilização, T15 após 15 dias de experimento e T30 após 30 dias de experimento. Cada cor representa uma concentração utilizada.



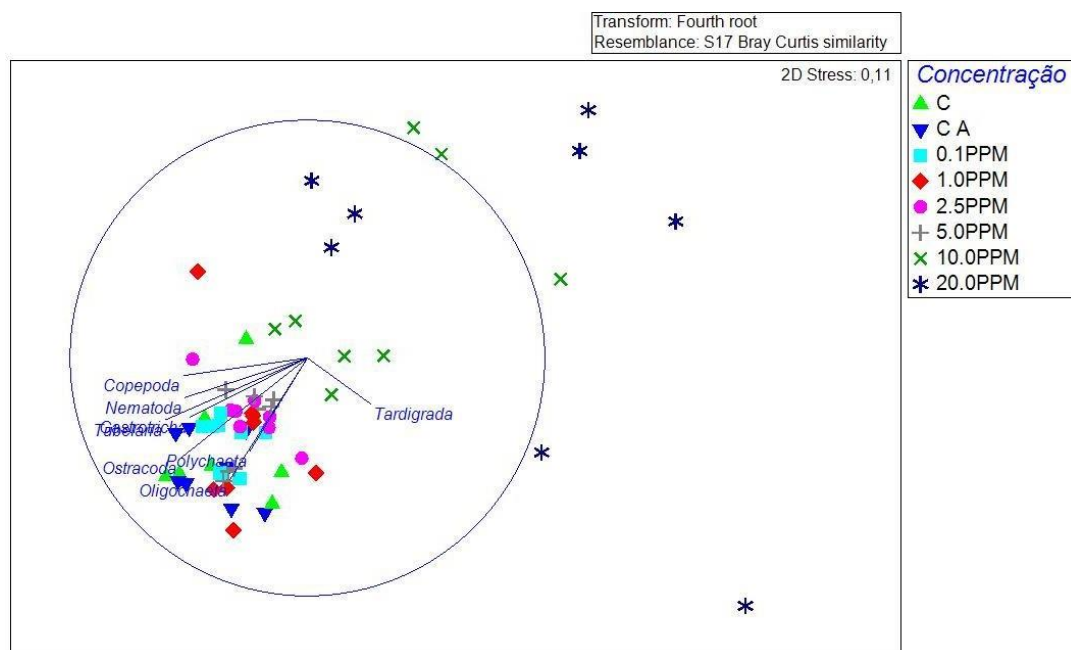
3.1.2 Respostas da estrutura da comunidade da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno.

A estrutura da meiofauna apresentou diferença entre os tratamentos (PERMANOVA: Pseudo-F=1,32; $p = 0,01$), e no cruzamentos dos diferentes tratamentos em relação aos tempos (PERMANOVA: Pseudo-F=2,72; $p = 0,02$),

onde os tratamentos de C, CA, 0,1ppm, 1,0ppm, 2,5ppm, 5,0ppm formam um grupo, não apresentando diferença significativa entre si, da mesma forma que as duas maiores concentrações (10,0ppm e 20,0ppm) também não apresentaram diferenças entre si ($p > 0,05$), todavia, estes dois grandes grupos variaram significativamente ($p < 0,05$), como demonstrada na análise de ordenação multidimensional não métrica (nMDS) (Figura 2). Ainda no MDS, a correlação de Person realizada (correlacionando os taxa aos diferentes tratamentos), com os taxa demonstrados através dos vetores, indica que a fauna correlaciona positivamente com as concentrações mais baixas, sendo eles, os taxa nematoda, copépoda, gastrotríncha, polychaeta, oligochaeta e ostracoda. Já o táxon tardigrada, apresentou uma correlação negativa, em relação aos demais taxa.

A dispersão entre as réplicas de cada concentração também foi medida (PERMEDISP) não mostrando diferença significativa ($p = 0,81$), desta maneira é possível afirmar que não houve homogeneidade entre os tratamentos.

Figura 2- Escalonamento Multidimensional não Métrico (nMDS) da fauna nas concentrações de fenantreno estudadas (C, CA, 0,1,1,0,2,5,5,0,10,0,20,0ppm) demonstrando a correlação dos taxa da meiofauna encontrados. Tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson, os taxa mostrados possuem correlação maior que 20%.



3.1.3 Efeitos das diferentes concentrações de fenantreno na abundância relativa, riqueza e equitabilidade.

No presente estudo foram encontrados 8 taxa (nematoda, copepoda, oligochaeta, turbellaria, ostracoda, tardígrada, gastrotricha e polychaeta). Houve diferença significativa na riqueza de acordo com as concentrações (Pseudo-F = 1,79; $p < 0.05$), tendo a diminuição do número de taxa visto, principalmente nas duas maiores concentrações. O tempo de exposição também influenciou na redução dos taxa, um exemplo desse efeito, é visto no táxon polychaeta onde o mesmo está presente nos tratamentos de C, CA, 0,1, 1,0 e 5,0 ppm durante o T15 (figura 3) e no T30 (Figura 4), o mesmo só aparece nos tratamentos controle. Algo parecido também acontece como táxon tardigrada onde, no T15 o mesmo aparece nos tratamentos de C, CA, 1,0 e 2,5 ppm e durante o T30 aparece apenas no C.

Em relação a equitabilidade (J), se obteve diferença significativa (Pseudo F = 3,970; $p < 0.05$) sem um padrão de aumento ou redução com o aumento das concentrações. No T15, gastrotricha, oligochaeta e turbellaria apresentaram uma redução na sua abundância relativa

com o aumento das concentrações, no qual gastrotricha reduziu em média 10%, Oligochaeta 4% e turbellaria 12% entre 10,0ppm e 20,0ppm. Ao final do T15 na maior concentração (20,0ppm), 45% eram apenas de nematoides e 38% de copepodas, restando apenas 17% para os demais taxa (oligochaeta, gastrotricha, turbellaria e ostracoda). Embora os taxa aqui citados apresentem uma redução durante o T15, no T30 (Figura 4) os mesmos voltaram a crescer, exceto turbellaria onde, na concentração de 20,0ppm houve sua extinção. Embora no T15 copepodas representaram cerca de 38% na maior concentração, ao final do experimento T30 eles corresponderam apenas 17% do total da amostra, havendo um aumento de polychaetas e gastrotricha 15% e 9% respectivamente.

Figura 3- Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna em cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 ppm) no tempo 15 (T15). Cada cor representa um táxon encontrado no experimento.

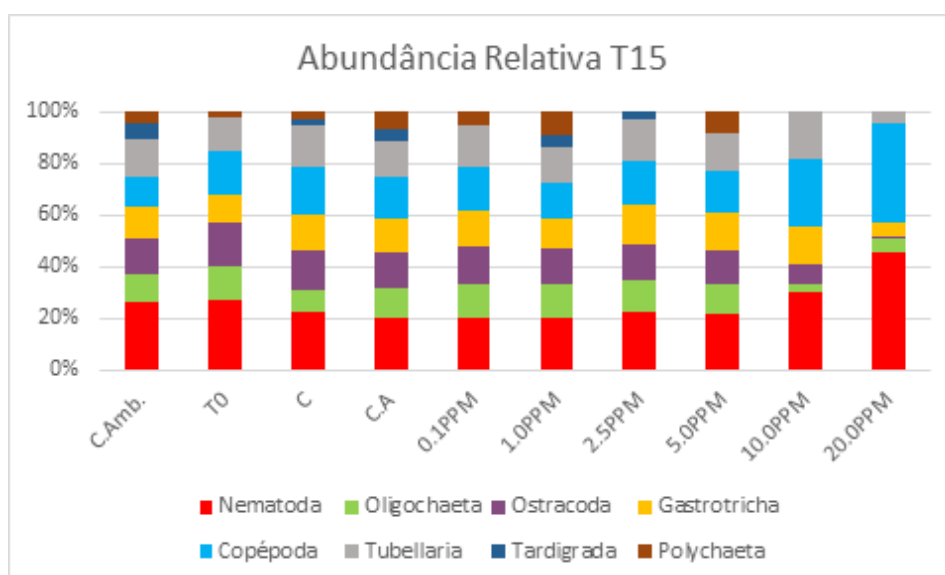
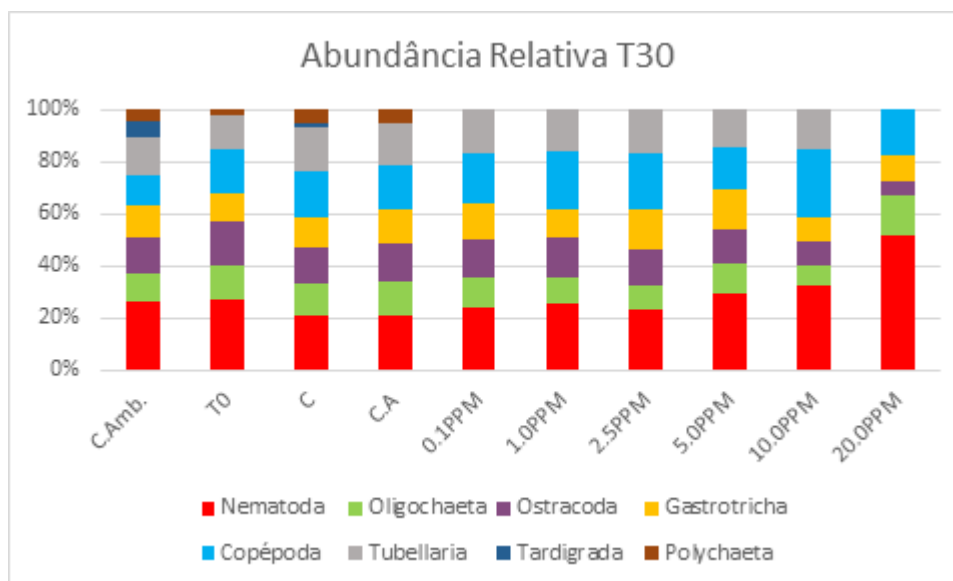


Figura 4- Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna em cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0ppm) no tempo 30 (T30). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.



3.1.4 Similaridade da fauna exposta a diferentes concentrações de fenantreno.

No presente estudo a fauna de cada concentração apresentou um grau de similaridade que ultrapassa 60% em todas as concentrações aqui estudadas. De acordo com o teste de similaridade (SIMPER) a concentração de 0,1ppm foi a mais similar com 91,54% de similaridade, seguido de 5,0ppm (90,16%), 2,5ppm (89,87%), Controle (86,53%), 1,0ppm (84,85%), 10,0ppm (76,35%) e 20,0ppm (64,56%). O taxon Nematoda foi o que mais contribuiu na similaridade da fauna dentro das amostras de cada tratamento com (C) 24,18%, (CA) 22,10%, 0,1ppm 22,31%, 1,0ppm 25,60%, 2,5ppm 23,89%, 5,0ppm 25,91%, 10,0ppm 37,71% e 20,0ppm 60,41%. Seguindo de copepodas com (C) 19,22%, (CA) 17,23%, 0,1ppm 18,56%, 1,0ppm 19,28%, 2,5ppm 20,7%, 5,0ppm 17,29%, 10,0ppm 31,20% e 20,0ppm 31,93% de similaridade.

O terceiro taxa mais abundante em todas as concentrações foi turbellaria contribuindo com menos que 15% em todas as concentrações exceto em 20,0ppm, onde o mesmo não foi encontrado no T30. Em 10,0ppm e 20,0ppm a similaridade é decrescente com 76,35% e 64,56% respectivamente. Embora a dissimilaridade destes dois tratamentos seja ampliada com o aumento das concentrações, o efeito permanece direcional, ou seja, o efeito é maior nos taxa mais raros. Ainda em relação à dissimilaridade, diferentes combinações de taxa foram responsáveis por essas heterogeneidades, sendo os polychaeta, oligochaeta e turbellaria os taxa que somados contribuíram com >50% da dissimilaridade, o filo polychaeta foi o que mais contribuiu com essa dissimilaridade, variando de 11,71% no (C) e (CA) até 31,14 % entre 10,0ppm e 20,0ppm.

3.1.4 Variação dos fatores abióticos

A temperatura no local de coleta foi de 25°C sendo mantida durante todo o experimento. As partículas de sedimento de característica arenosa variaram de 300µm à 36µm, com cerca de 79% sendo entre 125 e 63 µm. A matéria orgânica total (MOT) teve em média 2,37% $\pm$ 0,33 não apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). O potencial redox encontrado foi de 178mV no local de coleta (Camb), 198mv no T0 e em média 220mv ao final do experimento (não apresentando diferença significativa entre eles) e o Ph teve média de 8.05 $\pm$ 0,23 durante todo o experimento.

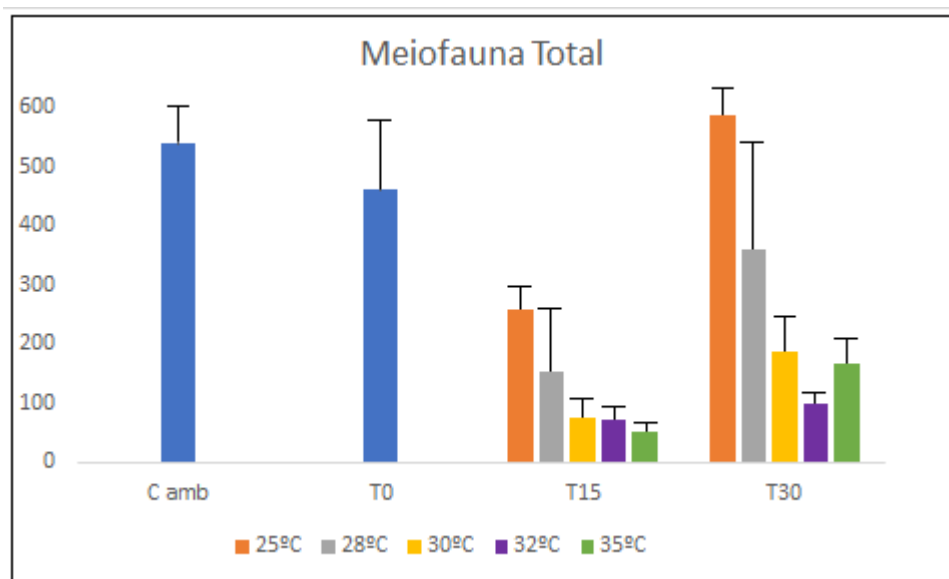
3.2 Exposição da meiofauna a diferentes temperaturas

3.3.2.1 Respostas na densidade total da meiofauna

A densidade da meiofauna total, diferiu significativamente entre as temperaturas (PERMANOVA: Pseudo-F = 6,334; $p < 0,05$), no qual as densidades diminuiram com o aumento das temperaturas. Ainda sobre as temperaturas, quando comparado aos pares (pair-wise test) 25°C diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre as temperaturas de 30°C, 32°C e 35°C tanto no T15 quanto no T30, essa diferença pode ser notada na Figura 5 onde, a densidade total da meiofauna é sempre maior em 25°C do que nas demais temperaturas durante os dois tempos de experimento (T15 e T30). Em relação à diferença significativa de tempo (PERMANOVA: Pseudo-F = 11,804; $p < 0,05$), esta, foi relacionada a uma queda brusca da densidade total em todas as temperaturas durante o T15, tendo algumas temperaturas (25°C, 28°C, 30°C, 35°C) aumentado durante o T30 (Figura 5).

Na densidade total, também houve diferença significativa no cruzamento dos diferentes tratamentos em relação aos tempos (PERMANOVA: Pseudo F = 3,40, $p < 0,05$), no qual nas temperaturas de 25°C e 28°C há um crescimento significativo da densidade da fauna entre o T15 e o T30, e o mesmo não ocorre no T30 com as demais temperaturas. A análise multivariada PERMANOVA não mostrou que essa diferença significativa entre Camb e T0 (Pseudo-F = 1,57 e o $p = 0,71$).

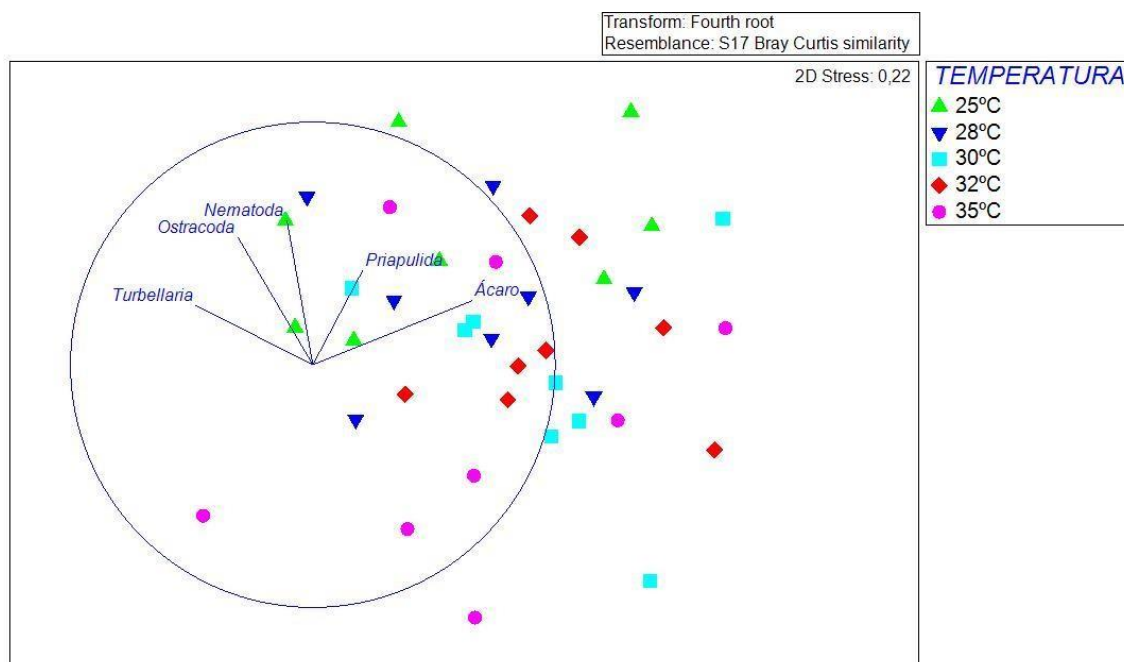
Figura 5- Média da densidade total (10cm^{-2}) com erro padrão da meiofauna ao longo do tempo. Camb representa o controle ambiental, T0 controle após a estabilização, T15 após 15 dias de experimento e T30 após 30 dias de experimento. Cada cor representa uma temperatura utilizada e o Meio, representa a cor de tempos que não houveram diferentes temperaturas



3.2.2 Respostas da estrutura da comunidade da meiofauna a diferentes temperaturas

A estrutura da comunidade não variou em relação às temperaturas (PERMANOVA: Pseudo-F = 1,04; $p = 0,47$), entretanto, houve uma diferença significativa no cruzamento das diferentes temperaturas em relação aos tempos (PERMANOVA: Pseudo-F = 1,8; $p = 0,016$). É possível observar também, através da correlação de Person que taxa como nematoda, ostracoda, priapullida e ácaro demonstrados através dos vetores, apresentam uma correção positiva com as temperaturas mais baixas (25°C e 28°C) (nMDS) (Figura 6). A dispersão entre as réplicas de cada temperatura também foi medida (PERMEDISP) não mostrando diferença significativa ($p = 0,07$), desta maneira é possível afirmar que não há homogeneidade entre as temperaturas.

Figura 6- Escalonamento Multidimensional não Métrico (nMDS) da fauna nas temperaturas estudadas (25°C, 28°C, 30°C, 32°C e 35°C) demonstrando a correlação dos taxa da meiofauna encontrados. Tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson, os taxa mostrados possuem correlação maior que 30%.



3.2.3 Efeitos das diferentes temperaturas na abundância relativa, riqueza e equitabilidade

No presente estudo 10 taxa (nematoda, turbellaria, oligochaeta, tardigrada, ostracoda, polychaeta, gastrotricha, acari, copépoda e priapulida) foram encontrados, se obteve diferença significativa na riqueza (Pseudo-F = 2,39; $p < 0.05$) sendo reduzido o número de taxa de acordo com o aumento da temperatura. Esta redução é vista na figura 7, onde, no T15, alguns taxa como tardigrada, oligochaeta e gastotrincha, presentes nas menores temperaturas não estão presentes na maior temperatura, e este efeito se agrava ao longo do tempo como em polychaeta tardigrada e oligochaeta que estavam presentes até a temperatura de 30°C e não se encontram mais presentes no T30 (Figura 8) na mesma temperatura, mostrando assim o efeito das temperaturas ao longo do tempo.

Em relação à equitabilidade, se obteve diferença em relação as temperaturas (Pseudo-F = 3,23; $p = 0,022$) sem um padrão de aumento ou redução de acordo com o aumento das temperaturas. No T15 gastrotricha apresenta uma percentagem menor com o aumento da temperatura onde o mesmo reduz de 18% em 25°C para 9% em 28°C e 3% em 32°C até seu desaparecimento em 35°C. Ao final do T15 na maior temperatura (35°C), 43% eram apenas de nematoides, 22% turbellaria e 15% de ostracoda, restando apenas 20% distribuídos entre os taxa copepoda e ácaro. Já no T30 as temperaturas de 28°C, 30°C e 32°C a abundância relativa

de gastrotricha aumentou enquanto Acari obteve uma redução nas temperaturas de 30°C, 32°C e 35°C. Ao final do experimento T30 na maior temperatura 45% eram apenas do filo nematoda, 25% turbellaria e 19% de copepodas restando apenas 13% para dos demais filis (ostracoda e ácar).

Figura 7- Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna cada tratamento (Camb, T0, 25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C) no tempo 15 (T15). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.

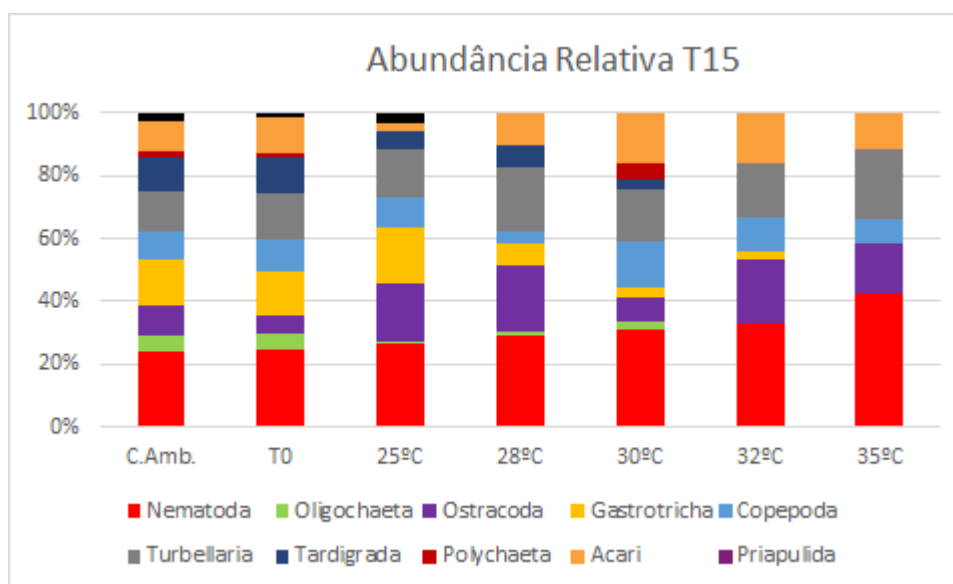
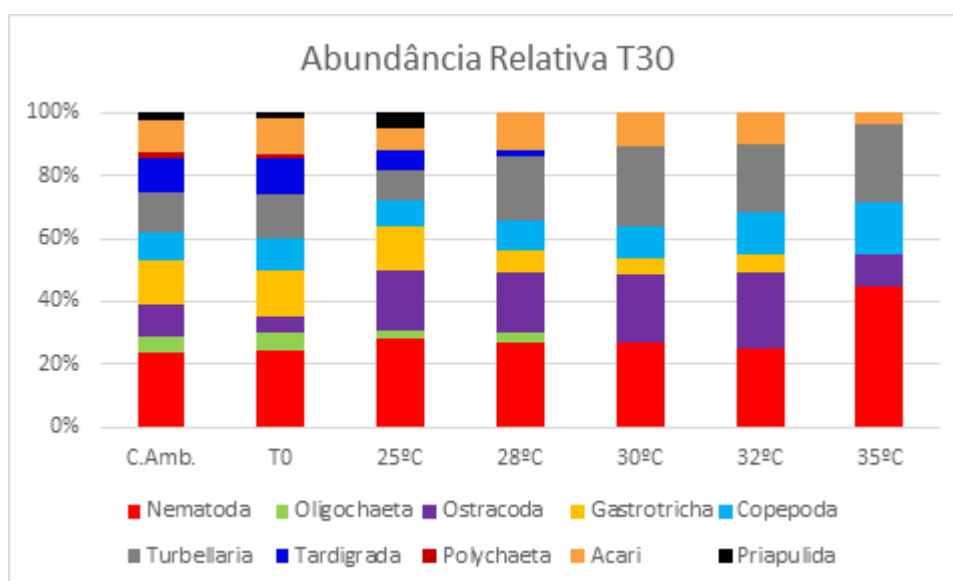


Figura 8- Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna cada tratamento (Camb, T0, 25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C) no tempo 30 (T30). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.



3.2.4 Similaridade da fauna exposta a diferentes temperaturas.

A fauna de cada tratamento apresentou um grau de similaridade superior a 60% em todos os tratamentos aqui estudados. De acordo com o teste de similaridade (SIMPER) a temperatura de 32°C foi a mais semelhante com 74,37% seguido de 30°C (72%), 28°C (69,87%), 25°C (68,20%) e 35°C com 61,20%. O táxon nematoda foi o que mais contribuiu na similaridade da fauna dentro das amostras de cada temperatura com variação de 29,53% em 32°C a 45,53% em 25°C. O segundo taxon mais abundante foi turbellaria com variação de 22,31% em 30°C à 31,72% em 35°C. O terceiro táxon mais abundante foi ostracoda, exceto em 32°C (onde ele ficou em segundo com 25,14% de similaridade, enquanto a terceira colocação foi ocupada pelo filo turbellaria), contribuindo com menos de 19,4% em todas as temperaturas. Embora o aumento da temperatura ocorra no presente experimento, entre 32°C e 35°C a similaridade cai drasticamente de 74,37% para 61,20% respectivamente. Apesar de a dissimilaridade aumentar entre essas duas temperaturas o efeito é direcional afetando assim, os taxa mais raros.

Ainda em relação a dissimilaridades, distintas combinações de taxa responsáveis por essas diferenças, sendo os turbellaria, ostracoda e acari os taxa que somados contribuíram com >50% da dissimilaridade. O táxon turbellaria foi o que mais contribuiu com essa dissimilaridade que variou desde 22,26% até 23,83%.

3.2.5 Variação dos fatores abióticos

A temperatura no local de coleta foi de 27°C sendo modificada para cada temperatura adequada na montagem do experimento, as partículas de sedimento arenoso variaram de 36 à 300µm, com 81% entre 125 e 63µm. A matéria orgânica total (MOT) teve em média 1,25%± 0,12, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p>0,05$). O potencial redox encontrado foi de 187mV no local de coleta (Camb), 203mv no T0 e em média 227mv ao final do experimento e o PH em média de $8,01 \pm 0,20$ durante todo o experimento.

3.3 Exposição da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura aumentada (35°C)

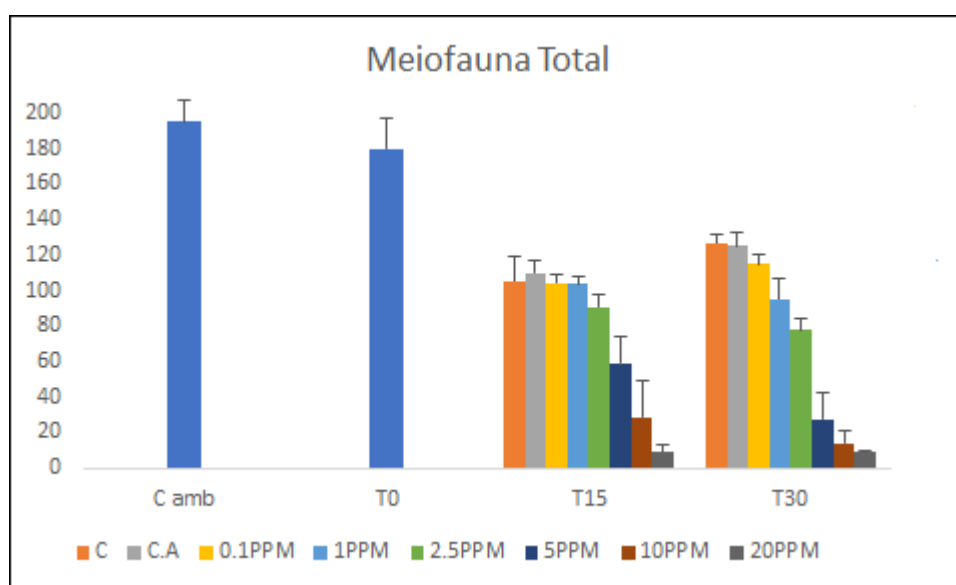
3.3.1 Respostas na densidade total da meiofauna

A densidade da meiofauna total no presente experimento diferiu significativamente entre as concentrações (PERMANOVA: Pseudo-F = 7,68; $p = 0,007$) e no cruzamento dos tratamentos em relação aos tempos (PERMANOVA: Pseudo-F = 2,26; $p = 0,02$). Em relação às concentrações, foi observado que houve diferença dos mesmos em relação ao tempo de exposição no qual, (C), (CA) e 0,1, 1,0 PPM tiveram um leve aumento da densidade total entre o T15 e T30 (Figura 9). A concentração intermediária manteve-se constante (2,5 ppm) e as maiores concentrações (5,0ppm, 10,0ppm e 20,0ppm) permaneceram em queda brusca até o

final do experimento T30. Isso nos mostra que na densidade total os efeitos das concentrações diferem relativamente de acordo como tempo de exposição.

Embora haja diferença entre os tempos (PERMANOVA: Pseudo-F = 1,27; $p = 0,032$), o T15 e T30 não diferiram significativamente $p = 0,092$ variando apenas ambos entre o Camb e o T0 ($p < 0,05$). Essa variação é notória na Figura 10, onde há uma queda da densidade total entre o T0 e o T15 tendo um leve aumento nas menores concentrações (C, CA, 0.1 e 1,0ppm) durante o T30. Não houve diferença significativa entre Camb e T0 com $p > 0,05$, demonstrando assim, que o período de estabilização não interferiu na densidade da fauna.

Figura 9- Média da densidade total (10cm^{-2}) com erro padrão da meiofauna ao longo do tempo exposto a uma temperatura de 35°C . Camb representa o controle ambiental, T0 controle após a estabilização, T15 após 15 dias de experimento e T30 após 30 dias de experimento. Cada cor representa uma concentração utilizada e o Meio, representa a cor de tempos que não houveram diferentes tratamentos.



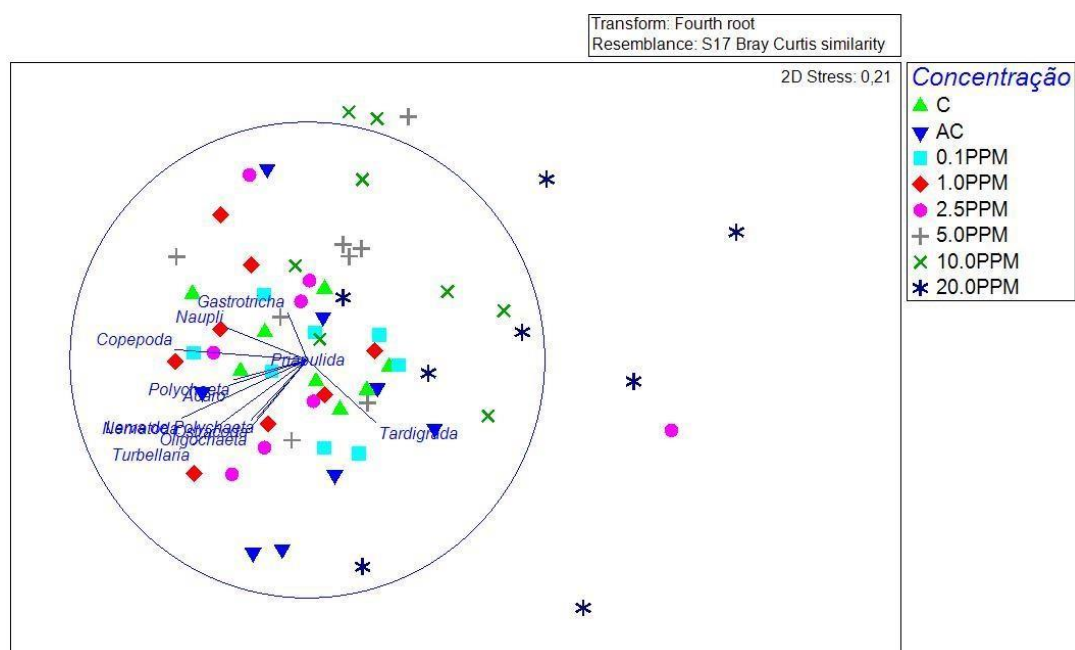
3.3.2 Respostas da estrutura da comunidade da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em 35°C

Em relação à estrutura da fauna, houve diferença significativa entre as concentrações, (PERMANOVA: Pseudo-F = 2,34; $p = 0,008$), todavia não se obteve diferença nos cruzamentos dos tratamentos em relação aos tempos, (PERMANOVA: Pseudo-F = 1,45; $p = 0,07$). Tanto o T15 quanto no T30 não se obteve diferença significativa entre as menores concentrações de (C, CA, 0,1ppm, 1,0ppm, 2,5ppm) nem entre as maiores 5,0ppm, 10,0ppm e 20,0ppm ($P > 0,05$), porém todas as menores concentrações variaram em relação as três maiores ($p < 0,05$). Este resultado pode ser visto representando na análise de ordenação multivariada não métrica

(nMDS) (figura10). Ainda no MDS, a correlação de Person realizada nos mostra que os taxa nematoda, copépoda, turbellaria, gastrotricha, polychaeta, oligochaeta e ostracoda apresentam uma correlação positiva com as menores concentrações (C, CA, 0,1ppm, 1,0ppm, 2,5ppm) do que com as três maiores (5,0ppm, 10,0ppm e 20,0ppm).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos controle (C) e o controle do Solvente (CA) nem no T15 ($p = 0,627$) nem ao final do experimento T30 ($p = 0,394$) indicando que o solvente não interferiu no experimento aqui citado mesmo o experimento sendo mantido a uma temperatura elevada 35°C. A dispersão entre as réplicas de cada concentração também foi medida (PERMEDISP) não mostrando diferença significativa ($p = 0,242$), não mostrando homogeneidade entre os tratamentos.

Figura 10- Escalonamento Multidimensional não Métrico (nMDS) da fauna nas concentrações de fenantreno estudadas(C, CA, 0.1,1.0,2.5,5.0,10.0,20,0ppm) expostas a uma temperatura de 35°C, demonstrando a correlação dos taxa da meiofauna encontrados. Tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson, os taxa mostrados possuem correlação maior que 20%.



3.3.3 Efeitos das diferentes concentrações de fenantreno na abundância relativa, riqueza e equitabilidade em 35°C

No presente estudo 10 taxa (nematoda, turbellaria, oligochaeta, tardigrada, ostracoda, polychaeta, gastrotricha, acari, copépoda e priapulida). A riqueza também apresentou diferença significativa nas amostras de acordo com as concentrações (Pseudo-F = 3,22; $p = 0,007$) apresentando uma redução de taxa nas maiores concentrações. Em relação ao T15 (Figura 11) nota-se a diminuição da riqueza com a ausência de alguns taxa como polychaeta que não esteve

presente a partir 0,1ppm, tardígrada que também não surgiu a partir de 1,0ppm e gastrotricha que não esteve presente a partir de 20,0ppm. No T30 (Figura 12), ocorreu algo parecido o qual, houve a ausência do taxon Acari a partir de 1,0ppm, polychaeta e priapulida a partir do tratamento CA, tardígrada a partir do C e ostracoda e gastrotricha a partir da maior concentração (20,0ppm).

Em relação a equitabilidade (J), houve diferença significativa de acordo com as concentrações (Pseudo-F = 3,16; $p = 0,001$) sem um padrão de aumento ou redução da mesma, com o aumento das concentrações. No T15, gastrotricha teve uma percentagem de 13% no (C), reduzindo para 6% em 10,0ppm até seu desaparecimento em 20,0ppm. copepodas apresentaram um resultado curioso no qual o número dos mesmos aumentou em média 10% do (C) à 20,0ppm superando até a percentagem de nematoides em algumas concentrações como 2,5ppm, onde, copepodas contribuíram com 30% e nematodas com 26% do total da fauna. Em relação ao nematoides a medida que as concentrações foram aumentando houve uma oscilação na sua percentagem tendo apenas uma contribuição de 20% do total da fauna em 5,0ppm, sendo superado pelo táxon copepoda que contribuíram com 32% e Turbellaria com 21% do total da fauna.

No T30 também houve a redução de alguns taxa como Acari, gastrotricha e ostracoda apresentando seu desaparecimento na última concentração (20,0ppm) (Figura 13). Em relação a percentagem de nematodas e copepodas tanto no (C) quanto no (CA), a percentagem de nematodas foram maiores que a de copepodas, porém, a partir de 1,0ppm, nota-se a inversão no qual copepodas contribuem com cerca de 35% do total da fauna e nematodas com apenas 26% essa inversão é revertida apenas na última concentração onde o filo Nematoda contribui com 50% do total da amostra e copepoda com 27%.

Figura 11- Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 e 20.0 PPM) no tempo 15 (T15) exposto a uma temperatura de 35°C. Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.

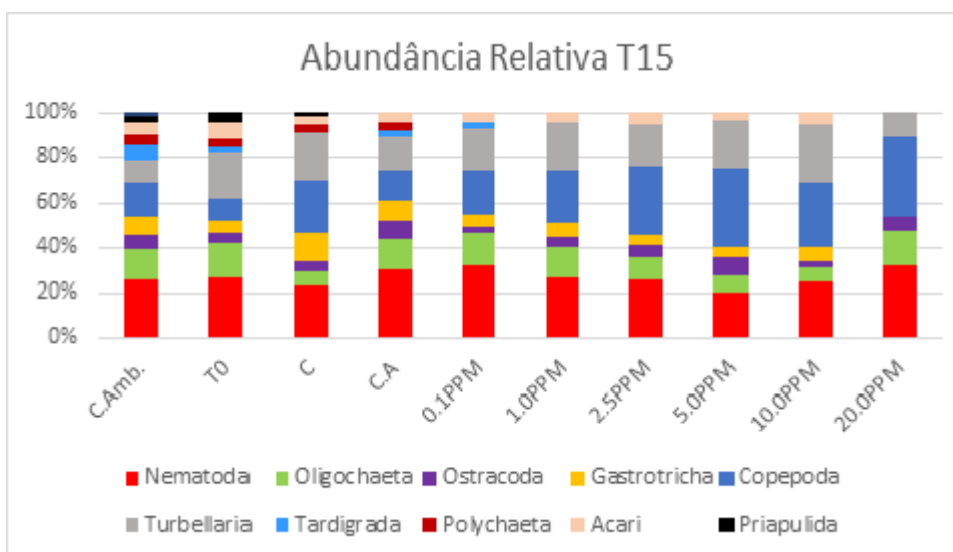
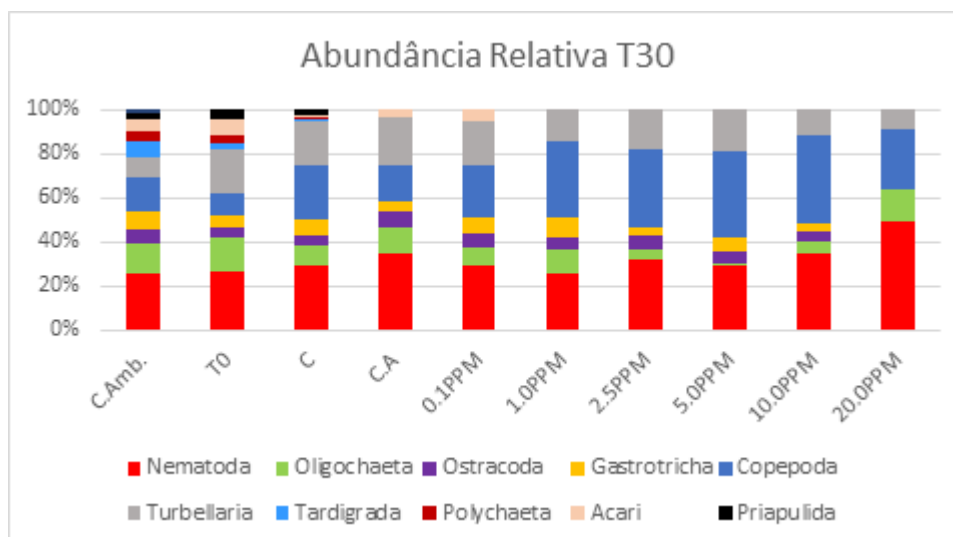


Figura 12- Abundância relativa (%) dos grupos da meiofauna em cada tratamento (Camb, T0, C, CA, 0.1, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 e 20.0 PPM) exposto a uma temperatura de 35°C no tempo 30 (T30). Cada cor representa um táxon encontrado em cada tratamento.



3.3.4 Similaridade da fauna exposta a diferentes concentrações de fenantreno em 35°C.

No experimento aqui citado a fauna de cada concentração apresentou um grau de similaridade que ultrapassa 40% em todas as concentrações aqui estudadas. De acordo com o teste de similaridade (SIMPER) o Controle foi o mais similar com 74,35% de similaridade,

seguido de 0,1ppm (71,42%), 5,0ppm (69,36%), 1,0ppm (69,13%), 10,0ppm (63,75%), 2,5ppm (60,69%) e 20,0ppm (49,23%). O táxon Nematoda foi o que mais contribuiu na similaridade da fauna dentro das amostras das concentrações de Controle (C), Controle do Solvente (CA), e 0.1 Pppm com 32,59%, 39,72% e 36,15% de contribuição respectivamente. A partir de 1,0ppm nematoda perde seu posto de melhor contribuidor (ficando em segundo lugar) para o filo copepoda que contribui com 33,58% em 1,0ppm, 34,65% em 2,5ppm, 36,30% em 5,0ppm e 31,22% em 10,0ppm. O táxon Nematoda volta a ser o táxon que mais contribui com a similaridade em 20,0ppm onde sua contribuição é de 50,84%. O terceiro filo mais abundante em todas as concentrações foi turbellaria contribuindo com mais de 15% em todas as concentrações. Embora similaridade seja reduzida nas maiores concentrações mostrando um efeito direcional na fauna afetando assim os taxa mais raros.

3.3.5 Variação dos fatores abióticos

A temperatura no local de coleta foi de 26°C sendo modificada para 35°C na montagem do experimento, as partículas de sedimento variaram de 36 à 300 μm , com cerca de 80% sendo grãos entre 125 e 63 μm . A matéria orgânica total (MOT) teve em média $1,75\% \pm 0,22$ não apresentando diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). O potencial redox encontrado foi de 162mV no local de coleta (Camb), 190mv no T0 e em média 222mv ao final do experimento e o Ph teve uma média de $7.95\% \pm 0,34$ durante todo o experimento.

4 DISCUSSÃO

4.1 Efeitos da exposição de diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

Estudos anteriores já mostraram que os componentes da meiofauna são sensíveis aos HPA'Ss (LINDGREN e colab., 2012; MAHMOUDI e colab., 2005; SUNDBÄCK e colab., 2010), A respeito do fenantreno, já se tem resposta que este HPA'S, afeta negativamente os taxas da meiofauna (LOUATI, Hela e colab., 2014) havendo a redução de nematoides e desaparecimento de outros taxa como polychaetas e copépoda submetidos a 20 dias de experimento, no entanto, a concentração utilizada foi relativamente alta (100PPM) considerado ao que é encontrado nos ambientes marinhos, uma vez que estudos mostram que em sedimentos marinho as concentrações geralmente não ultrapassam 1ppm (MACDONALD, D D, 1994b, a), havendo a necessidade de novos estudos com concentrações geralmente encontradas no ambiente marinho e em períodos mais longos, demonstrando assim, os efeitos prolongados do

contaminante na meiofauna marinha. No presente estudo, obtivemos respostas (a nível de densidade, riqueza e equitabilidade) mais sucintas dos efeitos causados pelo fenantreno utilizando diferentes concentrações (concentrações já encontradas no ambiente) e avaliando em diferentes tempos durante um período de 30 dias.

4.2 Repostas a densidade total da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

Em relação a redução do T15 no presente experimento, esta, é redução durante é considerada comum, principalmente em experimentos de microcosmos, onde, esta redução, geralmente está relacionados a montagem do experimento (manuseio do sedimento) e efeitos de contenção (falta de oxigenação, falta de movimentos de maré e redução de água entre os grãos) (AUSTEN e WARWICK, 1995; GINGOLD e colab., 2013; LINDGREN e colab., 2012). Todavia, no presente experimento, houve o monitoramento diário de oxigenação e outros fatores como Ph, salinidade e potencial redox, evitando assim, que as respostas das comunidades sejam relacionadas a alguns desses fatores, assim como, um continuo refluxo de água entre os grãos de sedimentos imitando as correntes de águas intersticiais. A queda da densidade total no T15, provavelmente está relacionado ao fato de que a ciclagem de nutrientes foi interrompida, ou seja, a introdução de alimento e matéria orgânica foi parada, necessitando assim, que a ciclagem de matéria orgânica volte para reestruturação da cadeia trófica. Todavia o reestabelecimento de alguns tratamentos no T30, demonstra que a reestruturação da cadeia alimentar apresentou um equilíbrio tardio de 30 dias. Além dos artigos acima citados, outro estudo utilizando microcosmo aponta essa redução durante o período médio do experimento, havendo a reestabilização da fauna no T30 (SANTOS, Anna Carolina Chaaban e colab., 2018).

A redução da fauna no T15 e continuação da redução durante T30 nas duas maiores concentrações (10,0 e 20,0ppm), apontam que estas concentrações, podem causar danos graves ao ecossistema como perda a biodiversidade bentônica. A perda na biodiversidade em ambientes marinhos podem acarretar consequências ecológicas severas, como declínio exponencial do funcionamento do ecossistema (DANOVARO e colab., 2008).

Um resultado até então idiossincrático foi vista em 5,0ppm, onde a densidade total da fauna foi maior que em concentrações menores como 2,5 e 1,0ppm. Entretanto, este aumento não foi visto apenas em um táxon, e sim, por todos os taxa ali presentes, logo, esta concentração não segue um padrão dependente das demais concentrações. Alguns estudos apontam que concentrações intermediárias podem levar ao estímulo do crescimento

No presente experimento não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na densidade total da meiofauna entre o (Camb) e (T0), o que demonstra que o período de estabilização não foi

relevante no presente estudo. Alguns estudos já foram realizados sem este período de estabilização, não interferindo no sucesso de seus respectivos experimentos em microcosmos (LOUATI, Hela e colab., 2014; SANTOS, Anna Carolina Chaaban e colab., 2018). Todavia, alguns autores ainda preferem manter este período (MONTEIRO e colab., 2019), a fim de analisar possíveis mudanças na fauna, causado pelo estresse da coleta e pelas novas condições em laboratório.

4.3 Respostas da estrutura da comunidade da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno

Na estrutura da comunidade da meiofauna, a aproximação das pequenas concentrações com o controle visto na análise de ordenação multivariada não métrica (Figura 2), nos mostra que estas, foram menos afetadas em comparação com as concentrações maiores (10,0 e 20,0ppm). Este resultado corrobora com um estudo realizado com outros HPA's onde, as diferentes concentrações de criseno e trifenileno afetaram a estrutura da comunidade da meiofauna, reduzindo o número de taxa como copepoda e polychaetas (VEIGA e colab., 2009).

O táxon tardigrada se mostrou mais sensível do que os demais taxa, uma vez que no T15 (figura 3) este só aparece em concentrações baixas de fenantreno (0,1; 1,0 e 2,5ppm), enquanto que em concentrações intermediária e altas o mesmo não foi encontrado (5,0; 10,0 e 20,0ppm). No T30 (figura 4), tardigrada não se reestabelece, aparecendo apenas no controle. Fato que não ocorre com os outros taxa, que no T15 diminuíram, porém no T30 se reestabelecem, o que implica que a tentativa de abundância dos demais taxa não foi acompanhado pelo táxon tardigrada e isso explica o fato do vetor tardigrada está oposto aos outros na análise de ordenação multivariada não métrica (Figura 2).

4.4 Efeitos das diferentes concentrações de fenantreno na abundância relativa, riqueza e equitabilidade

A redução da riqueza extinguindo taxa menos abundantes como tardigrada e polychaeta e a redução da equitabilidade de outros taxa como gastrotricha e oligochaeta com o aumento das concentrações, corrobora com um outro estudo ao qual, houve também a redução da riqueza e equitabilidade afetando principalmente os taxa mais raros com o aumento das concentrações dos HPA's (BAGULEY e colab., 2015). Deve-se também levar em consideração que taxa com densidades menores como polychaeta e tardigrada apresentam uma desvantagem no presente experimento e em outros trabalhos que mostram a mesma resposta, pois os mesmos por possuírem uma densidade mais baixa estão mais sujeitos a serem extintos pela sua dificuldade em competir por espaço e recursos (LOUATI, Hela e colab., 2014).

O taxon nematoda, apresentou uma maior abundancia relativa com o aumento das concentrações, se mostrando um táxon mais “resistente” ao fenantreno quando comparado aos demais taxa em todas as concentrações, principalmente na de 20,0ppm, no qual no T15 e T30 sua abundancia ultrapassa 40% (Figura 3 e 4). Tal fato, também é notório não só com fenantreno, mas também com outros contaminantes como metais (MILLWARD e GRANT, 1995), além de outros hidrocarbonetos como fluoranteno e pireno (LOUATI, Hela e colab., 2015; MAHMOUDI e colab., 2005) este fato pode ser explicado devido ao táxon nematoda ser extremamente diverso, quanto a modos de reprodução e alimentação, possibilitando, deste modo, um leque de oportunidades frente a mudanças no ambiente o que fornece aos mesmos, uma maior vantagem em relação aos demais taxa das comunidades. Além disso, o sucesso dos nematoides também corrobora com a ideia de que algumas espécies de nematoides, possivelmente criaram um mecanismo (metabólicos) de resistência para enfrentar a contaminação por HPA'Ss, facilitando assim, sua densidade em ambientes disponíveis a estresses (LOUATI, Hela e colab., 2014; NAIDOO, 2015).

Embora nos copépodos já foram observados diversos efeitos em relação às diferentes concentrações de fenantreno como: queda brusca na abundancia total em 13,36 ppm de fenantreno (EVANS e NIPPER, 2007), efeito narcótico evidenciado pela falta de mobilidade em 48h de exposição (BARATA e colab., 2005), bioacumulação no corpo atingindo estágio estacionário em 96h de exposição (JENSEN e colab., 2012) e até o desaparecimento dos mesmos em concentrações extremamente altas (100ppm) de fenantreno (LOUATI, Hela e colab., 2014). No presente estudo, copepodas apresentaram um aumento na abundância relativo no T15 mesmo na maior concentração. O atual resultado pode ser relacionado ao seu poder de motilidade e de habitar a região epibentônica, fugindo assim, de uma exposição mais severa como entre os grãos de sedimento, porém essa exposição mesmo que reduzida pela fuga epibentônica, se torna inevitável pelo período experimental corroborando com a ideia de que, mesmo os copepoda reduzindo sua exposição, quando o mesmo é exposto durante um longo período de tempo esta exposição se torna negativa, causando efeitos como a redução da abundância total (VINCX e HEIP, 1991) como foi visto no T30.

Em relação ao táxon oligochaeta, o mesmo apresentou uma redução nas duas maiores concentrações (10,0 e 20,0ppm) durante o T15 tendo o aumento da abundância relativa durante o T30, mostrando assim, uma possível resiliência do táxon. Resultado semelhante já foi visto, onde, os mesmo, demonstraram resiliência a um outro HPA'S (antraceno), durante 20 a 40 dias de exposição (SAID e colab., 2015), um outro estudo mostra que o mesmo, é capaz de

metabolizar alguns HPA'Ss como o Pireno, causando primeiramente uma redução de sua densidade e logo em seguida um acréscimo do mesmo, mostrando assim a resiliência do organismo (MÄENPÄÄ e colab., 2009). Estudos com oligochaeta e fenantreno ainda são raros, porém um estudo realizado mostra que a concentração letal que mata 50% da população (LC50) de uma espécie de oligochaeta (*Limnodrilu shoffmeisteri*) é de 297,5ppm (LOTUFO e FLEEGER, 1996) concluindo que as concentrações do presente estudo podem ser relativamente baixas para alguns grupos de oligochaeta o que pode explicar sua resiliência no experimento, porém é necessário estudos mais aprofundados com diferentes famílias e espécies para real toxicidade do fenantreno em diferentes concentrações nos Oligochaetas.

4.5 Dissimilaridade da fauna exposta a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente 25°C

Embora a dissimilaridade da fauna não apresente um padrão de aumento de acordo com o aumento das concentrações, em todas os tratamentos o efeito permaneceu direcional, ou seja, os taxa mais raros foram os mais afetados pelas diferentes concentrações, esse resultado também é visto em outros estudos de microcosmos onde normalmente os taxa mais raros tendem a sofrer um efeito maior ao estresse (Louati et al., 2015; Said et al., 2015; Vafeiadou et al., 2018) levando até o desaparecimento de alguns taxa. Este fato corrobora com a ideia de que taxa mais raros podem ser ótimos bioindicadores de impactos ambientais (SANTOS, Anna Carolina Chaaban e colab., 2018).

4.6 Efeito das diferentes temperaturas sob a fauna

4.6.1 Respostas na densidade total da meiofauna a diferentes temperaturas

Houve uma queda na densidade total em todos os tratamentos no T15, demonstrando um provável adaptação as condições do experimento, sendo este, já visto em outro estudo com microcosmo (SANTOS, Anna Carolina Chaaban e colab., 2018). Todavia, essa adaptação se mostrou temporário, tendo em vista que algumas temperaturas reestabeleceram a sua densidade total no T30, mostrando assim, o reestabelecimento das densidades nos controles e o efeito do estresse térmico nos tratamentos.

Ainda sobre a densidade total da fauna, o sucesso da temperatura 25°C no presente experimento com maiores densidades tanto no T15 quanto no T30, corrobora com a ideia de que esta, é uma temperatura favorável a fauna existente, uma vez que a mesma é a temperatura média encontrada na área de coleta. Além disso, não houve alteração da temperatura entre o período de estabilização e a montagem do experimento, o que contribui para o sucesso da fauna

neste tratamento. Levando em consideração que o sucesso dos grupos da meiofauna, em relação ao estresse da temperatura varia de acordo com o ambiente em que os mesmos estão adaptados (HOPPER e colab., 1973).

Em relação as temperaturas de 30°C 32°C e 35°C estas obtiveram densidades baixas quando comparados com o 25°C e 28°C nos dois tempos (T15 e T30). Este resultado, corrobora com (Vafeiadou et al., 2018) ao qual a densidade da meiofauna também foi reduzida quando a fauna foi exposta a uma temperatura de 32°C constante. Esta queda da densidade pode ser relacionada ao fato de que, à medida que as temperaturas se aproximam-se dos limites que suportam a reprodução, os ciclos de vida tornam-se rapidamente alongados, reduzindo assim sua densidade no ambiente (HOPPER e colab., 1973).

4.6.2 Respostas da estrutura da comunidade da meiofauna a diferentes temperaturas.

A diferença significativa na estrutura da comunidade no cruzamento dos tratamentos em relação aos tempos, aponta que a estrutura da fauna foi afetada de acordo com as diferentes temperaturas ao longo do tempo. Este resultado também corrobora com outro estudo ao qual a estrutura da fauna também foi afetada de acordo com diferentes temperaturas (Vafeiadou et al., 2018), reduzindo e desaparecendo alguns taxa em temperaturas maiores como em 32°C. A correlação positiva demonstrada pelos vetores dos taxa nematoda, priapulida, ostacoda, e acari com as menores temperaturas (25°C e 28°C), apontam que estes taxa apresentam uma afinidade maior com as temperaturas mais baixas do que com as demais. Este resultado pode estar atrelado ao fato de que estas, são temperaturas já encontradas no ambiente de coleta já havendo a adaptação dos grupos a estas temperaturas. Outro trabalho também demonstrou que os grupos da meiofauna tendem a ter um melhor desenvolvimento em temperaturas já por elas adaptadas, e que com aumentos da temperatura relativamente baixos, ainda há variação na estrutura da fauna (SARMENTO e colab., 2017).

4.6.3 Efeitos das diferentes temperaturas na abundância relativa, riqueza e equitabilidade

Em relação a abundância relativa, o táxon Nematoda foi o táxon mais abundante em todas as temperaturas, tendo sua densidade aumentada com o aumento das temperaturas tanto no T15 quanto no T30 (Figura 7 e 8), entretanto o que chama mais atenção é o fato de os nematoides possuírem maior abundância na maior temperatura (35°C). Um estudo realizado afirma que gêneros de nematoides *Diplolaimelloides*, *Litoditis*, *Diplolaimella*, *Ocellata*, *Enoplus*, *Oncholaimus* e *Haliplectus* apresentam seus ciclos de vida mais curtos com o

aumento da temperatura aumentando assim, suas densidades, porém, a medida que as temperatura se aproximam dos limites que suportam a reprodução, os ciclos de vida tornam-se alongados (HOPPER e colab., 1973) não corroborando com outros trabalhos que afirmam que medida que as temperaturas se aproximam dos seus limites em relação a reprodução os ciclos de vida são mais curtos (MOENS, Tom e VINCX, 2000b; VAFEIADOU e CHINTIROGLOU e colab., 2018). Entretanto, é importante salientar que os gêneros podem apresentar limites de reprodução diferenciado quando se trata de tolerância a diferentes temperaturas, o que pode ocasionar divergência quanto a reprodução dos gêneros num mesmo experimento, ou seja, enquanto algumas espécies estão no seu limite de reprodução, aumentando seu ciclo de vida, outros, mais resistentes, permanecem reproduzindo, aumentando assim, a abundância total na fauna, este fato pode levar ao desaparecimento ou redução de espécies menos tolerantes, o que influencia diretamente na riqueza e equitabilidade da nematofauna no ambiente.

Neste estudo, diferença significativa na riqueza e equitabilidade de acordo com as diferentes temperaturas, ao qual alguns taxa como tardigrada, gastrotricha, polychaeta e oligochaeta apresentaram sua abundância relativa reduzida ou extintas com o aumento das temperaturas, corroborando com um trabalho atual no qual os mesmos foram expostos a temperatura constante de 32°C, havendo também, a redução e desaparecimento dos mesmos após 30 dias (Vafeiadou et al., 2018), vale salientar que em ambos os trabalhos, as densidades destes taxa eram relativamente pequena o que pode ter corroborado com a redução dos mesmos no ambiente levando desaparecimento de alguns taxa ao final do experimento.

Em relação ao táxon Tardigrada, um estudo mostrou que os mesmos tendem a resistir a choques térmicos com limite de tolerância até 33°C (REBECCHI e colab., 2009), porém, os mesmo foram expostos por um curto período de tempo (24h), mostrando assim, apenas um resultado prévio da resistência dos tardigradas a altas temperaturas. No presente estudo, houve a vantagem do tempo com o experimento de duração de 30 dias ao qual foi visto o efeito no táxon Tardigrada a longo prazo.

Taxa como Nematoda, Copepoda, Ostracoda e Turbellaria, obtiveram sucesso na abundância relativa mesmo com o aumento da temperatura corroborando com outro trabalho (Vafeiadou et al., 2018). Um outro fator que pode estar relacionando ao sucesso dos taxa aqui citados, é a competição por espaço e recursos, onde, a medida que os taxa menos resistentes ao estresse são extintos, favorecem espécies tolerantes como os taxa Nematoda e Copepoda (LOUATI, Hela e colab., 2014)., os mesmos, aproveitam-se de recursos e ampliam seu nicho (Vafeiadou et al., 2018) ocasionando sua dominância no ambiente.

Em relação ao sucesso do táxon Copepoda, o mesmo se mostrou extremamente resiliente, uma vez que no T15 abundância relativa diminui consideravelmente, entretanto, no T30 a partir de 28°C abundância relativa aumenta significativamente. Este resultado também a outro estudo, ao qual, quando expostos no T15 houve a redução da abundância relativa dos copépodos, havendo o aumento dos mesmos no T30 (Vafeiadou et al., 2018). A partir destes resultados pode-se afirmar que alguns copépodos são organismos resilientes quando se trata de temperaturas mais elevadas.

4.6.4 Dissimilaridade da fauna exposta a diferentes temperaturas

Embora a dissimilaridade da fauna não apresente um padrão de aumento de acordo com o aumento das temperaturas, em todas os tratamentos o efeito permaneceu direcional, causando efeitos maiores nos grupos menos abundantes nas comunidades podendo levar até o desaparecimento dos mesmos. Este fato pode contribuir para estudos ambientais utilizando a meiofauna, uma vez que, o desaparecimento de taxa mais raros, pode indicar impactos ambientais no ambiente (SANTOS, Anna Carolina Chaaban e colab., 2018).

4.7 Exposição da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura 35°C

4.7.1 Respostas na densidade total da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em 35°C

A queda da densidade total no T15 sem o reestabelecimento da fauna em nenhuma das concentrações no T30 foi uma resposta antagônica ao visto nas mesmas concentrações com a temperatura encontrada no ambiente de 25°C (Figura 1), onde, nas menores concentrações foi visto a reestabilização da fauna. O experimento aqui citado também foi antagônico ao experimento de temperatura onde mesmo em 35°C houve um aumento da densidade total da fauna no T30 (figura 5). Esses resultados fortalecem a ideia de que efeitos combinados de contaminantes com aumento da temperatura podem ser mais prejudiciais para os organismos do que quando vistos separadamente intensificando assim, seu efeito na fauna (SCHIEDEK e colab., 2007).

4.7.2 Respostas da estrutura da comunidade da meiofauna a diferentes concentrações de fenantreno em 35°C.

Na estrutura da assembleia da meiofauna, a concentração de 5,0ppm assemelhou-se mais com as concentrações de 10,00 e 20,00ppm do que com as concentrações mais baixas

(Figura 10), resposta antagônica ao que foi visto no experimento apenas de fenantreno (Figura 2) onde a concentração de 5,0 ppm mais se assemelhou com as menores concentrações. Este resultado reforça a ideia de que mesmo em concentrações onde não haveria modificações da estrutura da fauna se utilizado temperaturas menores, com temperaturas maiores, a estrutura é afetada. Este reforça a ideia de que, o aumento da temperatura pode aumentar a toxicidade do contaminante levando ao agravamento de seus efeitos em organismos (NOYES e colab., 2009). Vale ressaltar que mais estudos devem ser realizados com efeitos somados, afim de obter repostas mais detalhadas dos efeitos combinados também em outros grupos taxonômicos.

4.7.3 Efeitos das diferentes concentrações de fenantreno na abundância relativa, riqueza e equitabilidade da meiofauna em 35°C

Os efeitos combinados das diferentes concentrações de fenantreno com o aumento da temperatura também resultaram na redução da riqueza e equitabilidade com a redução ou desaparecimento de taxa como priapullida, tardigrada e gastrotricha ao final do experimento. Este resultado corrobora com os experimentos vistos em 3.3.1 (Fenantreno) e 3.3.2 (Temperatura) ao quais os mesmos taxa reduziram ou desapareceram em diferentes concentrações e em diferentes temperaturas incluindo 35°C, mostrando que, os mesmos não são resistentes a nenhum dos dois fatores nem separadamente nem em efeitos combinados. Este fato assemelha-se com outros estudos que mesmo tendo os efeitos da temperatura (Vafeiadou et al., 2018) e do fenantreno (LOUATI, Hela e colab., 2014) separadamente, os mesmos também apresentaram redução nas suas densidades. Vale salientar que, estes taxa apresentaram densidades baixas em todos os experimentos o que pode ter influenciado não só em sua redução mas também no seu desaparecimento nos experimentos.

Em relação ao táxon Ostracoda, que embora no experimento de Fenantreno (3.3.1), quanto no de Temperatura (3.3.2), resistiu a todas as concentrações e todas as temperaturas quando o estresse foram combinados, na maior concentração, o mesmo desapareceu corroborando com a ideia de que a condição a ele submetida no presente experimento é a condição limite para o taxon havendo ainda a necessidade de mais estudos em relação a sua resistência a estresses.

Na abundância relativa, o táxon copepoda, aumentou sua densidade com o aumento das concentrações superando até mesmo o táxon nematoda a partir de 1,0ppm. Este fato fortalece a ideia de que, quando submetido a alguns estresses, os copepodas tendem a usar toda sua energia não no seu crescimento mas sim na sua reprodução afim de manter sua abundância no

ambiente (STRINGER e colab., 2012), mesmo assim, ao final do experimento, o taxa copepoda reduziu sua densidades (20,0ppm), mostrando que, mesmo este táxon reagindo ao estresse, apresentando uma grande abundância relativa, em um longo período de exposição os efeitos se tornam inevitáveis (VINCX e HEIP, 1991) reduzindo assim sua densidade ao longo do tempo.

Em relação ao táxon nematoda a redução da sua abundância a partir de 1,0ppm mostra que o mesmo foi fortemente afetado aos efeitos combinados da temperatura e fenantreno, a redução da sua abundância relativa nas concentrações pode ter favorecido, a outros taxa como turbellaria e copepoda, aumentando assim a abundância dos mesmos. Embora a Abundância relativa do táxon Nematoda tenha caído com o efeito do presente experimento, o seu reestabelecimento na maior concentração adquirindo cerca de 50% do total na fauna mostra que o mesmo ainda é mais resistente em relação aos estresses a ele expostos. Porém é de suma importância saber quais gêneros são responsáveis por esta queda e reestabelecimento do táxon relacionado a estresses combinados, tendo em vista que embora para táxon a abundância relativa tenha aumentado, não se sabe as modificações causadas internamente no táxon (variações da diversidade, riqueza e equitabilidade).

4.7.4 Dissimilaridade da fauna exposta a diferentes concentrações de fenantreno em 35°C

Embora a dissimilaridade da fauna não apresente um padrão de aumento de acordo com o aumento das concentrações de fenantreno, seu efeito permaneceu direcional, afetando os taxa mais raros. A mudança na liderança na contribuição da similaridade de nematodas para copépodos nas concentrações de 1,0, 2,5 e 5,0ppm pode ser explicada pelo fato de que copépodos dominaram estas concentrações aqui citadas, o que levou a sua liderança na contribuição da similaridade da fauna.

4.7.5 Variações dos fatores abióticos

Em relação as variações dos fatores abióticos, a pouca variação em todos os experimentos aqui realizados, da matéria do teor de orgânica da (MOT), dos tamanhos de grão, PH, de todas as réplicas em todos os tratamentos contribuíram para o sucesso do presente experimento, tendo em vista que estes fatores quando variam significativamente nos experimentos, podem causar a perda total do mesmo (SANTOS, Anna Carolina Chaaban e colab., 2018). O sucesso do presente experimento durante os 30 dias, também nos mostra que o design experimental utilizado pode ser considerado vantajoso em relação a outros tipos de

designs que só aeram a parte superior do sedimento podendo causar hipóxia ou até mesmo inóxia do experimento (Vafeiadou et al., 2018).

5 CONCLUSÃO

O presente estudo experimental expôs a comunidade da meiofauna à diferentes concentrações de fenantreno, diferentes temperaturas e os efeito combinados de diferentes concentrações com sua temperatura aumenta. Com o experimento de fenantreno obteve-se mudanças na densidade e estrutura da fauna, além de redução da riqueza e equitabilidade de acordo com o aumento das concentrações. No experimento de temperatura também houve a redução das densidades e diferenças na riqueza e equitabilidade com o aumento das temperaturas, porém, a estrutura da fauna não foi modificada, afetando assim, os taxa de forma igualitária. Já no experimento com concentrações de fenantreno submetida à temperatura mais elevada, obteve-se a redução das densidades totais sem seu reestabelecimento até o final do experimento, diferenças na riqueza e equitabilidade além da extinção de alguns taxa mesmo em concentrações consideradas baixas (quando comparadas ao estudo apenas com fenantreno), o que comprova a gravidade da junção dos fatores. Com isso pode-se concluir que o aumento da temperatura pode potencializar o efeito do fenantreno nas comunidades da meiofauna, levando a quedas de suas densidades totais sem seu reestabelecimento, modificações na estrutura da fauna além da redução e extinção de grupos que não seriam reduzidos ou extintos quando expostos apenas por um dos fatores (Fenantreno ou Temperatura), mostrando assim a gravidade da junção de aquecimento com a contaminação que ocorre no ambiente. Também é importante salientar a necessidade de mais estudos acerca destes efeitos somatórios (contaminação e aumento da temperatura), com mais contaminantes e diferentes temperaturas afim de aumentar nosso conhecimento a respeito de como outros contaminantes afetam a meiofauna quando somados com diferentes temperaturas.

2.2. ARTIGO 2.

EFEITOS DO FENANTRENO NA POPULAÇÃO DO NEMATOIDE DE VIDA-LIVRE *DIPLOLAIMELLOIDES DELYI* (ANDRASSY,1958) E SUA POSSÍVEL POTENCIALIZAÇÃO COM O AUMENTO DA TEMPERATURA

RESUMO

O fenantreno é um dos HPA's mais encontrados no ambiente marinho, apresentando lipoafinidade e alta persistência ambiental, o mesmo tende a decantar para o meio bentônico, causando efeitos em diversos organismos ali presente como os nematoides, esses efeitos, podem ser agravados com o aumento da temperatura. Logo, o presente estudo investiga mudanças nos parâmetros populacionais de uma espécie de nematoide sob diferentes concentrações de fenantreno, assim como sua possível potencialização e incremento com o aumento da temperatura. O fenantreno se mostrou tóxico para os nematoides da espécie *Diplolaimelloides delyi* modificando seu crescimento populacional a partir da concentração de $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, seus tempos de desenvolvimento e fecundidade foram afetados a partir da concentração de $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esses efeitos se mostraram potencializados com o aumento da temperatura, causando mortalidade em 100% da população, fato que não ocorre nessas mesmas concentrações em interação com a menor temperatura testada com isso, conclui-se que, o aumento da temperatura potencializou o efeito do fenantreno nos parâmetros populacionais dos nematoides da espécie *diplolaimelloides delyi*.

Palavras-Chave: Ecotoxicologia, Fenantreno, Temperatura, Nematoda, Potencialização.

ABSTRACT

Phenanthrene is one of the HPA'S's most found in the marine environment, presenting lipid and high environmental persistence, which tends to decant to the benthic environment, causing effects in several organisms present as the nematoids, these effects can be aggravated with the increase of temperature. Therefore, the present study investigates changes in the population parameters of a nematode species under different concentrations of Phenanthrene, as well as its possible potentiation and increase with increasing temperature. Phenanthrene was shown to be toxic to the nematodes of the *Diplolaimelloides delyi* species, modifying their population

growth from the concentration of 1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, their development and fecundity times were affected from the concentration of 2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. These effects were potentiated with the increase in temperature, causing mortality in 100% of the population, a fact that does not occur in these same concentrations in interaction with the lower temperature tested with this, it is concluded that, the increase of temperature potentiated the effect of Phenanthrene in the population parameters of the nematodes of the species *diplolaimeloides delyi*.

Keywords: Ecotoxicology, Phenanthrene, Temperature, Nematoda, Potentiation.

1 INTRODUÇÃO

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) são um grupo de poluentes bastante encontrado no ambiente marinho liberados de diversas formas nos oceanos através de: descargas industriais; derrames acidentais; exploração de gás e óleos (YE e colab., 2007), podendo ser encontrados até em ambientes extremos como na Antártica através de naufrágios, navios encalhados entre outros (STARK e colab., 2017).

Com a liberação de HPA's em todos os ecossistemas marinhos, pesquisadores à décadas tentam entender quais problemas estes compostos podem trazer para estes ambientes (CERNIGLIA, 1993; STRINGER e colab., 2012). Em resposta a este questionamento, foi-se descoberto que, esses compostos, provocam impactos negativos aos organismos marinhos, através de mudanças fisiológicas e metabólicas, causando problemas em seu desenvolvimento e sobrevivência (ALVES e colab., 2017; ENGRAFF e colab., 2011; LOUATI, Hela e colab., 2014; NAHRGANG e colab., 2013; REN, Shijin, 2002). Além disso, também afetam a abundancia e biomassa desses organismos (HAEGERBAEUMER e colab., 2018) podendo bioacumular em concentrações que não são permitidas (SOJINU e colab., 2019) e subsequentemente levar a problemáticas ainda maiores nos organismos e cadeia trófica.

Um desses HPA'Ss é o fenantreno, sendo um dos mais encontrados no ambiente marinho (CERNIGLIA, 1993), apresentam alta lipoafinidade, alta persistência ambiental (STRINGER e colab., 2012), exibindo também, alto poder mutâgênico em diversos organismos (LOUATI, Hela e colab., 2014). Já se foi constatado estudos acerca do fenantreno em alguns organismos marinhos, analisando sua toxicidade como em *Daphnia*, alterando seu desenvolvimento (Frydkjær et al., 2017), Amfípodas, alterando seu comportamento (Gauthier et al., 2016) e Copépodas, alterando sua reprodução (LOUATI, Hela e colab., 2014).

Embora os HPA'Ss, incluindo o fenantreno já demonstre efeitos bastante negativos para diversos organismos marinhos, esses efeitos podem ser agravados quando somados com outros impactos como o aumento da temperatura (SCHIEDEK e colab., 2007). O aumento da temperatura global vem criando impactos em grande escala aos ecossistemas marinhos (IPCC, 2014). Estudos realizados nos últimos anos estimam que a temperatura da superfície do mar aumentará de 1 °C até 4 °C até o final do século 21 (COLLINS e colab., 2013; IPCC, 2014). Isso influencia negativamente os nichos das espécies levando grandes distúrbios nas comunidades marinha (DANOVARO e colab., 2001; VAFEIADOU e CHINTIROGLOU e colab., 2018), bem como afetando interações interespecíficas, assim como também a aptidão das espécies (DE MEESTER e colab., 2015) gerando um efeito assolador para o ecossistema com reflexo na população humana (ROSENZWEIG e colab., 2008).

Embora já se tenha a conscientização de que os HPA's e o aumento da temperatura ocorrem simultaneamente no ambiente, o número desse tipo de investigação é bastante escasso (LAETZ e colab., 2014; ZEBRAL e colab., 2019), havendo a necessidade de estudos com esta interação, para assim, ter um melhor entendimento e representação de como os efeitos simultâneo dos HPA's e aumento da temperatura afetam atualmente os organismos marinhos a nível populacional e de comunidades (NADAL e colab., 2015).

Para análise dos impactos de contaminação por HPA's, aumento da temperatura e a interação entre eles, a nematofauna apresenta ser um filo ideal e bastante vantajoso para tais estudos, uma vez que estes, são organismos intertidais e meiofaunais (vivem entre os grão de sedimento), com baixa motilidade (ficando em contato direto com o contaminante), facilmente encontrados e mais abundantes em comunidades bentônicas, onde através do seu contato direto com partículas dissolvidas na água e pela sua cutícula semipermeável, oferecem ótimas possibilidades de interpretação das condições ecológicas do ambiente, além de ser facilmente cultivados em laboratório (MOENS, Tom e colab., 2013). Estes organismos já foram utilizados como modelos em estudos de ecotoxicologia (GUTIÉRREZ e colab., 2016; MARTINEZ e colab., 2018; MONTEIRO e colab., 2014), e fatores abióticos como temperatura (MOENS, Tom e VINCX, 2000a; VAFEIADOU e CHINTIROGLOU e colab., 2018) legitimando que sua utilização para entender mudanças no ecossistema marinho é extremamente útil.

Estudos anteriores já foram feitos utilizando o fenantreno como um fator prejudicial ao meiobentos marinho no geral (LOUATI, Hela e colab., 2014; STRINGER e colab., 2012). Todavia, efeitos causados pelo fenantreno numa população de nematoides analisando seu crescimento populacional e parâmetros embrionários ainda não foram realizados, muito menos,

a possível potencialização desses efeitos através do aumento da temperatura. Com isso, o objetivo do presente trabalho é analisar mudanças nos parâmetros populacionais de uma espécie de nematoide sob diferentes concentrações de fenantreno, assim como sua possível potencialização e incremento da letalidade com o aumento da temperatura. Subsequentemente espera-se que: H₁- haverá uma diferença significativa no crescimento populacional e parâmetros embrionários dos nematoides marinhos, ocasionados pelas diferentes concentrações de fenantreno; H_{1.1}- e que seu efeito será potencializado através do aumento da temperatura.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Planejamento experimental dos diferentes experimentos

Para obtenção dos resultados, foram realizados 3 experimentos de microcosmos. O primeiro experimento foi feito apenas com diferentes concentrações de fenantreno exposto a uma temperatura de 25°C (para indicação do efeito do contaminante), o segundo com diferentes temperaturas (para indicação apenas do efeito da temperatura), e o terceiro com diferentes concentrações de fenantreno associados a duas temperaturas (30°C e 32°C) mais elevada para análise dos efeitos combinados (Fenantreno + Temperatura).

2.2 Área de realização da coleta

A coleta foi na praia do Cupe que fica localizada na cidade de Ipojuca –PE (8°27'29.4"S 34°59'03.2"W) onde realizou-se uma raspagem do sedimento superficial, a uma profundidade não maior que 2 cm. Após a coleta o sedimento foi levado diretamente ao laboratório onde subsequentemente, foi utilizado na montagem de inóculos seguindo protocolo pré-estabelecido (Moens, t. and Vincx, 1998) e após duas semanas, fez-se culturas para o isolamento (MOENS, Tom e VINCX, 1998) da espécie escolhida, sendo todos os indivíduos utilizados nos experimentos provenientes destas culturas.

2.3 Escolha da espécie utilizada como biomodelo

A espécie escolhida para o presente estudo foi *Diplolaimelloides delyi* que apresentou uma grande abundância em todos os inóculos realizados anteriormente. O gênero *Diplolaimelloides* é constituído de oportunistas que habitam macrófitas em ambientes litorâneos com temperaturas semelhante as de ambiente tropical, e como outros da família Monhysteridae, também podem ser encontrados em sedimento. *Diplolaimelloides* alimenta-se basicamente de bactérias, todavia, pequenos protistas também podem fazer parte da sua alimentação (MOENS, Tom e VINCX, 1997). Embora poucos estudos sejam feitos com a

presente espécie (NEWELL e colab., 1981; VAN GAEVER e colab., 2009), este gênero é bastante utilizado como biomodelo, sendo utilizado em experimentos relacionados a temperatura e salinidade (MOENS, Tom e VINCX, 2000a), alimentação (DOS SANTOS, G A P e colab., 2008) e contaminação, como com metais pesados (BOGAERT e colab., 2000; NASIRA e colab., 2010). O uso da espécie escolhida no presente trabalho amplia o leque de espécies do gênero *Diplolaimelloides* utilizada como biomodelo.

2.4 Preparação do cultivo experimental

2.4.1. Elaboração do meio de cultivo experimental

Para a elaboração do ágar experimental misturou-se 1L de água destilada, onde se acrescentou-se sal marinho da Instant Ocean até a obtenção de salinidade a 25, logo após foi adicionado 6g de ágar bacteriológico, em seguida, a mistura foi homogeneizada e autoclavada (Moens and Vincx, 1998). Logo após o ágar foi enriquecido com 100µl de colesterol, pois nematoides não conseguem sintetizar esteroides quando sua única fonte de alimento são bactérias (VANFLETEREN, 1980).

2.4.2 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* à diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

2.4.2.1 Fenantreno e solvente

O fenantreno utilizado (98% de pureza, Sigma Aldrich) foi diluído com acetona 99% de pureza. Um experimento piloto foi realizado e seus dados experimentais (não publicados), mostraram que a concentração de acetona utilizada como solvente não trouxe efeitos tóxicos significativos na população de *D.delyi* em relação ao controle.

2.4.2.2 Montagem das placas

O experimento foi realizado em placas de Petri de 5 cm de diâmetro com 5 ml de ágar bacteriológico, cada placa com uma salinidade de 25 como descrito em (Moens and Vincx, 1998). As concentrações foram estabelecidas através de uma solução estoque (200ppm) de fenantreno e acetona misturados ao ágar em cada placa. As placas foram cuidadosamente homogeneizadas no intuito de obter a homogeneidade das concentrações em todas as placas. Ao fim da preparação das placas obtiveram-se as concentrações de: Controle (sem

contaminante), Controle do solvente (50µl), 0,1 µg mL⁻¹, 1,0 µg mL⁻¹, 2,5 µg mL⁻¹, 5,0 µg mL⁻¹, 10,0 µg mL⁻¹ e 20,0 µg mL⁻¹ com 4 réplicas para todas as concentrações totalizando 32 placas em todo o experimento. O gradiente de concentrações foi baseado em estudos de análises de fenantreno encontrados em sedimento e água (MACDONALD, Donald D e colab., 2000; MCCREADY e colab., 2006).

2.4.3 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* ao aumento da temperatura

2.4.3.1. Montagem das placas

O experimento foi realizado em placas de Petri de 5 cm de diâmetro com 5ml de ágar bacteriológico cada placa com uma salinidade de 25 (Moens and Vincx, 1998), sem a utilização de contaminação. As placas foram depositadas em incubadoras com temperaturas reguladas com controladores eletrônico com precisão de $\pm 1^{\circ}\text{C}$, no total 5 temperaturas foram utilizadas, temperaturas normalmente encontradas no ambiente da coleta 25°C, 28°C, 30°C e duas temperaturas acima da temperatura ambiente 32°C e 35°C simulando um possível cenário de aquecimento ambiental dos próximos 100 anos (IPCC, 2014). Todos os tratamentos com 4 réplicas, totalizando 20 placas em todo o experimento.

2.4.4 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* à diferentes concentrações de fenantreno com aumento da temperatura (30°C e 32°C)

2.4.4.1 Montagem das placas

O experimento com efeito combinado fenantreno e temperatura mais elevada, também foi realizado em placas de Petri de 5 cm de diâmetro com 5ml de ágar bacteriológico (Moens and Vincx, 1998). A temperatura escolhida foi a máxima encontrada no local de coleta (30°C), assim como também uma outra temperatura de 32°C, com o objetivo de simular o aumento da temperatura global. As concentrações finais foram as mesmas e estabelecidas igualmente ao experimento apenas com fenantreno (Tópico 2.4.2.2). Todas as concentrações obtidas apresentaram 4 réplicas totalizando 32 placas por experimento. As placas foram mantidas em câmaras com temperatura controlada de 30°C.

2.5 Pré-seleção e limpeza dos nematoides

A pré-seleção e limpeza dos nematoides são realizadas extraindo machos e fêmeas grávidas de *D. delyi* de culturas pré-existent através de uma agulha de tungstênio e mantidos

em água do mar estéril por 2 horas para amenizar a transferência de bactéria vinda do cultivo nos experimentos, de toda forma os experimentos foram realizados com ágar pobre em nutrientes o que também ajuda a manter o crescimento bacteriano menor possível e assim não interferindo na resposta experimental.

2.6 Processamento de montagem dos experimentos realizados

Os nematoides foram retirados da água do mar com a ajuda da agulha de tungstênio e transferidos para uma gota (100 µl) de água do mar artificial estéril na superfície do ágar, evitando o contato da agulha com a superfície, desta forma reduzindo a formação de sulcos/danos na superfície do ágar, prevenindo que os experimentos tenham uma possível contaminação através de fungos ou bactérias. Foram inoculados 10 machos e 10 fêmeas em cada placa de Petri de cada experimento. As contagens foram realizadas a cada 2 dias durante um período de 30 dias. A alimentação dos nematoides foi feita a cada 15 dias com a adição de 50 µl de *Escherichia coli* $3 \times 10^{10} \text{ ml}^{-1}$ morta e descongelada.

2.7 Análise de dados

Os parâmetros populacionais (Quadro1), foram calculados pelo Excel 16. A população de adultos foi calculada pelo somatório da população de machos + população de fêmeas. Os cálculos dos parâmetros de tempo de desenvolvimento total (TDT), tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDPRE), tempos de desenvolvimento pós-embriônico (TDPE), proporção sexual, fecundidade diária e fecundidade total, todos seguiram a metodologia descrita em Moens and Vincx (2000) (Tabela 1).

A análise de crescimento populacional de adultos, juvenis e ovos foi realizada através da área sob a curva (ASC) utilizando o programa Sigmaplot V.12.5, o teste de Shapiro- Wilk foi utilizado para analisar a normalidade dos dados, indicando se os mesmos apresentavam ou não um padrão normal de distribuição. Os parâmetros foram analisados através do software PRIMER v6 pelo teste não-paramétrico de Análise de Variância multivariada Permutacional (PERMANOVA). Os dados foram baseados distância euclidiana com 9999 permutações, quando os dados apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$), realizou-se comparação aos pares (Pair-wise Test). O teste PERMEDISP também foi realizado para testar se a homogeneidade foi definida pelos tratamentos ou por outros fatores.

Tabela 1- Modo de como obter os valores dos Parâmetros populacionais de *Diplolaimelloides delyi*: Fecundidade Total, Fecundidade diária, Tempo de desenvolvimento total, Tempo de desenvolvimento pós-embriônico, Tempo de desenvolvimento pré-embriônico e Proporção sexual. Fonte: (Moens and Vincx, 2000).

Parâmetros populacionais	Cálculo
Fecundidade total (FT)	Número total de ovos colocados durante todos os dias experimentais.
Fecundidade diária (FD)	Média do número de ovos postos por dia (Fecundidade total / X dias de experimento).
Tempo de desenvolvimento total (TDT)	Somatório das regressões de adultos com as regressões de ovos.
Tempo de desenvolvimento pós-embriônico (TDpós)	Subtração do Tempo de desenvolvimento total com o pré-embriônico.
Tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDpré)	Subtração das regressões de juvenis com as regressões de ovos.
Proporção sexual	Número de fêmeas dividido pelo número de machos (valores <1 significa que a população é dominada por machos e o inverso, população dominada por fêmeas).

3 RESULTADOS

3.1 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* à diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

3.1.1 Crescimento populacional da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno

No experimento com fenantreno a 25°C, os ovos surgiram logo nos 2 primeiros dias de experimento nos controles (C, CS) e nas concentrações mais baixas (0,1, 1,0 e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Enquanto em 5,0 e 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, os ovos surgiram a partir do 3º dia. Os juvenis surgiram a partir do 6º dia nos controles (C e CS) e nas menores concentrações de 0,1, 1,0 e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As concentrações intermediárias para altas (5,0 e 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$), juvenis surgiram de forma

tardia a partir do 8º dia de experimento. Os adultos surgiram a partir do 16º dia nos controles (C, CS), e em 0,1, 1,0 e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, tendo seu crescimento na concentração de 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ a partir do 18º dia. A população inicial de adultos decresceu a partir do 1º dia em 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com mortalidade total após o 10º dia. Não foram observados ovos ou juvenis em 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

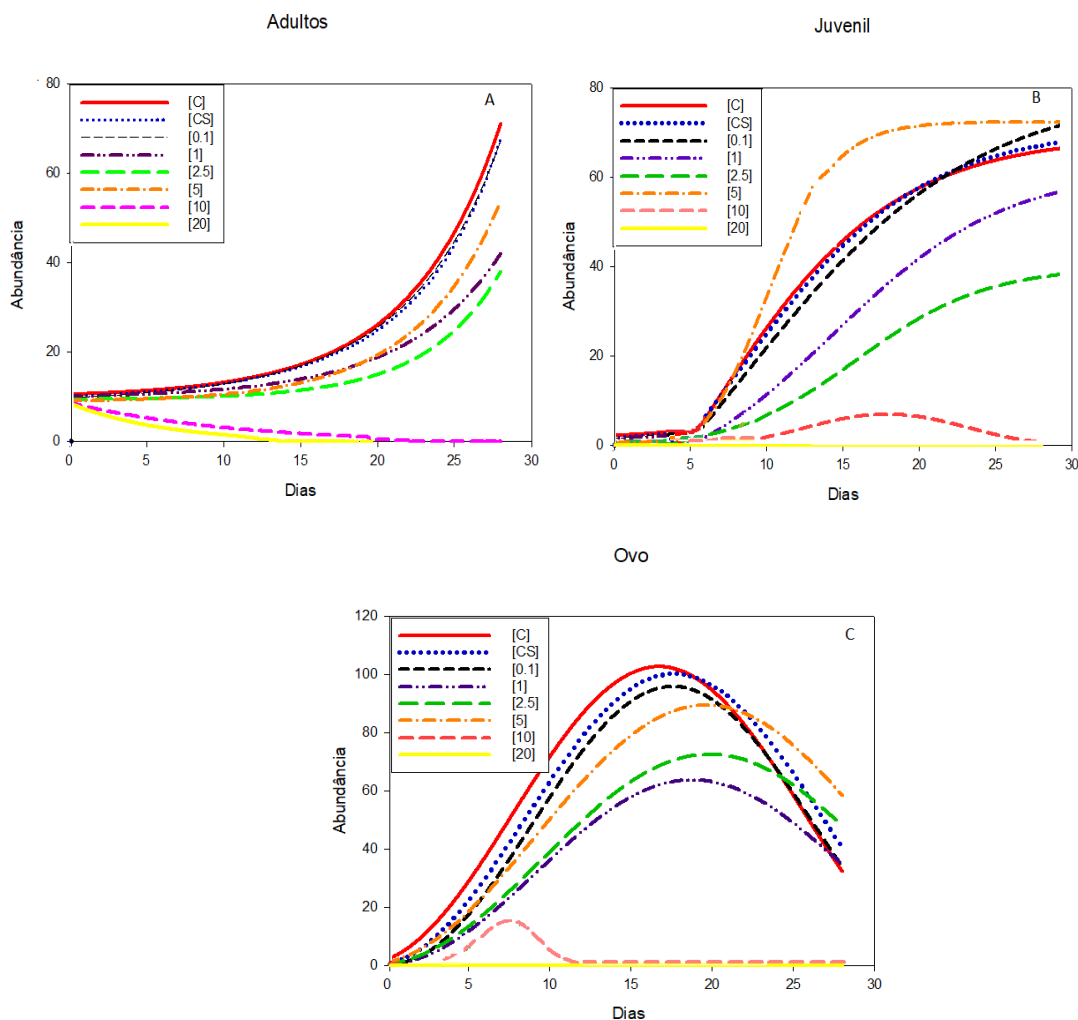
Para adultos, houve diferença significativa no crescimento populacional (Pseudo-F = 2,22; $p = 0,0001$), ao qual, os tratamentos C, CS e 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ apresentaram um maior crescimento populacional, seguidos de 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 1A). As duas maiores concentrações não apresentaram crescimentos populacional em adultos. Em relação à comparação entre os tratamentos, o controle formou um grupo com C, CS e 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, diferindo significativamente das demais concentrações ($p < 0,05$) e as duas concentrações mais altas também diferiram de todas as demais concentrações ($p < 0,05$).

Para juvenis, também houve diferença significativa em seu crescimento populacional (Pseudo-F = 13,93; $p = 0,0001$), sendo o tratamento com 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ o tratamento de maior crescimento populacional seguidos de 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e os tratamentos controles, os tratamentos de 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ vieram em seguida. Para 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, houve um leve crescimento de juvenis, todavia os mesmos morreram após 26 dias de experimento (Figura 1B). Em comparação entre os tratamentos, formou-se um grupo com os tratamentos de C, CS, 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, variando estas das demais concentrações ($p < 0,05$).

Para ovos também obtivemos diferenças significativa (Pseudo-F = 45,1; $p = 0,0001$) entre os tratamentos, havendo os maiores crescimentos populacionais a partir de 16 dias nos tratamentos de C, CS e 0,1, seguidos de 5,0, 2,5 e 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ houve o surgimento um leve crescimento de ovos, porém todos morreram após 11 dias de experimentos (Figura 1C). Quando os tratamentos foram comparados entre si, os tratamentos de C, CS, 0,1 e 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ também variaram das demais concentrações. As duas concentrações mais altas também diferiram de todas as demais concentrações ($p < 0,05$).

A não diferença significativa em adultos, juvenis e ovos dada pelo PERMEDISP (Adulto: $p = 0,704$; juvenil: $p = 0,40$; ovo: $p = 0,50$) indica que a diferença entre os tratamentos não foi causada pela dispersão. O tratamento C e o CS não diferiram significativamente nem em adultos ($p = 0,31$) nem em juvenil ($p = 0,51$) nem em ovos ($p = 0,14$) o que nos comprova que o solvente não interferiu no respectivo experimento.

Figura 1- Curvas ajustadas da tendência de variação das médias das abundâncias em 25 °C de indivíduos adultos (A), juvenis (B) e ovos (C) de *Diplolaimelloides delyi* ao longo do experimento no controle, controle de solvente, e nas diferentes concentrações de fenantreno testadas (0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$).



3.1.2 Resposta nos tempos de desenvolvimento em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

O tempo de desenvolvimento pré-embrionário (TDPRE) da presente espécie estudada (Tabela 2), não variou significativamente entre os tratamentos (Pseudo-F = 2,2; $p = 0,087$), e teve média de $3,23 \pm 0,21$ dias para o tratamento controle à $3,20 \pm 0,22$ dias em uma concentração de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Na concentração de $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ não obtivemos dados de TDPRE, pois, nesta concentração, não ocorreu o aparecimento de ovos nem de juvenis. O tempo de desenvolvimento pós-embrionário (TDPE) variou significativamente entre os tratamentos (Pseudo-F = 3,73; $p = 0,01$) onde, quando visto aos pares a concentração de $5\mu\text{g/mL}$ variou das demais concentrações ($p < 0,05$). O TDPE teve média de $10,19 \pm 0,33$ dias no tratamento controle à $12,52 \pm 0,22$ dias na concentração de $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. O tempo de

desenvolvimento total (TDT) diferiu significativamente entre os tratamentos (Pseudo-F = 6,37; $p = 0,002$), quando analisado entre pares, o controle formou um grupo com os tratamentos mais baixos (C, CS, 0,1, 1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$), diferindo os mesmos dos tratamentos de 2,5 e 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($p < 0,05$). O TDT variou em uma média de $15,99 \pm 0,44$ dias para o tratamento controle à $18,01 \pm 0,20$ dias em 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Também não obtivemos dados de TDPE e TDT nas concentrações de 10.0 e 20.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, pois, nessas concentrações, não houve aparecimento de adultos para a presente análise. Os valores do PERMEDISP para todos os tempos de desenvolvimento (TDPRE: $p = 0,07$; TDPE: $p = 0,70$; TDT: $p = 0,40$) nos mostra que as diferenças entre as temperaturas não foram causadas por dispersão

Tabela 2- Médias e Erro Padrão do Tempo de desenvolvimento total (TDT), Tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDPRE) e Tempo de desenvolvimento pós-embriônico (TDPE) de *Diplolaimelloides delyi*, nas diferentes concentrações de fenantreno a 25°C. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente do controle ($p < 0,05$).

Concentrações	Controle	CS	0,1 µg mL ⁻¹	1,0 µg mL ⁻¹	2,5 µg mL ⁻¹	5,0 µg mL ⁻¹	10,0 µg mL ⁻¹	20,0 µg mL ⁻¹
TDPRE	3,23 ± 0,21	3,47 ± 0,1	3,02 ± 0,28	2,76 ± 0,32	2,68 ± 0,54	3,16 ± 0,19	3,20 ± 0,22	-
TDPE	10,19 ± 0,33	9,48 ± 0,68	9,9 ± 0,21	9,39 ± 0,42	10,98 ± 0,54	12,52 ± 0,22*	-	-
TDT	15,99 ± 0,44	15,21 ± 0,47	15,57 ± 0,23	15,72 ± 0,21	17,40 ± 0,51*	18,01 ± 0,20*	-	-

3.1.3 Respostas na fecundidade diária e total em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

Houve uma diferença significativa nos tratamentos em relação à fecundidade diária (Pseudo-F = 4,52; $p = 0,03$) onde houve uma redução brusca desta, entre os tratamentos de [5,0] e [10,0]. Quando foi realizada a comparação entre os tratamentos observou-se que as concentrações de 2,5 e 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ obtiveram as menores fecundidades diferindo-as significativamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$). A fecundidade diária variou de cerca de $21,91 \pm 1,18$ no controle à $0,4 \pm 0,07$ em 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 3).

A fecundidade total também apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Pseudo-F = 2,03; $p = 0,04$) onde 2,5 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ apresentaram uma redução desta quando comparado aos demais tratamentos ($p < 0,05$). A fecundidade total variou de $613 \pm 33,17$ à CS à $11 \pm 2,01$ em 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ mostrando mais uma vez, a redução de ovos causados pelo efeito do contaminante. Não obtivemos dados de fecundidade diária nem total no tratamento de 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pois, os mesmos, não apresentaram surgimento de ovos, ocorrendo uma letalidade súbita pré-reprodutiva.

Tabela 3- Médias e Erro Padrões da Fecundidade total e Fecundidade diária de *D. delyi*, nas diferentes concentrações de fenantreno a 25 °C. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0,05$). O (***) refere-se a falta de ovos para a presente análise.

Tratamentos	Fecundidade total	Fecundidade diária
C	$548 \pm 24,48$	$19,57 \pm 0,87$
CS	$513 \pm 33,17$	$21,91 \pm 1,18$
0,1	$591 \pm 29,32$	$21,11 \pm 1,04$
1,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	$515 \pm 12,19$	$18,39 \pm 0,43$
2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	$426 \pm 8,61^*$	$15,22 \pm 0,30^*$
5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	$537 \pm 14,67$	$19,18 \pm 0,52$
10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	$11,00 \pm 2,01^*$	$0,4 \pm 0,07^*$
20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	***	***

3.1.4 Respostas na proporção sexual em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

A proporção sexual não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Pseudo-F = 0,70; $p = 0,56$) tendo todos os tratamentos uma dominância de fêmeas. Todavia a dominância de fêmeas foi reduzida com o aumento das concentrações (Tabela 4). As proporções sexuais variaram de $1,23 \pm 0,11$ no CS à $1,04 \pm 0,04$ em 5,0 mL^{-1} . Não se obteve respostas na proporção sexual nas concentrações de 10,0 e 20,0 mL^{-1} pois as mesmas não desenvolveram

população de adultos ao longo do experimento.

Tabela 4- Médias e erros padrão da proporção sexual de *D. delyi*, nas diferentes concentrações de fenantreno. O (***) refere-se a falta de machos e fêmeas para a presente análise.

Tratamentos	Médias	Erro padrão
C	1,14	0,09
CS	1,23	0,11
0,1 $\mu\text{g ml}^{-1}$	1,22	0,02
1,0 $\mu\text{g ml}^{-1}$	1,09	0,05
2, 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$	1,05	0,08
5,0 $\mu\text{g ml}^{-1}$	1,04	0,04
10,0 $\mu\text{g ml}^{-1}$	***	***
20,0 $\mu\text{g ml}^{-1}$	***	***

3.2 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* ao aumento da temperatura

3.2.1 Crescimento populacional da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

No experimento com temperatura aqui citado, os ovos surgiram a partir do segundo dia em todas as temperaturas, os juvenis surgiram a partir do 6º dia nas temperaturas de 25°C, 28°C e 30°C, surgindo no 8º dia na temperatura de 32°C. Em relação aos adultos, os mesmos surgiram a partir do 16º dia tanto para macho quanto para fêmeas nas temperaturas de 25°C e 28°C, nas temperaturas de 30°C, 32°C os adultos surgiram entre o 17º dia de experimento. A respeito da temperatura de 35°C, não houve o crescimento de juvenis e de adultos na mesma temperatura também não houve crescimento populacional de adultos, morrendo todos os adultos colocados no experimento a partir do 6º dia experimental.

Para adultos, houve diferença significativa no crescimento populacional (Pseudo-F = 24,35; $p = 0,0001$), onde a menor temperatura, apresentou um maior crescimento populacional, havendo a redução do crescimento conforme o aumento das temperaturas nos demais tratamentos (Figura 2 A). Quando analisado entre os tratamentos, 25°C e 28°C não variaram entre si, com $p = 0,19$, porém ambas variaram em relação a todas as outras temperaturas ($p < 0,05$). A maior temperatura (35°C) também diferiu significativamente das demais concentrações, não havendo crescimento populacional nesta temperatura.

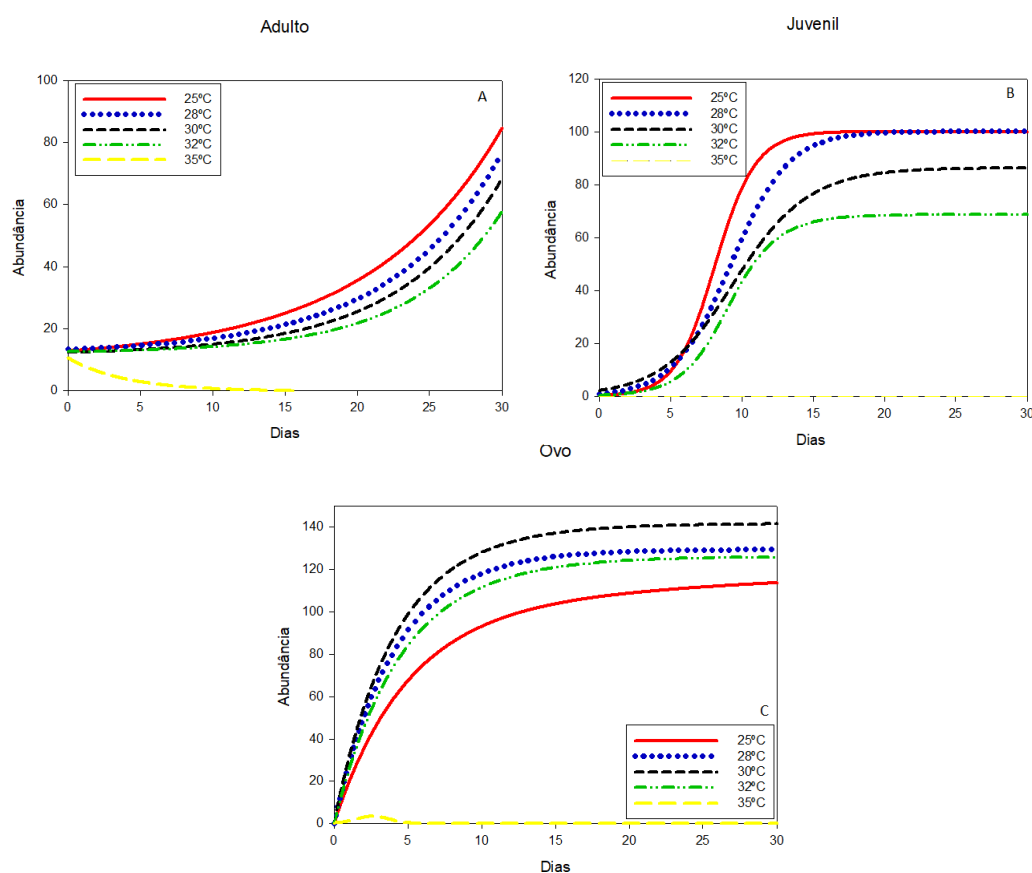
Em juvenil (Figura 2B) também houve diferença significativa no crescimento populacional (Pseudo-F = 29,09; $p = 0,023$), com a redução do crescimento com o aumento das temperaturas. Deve-se levar em consideração também que o crescimento populacional de juvenis se tornou linear estável em todas as temperaturas a partir de 15 dias de experimento.

Quando as temperaturas foram comparadas entre si, as temperaturas de 25°C e 28°C não variaram ($p = 0,096$), porém ambas variaram em relação a todas as outras temperaturas ($p < 0,05$).

A respeito do crescimento de ovos, houve diferença significativa (Pseudo-F = 0,36; $p = 0,0083$), havendo a maior deposição de ovos na temperatura de 30°C, seguidos de 28°C e 32°C (Figura 2C). A temperatura de 35°C apresentou um leve crescimento de ovos que logo sumiu a partir do 5 dia de experimento. Quando foi realizado a comparação entre as temperaturas, as temperaturas de 25°C e de 35°C diferiram das demais ($p < 0,05$) não havendo diferença significativa entre 28°C, 30°C e 32°C ($p > 0,05$).

A não diferença significativa em crescimento populacional de: adultos, juvenis e ovos foi seguida de uma não dispersão dos dados (PERMDISP; Adulto: $p = 0,062$; juvenil: $p = 0,18$; ovo: $p = 0,48$) ou seja, as réplicas de cada tratamento estão mais parecidos entre si do que as réplicas dos demais tratamentos.

Figura 2- Curvas ajustadas da tendência de variação das médias das abundâncias em indivíduos adultos (A), juvenis (B) e ovos (C) de *Diplolaimelloides delyi* ao longo do tempo (Dias) nas diferentes temperaturas estudadas (25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C).



3.2.2 Respostas nos tempos de desenvolvimento em populações da espécie *Diplolaimeloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

O tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDPRE) no presente experimento (Tabela 5), variou significativamente entre as temperaturas (Pseudo-F = 4,02; $p = 0,013$), ao qual houve a redução dos tempos de desenvolvimento com o aumento das temperaturas. Os TDPRE apresentaram médias de $3,67 \pm 0,28$ dias para 25°C à $2,29 \pm 0,29$ dias na temperatura de 32°C.

O tempo de desenvolvimento pós-embriônico (TDPE) no presente experimento apresentou uma redução de seu desenvolvimento com o aumento da temperatura, porém esta, não foi significativa (Pseudo-F = 0,50; $p = 0,63$) os TDPE apresentam uma média de $10,66 \pm 0,19$ dias para 25°C à $9,72 \pm 0,44$ dias na temperatura de 32°C.

O tempo de desenvolvimento (TDT) variou significativamente entre as temperaturas (Pseudo-F = 4,20; $p = 0,023$), também com a redução do TDT com o aumento das temperaturas. A análise entre os tratamentos apontou que as três temperaturas menores (25°C, 28°C e 30°C) formou um grupo diferindo significativamente ($p < 0,05$) da temperatura de 32°C. O TDT teve uma média de $15,33 \pm 0,20$ dias em 25°C e $13,55 \pm 0,42$ na temperatura de 32°C. Não obtivemos dados de TDPRE, TDPE nem de TDT da temperatura de 35°C, pois nesta temperatura não houve o crescimento de ovos nem juvenis.

Os valores do PERMEDISP para todos os tempos de desenvolvimento (TDPRE: $p = 0,12$, TDPE: $p = 0,50$, TDT: $p = 0,53$) nos mostra que a diferença entre as temperaturas não foram causadas por dispersão o que nos mostra que as réplicas de cada tratamento estão mais parecidas entre si do que as réplicas entre os tratamentos.

Tabela 5- Médias e Erro Padrão do Tempo de desenvolvimento total (TDT), Tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDPRE) e Tempo de desenvolvimento pós-embriônico (TDPE) de *Diplolaimelloides delyi*, nas diferentes temperaturas. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0,05$).

	25°C	28°C	30°C	32°C	35°C
TDPRE	3,67 ± 0,28	3,74 ± 0,30	2,5 ± 0,39	2,29 ± 0,29*	-
TDPE	10,66 ± 0,19	10,55 ± 0,30	10,22 ± 0,12	9,72 ± 0,44	-
TDT	15,33 ± 0,20	15,29 ± 0,49	14,72 ± 0,31	13,55 ± 0,42*	-

3.2.2 Respostas na fecundidade diária e total em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

Houve uma diferença significativa nos tratamentos em relação à fecundidade diária (Pseudo-F = 2,31; $p = 0,023$), onde as temperaturas de 25°C e 35°C apresentaram as menores fecundidades. Quando foi realizada a análise entre as temperaturas foi observado que as temperaturas de 25°C e 35°C diferiram das demais temperaturas ($p < 0,05$). A fecundidade diária variou cerca de $0,15 \pm 0,02$ na maior temperatura (35°C) à $41,48 \pm 4,96$ na temperatura de 30°C (Tabela 6).

A fecundidade total também apresentou diferença significativa entre as temperaturas (Pseudo-F = 0,15; $p = 0,03$), com 28°C apresentando a menor proporção de fêmeas, seguidos de 30°C e 32°C. Quando as temperaturas foram comparadas entre si, as temperaturas de 25°C e de 35°C variou das demais ($p < 0,05$) variando também entre elas. A fecundidade total variou de $4,00 \pm 0,75$ em 35°C à $1244 \pm 148,82$ em 30°C, mostrando mais uma vez que a temperatura de 35°C pode influenciar na queda de produção de ovos.

Tabela 6- Médias e Erro Padrões da Fecundidade total e Fecundidade diária de *D. delyi*, nas diferentes temperaturas (25°C, 28°C, 30°C, 32°C, 35°C). O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística ($p < 0,05$).

TRATAMENTOS	FECUNDIDADE TOTAL	FECUNDIDADE DIÁRIA
25 °C	*813 ± 15,57	27,12 ± 1,18*
28 °C	1142 ± 36,61	38,07 ± 1,22
30 °C	1244 ± 148,82	41,48 ± 4,96
32 °C	1094 ± 98,17	36,48 ± 3,27
35 °C	*4,00 ± 0,75	0,15 ± 0,02*

3.2.3 Respostas na proporção sexual da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

O parâmetro de proporção sexual, não apresentou diferença significativa entre as temperaturas (Pseudo-F 0,22; P=0,27) entretanto, verificou-se que em todos os tratamentos houve dominância de fêmeas. As proporções sexuais variaram de $1,05 \pm 0,02$ em 28°C à $1,22 \pm 0,05$ na temperatura de 25°C. Não se obteve respostas na proporção sexual na temperatura de 35 °C, pois nesta temperatura, não houve crescimento de machos e fêmeas ao longo do experimento (Tabela 7).

Tabela 7- Médias da proporção sexual e erro padrão de *D. delyi*, nas diferentes temperaturas. O (***) refere-se a falta do surgimento de machos e fêmeas para a presente análise.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	ERRO PADRÃO
25 °C	1,22	0,05
28 °C	1,05	0,02
30 °C	1,06	0,01
32 °C	1,08	0,03
35 °C	***	***

3.3 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* à diferentes concentrações de fenantreno com aumento da temperatura (30°C e 32°C)

3.3.1 Crescimento populacional da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno com aumento da temperatura (30°C e 32°C)

O experimento da exposição ao fenantreno com a temperatura de 32°C, teve o objetivo de simular o aumento da temperatura global, entretanto, não houve continuidade deste experimento, uma vez que todos os nematoides submetidos a esta condição morreram, sobrevivendo apenas os controles, e diante disso, esta temperatura associado ao contaminante parece ser letal, e limitante a sobrevivência da espécie *D. delyi*.

No experimento com fenantreno a 30°C, os ovos surgiram logo nos 2 primeiros dias de experimento em todas as concentrações, exceto em $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, onde os ovos surgiram a partir do 4º dia. Os juvenis surgiram a partir do 5º dia em todos os tratamentos, exceto na concentração de $5\mu\text{g/ml}$, que surgiram a partir do 6º dia de experimento. Os adultos surgiram a partir do 16º dia em todas as concentrações exceto em $5,0$, $10,0$ e $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, onde, não houve surgimento de adultos. Nas concentrações de $10,0$ e $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ não houve o aparecimento de ovos nem juvenis, pois, nesta concentração todos morreram após o 10º dia de experimento demonstrando que essas concentrações a esta temperatura (30°C) são concentrações letais agudas para a espécie.

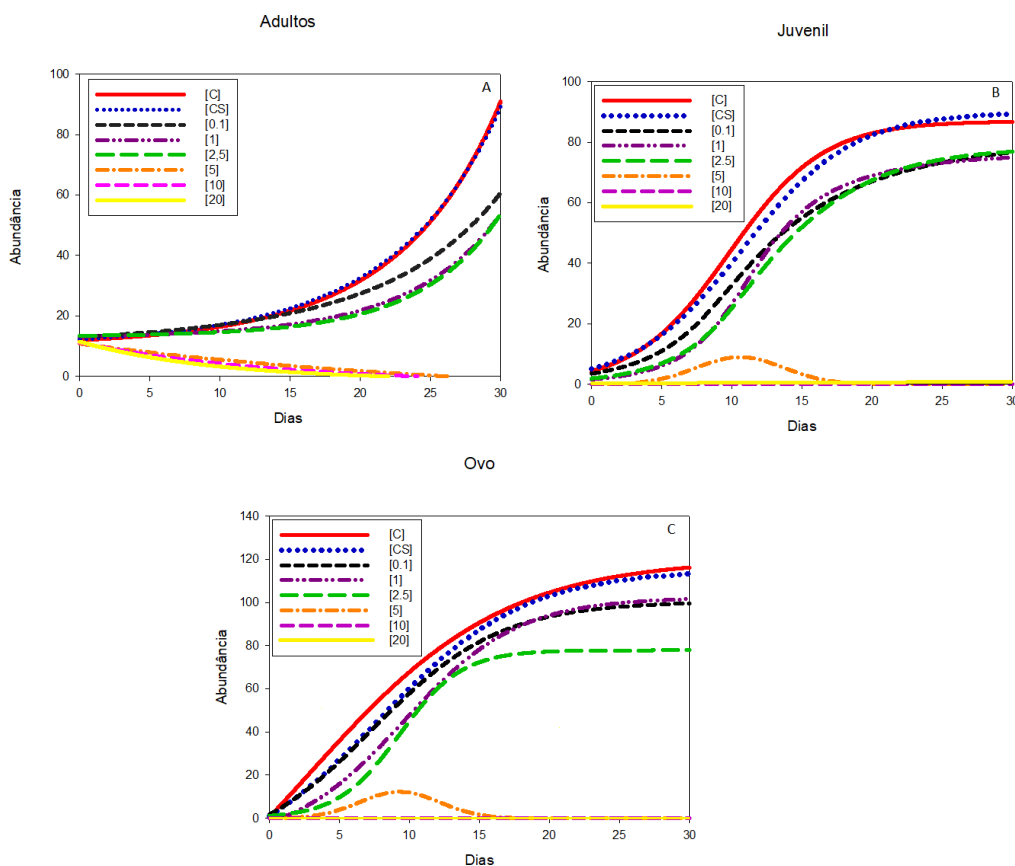
Para adultos, houve diferença significativa no crescimento populacional entre os tratamentos (Pseudo-F = 4,89; $p = 0,0001$), onde os controles (C, CS) apresentaram um maior crescimento populacional, seguidos de 0,1, 1,0 e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As concentrações de 5,0, 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ não apresentaram crescimentos populacional de adultos (Figura 3A). Quando comparado entre os tratamentos, o Controle (C) e o Controle do solvente (CS) diferiram significativamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$) e as três concentrações mais altas (5,0, 10 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$), não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Para juvenil, também houve diferença significativa em seu crescimento populacional (Pseudo-F = 45,90; $p < 0,05$), onde, os controles (C, CS) apresentaram maior crescimento populacional (Figura 3B). Quando comparados entre os tratamentos o [C] e [CS] diferiu de todas as demais concentrações ($P < 0,05$), As concentrações de 0,1, 1,0, e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ não variaram entre si, variando estas, das 3 maiores concentrações (5,0, 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Para ovos (Figura 3C) também obtivemos diferenças significativa (Pseudo-F = 97,44; $p = 0,01$), com maior crescimento populacional sendo dos controles (C, CS), seguidos das concentrações de 0,1, 1,0 e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Na concentração de [5,0] houve o crescimento populacional havendo seu desaparecimento a partir de 15 dias (Figura 4C). Quando os tratamentos foram comparados entre si [C] e [CS] diferiram de todas as demais concentrações e as duas concentrações mais altas não diferiram entre si ($p = 0,08$).

A não diferença significativa em adultos, juvenis e ovos dada pelo PERMEDISP (Adulto: $p = 0,36$; juvenil: $p = 0,081$; ovo: $p = 0,06$) nos mostra que a diferença entre os tratamentos não foi causada pela dispersão. O tratamento [C] e o [CS] não diferiram significativamente nem em adultos ($p = 0,79$) nem em juvenil ($p = 0,54$) nem em ovos ($p = 0,32$) o que nos comprova que o solvente não interferiu no respectivo experimento.

Figura 3- Curvas ajustadas da tendência de variação das médias das abundâncias em 30°C de indivíduos adultos (A), juvenis (B) e ovos (C) de *Diplolaimelloides delyi* ao longo do experimento no controle, controle de solvente, e nas diferentes concentrações de fenantreno testadas (0,1, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$).



3.3.2 Respostas nos tempos de desenvolvimento em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno na temperatura de 30°C

O tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDPRE) da espécie estudada (Tabela 7), apresentou valores relativamente próximos não variando assim, significativamente entre os tratamentos (Pseudo-F = 0,51; $p = 0,76$). O TDPRE apresentou média de $3,17 \pm 0,53$ dias para o tratamento controle à $2,95 \pm 0,10$ dias em uma concentração de $5,02,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 8).

O tempo de desenvolvimento pós-embriônico (TDPE) também, também obteve valores próximos, não variando significativamente entre os tratamentos (Pseudo-F = 2,55; $p = 0,085$). O TDPE teve média de $10,26 \pm 0,26$ dias no tratamento controle à $9,47 \pm 0,55$ dias na concentração de $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$.

O tempo de desenvolvimento total (TDT) diferiu significativamente entre os tratamentos (Pseudo-F = 15,21; $p = 0,003$), tendo os TDT aumento com o aumento das concentrações. Quando analisado entre os tratamentos o controle diferiu significativamente das concentrações de 1,0 e $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. O TDT variou em uma média de $15,44 \pm 0,66$ dias para o tratamento controle à $18,04 \pm 0,31$ dias na concentração de $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Não obtivemos dados de TDPRE nas concentrações de 10 e 20 $\mu\text{g/ml}$ pois, nessas concentrações não houve crescimento de ovos nem juvenis. Também não obtivemos dados de TDPE e TDT nas concentrações de 5,0, 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, pois, nessas concentrações, não houve aparecimento de adultos para a presente análise. Os valores do PERMEDISP para todos os tempos de desenvolvimento (TDPRE: $p = 0,23$; TDPE: $p = 0,72$; TDT: $p = 0,79$) comprovam que não houve dispersão.

Tabela 8- Médias e Erro Padrão do Tempo de desenvolvimento total (TDT), Tempo de desenvolvimento pré-embriônico (TDPRE) e Tempo de desenvolvimento pós-embriônico (TDPE) de *Diplolaimelloides delyi*, nas diferentes concentrações de fenantreno, exposto a 30°C. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0,05$).

	Controle	CS	0.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	2.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	10 $\mu\text{g L}^{-1}$	20 $\mu\text{g mL}^{-1}$
TDPRE	3,17 $\pm$ 0,53	3,18 $\pm$ 0,54	2,86 $\pm$ 0,44	2,97 $\pm$ 0,17	3,01 $\pm$ 0,45	2,95 $\pm$ 0,10	-	-
TDPE	10,26 $\pm$ 0,26	10,40 $\pm$ 0,96	9,8 $\pm$ 0,35	9,21 $\pm$ 0,29	9,47 $\pm$ 0,55	-	-	-
TDT	15,44 $\pm$ 0,66	15,22 $\pm$ 0,51	15,67 $\pm$ 0,41	17,18 $\pm$ 0,34*	18,04 $\pm$ 0,31*	-	-	-

3.3.3 Respostas na fecundidade diária e total em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno na temperatura de 30°C

Houve uma diferença significativa nos tratamentos em relação à fecundidade diária (Pseudo-F = 3,52; $p = 0,001$) onde, todas as concentrações diferiram do [C] e do [CS], havendo também, sua redução com o aumento das concentrações. A fecundidade diária variou de cerca de $35,66 \pm 1,16$ no [C] à $1,81 \pm 0,12$ em $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 9).

A fecundidade total também apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Pseudo-F = 3,20; $p = 0,004$), havendo a redução desta, de acordo com o aumento das concentrações. Todas as concentrações também variaram do [C] e do [CS] ($p < 0,05$). A fecundidade total variou de $1070 \pm 34,85$ no [C] à $54,5 \pm 3,7$ em $5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Não obtivemos dados de fecundidade diária nem total nos tratamentos de 10 e $20 \mu\text{g/mL}$ pois, os mesmos, não apresentaram surgimento de ovos.

Tabela 9- Médias e Erro Padrões da Fecundidade total e Fecundidade diária de *D. delyi*, nas diferentes concentrações de fenantreno exposto a 30°C. O (*) refere-se aos parâmetros que diferiram significativamente de forma estatística do controle ($p < 0,05$). O (***) refere-se a falta de ovos para a presente análise.

TRATAMENTOS	FECUNDIDADE TOTAL	FECUNDIDADE DIÁRIA
C	$1070 \pm 34,85$	$35,66 \pm 1,16$
CS	$1016 \pm 22,97$	$34,86 \pm 0,76$
$0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$	$911,25 \pm 11,35^*$	$30,37 \pm 0,37^*$
$1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	$913 \pm 4,5^*$	$30,43 \pm 0,15^*$
$2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$	$816 \pm 12,48^*$	$27,2 \pm 0,41^*$
$5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	$54,5 \pm 3,77^*$	$1,81 \pm 0,12^*$
$10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	***	***
$20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$	***	***

3.3.3 Respostas na proporção sexual em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno na temperatura de 30°C

O parâmetro de proporção sexual, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Pseudo-F = 1,38; $p = 0,29$) tendo todos os tratamentos uma dominância de fêmeas. Todavia, esta dominância foi reduzida com o aumento das concentrações. As proporções sexuais variaram de $1,34 \pm 0,07$ no [C] à $1,09 \pm 0,06$ em $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 10). Não se obteve respostas na proporção sexual nas concentrações de 5,0, 10,0 e $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, pois, as mesmas não tiveram crescimento de machos e fêmeas ao longo do experimento.

Tabela 10- Proporção sexual de *D. delyi*, nas diferentes concentrações de fenantreno. O (***) refere-se a falta de machos e fêmeas para a presente análise.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	ERRO PADRÃO
C	1, 34	0, 07
CS	1, 17	0, 13
0,1 µg ml ⁻¹	1, 27	0, 08
1,0 µg ml ⁻¹	1, 14	0, 03
2,5 µg ml ⁻¹	1, 09	0, 06
5,0 µg ml ⁻¹	***	***
10,0 µg ml ⁻¹	***	***
20,0 µg ml ⁻¹	***	***

4 DISCUSSÃO

4.1 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* à diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

4.1.1 Crescimento populacional da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno

No presente experimento foi observado redução do crescimento populacional em consequência a diferentes concentrações do fenantreno, mostrando assim, que os nematoides da espécie *D. delyi* são sensíveis a este contaminante. Este resultado corrobora com estudos anteriores que já mostraram a sensibilidade de alguns organismos da meiofauna ao fenantreno causando a redução no crescimento populacional ou causando esta redução através da letalidade nesses organismos. (Evans and Nipper, 2007; Sese et al., 2009; Stringer et al., 2012).

Em estudos anteriores com copépodos, foi relatada a diminuição do número de nauplios da espécie *Schizopera knabeni* com o aumento das concentrações de fenantreno (a partir de 2,39 µg mL⁻¹) em apenas 72H de experimento (EVANS e NIPPER, 2007). Tal fato corrobora com este trabalho uma vez que houve também uma redução no número de juvenis em concentrações, semelhantes como 1,0 µg mL⁻¹ e 2.5 µg mL⁻¹, reduzindo assim seu crescimento populacional. É importante salientar, que os estudos com copépodos são relevantes a nível de comparação com este estudo tendo em vista que estes organismos e nematoides são animais intersticiais, frequentando assim o mesmo habitat, sendo os taxa mais dominantes e compartilhando interações. Quando se trata de nematoides, um estudo realizado com o nematoide terrestre *Caenorhabditis elegans* foi visto a redução da sobrevivência dos indivíduos já existentes com o aumento das concentrações durante um período de 48 e 72H e durante o

mesmo período, também foi visto a redução do número de juvenis na medida em que a concentração de fenantreno aumentava (SESE e colab., 2009). Embora os estudos aqui citados sejam de experimentos de curta duração e concentrações semelhantes as menores utilizadas no presente experimento, os resultados destes, mostraram que, os mesmos (copédodos e o nematóide *C. elegans*), demonstram ser mais sensíveis ao fenantreno do que a espécie de nematóide aqui estudada (*D. delyi*), onde, foi utilizada uma amplitude maior de concentrações, com concentrações mais baixas intermediárias e mais altas (comparados com os estudos aqui citados) e o tempo de exposição do animal ao fenantreno também foi maior, dando uma resposta de longa data dos efeitos do fenantreno a longo prazo.

Um fato curioso no presente experimento é que na concentração de 5 µg/ml os juvenis obtiveram o maior crescimento populacional, superando até o crescimento dos controles, no entanto, este crescimento exacerbado não foi acompanhado em adultos, apresentando apenas este crescimento em juvenis. Este crescimento da quantidade de juvenis na espécie pode estar relacionado fato de que, alguns organismos, quando submetidos a concentrações intermediárias de poluentes tendem a reproduzir mais na tentativa de manter sua espécie no ambiente como já visto em copepodas, onde, quando submetidos a concentrações intermediárias de cobre, obteve maior índice de reprodução superando até o tratamento controle (MORAITOU e VERRIOPOULOS, 1979). Entretanto nem sempre esta estratégia é bem, sucedida, o que leva ao não acompanhamento deste crescimento em adultos como visto no presente estudo.

4.1.2 Resposta nos tempos de desenvolvimento em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

O aumento do tempo de desenvolvimento pós-embrionário (TDPE) e do tempo de desenvolvimento total (TDT) na concentração 5 µg mL⁻¹ (Tabela 2) evidencia um retardo da transição da fase juvenil para adulta em relação às demais concentrações testadas. Este retardo pode ser um fator que influenciou o significativo aumento do número de juvenis neste tratamento, gerando inclusive um crescimento semelhante ao observado no tratamento controle (Figura 1B).

Em relação à concentração de 2,5 µg mL⁻¹ também houve uma diferença significativa no TDT em relação ao controle, causando um retardo do animal para chegar até a fase adulta. No entanto, este retardo também veio somado com uma redução da abundância desde ovos. Uma das hipóteses é que esta redução provavelmente está atrelando ao fato de que o fenantreno, por ser um composto hidrofóbico tende a ligar-se a regiões lipofílicas do animal incluindo gônadas, levando a contaminação até os ovos (SPANN e colab., 2015). Esta contaminação dos

ovos, provavelmente reduziu a quantidade de ovos postos e eclodidos e consequentemente a quantidade de juvenis e adultos, levando não só a um retardo do TDT mas também a redução do crescimento populacional nesta concentração.

4.1.3 Respostas na fecundidade diária e total em populações da espécie *Diplolaimeloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

Na fecundidade diária e total, houve diferença significativa em relação ao controle nas concentrações de 2,5 e 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em relação a fecundidade diária e total de 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, esta, é considerada a concentração de efeito observado (CEO), no qual, houve a primeira redução significativa na ovoposição do nematoide *D. delyi*. A redução das fecundidades diária e total continua na concentração de 10,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, que inclusive, foi extremamente baixa, chegando a não haver ovos na maior concentração de 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Essa resposta se assemelha com um estudo realizado com o copépode *Acartia tonsa*, no qual, houve redução estatisticamente significativa na taxa de produção de ovos em concentrações de fenantreno extremamente baixas (0,32 e 0,42 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (BELLAS e THOR, 2007), quando comparadas com a concentração de efeito observado do presente estudo. Isso infere que o fenantreno afeta negativamente a ovoposição da espécie *D. delyi*, porém, este efeito só é observado em uma concentração muito mais alta (2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) do que a vista pelos copépodos (0,32 e 0,42 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Isso implica que a espécies *D. delyi*, apresenta uma resistência maior ao fenantreno em termos de fecundidade quando comparados ao copépoda da espécie *Acartia tonsa*. A concentração de 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ durante todo o experimento seguiu padrões independentes das outras concentrações, com isso, suas respostas não são concisas, sendo necessário uma investigação mais minuciosa para compreensão dessa atividade.

4.1.4 Respostas na proporção sexual em populações da espécie *Diplolaimeloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno em temperatura ambiente (25°C)

Embora que a proporção sexual não apresentou diferença significativa, aqui nós observamos claramente a tendência de uma redução de fêmeas com o aumento das concentrações. Já é sabido que alguns tipos de HPA's incluindo derivados de fenantreno são disruptores endócrinos (ZHANG e colab., 2016) podendo levar a modificação de proporções sexuais. Com isso, enfatizamos a necessidade de novos estudos a respeito do fenantreno na proporção sexual dos nematoides, para avaliar se o mesmo talvez em diferentes concentrações possa agir no organismo como disruptores endócrino.

4.2 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* ao aumento da temperatura.

4.2.1 Crescimento populacional da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

Embora a espécie *Diplolaimelloides delyi* seja pouco estudada, uma vez que documentos a seu respeito, bem como estudos acerca de como estressores pode influenciar seu modo de vida, são escassos (DE WARD e RUSSO, 2009; NEWELL e colab., 1981). Seu gênero já foi bastante utilizado (*Diplolaimelloides*), no intuito de mostrar o efeito da temperatura sobre a população, onde, observou-se variação em seu crescimento populacional, além de outros efeitos, como variação em seus tempos de desenvolvimento, redução do crescimento populacional (MOENS, Tom e VINCX, 2000a; VAFEIADOU e CHINTIROGLOU e colab., 2018), assim como visto no presente estudo.

Em relação ao crescimento de ovos, houve uma maior abundância em todas as temperaturas entre 28°C e 32°C na qual em 30°C foi a temperatura que mais apresentou produção de ovos. Esse resultado corrobora com outro estudo que, utilizando uma espécie do mesmo gênero (*Diplolaimelloides meyli*) também foi visto uma aumento na quantidade de ovos entre 25°C e 30°C (Moens and Vincx, 2000). Num outro trabalho utilizando as espécies *Diplolaimelloides meyli* e *Diplolaimelloides oschei*, a deposição de ovos foi maior em temperaturas mais elevadas, que flutuavam de 20°C a 32°C (VAFEIADOU e CHINTIROGLOU e colab., 2018).

Em relação à temperatura de 35°C, o não aparecimento de juvenis e subsequentemente de adultos nos comprovam que a temperatura de 35°C é a temperatura limite para a espécie aqui estudada, fato que também corrobora com outro estudo utilizando o mesmo gênero e a mesma temperatura. Neste estudo a temperatura de 35°C também foi limitante para a espécie causado mortalidade de 100% para juvenis (MOENS, Tom e VINCX, 2000a).

Embora as maiores temperaturas (exceto 35°C) apresentassem uma maior quantidade de ovos, em juvenis, este fato se inverteu, havendo uma maior quantidade dos mesmos na temperatura de 25°C e a redução, com o aumento da temperatura, isso se repetiu também no crescimento populacional de adultos.

A redução da quantidade de juvenis a adultos vista no presente experimento nos levar a conclusão de que, embora houve uma grande deposição de ovos, os mesmos, não chegaram a eclodir. Este resultado aponta uma resposta contrária do que foi visto em *Diplolaimelloides meyli*, ao qual também houve o aumento de ovos porém a quantidade de juvenis e adultos também cresceram com o aumento da temperatura (MOENS, Tom e VINCX, 2000a). Este fato

nos mostra que embora ambos os trabalhos sejam com espécies do mesmo gênero, o crescimento populacional pode variar de espécie para espécies.

4.2.2 Respostas nos tempos de desenvolvimento em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

A não variação do TDPRE e TDPE corrobora com um estudo realizado com o mesmo gênero, onde temperaturas relativamente “próximas” (25°C e 30°C) tendem a apresentar tempos de desenvolvimento também próximos (MOENS, Tom e VINCX, 2000a). Porém, o mesmo trabalho não corrobora com o TDT aqui realizado, onde, a temperatura de 32°C apresentou uma diferença significativa das demais temperaturas. Entretanto, vale ressaltar que embora ambos os trabalhos sejam feitos com o gênero *Diplolaimelloides* os limites de temperatura de cada população podem ser relacionados ao seu habitat natural da espécie ou da população (SUDHAUS, 1980).

4.2.3 Respostas na fecundidade diária e total em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

A fecundidade diária e total, houve o aumento de ambas, nas temperaturas de 28°C, 30°C e 32°C, esse aumento corrobora com outros trabalhos que apontam que o aumento da temperatura em nematoides marinhos aumentam a sua fecundidade (HEIP e colab., 1985; MOENS, Tom e VINCX, 2000a; VAFEIADOU e CHINTIROGLOU e colab., 2018; VRANKEN e colab., 1988), este fato pode ser explicado como uma estratégia de vida ao qual com o aumento da temperatura, alguns organismos utilizam sua energia para a reprodução, mantendo o sucesso da sua população no ambiente, como visto em copépodos (STRINGER e colab., 2012). Entretanto, apesar desta suposição, um estudo fisiológico com nematoides afim de entender este mecanismo em relação ao aumento da temperatura são imprescindíveis.

4.2.4 Respostas na proporção sexual da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta ao aumento da temperatura

Em relação a proporção sexual no presente trabalho não houve diferença significativa, porém foi observado que houve dominância de fêmeas em todos os tratamentos. Um trabalho com o mesmo gênero aqui testado apontou que com o aumento da temperatura há uma diminuição na proporção de fêmeas, no qual na temperatura de 10°C havia 76% de fêmeas, contudo, em 30°C houve redução para 48, 5% não corroborando com este estudo (Moens and Vincx, 2000). Todavia, como já dito antes, alguns parâmetros diferem de espécie para espécie

necessitando diante disso de mais estudos sobre a espécie *D.delyi* e como estressores pode influenciar seus parâmetros populacionais.

4.3 Exposição da espécie *Diplolaimelloides delyi* à diferentes concentrações de fenantreno com aumento da temperatura (30°C)

4.3.1 Crescimento populacional da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno com aumento da temperatura (30°C e 32°C)

Em relação ao crescimento populacional, no presente experimento ao qual houve a utilização da temperatura de 30°C, tanto em juvenis e adultos, houve uma redução do crescimento populacional da concentração de 0,1 µg mL⁻¹ se assemelhando a concentração de 1,0 e 2,5 µg mL⁻¹. Já no experimento apenas com fenantreno (4.3.1) a concentração de 0,1 µg mL⁻¹ apresentava um crescimento populacional relativamente muito próximo aos controles. Corroborando com a ideia de que mesmo em concentrações menores a junção do contaminante e o aumento da temperatura pode potencializar o efeito do mesmo, levando a redução da população da espécie aqui estudada. Isto pode estar relacionado ao fato de que, o aumento da temperatura pode modificar as moléculas do contaminante tornando ainda mais prejudicial ao ambiente, levando a um efeito mais prejudicial a população exposta (Laetz et al., 2014; Schiedek et al., 2007; Zebal et al., 2019).

Um fato bastante curioso no crescimento populacional relativo a concentração de 5µg/ml, no qual, no presente experimento (4.3.2) houve um pequeno aparecimento de ovos e juvenis, todavia, estes não chegaram a maturar não havendo a presença de adultos nesta concentração, já no experimento só com o fenantreno, os ovos e adultos apresentaram um crescimento populacional maior que todos os tratamentos (exceto nos controles) e em juvenil, a mesma concentração, apresentou o maior crescimento populacional em relação a todos os tratamentos, o que nos leva a crer mais uma vez que, a junção do contaminante mais o aumento da temperatura pode causar um efeito ainda mais drástico a população (LAETZ e colab., 2014; SCHIEDEK e colab., 2007; ZEBRAL e colab., 2019).

Em relação a concentração de 10,0 e 20,0 µg mL⁻¹ o não surgimento de ovos, juvenis e adultos apontam que nessas condições estas concentrações são letais para a espécie aqui estudada, havendo a necessidade de mais estudos com outras espécies tendo em vista que o resistência do animal tende a ser relacionada ao habitat ao qual o mesmo habita (SUDHAUS, 1980), podendo haver outros nematoides que apresentem uma maior resistência em relação a junção dos estressantes (temperatura e contaminante).

4.3.2 Respostas nos tempos de desenvolvimento em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno na temperatura de 30°C

Ainda que o TDPRE e TDPE não tenham apresentado diferença significativa em relação ao controle, todavia, este resultado não implica que a contaminação não tenha sido realizada pelo contaminante, tendo em vista que o mesmo pode agir por vias silenciosamente levando a problemáticas em tecidos e até a nível molecular (SPANN e colab., 2015). No entanto, no TDT neste experimento houve o retardo do mesmo em relação ao controle a partir da concentração de 1µg/ml, enquanto que no experimento apenas com fenantreno (4.3.1) este retardo apenas foi visto nas concentrações de 2.5 e 5µg/ml. Tal fato pode levar em consideração dois fatores, sendo um deles a narcose não polar que como dito anteriormente, atua na redução da capacidade locomotora e capacidade de responder a estímulos externos (REN, Shijin, 2002), e outro fator que pode ter influenciado no retardo do TDT é que a leve redução no TDPRE e TDPÓS como mostrado na tabela 7, pode levar a uma redução também do TDT, já que os estágios de desenvolvimento são dependentes. Todavia este efeito não havia sido visto na concentração de 1µg/ml no experimento apenas de fenantreno. Um outro fato alarmante do presente estudo é relacionado a concentração de 5 µg/ml onde o mesmo não apresentou taxas de TDPE nem TDT já que nesta concentração não houve surgimento de adultos, fato antagônico ao experimento apenas com fenantreno (4.3.1) onde a mesma concentração apresentou surgimento dos dois tempos de desenvolvimento (TDPE e TDT). Estes relatos em relação aos tempos de desenvolvimento reforçam que o aumento da temperatura ligados a contaminação pode levar a efeitos de retardo do desenvolvimento do animal mesmo em concentrações onde apenas o contaminante não apresentava esse efeito.

4.3.3 Respostas na fecundidade diária e total em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno na temperatura de 30°C

Em relação a fecundidade diária neste experimento todas as concentrações apresentaram diferença significativa dos controles apresentando uma redução da quantidade de ovos, essa redução nos mostra que a temperatura em sinergia com o contaminante afeta de maneira negativa a oviposição de *D.delyi*, uma vez que no experimento de temperatura realizado neste mesmo trabalho (4.3.2) em maiores temperaturas, inclusive a 30°C a espécie investigada apresentou maiores ovoposição. Outro fato que corrobora com isto é que no experimento apenas com fanatreno as concentrações de 0,1 µg mL⁻¹ e 1,0 µg mL⁻¹ apresentou ovoposição equivalente ao controle, porém quando exposta a sinergia do dois estressores diminuiu significativamente a fecundidade diária quando comparado com os controles. Pode-se sugerir

que quando o fenantreno age sozinho sobre o nematóide aqui estudado, a tendência deste é se reproduzir como estratégia de vida, porém, quando em interação com a temperatura, a mesma possivelmente inibe tal estratégia ocasionando a baixa ovoposição. Entretanto, ainda pouco se sabe sobre as respostas desses dois estressores em interação com nematoides sendo imprescindíveis mais estudos.

4.3.4 Respostas na proporção sexual em populações da espécie *Diplolaimelloides delyi* exposta a diferentes concentrações de fenantreno na temperatura de 30°C

Em relação a proporção sexual, a mesma não apresentou diferença significativa nem com a junção dos fatores (no presente experimento), nem com os fatores isolados o que nos mostra que para a presente espécie, estes estressores não alteram a proporção sexual do animal havendo a dominância de fêmeas. Contudo, tais avaliações foram necessárias tendo em vista que o fenantreno é uma HPA'Ss, e alguns destes por sua vez, inclusive derivados de fenantreno podem ser disruptores endócrinos (ZHANG e colab., 2016), e além disso, a temperatura para algumas espécies de nematoides podem alterar a proporção sexual (MOENS, Tom e VINCX, 2000a), o que torna plausível a relevância da análise também com a sinergia dos fatores.

5 CONCLUSÃO

A espécie *Diplolaimelloides delyi* ainda que seja pouco conhecida quando se trata de trabalhos ecotoxicológicos, se mostrou bastante útil e acessível, inclusive se assemelhando com espécies do mesmo gênero que também são utilizadas como biomodelos (*Diplolaimelloides meyli*). A presente espécie, apresentou tolerância a maioria das concentrações aqui estudadas, todavia, o fenantreno mesmo em concentrações menores, modificou parâmetros importantes na espécie como seu crescimento populacional, tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas. As diferentes temperaturas também ocasionaram efeitos na espécie *Diplolaimelloides delyi*, sendo agravados de acordo com o aumento das temperaturas. As diferentes temperaturas ocasionaram modificações, também em seu crescimento populacional, tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas. Quando a espécie *Diplolaimelloides delyi* foi exposto a diferentes concentrações de fenantreno com a temperatura aumentada (30°C), seus efeitos foram potencializados, ocasionando letalidades em concentrações que quando com temperatura reduzida não foram vistas. Além da letalidade, também foram agravados, modificações nos tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas do animal. Este fato comprova que diferentes concentrações de fenantreno causam efeitos modificando parâmetros importantes (crescimento

populacional, tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas) da espécie *Diplolaimelloides delyi* e que estes efeitos podem ser potencializados com o aumento da temperatura. Importante salientar que a comunidade científica deve estar mais receptiva para a problemática do somatório da contaminação com o aumento da temperatura, uma vez que ambos ocorrem ao mesmo tempo no ambiente e que, como visto no presente trabalho, não são necessário aumentos exacerbados da temperatura para mudanças significativas em uma população de nematoides. Com isso, é inegável a necessidade de mais avaliações a respeito da interação da poluição com a temperatura também em outros organismos afim de mitigar possíveis eventos futuros.

2. CONCLUSÃO FINAL

O presente estudo experimental expôs a comunidade da meiofauna à diferentes concentrações de fenantreno, diferentes temperaturas e os efeito combinados de diferentes concentrações com sua temperatura aumenta. Com o experimento de fenantreno obteve-se mudanças na densidade e estrutura da fauna, além de redução da riqueza e equitabilidade de acordo com o aumento das concentrações. No experimento de temperatura também houve a redução das densidades e diferenças na riqueza e equitabilidade com o aumento das temperaturas, porém, a estrutura da fauna não foi modificada, afetando assim, os taxa de forma igualitária. Já no experimento com concentrações de fenantreno submetida à temperatura mais elevada, obteve-se a redução das densidades totais sem seu reestabelecimento até o final do experimento, diferenças na riqueza e equitabilidade além da extinção de alguns taxa mesmo em concentrações consideradas baixas (quando comparadas ao estudo apenas com fenantreno), o que comprova a gravidade da junção dos fatores. Com isso pode-se concluir que o aumento da temperatura pode potencializar o efeito do fenantreno nas comunidades da meiofauna, levando a quedas de suas densidades totais sem seu reestabelecimento, modificações na estrutura da fauna além da redução e extinção de grupos que não seriam reduzidos ou extintos quando expostos apenas por um dos fatores (Fenantreno ou Temperatura), mostrando assim a gravidade da junção de aquecimento com a contaminação que ocorre no ambiente. Também é importante salientar a necessidade de mais estudos acerca destes efeitos somatórios (contaminação e aumento da temperatura), com mais contaminantes e diferentes temperaturas afim de aumentar nosso conhecimento a respeito de como outros contaminantes afetam a meiofauna quando somados com diferentes temperaturas. A espécie *Diplolaimelloides delyi* ainda que seja pouco conhecida quando se trata de trabalhos ecotoxicológicos, se mostrou bastante útil e acessível, inclusive se assemelhando com espécies do mesmo gênero que também são utilizadas como biomodelos (*Diplolaimelloides meyli*). A presente espécie, apresentou tolerância a maioria das concentrações aqui estudadas, todavia, o fenantreno mesmo em concentrações menores, modificou parâmetros importantes na espécie como seu crescimento populacional, tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas. As diferentes temperaturas também ocasionaram efeitos na espécie *Diplolaimelloides delyi*, sendo agravados de acordo com o aumento das temperaturas. As diferentes temperaturas ocasionaram modificações, também em seu

crescimento populacional, tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas. Quando a espécie *Diplolaimelloides delyi* foi exposto a diferentes concentrações de fenantreno com a temperatura aumentada (30°C), seus efeitos foram potencializados, ocasionando letalidades em concentrações que quando com temperatura reduzida não foram vistas. Além da letalidade, também foram agravados, modificações nos tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas do animal. Este fato comprova que diferentes concentrações de fenantreno causam efeitos modificando parâmetros importantes (crescimento populacional, tempos de desenvolvimento e taxas reprodutivas) da espécie *Diplolaimelloides delyi* e que estes efeitos podem ser potencializados com o aumento da temperatura. Importante salientar que a comunidade científica deve estar mais receptiva para a problemática do somatório da contaminação com o aumento da temperatura, uma vez que ambos ocorrem ao mesmo tempo no ambiente e que, como visto no presente trabalho, não são necessário aumentos exacerbados da temperatura para mudanças significativas em uma população de nematoides. Com isso, é inegável a necessidade de mais avaliações a respeito da interação da poluição com a temperatura também em outros organismos afim de mitigar possíveis eventos futuros.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Romulo Nepomuceno e colab. **Toxicity of effluents from gasoline stations oil-water separators to early life stages of zebrafish *Danio rerio***. *Chemosphere*, v. 178, p. 224–230, 2017.
- ARIAS, Andrés H e colab. **Presence, distribution, and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Bahía Blanca estuary, Argentina**. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 160, n. 1–4, p. 301, 2010.
- AUSTEN, Melanie C e WARWICK, Richard M. **Effects of manipulation of food supply on estuarine meiobenthos**. *Hydrobiologia*, v. 311, n. 1–3, p. 175–184, 1995.
- BAGULEY, Jeffrey G e colab. **Community response of deep-sea soft-sediment metazoan meiofauna to the Deepwater Horizon blowout and oil spill**. *Marine Ecology Progress Series*, v. 528, p. 127–140, 2015.
- BARATA, Carlos e colab. **Predicting single and mixture toxicity of petrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons to the copepod *Oithona davisae***. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 24, n. 11, p. 2992–2999, 2005.
- BELLAS, Juan e THOR, Peter. **Effects of selected PAHs on reproduction and survival of the calanoid copepod *Acartia tonsa***. *Ecotoxicology*, v. 16, n. 6, p. 465–474, 2007.
- BOGAERT, T e SAMOILOFF, M R e PERSOONE, G. **Determination of the toxicity of four heavy metal compounds and three carcinogens using two marine nematode species, *Monhystera microphthalma* and *Diploelaimoides brucei***. 2000.
- BONGERS, Tom e FERRIS, Howard. **Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring**. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 14, n. 6, p. 224–228, 1999.
- CARVALHO, Paulo S M e colab. **Effects of naphthalene and phenanthrene on visual and prey capture endpoints during early stages of the dourado *Salminus Brasiliensis***. *Marine Environmental Research*, v. 66, n. 1, p. 205–207, 2008.
- CERNIGLIA, Carl E. **Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons**. *Current opinion in biotechnology*, v. 4, n. 3, p. 331–338, 1993.
- COLLINGHAM, Y. C e colab. **Extinction risk from climate change**. *Nature*, v. 427, n. 6970, p. 145–148, 2004.
- COLLINS, Matthew e colab. **Long-term climate change: projections, commitments and irreversibility**. 2013.
- CORREIA, Ana D e colab. **Biochemical and behavioral responses in gilthead seabream (*Sparus aurata*) to phenanthrene**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 347, n. 1–2, p. 109–122, 2007.
- COULL, B C. **Role of meiofauna in estuarine sediments**. *Australian Journal of Ecology* (Paper not yet in print), v. 24, n. 4, p. 327–343, 1999.
- CRISTALE, J e SILVA, F S e MARCHI, Mary Rosa Rodrigues De. **Desenvolvimento e aplicação de método GC-MS/MS para análise simultânea de 17 HPAs em material particulado atmosférico**. *Eclética Química*, p. 69–78, 2008.

DANOVARO, Roberto e colab. **Deep-sea ecosystem response to climate changes: the eastern Mediterranean case study.** Trends in Ecology & Evolution, v. 16, n. 9, p. 505–510, 2001.

DANOVARO, Roberto e colab. **Exponential decline of deep-sea ecosystem functioning linked to benthic biodiversity loss.** Current Biology, v. 18, n. 1, p. 1–8, 2008.

DE MEESTER, Nele e colab. **Daily temperature fluctuations alter interactions between closely related species of marine nematodes.** PloS one, v. 10, n. 7, p. e0131625, 2015.

DE WARD, Catalina T Pastor e RUSSO, Virginia Lo. **Distribution of Diplolaimella and Diplolaimelloides species from Patagonian lagoons and coastal waters (Nematoda: Monhysteridae), Chubut and Santa Cruz provinces (Argentina).** Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, v. 89, n. 4, p. 711–718, 2009.

DOS REIS, Isis M M e colab. **Histological responses and localization of the cytochrome P450 (CYP2AU1) in Crassostrea brasiliana exposed to phenanthrene.** Aquatic Toxicology, v. 169, p. 79–89, 2015.

DOS SANTOS, G A P e colab. **Differential effects of food availability on population growth and fitness of three species of estuarine, bacterial-feeding nematodes.** Journal of experimental marine biology and ecology, v. 355, n. 1, p. 27–40, 2008.

DOUBEN, Peter E T. **PAHs: an ecotoxicological perspective.** [S.l.]: John Wiley & Sons, 2003.

ENGRAFF, Maria e colab. **Aquatic toxicity of PAHs and PAH mixtures at saturation to benthic amphipods: linking toxic effects to chemical activity.** Aquatic toxicology, v. 102, n. 3–4, p. 142–149, 2011.

EVANS, A D e NIPPER, M. **Toxicity of phenanthrene and lindane mixtures to marine invertebrates.** Environmental Toxicology: An International Journal, v. 22, n. 5, p. 495–501, 2007.

FRYDKJÆR, Camilla Krogh e IVERSEN, Niels e ROSLEV, Peter. **Ingestion and egestion of microplastics by the Cladoceran Daphnia magna: effects of regular and irregular shaped plastic and Sorbed Phenanthrene.** Bulletin of environmental contamination and toxicology, v. 99, n. 6, p. 655–661, 2017.

GARZKE, Jessica e ISMAR, Stefanie M.H. e SOMMER, Ulrich. **Climate change affects low trophic level marine consumers: warming decreases copepod size and abundance.** Oecologia, v. 177, n. 3, p. 849–860, 2015.

GAUTHIER, Patrick T e colab. **Behavioural alterations from exposure to Cu, phenanthrene, and Cu-phenanthrene mixtures: linking behaviour to acute toxic mechanisms in the aquatic amphipod, Hyalella azteca.** Aquatic Toxicology, v. 170, p. 377–383, 2016.

GENKINGER, Jeanine M e colab. **Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure, antioxidant levels and behavioral development of children ages 6–9.** Environmental research, v. 140, p. 136–144, 2015.

GIERE, O. **The microscopic motile fauna of aquatic sediments. Meiobenthology.** . [S.l.]: Berlin/Heidelberg, Germany: Springer. , 2009

GINGOLD, Ruth e MOENS, Tom e ROCHA-OLIVARES, Axayácatl. **Assessing the**

response of nematode communities to climate change-driven warming: a microcosm experiment. PLoS One, v. 8, n. 6, p. e66653, 2013.

GUTIÉRREZ, Carmen e colab. **Effect of soil properties, heavy metals and emerging contaminants in the soil nematodes diversity.** Environmental pollution, v. 213, p. 184–194, 2016.

HAEGERBAEUMER, Arne e colab. **Response of nematode communities to metals and PAHs in freshwater microcosms.** Ecotoxicology and environmental safety, v. 148, p. 244–253, 2018.

HARLEY, Christopher D.G. e colab. **The impacts of climate change in coastal marine systems.** Ecology Letters, v. 9, n. 2, p. 228–241, 2006.

HEIP, Carlo e VINCX, Magda e VRANKEN, Guido. **The ecology of marine nematodes.** [S.l.]: Aberdeen University Press, 1985.

HOPPER, B E e FELL, J W e CEFALU, R C. **Effect of temperature on life cycles of nematodes associated with the mangrove (Rhizophora mangle) detrital system.** Marine Biology, v. 23, n. 4, p. 293–296, 1973.

HOUGHTON, John. **Global Warming.** 4. ed. [S.l.]: Cambridge University Press, 2009. v. 4.

IPCC. **Climate change 2014: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.** [S.l.]: IPCC, 2014.

JENSEN, Louise Kiel e colab. **Bioaccumulation of phenanthrene and benzo [a] pyrene in Calanus finmarchicus.** Ecotoxicology and environmental safety, v. 78, p. 225–231, 2012.

KUCKLICK, John R e colab. **Factors influencing polycyclic aromatic hydrocarbon distributions in South Carolina estuarine sediments.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 213, n. 1, p. 13–29, 1997.

LAETZ, Cathy A e colab. **Elevated temperatures increase the toxicity of pesticide mixtures to juvenile coho salmon.** Aquatic toxicology, v. 146, p. 38–44, 2014.

LINDGREN, J Fredrik e HASSELLÖV, Ida-Maja e DAHLLÖF, Ingela. **Meiofaunal and bacterial community response to diesel additions in a microcosm study.** Marine pollution bulletin, v. 64, n. 3, p. 595–601, 2012.

LIPIATOU, E e SALIOT, A. **Fluxes and transport of anthropogenic and natural polycyclic aromatic hydrocarbons in the western Mediterranean Sea.** Marine Chemistry, v. 32, n. 1, p. 51–71, 1991.

LIRA, V F e colab. **Effects of barium and cadmium on the population development of the marine nematode Rhabditis (Pellioiditis) marina.** Marine environmental research, v. 72, n. 4, p. 151–159, 2011.

LOTUFO, Guilherme R. **Toxicity of sediment-associated PAHs to an estuarine copepod: effects on survival, feeding, reproduction and behavior.** Marine environmental research, v. 44, n. 2, p. 149–166, 1997.

LOTUFO, Guilherme R e FLEEGER, John W. **Toxicity of sediment-associated pyrene and phenanthrene to Limnodrilus hoffmeisteri (oligochaeta: Tubificidae).** Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, v. 15, n. 9, p. 1508–1516, 1996.

- LOUATI, Afifa e colab. **Hydrocarbon contamination of coastal sediments from the Sfax area (Tunisia), Mediterranean Sea**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 42, n. 6, p. 444–451, 2001.
- LOUATI, Hela e colab. **Biostimulation as an attractive technique to reduce phenanthrene toxicity for meiofauna and bacteria in lagoon sediment**. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 21, n. 5, p. 3670–3679, 2014.
- LOUATI, Hela e colab. **Responses of a free-living benthic marine nematode community to bioremediation of a PAH mixture**. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 22, n. 20, p. 15307–15318, 2015.
- MACDONALD, D D. **Approach to the assessment of sediment quality in Florida coastal waters**. [S.l.]: Citeseer, 1994a. v. 1.
- MACDONALD, D D. **Development and evaluation of sediment quality assessment guidelines, v. 1 of .** [S.l.]: Approach to the assessment of sediment quality in Florida coastal water , 1994b
- MACDONALD, Donald D e INGERSOLL, C G e BERGER, T A. **Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems**. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 39, n. 1, p. 20–31, 2000.
- MÄENPÄÄ, K e LEPPÄNEN, M T e KUKKONEN, J V K. **Sublethal toxicity and biotransformation of pyrene in *Lumbriculus variegatus* (Oligochaeta)**. *Science of the total environment*, v. 407, n. 8, p. 2666–2672, 2009.
- MAGI, E e colab. **Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Adriatic Sea**. *Environmental pollution*, v. 119, n. 1, p. 91–98, 2002.
- MAHMOUDI, Ezzeddine e colab. **Effects of hydrocarbon contamination on a free living marine nematode community: results from microcosm experiments**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 50, n. 11, p. 1197–1204, 2005.
- MARTINEZ, Joey Genevieve e colab. **Influence of heavy metals on nematode community structure in deteriorated soil by gold mining activities in Sibutad, southern Philippines**. *Ecological Indicators*, v. 91, p. 712–721, 2018.
- MCCREADY, S e colab. **An evaluation of Australian sediment quality guidelines**. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 50, n. 3, p. 306–315, 2006.
- MILLWARD, Rod N e GRANT, Alastair. **Assessing the impact of copper on nematode communities from a chronically metal-enriched estuary using pollution-induced community tolerance**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 30, n. 11, p. 701–706, 1995.
- MOENS, T. e VINCX, M. **On the cultivation of free-living marine and estuarine nematodes**. *Helgolander Meeresuntersuchungen*, v. 52, n. 2, p. 115–139, 1998.
- MOENS, Tom e colab. **Ecology of free-living marine nematodes**. *Handbook of Zoology*. De Gruyter, Berlin, 2013.
- MOENS, Tom e VINCX, Magda. **Observations on the feeding ecology of estuarine nematodes**. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 77, n. 1, p. 211–227, 1997.
- MOENS, Tom e VINCX, Magda. **On the cultivation of free-living marine and estuarine nematodes**. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, v. 52, n. 2, p. 115, 1998.

- MOENS, Tom e VINCX, Magda. **Temperature, salinity and food thresholds in two brackish-water bacterivorous nematode species: assessing niches from food absorption and respiration experiments**. *Journal of experimental marine biology and ecology*, v. 243, n. 1, p. 137–154, 2000a.
- MOENS, Tom e VINCX, Magda. **Temperature and salinity constraints on the life cycle of two brackish-water nematode species**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 243, n. 1, p. 115–135, 2000b.
- MONTEIRO, Luana e colab. **Effects of heavy metals on free-living nematodes: a multifaceted approach using growth, reproduction and behavioural assays**. *European journal of soil biology*, v. 62, p. 1–7, 2014.
- MONTEIRO, Luana e colab. **Effects of the water-soluble fraction of a crude oil on estuarine meiofauna: A microcosm approach**. *Marine environmental research*, v. 147, p. 113–125, 2019.
- MORAITOU, Maria e VERRIOPOULOS, G. **Some effects of sub-lethal concentrations of copper on a marine copepod**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 10, n. 3, p. 88–92, 1979.
- NADAL, Martí e colab. **Climate change and environmental concentrations of POPs: A review**. *Environmental Research*, v. 143, p. 177–185, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.10.012>>.
- NADLER, Allison Margaret. **Effects of Crude Oil on Tumor Suppressor p53 Polymorphisms in Laboratory-Exposed Atlantic Killifish, *Fundulus heteroclitus***. 2017.
- NAHRGANG, J e colab. **Seasonal variation in biomarkers in blue mussel (*Mytilus edulis*), Icelandic scallop (*Chlamys islandica*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*)—Implications for environmental monitoring in the Barents Sea**. *Aquatic toxicology*, v. 127, p. 21–35, 2013.
- NAIDOO, Krishnaveni. **The effects of petroleum hydrocarbon contamination on selected intertidal macrophytes and meiofauna**. . [S.l: s.n.]. , 2015
- NASIRA, K e SHAHINA, F e KAMRAN, M. **Response of free living marine nematode community to heavy metal contamination along the coastal areas of Sindh and Baluchistan, Pakistan**. *Pakistan Journal of Nematology*, v. 28, n. 2, p. 263–278, 2010.
- NEWELL, S Y e colab. **Acute impact of an organophosphorus insecticide on microbes and small invertebrates of a mangrove estuary**. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 10, n. 4, p. 427–435, 1981.
- NOYES, Pamela D. e colab. **The toxicology of climate change: Environmental contaminants in a warming world**. *Environment International*, v. 35, n. 6, p. 971–986, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2009.02.006>>.
- OLMSTEAD, Allen W e LEBLANC, Gerald A. **Toxicity assessment of environmentally relevant pollutant mixtures using a heuristic model**. *Integrated environmental assessment and management*, v. 1, n. 2, p. 114–122, 2005.
- PERUGINI, Monia e colab. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea, Italy**. *Chemosphere*, v. 66, n. 10, p. 1904–1910, 2007.
- REBECCHI, Lorena e colab. **Stress response of a boreo-alpine species of tardigrade, *Borealibius zetlandicus* (Eutardigrada, Hypsibiidae)**. *Journal of Limnology*, v. 68, n. 1, p.

64–70, 2009.

REN, Shijin. **Predicting three narcosis mechanisms of aquatic toxicity**. Toxicology letters, v. 133, n. 2–3, p. 127–139, 2002.

REN, Xianyun e PAN, Luqing e WANG, Lin. **The detoxification process, bioaccumulation and damage effect in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to chrysene**. Ecotoxicology and environmental safety, v. 114, p. 44–51, 2015.

ROELOFS, Dick e colab. **Mechanisms of phenanthrene toxicity in the soil invertebrate, *Enchytraeus crypticus***. Environmental toxicology and chemistry, v. 35, n. 11, p. 2713–2720, 2016.

ROSENZWEIG, Cynthia e colab. **Attributing physical and biological impacts to anthropogenic climate change**. Nature, v. 453, n. 7193, p. 353, 2008.

SAID, Olfa Ben e colab. **Changes of benthic bacteria and meiofauna assemblages during bio-treatments of anthracene-contaminated sediments from Bizerta lagoon (Tunisia)**. Environmental Science and Pollution Research, v. 22, n. 20, p. 15319–15331, 2015.

SANTOS, Anna Carolina Chaaban e colab. **Is the microcosm approach using meiofauna community descriptors a suitable tool for ecotoxicological studies?** Ecotoxicology and environmental safety, v. 147, p. 945–953, 2018.

SARMENTO, Visnu Cunha e colab. **Impact of predicted climate change scenarios on a coral reef meiofauna community**. ICES Journal of Marine Science, v. 74, n. 4, p. 1170–1179, 2017.

SCHIEDEK, Doris e colab. **Interactions between climate change and contaminants**. Marine pollution bulletin, v. 54, n. 12, p. 1845–1856, 2007.

SCHRATZBERGER, Michaela e INGELS, Jeroen. **Meiofauna matters: the roles of meiofauna in benthic ecosystems**. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 502, p. 12–25, 2018.

SESE, Beke T e GRANT, Alastair e REID, Brian J. **Toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to the nematode *Caenorhabditis elegans***. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, v. 72, n. 19, p. 1168–1180, 2009.

SIDDENS, Lisbeth K e colab. **Cytochrome P450 1b1 in polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-induced skin carcinogenesis: Tumorigenicity of individual PAHs and coal-tar extract, DNA adduction and expression of select genes in the Cyp1b1 knockout mouse**. Toxicology and applied pharmacology, v. 287, n. 2, p. 149–160, 2015.

SOCLO, H H e GARRIGUES, P H e EWALD, M. **Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas**. Marine pollution bulletin, v. 40, n. 5, p. 387–396, 2000.

SOJINU, O S e colab. **Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) In Smoked Fish and Meat Samples In Abeokuta**. Journal of Chemical Society of Nigeria, v. 44, n. 1, 2019.

SPANN, Nicole e GOEDKOOP, Willem e TRAUNSPURGER, Walter. **Phenanthrene bioaccumulation in the nematode *Caenorhabditis elegans***. Environmental science & technology, v. 49, n. 3, p. 1842–1850, 2015.

- STARK, Jonathan S e colab. **The effects of hydrocarbons on meiofauna in marine sediments in Antarctica**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 496, p. 56–73, 2017.
- STRINGER, Tristan J e colab. **Development of a harpacticoid copepod bioassay: selection of species and relative sensitivity to zinc, atrazine and phenanthrene**. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 80, p. 363–371, 2012.
- SUDHAUS, Walter. **Vergleichende Untersuchungen zur oberen Grenztemperatur saprobionter Nematoden der Gattung Rhabditis**. *Nematologica*, v. 26, n. 1, p. 75–82, 1980.
- SUNDBÄCK, Kristina e ALSTERBERG, Christian e LARSON, Fredrik. **Effects of multiple stressors on marine shallow-water sediments: Response of microalgae and meiofauna to nutrient–toxicant exposure**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 388, n. 1–2, p. 39–50, 2010.
- VAFEIADOU, Anna Maria e BRETaña, Bryan Lloyd P. e colab. **Global warming-induced temperature effects to intertidal tropical and temperate meiobenthic communities**. *Marine Environmental Research*, v. 142, n. September, p. 163–177, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.10.005>>.
- VAFEIADOU e CHINTIROGLOU, Chariton e MOENS, Tom. **Effects of an increased temperature regime on the population dynamics and species interactions of marine nematodes**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 502, p. 142–152, 2018.
- VAN GAEVER, Saskia e colab. **Metazoan meiofaunal communities at cold seeps along the Norwegian margin: influence of habitat heterogeneity and evidence for connection with shallow-water habitats**. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, v. 56, n. 5, p. 772–785, 2009.
- VANFLETEREN, J R. **Nematodes as nutritional models**. *Nematodes as biological models*, v. 2, p. 47–79, 1980.
- VEIGA, P e RUBAL, M e BESTEIRO, C. **Shallow sublittoral meiofauna communities and sediment polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content on the Galician coast (NW Spain), six months after the Prestige oil spill**. *Marine pollution bulletin*, v. 58, n. 4, p. 581–588, 2009.
- VINCX, M e HEIP, C H R. **The use of meiobenthos in pollution monitoring studies: a review**. *ICES techniques in marine environmental sciences*, v. 1166, 1991.
- VRANKEN, G e HERMAN, P M J e HEIP, C. **Studies of the life-history and energetics of marine and brackish-water nematodes**. *Oecologia*, v. 77, n. 3, p. 296–301, 1988.
- WERNBERG, Thomas e colab. **Impacts of climate change in a global hotspot for temperate marine biodiversity and ocean warming**. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 400, n. 1–2, p. 7–16, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2011.02.021>>.
- YE, Bixiong e ZHANG, Zhihuan e MAO, Ting. **Petroleum hydrocarbon in surficial sediment from rivers and canals in Tianjin, China**. *Chemosphere*, v. 68, n. 1, p. 140–149, 2007.
- YUNKER, Mark B e colab. **PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH**

ratios as indicators of PAH source and composition. Organic geochemistry, v. 33, n. 4, p. 489–515, 2002.

ZEBRAL, Yuri Dornelles e colab. **Waterborne copper is more toxic to the killifish *Poecilia vivipara* in elevated temperatures: linking oxidative stress in the liver with reduced organismal thermal performance.** Aquatic Toxicology, 2019.

ZHANG, Yanyan e colab. **Biological impact of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (ePAHs) as endocrine disruptors.** Environmental pollution, v. 213, p. 809–824, 2016.