



Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Biociências

Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais

Guilherme Augusto Cunha Torres

**Eclosão de gêmulas das esponjas de águas continentais *Radiospongilla inesi*
Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão,
2007 em diferentes águas continentais**

Recife

2023

Guilherme Augusto Cunha Torres

**Eclosão de gêmulas das esponjas de águas continentais *Radiospongilla inesi*
Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão,
2007 em diferentes águas continentais**

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

Orientadora: Profa. Dra. Ludimila Calheira

Co-orientador: Prof. Dr. Ulisses Pinheiro

Recife

2023

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

Torres, Guilherme Augusto Cunha .

Eclosão de gêmulas das esponjas de águas continentais *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina*, Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 em diferentes águas continentais / Guilherme Augusto Cunha Torres. - Recife, 2023.

28 : il., tab.

Orientador(a): Ludimila Calheira Laurindo

Cooorientador(a): Ulisses dos Santos Pinheiro

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

1. Gêmulas . 2. Poríferas. 3. Águas continentais. 4. Capacidade de eclosão. 5. Ambientes Lênticos e Lóticos. I. Laurindo, Ludimila Calheira . (Orientação). II. Pinheiro, Ulisses dos Santos. (Coorientação). III. Título.

Guilherme Augusto Cunha Torres

**Eclosão de gêmulas das esponjas de águas continentais *Radiospongilla inesi*
Nicacio, & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro &
Melão, 2007 em diferentes águas continentais**

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

Data de aprovação: 14/04/2023

Nota: 8,4

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ULISSES DOS SANTOS PINHEIRO**
Data: 30/04/2023 15:29:44-0000
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. ULISSES DOS SANTOS PINHEIRO (Co-orientador)

Departamento de Zoologia - UFPE

Documento assinado digitalmente
 **ELIELTON FRANCISCO DE NASCIMENTO**
Data: 15/04/2023 13:17:10-0000
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

M.Sc. ELIELTON FRANCISCO DE NASCIMENTO (1º Titular)

Documento assinado digitalmente
 **JENNY FRANCISCA DE OLIVEIRA RIBEIRO**
Data: 15/04/2023 08:13:45-0000
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

M.Sc. JENNY FRANCISCA DE OLIVEIRA RIBEIRO (2º Titular)

Departamento de Zoologia - UFPE

Documento assinado digitalmente
 **FABIO CORREIA COSTA**
Data: 28/04/2023 21:12:55-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dr. FÁBIO CORREIA COSTA (Suplente)

Departamento de Zoologia - UFPE

RECIFE

2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer minha família, que sempre esteve me apoiando e buscando o melhor para mim. Agradeço a minha mãe Adriana por todo seu suporte e carinho mesmo em momentos difíceis. Agradeço também aos meus avós, pelos seus conselhos e sabedoria. Ao meu pai Esperidião que sempre me apoiou em minhas decisões e não me deixou desistir.

Um agradecimento especial a minha namorada Carla, que me ajudou desde o início, dando forças e me incentivando a persistir e ir atrás. Gostaria de expressar minha gratidão também ao meu coorientador Professor Ulisses. Graças a ele tive a oportunidade de me juntar ao LABPOR e iniciar essa jornada.

Agradeço imensamente à minha orientadora Ludimila, que me acompanhou passo a passo nesse processo, por toda sua paciência, dedicação e ensinamentos que foram essenciais para que pudesse desenvolver e superar os desafios do TCC.

Gostaria de agradecer também a todo pessoal do LABPOR, Gabi, Gabriel, Thales, Elielton, Sabrina, Jenny, Alan e todos os demais, que me receberam tão bem, me ajudando sempre que precisei ao longo do período de realização do experimento. Mais uma vez meu sincero agradecimento a todos vocês que me ajudaram e contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Diferente das espécies marinhas que desfrutam de um habitat com condições gerais mais estáveis, as espécies de águas continentais precisam lidar com a seca e a descontinuidade do habitat, que juntos com a sazonalidade alteram a configuração desses ambientes. Para contrapor esses efeitos negativos que ameaçam sua sobrevivência e reprodução, as esponjas de águas continentais produzem gêmulas, estruturas assexuadas que funcionam como corpos de resistência e de dispersão. No intuito de conhecer mais sobre a fisiologia das gêmulas dessas espécies neotropicais, o presente trabalho testou a eclosão das gêmulas de *Radiospongilla inesi* e *Heteromeyenia cristalina*, coletadas em ambientes lântico e lótico, respectivamente, expostas a águas de diferentes ambientes a fim de verificar se há diferença na taxa de eclosão e no início do desenvolvimento dessas espécies. Para tal, foram realizados quatro tratamentos: T1 (água do tanque de piscicultura da URFPE, local de coleta da *R. inesi*), T2 (água do córrego no campus da URFPE, local de coleta da *H. cristalina*), T3 (água do tanque do anexo do CB-UFPE) e T4 (água mineral). Para cada tratamento foram usadas 3 réplicas com 12 gêmulas cada. As gêmulas foram observadas diariamente por 21 dias. Para análise dos dados foi utilizado o teste ANOVA fatorial e o teste *a posteriori* de Tukey. As gêmulas das duas espécies eclodiram em todos os tratamentos, *R. inesi* apresentaram percentual de eclosão de 89% no T1, 94% no T2, 97% no T3 e 100% no T4, enquanto *H. cristalina* obteve 78% em T1, 89% em T2, 56% em T3 e 86% em T4. Após análise estatística dos dados foi apontado diferença significativa entre espécies (ANOVA $F_{3; 16} = 18.27$, $p < 0.001$), e entre os tratamentos (ANOVA $F_{3; 16} = 3.39$, $p < 0.05$), constatada nas gêmulas de *H. cristalina* submetidas ao T3 (Tukey, $p < 0,05$). A baixa taxa de eclosão das gêmulas de *H. cristalina* em T3 pode estar relacionada ao alto nível de condutividade na água do tratamento. Foi observado formação de esponjas juvenis em todos os tratamentos nas duas espécies. Os resultados obtidos no presente experimento mostram que há diferença significativa entre as espécies *R. inesi* e *H. cristalina* em relação à eclosão das gêmulas e no início do desenvolvimento das esponjas. Os dados aqui contribuem para o conhecimento da biologia reprodutiva das esponjas de água doce neotropicais e podem auxiliar na conservação desses organismos e futuros estudos.

Palavras-chave: esponjas de águas continentais, eclosão, gêmulas, Spongillida.

ABSTRACT

Unlike marine species that enjoy a habitat with more stable general conditions, freshwater sponge species need to deal with drought and habitat discontinuity, which, along with seasonality, alter the configuration of these environments. To counteract these negative effects that threaten their survival and reproduction, freshwater sponges produce gemmules, asexual structures that serve as resistance bodies and means of dispersion. In order to learn more about the physiology of the gemmules of these neotropical species, this study tested the hatching of gemmules from *Radiospongilla inesi* and *Heteromeyenia cristalina*, collected from lentic and lotic environments, respectively, exposed to water from different environments to verify if there is a difference in the hatching rate and in the early development of these species. For this purpose, four treatments were performed: T1 (water from the URFPE fish tank, collection site for *R. inesi*), T2 (water from the stream on the URFPE campus, collection site for *H. cristalina*), T3 (water from the CB UFPE annex tank) and T4 (mineral water). For each treatment, 3 replicates with 12 gemmules were used. The gemmules were observed daily for a period of 21 days. The factorial ANOVA test and the Tukey test were used to analyze the data. The gemmules of both species hatched in all treatments, *R. inesi* presented hatching percentages of 89% in T1, 94% in T2, 97% in T3, and 100% in T4, while the *H. cristalina* obtained 78% in T1, 89% in T2, 56% in T3, and 86% in T4. After statistical analysis of the data, a significant difference was found between species (ANOVA F3; 16 = 18.27, $p < 0.001$) and between treatments (ANOVA F3; 16 = 3.39, $p < 0.05$), observed in the gemmules of *H. cristalina* subjected to T3 (Tukey, $p < 0.05$). The low hatching rate of *H. cristalina* gemmules in T3 may be related to the high conductivity level in the treatment water. The formation of juvenile sponges was also observed in all treatments of both species. The results obtained in the present experiment show that there are significant differences between *R. inesi* and *H. cristalina* species regarding gemmule hatching and early sponge development. The data here contribute to the understanding of the reproductive biology of Neotropical freshwater sponges and may aid in the conservation of these organism and future studies.

keywords: freshwater sponges, hatching, gemmules, Spongillida.

LISTA DE IMAGENS

Figura 1. Local de amostragem e espécies estudadas no presente trabalho. (A) Mapa do Brasil e Estado de Pernambuco, destacando o local da coleta; (B) Local onde *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 foi coletada; (C) Local onde *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 foi coletada; (D) Fotografia *in situ* de *Heteromeyenia cristalina*; (E) Fotografia *in situ* de *Radiospongilla inesi*. Imagem adaptada de Calheira et al. (2019) 15

Figura 2. Estágios de desenvolvimento de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro 2011, a partir das gêmulas (A) estágio 0, (B) estágio 1, (C) estágio 2, (D) estágio 3 e (E) estágio 4. Barras de escala: 200 µm 21

Figura 3. Estágios de desenvolvimento de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007, a partir das gêmulas. (A) estágio 0; (B) estágio 1; (C) estágio 2; (D) estágio 3; (E) estágio 4. Barras de escala: 200 µm 22

Gráfico 1. Porcentagem de eclosão de gêmulas de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007. Gêmulas submetidas aos tratamentos: T1. Água do tanque de piscicultura da URFPE, local de coleta da *R. inesi*, T2. Água do córrego no campus da URFPE, local de coleta da *H. cristalina*, T3. Água do tanque do anexo do CB-UFPE e T4. Água mineral. * Diferença significativa entre as espécies 18

Gráfico 2. Percentual de gêmulas eclodidas em todos os tratamentos de cada espécie x tempo em dias 19

Gráfico 3. Porcentagem de esponjas juvenis formadas de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007. Gêmulas submetidas aos tratamentos: T1. Água do tanque de piscicultura da URFPE, local de coleta da *R. inesi*, T2. Água do córrego no campus da URFPE, local de coleta da *H. cristalina*, T3. Água do tanque do anexo do CB-UFPE e T4. Água mineral. * Diferença estatística significativa entre as espécies 20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas das águas utilizadas nos tratamentos de eclosão das gêmulas.....	16
---	----

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
1.1	Fundamentação teórica	12
1.2	Objetivo	14
1.2.1	<i>Geral</i>	14
1.2.2	<i>Específico</i>	14
2.	METODOLOGIA	14
2.1	Coleta e identificação taxonômica	14
2.2	Preparação dos tratamentos	16
2.3	Análise estatística	17
3.	RESULTADOS	17
4.	DISCUSSÃO	23
6.	CONCLUSÃO	25
5.	REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

O Filo Porifera é composto por metazoários porosos chamados esponjas, que abrange um total de 9546 espécies válidas, distribuídas em quatro classes atuais sendo a Demospongiae Sollas, 1885 a que concentra maior riqueza de diversidade, com cerca de 85% das espécies (de VOOGD et al., 2023; HOOPER & VAN SOEST, 2002). Ainda que mais comuns e diversas no ambiente marinho, 267 espécies de esponjas vivem em ambientes de águas continentais, o que equivale a 3% do filo (de VOOGD et al., 2023). Esse baixo nível de diversidade pode estar relacionado com a escassez de taxonomistas e dificuldades na realização de estudos nesses ambientes (PINHEIRO et al., 2015).

O filo conta atualmente com quatro classes: Calcarea Bowerbank, 1864, Hexactinellida Schmidt, 1870, Demospongiae Sollas, 1885, Homoscleromorpha Bergquist, 1978. A Classe Demospongiae possui ampla distribuição, sendo suas espécies encontradas tanto em ambientes marinhos como de águas continentais. As esponjas de águas continentais compõem a ordem Spongillida Manconi & Pronzato, 2002, a ordem possui seis famílias atuais: Lubomirskiidae Weltner, 1895, Malawispongiidae Manconi & Pronzato, 2002, Metschnikowiidae Czerniavsky, 1880, Spongillidae Gray, 1867; Potamolepidae Brien, 1967; Metaniidae Volkmer-Ribeiro, 1986 onde apenas as três últimas são capazes de produzir gêmulas (MANCONI & PRONZATO, 2016). Em rigor das condições altamente variáveis presentes nos ambientes de águas continentais a fauna local precisou desenvolver estratégias adaptativas de dispersão e resistência (CACERES, 1997). Em particular, a estratégia das esponjas de águas continentais é produzir gêmulas (PRONZATO & MANCONI, 1994).

Diferente das espécies marinhas que desfrutam de um habitat com condições gerais mais estáveis, as espécies de águas continentais precisam lidar com a seca, e a descontinuidade do habitat que juntos com a sazonalidade alteram a configuração desses ambientes (MANCONI & PRONZATO, 1994). Para contrapor os efeitos negativos que impactam a sobrevivência e a reprodução, as espécies desses ambientes desenvolveram estratégias adaptativas como migrações e prolongamento da vida adulta, e uma estratégia muito favorecida por grupos invertebrados é o estado de dormência, que para algumas espécies funciona como meio de dispersão (CÁCERES, 1997). No caso das esponjas de águas continentais, elas produzem gêmulas. Estas são estruturas assexuada que se destacam por desempenhar duas funções importantes, servem tanto de corpos resistentes como meio de dispersão, a qual autores como, Manconi & Pronzato (2007) atrelam o sucesso da distribuição das espécies de esponjas de águas continentais. O processo de formação das gêmulas tipicamente se dá às vésperas de

períodos com condições rigorosas, e elas contêm células especializadas (tesócitos) que são capazes de armazenar materiais ricos em energia que são utilizados para o crescimento da esponja após a eclosão (REISWIG, 2010).

As esponjas são comumente encontradas em ambientes lênticos e lóticos, e esses ambientes apresentam um funcionamento muito distinto de suas águas. Os ambientes lênticos são caracterizados por águas paradas, como lagos, represas e lagoas, e os lóticos são ambientes com águas em movimento, como rios e riachos. Devido às diferentes condições físicas, químicas e biológicas desses ambientes, as esponjas de água doce desenvolveram adaptações distintas para sobreviver em cada um deles. No ambiente lêntico, as gêmulas de esponjas de água doce estão mais sujeitas ao acúmulo de sedimento em decorrência da decomposição de matéria orgânica nesses ambientes o que tende a resultar em uma menor oxigenação nessas águas. Já em ambientes lóticos, marcados por fluxos de águas e correntezas, as gêmulas tendem a não se fixar e precisam ser capazes de resistir às correntes a fim de colonizar novos locais. Essas adaptações são importantes para a manutenção da diversidade de esponjas de água doce em diferentes tipos de sistemas aquáticos (WEISSENFELS et al., 2019; MANCONI & PRONZATO, 2016; MELÃO & ROCHA, 1996).

A maioria dos experimentos realizados com eclosão de gêmulas tem testado a tolerância das gêmulas em baixas temperaturas, dessecação, salinidade, e são realizados com espécies de região temperada (BARBEAU et al., 1989; BAZER & FELL, 1986; BOUTSELIS et al., 1990; DE SANTOS & FELL, 1996; FELL & BAZER, 1990; SIMPSON & VACCARO, 1973; FELL, 1990). Recentemente, Calheira et al. (2020) testaram a capacidade de eclosão das gêmulas de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 em águas de diferentes localidades, e como resultado constataram que cada espécie tem diferente capacidade de eclosão. Com o intuito de conhecer mais sobre a fisiologia das gêmulas dessas espécies neotropicais, o presente trabalho testou a eclosão das gêmulas de *Radiospongilla inesi* e *Heteromeyenia cristalina*, coletadas de ambientes lêntico e lótico, respectivamente, expostas a águas de diferentes ambientes a fim de verificar se há diferença na taxa de eclosão e no início do desenvolvimento dessas espécies.

1.1 Fundamentação teórica

Com mais de 760 milhões de anos de história (YIN et al., 2015) as esponjas estão entre os metazoários mais antigos. São animais majoritariamente sésseis, exclusivamente aquáticos, coloridos e de variadas formas e tamanhos, podem ser encontrados em localidades muito

diferentes, de corais no Caribe, a lagos profundos até mesmo nas regiões gélidas (MANCONI & PRONZATO, 2007). As esponjas são animais filtradores, que utilizam células flageladas chamadas coanócitos para promover a circulação da água através de um sistema de canais exclusivo do filo, o sistema aquífero. O sistema aquífero é formado por canais inalantes e exalantes, que conduzem a água desde os poros até a cavidade central (espongiocèle) e depois para o exterior através do ósculo. É por meio dessa corrente de água que as esponjas obtêm seu alimento (partículas orgânicas em suspensão), realizam trocas gasosas e liberam excretas (MURICY & HAJDU, 2006). A parede do corpo das esponjas apresenta duas camadas de célula separadas pelo mesoílo. A camada celular mais externa é a pinacoderme, formada por células achatadas denominadas de pinacócitos. A camada de célula interna, voltada para a espongiocèle, é rica em coanócitos (HAJDU et al., 2011). Assim, a qualidade da água, sua composição química pode influenciar na disponibilidade de alimento, na capacidade de respiração, e consequentemente na distribuição das esponjas.

Gêmulas são estruturas assexuadas que desempenham dois papéis, servindo como corpos resistentes e ferramenta de dispersão (MANCONI & PRONZATO, 2007), possuem células totipotentes envolvidas por espículas, chamadas gemosclera e camadas de espongina (MANCONI & PRONZATO, 2002). A eclosão ocorre a partir da migração das células na gêmula por meio da micrópila, uma abertura que permite a saída dos arqueócitos para o ambiente externo (ERESKOVSKY 2010).

Os estudos de Melão & Rocha (1996) com *Metania spinata*, Carter, 1881 avaliou a influência da temperatura, dessecação e quantidade de matéria orgânica na eclosão de gêmulas da espécie, mostrou taxas mais elevadas de eclosão em gêmulas submetidas a apenas um tipo de condição estressante ao contrário das submetidas a combinações dessas condições. Fell (1987) com gêmulas de *Eunapius fragilis* Leidy, 1851 avaliou a influência da temperatura e dessecação, e obteve resultados que indicaram uma interação entre dessecação e baixas temperaturas no rompimento da diapausa das gêmulas. De Santos & Fell (1996) em um experimento com gêmulas de *Spongilla lacustris* Linnaeus, 1759 observaram a capacidade de tolerância à dessecação a partir da eclosão das gêmulas após um período em baixa temperatura. Fell & Bazer (1990) testaram a sobrevivência das gêmulas de *Anheteromeyenia ryderi* (Potts, 1882) quando expostas a baixa temperatura e dessecação. Eles constataram que as gêmulas de *A. ryderi* sobrevivem 24h de exposição a baixa temperatura (-20°C) em condições de laboratório, e quando secas apresentaram viabilidade reduzida e uma taxa de eclosão mais lenta após a reidratação quando comparadas com as gêmulas do controle.

O estudo realizado por Calheira et al. (2020) avaliou a taxa de eclosão de duas espécies de esponjas de águas continentais da Região Neotropical, *Radiospongilla inesi* e *Heteromeyenia cristalina* em diferentes localidades, eles apontaram diferença na capacidade de eclosão de cada espécie. A distribuição dos poríferos de água doce encontra-se ligada a uma combinação dos fatores físicos e químicos da água, e a capacidade de suas gêmulas de lidar com essas variáveis abióticas (MANCONI & PRONZATO, 2007; REISWIG, 2010; CALHEIRA et al., 2020).

1.2 Objetivo

1.2.1 Geral

Testar a eclosão das gêmulas de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer- Ribeiro & Melão, 2007, coletas em ambientes lântico e lótico, respectivamente, expostas a águas de diferentes ambientes a fim de verificar se há diferença na taxa de eclosão e no início do desenvolvimento dessas espécies.

1.2.2 Específico

- Verificar se há diferença na taxa de eclosão das gêmulas entre os tratamentos e entre as espécies.
- Analisar as etapas do início do desenvolvimento de *R. inesi* e *H. cristalina* a partir das gêmulas.

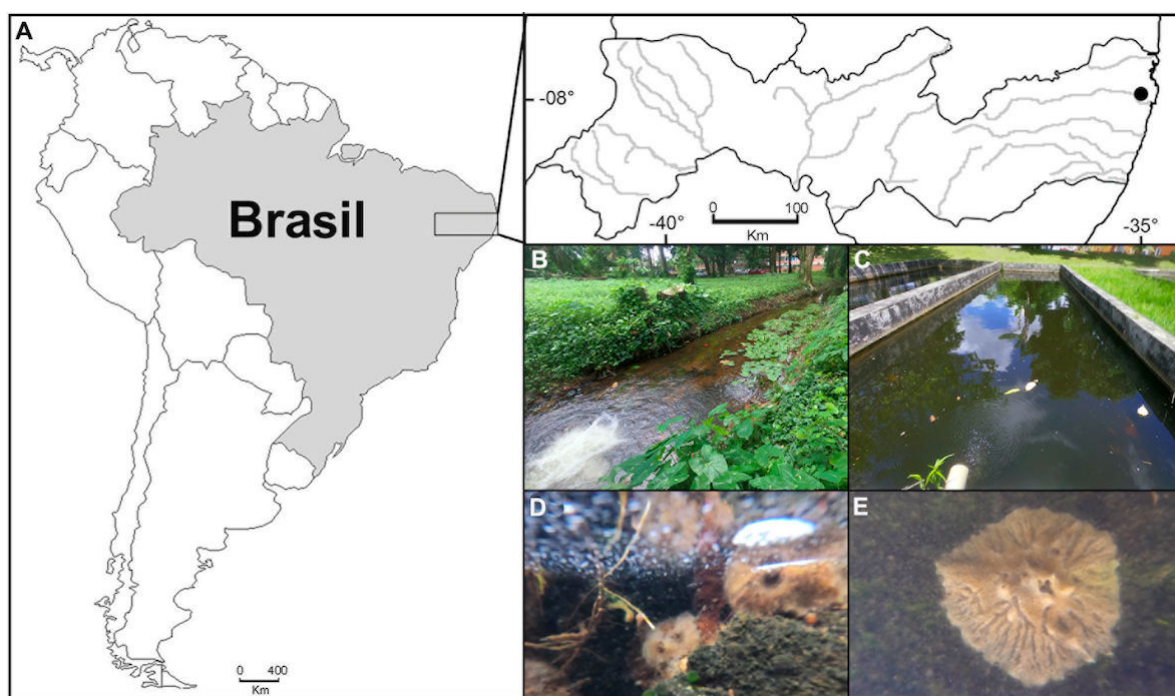
2. METODOLOGIA

2.1 Coleta e identificação taxonômica

Espécimes com gêmulas de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 foram coletados em julho de 2022 nos tanques de piscicultura (ambiente lântico) e no córrego (ambiente lótico) do Rio Prata, respectivamente, na Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE (8°00'58.6" S 34°56'45.7" W), Recife, Pernambuco(Figura 1A). Essas espécies foram escolhidas por produzirem gêmulas durante todo o ano, são fáceis de cultivar no laboratório, além de já terem o início de desenvolvimento descrito (CALHEIRA et al., 2019). No momento da coleta os espécimes foram fotografados *in situ* e acondicionados individualmente em recipientes

contendo água do local (Figura 1B e 1E). Os parâmetros abióticos das águas foram aferidos, tais como: temperatura (C°), oxigênio dissolvido (DO mg/L), condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) e pH, por meio de um analisador multiparâmetro (YSI-Professional Plus) (Tabela 1).

Figura 1. Local de amostragem e espécies estudadas no presente trabalho. (A) Mapa do Brasil e Estado de Pernambuco, destacando o local da coleta; (B) Local onde *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007 foi coletada; (C) Local onde *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 foi coletada; (D) Fotografia *in situ* de *Heteromeyenia cristalina*; (E) Fotografia *in situ* de *Radiospongilla inesi*.



Fonte: Autor (2023); Calheira et al. (2019) - imagem adaptada.

No laboratório foi realizada a identificação das espécies por meio da análise das lâminas de espículas dissociadas e das gêmulas usando o microscópio óptico, de acordo com a metodologia descrita por Hajdu et al. (2011) e Volkmer-Ribeiro (1985). Realizada a identificação, as gêmulas foram separadas do esqueleto da esponja utilizando uma pinça e um estereomicroscópio, e colocadas em uma placa de Petri contendo água do local onde as esponjas foram coletadas. As gêmulas foram selecionadas do mesmo tamanho e coloração buscando a padronização das amostras. Em seguida, as gêmulas passaram por um processo de esterilização da sua camada externa. Para tal, elas foram transferidas para outra placa de Petri

onde foram imersas inteiramente em peróxido de hidrogênio a 1% (H_2O_2) por três minutos (FUNAYAMA et al., 2005). Após esse tempo, com a utilização de um filtro de papel, as gêmulas foram lavadas várias vezes com água destilada para remoção do H_2O_2 . E depois foram transferidas para uma placa de Petri contendo água do local da coleta, para evitar que elas secassem. Com uma pipeta aproximadamente 10 gêmulas foram sugadas e colocadas em uma superfície lisa, e com o auxílio do estereomicroscópio e de uma agulha foi removido qualquer vestígio de esqueleto de esponja que ainda estivesse agarrado nas gêmulas.

2.2 Preparação dos tratamentos

Foram realizados quatro tratamentos: Tratamento 1 (T1) água do tanque de piscicultura da UFRPE; Tratamento 2 (T2) água do córrego no campus da UFRPE; Tratamento 3 (T3) água do tanque do anexo do CB UFPE; Tratamento 4 (T4) água mineral. Para cada tratamento foram utilizadas 3 réplicas com 12 gêmulas cada. Para dar início ao cultivo, as gêmulas já limpas foram transferidas para placas de 24 poços (3 mL) contendo água dos referidos tratamentos, apenas uma gêmula por poço. As placas foram mantidas em temperatura ambiente (cerca de 25°C) e a água foi trocada (2mL) a cada 48 horas. Na realização da troca da água as gêmulas foram mantidas submersas para que não ressecassem. A água utilizada para troca foi filtrada e mantida na geladeira do laboratório em frascos de vidro âmbar e retiradas horas antes da troca para que ficasse na temperatura ambiente.

Tabela 1. Características físico-químicas das águas utilizadas nos tratamentos de eclosão das gêmulas

Localidade	Temperatura	Oxigênio	Condutividade	pH	Salinidade
	($^\circ\text{C}$)	Dissolvido (DO mg/L)	($\mu\text{S}/\text{cm}$)		(g/L)
Tanque da UFRPE	23,8	10,9	81,7	7,3	0,03
Córrego	23,6	7,5	80,3	7,1	0,03
Tanque da UFPE	21,9	2,1	136,7	6,9	0,05
Mineral	23,3	2,4	64,9	6,9	0,02

Fonte: Autor (2023)

As gêmulas foram observadas diariamente por um período de 21 dias, colocando as placas sob um estereomicroscópio, tempo necessário para avaliar os estágios de desenvolvimento dessas espécies como descrito por Calheira et al., (2019). O início do desenvolvimento das esponjas ocorre através dos estágios definidos como: Estágio 0 = gêmula em repouso; Estágio 1 = eclosão (células migram da micrópila); Estágio 2 = formação das espículas; Estágio 3 = formação das câmaras coanocitárias e “bolsões”, mas não unidos em um sistema aquífero; Estágio 4 = sistema aquífero formado com ósculo. É comum que depois de um tempo a esponja juvenil morra, uma vez que ela não é alimentada durante o experimento.

2.3 Análise Estatística

Para análise de dados foi utilizado o teste ANOVA fatorial, que realiza o cruzamento dos fatores que inferem no percentual de eclosão das gêmulas. A partir disso foi realizado o teste a posteriori de Tukey para verificar se havia diferença significativa dos dados ali analisados. O nível de significância de 5% foi adotado.

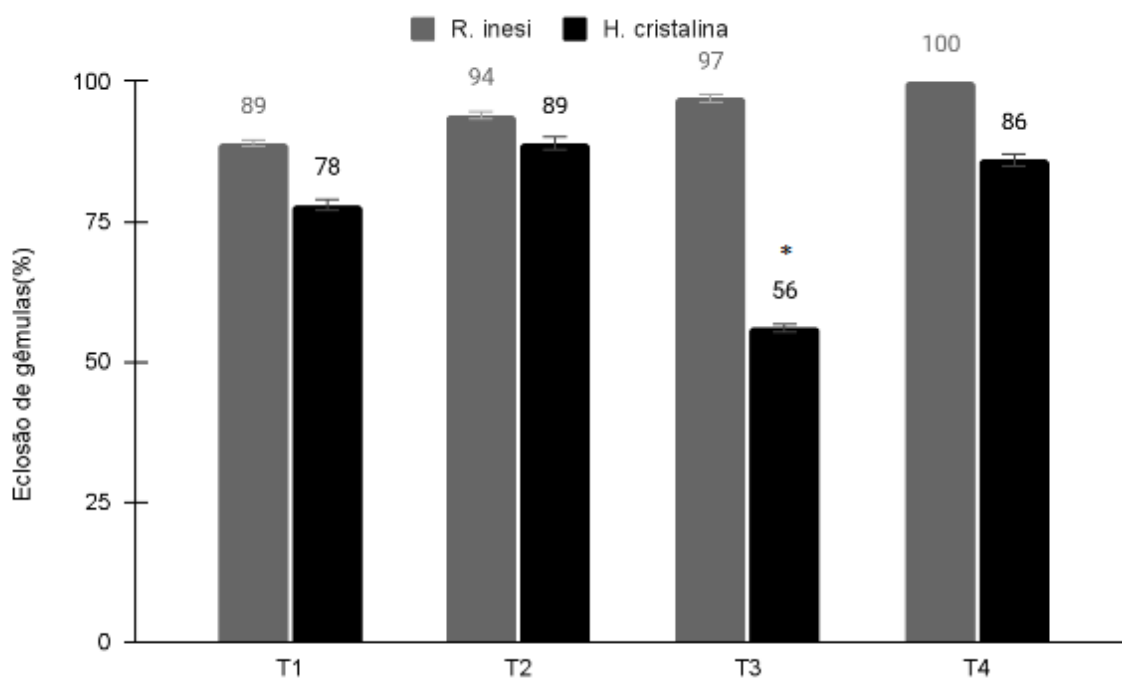
3. RESULTADOS

As gêmulas de *Radiospongilla inesi* e *Heteromeyenia cristalina* eclodiram em todos os tratamentos testados. Contudo, as gêmulas de *R. inesi* apresentaram percentual de eclosão maior em todos os tratamentos (T1 = 89%; T2 = 94%; T3 = 97%; T4 = 100%) quando comparadas com as de *H. cristalina* (T1 = 78%; T2 = 89%; T3 = 56%; T4 = 86%) (Gráfico 1). De acordo com os resultados obtidos no experimento foi possível verificar que houve diferença significativa entre os tratamentos (ANOVA $F_{3; 16} = 3.39$, $p < 0.05$) e entre as espécies estudadas (ANOVA $F_{3; 16} = 18.27$, $p < 0.001$). E a partir do teste *a posteriori* de Tukey foi possível observar que a diferença estatística obtida entre as espécies e tratamentos ocorreu devido a baixa eclosão das gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* quando submetidas ao T3 (água do tanque de UFPE) (Tukey, $p < 0,05$). Um fato interessante que vale a pena ressaltar, o tempo em que as gêmulas começaram a eclodir nos controles (água do local onde as gêmulas foram coletadas, T1 para *R. inesi* e T2 para *H. cristalina*). Em 24 horas após início do experimento foi constatado a eclosão de gêmula de *H. cristalina*, e só depois de 72h as

gêmulas de *R. inesi* começaram a eclodir. Contudo, com 7 dias de experimento, 86% e 72% das gêmulas de *R. inesi* e *H. cristalina*, respectivamente, já haviam eclodido (Gráfico 2).

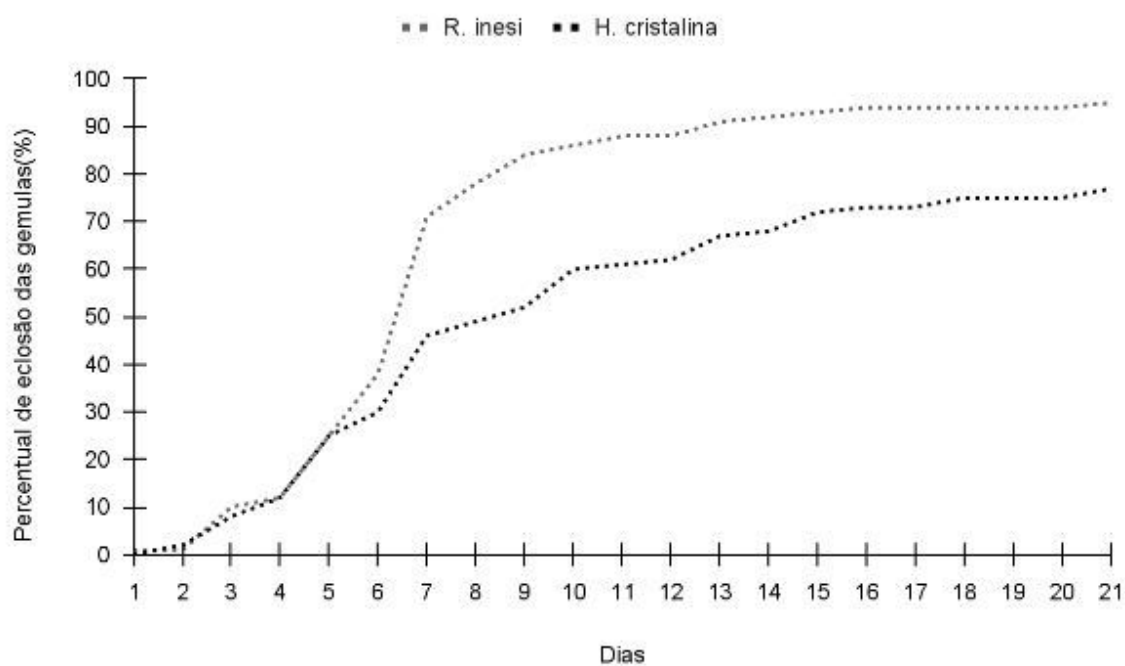
Além disso, foi possível observar a formação de esponjas juvenis a partir das gêmulas eclodidas nas duas espécies estudadas, em todos os tratamentos a que foram submetidas, com todos os estágios do início do desenvolvimento registrados (Figuras 2 e 3). Com percentual de 50% (T1 e T2), 61% (T3) e 53% (T4) para as gêmulas de *R. inesi*, e de 53% (T1), 64% (T2), 31% (T3) e 14% (T4) para as gêmulas de *H. cristalina* (Gráfico 3). E novamente foi notado diferença significativa entre os tratamentos (ANOVA $F_{3; 16} = 3.39$, $p < 0.05$) e entre as espécies (ANOVA $F_{3; 16} = 6.61$, $p < 0.05$), e com o teste *a posteriori* de Tukey a diferença obtida devido ao baixo percentual de esponjas juvenis formadas no T4 nas gêmulas de *H. cristalina* (Tukey, $p < 0,05$) foi evidenciada.

Gráfico 1. Porcentagem de eclosão de gêmulas de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007. Gêmulas submetidas aos tratamentos: T1. Água do tanque de piscicultura da URFPE, local de coleta da *R. inesi*, T2. Água do córrego no campus da URFPE, local de coleta da *H. cristalina*, T3. Água do tanque do anexo do CB-UFPE e T4. Água mineral. * Diferença significativa entre as espécies.



Fonte: Autor (2023)

Gráfico 2. Percentual de gêmulas eclodidas em todos os tratamentos de cada espécie x tempo (dias)



Fonte: Autor (2023)

Gráfico 3. Porcentagem de esponjas juvenis formadas de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro, 2011 e *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007. Gêmulas submetidas aos tratamentos: T1. Água do tanque de piscicultura da URFPE, local de coleta da *R. inesi*, T2. Água do córrego no campus da URFPE, local de coleta da *H. cristalina*, T3. Água do tanque do anexo do CB-UFPE e T4. Água mineral. * Diferença estatística significativa entre as espécies. * Diferença estatística significativa entre as espécies.

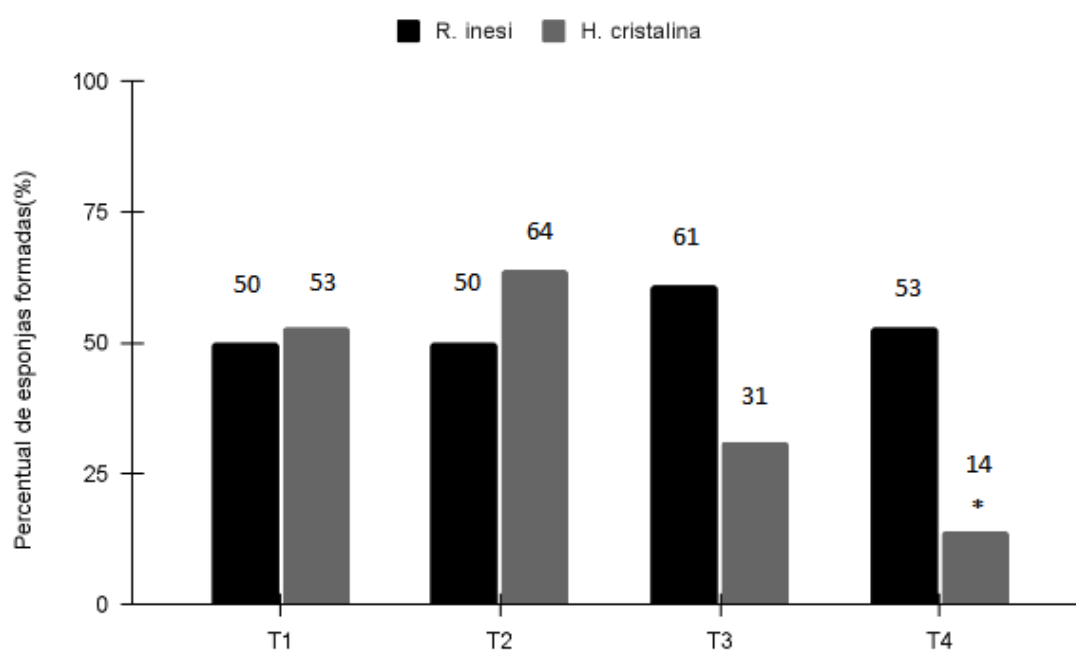
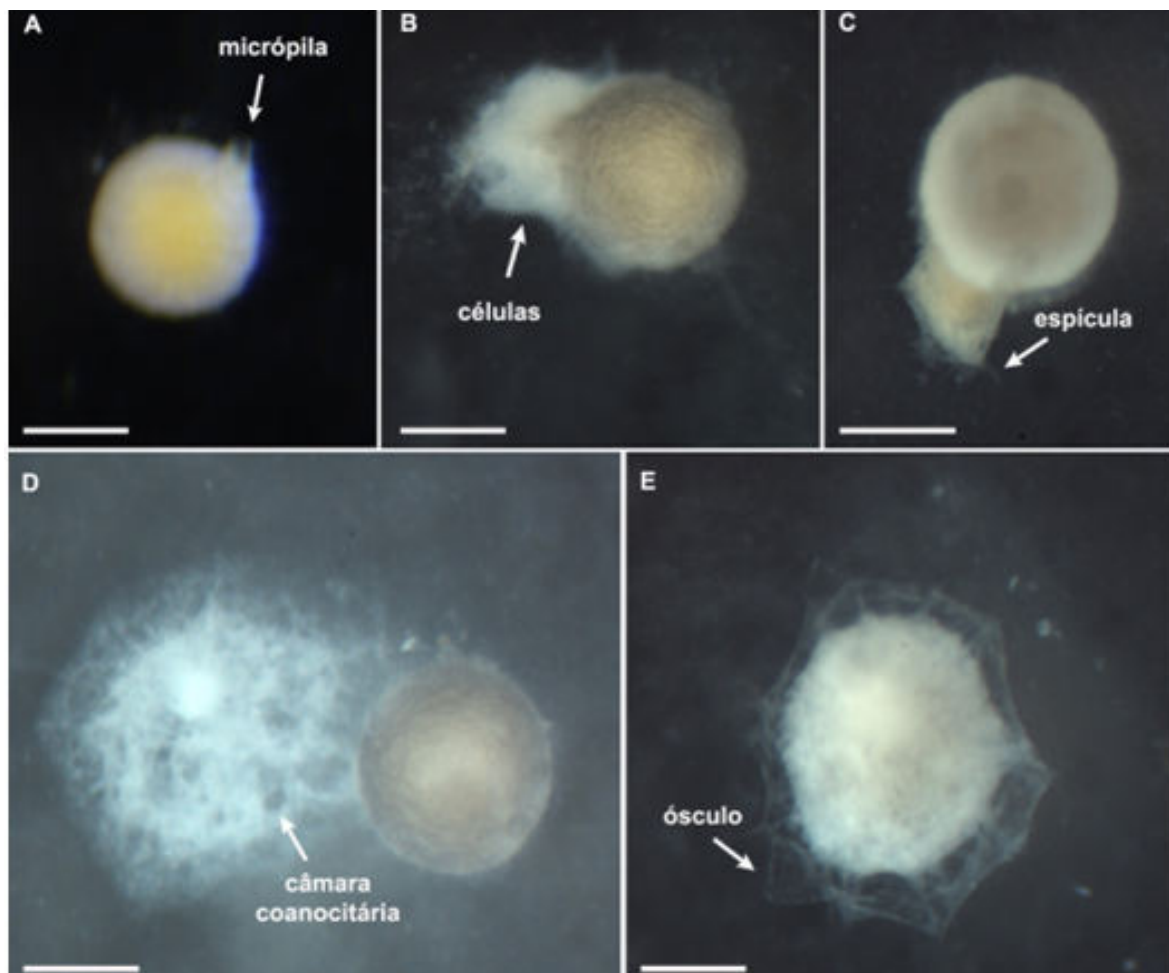
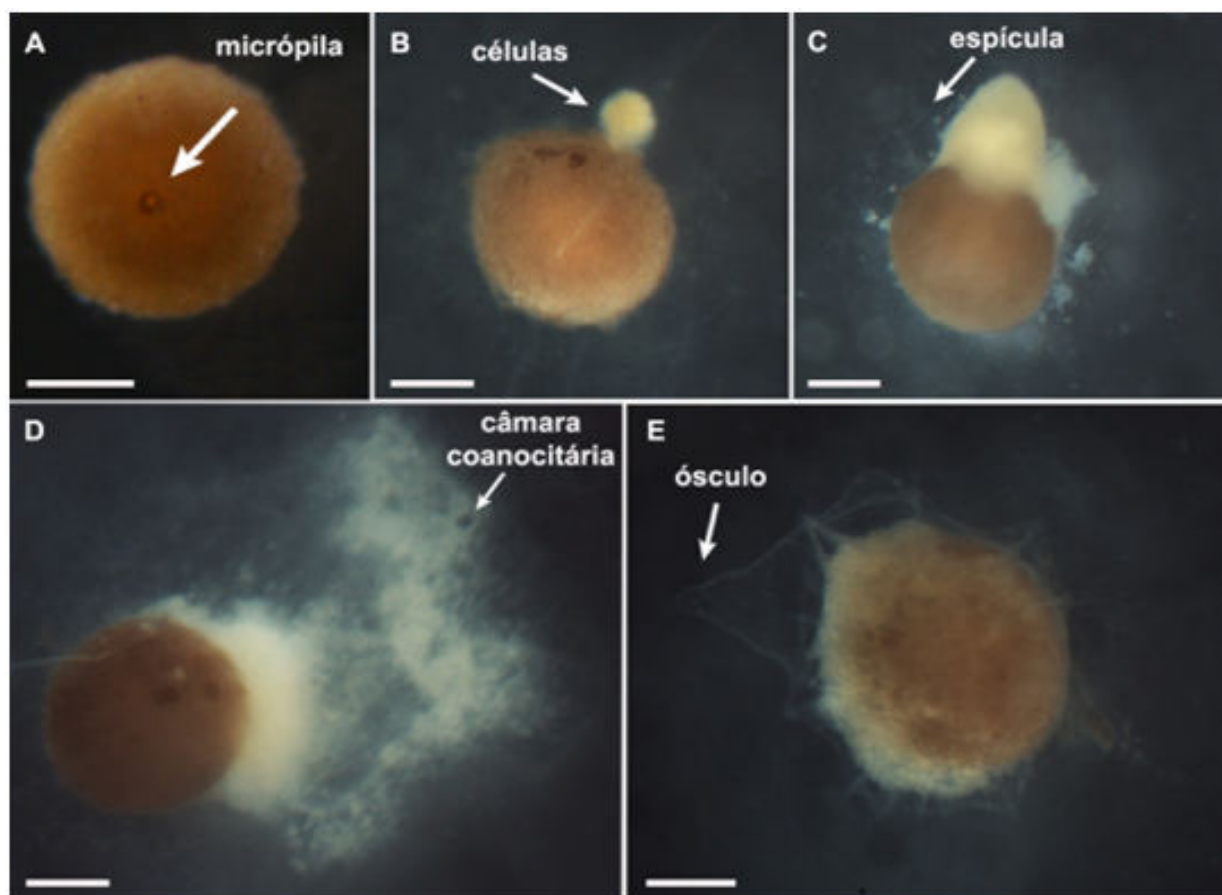


Figura 2. Estágios de desenvolvimento de *Radiospongilla inesi* Nicacio & Pinheiro 2011, a partir das gêmulas (A) estágio 0, (B) estágio 1, (C) estágio 2, (D) estágio 3 e (E) estágio 4. Barras de escala: 200 μ m.



Fonte: Autor (2023)

Figura 3. Estágios de desenvolvimento de *Heteromeyenia cristalina* Batista, Volkmer-Ribeiro & Melão, 2007, a partir das gêmulas. (A) estágio 0; (B) estágio 1; (C) estágio 2; (D) estágio 3; (E) estágio 4. Barras de escala: 200 μ m.



Fonte: Autor (2023)

4. DISCUSSÃO

Quando consultada a literatura disponível a respeito da capacidade de eclosão de gêmulas é possível por meio dos estudos encontrados compreender e traçar uma relação das características das águas habitadas com desencadear da eclosão, os estudos de Melão & Rocha (1996) com *Metania spinata*, Carter, 1881 ao avaliar a influência da baixa temperatura, dessecação e quantidade de matéria orgânica na eclosão de gêmulas da espécie, constataram que a baixa temperatura inibiu a eclosão das gêmulas, enquanto que a dessecação e a matéria orgânica apresentaram percentual mais elevado de eclosão, 60% e 40% respectivamente. Fell (1987) com gêmulas de *Eunapius fragilis* Leidy, 1851 avaliou a influência da temperatura e dessecação, e obteve resultados que indicaram uma interação entre dessecação e baixas temperaturas no rompimento da diapausa dessas gêmulas. De Santos & Fell (1996) em um experimento onde gêmulas de *Spongilla lacustris* Linnaeus, 1759 foram submetidas a um período em baixa temperatura e depois transferidas para temperatura ambiente tiveram 100% de eclosão. Gêmulas de *Anheteromeyenia ryderi* (Potts, 1882) tiveram sua sobrevivência testada quando expostas a baixa temperatura e dessecação por Fell & Bazer (1990). Embora Calheira et al (2020) tenham testados a capacidade de eclosão das gêmulas de *R. inesi* e *H. cristalina* em diferentes águas, o presente trabalho objetivou entender melhor a biologia dessas duas espécies testando diferentes águas, em um período diferente, e coletando os espécimes em ambientes lóticos (*H. cristalina*) e lênticos (*R. inesi*). Vale ressaltar que as duas espécies aqui estudadas ocorrem tanto em ambiente lótico quanto lêntico (DOCIO et al., 2021).

As gêmulas de *Radiospongilla inesi* e *Heteromeyenia cristalina* eclodiram em todos os tratamentos e foi possível confirmar todos os estágios do início de desenvolvimento como descritos por Calheira et al. (2019) (Figuras 2 e 3). As gêmulas de *R. inesi* apresentaram um percentual de eclosão maior em todos os tratamentos, em comparação com as de *H. cristalina*. O que nos dá uma ideia inicial de que ela seja a espécie das duas mais bem adaptada a diferentes tipos de águas. Além disso, as gêmulas de *H. cristalina* apresentaram uma baixa eclosão no tratamento com água do tanque da UFPE (T3), que possivelmente pode estar atrelado a condutividade mais elevada dessa água (136,7 uS/cm) quando comparada com as águas dos outros tratamentos (< 82 uS/cm) (Tabela 1). Os valores de condutividade nos ambientes aquáticos estão relacionados com as características geoquímicas da região onde se localizam e com as condições climáticas (estação seca e de chuva) (ESTEVEZ et al., 2011).

Provavelmente a alta condutividade tenha influenciado na taxa de eclosão das gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* os resultados de Calheira et al. (2020) favorecem essa hipótese uma vez que as gêmulas de *R. inesi* e *H. cristalina* submetidas ao tratamento com água de mais alta condutividade (204,8 uS/cm) não eclodiram.

Os resultados aqui obtidos corroboram com os achados de Calheira et al. (2020), quando levamos em consideração a taxa de eclosão das gêmulas de *R. inesi*, que apresentou o percentual de eclosão de 80% no controle (T1) e 78% na água mineral (T4), no presente trabalho o percentual foi um pouco maior, de 89% para o controle e 100% quando submetidas a água mineral. Já nas gêmulas de *H. cristalina* os autores observaram o percentual de eclosão de 92% no controle, e 2% na água mineral, aqui foi constatado um percentual de 89% para o controle (T2) e 86% na água mineral. Essa diferença no percentual de eclosão das gêmulas de *Heteromeyenia cristalina* pode estar atrelada aos ambientes onde essas espécies foram coletadas uma vez que no trabalho de Calheira e colaboradores (2020) os espécimes foram coletados apenas nos tanques de piscicultura (ambiente lântico), enquanto no presente estudo os espécimes foram coletados apenas no córrego (ambiente lótico), e não foram encontrados nos tanques (observação pessoal). A distribuição dos organismos bentônicos nos ecossistemas estão diretamente relacionadas a diversos fatores ambientais abióticos como temperatura, pH, concentração de oxigênio, etc. Além destes fatores, a velocidade da corrente também constitui importante fator que influencia na distribuição desses organismos, transportando e sedimentando partículas (ESTEVEZ et al., 2011).

As duas espécies aqui investigadas formaram esponjas juvenis em todos os tratamentos testados. Calheira e colaboradores (2020) verificaram formação de esponjas juvenis para *R. inesi* em todos os tratamentos, mas para *H. cristalina* apenas no controle. Esse achado pode estar relacionado com a época do ano e o local em que as gêmulas foram coletadas. As gêmulas utilizadas no experimento de Calheira foram coletadas apenas nos tanques de piscicultura em maio de 2015, um período de seca moderada segundo dados do INMET (SIP = -1.0), já as do presente experimento foram coletadas nos tanques (*R. inesi*) e no córrego (*H. cristalina*) em julho de 2022 em período extremamente úmido (SIP = +2.0). Para uma melhor interpretação desses resultados, é necessário investigar por um período maior, a fim de verificar se há alguma relação entre os períodos de seca e de chuva, e se a variação pluviométrica ao longo do ano pode influenciar no início do desenvolvimento dessas espécies.

Outra possível explicação para essas divergências pode estar na dinâmica das águas utilizadas, uma vez que as gêmulas de *R. inesi* vem de um ambiente lântico, e as de *H.*

crystalina de um ambiente lótico. Os ambientes lóticos e lênticos possuem diferentes características hidrodinâmicas que podem influenciar no desenvolvimento de esponjas juvenis. Em ambientes lóticos como rios, riachos, a correnteza pode fornecer uma fonte constante de alimento e oxigênio para essas esponjas, enquanto em ambientes lênticos como lagos e lagoas as esponjas podem se beneficiar de uma maior disponibilidade de nutrientes provenientes da decomposição de matéria orgânica (WEISSENFELS et al., 2019).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que há diferenças significativas entre as espécies, *R. inesi* e *H. cristalina*, em relação à eclosão das gêmulas e o início do desenvolvimento das esponjas quanto aos ambientes lênticos e lóticos. E que o período e ambientes com características hidrodinâmicas distintas podem influenciar no tempo para o início da eclosão das gêmulas quanto no percentual de eclosão delas. Esses resultados contribuem para o conhecimento da biologia reprodutiva das esponjas de água doce neotropicais e podem auxiliar na conservação desses organismos e futuros estudos.

6. REFERÊNCIAS

- BATISTA, T.C.A.; VOLKMER-RIBEIRO, C.; MELÃO, M.G.G. Espongofauna da Área de Proteção Ambiental Meandros do rio Araguaia (GO, MT, TO). Brasil, com descrição de *Heteromeyenia cristalina* sp. nov. (Porifera, Demospongiae). **Revista Brasileira de Zoologia** 24, 3,608-630, 2007
- BARBEAU, M.A; REISWIG, H.M; RATH, L.C. Hatching of freshwater sponge gemmules after low temperature exposure: *Ephydatia mulleri* (Porifera: Spongillidae). **J. therm. Biol.** Vol. 14, No. 4, pp. 225-231. 1989
- BAZER, L.J; FELL P.E. Gemmules of *Anheteromeyenia ryderi* and *Heteromeyenia tubisperma* (Porifera: Spongillidae) from southern New England undergo diapause. **Freshwater Biology** 16, 479-486. 1986
- BOUTSELIS, N.J; FELL, P.E; LOOMIS, S.H. Low Temperature Tolerance of the Gemmules of *Eunapius fragilis*. **The journal of experimental zoology** 255:125- 129, 1990
- CÁCERES C.E. Dormancy in invertebrates. **Invertebrate biology**. 116: 371-383. 1997.

- CALHEIRA, L, LANNA, E. & PINHEIRO, U. Tropical freshwater sponges develop from gemmules faster than their temperature-region counterparts. **Zoomorphology** 138, 425-436 2019.
- CALHEIRA, L, SANTOS, P.J.P. & PINHEIRO, U. Hatchability of two gemmules Neotropical freshwater sponges (Porifera: Spongillida). **Iheringia**. Ser.Zool.; 110: e2020001, 2020.
- DE SANTOS. E, FELL. P.E. Distribution and Ecology of freshwater sponges in Connecticut. **Hydrobiologia**. 341, 81-89, 1996.
- DOCIO, L; PAROLIN, M; PINHEIRO, U. A contribution to adequate use of freshwater sponges as a proxy in paleoenvironmental studies. **Zootaxa**. 4915 (4): 506-528. 2021.
- ERESKOVSKY A.V. The Comparative Embryology of Sponges. **Springer. Saint-PetersburgState University - Russia**. 2010 377 pg. 2010.
- ESTEVES, F.A. Fundamentos da Limnologia 3ª edição. **Interciência**, 2011.
- FELL P.E. Influences of temperature and desiccation in the gemmules of *Eunapius fragilis* (Leidy 1851) **Invertebrate Reproduction & Development**, 11: 305-315, 1987.
- FELL P.E. Environmental factors affecting dormancy in the freshwater sponge *Eunapius fragilis* (Leidy), **Invertebrate Reproduction & Development**, 18:3, 213-219, 1990
- FELL P.E; BAZER, L.J. Survival of the gemmules of *Anheteromeyenia ryderi* (Potts) following aerial exposure during winter in New England. **Hydrobiologia** 190: 241-246, 1990
- FUNAYAMA., et al. Isolation of the choanocyte in the freshwater sponge, *Ephydatia fluviatilis* and its lineage marker, *Ef annexin*. **Dev Growth Differ** 47:243–253. 2005
- HADJU, E.; PEIXINHO, S.; FERNANDEZ, J. Esponjas marinhas da Bahia: Guia de campo e laboratório. **Museu Nacional. Série de livros**. 45.276 pags, 2011.
- HOOPER J.N.A & VAN SOEST R.W.M. Class Demospongiae. Pp.15-18. *In*: Hooper J.N.A & Van Soest R.W.M (eds.). **Sistema Porifera: A guide to the supraspecific classification of the phylum Porifera**. New York: Kluwer Academic Plenum Publishers. 2002
- LAPORT, M.S; RACHID, C.T.C; PINHEIRO, U Freshwater Sponge *Tubella variabilis* Present Richer Microbiota Than Marine Sponge Species. **Frontiers in Microbiology**. Volume 10 2019
- MANCONI, R. & PRONZATO, R.. Adaptive strategies of sponges in inland waters. 395-401, DOI: 10.1080/11250009409355912. 1994
- MANCONI, R. & PRONZATO, R. Sub-order Spongillina subord. nov.; **Freshwater sponges**. Pp 921-1019. 2002.

- MANCONI, R & PRONZATO, R. Gemmules as a key structure for the adaptive radiation of freshwater sponges: a morpho-functional and biogeographical study. *in*: Custódio MR, Lôbo - Hajdu G, Hajdu E, Muricy G (eds.) **Porifera Research. Biodiversity, Innovation and Sustainability**. Livros de Museu Nacional 28. Rio de Janeiro. pp 61-77. 2007
- MANCONI, R & PRONZATO, R. How to survive and persist in temporary freshwater? Adaptive traits of sponges (Porifera: Spongilida): a review. **Hydrobiologia**. 782:11-22. 2016
- MELÃO, M.G.G & ROCHA, O. Germinação de gêmula *Metania spinata* (Porifera, Metaniidae). **Anais do VII Seminário Regional de Ecologia**. São Carlos, SP, Brasil, 7: 81-85. 1996.
- MURICY G.; HAJDU E. Porifera Brasilis – Guia de identificação das esponjas marinhas mais comuns do sudeste do Brasil. **Rio de Janeiro: Museu Nacional**. Série Livros 17, 104 pags. 2006.
- NICACIO, G.; SEVERI, W.; PINHEIRO, U. New species of *Radiospongilla* (Porifera: Spongillidae) from Brazil inland waters. **Zootaxa**, 3132, 56-63. 2011.
- NICACIO, G.; PINHEIRO, U. Biodiversity of freshwater sponges (Porifera:Spongillina) from northeast Brazil: new species and notes on systematics. **Zootaxa**. 3981(2): 220-240. 2015.
- PINHEIRO, U & NICACIO, G. Resurrection and redefinition of the Genus *tubela* (Porifera: Spongillidae) with a worldwide list of valid species. **Zootaxa**, 3269, 65-68. 2012
- REISWIG H.M., FROST T.M. & RICCIARDI, A. Porifera. Pp 91-123. In: Thorp J.H. & Covich A.P. (eds.). **Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates**, Elsevier, Academic Press, New York. 2009
- SCHMIDT, O. Grundzüge einer Spongien-Fauna des atlantischen Gebietes. **Wilhelm Engelmann: Leipzig**: iii-iv, 1-88, pls I-VI. 1870.
- SIMPSON, T.L; VACCARO C.A, The Role of Intragranular Osmotic Pressure in Cell Division and Hatching of Gemmules of the Fresh-Water Sponge *Spongilla lacustris* (Porifera). **Z. Morph. Tiere** 76, 339-357, 1973
- SOLLAS, W.J. A Classification of the Sponges. **Annals and Magazine of Natural History**. (5) 16(95): 395. 1885.
- VOLKMER-RIBEIRO C. Evolutionary study of the freshwater sponge genus *Metania* Gray, 1867: Metaniidae, new family. **Amazoniana**. 9(4): 493-509. 1986.
- DE VOOGD, et al . **World Porifera Database**. Accessed at <https://www.marinespecies.org/porifera> on 2023-03-03. doi:10.14284/359 2023

WEISSENFELS, N., et al. Riverine versus lacustrine sponges: different strategies for survival in flowing versus stagnant waters. **Hydrobiologia**, 40(2), e12535. 2019

YIN Z., et al. Sponge grade body fossil with cellular resolution dating 60 Myr before the Cambrian. In: **Proceedings of the National Academy of Sciences** 112.12 (2015), E1453–E1460. 2015.