

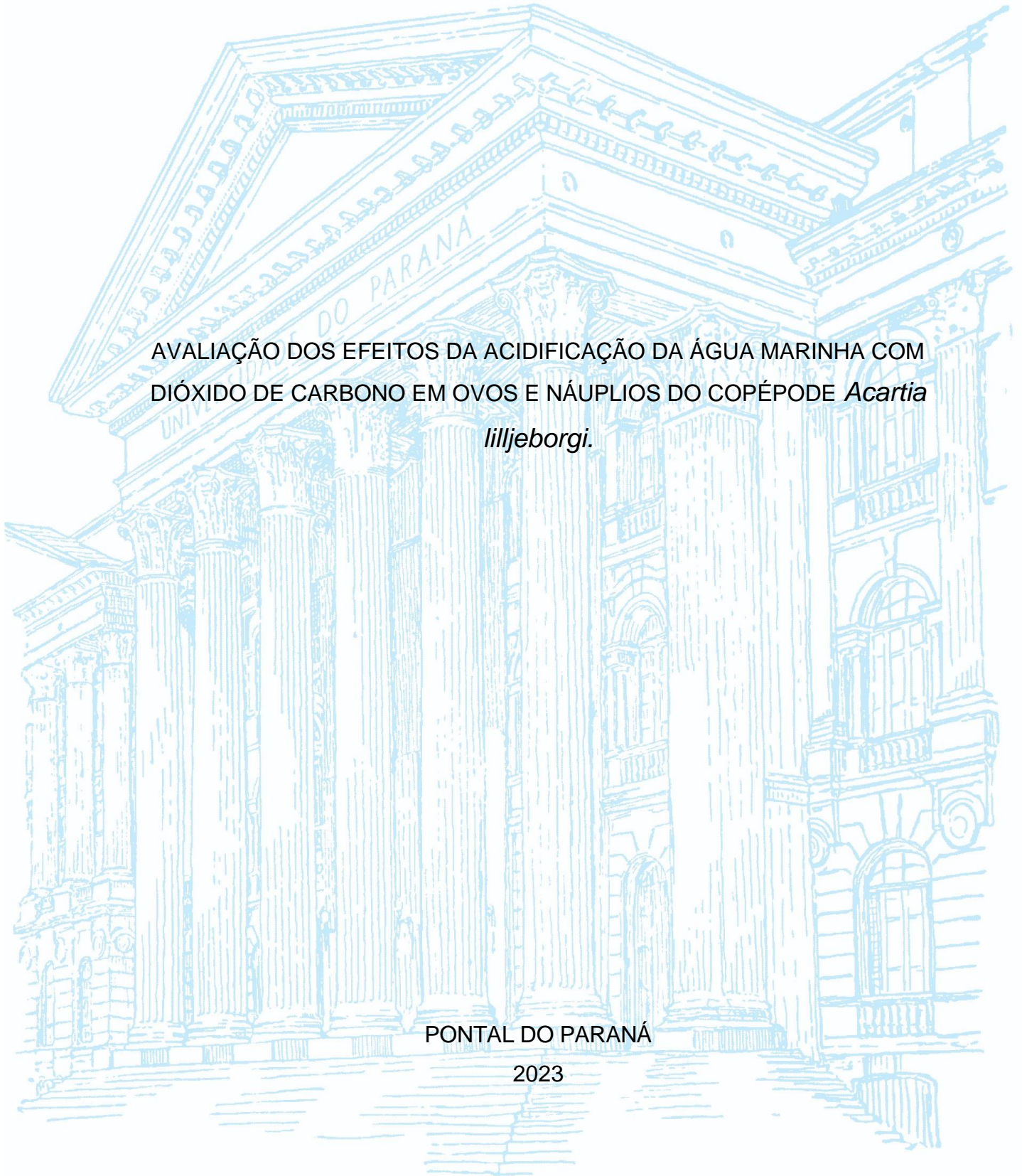
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GRETCHEN MAGRIDT WACHHOLZ

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA MARINHA COM
DIÓXIDO DE CARBONO EM OVOS E NÁUPLIOS DO COPÉPODE *Acartia*
lilljeborgi.

PONTAL DO PARANÁ

2023



GRETCHEN MAGRIDT WACHHOLZ

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA MARINHA COM
DIÓXIDO DE CARBONO EM OVOS E NÁUPLIOS DO COPÉPODE *Acartia*
lilljeborgi.

Trabalho apresentado como requisito à conclusão
do Curso de Bacharelado em Oceanografia do
Campus Pontal do Paraná – Centro de Estudos do
Mar, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Guilherme Bersano Filho

PONTAL DO PARANÁ

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DO CURSO DE OCEANOGRAFIA
Avenida Deputado Aníbal Khury, 2033, - Bairro Balneário Pontal do Sul, Pontal do Paraná/PR,
CEP 83255-976
Telefone: (41) 3511-8626 - <http://www.ufpr.br/>

ATA DE REUNIÃO

TERMO DE APROVAÇÃO

Gretchen Magridt Wachholz

**"AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA MARINHA COM DIÓXIDO DE CARBONO EM
OVOS E NÁUPLIOS DO COPÉPODE *Acartia lilljeborgi*"**

Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia, da
Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos membros:

Prof. Dr. José Guilherme Bersano Filho
Prof. Orientador - Centro de Estudos do Mar (CPP-CEM) - UFPR

Profa. Dra. Érica Alves Gonzalez Vidal
Centro de Estudos do Mar (CPP-CEM) - UFPR

Prof. Dr. Fabiano Bendhack
Centro de Estudos do Mar (CPP-CEM) - UFPR

Pontal do Paraná, 07 de dezembro de 2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer aos meus pais, Ademar e Jucelena, por toda motivação e apoio e, principalmente, por me permitirem seguir meu sonho mesmo sendo um mundo tão desconhecido para vocês. Quero agradecer ainda minhas irmãs Brendha, Karin e Monique, pelo carinho e apoio de vocês. E agradecer minha sobrinha, Emma, que em tão pouco tempo já trouxe tantas alegrias. Sorte a minha ter essa família me dando suporte.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. José Guilherme Bersano Filho, por me convidar a conhecer o mundo zooplanctônico, por compartilhar o carinho por copépodes e por aceitar e incentivar minhas ideias. Quero agradecer ainda por todo conhecimento que me foi passado e pelas boas conversas.

À Fundação Araucária pelo incentivo a pesquisa de iniciação científica.

Ao João, por ter sido meu parceiro, me incentivado e apoiado.

Aos meus amigos, vocês tornaram essa caminhada da graduação muito mais fácil.

À toda equipe do laboratório, principalmente a técnica Fernanda por sempre estar disposta a ajudar e conversar.

À todos os professores que fizeram parte dessa jornada e que não mediram esforços em repassar conhecimento, espero reencontrá-los em breve.

RESUMO

A acidificação oceânica está associada às mudanças climáticas globais decorrentes das emissões de dióxido de carbono (CO₂). As altas concentrações de CO₂ alteram a química dos oceanos afetando os organismos marinhos, e a previsão de acidificação para o ano de 2100 é de pH próximo a 7,9, enquanto para o ano de 2300 a acidificação cairia para 7,6. Os copépodes são organismos fundamentais para o ambiente marinho pois representam um elo entre produtores e consumidores na cadeia trófica, transferindo a energia da base para o topo da cadeia. Além disso são peças importantes nos ciclos biogeoquímicos marinhos, como o ciclo do nitrogênio e do carbono. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da acidificação nas fases iniciais do ciclo de vida do copépode planctônico *Acartia lilljeborgi*, uma espécie muito abundante e frequente no Complexo Estuarino de Paranaguá e em toda a zona costeira do litoral paranaense. Em laboratório ovos e náuplios de *A. lilljeborgi* foram submetidos a valores de pH previstos para os anos de 2100 e 2300, 7,9 e 7,6, respectivamente. Foram avaliados efeitos letais de eclosão e sobrevivência dos náuplios, e subletais de tamanho e crescimento dos náuplios. Para os diferentes tratamentos os efeitos letais de eclosão dos ovos e sobrevivência dos náuplios não apresentaram resultados com diferenças significativas, apesar da sobrevivência dos náuplios ser menor no pH 7,9. Como resultado de efeitos subletais foi verificado que houve diferença significativa entre o tratamento de pH 8,1 e 7,9 ($p = 0,050$) para náuplios com menos de 24 horas de eclosão, enquanto ao final do experimento a diferença significativa foi verificada para os experimentos de pH 8,1 e 7,6 ($p = 0,001$). Os maiores valores de comprimento ($141,67 \pm 5,92 \mu\text{m}$) e largura ($67,33 \pm 5,21 \mu\text{m}$) dos náuplios ao final do experimento, foram registrados no pH 8,1, enquanto o menor foi observado para o tratamento com pH 7,6 com comprimento médio de $136,33 \pm 4,90 \mu\text{m}$ e largura $64,33 \pm 5,04 \mu\text{m}$. Portanto ficou evidenciado que apesar de tratamentos com pH reduzidos não apresentarem efeitos letais em ovos e náuplios da *A. lilljeborgi*, os mesmos apresentam efeitos subletais como redução do comprimento corporal de náuplios.

Palavras-chave: Acidificação Oceânica, Crescimento, Sobrevivência.

ABSTRACT

Ocean acidification is related to global climate change, that is linked to carbon dioxide (CO₂) emissions. High concentrations of CO₂ change the ocean chemistry affecting marine organisms, Copepods are fundamental to marine environment, they represent a link between producers and consumers in the trophic chain, acting as a conveyer of energy from bottom to top, and are important in marine biochemical cycles. On the coast of Paraná the copepod *Acartia lilljeborgi* is abundant and frequent. The aim of this study is to evaluate how early stages (eggs and nauplii) of *A. lilljeborgi* react to current pH and the prediction for the years 2100 and 2300, with pH 8,1, 7,9, 7,6, respectively. Lethal and sublethal effects were evaluated, such as hatching rate, survival and size of nauplii. The lethal effects of egg hatching and nauplii survival do not present results with significant differences, despite nauplii survival being lower at pH 7,9. As a result of sublethal effects, it was verified that body length at the beginning of the experiments had a significant difference between pH 8,1 and 7,9 ($p = 0,050$), but at the end of the experiment the significant difference was seen between pH 8,1 and 7,6 ($p = 0,001$). The greatest length ($141,67 \pm 5,92 \mu\text{m}$) and width ($67,33 \pm 5,21 \mu\text{m}$) at the end of experiments were found at pH 8,1, while the smallest in the treatment at pH 7,6 with average length $136,33 \pm 4,90 \mu\text{m}$ and width $64,33 \pm 5,04 \mu\text{m}$. Therefore, it was observed that treatments with reduced pH do not have lethal effects on *A. lilljeborgi* eggs and nauplii, but they do have sublethal effects such as reducing the nauplii body length.

Key-words: Ocean acidification, Growth, Survival.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 OBJETIVO.....	10
1.1.1 Objetivo geral	10
1.1.2 Objetivos específicos	10
1.2 JUSTIFICATIVA	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3. METODOLOGIA	15
3.1 ADULTOS DE <i>Acartia lilljeborgi</i>	15
3.2 ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA MARINHA.....	15
3.3 ECLOSÃO DE OVOS.....	15
3.4 SOBREVIVÊNCIA DE NÁUPLIOS	16
3.5 CRESCIMENTO DOS NÁUPLIOS	17
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	18
4. RESULTADOS	19
4.1 VARIAÇÃO DO PH	19
4.2 ECLOSÃO DE OVOS.....	20
4.3 SOBREVIVÊNCIA DOS NÁUPLIOS.....	21
4.4 TAMANHO DOS NÁUPLIOS.....	24
5. DISCUSSÃO	27
6. CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

EQUAÇÃO

EQUAÇÃO 1 - Taxa de crescimento dos náuplios.	18
--	----

FIGURAS

FIGURA 1 – Desenho amostral da eclosão dos ovos.	16
FIGURA 2– Desenho amostral da sobrevivência dos náuplios.	17
FIGURA 3 - Medição de comprimento (A) e largura (B) nos náuplios.	18
FIGURA 4 – Percentual médio de eclosão dos ovos.....	21
FIGURA 5 - Sobrevivência dos náuplios em cada tratamento 24 e 48 horas.	22
FIGURA 6 - Percentual médio de sobrevivência dos náuplios.	23
FIGURA 7 - Sobrevivência de náuplios em cada tratamento ao decorrer de 48 horas.....	24
FIGURA 8 - Comprimento dos náuplios na eclosão (<24h) e após 48 horas.	25
FIGURA 9 - Largura dos náuplios na eclosão (<24h) e após 48 horas.	25

TABELAS

TABELA 1 - Variação do pH durante eclosão dos ovos.	19
TABELA 2 - Variação do pH durante teste de sobrevivência dos náuplios.....	19

1. INTRODUÇÃO

A revolução industrial iniciou um desequilíbrio nos estoques de carbono terrestre, a constante emissão de dióxido de carbono (CO_2) decorrente da queima de combustíveis fósseis ocasionou em aumento das concentrações desse gás na atmosfera e conseqüentemente nos oceanos (SIEGENTHALER e SARMIENTO, 1993; HOFMANN *et al.*, 2019; JIANG, 2019). A alta emissão de gases de efeito estufa afeta os oceanos de diferentes maneiras, sendo que as mais comentadas são o aumento da temperatura superficial do mar e a redução do pH marinho. Somente neste período de aproximadamente 200 anos pós revolução industrial os oceanos já absorveram cerca de 30% de toda a emissão de CO_2 , o que resultou em uma redução de 0,1 unidades de pH (HOFMANN *et al.*, 2019; JIANG, 2019).

A redução do pH dos oceanos é conhecida como acidificação dos oceanos. A maior concentração de CO_2 na atmosfera faz com que os oceanos absorvam maiores quantidades desse gás, gerando reações em que o resultado é aumento da concentração de carbono inorgânico dissolvido e íons de Hidrogênio (H^+). Quanto maior a quantidade de íons de Hidrogênio no mar menor será o pH, ou seja, mais ácida estará a água marinha (GATTUSO, 2011).

Essa alteração ambiental vem sendo estudada principalmente pelo seu efeito em organismos calcificadores, como moluscos com concha e recifes de coral (HOFMANN *et al.*, 2019; TALMAGE; GOBLER, 2010), que já apresentaram respostas danosas como má formação em conchas e branqueamento de corais. Estudos mais recentes têm avaliado a resposta de copépodes à acidificação oceânica, pois apesar de não possuírem esqueleto formado por carbonato de cálcio, o impacto nesses organismos pode ser relevante pois representam grande parte da biomassa zooplanctônica e também por serem a principal ligação entre os produtores primários e os níveis tróficos superiores (WANG, 2018). Além de serem um ponto fundamental na cadeia trófica os copépodes são também importantes na bomba biológica de carbono, vez que seus *pellets* fecais e migrações verticais auxiliam a transportar carbono da superfície marinha para áreas de maior profundidade, aprisionando o carbono em camadas mais profundas (BÉCKER, 2022).

De acordo com Fitzer *et al.* (2012a) os copépodes podem realocar energia para priorizar a reprodução e o crescimento populacional, os autores mostraram ainda que o investimento de energia em produção de náuplios afeta a composição e proporção de carbono e oxigênio na cutícula da fêmea. Outro estudo mostrou que a acidificação apesar de não alterar o sistema reprodutivo das fêmeas de copépodes faz com que o tamanho dos espermatóforos diminua, podendo afetar a reprodução (FITZER *et al.*, 2021b)

Alguns autores como Fitzer *et al.* (2012a) e Wang *et al.* (2018) apontam que estudos multigeracionais são mais precisos em relação ao que aconteceria no ambiente natural, pois além dos copépodes apresentarem a aclimatação fisiológica há também a possibilidade de adaptação genética aumentando a resiliência populacional.

Em estudo de Cripps, Lindeque e Flynn (2014b) foi abordada a necessidade de inserir os machos também sob efeito de maiores concentrações de CO₂, pois a maioria dos estudos eram realizados apenas com fêmeas previamente copuladas em pH natural e então inserida em meio com pH reduzido. Os mesmos autores notaram que ao adicionar os machos no meio ácido houve redução de fertilidade dos ovos, indicando que os machos podem ser mais afetados pela acidificação enquanto as fêmeas são mais resistentes.

A taxa de mortalidade de náuplios da *Acartia tsuensis* quando expostos a altos níveis de CO₂ é aproximadamente 40%, porém essa mortalidade pode estar associada com a dificuldade em mudar a alimentação após esgotar o conteúdo vitelínico (KURIHARA; ISHIMATSO, 2008). Porém em outro estudo os autores Cripps, Lindeque e Flynn (2014a) observaram que dentre os estágios de vida da *Acartia tonsa* os náuplios foram os mais afetados, enquanto a taxa de produção de ovos e eclosão podem subestimar os danos por não serem tão afetados.

Na presente monografia a espécie alvo é o copépode calanoida *Acartia lilljeborgii* Giesbrecht (1889). Essa espécie foi escolhida por ser muito abundante no complexo estuarino de Paranaguá (SALVADOR e BERSANO, 2017) e em outras regiões costeiras do Brasil (MIYASHITA *et al.*, 2012). Foram escolhidas duas fases do ciclo de vida da *A. lilljeborgii* para serem expostas a diferentes acidificações, sendo selecionado ovos e náuplios recém eclodidos, essas fases foram as escolhidas por se

tratar de um gargalo para o recrutamento e conseqüentemente para o aumento populacional.

Nota-se que apesar de existirem diversos estudos sobre copépodes sendo expostos a diferentes acidificações, até o momento não há nenhum que tenha sido feito com *A. lilljeborgi*. E diversos estudos citam que a resposta à acidificação é espécie específica, ou seja, cada espécie pode apresentar uma resposta diferente a uma mesma acidificação e o mesmo pode ocorrer para diferentes populações da mesma espécie (WANG *et al.*, 2018). A hipótese do presente estudo é que a taxa de sobrevivência dos náuplios é proporcional à redução do pH e a necessidade de realocar a energia faz com que o tamanho corporal seja reduzido em ambientes mais ácidos.

1.1 OBJETIVO

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo foi avaliar os efeitos da acidificação da água marinha, através do aumento da concentração de dióxido de carbono (CO₂), sobre os ovos e náuplios do copépode planctônico *Acartia lilljeborgi*.

1.1.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos são:

- i. Avaliar a taxa de eclosão dos ovos em diferentes acidificações (pH 8,1, 7,9 e 7,6) de acordo com previsões do IPCC de 2022.
- ii. Avaliar a taxa de sobrevivência dos náuplios para diferentes acidificações;
- iii. Avaliar a taxa de crescimento dos náuplios nos diferentes tratamentos.

1.2 JUSTIFICATIVA

O serviço ecológico desempenhado por copépodes no ambiente marinho é de vital importância, uma vez que representam um dos principais elos entre os produtores primários e os demais níveis tróficos. Através do processo de alimentação sobre o fitoplâncton, eles realizam o controle *top-down* de microalgas e sua abundância é responsável pela resposta dos níveis tróficos acima através do efeito *bottom-up*. Os copépodes são considerados excelentes bioindicadores, pois respondem rapidamente às mudanças dos parâmetros físico-químicos nos ecossistemas aquáticos e distúrbios ambientais, como a acidificação por exemplo, poderão ser observados através do monitoramento da diversidade, abundância e estrutura populacional destes organismos.

O presente trabalho está inserido dentre os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), como a ODS 14 que deseja conservar as vidas nos oceanos, pois ao avaliar como os copépodes serão impactados pela acidificação é possível prever a resposta da teia trófica e até a produtividade pesqueira, uma vez que os copépodes são o principal alimento para diversas larvas de peixes e crustáceos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Após a revolução industrial a popularização do uso de combustíveis fósseis gerou mudanças nos estoques de carbono e com isso surgiram diversas consequências conhecidas como mudanças climáticas. A liberação de dióxido de carbono (CO_2), conhecido como um gás do efeito estufa, na atmosfera impacta o oceano de diferentes maneiras, como o aumento da temperatura superficial marinha, acidificação dos oceanos e aumento do nível médio do mar (ETKINS, 1982; BINDOFF, 2007)

O aumento da concentração de dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera gera o aumento da dissolução desse gás na superfície do mar e o aumento da concentração desse gás no oceano faz com que haja liberação de íons de hidrogênio (H^+), redução de íons carbonato (CO_3^{2-}) e aumento de bicarbonato (HCO_3^-) (GATTUSO, 2011). É justamente o aumento da concentração de íons de hidrogênio que causam a redução do pH marinho, conhecido como acidificação marinha.

Desde a revolução industrial o oceano absorveu cerca de 30% do CO_2 emitido por atividades antropogênicas, desta forma ele tem amenizado os impactos do aumento da concentração desse gás na atmosfera, porém já foi reportado redução do pH oceânico de média de 8,2 para 8,1 (SIEGENTHALER e SARMIENTO, 1993; HOFMANN *et al.*, 2019; JIANG, 2019). Para o final deste século, próximo ao ano 2100, a previsão de redução do pH oceânico é de 0,16 e 0,44 no melhor e pior cenário, respectivamente (IPCC, 2022).

Os efeitos da acidificação são mais estudados em organismos marinhos calcificadores, como os pterópodes, moluscos planctônicos que podem ter sua distribuição reduzida pela acidificação nos polos que torna essas regiões insaturadas em aragonita, usada para a formação de suas conchas (HOFMANN *et al.*, 2019). Os mesmos autores relatam ainda os impactos da acidificação em recifes de corais, pois a acidificação torna o processo de calcificação mais lento e envolve maior gasto energético, podendo gerar mudanças na estrutura desses ecossistemas.

O aumento das concentrações de CO_2 na região polar Antártica gerou em invertebrados redução de fertilidade e aumento de anormalidades em suas larvas (HANCOCK *et al.*, 2020).

Em estudo utilizando peixes foi observada maior mortalidade de ovos e larvas expostos à acidificação causada por dióxido de carbono do que acidificação a partir de ácido clorídrico, mostrando maior toxicidade do CO₂ (KIKKAWA, KITA, ISHIMATSU, 2004).

Copépodes representam boa parte da biomassa do zooplâncton, sendo principalmente os consumidores primários responsáveis por repassar a energia obtida dos produtores para os demais níveis tróficos (WANG *et al.*, 2018). A importância desses organismos no ambiente se dá também pelo papel que desempenham na bomba biológica de carbono, onde as migrações verticais associadas a produção de pellets fecais auxiliam a transportar carbono fixado na superfície marinha para áreas de maior profundidade, aprisionando o carbono em camadas mais profundas, além de serem fundamentais nos ciclos biogeoquímicos (ANDERSON; HESSEN; MAYOR, 2021; BÉCKER, 2022).

Estudos que relacionam a acidificação oceânica com copépodes apontam que a resposta é dependente da espécie, população, estágio de vida, abundância e distribuição dos organismos (WANG *et al.*, 2018). Alguns autores apontam que copépodes que realizam maiores migrações verticais e com maiores áreas de distribuição e ocorrência são mais resistentes a mudanças climáticas, uma vez que naturalmente já enfrentam diferentes ambientes com variações entre si (KURIHARA; SHIMODE; SHIRAYAMA, 2004a; LEWIS *et al.*, 2013).

Isoladamente a acidificação pode não ser danoso aos copépodes, porém quando somada ao aumento da temperatura ocorre sinergia entre as duas variáveis (GARZKE *et al.*, 2016). Outro estudo utilizou a *Acartia tonsa* em seus experimentos verificando se a acidificação ou aquecimento oceânico provocariam maiores adaptações genéticas, e foi apresentado que apesar do aquecimento gerar mais mudanças genéticas a combinação das duas é sinérgica e promove adaptação única para esta situação (BRENNAN *et al.*, 2022).

Autores defendem a capacidade de adaptação dos copépodes como Dam *et al.* (2021), em estudo foi ressaltado que após a terceira geração da *Acartia tonsa* houve recuperação da saúde dos indivíduos, assim como normalização da produção e eclosão de ovos. Em estudo multigeracional de Cripps, Lindeque e Flynn (2014a) a fase de vida mais sensível à acidificação é a fase naupliar enquanto os copepoditos

se mostraram mais resistentes, estes autores ressaltam ainda que para o cenário de acidificação previsto para 2100 há decréscimo de 35% no recrutamento de náuplios.

De acordo com Fitzner *et al.* (2012a) sob acidificação os copépodes tinham tamanho corporal reduzido para atingir a maturidade reprodutiva, evidenciando a adaptação em realocar energia desses organismos. Os mesmos autores destacaram ainda que a composição da cutícula das fêmeas teve alteração em períodos de maior produção naupliar.

O estado oxidativo diz respeito a capacidade do sistema de defesa antioxidante, enzimático ou não, em combater radicais livres de compostos oxidantes (BARBOSA *et al.*, 2010). Em copépodes o estado oxidativo das fêmeas está interligado à viabilidade dos ovos, e sua capacidade antioxidante, ou seja, de combater compostos oxidantes é correspondente as variáveis ambientais, como temperatura e acidificação (VEHMAA *et al.*, 2013)

Para tornar os experimentos sobre acidificação mais confiáveis Cripps, Lindeque e Flynn (2014a, 2014b) mostraram que inserir machos no mesmo meio ácido que as fêmeas é importante, vez que a inclusão de machos afeta o sucesso de eclosão e, conseqüentemente, o recrutamento populacional.

A acidificação do oceano pode afetar além da sobrevivência dos copépodes a sua qualidade nutricional, em testes feitos com a *Acartia tonsa* notou-se que copépodes inseridos em meios mais ácidos apresentavam redução nas concentrações de ácidos graxos essenciais, além de atraso no desenvolvimento de 1 a 2 dias e redução na produção de ovos (ROSSOLL *et al.*, 2012).

3. METODOLOGIA

3.1 ADULTOS DE *Acartia lilljeborgi*

Os adultos de *Acartia lilljeborgi* foram obtidos através de arrasto de praia usando uma rede cilíndrica com malha de 200 μm no balneário Pontal do Sul em Pontal do Paraná- PR, foram feitos 3 arrastos com duração de 3 minutos.

Após o arrasto, o material coletado foi levado para o Laboratório de Biologia, Ecologia e Cultivo de Zooplâncton Marinho – UFPR. Em laboratório toda amostra foi filtrada em peneira de 200 μm e observado em microscópio estereoscópio, indivíduos adultos de *Acartia lilljeborgi* foram separados um por um e aclimatados.

Para a produção de ovos foram colocados 8 machos e 35 fêmeas em 1 litro de água marinha de cada tratamento de pH com salinidade 32 psu, temperatura $24,5 \pm 0,3$ °C e fotoperíodo 12:12 (doze horas claro e doze horas escuro).

3.2 ACIDIFICAÇÃO DA ÁGUA MARINHA

A água marinha com salinidade 32 psu foi filtrada em filtro de 1 μm e acidificada com injeção de dióxido de carbono (CO_2). Foram escolhidas três acidificações que representam: i. o atual cenário global, média de 8,1 unidade de pH; ii. a previsão mais otimista para o ano de 2100 com redução de aproximadamente 0,16 resultando em pH 7,9; iii. previsão de pior cenário com o pH chegando próximo a 7,6 (IPCC, 2022).

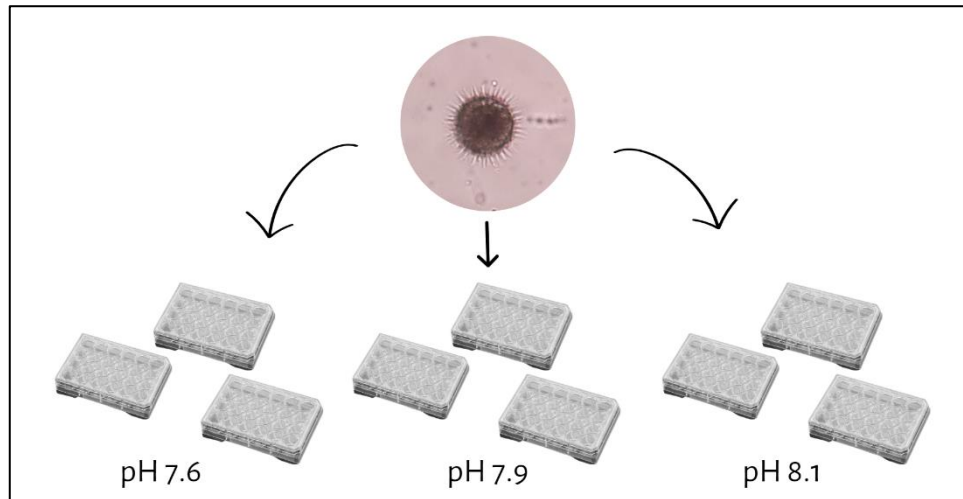
Para a medição do pH foi utilizado o pHmetro LUCA 210 da TecnoPON com precisão de 0,001. A temperatura durante as medições foi $27,4 \pm 0,6$ °C. E a salinidade foi medida com refratômetro manual BIOBRIX modelo 211. Todos os equipamentos foram devidamente calibrados antes do uso.

3.3 ECLOSÃO DE OVOS

Para os diferentes tratamentos foram feitas trélicas em placas de poço com 24 poços de 3 ml (Figura 1), sendo que havia um ovo por poço resultando em 72 ovos

por tratamento. A eclosão dos ovos foi verificada a cada 24 horas por um período máximo de 72 horas. Ovos que não eclodiram nessas 72 horas foram considerados inviáveis. As placas foram mantidas em incubadora com temperatura de $24,5 \pm 0,3$ °C e fotoperíodo de 12:12, doze horas com luz e doze escuro. Foram realizadas trocas de água a cada 24h para garantir a estabilidade do pH.

FIGURA 1 – Desenho amostral da eclosão dos ovos.

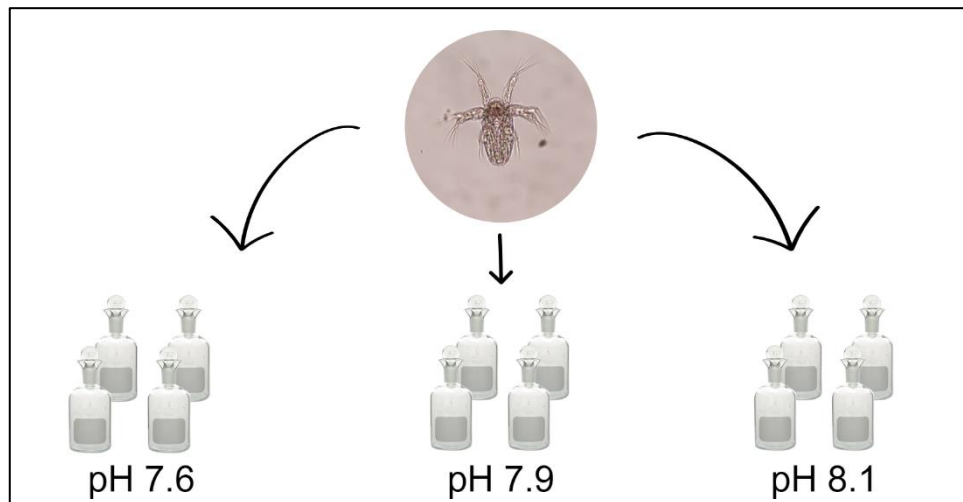


FONTE: A autora (2023).

3.4 SOBREVIVÊNCIA DE NÁUPLIOS

Para avaliar a sobrevivência dos náuplios foram utilizados frascos de demanda bioquímica de oxigênio, em cada tratamento havia três frascos com náuplios e um frasco somente com água marinha para avaliar a flutuação natural do pH em 24h. Em cada réplica foram inseridos 30 náuplios (com menos de 24h de eclosão) (Figura 2) em 250 ml da água já acidificada, as réplicas foram mantidas em incubadora com temperatura de $24,5 \pm 0,3$ °C e fotoperíodo de 12:12, doze horas claro e doze escuro. A taxa de sobrevivência foi avaliada por 48 horas e checada a cada 24 horas, sendo que os náuplios mortos foram retirados e então realizada a troca de água com o mesmo pH. A medição de pH foi feita antes de fechar os frascos e logo após a abertura de 24h. Após as 48h os náuplios ainda vivos foram fixados em formol 4%.

FIGURA 2– Desenho amostral da sobrevivência dos náuplios.



FONTE: A autora (2023).

3.5 CRESCIMENTO DOS NÁUPLIOS

Náuplios com menos de 24 horas (t_0) no primeiro dia de experimento foram fixados em formol 4% como o tamanho inicial para cada tratamento. Foram retiradas medidas de comprimento, da parte anterior do corpo logo a frente o olho naupliar entre as primeiras antenas até a parte posterior onde serão as ramificações caudais, e de largura, distância entre as bases das antenas secundárias (Figura 1), de náuplios t_0 e dos náuplios que ainda estavam vivos ao final das 48h de experimento (t_1). Para cada réplica foram medidos 10 náuplios, totalizando 30 náuplios medidos por tratamento, as medidas foram feitas com o microscópio Olympus CX31 no aumento de 10 vezes. Para determinar a taxa de crescimento (C) de cada tratamento foi utilizada a equação 1, onde a diferença do tamanho médio final (T_1) e inicial (T_0) foi multiplicada por 100 e dividida pelo tamanho médio inicial (T_0) de cada tratamento.

FIGURA 3 - Medição de comprimento (A) e largura (B) nos náuplios.



FONTE: A autora (2023).

EQUAÇÃO 1 - Taxa de crescimento dos náuplios.

$$C = \frac{(T_1 - T_0) \times 100}{T_0}$$

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram feitas utilizando o software livre RStudio, foi realizada Análise de Variância (ANOVA) utilizando os dados de eclosão dos ovos, sobrevivência de náuplios, comprimento e largura de náuplios e a taxa de crescimento. Também foi feito o teste de comparação pareada de médias de Tukey para verificar o resultado significativo ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

4. RESULTADOS

4.1 VARIAÇÃO DO PH

A variação do pH foi medida a cada 24 horas e não houve grande variação nos experimentos de eclosão (Tabela 1). O pH nos testes de sobrevivência dos náuplios também não apresentou grande variação (Tabela 2), os valores de tempo com “*” são os de medições iniciais ou após troca de água, e os valores de pH que possuem “+” são os controles, com apenas água marinha e sem náuplios. Em todos os momentos de medição inicial a variação estava dentro do esperado, com variação igual ou menor que 0,05.

TABELA 1 - Variação do pH durante eclosão dos ovos.

pH	Horas		
	0	24	48
8.1	8,117	8,128	8,078
7.9	7,936	7,898	7,984
7.6	7,605	7,634	7,586

FONTE: A autora (2023).

TABELA 2 - Variação do pH durante teste de sobrevivência dos náuplios.

pH	Tempo			
	0*	24	24*	48
8.1	8,091	8,060	8,074	8,058
	8,114	8,002	8,074	8,051
	8,104	8,070	8,090	8,050
	8,088+	8,056+	8,076+	8,036+

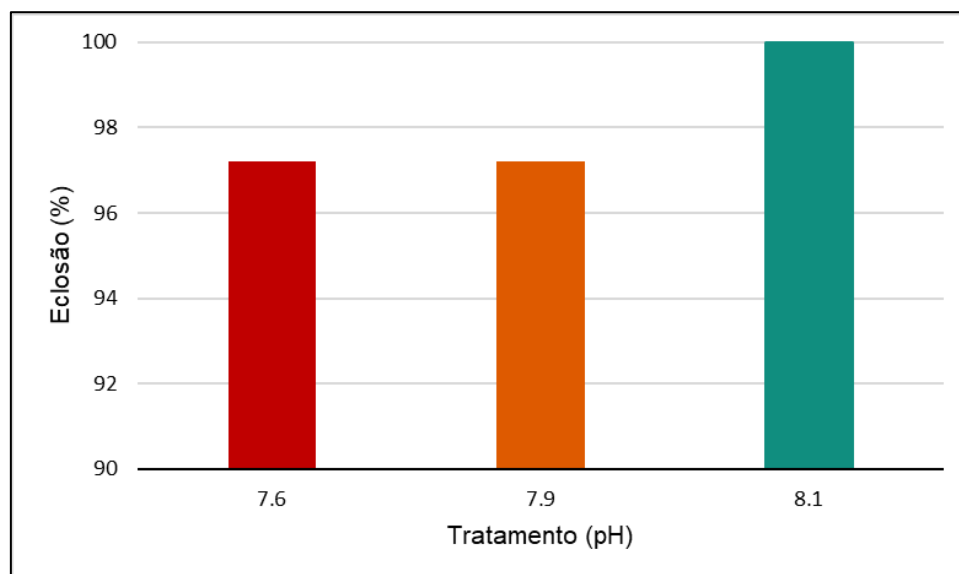
7.9	7,907	7,895	7,889	7,862
	7,898	7,875	7,894	7,826
	7,897	7,866	7,900	7,802
	7,893 ⁺	7,859 ⁺	7,857 ⁺	7,815 ⁺
7.6	7,599	7,547	7,629	7,595
	7,644	7,642	7,599	7,571
	7,619	7,608	7,653	7,595
	7,677 ⁺	7,636 ⁺	7,617 ⁺	7,590 ⁺

FONTE: A autora (2023).

4.2 ECLOSÃO DE OVOS

O único tratamento que teve todos os 72 ovos eclodidos em 24h foi o com pH 8,1. Para os outros dois tratamentos houveram 2 ovos dentre os 72 que não eclodiu nem após as 72h de experimento, desta forma para o pH 7,9 e 7,6 houveram $23,33 \pm 0,58$ ovos eclodidos. Ao realizar a análise de variância de eclosão entre as três acidificações não houve diferença significativa entre os tratamentos. Desta forma o percentual de eclosão de cada tratamento foi 100%, 97,22% e 97,22% no pH 8,1, 7,9 e 7,6, respectivamente (Figura 4).

FIGURA 4 – Percentual médio de eclosão dos ovos. Sendo o tratamento 8,1 representado pela cor verde, 7,9 com cor laranja e 7,6 com a cor vermelha.



FONTE: A autora (2023).

4.3 SOBREVIVÊNCIA DOS NÁUPLIOS

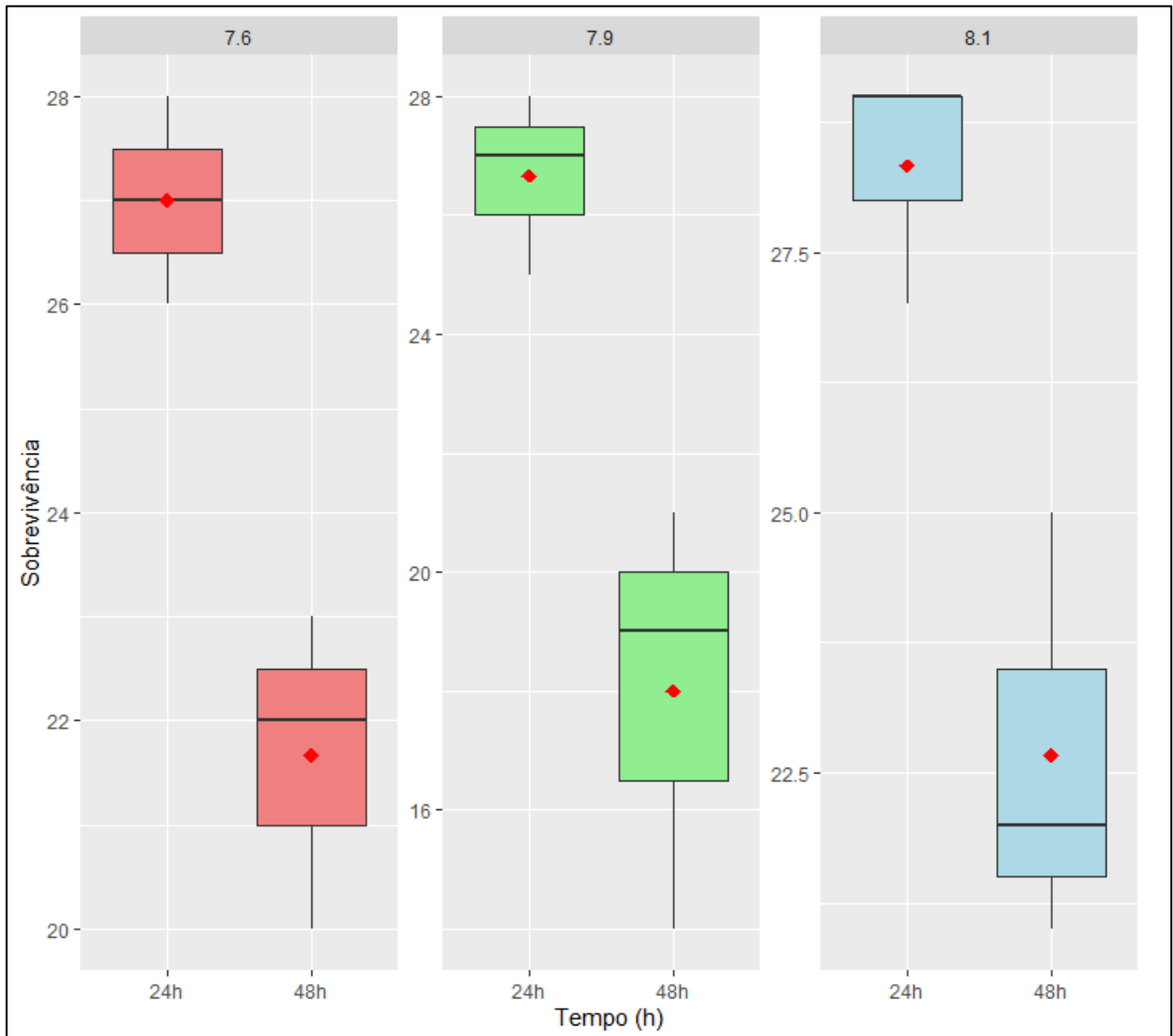
Para as primeiras 24 horas a maior média de sobrevivência foi no tratamento de pH 8,1 com média de $28,33 \pm 1,15$ náuplios vivos, em seguida está o tratamento com pH 7,6 com $27,00 \pm 1,41$ náuplios e o com menor sobrevivência no primeiro dia foi o tratamento de pH 7,9 com $26,67 \pm 1,52$ náuplios vivos (Figura 5).

Com 48 horas o tratamento 7,9 continuou sendo o com menor número de náuplios ainda vivos com média de $18,00 \pm 3,60$ náuplios, cerca de 54 náuplios dos 90 iniciais o que confere 60% de sobrevivência, o pH 7,6 teve média de $21,67 \pm 1,52$ náuplios vivos (72,22% de sobrevivência) e o pH 8,1 foi o com maior quantidade de náuplios ainda vivos ao final do experimento com $22,67 \pm 2,08$ (75% de sobrevivência).

Apesar de no primeiro dia a sobrevivência entre os tratamentos 7,9 e 7,6 terem sido próximas, no segundo dia aumentou a diferença de sobrevivência entre esses dois tratamentos, sendo que o pH 7,6 se aproximou das taxas de sobrevivência dos náuplios do tratamento com maior pH (8,1) (Figura 6). Embora exista diferença entre as médias e ser possível notar uma tendência de maior sobrevivência dos náuplios no

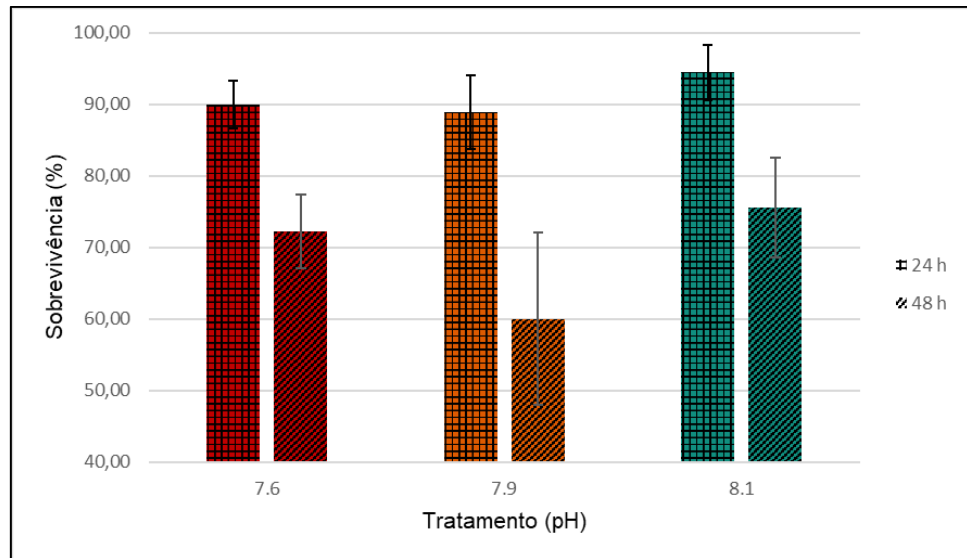
pH 8,1 e menor no pH 7,9, com a análise de variância não foi possível observar diferença significativa entre os tratamentos.

FIGURA 5 - Sobrevivência dos náuplios em cada tratamento 24 e 48 horas. As médias sendo os pontos vermelhos dentro das caixas. O tratamento 7,6 está representado na cor salmão, o 7,9 na cor verde e o 8,1 na cor azul.



FONTE: A autora (2023).

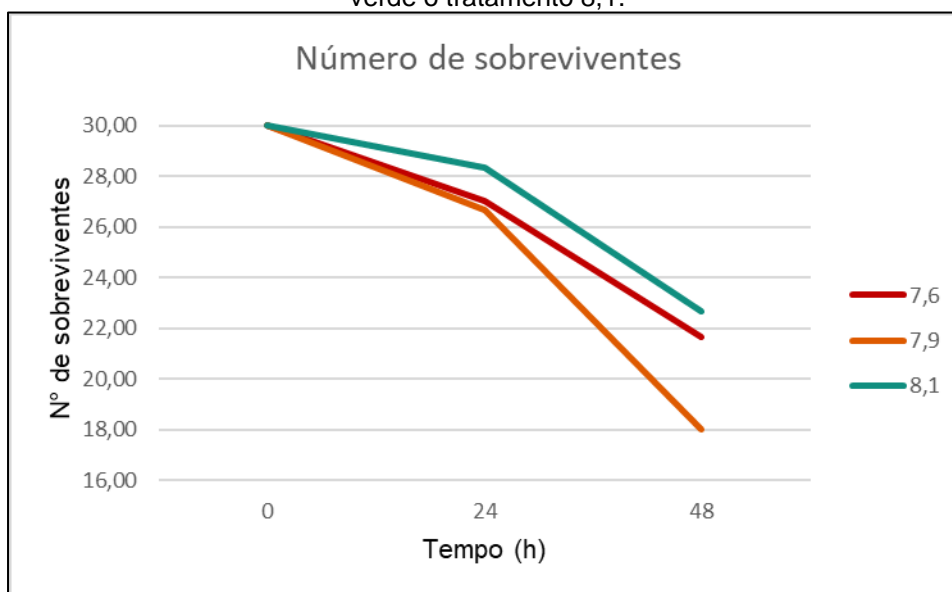
FIGURA 6 - Percentual médio de sobrevivência dos náuplios. As cores vermelha, laranja e verde representam os tratamentos 7,6, 7,9 e 8,1 respectivamente. As barras quadriculadas são referentes a 24 horas de experimentos enquanto as barras com linhas diagonais são de sobrevivência dos náuplios ao final do experimento.



FONTE: A autora (2023).

A tendência de sobrevivência dos náuplios a partir do primeiro dia é expressa a partir das médias obtidas para cada tratamento, é possível notar que o tratamento com pH 8,1 foi o com maior número de sobreviventes ao final do experimento, seguido pelo pH 7,6 e o com menor quantia de náuplios sobreviventes foi o com pH 7,9 (Figura 7).

FIGURA 7 - Sobrevivência de náuplios em cada tratamento ao decorrer de 48 horas. Todos os tratamentos iniciaram com 30 náuplios em 24 e 48 horas as linhas estão sobre os valores médios de sobrevivência, sendo que a cor vermelha representa o tratamento 7,6, a cor laranja o 7,9 e a cor verde o tratamento 8,1.



FONTE: A autora (2023).

4.4 TAMANHO DOS NÁUPLIOS

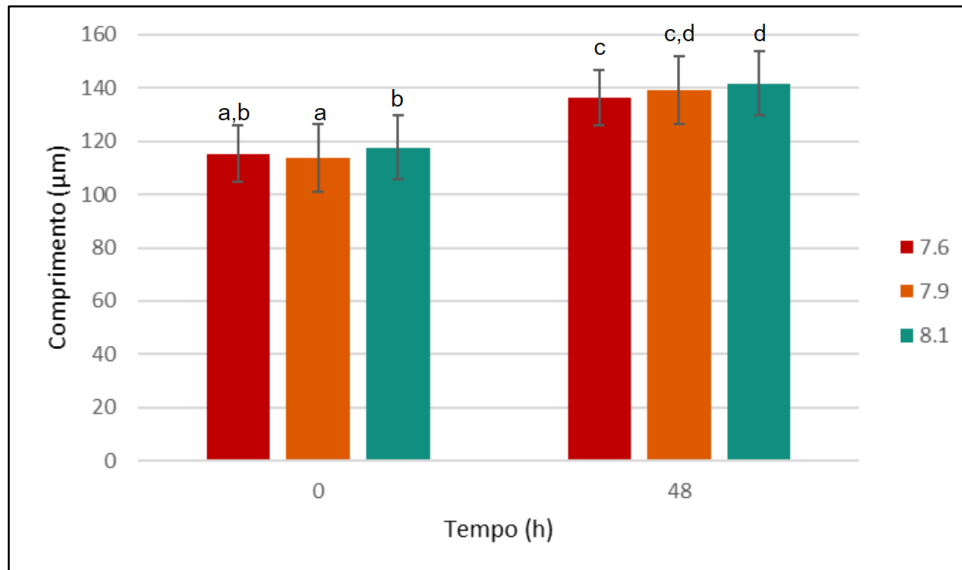
O maior comprimento e largura de náuplios com no máximo 24 horas após a eclosão (t_0) foi no tratamento com pH 8,1 em que a média foi de $117,67 \pm 5,04 \mu\text{m}$ para o comprimento (Figura 8) e $59,33 \pm 2,54 \mu\text{m}$ de largura (Figura 9). A menor média de comprimento observado foi no tratamento 7,9 com $113,67 \pm 7,65 \mu\text{m}$, enquanto a largura tanto do tratamento 7,9 quanto do 7,6 foi $59,00 \pm 3,05 \mu\text{m}$ e 7,9 e $59,00 \pm 4,03 \mu\text{m}$, respectivamente.

Ao final das 48 horas de experimento o tratamento em que os náuplios apresentaram maior comprimento continuou sendo o de pH 8,1 com $141,67 \pm 5,92 \mu\text{m}$, e o menor comprimento médio foi de $136,33 \pm 4,90 \mu\text{m}$ para o pH 7,6 (Figura 8). Quanto as larguras observadas após 48 horas o pH 8,1 teve náuplios com média de $67,33 \pm 5,21 \mu\text{m}$, $64,33 \pm 4,87$ para o tratamento de pH 7,9 e $64,33 \pm 5,04 \mu\text{m}$ de largura no pH 7,6.

Dentre os 3 tratamentos, o com pH 7,9 apesar de não apresentar maior média de tamanho foi o que obteve maior crescimento proporcional em relação ao comprimento inicial com crescimento de 22,29% ($25,36 \mu\text{m}$), quanto a largura o tratamento 8,1 foi

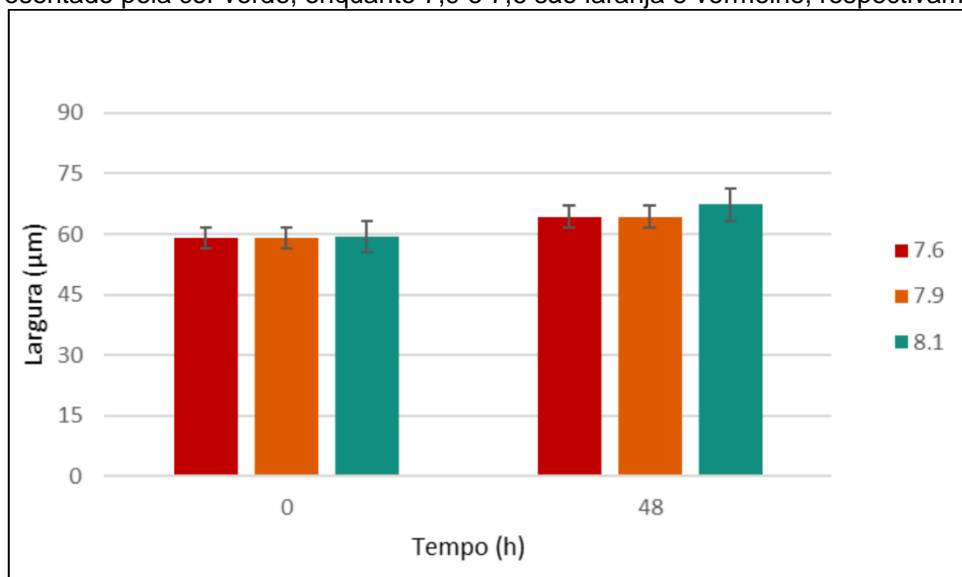
com maior crescimento com 13,48% (8,00 μm). Em ambas as dimensões o tratamento 7,6 foi com menor proporção de crescimento com o comprimento sendo 18,20% (21,00 μm) e a largura 8,52% (5,03 μm) maior que o tamanho inicial.

FIGURA 8 - Comprimento dos náuplios na eclosão (<24h) e após 48 horas. Letras sobre as barras representam o resultado do teste de Tukey, quando são diferentes indicam $p \leq 0,05$. O tratamento de pH 8,1 é representado pela cor verde, enquanto 7,9 e 7,6 são laranja e vermelho, respectivamente.



FONTE: A autora (2023).

FIGURA 9 - Largura dos náuplios na eclosão (<24h) e após 48 horas. O tratamento de pH 8,1 é representado pela cor verde, enquanto 7,9 e 7,6 são laranja e vermelho, respectivamente.



FONTE: A autora (2023).

Apesar das diferenças entre os tamanhos dos náuplios e da proporção de crescimento em cada tratamento, o resultado do teste de Tukey apontou que a diferença significativa ocorre somente entre os tratamentos 8,1 e 7,9 ($p = 0,05$) quando relacionado ao comprimento inicial dos náuplios. Para 48 horas, ou final do experimento, o teste de Tukey mostrou que a diferença significativa ocorreu entre os tratamentos 8,1 e 7,6 ($p = 0,001$) (Figura 8). Quanto às larguras não houve diferença significativa no teste de Tukey para nenhum período de teste e entre nenhum tratamento.

5. DISCUSSÃO

Os copépodes podem representar até 90% da abundância do zooplâncton marinho, sendo que a *Acartia lilljeborgi* no estuário de Paranaguá chegou a representar 44% da abundância do zooplâncton sendo o copépode mais abundante (SALVADOR; BERSANO, 2017). Desta forma os impactos observados causados pela acidificação podem afetar a trofodinâmica desta região.

A taxa de eclosão dos ovos se mostrou pouco superior no tratamento de pH 8,1, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos. Em ambos os tratamentos de maior acidificação a eclosão foi igual. Essa alta eclosão de ovos nos diferentes tratamentos pode estar relacionada à capacidade materna de se adaptar ao meio rapidamente e alocar energia nos ovos para o sucesso de eclosão, essa adaptabilidade da *A. lilljeborgi* pode ser semelhante ao relatado por Vehmaa, Brutemark e Engström-Ös (2012) em experimentos com *Acartia* sp.

Quando comparada os resultados obtidos no presente estudos com o de Cripps *et al.* (2014a), a taxa de eclosão dos ovos da *A. lilljeborgi* é semelhante ao da *Acartia tonsa* somente no atual cenário com pH 8,1, para os demais tratamentos as taxas de eclosão da *A. lilljeborgi* foram superiores a *A. tonsa*. Se comparado também ao estudo com a *Acartia steueri* e *Acartia erythraea* (KURIHARA; SHIMODE; SHIRAYAMA, 2004a) ambas as espécies tiveram eclosão semelhante a *A. lilljeborgi* no controle, porém em concentração de CO₂ superior a 2000ppm (pH <7,6) a *A. erythraea* apresentou eclosão inferior. Ao contrapor os atuais resultados com os de Kurihara e Ishimatsu (2008) é notório que a *A. tsuensis* possui menor taxa de eclosão que a *A. lilljeborgi*, tanto para o tratamento controle quanto nos mais acidificados. Isso pode indicar a resposta específica da *A. lilljeborgi* em investir energia nos ovos garantindo a eclosão.

O tratamento que obteve melhores taxas de sobrevivência dos náuplios em ambos os períodos experimentais foi o com pH 8,1 que é o atual cenário global de pH. Para as primeiras 24 horas os náuplios dos outros dois tratamentos tiveram a taxa de sobrevivência muito similares, porém o tratamento de pH 7,9 teve resultados de maior taxa de mortalidade. Todavia no segundo dia de experimento a quantidade de náuplios

sobreviventes no pH 7,9 reduziu ainda mais enquanto os outros dois tratamentos apresentaram taxas de sobrevivência próximas.

A maior taxa de sobrevivência observada no pH 7,6 quando comparada ao pH 7,9, pode ser explicada pela resposta das fêmeas ao estresse durante a postura dos ovos, pois as fêmeas podem ter apresentado resposta mais rápida a uma maior acidificação, enquanto para o pH 7,9 a resposta foi mais lenta, como ocorreu com o copépodo *Tisbe battagliai* (FITZER *et al.*, 2012a).

Ao comparar a sobrevivência dos náuplios de *Acartia lilljeborgi* com o recrutamento naupliar da *Acartia tonsa* (CRIPPS *et al.*, 2014a) verificou-se semelhança entre os recrutamentos, sendo que para o cenário de 2100, pH próximo a 7,9, ambas as espécies apresentaram queda no recrutamento. Porém os náuplios de *A. lilljeborgi* aparentam ser mais resistentes a acidificação do que os de *A. tonsa*, vez que apesar do decréscimo de náuplios sobreviventes em relação ao controle as diferenças não foram consideradas significativas pelo teste de Tuckey.

Apesar de no tratamento com pH 7,6 haver maior quantidade de náuplios sobreviventes, os mesmos possuíam tamanho reduzido quando comparados aos demais tratamentos. O pH mais ácido foi o que apresentou náuplios com menor tamanho corporal ao final das 48 horas, tanto de comprimento quanto de largura, e foi neste tratamento que foram observadas as menores taxas de crescimento entre o primeiro dia e o final do experimento. Segundo Pedersen *et al.* (2014) o atraso no crescimento ou a falta do mesmo pode estar relacionada ao gasto energético em se manter vivo, como com o *Calanus finmarchicus* que apresentou atraso no desenvolvimento quando exposto ao pH próximo a 7,6. Desta forma o menor comprimento e largura notados no presente estudo para o pH 7,6 pode estar associado ao maior gasto energético dos náuplios de *A. lilljeborgi* em se manter vivo e evitar hipercapnia. Entre os tratamentos o com menor comprimento inicial foi o pH 7,9, porém esse mesmo tratamento apresentou a maior proporção de crescimento até o final do experimento, ficando com comprimento intermediário entre os outros dois tratamentos.

6. CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a eclosão pode não ser um bom indicativo como resiliência da população, tendo em vista que a taxa de eclosão foi similar em todos os tratamentos, essa taxa de eclosão pode mascarar os efeitos sub-letais.

A sobrevivência dos náuplios surpreendeu quando o tratamento de pH 7,6 teve maior quantidade de náuplios sobreviventes que o com pH 7,9. Essa diferença pode ter ocorrido pela resposta materna na maior redução de pH, intensificando a produção de ovos mais resistentes a essa acidificação. Enquanto fêmeas expostas ao pH 7,9 podiam estar começando a sentir o estresse da acidificação durante a postura de ovos, demorando mais para responder às alterações do meio e produzindo ovos mais fracos quando comparados ao pH 7,6.

Apesar de os efeitos letais serem mais difíceis de notar quando os copépodes são expostos a acidificação, alguns efeitos subletais puderam ser notados durante este estudo como a diferença no crescimento dos náuplios. O tratamento controle (pH 8,1) eclodiu e se manteve com as maiores medidas de comprimento e largura, enquanto o tratamento com pH 7,9 apesar de apresentar os menores comprimentos iniciais entre os tratamentos foi o que teve náuplios com maior taxa de crescimento (22,29%) entre o começo e final do experimento. E o tratamento de pH 7,6 embora tenha apresentado valores de comprimento e largura entre os outros dois tratamentos no tempo inicial, foi o que obteve menores taxas de crescimento com apenas 18,20% de crescimento de comprimento e 8,52% de crescimento da largura. É possível que a *A. lilljeborgi*, quando sob estresse de acidificação, atinja a maturidade reprodutiva com tamanho corporal reduzido, dando preferência ao crescimento populacional ao invés do crescimento somático.

O copépode *Acartia lilljeborgi* se mostrou mais resistente à acidificação em seus estágios iniciais quando comparado a outras espécies do gênero *Acartia*. Apesar deste ser um teste agudo, foi possível notar diferenças entre sobrevivência e crescimento dos náuplios. Caso ao longo da vida desses organismos essas diferenças continuem se intensificando é provável que ocorra mudanças na cadeia trófica e ciclos

biogeoquímicos, com espécies mais adaptadas a acidificação se tornando mais abundantes.

Como hipotetizado neste estudo, a taxa de sobrevivência realmente teve alterações em diferentes acidificações, porém o resultado inesperado foi que o menor pH não foi, necessariamente, o com maior mortalidade. Ainda que o menor pH tenha taxas de sobrevivência maiores do que o pH 7,9 a necessidade de realocar energia para manter as funções metabólicas vitais, talvez tenha feito com que houvesse redução do comprimento corporal dos náuplios.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES FUTURAS

Os resultados deste estudo estão de acordo o esperado e reportado por estudos prévios, sendo que os melhores resultados para eclosão, sobrevivência e tamanho dos náuplios foram realmente observados para o pH atual encontrado nos oceanos (pH 8,1). O tratamento com pH esperado para o ano de 2100 (pH 7,9) foi o com maior mortalidade de náuplios, apesar da eclosão não ter apresentado tantos danos. A maior mortalidade nesse tratamento demanda atenção, pois caso a população não consiga desenvolver adaptações e recuperar seu recrutamento pode haver um enfraquecimento da bomba biológica de carbono relacionada a esses organismos, além de modificar a cadeia trófica, exigindo adaptação alimentar de consumidores secundários. A surpreendente resposta de eclosão de ovos e sobrevivência de náuplios para o tratamento com menor pH (7,6), mostra a influência materna para o sucesso dos mesmos, porém a redução da população se torna preocupante, vez que isso pode alterar a competição com outros copépodes e organismos zooplanctônicos. Todos os impactos observados devem ser avaliados em conjunto para a compreensão de possíveis efeitos na dinâmica da cadeia trófica. Foi possível notar que os efeitos causados pela acidificação no copépode *Acartia lilljeborgi* são, principalmente, subletais afetando o tamanho e desenvolvimento do organismo.

É importante ressaltar que este foi um experimento agudo, então não houve tempo suficiente para que ocorressem alterações genéticas nos copépodes, porém Kurihara, Shimode e Shirayama (2004b) sugerem que a exposição à acidificação promove alterações na síntese de proteína e a tolerância à redução do pH decai com o tempo de exposição por isso como recomendações futuras fica a necessidade de avaliar os efeitos da acidificação em todas as fases da vida da *Acartia lilljeborgi*, e caso possível, acompanhar esses efeitos por mais de uma geração. Outra recomendação é a avaliação da qualidade nutricional desses copépodes quando expostos a pH mais ácidos, estimando o conteúdo de ácidos graxos e lipídeos. A terceira recomendação seria avaliar o ponto de concentração letal de CO₂ para 50 % da população desse copépode (LC₅₀). Outro ponto a ser avaliado é a interação da

acidificação com outras variáveis ambientais, como o aumento da temperatura e poluição por metais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, Thomas R.; HESSEN, Dag O.; MAYOR, Daniel J. Is the growth of marine copepods limited by food quantity or quality?. **Limnology and Oceanography Letters**, v. 6, n. 3, p. 127-133, 2021.

BARBOSA, Kiriague Barra Ferreira et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.

BECKER, Érica Caroline. **Gradientes latitudinais de copépodes epipelágicos no Oceano Atlântico Sul: diversidade funcional e tamanho corporal**. Orientador: Andrea Santarosa Freire. 2022. 126 f. Tese (Doutora em Ecologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, [S. l.], 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/237513/PECO0201-T.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>.

Bindoff, N.L., *et al.* **Observations: Oceanic Climate Change and Sea Level**. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Solomon, S., *et al.* (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007.

BRENNAN, Reid S. *et al.* Experimental evolution reveals the synergistic genomic mechanisms of adaptation to ocean warming and acidification in a marine copepod. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, n. 38, p. e2201521119, 2022.

CRIPPS, Gemma; LINDEQUE, Penelope; FLYNN, Kevin. Have we been underestimating the effects of ocean acidification in zooplankton?. **Global Change Biology**, v. 20, n. 11, p. 3377-3385, 2014a.

CRIPPS, Gemma; LINDEQUE, Penelope; FLYNN, Kevin. Parental exposure to elevated pCO₂ influences the reproductive success of copepods. **Journal of Plankton Research**, v. 36, n. 5, p. 1165-1174, 2014b.

DAM, Hans G. *et al.* Rapid, but limited, zooplankton adaptation to simultaneous warming and acidification. **Nature Climate Change**, v. 11, n. 9, p. 780-786, 2021.

ETKINS, Robert; EPSTEIN, Edward S. The rise of global mean sea level as an indication of climate change. **Science**, v. 215, n. 4530, p. 287-289, 1982.

FITZER, Susan *et al.* Ocean acidification induces multi-generational decline in copepod naupliar production with possible conflict for reproductive resource allocation. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 418, p. 30-36, 2012a.

FITZER, Susan C. *et al.* Visualisation of the copepod female reproductive system using confocal laser scanning microscopy and two-photon microscopy. **Journal of Crustacean Biology**, v. 32, n. 5, p. 685-692, 2012b.

GARZKE, Jessica *et al.* Combined effects of ocean warming and acidification on copepod abundance, body size and fatty acid content. **PLoS One**, v. 11, n. 5, p. e0155952, 2016.

GATTUSO, Jean-Pierre; HANSSON, Lina (Ed.). **Ocean acidification**. Oxford University Press, USA, 2011.

HANCOCK, Alyce M. *et al.* Effects of ocean acidification on Antarctic marine organisms: A meta-analysis. **Ecology and Evolution**, v. 10, n. 10, p. 4495-4514, 2020.

HOFMANN, Matthias *et al.* Strong time dependence of ocean acidification mitigation by atmospheric carbon dioxide removal. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 5592, 2019.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). **Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability**. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change Cambridge University Press. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 3056 pp., doi:10.1017/9781009325844, 2022.

JIANG, Li-Qing *et al.* Surface ocean pH and buffer capacity: past, present and future. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 18624, 2019.

KIKKAWA, Takashi; KITA, Jun; ISHIMATSU, Atsushi. Comparison of the lethal effect of CO₂ and acidification on red sea bream (*Pagrus major*) during the early developmental stages. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, n. 1-2, p. 108-110, 2004.

KURIHARA, Haruko; ISHIMATSU, Atsushi. Effects of high CO₂ seawater on the copepod (*Acartia tsuensis*) through all life stages and subsequent generations. **Marine pollution bulletin**, v. 56, n. 6, p. 1086-1090, 2008.

KURIHARA, Haruko; SHIMODE, Shinji; SHIRAYAMA, Yoshihisa. Effects of raised CO₂ concentration on the egg production rate and early development of two marine copepods (*Acartia steueri* and *Acartia erythraea*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, n. 9-10, p. 721-727, 2004a.

KURIHARA, Haruko; SHIMODE, Shinji; SHIRAYAMA, Yoshihisa. Sub-lethal effects of elevated concentration of CO₂ on planktonic copepods and sea urchins. **Journal of Oceanography**, v. 60, p. 743-750, 2004b.

LEWIS, Ceri N. *et al.* Sensitivity to ocean acidification parallels natural pCO₂ gradients experienced by Arctic copepods under winter sea ice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 51, p. E4960-E4967, 2013.

MIYASHITA, L. K. *et al.* Comparison of zooplankton community structure between impacted and non-impacted areas of Paranaguá Bay Estuarine Complex, South Brazil. **Journal of Natural History**, v. 46, n. 25-26, p. 1557- 1571, 2012.

PEDERSEN, Sindre A. *et al.* Multigenerational exposure to ocean acidification during food limitation reveals consequences for copepod scope for growth and vital rates. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 20, p. 12275-12284, 2014.

ROSSOLL, Dennis *et al.* Ocean acidification-induced food quality deterioration constrains trophic transfer. **PLoS one**, v. 7, n. 4, p. e34737, 2012.

SALVADOR, Bianca; BERSANO, José Guilherme F. Zooplankton variability in the subtropical estuarine system of Paranaguá Bay, Brazil, in 2012 and 2013. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 199, p. 1-13, 2017.

SIEGENTHALER, Ulrich; SARMIENTO, Jorge Louis. Atmospheric carbon dioxide and the ocean. **Nature**, v. 365, n. 6442, p. 119-125, 1993.

TALMAGE, Stephanie; GOBLER, Christopher. Effects of past, present, and future ocean carbon dioxide concentrations on the growth and survival of larval shellfish. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 40, p. 17246-17251, 2010.

VEHMAA, Anu; BRUTEMARK, Andreas; ENGSTRÖM-ÖST, Jonna. Maternal effects may act as an adaptation mechanism for copepods facing pH and temperature changes. **PLoS one**, v. 7, n. 10, p. e48538, 2012.

VEHMAA, Anu *et al.* Projected marine climate change: effects on copepod oxidative status and reproduction. **Ecology and Evolution**, v. 3, n. 13, p. 4548-4557, 2013.

WANG, Minghua *et al.* Effects of ocean acidification on copepods. **Aquatic Toxicology**, v. 196, p. 17-24, 2018.