

**Influência de Diferentes Tipos Morfológicos na Taxa de
Crescimento da Medusa *Phyllorhiza punctata***

Cristiana Isabel Leal Roso

Influência de Diferentes Tipos Morfológicos na Taxa de Crescimento da Medusa *Phyllorhiza punctata*

Cristiana Isabel Leal Roso

Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob orientação da Professora
Doutora Sónia Cotrim Marques e coorientação do Professor Doutor
Sérgio Leandro

Título: Influência de Diferentes Tipos Morfológicos na Taxa de Crescimento da Medusa
Phyllorhiza punctata

Copyright © Cristiana Isabel Leal Roso

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2022

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Foram muitas as pessoas que fizeram parte do meu percurso e que, de uma forma ou de outra, tornaram este momento possível. A elas quero deixar o meu obrigada.

À minha orientadora Professora Doutora Sónia Cotrim Marques por todo o apoio e acompanhamento ao longo da realização deste trabalho, bem como a oportunidade que me proporcionou de trabalhar com um tema que tanto me fascinou.

Ao meu coorientador Professor Doutor Sérgio Leandro por me ter disponibilizado todos os recursos necessários para a concretização deste trabalho e pela ajuda prestada, sempre que necessário.

À Mestre Inês Matos Duarte por todo o conhecimento e paixão por medusas que me foram transmitidos, bem como a sua disponibilidade alcançável.

À restante equipa pelo excelente ambiente, companheirismo, boa disposição e predisposição a ajudar sempre presentes.

Aos meus amigos por nunca me terem deixado ir abaixo.

Acima de todos, aos meus pais, pela força e apoio incondicional, sempre.

Resumo

As medusas constituem um grupo de organismos gelatinosos pertencentes ao zooplâncton cuja presença nos oceanos tem vindo a aumentar ao longo das últimas décadas, impactando negativamente diversas atividades humanas e ecossistemas marinhos. Ainda que conspícuas, as medusas representam uma componente relativamente pouco estudada dos ecossistemas marinhos apesar do interesse pelo seu estudo ter vindo a crescer significativamente graças ao potencial que apresentam em diversas áreas, desde a científica e farmacêutica até à aquariofilia ornamental.

As éfiras recém eclodidas de *Phyllorhiza punctata* apresentam simetria tetra-radial com, geralmente, 8 braços simétricos. Por vezes designados por lóbulos, estes braços têm como finalidade ajudarem na locomoção. Contudo, o desenvolvimento de éfiras é, por vezes, imperfeito, resultando no aparecimento de deformações nas estruturas ou de um número irregular de braços ropalares, apesar de ainda não se saber que fatores influenciam o aparecimento deste tipo de deformações.

Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivos avaliar o efeito da salinidade no aparecimento de um número irregular de braços ropalares em éfiras de *Phyllorhiza punctata*, tendo sido testadas as salinidades 34 e 40. Foi também investigado a influência de éfiras com 8, 9 ou 10 braços ropalares na taxa de crescimento, de forma a perceber se esta característica funcionava como uma característica adaptativa da espécie.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que a salinidade não afetava o número de braços ropalares das éfiras. Da mesma forma, verificámos que éfiras com diferentes braços ropalares não apresentaram diferenças estatisticamente significativas na taxa de crescimento ($0,60 \pm 0,08 \text{ mm dia}^{-1}$ (n=8), $0,58 \pm 0,05 \text{ mm dia}^{-1}$ (n=9) e $0,68 \pm 0,04 \text{ mm dia}^{-1}$ (n=10)), podendo isto estar relacionado com o tempo e número de tratamentos insuficientes de ensaio.

Com isto, torna-se necessário a realização de mais estudos que incluam um maior número de tratamentos e o crescimento das éfiras seja observado ao longo das diferentes fases do seu ciclo de vida.

Palavras-chave: *Phyllorhiza punctata*; medusas; braços ropalares; salinidade; taxa de crescimento.

Abstract

Jellyfish are a group of gelatinous organisms belonging to the zooplankton whose presence in the oceans has been increasing over the last decades, negatively impacting several human activities and marine ecosystems. Although conspicuous, jellyfish represent a relatively understudied component of marine ecosystems, although interest in their study has been growing significantly thanks to their potential in several areas, from scientific and pharmaceutical to ornamental aquarium hobby.

Mature polyps of *Phyllorhiza punctata* with 16 tentacles originate ephyrae with tetradial symmetry and usually 8 oral arms. However, the development of ephyrae is sometimes imperfect, resulting in the appearance of deformations in the structures or an irregular number of oral arms, although it is not yet known what factors influence the appearance of this type of deformations. Newly hatched ephyrae of *Phyllorhiza punctata* display tetradial symmetry with usually 8 symmetrical arms. Sometimes referred to as lobes, these arms are intended to aid in locomotion.

In this context, the present work aimed to evaluate the effect of salinity on the appearance of an irregular number of rhopalar arms in ephyrae of *Phyllorhiza punctata*, having tested salinities 34 and 40. The influence of ephyrae with 8, 9 or 10 rhopalar arms on the growth rate was also investigated, in order to understand if this characteristic worked as an adaptive feature of the species.

The results obtained in this work did not show differences in the number of rhopalar arms of *Phyllorhiza punctata* ephyrae depending on the salinity at which polyps were cultured. Similarly, the growth rate of the ephyrae did not show statistically significant differences according to the number of rhopalar arms of the ephyrae ($0,60 \pm 0,08 \text{ mm day}^{-1}$ (n=8), $0,58 \pm 0,05 \text{ mm day}^{-1}$ (n=9) and $0,68 \pm 0,04 \text{ mm day}^{-1}$ (n=10)), since they showed a growth rate quite similar among treatments, and this may be related to the insufficient time and number of test treatments.

With this, further studies are needed that include a larger number of treatments and the growth of the ephyrae is observed throughout the different stages of their life cycle.

Key-words: *Phyllorhiza punctata*; jellyfish; rhopalar arms; salinity; growth rate.

Índice

1. Introdução.....	2
1.1. Ecologia e Ciclo de Vida.....	3
1.2. Alimentação.....	5
1.3. Alterações Climáticas e Ocorrência de <i>Blooms</i>	7
1.4. Potencial do cultivo de medusas.....	9
1.5. Cultivo de medusas em condições de cativeiro.....	11
1.6. A cifomedusa - <i>Phyllorhiza punctata</i>	13
1.7. Compartimentos em Scyphozoa.....	16
1.8. Objetivos.....	18
2. Materiais e Métodos.....	18
2.1. Cultivos auxiliares.....	19
2.1.1. Cultivo de Artémia (<i>Artemia franciscana</i> Kellogg, 1906).....	19
2.1.2. Cultivo de rotíferos (<i>Brachionus plicatilis</i> Müller, 1786).....	20
2.2. Manutenção de Pólipos.....	20
2.3. Ensaio experimentais.....	21
2.3.1. Efeito da salinidade no aparecimento irregular de braços ropalares em éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	21
2.3.2. Influência do número de braços ropalares no crescimento das éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	23
2.4. Análise estatística.....	25
3.1. Efeito da salinidade no aparecimento anormal de braços ropalares em éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	25
3.2. Influência do número de braços ropalares no crescimento das éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	28
4.1. Efeito da salinidade no aparecimento irregular de braços ropalares em éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	32
4.2. Influência do número de braços ropalares no crescimento de éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i>	35
5. Conclusão.....	37
6. Referências bibliográficas.....	39

Índice de Figuras

Figura 1- Anatomia da cifomedusa <i>Aurelia aurita</i> , adaptada de Kavanau (2006) e Duarte <i>et al.</i> (2019).	4
Figura 2- Esquema representativo do ciclo de vida Schyphozoa, adaptado de Purcell <i>et al.</i> (2013)	5
Figura 3- <i>Bloom</i> de medusas da lua <i>Aurelia aurita</i> . Fonte: https://www.bbc.com/future/article/20120405-blooming-jellyfish-problems	8
Figura 4- Processo de estrobilação de uma éfira. Fonte: https://www.deepseanews.com/2017/12/new-research-reveals-how-to-easily-grow-jellyfish-in-captivity/	12
Figura 5- Medusa da espécie <i>Phyllorhiza punctata</i> em fase adulta. Fonte: https://500px.com/photo/172545969/Phyllorhiza-punctata-by-Michel-LHUIILLIER/?epik=dj0yJnU9dl9wRI9iMGRzUnM1NjdZNks3Ynp2UVljci10RkFqQXomcD0wJm49d0UtaUIRNkt5dVc5Mi14WVvxYnINUSZ0PUFBQUFBR0dIVVN3	13
Figura 6- Distribuição geográfica descrita para a espécie <i>Phyllorhiza punctata</i> . Fonte: https://invasions.si.edu/nemesis/species_summary/51829	14
Figura 7- Éfira da cifomedusa <i>Phyllorhiza punctata</i> (Scyphozoa, Rhizostomeae), adaptado de Leal <i>et al.</i> (2017).	15
Figura 8- Número médio de braços de éfiras produzidos em relação ao número de bolsas gástricas dos pólipos originais. Adaptado de Berking & Herrmann (2007).	18
Figura 9- A) Descapsulção de Artemia; (B) Garrafas de eclosão de Artemia.	19
Figura 10- (A) Balde de 4L com cultivo de rotíferos; (B) Tanque cilíndrico-cônico com cultivo de rotíferos; (C) Manutenção de microalgas.	20
Figura 11- Pólipo de <i>Phyllorhiza punctata</i>	21
Figura 12- Disposição do ensaio “Efeito da salinidade no aparecimento anormal de braços ropalares em éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i> ”.	22
Figura 13- Disposição do ensaio “Influência do número de braços ropalares no crescimento das éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i> ”.	24
Figura 14- Percentagem de éfiras de <i>P.punctata</i> estrobiladas com um número de braços ropalares igual e diferente de 8, para os diferentes tratamentos (salinidade 34 e 40).	27
Figura 15- Éfiras de <i>Phyllorhiza punctata</i> com (A) 8 braços ropalares e (B) 10 braços ropalares, respetivamente.	28
Figura 16- Éfira de <i>Phyllorhiza punctata</i> com 19 braços ropalares.	29
Figura 17- Crescimento médio de éfiras de <i>P.punctata</i> durante 17 dias, para diferentes números de braços ropalares (n=8, n=9 e n=10).	30

Figura 18- Incremento médio total em éfiras de *P.punctata* durante 17 dias, para diferentes números de braços ropalares (n=8, n=9 e n=10).31

Índice de Tabelas

Tabela I- Número de éfiras estrobiladas para cada salinidade e respetivo número de braços ropalares.....	26
Tabela II- Número de éfiras estrobiladas e respetivo número de braços ropalares.	28

1. Introdução

As medusas constituem um grupo de organismos gelatinosos pertencentes ao zooplâncton, cuja presença nos oceanos tem vindo a aumentar ao longo das últimas décadas. Encontram-se distribuídos por toda a coluna de água e apresentam uma grande influência na cadeia alimentar e no transporte de nutrientes nos ecossistemas marinhos de todo o mundo (Widmer, 2006).

Sugeriu-se, recentemente, que possam ser organismos sinantrópicos, capazes de se beneficiar das interações do Homem com os oceanos (Mills, 2001), contribuindo para a sua proliferação. Isto porque o aumento das populações de medusas está geralmente associado a aumentos de temperatura causados por alterações climáticas. Da mesma forma, medusas podem beneficiar-se da eutrofização, por aumento da abundância, turbidez e hipoxia de zooplâncton. As atividades de pesca podem não só eliminar predadores de medusas e alguns dos seus competidores, como também causar alterações a grande escala no ecossistema, que melhoram as condições para as medusas. A aquacultura fornece um habitat favorável para os estágios bentónicos das medusas e mudanças no regime hidrológico devido a barragens e outras construções podem alterar a salinidade, favorecendo a sua proliferação (Brotz *et al.*, 2012; Hays *et al.*, 2011; Purcell *et al.*, 2007).

Desta forma, estes organismos são capazes de proliferar globalmente por meio das suas características adaptativas, que incluem: (1) Tempo curto de geração, estabelecido de 2 a 3 meses para maioria das espécies, fazendo com que as espécies se possam reproduzir várias vezes ao longo de um ano (Prieto *et al.*, 2010); (2) Elevada fertilidade, alcançada através de um ciclo de vida que inclui reprodução sexuada e assexuada e existência de espécies polidisco, cujos pólipos são capazes de estrobilar várias éfiras de cada vez (Helm, 2018); (3) Escassez de predadores naturais, justificado pelo seu alto teor em água que faz com que sejam consideradas uma fonte pobre de alimento, predadas maioritariamente por outras medusas, como é o caso de *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758), predada por *Chrysaora quinquecirrha* (Purcell, 1992), tartarugas marinhas e peixes-lua (Milisenda *et al.*, 2014; McInnes *et al.*, 2017); (4) Predação tátil e química, que lhes permite capturar alimento de forma eficiente tanto na presença como ausência de luz, assim como em águas com elevada turbidez (Pitt *et al.*, 2008); e (5) Dieta bastante diversificada, desde larvas e ovos de peixes a outras medusas, permitindo a sua sobrevivência em ambientes de baixas densidades de presas.

Ainda que conspícuas, as medusas representam uma componente relativamente pouco estudada dos ecossistemas marinhos, cujas populações são extremamente afetadas pelos fatores do ambiente que os rodeia, tais como luz, temperatura, salinidade e alimento disponível (Brotz *et al.*, 2012).

O estudo destes organismos é crucial não só para compreender como também prever o crescimento das suas populações e avaliar o impacto que a sua presença possa ter no ambiente marinho e atividades antropogénicas.

1.1. Ecologia e Ciclo de Vida

O filo Cnidaria abrange não só organismos marinhos pelágicos que habitam a coluna de água, como as medusas, como também organismos bentónicos fixos a um substrato, como anémonas e corais (Shikina & Chang, 2018). A este filo pertencem as classes Anthozoa, Cubozoa, Hydrozoa, Myxozoa, Scyphozoa, Staurozoa e Polypodiozoa (WoRMS, 2021).

As espécies da classe Scyphozoa apresentam, na sua grande maioria, um ciclo de vida metagénico, que alterna entre uma fase bentónica sésil (pólipo ou cífistoma) e uma fase pelágica (medusa ou cífomedusa) (Shikina & Chang, 2018), cujo ciclo de vida, com alternância/sucessão de gerações/estágios, é já bem descrito para grande maioria das espécies da ordem Rhizostomeae e Semaestomeae (Duarte *et al.*, 2021). Os ovos fertilizados das medusas adultas passam, por metamorfose, para plânulas, que se fixam a um substrato bentónico marinho através de um pedúnculo (fase sésil) (Hickman *et al.*, 2004; Ballesteros *et al.*, 2021), por reprodução assexuada. O pólipo é a fase bentónica do ciclo de vida de um Scyphozoa, e resulta da fase sexuada do ciclo de vida destes organismos: da fusão dos gametas masculinos e femininos forma-se uma larva plânula que se fixa no substrato. Esta plânula origina depois o pólipo. Observa-se, nesta fase, uma menor sensibilidade a variações de parâmetros como a temperatura, salinidade e oxigénio dissolvido (Prieto *et al.*, 2010). Em condições ambientais favoráveis, a fissão do pólipo, conhecida por estrobilação, origina éfiras que passarão a fazer parte da vida pelágica que, ao crescer até medusas sexualmente reprodutivas, fecham o ciclo de vida (Ballesteros *et al.*, 2021).

Na fase de medusa, o corpo destes organismos apresenta simetria radial e uma campânula, ou umbela, em forma de taça invertida, com a margem recortada em lobos marginais, composta pela exumbela (parte exterior) e subumbela (parte interior). A parede

corporal é formada por duas camadas de células, uma camada externa designada de epiderme e uma camada interna, a gastroderme. Entre essas duas camadas encontra-se uma matriz extracelular gelatinosa, a mesogleia, com um teor de cerca de 95% de água. Não possuem sistema circulatório ou respiratório, nem órgãos excretores (características comuns a todos os cnidários) (Saldanha, 2003).

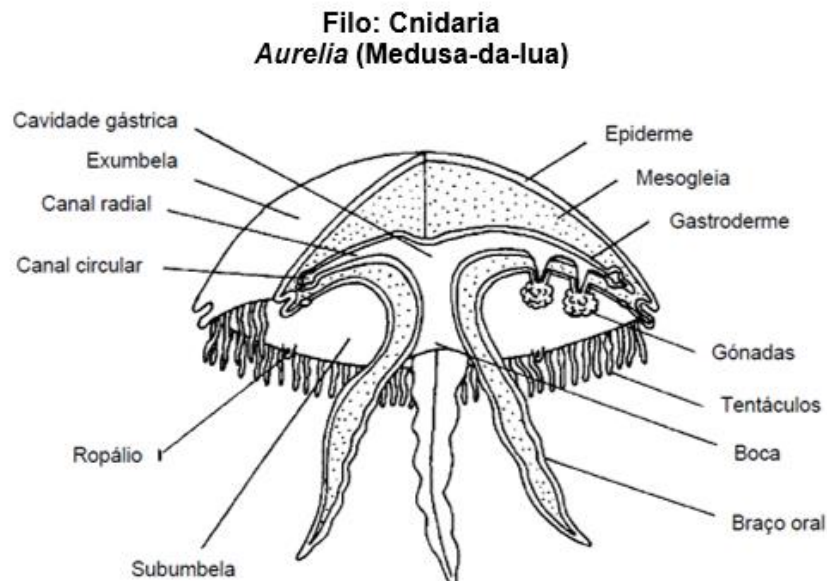


Figura 1- Anatomia da cifomedusa *Aurelia aurita*, adaptada de Kavanau (2006) e Duarte *et al.* (2019).

As cifomedusas, medusas pertencentes à classe Scyphozoa, movimentam-se na coluna de água, criando movimentos de propulsão através de pulsações rítmicas da campânula onde, apesar da sua limitada capacidade natatória que faz com que sejam facilmente arrastadas por correntes superficiais de ar ou de água, conseguem retirar proveito das mesmas para transporte e captura de alimento vivo (zooplâncton) (Wagner *et al.*, 2020).

As cifomedusas apresentam um ciclo de vida com duas fases, a assexuada que ocorre na forma de pólipo e é de curta duração, e a sexuada que acontece na forma de medusa, representando a parte mais complexa do ciclo. A reprodução sexuada ocorre entre duas medusas adultas, macho e fêmea, onde, por liberação de gâmetas na coluna de água e, após a sua fecundação, dão origem a larvas planctónicas que irão, de seguida, fixar-se ao substrato marinho e se transformar em pólipos. Por outro lado, a reprodução assexuada pode ocorrer por gemulação, onde os pólipos produzem gomos que, posteriormente, se

transformam em novos pólipos, ou por estrobilação, quando os pólipos sofrem metamorfose da sua cavidade oral e produzem uma (monodisco) ou mais éfiras (polidisco) (Arai, 1997), quando sujeitos a condições ambientais favoráveis (temperatura, luz e composição química da água) (Shikina & Chang, 2018). Após um período de crescimento relativamente curto de cerca de 2 a 3 meses, tornam-se medusas adultas (Prieto *et al.*, 2010).

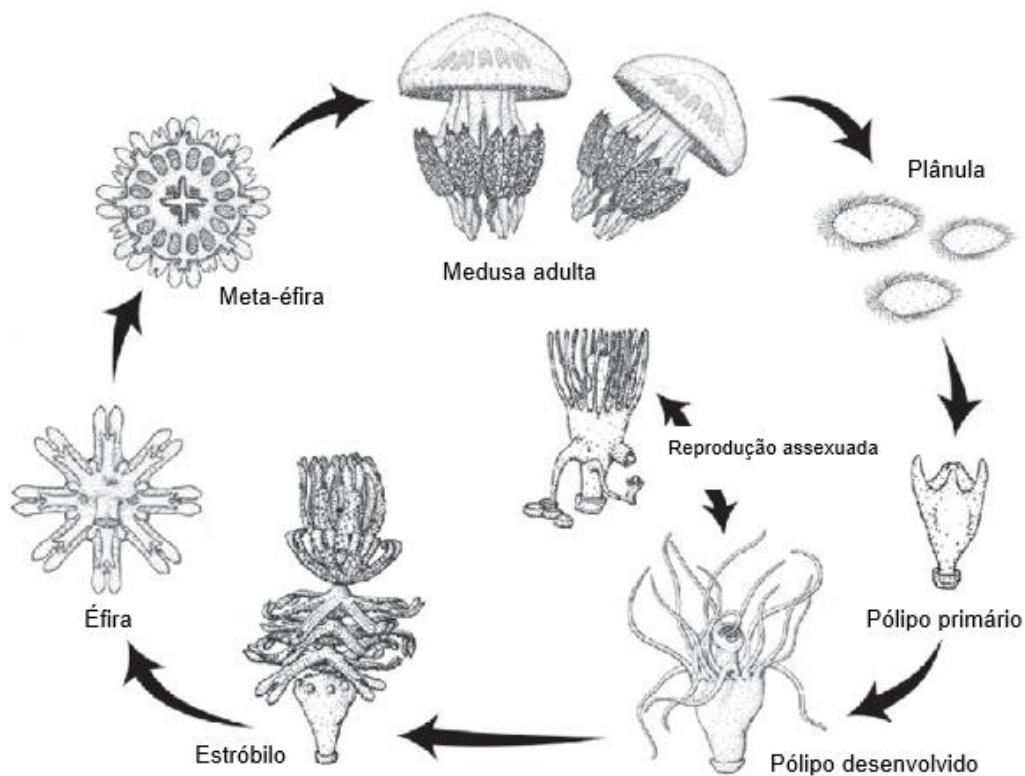


Figura 2- Esquema representativo do ciclo de vida Schyphozoa, adaptado de Purcell *et al.* (2013).

A existência de dois tipos de reprodução na mesma espécie é uma adaptação que permite responder de forma súbita e oportuna às variações ambientais.

1.2. Alimentação

As cifomedusas são predadoras de impacto considerável nos ecossistemas marinhos, com uma capacidade de consumir uma grande e variada quantidade de presas e é, através da sua atividade natatória e contrações da sua campânula, que criam correntes de alimentação, atraindo o fluido circundante. O zooplâncton que se encontra dentro deste

fluido é capturado pelos tentáculos ou braços orais em torno da cavidade oral, suspensos a partir do interior da subumbela, que contêm células urticantes, os cnidócitos, usados na captura e imobilização de presas e na defesa contra possíveis predadores (D'Ambra *et al.*, 2001; Wagner *et al.*, 2020; Peach & Pitt, 2005), através do veneno libertado pelos nematocistos (Gold *et al.*, 2015) onde, uma vez em contacto, é improvável que escapem. Estas estruturas presentes nos cnidócitos podem ser utilizados como forma de identificação de espécies, graças à semelhança entre as mesmas na fase de éfira (Calder, 1977).

A predação tátil, elevada taxa de captura e elevada diversidade de presas são características que conferem às medusas uma vantagem significativa na captura de alimento, competindo com outras espécies consumidoras de zooplâncton. A predação tátil permite às medusas serem predadores eficientes na presença e ausência de luz, assim como em águas com elevada turbidez (Duarte, 2018).

Apesar da sua dieta variar consoante a espécie, todas as cifomedusas têm uma dieta carnívora. Durante a fase de relaxamento, as correntes de água passam pela cavidade oral e braços orais da medusa e, através dos movimentos de contração e relaxamento da campânula, o alimento é capturado e posteriormente conduzido até à cavidade gastrovascular onde é digerido. Estes movimentos, ao ocorrerem de forma contínua, permitem um consumo de alimento constante, possibilitando a predação de grandes quantidades de zooplâncton mesmo quando se encontra em digestão (D'Ambra *et al.*, 2001). As espécies de medusas que apresentam zooxantelas simbióticas dependem simultaneamente dos seus produtos fotossintéticos para a sua nutrição, tornando-se necessário o fornecimento de luz de espectro adequado à fotossíntese das mesmas (Duarte, 2018).

Em meio selvagem, a sua dieta consiste essencialmente em pequenos crustáceos pertencentes ao zooplâncton, na sua grande maioria copépodes. Consoante o tamanho e a espécie da medusa, são capazes de se alimentar desde ovos e larvas de peixe a pequenos peixes ou crustáceos (Purcell, 2003) e outras medusas. Já em laboratório, é possível fornecer diversos tipos de alimento, desde náuplios de artémia a pequenas cifo e hidromedusas, zooplâncton selvagem ou cultivado (copépodes, rotíferos, etc.) e pequenos crustáceos, moluscos ou peixes triturados. No entanto, os náuplios de artémia são o tipo de alimento mais utilizado no cultivo de pólipos e medusas em laboratório.

1.3. Alterações Climáticas e Ocorrência de *Blooms*

Causadas essencialmente pela libertação de gases de efeito de estufa na atmosfera, como o dióxido de carbono (CO₂) e o metano (CH₄), que conduz a um aumento da temperatura, as alterações climáticas são consideradas uma das maiores ameaças que o planeta enfrenta atualmente e, se nada for feito para parar isto, podem ser causados danos irreversíveis nos ecossistemas do planeta (Goodess *et al.*, 1992, Canadell *et al.*, 2007; Ferreira, 2006; Stern & Kaufmann, 2014).

Estes danos apresentam diversos impactos nos ecossistemas, sendo os ecossistemas marinhos especialmente afetados, como é o caso do aumento do nível da água dos oceanos devido ao degelo dos calotes polares e da expansão térmica das suas águas, acidificação dos oceanos causada pelas altas concentrações de dióxido de carbono na atmosfera e pela diminuição da quantidade de oxigénio (O₂) diluído na água do oceano, proveniente do aumento da temperatura da água (Hansen *et al.*, 2016; Levermann *et al.*, 2013; Munday *et al.*, 2012). Como resultado, estes impactos originam diversas consequências nos organismos que habitam os ecossistemas marinhos, tais como migrações e mortes causadas pela alteração das condições ambientais (Anderson *et al.*, 2013; Kroeker *et al.*, 2013; Nagelkerken & Munday, 2016).

O zooplâncton gelatinoso é simultaneamente afetado por estes impactos, os quais apresentam diversas consequências dependendo da população afetada. Altas temperaturas resultantes do aquecimento global podem conduzir ao aumento de populações de determinadas espécies. Contraditoriamente, pode dificultar o desenvolvimento de espécies com preferência por temperaturas mais baixas, tendo desta forma um efeito positivo em espécies temperadas, mas um efeito negativo em espécies que vivem perto do máximo térmico (Pinto, 2021).

Comuns para a maioria das espécies, os *blooms* de medusas são fenómenos que ocorrem sazonalmente no meio ambiente que, apesar de ainda não se saber em concreto a causa do seu aparecimento, acredita-se que possam ser intensificados por ações antropogénicas como a pesca excessiva dos seus competidores e predadores, eutrofização, alterações climáticas e do habitat e translocação de espécies (Boero, 2013).

A frequência e intensidade com que ocorrem tem vindo a aumentar em algumas áreas do mundo, resultando em danos a nível ecológico, social e económico (Hays *et al.*, 2011; Collins, 2002).

As medusas são organismos que se encontram bem preparados para responder à forma com que o ser humano está a alterar componentes do oceano, quer seja a sua salinidade, acidificação, temperatura ou poluição (Vince, 2012), podendo o Homem ser considerado um aliado no aparecimento destes *blooms*.

Assim, o aparecimento repentino de *blooms* de medusas tem não só causado impactos negativos nos ecossistemas marinhos como também nas atividades humanas e diversos setores socialmente importantes como a pesca e aquacultura. Ao se alimentarem de ovos e larvas de peixes e outras espécies, as medusas vão interferir em setores comercialmente importantes, como o turismo, na saúde pública e em indústrias costeiras, ao obstruírem redes de pesca, motores de barcos e fornecimento de água dos sistemas de refrigeração (Marambio *et al.*, 2021).

As alterações das condições ambientais, como de temperatura provocadas pelo aquecimento global, parecem condicionar o aparecimento de *blooms* para algumas cifomedusas, como *Phyllorhiza punctata*, tendo em conta que baixas temperaturas no inverno limitam o desenvolvimento dos pólipos e subidas abruptas de temperatura na primavera potenciam a estrobilação, resultando numa enorme abundância de medusas no verão (Prieto *et al.*, 2010). Desta forma, a ocorrência de *blooms* poderá estar ligada à magnitude e padrões de oscilação de fatores ambientais como temperatura e salinidade (Schnedler-Meyer *et al.*, 2018).



Figura 3- *Bloom* de medusas da lua *Aurelia aurita*. Fonte: <https://www.bbc.com/future/article/20120405-blooming-jellyfish-problems>.

Os *blooms* de medusas condicionam o consumo de zooplâncton pelos peixes, tendo em conta que se deslocam em grandes grupos, resultando num consumo devastador de zooplâncton por onde passam. Com isto, representam uma séria ameaça aos peixes existentes num ecossistema, diminuindo o seu recrutamento (D'Ambra *et al.*, 2001; Hays *et al.*, 2011).

Considerando os potenciais riscos destas ocorrências na fauna existente e atividades antropogénicas, é de extrema importância compreender e identificar os diferentes fatores que proporcionam condições ideais para a proliferação de medusas nos diferentes ecossistemas e ainda desenvolver estratégias adaptativas e de gestão para lidar com a mesma, para que se consiga mitigar custos e efeitos da presença destes organismos, em grandes quantidades, nas áreas costeiras (Duarte, 2018).

1.4. Potencial do cultivo de medusas

O interesse pelo estudo das medusas tem crescido significativamente ao longo das duas últimas décadas, essencialmente devido aos seus benefícios e potencial que apresentam em diversas áreas. O cultivo destes organismos em laboratório apresenta diversas potencialidades desde áreas como a científica e farmacêutica, que têm atraído bastante atenção graças à sua capacidade de formar *blooms*, até à aquariofilia ornamental que tem crescido consideravelmente ao longo dos últimos tempos (Duarte *et al.*, 2021).

Na área da investigação científica, torna-se importante o estudo e compreensão do impacto destes organismos na cadeia trófica, na qualidade da água e do efeito que o aparecimento de *blooms* de medusas têm nos *stocks* de peixes considerados economicamente importantes dos ecossistemas onde se encontram, bem como as potencialidades da extração do seu veneno no tratamento de algumas doenças, que contém propriedades farmacológicas, como a produção de toxinas e outros compostos químicos que podem ser aplicados no desenvolvimento de novos medicamentos (Mariottini & Pane, 2013; Holland, 2013), apesar de ser um tópico que se encontra numa fase bastante pioneira.

Apesar das dificuldades que a extração do seu veneno possa ter, que incluem o isolamento e procedimentos para extração do mesmo, existem indicações de que este possa ter atividade anti-inflamatória e analgésica (Daly *et al.*, 2014). O veneno produzido por algumas espécies de medusas apresenta propriedades farmacológicas, como a produção de toxinas e compostos químicos, que podem ser utilizados na produção de

novos medicamentos (Mariottini & Pane, 2013). Contudo, a análise e extração do veneno de medusas ainda está em estágios iniciais, podendo ainda ser encontrados e analisados novos compostos no departamento farmacológico (Burnett *et al.*, 1998; Mariottini & Pane, 2013).

Para além disso, a descoberta, isolamento e desenvolvimento de uma proteína fluorescente de medusa conduziu a uma revolução na biotecnologia e a um Prémio Nobel, apesar de as proteínas serem agora sintetizadas em laboratório. Por outro lado, esses benefícios podem ser superados pelos impactos negativos, tanto diretos como indiretos, que a proliferação de medusas pode ter (Brotz *et al.*, 2012).

As medusas são organismos que têm sido capturados e processados por muitos séculos para consumo humano na Ásia e, graças à sua demanda, a pesca aumentou exponencialmente na China, Japão e Coreia do Sul, expandindo-se para vários outros países de todo o mundo (Hsieh & Rudloe, 1994).

Contudo, estes organismos são não só usados como alimento para consumo humano como também para diversos outros organismos, quer seja como matéria-prima parcial para várias rações animais, como isca de pesca, para comércio ornamental ou para aquacultura de várias espécies marinhas. A nível da aquacultura, as medusas podem não só ser utilizadas como alimento de vertebrados e invertebrados marinhos que se alimentam de zooplâncton gelatinoso, como também podem ser co-cultivados ou em sistemas multitróficos integrados com espécies que exibem comportamento associativo com estas na natureza (Wakabayashi *et al.*, 2019; Sumbing *et al.*, 2016; Wakabayash *et al.*, 2016; Goldstein & Nelson, 2011).

O interesse no cultivo de medusas para fins ornamentais é relativamente recente, tendo começado por volta da década de 1960, no Japão, espalhando-se posteriormente em maior escala para aquários do Norte da América e Europa, principalmente desde o início dos anos 1990. São já mais de 50 espécies de medusas registadas como exibidas em zoológicos e aquários, das quais 24 são cifomedusas (Hsieh & Rudloe, 1994). Isto porque a manutenção e criação de medusas em cativeiro ainda é vista como um desafio para a aquacultura, tornando-se necessário a existência de mais estudos e pesquisas para que o seja possível fazer com sucesso (Duarte *et al.*, 2021).

O potencial ornamental destes organismos tem aumentado ao longo das últimas décadas, notando-se a existência de uma demanda crescente por medusas, maioritariamente devido à sua atratividade e beleza. Quanto mais atraente for a sua aparência, maior o seu potencial ornamental (Duarte *et al.*, 2021).

Devido à sazonalidade do aparecimento deste tipo de organismos no meio ambiente, torna-se inviável a introdução de espécies selvagens no mercado ornamental, tendo em conta que não é possível garantir o seu fornecimento contínuo ao longo de todo o ano (Duarte, 2018). A única forma de garantir que isso aconteça é através do seu cultivo controlado em cativeiro.

Contudo, ainda é necessário investir na realização de pesquisa e avanços tecnológicos de forma a que seja possível utilizar estes recursos biológicos numa escala maior e mais sustentável.

1.5. Cultivo de medusas em condições de cativeiro

O cultivo de medusas em aquacultura abrange um conjunto de técnicas de cultivo e tipologias de aquário, consoante a espécie que se pretende cultivar e as necessidades das diferentes fases do ciclo de vida destes organismos. Para isso, é fundamental conhecer a ecologia e comportamento reprodutivo no seu ambiente natural, de modo a permitir manter, com sucesso, estes organismos e fazer com que passem por todos os estágios do seu ciclo de vida em condições de cativeiro (Duarte, 2018).

A manutenção de culturas de pólipos é fundamental no cultivo de medusas, permitindo o seu cultivo sem recurso a medusas de grande tamanho e o seu cultivo é feito de forma mais fácil e rápida quando comparado com o estágio de medusa.

Os pólipos podem ser adquiridos de várias formas: por obtenção na natureza e promoção da sua desova natural em sistema fechado, ou através de empresas que produzem espécies de medusas para fins ornamentais (Duarte *et al.*, 2021). Em laboratório, os pólipos das cifomedusas são normalmente cultivados em aquários de vidro de pequeno volume (Raskoff *et al.*, 2003), com arejamento médio-fraco, sendo realizadas trocas de água e ajustes de salinidade regularmente. As condições de manutenção dos pólipos, tais como temperatura e salinidade, variam consoante a espécie.

A estrobilação pode ser induzida com recurso a diversos métodos, dependendo da espécie que se está a cultivar e das condições do seu ambiente natural. Na maioria das espécies de cifozoários, alterações de temperatura e salinidade, em conjunto ou separado, desempenha um importante papel na indução da estrobilação dos pólipos, sendo um dos métodos mais utilizados para tal (Duarte *et al.*, 2021).

Assim que as éfiras são libertadas, prossegue-se com a sua transferência para aquários cilíndrico-cónicos de volume médio com fornecimento de arejamento médio-forte,

assim como trocas de água e ajustes de salinidade periodicamente. A temperatura adequada à manutenção desta fase de vida vai, normalmente, de encontro à temperatura utilizada na indução da estrobilação da espécie (Raskoff *et al.*, 2003).

Desde a fase juvenil à fase adulta, as medusas devem ser mantidas em aquários tipo Kreisel, com recirculação de água (Raskoff *et al.*, 2003). Nesta fase, a temperatura de cultivo oscila, mantendo-se, no entanto próxima dos valores de cultivo das éfiras.

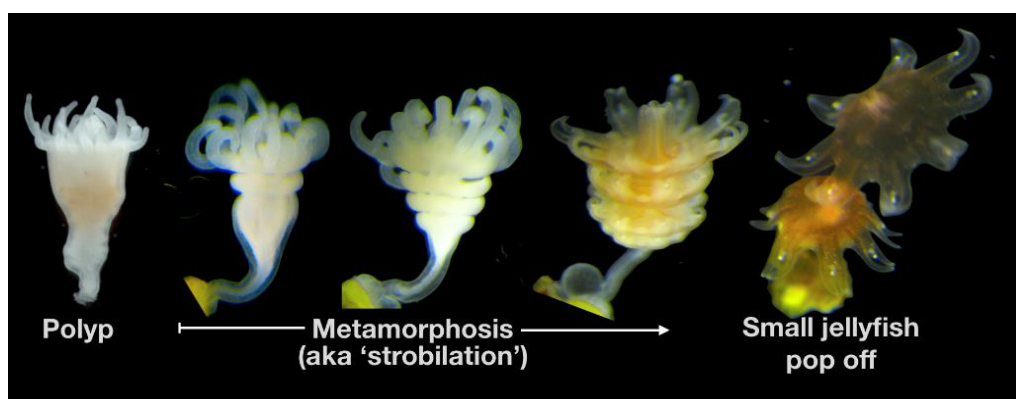


Figura 4- Processo de estrobilação de uma éfira. Fonte: <https://www.deepseanews.com/2017/12/new-research-reveals-how-to-easily-grow-jellyfish-in-captivity/>.

Devido à morfologia destes organismos e ao seu tamanho reduzido em fase de éfira, existe uma tendência para a ocorrência de deformações (Raskoff *et al.*, 2003; Frost *et al.*, 2012). Estes devem-se não só a fatores bióticos como abióticos, como é o caso da sua dieta, manuseamento do organismo durante o seu cultivo e a tipologia do aquário. O aparecimento destas deformações poderá ter impacto tanto na natação como na alimentação das medusas, prejudicando o seu crescimento.

A alimentação na fase de pólipos e éfiras é feita através de náuplios de artémia e outros organismos zooplanctónicos, como rotíferos e copépodes. Pode também ser cultivada utilizando o método de “água verde”, com diferentes microalgas.

As trocas de água são essenciais no cultivo de medusas, principalmente na fase adulta, devido à sua capacidade de assimilar grandes quantidades de proteína a partir das suas presas, excretando fosforo, azoto e carbono em elevadas quantidades (Frost *et al.*, 2012).

1.6. A cifomedusa - *Phyllorhiza punctata*

A espécie em estudo, *Phyllorhiza punctata* (Von Lendenfeld, 1984), vulgarmente conhecida por medusa-de-pintas, é uma cifomedusa tropical nativa da Austrália encontrada em águas tropicais e subtropicais de todo o mundo, ocupando as camadas superiores da coluna de água (0-20 m) (Boxshall *et al.*, 2007; Rosales-Catalán *et al.*, 2021). Tornou-se uma espécie invasora no Mar do Golfo do México, costa da Califórnia, Havai e Mar Mediterrâneo (Duarte, 2018).

Pertencente à ordem Rhizostomeae, é uma grande cifomedusa e de coloração forte e característica graças às suas zooxantelas. Esta espécie pode ser facilmente distinguida pelos seus 8 braços orais suspensos em forma de “J” que podem atingir os 32 cm de comprimento, campânulas que chegam a alcançar os 60 cm de diâmetro e tentáculos azuis com terminações ovais translúcidas (Duarte, 2018; Haddad & Nogueira, 2006).



Figura 5- Medusa da espécie *Phyllorhiza punctata* em fase adulta. Fonte: <https://500px.com/photo/172545969/Phyllorhiza-punctata-by-Michel-LHUIILLIER/?epik=dj0yJnU9dl9wRI9iMGRzUnM1NjdZNks3Ynp2UVVlji10RkFqQXomcD0wJm49d0UtaUIRNkt5dVc5Mi14WVvxYnINUSZ0PUFBQUFBR0dIVVN3>.

Atualmente, encontra-se distribuída no Mar Mediterrâneo e Oceanos Atlântico, Índico e Pacífico. É graças à sua alta tolerância eurihalina que esta espécie é capaz de habitar tanto zonas costeiras como estuarinas, apresentando também a capacidade de se refugiar em zonas mais profundas da coluna de água onde as condições ambientais não são as mais favoráveis para a sua sobrevivência e adaptar a novas condições, garantindo um alto potencial para se tornar numa espécie invasora (Pinto, 2021).



Figura 6- Distribuição geográfica descrita para a espécie *Phyllorhiza punctata*. Fonte: https://invasions.si.edu/nemesis/species_summary/51829.

Com simetria radiada, dividida em quatro canais radiais que se conectam ao estômago e aos oito braços orais (Arai, 1997; Berking & Herrmann, 2002), com um órgão sensorial rodeado por dois lobos ropalares, o ropálio, no final de cada canal radial, são organismos que apresentam apenas uma abertura para o exterior, que funciona como boca e ânus (Miranda, 2016). Contudo, podem ocorrer deformações ao longo do desenvolvimento das éfiras que faz com que ocorram anomalias estruturais, tais como a existência de mais ou menos que oito ropálios e respectivos lobos ropalares, as quais aparentam estar relacionadas com o número de septos (subdivisões da cavidade gástrica) e o número de tentáculos do pólipó parente (Berking & Herrmann, 2002).

Alimentam-se essencialmente de zooplâncton, apesar de as suas necessidades nutricionais puderem ser suprimidas por simbiose facultativa com zooxantelas fotossintéticas, algas simbióticas com a capacidade de fornecer grande parte da sua nutrição por meio da fotossíntese e fornecer ao sino a sua coloração acastanhada. Contudo, na ausência destas zooxantelas, *Phyllorhiza punctata* torna-se zooplânctívora (Rosales-Catalán *et al.*, 2021).

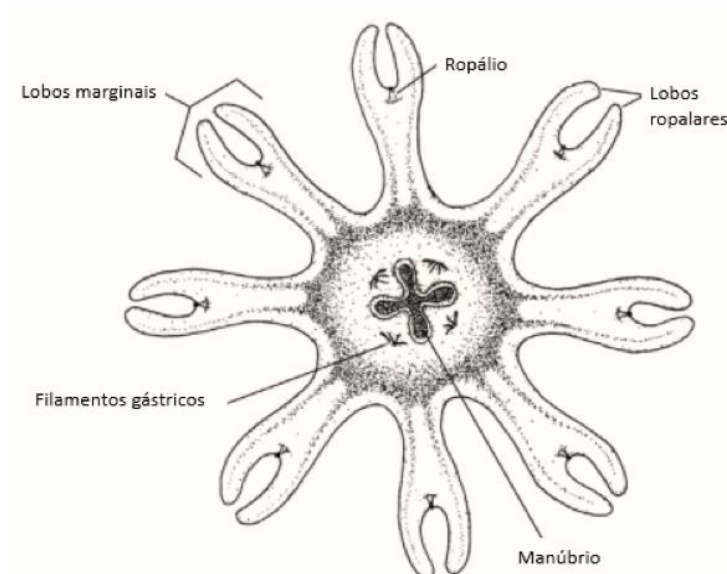


Figura 7- Éfira da cifomedusa *Phyllorhiza punctata* (Scyphozoa, Rhizostomeae), adaptado de Leal *et al.* (2017).

Phyllorhiza punctata exibe um ciclo de vida metagénico com taxas de crescimento rápido e é caracterizada, essencialmente, pela presença de duas fases distintas, bentónica e planctónica, com duas fases de reprodução: a sexuada que se dá na sua fase planctónica adulta e a assexuada na sua fase bentónica (Lotan *et al.*, 1994).

Na sua fase planctónica, as medusas são dióicas e reproduzem-se sexualmente, onde ocorre a libertação dos gâmetas na água pelo macho, fecundando de seguida os óvulos da fêmea junto da bolsa gástrica. Após o desenvolvimento embrionário das larvas, as quais são denominadas de plânulas, estas são libertadas pela fêmea na coluna de água, deslocando-se até ao fundo e fixando-se. Com isto, a larva sofre uma transformação que faz com que passe a ser chamado de pólipo, iniciando desta forma a fase bentónica ou sésil do ciclo de vida onde poderão reproduzir-se assexuadamente, formando réplicas semelhantes e aumentando significativamente o número de pólipos, por gemulação, ou poderão ainda, através de uma metamorfose, sofrer várias alterações até à libertação de uma éfira, por meio de estrobilação (Pinto, 2021).

O estágio de pólipo é pequeno, bentónico e surge da fixação de uma plânula a um substrato. O pólipo maduro apresenta 16 tentáculos e, sob condições de fotoperíodo longas, produz uma única éfira (monodisco) por meio de estrobilação, originando uma medusa juvenil com 8 braços orais (Rosales-Catalán *et al.*, 2021). Já as éfiras são medusas jovens, que se diferenciam em machos e fêmeas assim que atingem a maturidade (Miranda, 2016).

Com um estágio de medusa grande e conspícuo, é considerada uma das espécies mais procuradas a nível do mercado ornamental. *P.punctata* é caracterizada pela ausência de tentáculos marginais em torno da campânula (Wallace & Taylor, 2003) e pela presença de uma cavidade bucal no centro da subumbrela, o manúbrio, rodeada por oito braços orais (projeções do manúbrio) que se dividem em dois, originando várias aberturas orais (Arai, 1997).

É graças à sua fácil manutenção em laboratório e veneno inofensivo para os humanos que esta espécie de medusa apresenta imenso potencial ornamental. Contudo, a sua elevada taxa de captura de alimento e libertação de muco apresentam um impacto prejudicial nas comunidades zooplânctónicas e qualidade da água dos ecossistemas que invade (Graham *et al.* 2003).

A sazonalidade do ciclo de vida de *P.punctata* é condicionada pelas variações de parâmetros como a salinidade, temperatura e fotoperíodo ao longo de todo o ano (Rippingale & Kelly, 1995), onde o padrão sazonal da ocorrência destas medusas é semelhante para maioria das populações ao longo da sua distribuição geográfica. Da mesma forma, a taxa de crescimento destes organismos varia consoante as condições ambientais do meio em que se encontram, sendo favorecida por altas temperaturas e salinidades.

1.7. Compartimentos em Scyphozoa

Entre os cnidários, os pólipos apresentam uma organização polar simples com uma abertura boca/ânus numa extremidade e um disco basal na outra, organização exibida também por uma medusa. A parede do seu corpo consiste em duas camadas germinativas, separadas por uma matriz extracelular, a mesogleia. No entanto, não significa que as camadas germinativas do tecido ectodérmico e endodérmico sejam diferentes (Berking & Herrmann, 2007).

Os pólipos de Scyphozoa apresentam uma cavidade gástrica em forma de taça, subdividida por septos que vão desde a extremidade apical à extremidade do corpo basal. Os septos consistem em duas camadas de endoderme, sendo o seu número definido como quatro. No entanto, foi observada a alteração desse número em diferentes espécies, como é o caso de *Aurelia aurita*, para zero, dois, seis ou oito septos (Berking & Herrmann, 2007).

O número de septos em pólipos não se trata apenas de uma questão de tamanho, tendo em conta que foram encontrados pólipos com dois ou oitos septos, tanto nos de maior como nos de menor tamanho.

Pólipos formados por reprodução assexuada são, inicialmente, pequenos e apresentam quatro septos, quatro bolsas gástricas e quatro tentáculos e, só então, adicionalmente, se formam tentáculos geralmente entre os já existentes. Em animais com quatro septos, o número final de tentáculos é cerca de 16. Pólipos com seis septos produzem cerca de 8 tentáculos a mais em relação aos pólipos com quatro septos. Em pólipos jovens, o número de tentáculos sob a bolsa gástrica é altamente variável onde quanto maior a bolsa, maior o número de tentáculos relacionado com a mesma (Berking & Herrmann, 2007).

As bolsas gástricas formam-se então em número par, variando inicialmente em tamanho. Com o decorrer do crescimento, as bolsas gástricas aumentam até se encontrarem quase do mesmo tamanho e só, no final, o número de bolsas gástricas determina maioritariamente o diâmetro do pólipo na posição do anel de tentáculo.

Por sua vez, os pólipos produzem, por estrobilação, medusas, inicialmente designadas de éfiras. Quando uma éfira se começa a desenvolver, os septos dos pólipos regridem. Observou-se que o número de septos num pólipo determina o número de braços nas éfiras produzidas (Berking & Herrmann, 2007). Pólipos com dois septos produzem, geralmente, éfiras com cerca de quatro a seis braços e dois filamentos gástricos. Entre dois a oito septos por pólipo, o número de braços das medusas produzidas aumenta, em cada etapa, cerca de três.

Não foi observada nenhuma relação de um-para-um entre o número de septos e o número de braços e, raramente estrobilaram pólipos sem septos.

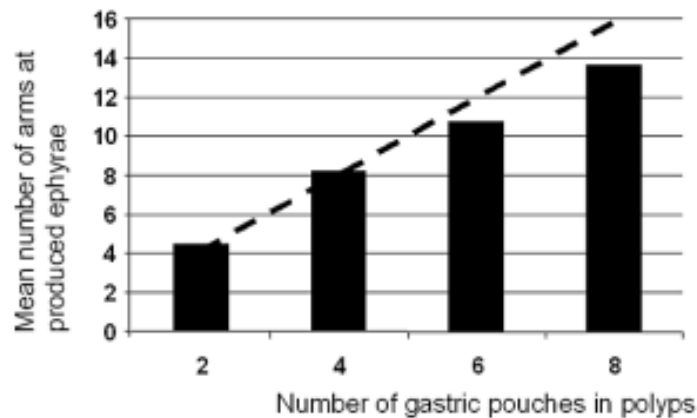


Figura 8- Número médio de braços de éfiras produzidos em relação ao número de bolsas gástricas dos pólipos originais. Adaptado de Berking & Herrmann (2007).

No entanto, o desenvolvimento de éfiras é, por vezes, imperfeito, manifestando-se primeiro nos pólipos, que crescem com um maior número de tentáculos (acima de 16), resultando no aparecimento de deformações nas estruturas ou de um número irregular de braços ropalares.

1.8. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivos (1) estimar o efeito da salinidade no aparecimento de um número irregular de braços ropalares e (2) avaliar de que forma o número de braços ropalares afeta a taxa de crescimento em éfiras da espécie *Phyllorhiza punctata*, de forma a entender se esta característica funciona como uma vantagem adaptativa da espécie.

2. Materiais e Métodos

Os ensaios experimentais tiveram lugar nos laboratórios do Edifício CETEMARES, Centro I&D, Formação e Divulgação do Conhecimento Marítimo, do Instituto Politécnico de Leiria e Sede do MARE-IPLeia (Peniche, Portugal).

Os pólipos de *Phyllorhiza punctata* utilizados nos ensaios foram obtidos por meio de reprodução assexuada das colónias de pólipos cuja manutenção era feita em laboratório, os quais foram fornecidos pelo Oceanário de Lisboa.

2.1. Cultivos auxiliares

Os cultivos auxiliares foram efetuados paralelamente aos cultivos principais, tendo como objetivo a produção de alimento para todas as fases do ciclo de vida da espécie em estudo (pólipos e éfiras).

2.1.1. Cultivo de Artémia (*Artemia franciscana* Kellogg, 1906)

Os cistos de artémia utilizados pertencem à espécie *Artemia franciscana* (INVE Aquaculture). A descapsulação dos cistos de artémia era realizada antes da sua eclosão, os quais eram mantidos numa câmara refrigeradora, em água salgada, e eclodidos à medida que era necessário.

De forma a uniformizar e adequar o cultivo às quantidades de alimento necessárias aos indivíduos, a artémia foi eclodida toda à mesma concentração (120 náuplios de artémia/ml), variando apenas o volume fornecido aos indivíduos consoante a fase do ciclo de vida que se estava a alimentar.

A artémia era colocada a eclodir em garrafas de 2 litros da Aqua Medic, 24 horas antes do seu fornecimento aos organismos, com água salgada, a uma temperatura de 25°C e arejamento médio-forte.

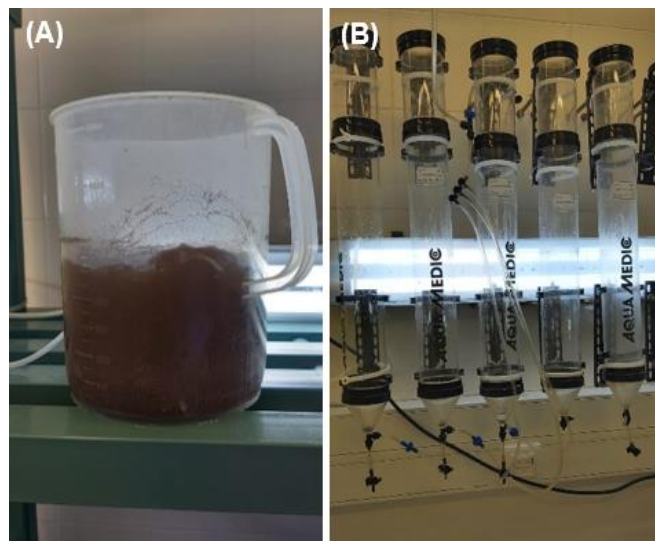


Figura 9- A) Descapsulação de Artemia; (B) Garrafas de eclosão de Artemia.

2.1.2. Cultivo de rotíferos (*Brachionus plicatilis* Müller, 1786)

Os rotíferos utilizados pertencem à espécie *Brachionus plicatilis*. O seu cultivo foi mantido num recipiente de 4 litros, a uma salinidade de 25, temperatura de 25°C e arejamento fraco. Os rotíferos eram alimentados 2 vezes por semana, com 0,5 litros de microalgas *Nannochloropsis gaditana* e *Tetraselmis chuii*, na proporção de 50:50. A concentração de cultivo foi de 100 rotíferos/ml.

Com a necessidade de maiores quantidades de alimento para os organismos em estudo, o cultivo de rotíferos foi aumentado e transferido para um tanque cilíndrico-cónico de 18 litros, às mesmas condições. Os rotíferos passaram a ser alimentados 3 vezes por semana, com 1 litro de microalgas *Nannochloropsis gaditana* e *Tetraselmis chuii*, na proporção de 50:50. A concentração de cultivo manteve-se a 100 rotíferos/ml.

A sua limpeza era feita quando necessário, antes do fornecimento de alimento.

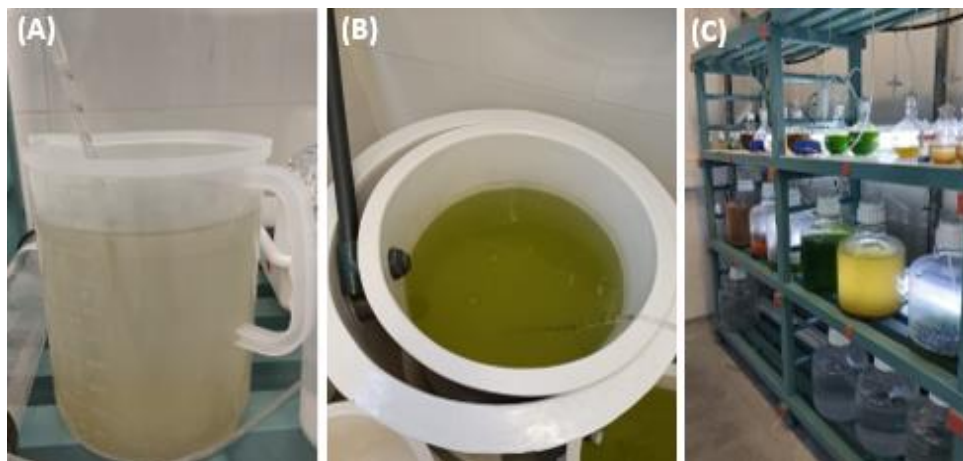


Figura 10- (A) Balde de 4L com cultivo de rotíferos; (B) Tanque cilíndrico-cónico com cultivo de rotíferos; (C) Manutenção de microalgas.

2.2. Manutenção de Pólipos

Para o fornecimento de pólipos da espécie *Phyllorhiza punctata* utilizadas nos ensaios, foram cultivadas três colónias (em três aquários de 4 litros, separados). De uma colónia stock mantida a salinidade 34 foram iniciadas duas novas colónias, uma a salinidade 34 e outra a salinidade 40. Todas elas foram mantidas a uma temperatura de 22°C, pH 8,0 e com arejamento fraco.

As colónias eram alimentadas com rotíferos e náuplios de artémia cinco vezes por semana, de modo a que a disponibilidade de alimento assegurasse e não limitasse o seu crescimento. As trocas de água de 50% eram efetuadas duas vezes por semana, para controlar não só a salinidade, como também os níveis de amónia, nitritos e nitratos.



Figura 11- Pólipo de *Phyllorhiza punctata*.

2.3. Ensaio experimental

2.3.1. Efeito da salinidade no aparecimento irregular de braços ropalares em éfiras de *Phyllorhiza punctata*

Para a realização deste ensaio foram, previamente, colocados pólipos em aquários a diferentes salinidades (34 e 40) e mantidos às respetivas condições durante aproximadamente 3 meses, para que fossem aclimatizadas e se reproduzissem, crescendo as colónias e tornando-as saudáveis.

Após o crescimento das colónias durante 3 meses e obtenção de um tamanho considerável dos pólipos, 8 goblets foram divididos em dois grupos, cada grupo constituído por 4 réplicas. Cada grupo representava uma salinidade, de 34 e 40 respetivamente, as quais foram testadas neste ensaio experimental. O fotoperíodo foi de 12h:12h.

Recolheram-se aleatoriamente 200 pólipos do aquário da salinidade de 34, distribuindo-os igualmente por 4 goblets de 1 litro, com 50 indivíduos em cada. Da mesma forma, foram recolhidos aleatoriamente 200 pólipos do aquário da salinidade de 40, distribuindo 50 indivíduos por cada goblet de 1 litro.

A indução da estrobilação (produção de éfiras) foi realizada por aumento de temperatura para os 25-26°C. Todos os goblets eram mantidos com arejamento fraco, a uma temperatura e salinidade estáveis, tendo sido medidas diariamente através de um termómetro analógico e de um refratómetro digital (HANNA), com ajustes dos parâmetros sempre que necessário.

Os pólipos foram alimentados duas vezes por semana com 15 ml de náuplios de artémia (a uma concentração de 120 náuplios/ml, duas vezes por dia) e 20 ml de rotíferos (a uma concentração de 100 rotíferos/ml, uma vez por dia). As trocas de água de 50% eram simultaneamente efetuadas 2 vezes por semana, de forma a controlar a salinidade e os níveis de amónia, nitritos e nitratos.

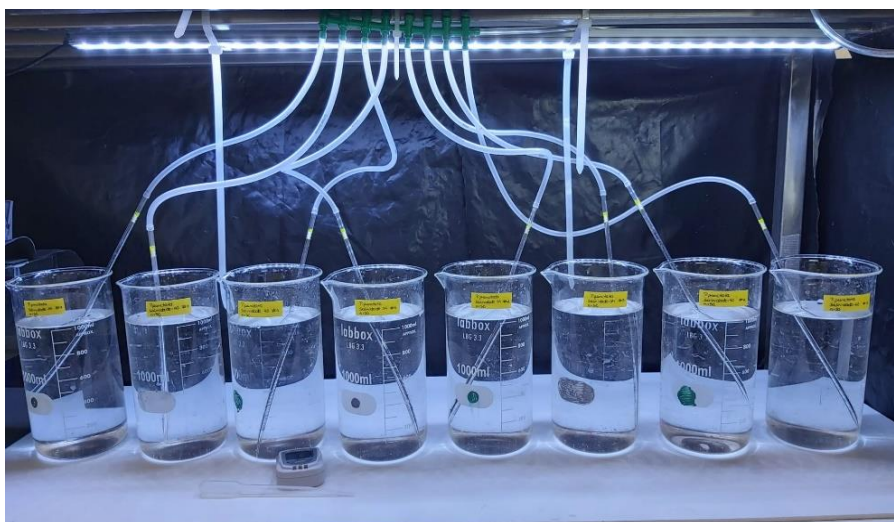


Figura 12- Disposição do ensaio “Efeito da salinidade no aparecimento irregular de braços ropalares em éfiras de *Phyllorhiza punctata*”.

A partir do momento em que os pólipos começaram a estrobilar e as primeiras éfiras a surgir estas, devido ao seu reduzido tamanho, foram observadas, fotografadas e medidas com recurso a uma lupa ZEISS Stemi 508 com uma câmara ZEISS AxioCam 105 color ligada ao computador e ao programa ZEISS Zen 2.6 (Blue Edition), fazendo-se simultaneamente a contagem do número de braços ropalares de cada éfira. Para isso, cada éfira era colocada numa caixa de Petri com a menor quantidade de água possível de forma a restringir o movimento e fazer medições (de ropálio a ropálio) com o maior rigor possível.

Os pólipos que permaneceram nos goblets, no final do ensaio, foram colocados em dois novos aquários, formando duas novas colônias, uma a salinidade 34 e outra a salinidade 40.

2.3.2. Influência do número de braços ropalares no crescimento das éfiras de *Phyllorhiza punctata*

Para a indução da estrobilação dos pólipos de *P.punctata* para este ensaio, efetuou-se o aumento de temperatura para 25-26°C de um aquário de 4 litros, mantidos a uma salinidade de 34, pH 8,0 e arejamento fraco. No entanto, para este ensaio foi utilizada uma colônia bastante saudável que começou a estrobilar assim que se aumentou a temperatura. O fotoperíodo foi de 12h:12h.

Quando os pólipos começaram a estrobilar e a dar origem a novas éfiras, estas foram agrupadas em grupos de idade, com um máximo de 3 dias de diferença, até perfazer o número total de indivíduos necessários para cada réplica, tendo em conta que nem sempre era possível recolher 8 indivíduos com um número de braços ropalares diferente de 8 no mesmo dia. Para os grupos de idade com número insuficiente de éfiras no mesmo dia, apenas se começaram a alimentar ao fim de um máximo de 3 dias, de forma a que não houvesse uma grande discrepância no tamanho inicial dos indivíduos pertencentes à mesma réplica.

As éfiras foram mantidas em goblets de 1 litro, que foram agrupados em três grupos, cada grupo representando um número de braços ropalares diferente (8, 9 e 10). Cada grupo era constituído por 4 réplicas, cada réplica por 8 indivíduos que foram crescidos ao longo de aproximadamente 17 dias.

Os goblets foram mantidos com arejamento médio-fraco e a uma temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, salinidade 34 e pH 8,0. Os parâmetros foram medidos diariamente, através de um termómetro analógico e de um refratómetro digital (HANNA), com ajustes dos parâmetros sempre que necessário.

As trocas de água de 50% eram feitas de 2 em 2 dias, para que fosse possível controlar a salinidade e os níveis de amónia, nitritos e nitratos (que devem ser mantidos abaixo de 0,05ppm, 0,10ppm, 15,0ppm, respetivamente).

As éfiras foram alimentadas diariamente com 15 ml de náuplios de artémia (a uma concentração de 120 náuplios/ml, duas vezes por dia) e 20 ml de rotíferos (a uma concentração de 100 rotíferos/ml, uma vez por dia).

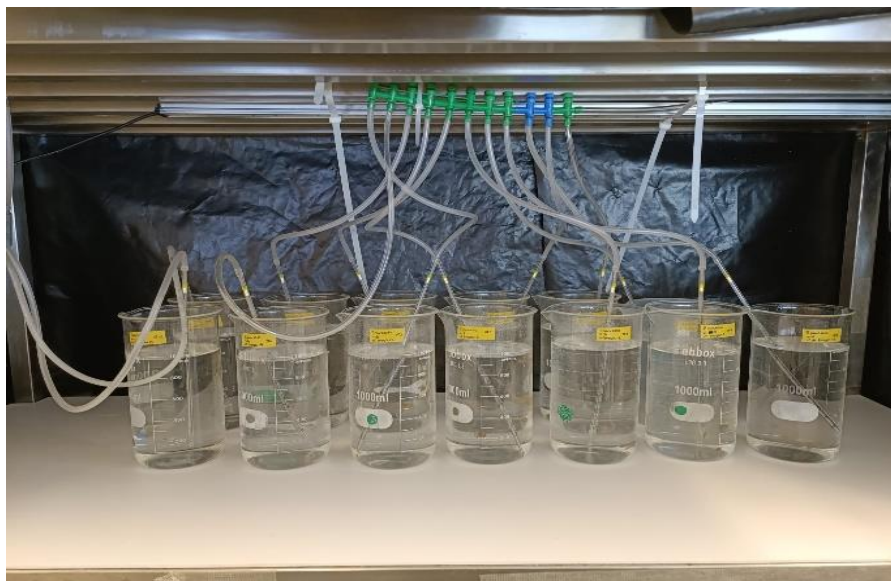


Figura 13- Disposição do ensaio “Influência do número de braços ropalares no crescimento das éfiras de *Phyllorhiza punctata*”.

De forma a avaliar o crescimento de éfiras *Phyllorhiza punctata*, estas foram observadas, fotografadas e medidas de 4 em 4 dias (1^o, 5^o, 9^o, 13^o e 17^o dias de ensaio) ao longo de 17 dias, por recurso a uma lupa ZEISS Stemi 508 com uma câmara ZEISS Axiocam 105 color ligada ao computador e ao programa ZEISS Zen 2.6 (Blue Edition). As éfiras foram medidas, de ropálio a ropálio, através da sua colocação numa caixa de Petri com a menor quantidade de água possível de forma a restringir o seu movimento e fazer medições com o maior nível de rigor possível.

O ensaio teve a duração de 30 dias, desde a estrobilação até à última medição da última réplica obtida.

A taxa de crescimento das éfiras foi estimada através do declive da análise de regressão linear entre a variação do tamanho em função do tempo, de acordo com a seguinte equação:

Tamanho (mm) = m x tempo (dias) + b, com m a representar o declive da reta e b a ordenada na origem.

2.4. Análise estatística

Para o primeiro ensaio experimental foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de um fator, com o intuito de avaliar o efeito de diferentes salinidades no número de braços ropalares de éfiras de *P.punctata*. Os pressupostos (normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias) foram devidamente validados através do teste de Shapiro-Wilk e Levene, respetivamente.

Para o segundo ensaio experimental, onde se pretendia testar o efeito de diferentes números de braços ropalares (8, 9 e 10) no crescimento de éfiras de *P.punctata*, realizou-se uma análise de variância (ANOVA) de um fator. Quando os pressupostos não foram cumpridos, procedeu-se ao teste não-paramétrico U de Mann-Whitney.

Quando aplicável, os resultados apresentam-se na forma de média \pm desvio-padrão (DP). Os testes estatísticos foram realizados com recurso ao software IBM SPSS statistics 28.0.0.0, tendo sido aplicado um nível de significância de 5%, ou seja, sempre que *p-value* $< 0,05$, as diferenças eram consideradas estatisticamente significativas.

3. Resultados

3.1. Efeito da salinidade no aparecimento anormal de braços ropalares em éfiras de *Phyllorhiza punctata*

Para este ensaio foram recolhidos aleatoriamente um total de 400 pólipos, 200 da salinidade 34 (controlo) e 200 da salinidade 40 (salinidade teste).

Os 200 pólipos utilizados no ensaio, recolhidos do aquário de salinidade 34, apresentaram um diâmetro médio inicial do cálice de $0,73 \pm 0,12$ mm. Já os 200 pólipos recolhidos do aquário de salinidade 40, apresentaram um diâmetro médio inicial do cálice de $0,70 \pm 0,08$ mm. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre o tamanho médio inicial dos pólipos para os diferentes tratamentos (*p-value* $> 0,05$).

Os pólipos de ambos os tratamentos reproduziram-se assexuadamente ao longo de todo o ensaio.

As primeiras éfiras começam a surgir aproximadamente 15 dias após indução da sua estrobilação, onde o período de estrobilação pode ser prolongado por mais 15 dias. Posteriormente, os pólipos devem voltar a ser aclimatados às condições de temperatura

normais de modo a cessar a estrobilação. Após o surgimento das primeiras éfiras, foram contabilizados 30 dias, que corresponde ao período de duração do ensaio.

Com um total de 810 éfiras estrobiladas, os dados obtidos neste ensaio estão representados na tabela I, onde se encontram todas as éfiras estrobiladas, para as duas salinidades testadas, e respetivos números de braços ropalares.

Tabela I- Número de éfiras estrobiladas para cada salinidade e respetivo número de braços ropalares.

Salinidade	nº de braços ropalares												
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total
34	1	0	4	2	3	347	124	22	1	3	0	1	508
40	0	2	2	1	6	198	75	13	2	1	2	0	302

A quantidade de indivíduos obtidos com um número de braços ropalares igual a 8 foi consideravelmente superior à quantidade de indivíduos obtidos com um número de braços ropalares diferente de 8.

Na figura 14 estão representados os dados obtidos no ensaio, com $n=8$ e $n \neq 8$, para as salinidades 34 e 40, e respetivas percentagens.

É possível constatar que, tanto para a salinidade 34 como para a salinidade 40, a percentagem de indivíduos com um número de braços ropalares igual a 8 ($70,30 \pm 6,54\%$ e $65,96 \pm 6,54\%$, para salinidades 34 e 40, respetivamente) é bastante superior à percentagem de indivíduos com um número de braços ropalares diferente de 8 ($29,70 \pm 3,78\%$ e $34,04 \pm 3,78\%$, para salinidades 34 e 40, respetivamente).

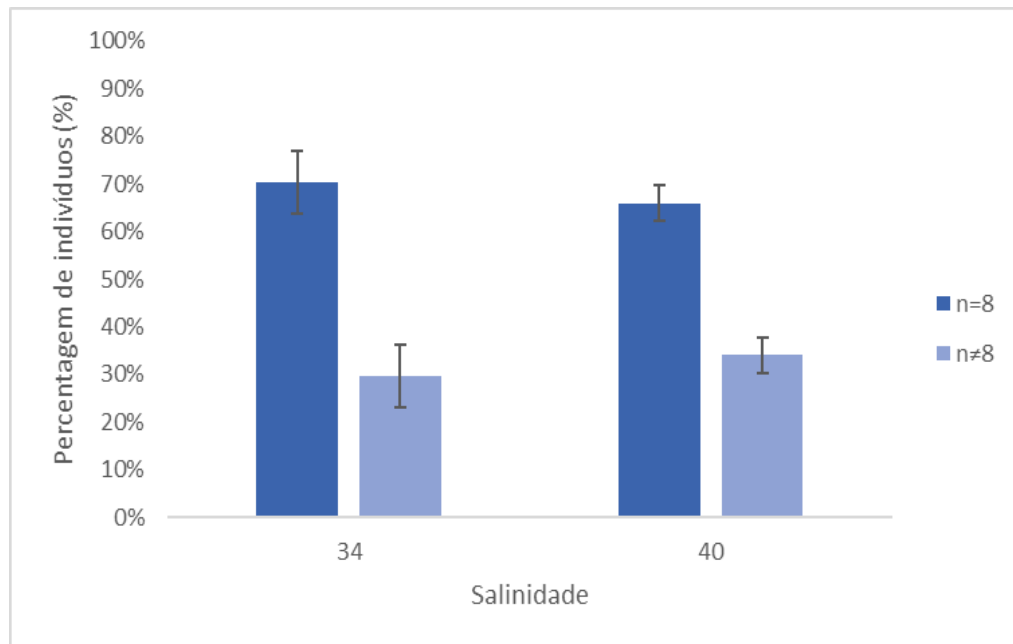


Figura 14- Percentagem de éfiras de *P.punctata* estrobiladas com um número de braços ropalares igual e diferente de 8, para os diferentes tratamentos (salinidade 34 e 40).

Os resultados obtidos para a análise da dependência entre a percentagem de indivíduos com número de braços ropalares igual e diferente de 8, para os diferentes tratamentos de salinidade, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} > 0,05$).

No entanto, a salinidade aparentou influenciar o número de éfiras estrobiladas ao longo do ensaio, onde a salinidade 34, que se encontra dentro do intervalo de temperatura ótimo de cultivo de *P.punctata* apresentou um número superior de éfiras relativamente à salinidade 40 ($127 \pm 48,92$ éfiras e $76 \pm 11,80$ éfiras para as salinidades 34 e 40, respectivamente), apesar de não terem sido observadas diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} > 0,05$).

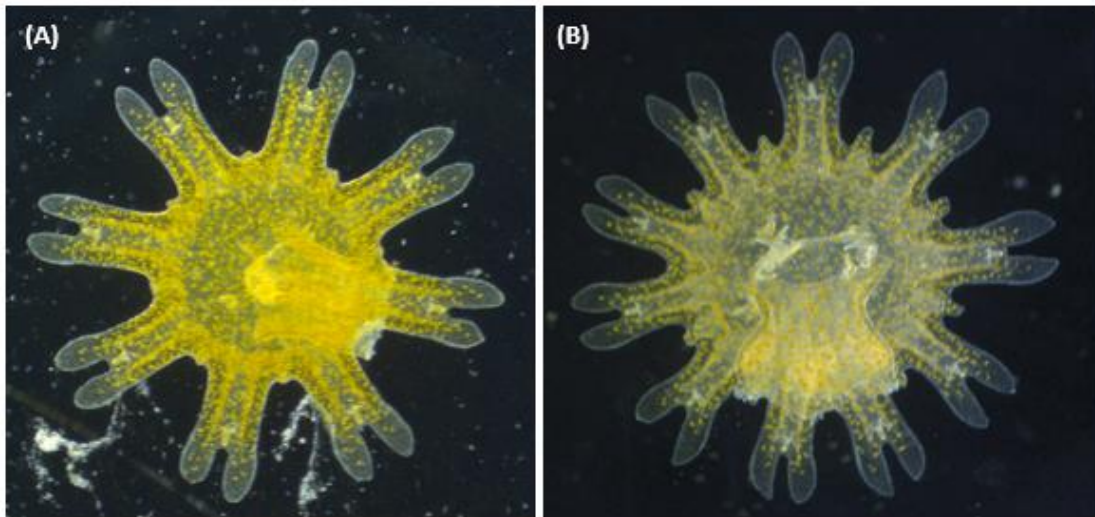


Figura 15- Éfiras de *Phyllorhiza punctata* com (A) 8 braços ropalares e (B) 10 braços ropalares, respetivamente.

Na figura 15 estão representadas 2 éfiras obtidas ao longo do ensaio, (A) uma com 8 braços ropalares, número considerado normal para a espécie em estudo e (B) a outra com 10 braços ropalares, número irregular.

3.2. Influência do número de braços ropalares no crescimento das éfiras de *Phyllorhiza punctata*

Com um total de 2.655 éfiras estrobiladas em ambas as salinidades, 2.445 apresentavam 8 braços ropalares (92,09%) e as restantes 210 éfiras apresentavam um número de braços ropalares diferente de 8 (17,91%) (Tabela II). Desses 17,91% foram observados indivíduos com um número de braços ropalares entre 5 e 19, mais precisamente 3 éfiras com n=5 (0,11%), 1 com n=6 (0,04%), 5 com n=7 (0,19%), 149 com n=9 (5,61%), 21 com n=10 (0,79%), 4 com n=11 (0,15%), 21 com n=12 (0,79%), 4 com n=13 (0,15%), 1 com n=14 (0,04%) e 1 com n=19 (0,04%).

Tabela II- Número de éfiras estrobiladas e respetivo número de braços ropalares.

	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	19	Total
nº indivíduos	3	1	5	2.445	149	21	4	21	4	1	1	2.655

Das éfiras estrobiladas, foram utilizadas no ensaio um total de 92 éfiras. As éfiras utilizadas no ensaio, apresentaram um tamanho médio inicial de $2,27 \pm 0,05$ mm para $n=8$, $2,14 \pm 0,23$ mm para $n=9$ e $2,10 \pm 0,15$ mm para $n=10$, não existindo diferenças estatisticamente significativas entre o tamanho médio inicial para os diferentes tratamentos ($p\text{-value} > 0,05$).

Na figura 16 observa-se uma éfira *Phyllorhiza punctata* com 19 braços ropalares, maior número de braços ropalares observado ao longo de todo o ensaio.



Figura 16- Éfira de *Phyllorhiza punctata* com 19 braços ropalares.

Na figura 17 podemos observar o crescimento médio das éfiras de *P.punctata* ao longo dos 17 dias de ensaio e respetivas regressões lineares.

As éfiras apresentaram uma taxa de crescimento média de $0,60 \pm 0,08$ mm dia⁻¹ ($n=8$), $0,58 \pm 0,05$ mm dia⁻¹ ($n=9$) e $0,68 \pm 0,04$ mm dia⁻¹ ($n=10$) (Figura 17).

Ao longo dos 3 primeiros dias de ensaio, as éfiras dos diferentes tratamentos apresentaram taxas de crescimento bastante semelhantes e só por volta do 4^o dia se começaram a observar pequenas diferenças nas taxas de crescimento entre os diferentes tratamentos, sendo que a taxa de crescimento do tratamento $n=10$ se manteve desde o 4^o dia até ao último dia de ensaio superior às taxas de crescimento dos dois outros tratamentos.

Contudo, as diferenças entre as taxas de crescimento das éfiras de *P.punctata*, para os 3 tratamentos, não foram estatisticamente significativas ($p\text{-value} > 0,05$).

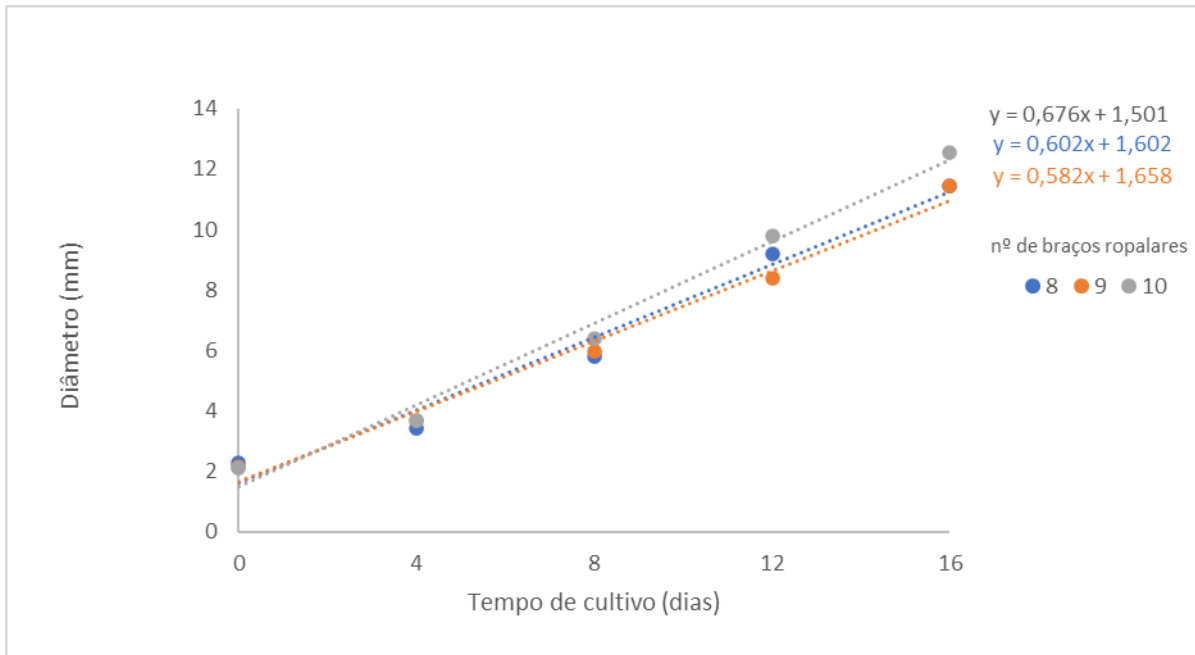


Figura 17- Crescimento médio de éfiras de *P.punctata* durante 17 dias, para diferentes números de braços ropalares (n=8, n=9 e n=10).

Na figura 18 está representado o incremento médio total das éfiras ao longo do ensaio, para os diferentes tratamentos, com um incremento médio total de $9,2 \pm 1,41$ mm para n=8, $9,3 \pm 0,78$ mm para n=9 e $10,5 \pm 1,15$ mm para n=10. Com um incremento médio total bastante semelhante entre os tratamentos n=8 e n=9, notou-se uma ligeira diferença para o tratamento n=10, superior aos restantes tratamentos, tal como observado para a taxa de crescimento das éfiras. Ainda que bastante semelhante, o incremento médio total das éfiras do tratamento n=9 foi superior ao incremento médio total das éfiras do tratamento n=8.

No entanto não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o incremento total médio ao longo do ensaio, para os diferentes tratamentos ($p\text{-value} > 0,05$).

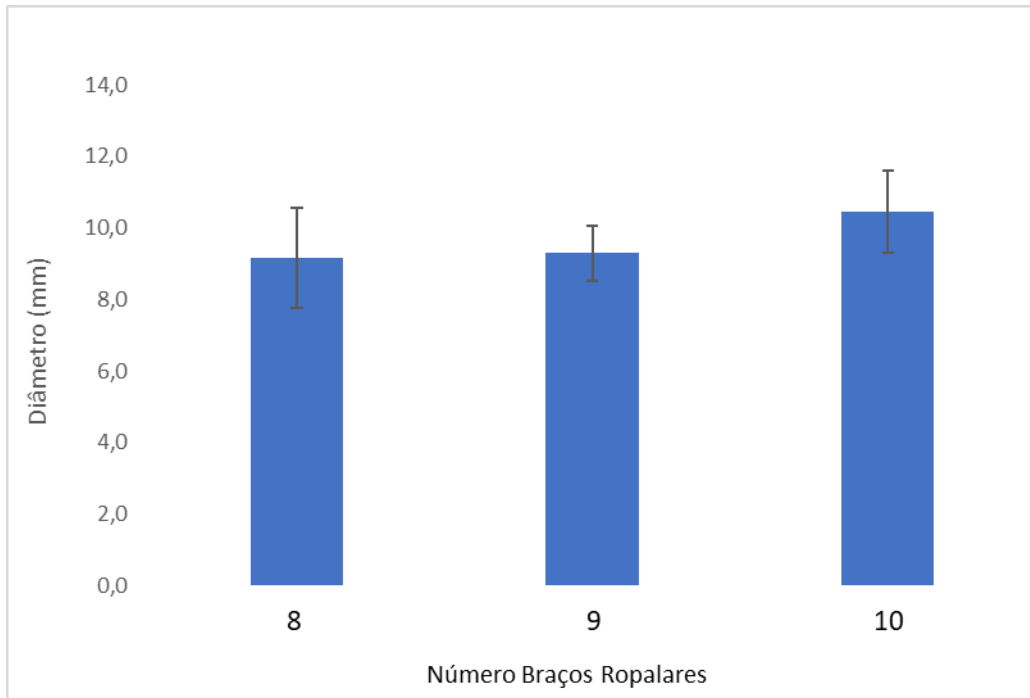


Figura 18- Incremento médio total em éfiras de *P.punctata* durante 17 dias, para diferentes números de braços ropalares (n=8, n=9 e n=10).

4. Discussão

Uma característica distinta das medusas são os seus tentáculos e braços orais que contêm células urticantes, os cnidócitos, permitindo uma predação bem-sucedida e desempenhando um papel essencial na sua sobrevivência. A morfologia destes apêndices difere em número, comprimento, configuração e densidade consoante a espécie (Miles & Battista, 2019) e tem por função auxiliar na captura e ingestão de presas.

Aquando a estrobilação, os tentáculos dos pólipos degeneram e as margens tornam-se lobadas para formar braços, os quais neste trabalho são referidos como “braços ropalares” para os distinguir dos “braços orais” que se desenvolvem no manúbrio (Nakanishi *et al.*, 2009; Kraus *et al.*, 2015).

Muito pouco é ainda estudado relativamente ao desenvolvimento de um número irregular de braços ropalares de éfiras de medusa, representando este um dos primeiros estudos realizados em relação a este tema. Conhecer o desenvolvimento dos braços ropalares é uma ferramenta importante para o entendimento da ecologia alimentar e evolução da morfologia das medusas.

As éfiras de *Phyllorhiza punctata* apresentam, normalmente, 8 braços, divididos em dois lobos ropalares na extremidade, evidenciando entre ambos uma pequena estrutura sensorial chamada ropálio e um manúbrio, através do qual se alimentam. Pólipos maduros com 16 tentáculos dão origem a éfiras com 8 braços ropalares, no entanto tem sido notório o desenvolvimento de mutações induzidas por *stress* até à fase de éfira, podendo dar origem a indivíduos com um número irregular de braços, seja ele maior ou menor (Berking & Herrmann, 2002; Duarte *et al.*, 2019). Como tal, o objetivo deste trabalho foi entender se os diferentes tipos morfológicos, como diferentes braços ropalares funcionavam como uma característica adaptativa da espécie, traduzindo-se numa maior taxa de crescimento.

4.1. Efeito da salinidade no aparecimento irregular de braços ropalares em éfiras de *Phyllorhiza punctata*

A ausência de partes complexas do corpo permite que as medusas se adaptem facilmente a alterações das condições do oceano e, por isto, o estudo do impacto que o aquecimento global tem em relação aos organismos marinhos, nomeadamente os gelatinosos, é fundamental para uma melhor compreensão da influência que alterações nas condições ambientais possam ter no seu ciclo de vida e na sua morfologia.

Apesar da sua elevada tolerância a oscilações de temperatura e salinidade, alterações de parâmetros abióticos dão origem a efeitos consideráveis na abundância e distribuição de medusas, tendo sido introduzidos como fatores ambientais chave que desempenham um papel determinante na presença ou ausência anual de medusas com base na dinâmica das colónias de ocorrência natural e registos de *blooms*, não só na sua fase pelágica como também na fase bentónica de ciclos de vida metagénicos, como o de *Phyllorhiza punctata* (Holst, 2012; Willcox, 2006).

Contudo, a informação disponível relativa aos fatores ambientais e stressores que determinam a indução, duração e magnitude da estrobilação é ainda bastante limitada, com a fase bentónica muito pouco descrita para maioria dos cifozoários, tornando-se importante obter o máximo de informação do ciclo de vida destes organismos para não só os compreender melhor, como também aos seus mecanismos. Para isso, devem ser conduzidos estudos com o intuito de melhor entender o modo como os diferentes fatores ambientais, como temperatura e salinidade, influenciam o desenvolvimento e reprodução destes organismos e é, por isto, que este ensaio foi realizado.

Fenómenos como o aquecimento global, o aumento da temperatura do mar e alterações climáticas e meteorológicas extremas, tais como inundações e ondas de calor, demonstraram alterar os valores absolutos da salinidade, afetando a dinâmica populacional marinha e estuarina, podendo favorecer a invasão e proliferação de espécies oportunistas em novas áreas geográficas, como é o caso das medusas (Rato *et al.*, 2021).

O estudo de Rato *et al.* (2021) avaliou o efeito de duas temperaturas, 21°C para um cenário térmico atual e 25°C como cenário de aquecimento, e seis regimes de salinidades semelhantes a condições marinhas e estuarinas (15, 20, 25, 30 e 40) ao longo de 21 dias, onde se demonstrou que, sob aquecimento, *P.punctata* apresentou uma mais rápida taxa de crescimento e gemulação em salinidades estuarinas, mas mortalidade mais alta e desenvolvimento mais reduzido em condições marinhas. Isto sugere que, alterações globais podem conduzir à proliferação de *P.punctata* através da colonização de pólipos, principalmente em áreas estuarinas, aumentando potencialmente *blooms* de medusas que podem conduzir a implicações em escalas locais e regionais.

Os níveis de salinidade adequados para a manutenção de maioria das cifomedusas em cativeiro encontram-se numa faixa de intervalo de 33-35 (por exemplo, *Cassiopea* spp., *Cyanea* spp., *Chrysaora fuscescens* (Brandt, 1835), *Phyllorhiza punctata* e *Mastigias papua* (Lesson, 1830)), salinidades estas que vão de encontro às salinidades encontradas nas águas tropicais e subtropicais das áreas onde *P.punctata* se encontra distribuída geograficamente (Droghei *et al.*, 2018; Rosales-Catalán *et al.*, 2021). Estes níveis devem permanecer estáveis já que grandes flutuações na salinidade podem sobrecarregar fisiologicamente os organismos e restringir os seus movimentos, diminuindo as suas taxas de alimentação e crescimento (Purcell *et al.*, 2013; Widmer, 2008; Crow *et al.*, 2013; Schaad *et al.*, 2017; Lange & Kaiser, 1995).

Foi, no entanto, possível observar a possibilidade da existência de uma relação entre a salinidade e a quantidade de éfiras estrobiladas. Como era de esperar, a salinidade 34, que se encontra dentro do intervalo ótimo de cultivo de *P.punctata* apresentou um número consideravelmente maior de éfiras estrobiladas quando comparada ao número de éfiras resultantes da salinidade 40.

Como este estudo foi um dos primeiros a ser feito testando o efeito da salinidade neste aspeto morfológico e apenas se focou nos estágios iniciais desta espécie de medusas em condições laboratoriais, não é claro que a salinidade não afete o aparecimento irregular de braços ropalares.

Sabe-se que a taxa de crescimento destes indivíduos varia de acordo com as condições ambientais que os rodeia, sendo favorecida por temperaturas e salinidades superiores e dependendo da quantidade e qualidade de alimento que lhes é proporcionada (Gili *et al.*, 2022). Enquanto na costa ocidental da Austrália é típico que as primeiras medusas libertadas no início da primavera atinjam, no início do verão, cerca de 2 cm e, no período de seis semanas, os 15 cm de diâmetro de campânula, na costa de Georgia, foram observadas medusas com cerca de 10 cm no início do verão, que cresceram até cerca de 20 cm e 30 cm, após dois e três meses, respetivamente, em 2007 e 2008 (Rippingale & Kelly, 1995; Verity *et al.*, 2011).

Phyllorhiza punctata, sendo uma cifomedusa de coloração forte associada às suas zooxantelas simbiotes, depende dos seus produtos fotossintéticos para a sua nutrição, tornando-se essencial o fornecimento de luz de espectro adequado à fotossíntese das mesmas (Duarte, 2018).

As zooxantelas necessitam de luz e, por sua vez, os pólipos necessitam de zooxantelas para a sua propagação e desenvolvimento (Jarms *et al.*, 2002), sendo que muitos pólipos apenas estrobilam na presença destas. Espécies de medusas associadas a zooxantelas podem ser mais suscetíveis a efeitos combinados da intensidade luminosa e temperatura que as espécies que não são associadas às mesmas (Klein *et al.*, 2016).

Vários estudos de simbioses algas-invertebrados que se baseiam em benefícios biotróficos mútuos, apontaram um papel essencial de algumas dessas algas para a conclusão do ciclo de vida dos seus hospedeiros, como é o caso das cifomedusas *Mastigias papua* e *Cassiopeia andromeda* (Forskål, 1775), que são incapazes de estrobilar na ausência de zooxantelas (Rahat & Adar, 2021).

Futuramente, devem ser conduzidos estudos que pretendam testar a mesma hipótese, focando-se na interação da salinidade com outros fatores abióticos (temperatura, intensidade luminosa, etc.) e a variação do número de braços ropalares destes organismos.

De acordo com Berking & Herrmann (2007), o número de septos num pólipos determina o número de braços nas éfiras produzidas. Observou-se que pólipos formados por reprodução assexuada apresentam, geralmente, 4 septos, 4 bolsas gástricas e 4 tentáculos e, só então, adicionalmente, se formam tentáculos entre os já existentes. Em indivíduos com 4 septos, o número final de tentáculos é cerca de 16. No entanto, pólipos com um número superior de septos tendem a produzir um maior número de tentáculos.

O número de tentáculos sob a bolsa gástrica é altamente variável onde quanto maior a bolsa, maior o número de tentáculos relacionado com a mesma. Estas bolsas formam-se em número par e o seu tamanho é, inicialmente, variável, e só com o decorrer do tempo crescem até se encontrarem quase do mesmo tamanho (Berking & Herrmann, 2007).

Torna-se, então, fundamental compreender a relação entre o número de septos e tentáculos em pólipos, e respetivo número de braços ropalares produzidos em éfiras.

4.2. Influência do número de braços ropalares no crescimento de éfiras de *Phyllorhiza punctata*

Com base nos dados obtidos ao longo do ensaio, observou-se que o tratamento onde as éfiras apresentavam um número de braços ropalares igual a 10 foi onde se observou uma maior taxa de crescimento ($0,68 \pm 0,04 \text{ mm dia}^{-1}$). Contudo, não foi o suficiente para serem observadas diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos.

O número de bolsas gástricas de um pólipo aparenta estar relacionado com o diâmetro final do anel onde os tentáculos se formam, tentáculos cujo número é altamente variável. Ou seja, quanto maior for o número de septos, maior o número de bolsas gástricas e, por sua vez, maior o número de tentáculos que se encontram relacionados com as mesmas. Ao longo do crescimento, as bolsas aumentam até ficarem praticamente do mesmo tamanho e, no final, o número de bolsas determina, na sua grande maioria, o diâmetro do pólipo na posição do anel do tentáculo (Berking & Hermann, 2002).

Um pólipo de *Phyllorhiza punctata* com 4 septos origina uma éfira com 8 braços. Da mesma forma se poderá aplicar a teoria anterior em éfiras onde o número de septos num pólipo determina o número de braços na éfira produzida e, conseqüentemente, o seu diâmetro.

Estudos anteriores realizados em *Aurelia aurita*, demonstraram que um número superior de tentáculos e septos nos progenitores (mais de 4 e 16, respetivamente), está associado a um número superior de braços ropalares (mais de 8) nas éfiras produzidas, fenómeno que pode acontecer com *Phyllorhiza punctata* (Berking & Hermann, 2002).

De acordo com Duarte *et al.* (2019), éfiras com mais de 8 braços ropalares não apresentam necessariamente um tamanho superior. No entanto, aparenta existir um impacto positivo no seu crescimento ao longo dos primeiros 8 dias, quando se compara ao

crescimento de éfiras com 8 braços ropalares, quando mantidas às mesmas condições. Um maior número de braços ropalares, assim como a presença de mais de 4 bolsas gástricas, aparentou ter um impacto positivo não só no seu desempenho natatório como na captura de alimento em éfiras com um número irregular de braços ropalares, podendo esta característica representar uma vantagem adaptativa destes organismos.

Duarte *et al.* (2021) observou o crescimento de éfiras de *P.punctata* para um número de braços ropalares entre 9 e 14, o que pode ser indicativo de um número insuficiente de tratamentos para o nosso estudo. Isto porque, com a existência de um maior número de tratamentos já foi possível observar que os tratamentos de número irregular e par de braços ropalares (10 e 12) foram aqueles que apresentaram um tamanho inicial superior e um maior incremento médio de crescimento, quando comparados com os restantes. Isto pode ser representativo de que a simetria observada em éfiras, neste caso de *P.punctata*, com um número irregular superior e par pode influenciar o seu desempenho natatório e facilitar a captura de alimento. Uma melhoria da captura de alimento pode estar interligada com um aumento da taxa de ingestão e, por sua vez, uma maior taxa de crescimento que nos indica a rapidez com que o número de indivíduos de uma população cresce.

Neste estudo não se observou uma influência significativa do número de braços ropalares nas taxas de crescimento dos estágios iniciais da medusa *Phyllorhiza punctata*. Tal pode ser associado a um tempo de ensaio curto ou devido à pequena diferença entre o número de braços das éfiras utilizadas neste estudo, sendo essencial, em futuros ensaios, prolongar o tempo de duração até ao desenvolvimento da fase adulta e aumentar o número de tratamentos (número de braços ropalares) em análise, para que seja possível observar se existe uma maior influência do número de braços ropalares nas taxas de crescimento.

Apesar de n=8 ter apresentado uma maior taxa de crescimento quando comparada com a de n=9, o incremento médio total do tratamento n=9 foi superior à de n=8, apesar de não ter sido de uma forma significativa.

5. Conclusão

Ainda que conspícuas, as medusas representam uma componente relativamente pouco estudada dos ecossistemas marinhos, apesar do interesse pelo seu estudo ter vindo a crescer significativamente graças ao potencial que apresentam em diversas áreas.

No presente estudo pretendeu-se avaliar de que forma a salinidade poderá influenciar o aparecimento de um número irregular de braços ropalares em éfiras de *Phyllorhiza punctata* e de que forma esse número afeta a taxa de crescimento das mesmas, com o intuito de entender se esta característica funciona como uma vantagem adaptativa da espécie.

Embora a salinidade seja considerada um fator ambiental chave de papel determinante na presença anual de medusas, muito pouco se sabe sobre a sua influência no desenvolvimento e reprodução destes organismos, nomeadamente na sua morfologia. Contudo, a salinidade, como fator isolado, não demonstrou ter efeito significativo no aparecimento de um número irregular de braços ropalares em éfiras de *Phyllorhiza punctata*.

A taxa de crescimento máxima observou-se nas éfiras com um número de braços ropalares igual a 10, seguido de $n=8$ e $n=9$. O incremento médio obtido para a análise dos indivíduos, demonstrou ser superior para as éfiras com um número de braços ropalares igual a 10, e sucessivamente para $n=9$ e $n=8$ ainda que, para o tempo de ensaio, as diferenças entre as taxas de crescimento e o incremento médio para os diferentes tratamentos analisados ($n=8$, $n=9$ e $n=10$) não tenham sido estatisticamente significativos.

Face aos resultados obtidos, podemos retirar algumas conclusões quanto ao efeito da salinidade no desenvolvimento de um número irregular de braços ropalares em éfiras de *P.punctata* e de que forma esse número de braços irá influenciar a taxa de crescimento dos indivíduos. Contudo, é necessário o desenvolvimento de mais estudos de forma a obter um maior conhecimento sobre o desenvolvimento medusas, de modo a entender se esta poderá ser uma característica adaptativa da espécie.

Futuramente, as experiências realizadas poderiam ser repetidas com um maior número de tratamentos e prolongadas por mais tempo para analisar outras fases do ciclo de vida destes organismos, pressupondo que as divergências entre as taxas de crescimento poderiam ser mais evidentes. Por outro lado, a avaliação dos efeitos da exposição a diferentes valores de salinidade e outros fatores abióticos (temperatura, intensidade

luminosa, etc.), em conjunto ou em separado, no desenvolvimento destes organismos deverá ser igualmente alvo de atenção em futuros estudos.

6. Referências bibliográficas

- Anderson, J. J., Gurarie, E., Bracis, C., Burke, B. J., & Laidre, K. L. (2013). Modeling climate change impacts on phenology and population dynamics of migratory marine species. *Ecological Modelling*, 264, 83–97. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.03.009>
- Arai, M. N. (1997). *A Functional Biology of Scyphozoa* (First Edit). Chapman & Hall. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-1497-1>
- Ballesteros, A., Östman, C., Santín, A., Marambio, M., Narda, M., & Gili, J. M. (2021). Cnidome and morphological features of *Pelagia noctiluca* (Cnidaria: Scyphozoa) throughout the different life cycle stages. *Frontiers in Marine Science*, 1059. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.714503>
- Berking, S., & Herrmann, K. (2002). Compartments in scyphozoa. *International Journal of Developmental Biology*, 51(3), 221–228. <https://doi.org/10.1387/ijdb.062215sb>
- Boero, F. (2013). Review of jellyfish blooms in the Mediterranean and Black Sea. General Fisheries Commission for the Mediterranean. *Studies and Reviews*, (92), I. <https://doi.org/10.1080/17451000.2014.880790>
- Boxshall, G., Boero, F., & Olenin, S. (2007). First record of the tropical scyphomedusa *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884 (Cnidaria: Rhizostomeae) in the Central Mediterranean Sea. *Aquatic Invasions*, 2(4), 391-394. <https://doi.org/10.3391/ai.2007.2.4.7>
- Brotz, L., Cheung, W. W., Kleisner, K., Pakhomov, E., & Pauly, D. (2012). Increasing jellyfish populations: trends in large marine ecosystems. In *Jellyfish Blooms IV* (pp. 3-20). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5316-7_2
- Burnett, J. W., Weinrich, D., Williamson, J. A., Fenner, P. J., Lutz, L. L., & Bloom, D. A. (1998). Autonomic neurotoxicity of jellyfish and marine animal venoms. *Clinical Autonomic Research*, 8(2), 125-130. <https://doi.org/10.1007/BF02267823>
- Calder, D. R. (1977). Nematocysts of the ephyra stages of *Aurelia*, *Chrysaora*, *Cyanea*, and *Rhopilema* (Cnidaria, scyphozoa). *Transactions of the American Microscopical Society*, 13-19. <https://doi.org/10.2307/3225958>
- Canadell, J. G., Le Quéré, C., Raupach, M. R., Field, C. B., Buitenhuis, E. T., Ciais, P., Conway, T. J., Gillett, N. P., Houghton, R. A., & Marland, G. (2007). Contributions to accelerating atmospheric CO₂ growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(47), 18866–18870. <https://doi.org/10.1073/pnas.0702737104>
- Collins, A. G. (2002). Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(3), 418-432. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2002.00403.x>
- Crow, J., Howard, M., Lévesque, V., et al. (2013). AZA aquatic invertebrate TAG. In: Schaadt M, ed. Jellyfish (Cnidaria/Ctenophora) Care Manual. Silver Spring, MD: Association of Zoos and Aquariums (AZA); 2013:5-79

- Daly, N. L., Seymour, J., & Wilson, D. (2014). Exploring the therapeutic potential of jellyfish venom. *Future medicinal chemistry*, 6(15), 1715-1724. <https://doi.org/10.4155/fmc.14.108>
- D'Ambra, I., Costello, J. H., & Bentivegna, F. (2001). Flow and prey capture by the scyphomedusa *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld, 1884. *Hydrobiologia*, 451, 223–227. <https://doi.org/10.1023/A:1011832222174>
- Droghei, R., Buongiorno Nardelli, B., & Santoleri, R. (2018). A New Global Sea Surface Salinity and Density Dataset From Multivariate Observations (1993–2016). *Front. Mar. Sci.* 5:84. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00084>
- Duarte, I. M. (2018). *Efeito da Dieta no Crescimento da Medusa Phyllorhiza punctata*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Instituto Politécnico de Leiria.
- Duarte, I. M., Leandro, S. M., Ferreira, M., Pinto, C. C., Falcão, J., Rato, L. D., Maranhão, P., & Marques, S. C. (2019). Different morphological types in *Phyllorhiza punctata* translate into adaptative changes?. *Front. Mar. Sci. Conference Abstract: IMMR'18 | International Meeting on Marine Research 2018*. <https://doi.org/10.3389/conf.FMARS.2018.06.00079>
- Duarte, I. M., Marques, S. C., Leandro, S. M., & Calado, R. (2021). An overview of jellyfish aquaculture: for food, feed, pharma and fun. *Reviews in Aquaculture*, (July), 1–23. <https://doi.org/10.1111/raq.12597>
- Ferreira, A. P. (2006). *O Desafio Das Alterações Climáticas: O Olhar Para Além Das Nossas Fronteiras*. 1–11.
- Frost, J. R., Jacoby, C. A., Frazer, T. K., & Zimmerman, A. R. (2012). Pulse perturbations from bacterial decomposition of *Chrysaora quinquecirrha* (Scyphozoa: Pelagiidae). In *Jellyfish Blooms IV* (pp. 247-256). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5316-7_19
- Gili, J. M., Ballesteros, A., & Marambio, M. (2022). *Birth of a Jellyfish*. Oceanographic. <https://oceanographicmagazine.com/features/jellyfish-blooms/>. Acesso a 02-09-2022.
- Graham, W. M., Martin, D. L., Felder, D. L., Asper, V. L., & Perry, H. M. (2003). Ecological and economic implications of a tropical jellyfish invader in the Gulf of Mexico. In *Marine Bioinvasions: Patterns, Processes and Perspectives* (pp. 53-69). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0169-4_6
- Goodess, C. M., Palutikof, J. P., & Davies, T. D. (1992). *The nature and causes of climate change: assessing the long-term future*. Belhaven Press.
- Gold, D. A., Nakanishi, N., Hensley, N. M., Cozzolino, K., Tabatabaee, M., Martin, M., Hartenstein, V., & Jacobs, D. K. (2015). Structural and developmental disparity in the tentacles of the moon jellyfish *Aurelia* sp.1. *PLoS ONE*, 10(8), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134741>
- Goldstein, J. S., & Nelson, B. (2011). Application of a gelatinous zooplankton tank for the mass production of larval Caribbean spiny lobster, *Panulirus argus*. *Aquatic Living Resources*, 24(1), 45-51. <https://doi.org/10.1051/alr/2011100>

- Haddad, M. A., & Nogueira, M. (2006). Reappearance and seasonality of *Phyllorhiza punctata* von Lendenfeld (Cnidaria, Scyphozoa, Rhizostomeae) medusae in southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(3), 824–831. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752006000300030>
- Hays, G. C., Bastian, T., Doyle, T. K., Fossette, S., Gleiss, A. C., Gravenor, M. B., Hobson, V.J., Humphries, N.E., Lilley, M.K.S., Pade, N.G., & Sims, D. W. (2011). High activity and lévy searches: Jellyfish can search the water column like fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1728), 465–473. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0978>
- Hansen, J., Sato, M., Hearty, P., Ruedy, R., Kelley, M., Masson-Delmotte, V., Russell, G., Tselioudis, G., Cao, J., Rignot, E., Velicogna, I., Tormey, B., Donovan, B., Kandiano, E., von Schuckmann, K., Kharecha, P., Legrande, A. N., Bauer, M., & Lo, K. W. (2016). Ice melt, sea level rise and superstorms: evidence from paleoclimate data, climate modeling, and modern observations that 2°C global warming could be dangerous. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 16(6), 3761-3812.
- Helm, R. R. (2018). Evolution and development of scyphozoan jellyfish. *Biological Reviews*, 93(2), 1228–1250. <https://doi.org/10.1111/brv.12393>
- Hickman, C. P., Roberts, L. S. e Larson, A. (2004). Princípios Integrados de Zoologia, 11ª Edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan: 238-264.
- Holland, J. S. (2013). The Bite That Heals: Scientists are unlocking the medical potential of venom. *National Geographic Magazine*, February 2013.
- Holst, S. (2012). Effects of climate warming on strobilation and ephyra production of North Sea scyphozoan jellyfish. In *Jellyfish Blooms IV* (pp. 127-140). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5316-7_10
- Hsieh, Y. P., & Rudloe, J. (1994). Potential of utilizing jellyfish as food in Western countries. *Trends in Food Science & Technology*, 5(7), 225-229. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(94\)90253-4](https://doi.org/10.1016/0924-2244(94)90253-4)
- Jarms, G., Morandini, A., & da Silveira, F. (2002). Cultivation of polyps and medusae of Coronatae (Cnidaria, Scyphozoa) with a brief review of important characters. *Helgoland Marine Research*, 56(3), 203-210. <https://doi.org/10.1007/s10152-002-0113-3>
- Kavanau, J. L. (2006). Is sleep's 'supreme mystery' unraveling? An evolutionary analysis of sleep encounters no mystery; nor does life's earliest sleep, recently discovered in jellyfish. *Medical hypotheses*, 66(1), 3-9. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2005.08.036>
- Klein, S. G., Pitt, K. A., & Carroll, A. R. (2016). Surviving but not thriving: inconsistent responses of zooxanthellate jellyfish polyps to ocean warming and future UV-B scenarios. *Scientific reports*, 6(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/srep28859>
- Kraus, J. E., Fredman, D., Wang, W., Khalturin, K., & Technau, U. (2015). Adoption of conserved developmental genes in development and origin of the medusa body plan. *EvoDevo*, 6(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s13227-015-0017-3>
- Kroeker, K. J., Kordas, R. L., Crim, R., Hendriks, I. E., Ramajo, L., Singh, G. S., Duarte, C. M., & Gattuso, J. (2013). Impacts of ocean acidification on marine organisms:

- quantifying sensitivities and interaction with warming. *Global Change Biology*, 19(6), 1884– 1896.
- Lange, J., Kaiser, R. (1995). The maintenance of pelagic jellyfish in the Zoo-Aquarium Berlin. *Int Zoo Yearb.* 1995;34(1):59-64. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.1995.tb00658.x>
- Leal, M.C., Ferrier-Pagès, C., Petersen, D., & Osinga, R. (2017). Corals. In *Marine Ornamental Species Aquaculture* (eds R. Calado, I. Olivotto, M.P. Oliver and G.J. Holt). <https://doi.org/10.1002/9781119169147.ch21a>
- Levermann, A., Clark, P. U., Marzeion, B., Milne, G. A., Pollard, D., Radic, V., & Robinson, A. (2013). The multimillennial sea-level commitment of global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(34), 13745–13750.
- Lotan, A., Fine, M., & Benhillel, R. (1994). Synchronization of the life cycle and dispersal pattern of the tropical invader Scyphomedusan *Rhopilema nomadica* is temperature dependent. *Marine Ecology Progress Series*, 109(1), 59–66. <https://doi.org/10.3354/meps111059>
- Marambio, M., Canepa, A., Lòpez, L., Gauci, A. A., Gueroun, S. K., Zampardi, S., Boero, F., Yahia, O. K. D., Yahia, M.N.D., Fuentes, V., Piraino, S., & Deidun, A. (2021). Unfolding jellyfish bloom dynamics along the Mediterranean basin by transnational citizen science initiatives. *Diversity*, 13(6), 274. <https://doi.org/10.3390/d13060274>
- Mariottini, G. L., & Pane, L. (2013). Cytotoxic and cytolytic cnidarian venoms. A review on health implications and possible therapeutic applications. *Toxins*, 6(1), 108-151. <https://doi.org/10.3390/toxins6010108>
- McInnes, J. C., Alderman, R., Lea, M. A., Raymond, B., Deagle, B. E., Phillips, R. A., Stanworth, A., Thompson, D.R., Catry, P., Weimerskirch, H., Suazo, C.G., Gras, M., & Jarman, S. N. (2017). High occurrence of jellyfish predation by black-browed and Campbell albatross identified by DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*, 26(18), 4831-4845. <https://doi.org/10.1111/mec.14245>
- Miles, J. G., & Battista, N. A. (2019). Naut your everyday jellyfish model: exploring how tentacles and oral arms impact locomotion. *Fluids*, 4(3), 169. <https://doi.org/10.3390/fluids4030169>
- Mills, C. E. (2001). Jellyfish blooms: are populations increasing globally in response to changing ocean conditions?. *Hydrobiologia*, 451(1), 55-68. <https://doi.org/10.1023/A:1011888006302>
- Miranda, F. A. S. (2016). Ensaios de reprodução da medusa *Phyllorhiza punctata* para fins ornamentais. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Instituto Politécnico de Leiria.
- Milisenda, G., Rosa, S., Fuentes, V. L., Boero, F., Guglielmo, L., Purcell, J. E., & Piraino, S. (2014). Jellyfish as prey: frequency of predation and selective foraging of Boops boops (Vertebrata, Actinopterygii) on the mauve stinger *Pelagia noctiluca* (Cnidaria, Scyphozoa). *PLoS one*, 9(4), e94600.
- Munday, P. L., McCormick, M. I., & Nilsson, G. E. (2012). Impact of global warming and rising CO2 levels on coral reef fishes: what hope for the future? *Journal of*

Experimental Biology, 215(22), 3865–3873.

- Nagelkerken, I., & Munday, P. L. (2016). Animal behaviour shapes the ecological effects of ocean acidification and warming: moving from individual to community-level responses. *Global Change Biology*, 22(3), 974–989.
- Nakanishi, N., Hartenstein, V., & Jacobs, D. K. (2009). Development of the rhopalial nervous system in *Aurelia* sp. 1 (Cnidaria, Scyphozoa). *Development genes and evolution*, 219(6), 301-317. <https://doi.org/10.1007/s00427-009-0291-y>
- Peach, M. B., & Pitt, K. A. (2005). Morphology of the nematocysts of the medusae of two scyphozoans, *Catostylus mosaicus* and *Phyllorhiza punctata* (Rhizostomeae): implications for capture of prey. *Invertebrate biology*, 124(2), 98-108.
- Pinto, C. D. C. (2021). *The effect of temperature and substrates on polyp settlement of the spotted tellyfish, phyllorhiza punctata (Von Lendenfeld, 1884)*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Instituto Politécnico de Leiria.
- Pitt, K. A., Clement, A. L., Connolly, R. M., & Thibault-Botha, D. (2008). Predation by jellyfish on large and emergent zooplankton: Implications for benthic-pelagic coupling. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76(4), 827–833. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.08.011>
- Purcell, J. E. (1992). Effects of predation by the scyphomedusan *Chrysaora quinquecirrha* on zooplankton populations in Chesapeake Bay, USA. *Marine Ecology-progress Series*, 87, 65-65. <https://doi.org/10.3354/MEPS129063>
- Purcell, J. E. (2003). Predation on zooplankton by large jellyfish, *Aurelia*, *Cyanea* and *Aequorea*, in Prince William Sound, Alaska. *Marine Ecology Progress Series*, 246, 137-152. <https://doi.org/10.3354/meps246137>
- Purcell, J. E., Uye, S. I., & Lo, W. T. (2007). Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology Progress Series*, 350, 153-174. <https://doi.org/10.3354/meps07093>
- Purcell, J. E., Baxter, E. J., & Fuentes, V. L. (2013). Jellyfish as products and problems of aquaculture. In *Advances in aquaculture hatchery technology* (pp. 404-430). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857097460.2.404>
- Prieto, L., Astorga, D., Navarro, G., & Ruiz, J. (2010). Environmental control of phase transition and polyp survival of a massive-outbreaker jellyfish. *PLoS ONE*, 5(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013793>
- Rahat, M. & Adar, O. (2021). A non essential role of the symbiotic zooxanthellae in the strobilation of *Cassiopeia andromeda* (scyphozoa, coelenterata). In H. Schenk & W. Schwemmler (Ed.), *Endosymbiosis and cell biology: A synthesis of recent research. Proceedings of the International Colloquium on Endosymbiosis and Cell Research, Tübingen, April 1980* (pp. 143-144). Berlin, Boston: De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9783111385068-018>
- Raskoff, K. A., Sommer, F. A., Hamner, W. M., & Cross, K. M. (2003). Collection and culture techniques for gelatinous zooplankton. *The Biological Bulletin*, 204(1), 68-80. <https://doi.org/10.2307/1543497>

- Rato, L. D., Pinto, C., Duarte, I. M., Leandro, S. M., & Marques, S. C. (2021). Euryhalinity and thermal tolerance of *Phyllorhiza punctata* (Scyphozoa) scyphostomae: life history and physiological trade-offs. *Marine Biology*, 168(11), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00227-021-03969-x>
- Rippingale, R. J., & Kelly, S. J. (1995). Reproduction and survival of *Phyllorhiza punctata* (Cnidaria: Rhizostomeae) in a seasonally fluctuating salinity regime in Western Australia. *Marine and Freshwater Research*, 46(8), 1145-1151. <https://doi.org/10.1071/MF9951145>
- Rosales-Catalán, L., Estrada-González, M. C., Rivera-Pérez, C., Sánchez, M. A. R., Gamero-Mora, E., Morandini, A. C., & Mendoza-Becerril, M. A. (2021). Genetic and morphological evidence of the presence of *Phyllorhiza punctata* in the southwestern Gulf of California (NE Pacific Ocean). *Aquatic Invasions*, 16(4), 637-652. <https://doi.org/10.3391/ai.2021.16.4.04>
- Saldanha, L. (2003). Fauna Submarina Atlântica, Cnidários, 4ª Edição. Publicações Europa-América: 57-79.
- Schaadt, M., Widmer, C. L., Sowinski, N. (2017). Chapter Jellyfish. In: Calado R, Olivotto I, Oliver M, Holt J, eds. *Marine Ornamental Species Aquaculture*, 1st edn. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd; 2017:457-473. <https://doi.org/10.1002/9781119169147.ch21c>
- Schnedler-Meyer, N. A., Kiørboe, T., & Mariani, P. (2018). Boom and bust: life history, environmental noise, and the (un)predictability of jellyfish blooms. *Frontiers in Marine Science*, 5, 257. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00257>
- Shikina, S., & Chang, C. F. (2018). Cnidaria. *Encyclopedia of Reproduction*, 6, 491–497. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20597-9>
- Stern, D. I., & Kaufmann, R. K. (2014). Anthropogenic and natural causes of climate change. *Climatic Change*, 122(1), 257–269. <https://doi.org/10.1007/s10584-013-1007-x>
- Sumbing, M. V., Al-Azad, S., Estim, A., & Mustafa, S. (2016). Growth performance of spiny lobster *Panulirus ornatus* in land-based Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA) system. *Transactions on Science and Technology*, 3(1-2), 143-149.
- Verity, P. G., Purcell, J. E., & Frischer, M. E. (2011). Seasonal patterns in size and abundance of *Phyllorhiza punctata*: an invasive scyphomedusa in coastal Georgia (USA). *Marine biology*, 158(10), 2219-2226. <https://doi.org/10.1007/s00227-011-1727-2>
- Vince, G. (2012). *Jellyfish blooms creating oceans of slime*. Acesso a 24-11-2021. <https://www.bbc.com/future/article/20120405-blooming-jellyfish-problems>.
- Wagner, Z., Costello, J. H., & Colin, S. P. (2020). Fluid and Predator-Prey Interactions of Scyphomedusae Fed Calanoid Copepods. *Fluids*, 5(2), 60. <https://doi.org/10.3390/fluids5020060>
- Wakabayashi, K., Nagai, S., & Tanaka, Y. (2016). The complete larval development of *Ibacus ciliatus* from hatching to the nisto and juvenile stages using jellyfish as the sole diet. *Aquaculture*, 450, 102-107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.020>
- Wakabayashi, K., Tanaka, Y., & Phillips, B. F. (2019). Culture of slipper lobster larvae

(Decapoda: Achelata: Scyllaridae) fed jellyfish as food. In *Lobsters: biology, fisheries and aquaculture* (pp. 519-540). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9094-5_11

Wallace, R. L. & Taylor, W. K. (2003). *Invertebrate Zoology: A Laboratory Manual*, Cnidaria, 6th Edition. United States of America: Prentice Hall, 47-74.

Widmer, C. (2008). *How To Keep Jellyfish In Aquariums: An Introductory Guide For Maintaining Healthy Jellies*. Wheatmark.

Widmer, C. L. (2006). Life cycle of *Phacellophora camtschatica* (Cnidaria: Scyphozoa). *Invertebrate Biology*, 125(2), 83-90. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2006.00043.x>

Willcox, S. T. (2006). *Ecology of moon jellyfish Aurelia sp. in southern Tasmania in relation to Atlantic Salmon farming*. Doctoral dissertation, University of Tasmania.

WoRMS. (2018). *Cnidaria*. Acesso a 16-10-2021. <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1267>.