Luis Fabiano Baldasso

**“Deslocamento Seletivo Induzido do Zooplâncton Marinho em
Resposta a Percepção Espectral da Luz Visível”**

São Paulo

Novembro de 2015

Luis Fabiano Baldasso

**“Deslocamento Seletivo Induzido do Zooplâncton Marinho em
Resposta a Percepção Espectral da Luz Visível”**

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de Oceanografia, área de Oceanografia Biológica

Universidade de São Paulo — USP

Instituto Oceanográfico

Orientador: Prof. Dr. Rubens Mendes Lopes

São Paulo

Novembro de 2015

Luis Fabiano Baldasso

**“Deslocamento Seletivo Induzido do Zooplâncton Marinho em
Resposta a Percepção Espectral da Luz Visível”**

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de Oceanografia, área de Oceanografia Biológica

Versão Corrigida

Julgada em 18/02/2016 por

Prof. Dr. Rubens M. Lopes

Conceito: Aprovado

Prof(a). Dr(a). Odete Rocha

Conceito: Aprovado

Prof. Dr. Frederico Brandini

Conceito: Aprovado

São Paulo
Novembro de 2015

Este trabalho dedico aos meus pais e a todas as outras pessoas que, como nós, deram o primeiro passo na fé, sem ver a escada inteira, apenas deram o primeiro passo na fé¹. Pois compartilhamos que o verdadeiro princípio pode ser resumido em três palavras: Pensamentos viram coisas ² e por isso mesmo acreditamos que o otimismo seja a verdadeira coragem moral de um homem ³.

¹ "Dê o primeiro passo na fé. Você não precisa ver a escada inteira. Apenas dê o primeiro passo."

Martin Luther King, Jr

² **Mike Dooley**

³ **Sir Ernest Shackleton**

Agradecimentos

Agradeço especialmente ao meu orientador Prof. Dr. Rubens Mendes Lopes pelas oportunidades e contribuições nesta minha caminhada.

Agradeço a Dra. Linda Waters, Prof. Dr. Paulo Yukio, Dr. Arthur Güth e ao Dr. André Rosch pelas contribuições essenciais que conduziram as principais ideias deste trabalho.

Agradeço a Maysa Pompeu, Prof. Dr. Alexandre Turra, Dr. Fernando Gomez, Prof. Dr. Júlio Singer, Dr. Eliardo Costa e Prof. Dr. Daniel Lemos pelas contribuições técnicas e apoio na execução, redação ou solução dos problemas referentes a este estudo.

Agradeço a dedicação dos meus amigos Maía Medeiros, Leandro Tíclia e Catarina Marcolin pela contribuição amiga e essencial nos momentos de maior dificuldade.

Meu agradecimento especial a Jonathan Almeida e Marta Stephan sem os quais a execução das tarefas desta pesquisa seria impossível.

Agradeço ao pessoal de apoio da base de pesquisa Clarimundo de Jesus em Ubatuba e da secretária de Pós Graduação do IOUSP que sempre foram muito cordiais.

Nada disso seria possível se não fosse a presença de Deus na minha vida nos momentos de decisão através de sua sabedoria emanada pelos fatos do acaso.

Agradeço incondicionalmente aos meus pais, Therezinha e José Carlos e a minha irmã Andreia pelo amor, apoio e paciência.

Aos amigos Inês Vianna, Marcelo Telles e Admilson Alves minha eterna gratidão por sustentar meus devaneios e perdoar minhas ausências.

“Siga seu entusiasmo e o Universo abrirá portas onde antes só havia paredes.”

Joseph John Campbell

“Apenas a mente que coloca uma questão fundamental e que é capaz de perseguir essa questão até o fim – apenas uma mente desse tipo é que pode descobrir o que é a verdade.”

Jiddu Krishnamurti, in 'Talks and Dialogues'

Resumo

A distribuição da biomassa do plâncton é a chave para o entendimento de vários processos inclusive a compreensão da migração vertical diurna. Entender a fototaxia positiva, como responsável por esta distribuição, com enfoque na qualidade espectral da luz é um campo vasto a ser explorado. Investigamos a percepção espectral luminosa do mesozooplâncton marinho através da quantificação de capturas em uma nova arte de coleta com armadilha de luz. Estas armadilhas foram testadas com tratamentos luminosos na cor vermelha, verde, azul e branco. Elas foram fundeadas na enseada do Flamengo e de Ubatuba (Ubatuba-SP) no fim do verão e outono de 2015 durante a lua cheia e lua nova em três noites consecutivas. Foram avaliadas as associações de exposição (fase lunar, local de coleta e esquema de randomização dos tratamentos) baseada nos dados de captura através de gráficos NMDS, teste PERMANOVA e tabelas de contingência de Chi-quadrado. Os táxons mais abundantes nas capturas foram dois gêneros de copépodes Calanoida (*Acartia* sp e *Temora* sp) seguidos pela família Podonidae e Brachyura. Demonstramos que os organismos capturados do zooplâncton marinho expressaram seleção espectral induzidos pela fototaxia positiva. O tratamento luminoso verde exerceu maior atração nos organismos em detrimento ao tratamento luminoso vermelho. A influência das fases lunares ou dos esquemas de randomização dos tratamentos luminosos dependem da sensibilidade espectral de cada táxon. Porém local não implicou em diferenças entre as coletas. Estas particularidades da fototaxia positiva seletiva podem explicar a variação vertical da biomassa do zooplâncton marinho na coluna d'água inclusive no entendimento da MVD.

Palavras-chave: Fototaxia positiva seletiva. qualidade espectral da luz. migração vertical diurna. armadilha de luz.

Abstract

The distribution of plankton biomass is the key for understanding many processes including diel vertical migration (DVM). Understand the positive phototaxis, as responsible for this distribution, with a focus on spectral quality of light is a vast field to be explored. We investigate the spectral light perception of the marine mesozooplankton through quantification of catches in a new art with light trap. These traps were tested with light treatments in red, green, blue and white. They were anchored in the Flamengo and Ubatuba bay (Ubatuba-SP) in late summer and autumn of 2015 during the full moon and new moon on three consecutive nights. Exposure associations were evaluated (lunar phase, site and treatment randomization scheme) based on the data capture through NMDS graphics, PERMANOVA test and Chi-square contingency tables. Most abundant taxa caught were two kinds of copepods Calanoida (*Acartia sp* and *Temora sp*) followed by Podonidae and Brachyura. We have demonstrated that the captured marine zooplankton showed spectral selection induced by positive phototaxis. The green light treatment exerted biggest attraction in organisms over the red light treatment. The influence of lunar phases or randomization schemes of bright treatments depend on the spectral sensitivity of each taxon. But location did not result in differences between collections. These specifics of selective phototaxis may explain the vertical variation of marine zooplankton biomass in water column including the understanding of DVM.

Keywords: Selective positive phototaxis. spectral quality of light. diel vertical migration. light trap.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Comparação da penetração luminosa em oceano aberto e em regiões costeiras	3
Figura 2 – Atenuação das componentes do espectro luminoso	4
Figura 3 – Ilustração da migração vertical	5
Figura 4 – Locais de coleta do experimento com armadilha de luz	11
Figura 5 – Desenho técnico da armadilha de luz espectral	16
Figura 6 – Emissão espectral das microunidades de LED RGB	18
Figura 7 – Transmitância típica dos filtros ópticos de cor	18
Figura 8 – Circuito eletrônico de controle da intensidade luminosa	19
Figura 9 – Esquema de randomização dos tratamentos luminosos	20
Figura 10 – Preparação e escaneamento das amostras no Zooscan	23
Figura 11 – Organismos totais capturados	31
Figura 12 – NMDS por captura de <i>Acartia</i> sp	33
Figura 13 – NMDS por captura de <i>Temora</i> sp	34
Figura 14 – NMDS por captura de Podonidae	36
Figura 15 – NMDS por captura de Monstrilloida	38
Figura 16 – NMDS por captura de <i>Oncaea</i> sp	40
Figura 17 – NMDS por captura de <i>Copilia</i> sp	42
Figura 18 – NMDS por captura de <i>Penilia</i> sp	43
Figura 19 – NMDS por captura de Harpaticoida	45
Figura 20 – NMDS por captura de Chaetognatha	47
Figura 21 – NMDS por captura de Nauplio	49

Figura 22 – NMDS por captura de Brachyura (zoea)	52
Figura 23 – NMDS por captura de Brachyura (megalopa)	53
Figura 24 – NMDS por captura de Caridea	55
Figura 25 – NMDS por captura de Cirripedia	57
Figura 26 – NMDS por captura de Polychaeta	59
Figura 27 – NMDS por captura de <i>Lucifer</i> sp	61
Figura 28 – NMDS dos controles	63
Figura 29 – Evolução dos órgãos fotossensores e a formação da imagem	67
Figura 30 – Evolução dos órgãos fotossensores e a percepção da cor	68
Figura 31 – Estudo teórico da percepção visual dos organismos	70

Lista de tabelas

Tabela 1 – Informações astronômicas e cronológicas das coletas	14
Tabela 2 – Iluminância comparativa entre várias situações naturais e artificiais . .	15
Tabela 3 – Resumo do esforço amostral das coletas	29
Tabela 4 – Síntese taxonômica dos organismos capturados	30
Tabela 5 – Dados ambientais da Enseada do Flamengo e da Enseada de Ubatuba .	32
Tabela 6 – PERMANOVA para capturas de <i>Acartia</i> sp	32
Tabela 7 – χ^2 para capturas de <i>Acartia</i> sp	33
Tabela 8 – PERMANOVA para capturas de <i>Temora</i> sp	35
Tabela 9 – χ^2 para capturas de <i>Temora</i> sp	35
Tabela 10 – PERMANOVA para capturas de Podonidae	37
Tabela 11 – χ^2 para capturas de Podonidae	37
Tabela 12 – PERMANOVA para capturas de Monstrilloida	39
Tabela 13 – χ^2 para capturas de Monstrilloida	39
Tabela 14 – PERMANOVA para capturas de <i>Oncaea</i> sp	41
Tabela 15 – χ^2 para capturas de <i>Oncaea</i> sp	41
Tabela 16 – PERMANOVA para capturas de <i>Copilia</i> sp	42
Tabela 17 – χ^2 para capturas de <i>Copilia</i> sp	43
Tabela 18 – PERMANOVA para capturas de <i>Penilia</i> sp	44
Tabela 19 – χ^2 para capturas de <i>Penilia</i> sp	44
Tabela 20 – PERMANOVA para capturas de Harpaticoida	46
Tabela 21 – χ^2 para capturas de Harpaticoida	46
Tabela 22 – PERMANOVA para capturas de Chaetognatha	47

Tabela 23 – χ^2 para capturas de Chaetognatha	48
Tabela 24 – PERMANOVA para capturas de Nauplio	48
Tabela 25 – χ^2 para capturas de Nauplio	49
Tabela 26 – PERMANOVA para capturas de Brachyura (zoea)	51
Tabela 27 – χ^2 para capturas de Brachyura (zoea)	51
Tabela 28 – PERMANOVA para capturas de Brachyura (megalopa)	54
Tabela 29 – χ^2 para capturas de Brachyura (megalopa)	54
Tabela 30 – PERMANOVA para capturas de Caridea	56
Tabela 31 – χ^2 para capturas de Caridea	56
Tabela 32 – PERMANOVA para capturas de Cirripedia	58
Tabela 33 – χ^2 para capturas de Cirripedia	58
Tabela 34 – PERMANOVA para capturas de Polychaeta	60
Tabela 35 – χ^2 para capturas de Polychaeta	60
Tabela 36 – PERMANOVA para capturas de <i>Lucifer</i> sp	61
Tabela 37 – χ^2 para capturas de <i>Lucifer</i>	62
Tabela 38 – PERMANOVA para capturas do controle	62
Tabela 39 – Capturas dos Controles por táxon	63
Tabela 40 – Dados geográficos das Coletas	91

Lista de abreviaturas e siglas

MVD	Migração vertical diurna
LED	Diodo emissor de luz do inglês <i>Light-emitting diode</i>
LED RGB	Diodo emissor de luz com microunidades que emitem luz no espectro do vermelho (R), verde (G) e azul(B). Com estas combinações de luz é possível reproduzir qualquer outra luz colorida
R	Radiação eletromagnética na faixa da luz visível predominantemente na cor vermelha entre $620 < \lambda < 645 \text{ nm}$ do inglês <i>RED</i>
G	Radiação eletromagnética na faixa da luz visível predominantemente na cor verde entre $520 < \lambda < 550 \text{ nm}$ do inglês <i>GREEN</i>
B	Radiação eletromagnética na faixa da luz visível predominantemente na cor azul entre $460 < \lambda < 490 \text{ nm}$ do inglês <i>BLUE</i>
W	Radiação eletromagnética na faixa da luz visível predominantemente na cor branca de amplo espectro do inglês <i>WHITE</i>
GPS	Sistema global de posicionamento do inglês <i>Global Position System</i>
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa do inglês <i>Photossintetic Active Radiation</i> principalmente relacionado ao espectro de absorção da clorofila <i>a</i> com dois picos predominantes em 400 e 700 <i>nm</i>
PVC	Cloreto de polivinil

ntu	Unidades Nefelométricas de Turbidez medidas a 90° padronizados com solução de formazina
ups	Unidade Prática de Salinidade adotada e recomendada pela UNESCO/ ICES/ SCOR/ IAPSO desde 1980 (PSS-78)
ppb	Partes por Bilhão (10^{-9})
SMD	Dispositivos de montagem eletrônica em superfícies do inglês <i>Surface Mount Devices</i>
NMDS	Escalonamento Multidimensional Não Métrico, do inglês <i>Nom Metric Multidimensional Scaling</i> , técnica de análise estatística multivariada
MDS	Escala Multidimensional, do inglês <i>Multidimensional Scaling</i>
DF	Em estatística graus de liberdade do inglês <i>Degrees of Freedom</i>
p	ou nível descritivo, é a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema que aquela observada em uma amostra, sob a hipótese nula.
F	Esse valor de F compara a quantidade de variância sistemática nos dados com a quantidade de variância não-sistemática. Em outras palavras, o valor de F é a razão entre o modelo e seu erro.
R^2	ou coeficiente de determinação, é uma medida de ajustamento de um modelo estatístico linear generalizado em relação aos valores observados
PERMANOVA	Análise multivariada de variâncias não paramétrica por permutações de Monte Carlo

Lista de símbolos

λ	Comprimento de onda do espectro eletromagnético
μ	Estatisticamente é o valor da média populacional ou média amostral ($\bar{X}$) quando o número de eventos medidos é muito grande, de acordo com a teoria estatística dos grandes números. μ e $\bar{X}$ podem se diferenciar muito se o número amostral for limitado e a variável medida não for homogênea
w	Unidade de medida de potência, neste caso, potência elétrica que pode ser calculada pela multiplicação direta da corrente pela tensão em circuitos de corrente contínua. Utilizaremos preferencialmente os dados no sistema métrico internacional (SI) para este estudo
lx	Unidade de medida de luminância ou emitância luminosa, o lux, é a medida do fluxo luminoso por unidade de área. Esta medida também faz parte do SI. É a mesma coisa que lumens por metro quadrado e amplamente usada em fotometria para percepção da luz pelo olho humano
Vcc	é a abreviação para tensão em corrente contínua, eletricamente, o oposto da corrente alternada (Vca). A fonte de corrente contínua mais comum são as baterias eletroquímicas enquanto que na corrente alternadas são os geradores indutivos
$\sum(x_i - \bar{x})^2$	Em estatística representa a Soma dos quadrados

$\sum (x_i - \bar{x})^2 / N$ Em estatística representa a média da Soma dos quadrados

χ^2 Análise estatística de Chi-Quadrado

Sumário

1	Introdução	2
2	Objetivos	8
2.1	Objetivo Geral	8
2.2	Objetivos específicos	8
3	Área de Estudo	9
4	Materiais & Métodos	12
4.1	Delineamento Experimental	12
4.1.1	Descrição da armadilha de luz espectral	13
4.1.2	Cuidados Experimentais Adicionais	20
4.2	Preservação e processamento das amostras	21
4.3	Tratamento estatístico e procedimento analítico	24
4.3.1	Percentual de captura - %C	24
4.3.2	NMDS	25
4.3.3	PERMANOVA	26
4.3.4	χ^2	27
5	Resultados	29
5.1	Aspectos Gerais	29
5.1.1	Variáveis ambientais	30
5.2	Holoplâncton marinho	31
5.3	Meroplâncton marinho	50
5.4	Comparação dos controles	60
6	Discussão	64

6.1	A evolução dos órgãos fotossensores e a percepção visual	65
6.2	Abordagem determinística do estudo	71
6.3	A seleção espectral observada	74
6.3.1	Os dados ambientais observados	79
6.4	Inferência com a Migração Vertical Diurna	79
7	Conclusão	83
	Referências	85
	 Anexos	 90
	ANEXO A Coordenadas Geográficas das Coletas	91

1 Introdução

A biomassa do plâncton marinho é a chave, em termos de magnitude, para o entendimento de vários processos ecológicos e oceanográficos pois dela podemos estabelecer características particulares das comunidades como por exemplo: as taxas de mortalidade, as taxas fisiológicas de respiração e exsudados bioquímicos, fluxo de carbono, fluxo de matéria orgânica e fluxo de energia ao longo da cadeia trófica (BELGRANO et al., 2005; CARLOTTI et al., 2008; MINUTOLI et al., 2014).

Os resultados de biomassa dependem da abundância dos organismos, da distribuição de tamanho deles e da estrutura da comunidade amostrada, consequentemente estas variáveis podem oscilar de uma a três ordens de grandeza entre as amostragens e os estudos apresentarem grandes incertezas com relação às suas conclusões (GLIWICZ, 1986; HAREN, 2007; HUNTLEY; LOPEZ, 1992). É evidente que estas imprecisões se relacionam com o desenho amostral da pesquisa e com as técnicas de coleta aplicadas. Fatores abióticos muitas vezes negligenciados, como as fases da lua ou a intensidade luminosa incidente na coluna d'água, podem potencializar ainda mais estas incertezas (BERGE et al., 2009; BRAMM et al., 2009; HERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2001; HERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2002).

O cerne da questão que iremos explorar é a luz e seus efeitos no zooplâncton marinho, o qual pode atuar como atrator de grandes agrupamentos de biomassa. Entretanto, devemos entender inicialmente que a atmosfera e a coluna d'água atenuam a intensidade luminosa e atuam como filtro de frequência no espectro da luz, ou seja, dependendo da espessura da atmosfera ou da coluna d'água a cor (espectro luminoso) e a intensidade

podem ser diferentes ao longo do tempo, como indicado nas figuras 1 e 2 (JERLOV, 1976; LI et al., 2014; MCCLATCHEY et al., 1972; SPINRAD et al., 1998). Exemplificando este efeito no ambiente marinho, a radiação ultravioleta ($\lambda < 380 \text{ nm}$) que chega na superfície é atenuada para 0,1% a 25 m de profundidade; a radiação espectral do vermelho e infravermelho ($\lambda > 630 \text{ nm}$) se reduz também a este percentual logo nos primeiros 15 m da coluna d'água; Os espectros da luz azul e luz verde alcançam maiores profundidades porém, dependem de outros fatores que diferenciam águas costeiras de águas de oceano aberto.

Figura 1 – Comparação da penetração luminosa em oceano aberto e em regiões costeiras considerando as várias componentes espectrais da luz solar. Fonte: NOAA Deep light diagram.

A variação luminosa é de extrema importância para o ambiente marinho, acredita-se que ela é uma das explicações mais aceitas para o maior movimento migratório de biomassa conhecido no mundo: a migração vertical diurna (MVD) (COHEN; FORWARD JR., 2009; RINGELBERG, 2010). Este fenômeno natural se repete todos os dias em todos os oceanos e varia com a latitude e longitude. É o maior transporte migratório rítmico e cadenciado de biomassa da terra alterando a sua distribuição vertical na coluna d'água

Figura 2 – Atenuação das componentes do espectro luminoso de acordo com a profundidade em um mesmo instante, observa-se que a temperatura da luz e a intensidade varia consideravelmente. A temperatura da luz em Kelvin é uma maneira de medir a cor da luz baseada na absorção da corpo escuro. Fonte: http://answers.seneye.com/en/Aquarium_help/-What_is_Coral/What_are_zooxanthellae

diurnamente. Basicamente os diminutos organismos do zooplâncton que realizam a MVD podem percorrer centenas de metros diariamente duas ou mais vezes ao dia. (ANGEL; PUGH, 2000; HAYS, 2003).

Este movimento é de grande importância e forte interferência na distribuição e ecologia do zooplâncton. Na migração vertical diurna mais comum os organismos sobem para a superfície no início do anoitecer e descem para profundidades maiores no início do amanhecer conforme apresentado na figura 3 (RINGELBERG, 2010). Porém existem outras MVD menos comuns, esta complexidade de padrões comportamentais dificultam ainda mais a explicação das causas destes movimentos e a predição exata através de modelos matemáticos. A MVD ainda não está bem entendida, porém acredita-se que a luz seja a chave deste processo, mas podem existir outros fatores de menor poder exercendo in-

fluências (COHEN; FORWARD JR., 2009; HAREN; COMPTON, 2013; ROENNEBERG; MERROW, 2005).

Figura 3 – Ilustração da migração vertical e abundância dos organismos durante a noite e o dia através de dados de ecosonda do projeto Venus na baía de Saanich, British Columbia, Canada. Fonte: <http://www.oceannetworks.ca/learning/educators/teaching-resources/diel-vertical-migration-zooplankton>

Além desses aspectos gerais, Frank & Widder (1997) observaram que o início da MVD não ocorre ao mesmo tempo para todos os grupos taxonômicos. Ela acontece em camadas interespecíficas, de acordo com Frank & Widder (2002), o que indica diferenças na indução inicial dos estímulos que provocam o disparo deste processo migratório. Porém, como pode haver este nível de refinamento comportamental se a maioria destes organismos do zooplâncton não possui percepção visual uns dos outros que poderia induzir a organização deste movimento em camadas. Em sua maioria apresentam ocelos que não possibilitam a formação de imagem (ARENDT; WITTBRODT, 2001; BOLTOVSKOY, 1999; GEHRING; IKEO, 1999; MAUCLINE, 1998). A qualidade da luz do espectro luminoso na coluna d'água seria a orquestradora mais provável para o cadenciamento pre-

ciso dos estímulos resumidamente evidenciados nas observações das camadas. A questão da qualidade espectral da luz recebeu pouca atenção e não foi devidamente abordada nos estudos pretéritos.

Paradoxalmente ao fenômeno da MVD, onde os organismos procuram por regiões mais sombreadas, a maioria deles possuem fototaxia positiva bem conhecida (HARRIS et al., 2000; JÉKELY et al., 2008; MARTYNOVA; GORDEEVA, 2010), ou seja são atraídos pela luz. Esta característica é explorada de forma natural através dos predadores que possuem atratores bioluminescentes (HADDOCK et al., 2010). Armadilhas de luz utilizam o mesmo mecanismo da fototaxia positiva para coleta destes indivíduos para fins científicos ou comerciais (HERNANDEZ JR.; SHAW, 2003; HICKFORD; SCHIEL, 1999; KEHAYIAS et al., 2008; PORTER et al., 2008). Porém em estudos pretéritos para a investigação da fototaxia positiva como estratégia de coleta do zooplâncton, a qualidade espectral da luz também foi negligenciada, assumindo a luz branca de amplo espectro e sua atenuação como a variável principal analisada (DOHERTY, 1987; KAWAGUCHI et al., 1986; RINGELBERG, 2010).

Em organismos terrestres vários estudos consideram a qualidade espectral da luz como interferente no comportamento de insetos, anfíbios, aves e aracnídeos o que claramente possibilitou uma maior compreensão destes organismos, de seus comportamentos e dos processos ecológicos nos quais eles estão envolvidos (BARGHINI; SOUZA DE MEDEIROS, 2012; BRUCE-WHITE; SHARDLOW, 2011; LONGCORE; RICH, 2004).

Considerando que existe um campo vasto de exploração das particularidades da fototaxia positiva do zooplâncton marinho com enfoque na qualidade espectral da luz, propomos neste trabalho, elucidar a percepção espectral luminosa destes organismos através de uma nova arte de coleta com armadilha de luz para entendimento de fenômenos

complexos como a MVD refletidos na distribuição vertical da biomassa.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo é avaliar a seletividade espectral luminoso de diferentes grupos taxonômicos do zooplâncton através da fototaxia positiva.

2.2 Objetivos específicos

1. Aceitar ou rejeitar a hipótese nula de que a fototaxia positiva não é seletiva para a variação espectral da luz;
2. Avaliar a interferência de local, fase lunar ou esquema de randomização na eficiência das coletas;
3. Conectar a distribuição vertical do plâncton marinho à fototaxia positiva seletiva;
4. Obter padrões gerais da seletividade espectral com base nos dados dos táxons capturados;
5. Reexaminar a migração vertical diurna diante dos resultados obtidos;

3 Área de Estudo

O estudo foi realizado no litoral norte do Estado de São Paulo, no Sudeste brasileiro, mais especificamente no município de Ubatuba. Esta região é formada por uma série de baías, com a topografia predominantemente suave com isóbatas paralelas à linha de costa e cercada na parte continental pelas escarpas da Serra do Mar em todo o seu contorno. A mata atlântica domina toda a extensão continental em todo o município. As principais atividades econômicas locais são o turismo e a pesca ainda artesanal.

Oceanograficamente esta região é dominada por dois regimes distintos que ocorrem nos meses de verão e inverno. Nos meses de verão, onde predominam os ventos de norte e nordeste, são características comuns uma coluna d'água estratificada na plataforma continental interna com uma pronunciada termoclina, a Água Costeira domina as características da camada mais superior com temperaturas mais elevadas, em torno de 23°C e salinidade mais baixa em torno de 32 a 35, enquanto que a água central do atlântico sul (ACAS) domina as camadas mais profundas com salinidade mais elevadas em torno de 36 e temperaturas menores em torno de 16°C (CASTRO FILHO et al., 1987; MATELATTO; FRANSOZO, 1999). Já nos meses de inverno, em função do aumento das frequências de incidência dos sistemas climáticos frontais vindos de sul, a coluna d'água é mais homogênea, desaparecem as termoclinas, e a ACAS não consegue penetrar na plataforma continental interna como no verão sendo desta forma dominada exclusivamente pela Água Costeira.

Estes sistemas frontais de sul, confere ao município de Ubatuba um clima tropical úmido com as maiores precipitações nos meses de verão ($> 250\text{ mm}$) e invernos mais

secos, com índice de precipitação menor porém constantes e nunca inferior a 80 mm de chuva (CEPAGRI, 2015).

Segundo os estudos de Saldanha-Corrêa & Giancesella (2004) a concentração de clorofila *a* nos meses de verão e inverno não variam muito, nas camadas superiores apresentam em média 0,29 e 0,25 $mg.m^{-3}$ respectivamente, valores típicos de ambientes tropicais oligotróficos. Com relação à estrutura da comunidade zooplanctônica, em um estudo realizado por Marcolin et al. (2015) ao largo de Ubatuba, existe a dominância dos táxons Calanoida, Corycaeidae, Oncaeidae, *Oithona* sp e *Penilia avirostris*, seguido pela fauna gelatinosa composta por Appendicularia, Thaliacea e Chaetognatha, com flutuações de biomassa durante as coletas.

Existem poucos estudos que relacionam os padrões de migração vertical dos organismos do zooplâncton nos locais de coleta, principalmente em lâminas d'água rasas. Milstein (1979) verificou em seus estudos, na enseada do Flamengo, que não havia migração vertical diurna bem marcada para os organismos da espécie *Paracalanus crassirostris*. Entretanto, nesta mesma região geográfica, Pinese (1982) encontrou um padrão clássico de migração vertical diurna para os organismos adultos da espécie *Acartia lilljeborgi*, ou seja, os organismos adultos desta espécie ficam próximo ao fundo durante o dia e sobem para a superfície durante o crepúsculo do entardecer e durante a noite.

Foram selecionados dois locais onde a interferência da iluminação pública fosse atenuada e que houvesse infraestrutura para fundear as armadilhas. Os locais selecionados foram, a enseada do Flamengo na base de Pesquisa Clarimundo de Jesus do Instituto Oceanográfico da USP (local A), onde foram realizadas duas campanhas, uma campanha na lua cheia e outra na lua nova, e a enseada de Ubatuba no pier do Instituto de Pesca (local B), onde foi realizada uma campanha na lua nova (Figura 4).

Figura 4 – Locais de realização da campanha de coleta das amostras do experimento com armadilha de luz. Base de Pesquisa Clarimundo de Jesus do Instituto Oceanográfico da USP, na enseada do Flamengo (local A) e Pier do Instituto de Pesca, na enseada de Ubatuba (local B), ambos no município de Ubatuba, litoral norte do Estado de São Paulo.

4 Materiais & Métodos

Os experimentos em ambiente natural foram conduzidos com a finalidade de investigar as particularidades espectrais da fototaxia positiva do mesoplâncton marinho costeiro que realiza migração vertical.

Esta pesquisa manipulativa (HURLBERT, 1984; VOLPATO, 2007) associou a captura do plâncton nas armadilhas luminosas com as diferenças espectrais da luz entre os tratamentos com a finalidade de aceitar ou rejeitar a hipótese nula de que não existem diferenças nas capturas entre os tratamentos luminosos.

4.1 Delineamento Experimental

Todas as exposições foram planejadas para que obtivéssemos amostras independentes no tempo ou no espaço conforme argumenta Cumming et al. (2007) e Vaux (2012). Diferentemente da argumentação de Hurlbert (1984) a respeito de réplicas e pseudorréplicas, esta estratégia de amostragem é mais coerente ao expressar dados mais relevantes considerando as variações naturais de abundância e de comportamento dos organismos do plâncton.

Em cada campanha foram realizadas três experimentos com armadilhas de luz durante três noites consecutivas. Na Enseada do Flamengo foram realizadas duas campanhas: durante a lua cheia e na lua nova. Na Enseada de Ubatuba foi realizada uma campanha durante a lua nova, conforme podemos examinar na tabela 1. Ao total foram realizadas 27 amostragens. As armadilhas de cada noite estavam distantes aproximadamente 50 *m* umas das outras, o que garante a independência espacial de cada experimento. As condi-

ções de exposição dos tratamentos luminosos foram exatamente as mesmas considerando cada unidade amostral.

As coletas durante o ápice da lua cheia e o ápice da lua nova foram realizadas com o intuito de confirmar a influência da luz do luar nas capturas das armadilhas luminosas e seus efeitos, considerando os estudos de Gliwicz (1986), Hernández-León et al. (2001), Hernández-León et al. (2002) que detectaram a diminuição da abundância do plâncton marinho superficial durante a lua cheia.

As armadilhas luminosas foram ancoradas através de cabos fixados em estruturas flutuantes ou atracadouros. O momento da ancoragem foi determinado pela luminosidade crepuscular atmosférica do pôr do sol em torno de 100 *lx* e permaneceram expostas durante 4 horas consecutivas. O horário das previsões astronômicas para o pôr do sol da tabela 1 coincidiram com as condições luminosas iniciais propostas. Este nível de luminância está de acordo com o ocaso do entardecer (tabela de referência 2), quando ocorre predominantemente o maior volume da migração vertical (RINGELBERG, 2010), tornando possível o funcionamento da armadilha luminosa e o aumento da eficiência de captura, pois une a atração luminosa das lanternas ao movimento natural da MVD.

Outro cuidado durante as noites de coleta foi o de alternar as posições geográficas das armadilhas conforme os esquemas de randomização de posição dos tratamentos luminosos nas unidades experimentais conforme apresentado na tabela 1.

4.1.1 Descrição da armadilha de luz espectral

A unidade amostral é composta por uma armadilha de luz espectral com dois controles de efeito (um positivo e um de efeito nulo) e três tratamentos luminosos a serem testados.

Tabela 1 – Informações astronômicas e cronológicas das coletas durante os experimentos na Enseada do Flamengo e de Ubatuba. Os horários das previsões do pôr do Sol são locais e consideram a vigência do período de horário de verão brasileiro que se encerrou em 22 de fevereiro de 2015. Randomização: esquema de posição dos tratamentos luminosos (T) x posição geográfica das armadilhas (P). Exemplo: Esquema de randomização 2A, esquema 2 de randomização de posição dos tratamentos e posição geográfica da armadilha A.

	Data	Fase Lunar	Lua Visível	Previsão Pôr do Sol	Randomização T x P
Enseada do Flamengo	18/jan/2015	nova	9%	19h52min	1A
					2B
					3C
	19/jan/2015	nova	3%	19h52min	1C
					2A
					3B
	20/jan/2015	nova	0%	19h51min	1B
					2C
					3A
	03/fev/2015	cheia	100%	19h47min	1A
					2B
					3C
04/fev/2015	cheia	99%	19h46min	1C	
				2A	
				3B	
05/fev/2015	cheia	98%	19h46min	1B	
				2C	
				3A	
Enseada de Ubatuba	16/mai/2015	nova	6%	17h25min	1D
					2E
					3F
	17/mai/2015	nova	2%	17h25min	1F
					2D
					3E
	18/mai/2015	nova	0%	17h25min	1E
					2D
					3F
Total					27

Os controles de efeito são necessários para eliminar as fontes de erro devido a variações temporais naturais das comunidades biológicas e aos efeitos de procedimento (HURLBERT, 1984). Como controle de efeito nulo foi utilizado um frasco sem lanterna

Tabela 2 – Iluminância comparativa entre várias situações naturais e artificiais que influenciam o comportamento animal e vegetal. ^[1] Schlyter, Paul (1997–2009). "Radiometry and photometry in astronomy". <http://stjarnhimlen.se/comp/radfaq.html#10> Acessado em 4/Jun/2015. ^[2] Bunning & Ilse (1969). "Interference of moonlight with the photoperiodic measurement of time by plants, and their adaptive reaction". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 62 (4): 1018–1022.

0.0001 lx	Luz das estrelas em noite de lua nova ^[1]
0.27–1.0 lx	Lua cheia com céu claro ^{[1][2]}
3.4 lx	Limite de escuro por iluminação pública em noite clara
100 lx	Dia nublado muito escuro ^[1]
400 lx	Início do Pôr do sol em dia claro ^[1]
1000 lx	Dia nublado ^[1]
10000–25000 lx	Luz do dia completamente iluminado ^[1]
32000–100000 lx	Luz solar direta ^[1]

de iluminação e com a parte traseira exposta a luz ambiente. Para o controle de efeito positivo da fototaxia foi utilizado um LED branco na mesma potência luminosa que os tratamentos a serem testados.

As armadilhas luminosas para captura do plâncton marinho foram especialmente projetadas e desenvolvidas para atender as necessidades do objetivo principal deste experimento, que deve induzir o deslocamento do zooplâncton marinho na direção dos tratamentos luminosos. Esta nova arte de coleta foi inspirada em várias armadilhas de luz relatadas na literatura (DOHERTY, 1987; HERNANDEZ JR.; SHAW, 2003; HICKFORD; SCHIEL, 1999; KAWAGUCHI et al., 1986; PORTER et al., 2008).

Com objetivo de abranger todo o espectro eletromagnético da luz visível, considerando as limitações de construção da armadilha, foram selecionadas três fontes luminosas monocromáticas para os tratamentos: vermelho (R) com $\lambda = 632 \pm 10 \text{ nm}$, verde (G) com $\lambda = 520 \pm 10 \text{ nm}$ e azul (B) com $\lambda = 466 \pm 10 \text{ nm}$ com distribuição espectral conforme figura 6.

Basicamente a armadilha de luz é formada por uma campânula central preta de polipropileno de alta densidade, no formato de cone truncado com 260 *mm* de altura, 310 *mm* de diâmetro de base e 205 *mm* de diâmetro da parte superior (Figura 5).

Figura 5 – Desenho técnico da armadilha de luz espectral. Observamos os constituintes principais: caixa elétrica e flutuador, frascos, atratores luminosos com os tratamentos vermelho (R), verde (G), azul (B) e branco (W), frasco controle (C), a alça que traciona a armadilha através de um cabo de ancoragem. Na lateral superior direita a armadilha está na posição de trabalho e parte inferior a mesma está na posição de resgate das amostras.

Na lateral externa da campânula, aproximadamente 100 *mm* acima da base, foram distribuídos equidistantemente 5 frascos de polycarbonato de boca estreita com capacidade de 500 *ml*. Eles foram fixados em ângulo de 60° em relação ao eixo de rotação do cone através da fixação das tampas. Estas foram perfuradas no centro com orifícios circulares de 25 *mm* de diâmetro para possibilitar a entrada dos organismos. A proposta de fixar os frascos em ângulo foi o de obter a máxima distribuição de feixes luminosos não coincidentes em um círculo, considerando as dimensões máximas dos componentes mecânicos, e evitar a interferência de um tratamento no outro. Além disso, propiciar o encontro dos feixes

luminosos em ângulo diagonal na base maior da campânula com o objetivo de oferecer aos organismos a possibilidade de escolha da fonte luminosa mais intensa segundo sua percepção luminosa.

Este ângulo também possibilitou a diminuição da perda de volume amostral durante o momento de coleta e recuperação da armadilha devido à mudança de orientação dos frascos. No momento de exposição os frascos estão em ângulo descendente, propício à entrada dos organismos. No momento de recuperação da armadilha, após um giro rápido de 180° na campânula, o ângulo dos frascos é ascendente propício ao aprisionamento do volume amostral. Este giro é conseguido pela tração instantânea no cabo de ancoragem conectado à alça.

Na base dos frascos foram acoplados as lanternas de luz confeccionadas com tampão comercial de PVC de 85 *mm* e tiras de LED branco e pancromáticos (LEDs RGB). Estas foram marinizadas com resina de poliéster transparente e incolor. Estes dispositivos foram conectados ao circuito elétrico de controle e acionamento através de uma caixa elétrica também marinizada e fixada na parte superior da campânula. Este dispositivo também serviu de flutuador principal para estabilidade e flotação da armadilha.

Os LEDs pancromáticos fornecem um espectro luminoso monocromático mais estreito e bem definido que os filtros ópticos de cor de baixo custo (Figuras 6 e 7). A vantagem óptica está no fato de que os incrementos do comprimento de onda pela potência luminosa descrevem uma distribuição gaussiana estreita evitando a ocorrência de regiões de sobreposição espectral com custo muito baixo.

Cada elemento LED, em tecnologia de montagem em superfície (SMD), forneceu uma potência elétrica de 0,24 *w* em 12 *Vcc*, porém com intensidade luminosa variada entre eles. Por este motivo foi necessária a aferição da luminosidade de cada lanterna

Figura 6 – Emissão espectral das microunidades vermelho (R), verde (G) e (B) azul dos diodos emissores de luz pancromáticos (LED RGB) dos atratores luminosos ou lanternas.

Figura 7 – Transmitância típica dos filtros ópticos de cor. Filtro óptico vermelho (linha vermelha), filtro óptico verde (linha verde) e filtro óptico azul (linha azul). Fonte: Edmund Optics®.

através do ajuste eletrônico (figura 8) da potência elétrica. Desta forma, foi garantido que todos os tratamentos possuíssem a mesma intensidade luminosa por unidade de área, precisamente 100 *lx* cada tratamento, conforme recomendam as conclusões de Fermin &

Seronay (1997) .

Figura 8 – Circuito eletrônico de controle da intensidade luminosa. A limitação da potência elétrica foi obtida através de alteração da resistência elétrica do potenciômetro de $5\text{ k}\Omega$ em série no circuito. A corrente máxima permitida nas unidades de led (D_1) é de 80 mA .

A aferição das lanternas foram realizadas antes da coleta. Com as armadilhas montadas e baterias completamente carregadas prontas para serem fundeadas foram obtidos os valores de luminância com um luxímetro digital. O sensor do instrumento foi posicionado na boca de cada frasco e a intensidade luminosa medida foi corrigida pelo fator de correção da curva espectral característica da sensibilidade do instrumento. Na sequência, cálculos foram realizados através de proporção simples para estabelecer o ajuste da potência elétrica. Este procedimento foi repetido até a obtenção exata da luminância padrão de 100 lx , um nível intermediário de luminância (Tabela 2) durante o ocaso.

A fim de evitar vazamentos de luz pelas laterais os frascos receberam uma sequência de acabamentos. Primeiro uma camada de tinta branca para propiciar maior aproveitamento do feixe luminoso através das reflexões nas paredes. Na sequência receberam camadas sucessivas de tinta preta intercalada com a aplicação de fita metalizada até que houvesse estanqueidade luminosa pelas laterais. Um anel de borracha entre o frasco e a lanterna foi necessário para evitar a entrada de água com organismos e o vazamento dos feixes luminosos.

4.1.2 Cuidados Experimentais Adicionais

Os tratamentos nas armadilhas foram distribuídos em combinações randomizadas controladas (Figura 9), para não haver o mesmo padrão de distribuição das lanternas circunvizinhas e com isso evitar respostas comportamentais induzidas por radiações espectrais proximais. Segundo Hurlbert (1984) este efeito também é conhecido como erro experimental ou vício experimental.

Figura 9 – Randomização dos tratamentos luminosos nas armadilhas de luz com a finalidade de evitar resultados viciados da experimentação causados pela interferência dos tratamentos circunvizinhos. Os esquema de randomização codificados em 1, 2 ou 3 para posterior comparação. Controle sem lanterna de iluminação (C), controle positivo com lanterna de luz branca (W), tratamento com luz vermelha (R), tratamento com luz verde (G) e tratamento com luz azul (B).

Além do frasco de controle em cada armadilha, um frasco totalmente transparente foi fundeado com a boca para baixo e o fundo flutuando na interface ar-água, distante das armadilhas, o qual denominamos frasco controle absoluto. O objetivo é compará-lo com o controle local das armadilhas para aferir possíveis interferências da iluminação induzida.

A temperatura, a salinidade, a fluorescência da clorofila *a*, ficoeritrina, matéria orgânica colorida dissolvida (CDOM) e a turbidez foram registradas durante os experimentos com a finalidade de incrementar a discussão em caso de correlação significativa.

A salinidade e a temperatura da água do mar foram obtidas através de um termosalinômetro indutivo submersível aferidos com água do mar padrão IAPSO. A quantificação dos pigmentos fotossintéticos foram obtidas através de sondas optoeletrônicas submersíveis de fluorescência induzida, a fluorescência da clorofila A com excitação em $\lambda = 460 \text{ nm}$ e emissão em $\lambda = 696 \pm 44 \text{ nm}$, a ficoeritrina com excitação em $\lambda = 525 \text{ nm}$ e emissão em $\lambda \geq 590 \text{ nm}$ e CDOM com excitação em $\lambda = 365 \text{ nm}$ e emissão em $\lambda = 470 \pm 60 \text{ nm}$ e aferidos conforme recomendações do fabricante (Turner Designs, 2015). Ambos os instrumentos foram integrados em uma plataforma móvel flutuante e fundeados próximos ao local de coleta das armadilhas.

Uma alíquota de 20 ml , coletada do frasco de controle absoluto, foi utilizada para obtenção da turbidez através de um turbidímetro optoeletrônico de bancada com excitação e retroespalhamento em $\lambda = 890 \text{ nm}$ e aferido com padrão de turbidez de 100 NTU com formazina estabilizada (Vernier Software Technology, 2015).

4.2 Preservação e processamento das amostras

Logo após a recuperação das armadilhas, os frascos de coleta foram removidos e tampados. Eles foram devidamente identificados por código de cores em função do tratamento e do esquema de randomização. Na sequência, em laboratório, as amostras foram filtradas e concentradas em uma rede de plâncton de $250 \mu\text{m}$. O material retido na peneira foi fixado com solução de 4% de formaldeído neutralizado em frascos plásticos de 50 ml etiquetados com as informações de data, local, tratamento e esquema de randomização.

A seleção dos organismos maiores que $250\ \mu\text{m}$ foi necessária devido à limitação de detecção do método automático de processamento das amostras do plâncton utilizado neste estudo, baseado no equipamento Zooscan®. Os procedimentos utilizados para analisar as amostras foram baseados em Gorsky et al. (2010), com as modificações descritas a seguir.

Antes das amostras fixadas serem escaneadas, o formol foi removido e adicionado $25\ \text{ml}$ de solução corante de azul de metileno $0,1\%$. Para total pigmentação dos organismos os frascos foram deixados em repouso por $24\ \text{h}$. Este procedimento teve por objetivo melhorar o contraste das imagens obtidas pelo Zooscan® a fim de facilitar a separação manual dos organismos e a classificação supervisionada das vinhetas das imagens.

Uma alíquota de cada amostra com aproximadamente 300 organismos foi colocada sobre o vidro do escâner e os organismos e demais partículas foram separados meticulosamente utilizando um estilete feito com espinho de cacto (para não riscar o vidro do escâner). Este procedimento foi necessário para evitar a sobreposição de organismos em uma mesma imagem. Cada amostra foi analisada integralmente com isso a quantidade de escaneamento por amostra foi variável.

Seguindo o fluxo analítico, por meio de técnicas de segmentação, a imagem escaneada é decomposta em uma série de imagens menores e fragmentadas. Cada indivíduo capturado corresponde a um destes recortes na imagem original. A este recorte fragmentado acrescido de uma borda e escala nos referimos como vinheta. Por métodos de extração de caracteres, cada vinheta foi descrita através de características morfométricas quantitativas indexadas aos metadados das amostragens.

Em seguida foi criado uma base de treinamento contendo vinhetas com características morfométricas e taxonômicas similares. Através de algoritmos de visão computacional as vinhetas restantes foram classificadas automaticamente considerando padrões da base

Figura 10 – Preparação e escaneamento das amostras no Zooscan® na parte superior. Na parte inferior alguns exemplos de vinhetas extraídas das imagens escaneadas

de treinamento.

Finalmente, foi executada a etapa de reclassificação supervisionada das vinhetas *a posteriori* com o objetivo de corrigir possíveis erros da classificação automática (GORSKY

et al., 2010).

Em última instância, após a validação supervisionada das vinhetas, os dados sintetizados foram utilizados nas análises quantitativas e estatísticas.

4.3 Tratamento estatístico e procedimento analítico

A quantidade de partículas coletadas pelas armadilhas de luz podem apresentar sensível variação entre as amostragens. Como cada amostragem é independente na escala espaço temporal é natural que a disponibilidade de organismos varie de um local para outro e de um dia para outro, conseqüentemente esta variação interfere na quantidade de organismos coletados em cada tratamento.

Em princípio, estas variações naturais afetam os dados de abundância em números absolutos. Vários podem ser os fatores naturais destas variações: a influências de condições astronômicas (fases da lua), a influências das condições climáticas (ventos fortes, chuva, maré, entre outros) e estas variações podem não necessariamente estar relacionadas a efetividade de captura da armadilha. Uma transformação matemática dos dados pode solucionar este problema, adotamos o porcentagem de captura como alternativa para nosso conjunto de dados.

4.3.1 Percentual de captura - %C

Com a finalidade de evitar falsas interpretações dos resultados em função das grandezas do número de partículas estabelecemos o percentual de captura como medida derivada da variável captura, ou seja, podem ocorrer nas análises a subestimação de amostras com poucos organismos e superestimação de amostras com muitos organismos. Porém o percentual de captura (%C), pode ser analisado por vários métodos sem o risco

deste erro. Na realidade é uma transformação percentual da captura de cada tratamento em função da captura total de cada táxon em cada exposição, que pode ser calculado através da seguinte equação:

$$\%C_{t,e,i} = \frac{x_i}{\sum_{i=1}^n x_i} \quad (4.1)$$

onde:

$\%C_{t,e,i}$ ou captura percentual relativa ao táxon (t), na exposição (e) de local, lua e esquema de randomização, no tratamento luminoso (i) em uma determinada unidade amostral, x_i é o número de organismos capturados deste táxon no i ésimo tratamento luminoso e $\sum_{i=1}^n x_i$ é o somatório geral dos organismos capturados deste táxon e na mesma exposição em todos os tratamentos luminosos da unidade amostral.

4.3.2 Escalonamento Multidimensional Não Métrico - NMDS

Este tipo de análise é amplamente utilizada por ecólogos para identificar as respostas dos táxons com relação a perturbações ambientais (GOTELLI; ELLISON, 2011). A resposta desta análise é um gráfico aonde os diferentes objetos são posicionados no espaço de ordenação de acordo com as similaridades. Nesta análise as distâncias de dissimilaridades originais são preservadas através dos centroides das variâncias.

Como resultado estatístico desta ordenação o valor de estresse foi apresentado e representa a correlação entre o valor esperado e o valor observado.

O método Bray-Curtis para cálculo das distâncias foi usado para quantificar a dissimilaridade composicional entre as condições de exposições diferentes. Foram realizadas três análises bidimensionais com os dados de captura percentual dos tratamentos

(R,G,B,W,C) considerando as seguintes condições de exposição:

- Local: Enseada Ubatuba *versus* Enseada Flamengo
- Fase lunar: lua nova *versus* lua cheia
- Esquema de randomização: randomização 1 *versus* randomização 2 *versus* randomização 3

O objetivo é obter e estimar as diferenças dos centroides das variâncias com 95% de confiança dos casos.

4.3.3 Análise multivariada de variâncias não paramétrica por permutações de Monte Carlo - PERMANOVA

A PERMANOVA é uma análise estatística baseada em dados multivariados face a fatores, grupos ou tratamentos diferentes. Enquanto que a ANOVA (Análise de Variância) pressupõe a distribuição normal dos dados e o cálculo da distância euclidiana de dissimilaridade, a PERMANOVA permite a utilização de qualquer medida de distância, a que seja mais apropriada aos dados e utiliza permutações livres de Monte Carlo *a posteriori* para cálculo da distribuição estatística.

O objetivo da utilização desta técnica é a de obter a significância estatística como critério para estimar a diferença entre os diferentes fatores: Lua, Local e Esquema de randomização.

Para esta análise foi utilizado o método Bray-Curtis para cálculo das medidas de distância. O modelo foi estabelecido com 999 permutações livres de Monte Carlo. Foram

realizadas duas análises com os dados de captura percentual dos tratamentos (R,G,B,W,C) considerando as seguintes variantes:

- Local *versus* Fase Lunar
- Esquema de randomização

4.3.4 Teste χ^2

O principal objetivo deste trabalho é responder a uma pergunta bem simples: Existe diferença nas capturas em resposta ao comportamento do mesozooplâncton induzidos pela fototaxia positiva seletiva?

Para isso estabelecemos o hipótese nula de que não há diferença entre as capturas dos diferentes tratamentos luminosos. Em termos estatísticos temos o seguinte enunciado:

$$h_0 : \theta_R = \theta_G = \theta_B = \theta_W \quad (4.2)$$

onde:

h_0 ou Hipótese nula, θ_R probabilidade de captura do tratamento luminoso vermelho (R), θ_G probabilidade de captura do tratamento luminoso verde (G), θ_B probabilidade de captura do tratamento luminoso azul (B), θ_W probabilidade de captura do tratamento luminoso branco (W). Ou seja a probabilidade de qualquer tratamento é de 25%.

Para a rejeição ou aceitação da hipótese nula utilizamos o teste χ^2 expresso através de uma tabela de contingência, onde são expostas as frequências observadas, as frequências esperadas, o valor de χ^2 e a significância baseadas nos graus de liberdade do experimento. As frequências são na realidade o número absoluto de capturas de cada tratamento. O χ^2 foi calculado baseado na seguinte formula:

$$\chi^2 = \sum \frac{(fo - fe)^2}{fe} \quad (4.3)$$

onde:

χ^2 é valor calculado chi-quadrado, frequência observada (fo), frequência esperada (fe), ou seja, 25% do total capturado em cada exposição, segundo a hipótese nula.

O valor do teste é comparado com uma tabela de valores críticos de distribuição de chi-quadrado e a significância estatística correspondente. Para os graus de liberdade (DF) consideramos o seguinte cálculo:

$$DF = (c - 1)(r - 1) \quad (4.4)$$

onde:

DF valor calculado de graus de liberdade, c é o número de colunas e r é o número de linhas da tabela de dados sintetizados.

5 Resultados

5.1 Aspectos Gerais

Em linhas gerais, mais de 52% das partículas capturadas pelas armadilhas de luz maiores que $250\ \mu m$ foram organismos do zooplâncton marinho classificados em 27 táxons diferentes (tabela 3). Porém apenas 15 deles com capturas suficientes para as análises estatísticas deste estudo (tabela 4). O táxon Chaetognatha foi o limite de sucesso nas análises estatísticas com os táxons pouco abundantes. Na média foram necessários dois escaneamentos por amostra fixada para o levantamento dos táxons coletados.

Tabela 3 – Resumo do esforço amostral das coletas com a armadilha de luz durante os experimentos.

¹ referência as amostras dos frascos de controle absoluto.

Unidades Amostrais independentes (N)	27
Tratamentos por unidades amostrais	5
Tratamento controle ¹	9
Total (amostras)	144
Escaneamentos Zooscan ®	313
Organismos $\geq 250\mu m$	126.400
Partículas $\geq 250\mu m$	112.476
Total	238.876

Os táxons mais abundantes em todos os tratamentos luminosos das coletas foram os copépodes da ordem Calanoida ($\sim 86\%$ dos exemplares), divididos em *Acartia* sp e *Temora* sp. Em seguida a família Podonidae e a infra ordem Brachyura conforme apresentado no gráfico 11. O tratamento luminoso verde atraiu ($\sim +25\%$) mais indivíduos

Tabela 4 – Síntese taxonômica dos organismos coletados nas armadilhas de luz durante os experimentos. Os táxons raros foram suprimidos desta tabela.

Táxon	nível taxonômico	Total
Chaetognatha	Filo	43
Polychaeta	Classe	717
Cirripedia (larvae)	Infra Classe	2.988
Podonidae	Família	11.510
<i>Penilia</i> sp	Gênero	401
<i>Lucifer</i> sp	Gênero	57
Caridea	Infra Ordem	2.525
Brachyura (zoea & megalopa)	Infra Ordem	6.420
Monstrilloida	Ordem	876
Harpacticoida	Ordem	311
<i>Acartia</i> sp	Gênero	65.574
<i>Temora</i> sp	Gênero	29.552
<i>Copilia</i> sp	Gênero	510
<i>Oncaea</i> sp	Gênero	691
Nauplio	-	1.830

que o tratamento luminoso azul – o segundo mais abundante. Os organismos coletados pelo tratamento com luz vermelha foi inferior a 10% do tratamento mais abundante, seguido pelo frasco controle.

5.1.1 Variáveis ambientais

As coletas na enseada do Flamengo foram realizadas no fim do verão e as coletas na enseada de Ubatuba foram realizadas no fim do outono, esta diferença no período de coleta conferiu o contraste nas medidas de temperatura e salinidade entre os locais (tabela 5). Em função das diferenças sazonais e do regime histórico de precipitação a enseada de Ubatuba esteve 60% mais turva que a enseada do Flamengo, e também com concentração quatro vezes maior de ficoeritrina (pigmento presente nas cianobactérias). Apesar destas variabilidades os tratamentos luminosos testados em cada unidade amostral sempre estiveram sob mesmas condições amostrais e não apresentaram correlação significativa

Figura 11 – Organismos totais capturados pelos tratamentos luminosos agrupados por táxons dominantes: *Acartia* sp, *Temora* sp, Podonidae e larvas de Brachyura. Os outros 23 táxons estão agrupados e representados no agrupamento Outros. No eixo das abcissas os tratamentos luminosos: vermelho, verde, azul, branco e controle. No eixo das ordenadas o somatório das contagens dos indivíduos capturados.

com as coletas ($p < 0,05$ – PERMANOVA, método Bray-Curtis, 999 permutações livres de Monte Carlo).

5.2 Capturas do holoplâncton marinho

A comunidade do holoplâncton permanece obrigatoriamente na coluna d'água sob influência das correntes durante todos os estágios de vida. Neste grupo estão inclusos o fitoplâncton e o zooplâncton de todas as classes de tamanho. Dentre os organismos da fauna mais representativos do holoplâncton estão a fauna gelatinosa (medusa, thaliacea e ctenoforos), os copépodos, cladóceras, os flagelados entre outros. Obviamente, neste experimento, capturamos vários destes exemplares do mesozooplâncton para a análise da fototaxia seletiva.

Tabela 5 – Dados ambientais coletados na Enseada do Flamengo e na Enseada de Ubatuba durante os experimentos. A média ($\bar{x}$) e o desvio padrão (σ) são baseados no universo amostral (N).

	unidade	$\bar{x}$	σ	N
Enseada do Flamengo				
Temperatura	°C	29,8	1,3	6
Salinidade	ups	34,7	0,4	6
Clorofila A	$\mu g.l^{-1}$	2,53	0,33	6
Ficoeritrina	$celulas.ml^{-1}$	5078	546	6
CDOM	<i>ppb</i>	1,87	0,98	6
Turbidez	<i>ntu</i>	4,5	1,4	6
Enseada de Ubatuba				
Temperatura	°C	23,4	0,3	3
Salinidade	ups	35,3	0,2	3
Clorofila A	$\mu g.l^{-1}$	3,84	1,8	3
Ficoeritrina	$celulas.ml^{-1}$	21178	1675	3
CDOM	<i>ppb</i>	1,31	0,37	3
Turbidez	<i>ntu</i>	7,2	3,8	3

Tabela 6 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de *Acartia* sp nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\Pr(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\Pr(>F)$
Fase Lunar	1	0.69100	0.69100	6.3217	0.25813	0.01 **
Local	1	0.01847	0.01847	0.1690	0.00690	0.87
Erro Residual	18	1.96753	0.10931			0.73497
Total	20	2.67701				1.0000
Esq. Randomização	2	0,07028	0,035138	0,24264	0,02625	0,911
Erro Residual	18	2,60673	0,144818		0,97375	
Total	20	2,67701			1,00000	

Código das significância (p<): *** 0.001 ** 0.01 * 0.05 ' 0.1 ' ' 1

Os organismos do gênero *Acartia* sp, capturados pelas armadilhas de luz, foram mais suscetíveis à influência lunar. Este fato foi demonstrado pelo distanciamento dos centróides das elipses das variâncias através dos gráficos de ordenação multidimensional da figura 12, e em seguida confirmado pelos dados da significância estatística da tabela 6 do

Figura 12 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de *Acartia* sp entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (o) - Enseada do Flamengo e (Δ) - Enseada de Ubatuba. Em B: (o) - Lua Cheia e (Δ) - Lua Nova. Em C: (o) - Randomização modelo 1, (Δ) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,052, B = 0,052, C = 0,45.

Tabela 7 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de *Acartia* sp. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Flamengo	Nova	39	(368)	689	(368)	404	(368)	328	(368)
	Cheia	0	(2)	3	(2)	3	(2)	0	(2)
Ubatuba	Nova	2.117	(16.021)	24.370	(16.021)	22.515	(16.021)	14.991	(16.021)

$\chi^2 = 19.703,2$
DF = 10
p<0,01

Figura 13 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de *Temora* sp entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,076, B = 0,076, C = 0,076.

teste PERMANOVA. A quantidade de organismos atraídos pelas armadilhas luminosas foram muito diferentes entre a lua nova e a lua cheia ($p < 0,01$). Na tabela 7, do teste de χ^2 , além de rejeitar a hipótese nula e aceitar a hipótese alternativa da seletividade espectral ($p < 0,01$), podemos ainda observar a diferença entre a quantidade de exemplares capturados nas diferentes fases lunares. É importante ressaltar que este foi o táxon mais abundante nas amostras dos experimentos totalizando 65.574 indivíduos capturados.

A resposta de deslocamento induzido pela fototaxia positiva dos tratamentos luminosos dos organismos do gênero *Temora* sp em direção às armadilhas de luz não foi

Tabela 8 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de *Temora* sp nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\text{Pr}(>F)$
Fase Lunar	1	0,3753	0,37532	2,0958	0,08883	0,098
Local	1	0,0893	0,08927	0,4985	0,02113	0,689
Erro Residual	21	3,7607	0,17908		0,89004	
Total	23	4,2253			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,4934	0,24671	1,3883	0,11678	0,248
Erro Residual	21	3,7319	0,17771		0,88322	
Total	23	4,2253			1,00000	

Código das significância (p<): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘.’ 1

Tabela 9 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de *Temora* sp. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	460	(6.148)	9.596	(6.148)	6.473	(6.148)	8.016	(6.148)
	Cheia	4	(25)	43	(25)	22	(25)	23	(25)
Ens. Ubatuba	Nova	173	(1.212)	1.615	(1.212)	1.451	(1.212)	1.585	(1.212)

$\chi^2 = 8.998,7$
 DF = 10
 p<0,01

influenciado pela fase lunar (p<0,1) como ocorreu nos organismos do gênero *Acartia* sp. De fato a variabilidade amostral nos diferentes locais e nos esquemas de randomização, observados através dos gráficos de ordenação da figura 13, foram maiores e com isso a análise visual dos distanciamentos dos centróides induziriam a uma falsa interpretação dos resultados. A alteração de local ou randomização dos tratamentos não influenciaram os resultados de forma significativa conforme podemos observar na tabela 8 do teste estatístico PERMANOVA. A real diferença entre as fases lunares ocorreu principalmente na

Figura 14 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas Podonidae entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,080, B = 0,080, C = 0,080.

disponibilidade de organismos na camadas superficiais de água para atuação eficiente das armadilhas de luz, como demonstra a tabela de contingência 9 de χ^2 . Baseado ainda nesta tabela rejeitamos a hipótese nula da fototaxia positiva não seletiva ($p < 0,01$) e assumimos a hipótese alternativa, fototaxia positiva seletiva, como hipótese válida.

Incluso na ordem dos Cladóceras, os indivíduos da família Podonidae apresentaram diferenças na fototaxia positiva entre as capturas realizadas na lua cheia e lua nova, e entre as enseadas de Ubatuba e do Flamengo de acordo com o diagrama de ordenação NMDS da figura 14, no qual há um distanciamento dos centróides das elipses, porém

Tabela 10 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas Podonidae nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\text{Pr}(>F)$
Fase Lunar	1	0,4319	0,43193	2,41020	0,12156	0,072
Local	1	0,0746	0,07464	0,41649	0,02101	0,736
Erro Residual	17	3,0465	0,17921		0,85743	
Total	19	3,5531			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,2209	0,11047	0,56361	0,06218	0,785
Erro Residual	17	3,3322	0,19601		0,93782	
Total	19	3,5531			1,00000	

Código das significância ($p <$): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘.’ 1

Tabela 11 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de Podonidae. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	599	(2711)	4887	(2711)	2859	(2711)	2434	(2711)
	Cheia	3	(10)	20	(10)	11	(10)	3	(10)
Ens. Ubatuba	Nova	1	(147)	170	(147)	95	(147)	322	(147)

$\chi^2 = 3.823,5$
 DF = 10
 p < 0,01

estas diferenças não são significativas de acordo com o teste PERMANOVA reportado na tabela 10. O teste indica uma significância inferior a 10% para as condições das fases lunares (lua nova > lua cheia, $p=0,07$). O esquema de randomização dos tratamentos não influenciaram o comportamento de indução destes indivíduos pela fototaxia positiva. Segundo os resultados da tabela 11 podemos aceitar a hipótese de existência da indução fototóxica positiva seletiva neste grupo taxonômico e rejeitar a hipótese nula da fototaxia não seletiva ($p < 0,01$).

Figura 15 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de Monstrilloidea entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,061, B = 0,061, C = 0,061.

Os 876 exemplares dos organismos da ordem Monstrilloidea capturados nas armadilhas de luz apresentaram distanciamentos entre os centróides das elipses nos três casos analisados, segundo os diagramas de ordenação não métricos (NMDS – figura 15). Porém consideramos que não são significativos estes distanciamentos pois os mesmos dados não expressaram as diferenças comportamentais com relação à fototaxia positiva nas diferentes condições lunares, de localidade ou de randomização dos tratamentos testados pela técnica PERMANOVA e reportados na tabela 12. Mais uma vez, a hipótese de fototaxia positiva não seletiva deve ser descartada ($p < 0,01$) conforme expressa o valor de χ^2 na

Tabela 12 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de Monstrilloida nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\Pr(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\Pr(>F)$
Fase Lunar	1	0,04493	0,044926	0,71288	0,04198	0,552
Local	1	0,07991	0,079906	1,26795	0,07467	0,276
Erro Residual	15	0,94529	0,063020		0,88335	
Total	17	1,07013			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,19604	0,098018	1,6821	0,18319	0,16
Erro Residual	15	0,87409	0,058273		0,81681	
Total	17	1,07013			1,00000	

Código das significância ($p <$): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1

Tabela 13 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de Monstrilloida. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

		Tratamentos Luminosos							
Local (Enseada)	Fase Lunar	Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	1	(27)	43	(27)	35	(27)	28	(27)
	Cheia	0	(2)	4	(2)	4	(2)	2	(2)
Ens. Ubatuba	Nova	4	(190)	329	(190)	305	(190)	117	(190)

$\chi^2 = 424,4$
 DF = 10
 p < 0,01

tabela 13, com isso, a hipótese alternativa pode ser aceita como verdadeira, ou seja, neste grupo taxonômico a fototaxia positiva também é seletiva.

Na ordem Poecilostomatoida, dois gêneros de copépodes capturados pelas armadilhas de luz foram discordantes com relação as respostas face as interferências das fases lunares e aos esquemas de randomização nas coletas. O gênero *Oncaea* sp mostrou-se menos sensível as interferências luminosas externas que o gênero *Copilia* sp.

No gênero *Oncaea* sp, as distâncias dos centróides das elipses dos gráficos da figura

Figura 16 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de *Oncaea* sp entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,042, B = 0,042, C = 0,042.

16 não são significativas, pois nenhuma das variações de exposição (fase lunar, local ou esquema de randomização) influenciaram os resultados conforme indica o teste de PERMANOVA da tabela 14. E da mesma forma que os táxons anteriores a hipótese alternativa da seletividade espectral pode ser aceita ($p < 0,01$) de acordo com os resultados apresentados na tabela 15 em detrimento da aceitação da hipótese nula.

Nas coletas de lua cheia nenhum exemplar de *Copilia* sp foi capturado nas armadilhas de luz conforme podemos observar através da ausência do centroide desta exposição (gráfico de ordenação B da figura 17). Além disso, os esquemas de randomização

Tabela 14 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de *Oncaea* sp nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\Pr(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\Pr(>F)$
Fase Lunar	1	0,2933	0,29331	1,2510	0,09256	0,304
Local	1	0,2966	0,29660	1,2651	0,09360	0,320
Erro Residual	11	2,5789	0,23445		0,81384	
Total	13	3,1688			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,5514	0,27568	1,1585	0,17399	0,35
Erro Residual	11	2,6175	0,23795		0,82601	
Total	13	3,1688			1,00000	

Código das significância ($p <$): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1

Tabela 15 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de *Oncaea* sp. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	6	(144)	312	(144)	101	(144)	153	(144)
	Cheia	0	(10)	7	(10)	5	(10)	8	(10)
Ens. Ubatuba	Nova	0	(16)	7	(16)	30	(16)	26	(16)

$\chi^2 = 395$
 DF = 10
 p < 0,01

apontaram diferenças nas distâncias dos centróides das elipses indicando influência destas exposições nos resultados. No teste de PERMANOVA da tabela 16 confirmou-se através do valor de significância estatística ($p < 0,05$) que a randomização 1 diferiu da randomização 2 e da randomização 3. A sensibilidade fótica deste gênero, que percebeu a diferença dos tratamentos proximais e a luz do luar, foi comprovada pela aceitação da hipótese alternativa da seletividade espectral como verdadeira ($p < 0,01$ – tabela 17 do teste χ^2) e rejeição da hipótese nula da fototaxia não seletiva.

Figura 17 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de *Copilia* sp entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (o) - Enseada do Flamengo e (Δ) - Enseada de Ubatuba. Em B: (o) - Lua Cheia e (Δ) - Lua Nova. Em C: (o) - Randomização modelo 1, (Δ) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,052, B = 0,052, C = 0,052.

Tabela 16 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de *Copilia* sp nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(> F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum (x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2 / N$	F	R^2	$\text{Pr}(> F)$
Local	1	0,10417	0,10417	0,50176	0,0346	0,761
Erro Residual	14	2,90655	0,20761		0,9654	
Total	15	3,01072			1,0000	
Esq. Randomização	2	0,84455	0,42228	2,5343	0,28052	0,017 *
Erro Residual	13	2,16616	0,16663		0,71948	
Total	15	3,01072			1,00000	

Código das significância ($p <$): “***” 0,001 “**” 0,01 “*” 0,05 “.” 0,1 “ ” 1

Tabela 17 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de *Copilia* sp. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	0	(24)	38	(24)	25	(24)	30	(24)
Ens. Ubatuba	Nova	15	(103)	104	(103)	167	(103)	112	(103)

$\chi^2 = 149,5$
DF = 5
p<0,01

Figura 18 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas *Penilia* sp entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (o) - Enseada do Flamengo e (Δ) - Enseada de Ubatuba. Em B: (o) - Lua Cheia e (Δ) - Lua Nova. Em C: (o) - Randomização modelo 1, (Δ) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,045, B = 0,045, C = 0,045.

Tabela 18 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de *Penilia* sp nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\text{Pr}(>F)$
Fase Lunar	1	0,1019	0,10191	0,39916	0,02259	0,756
Local	1	0,3240	0,32396	1,26891	0,07182	0,299
Erro Residual	16	4,0848	0,25530		0,90559	
Total	18	4,5107			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,8895	0,44476	1,9652	0,1972	0,077 .
Erro Residual	16	3,6212	0,22632		0,8028	

Código das significância (p<): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘.’ 1

Tabela 19 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de *Penilia* sp. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	44	(92)	105	(92)	103	(92)	113	(92)
	Cheia	0	(6)	15	(6)	5	(6)	2	(6)
Ens. Ubatuba	Nova	0	(2)	3	(2)	3	(2)	4	(2)

$\chi^2 = 60,3$
DF = 10
p<0,01

Exemplares do gênero *Penilia* sp, da ordem dos cladóceras, capturados pelas armadilhas de luz demonstraram através do gráfico de ordenação multidimensional da figura 18 que as exposições com diferentes esquemas de randomização se distanciaram em relação aos centróides das elipses de variância, porém, não houve diferenças entre as coletas de lua nova e lua cheia, nem entre as enseadas de Ubatuba e do Flamengo ou entre os tratamentos randomizados das armadilhas. Esta constatação foi evidenciada principalmente pelo teste estatístico PERMANOVA da tabela 18. É claro que existe a seletividade es-

Figura 19 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de Harpacticoida entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,017, B = 0,017, C = 0,017.

pectral da fototaxia positiva (tabela 19, $p < 0,01$) principalmente em função da influência antagonica da luz vermelha que provavelmente induziu as respostas heterogêneas destes organismos nos esquemas de randomização.

Na ordem Harpacticoida, o gráfico de ordenação apresentou distanciamentos entre os centróides das elipses para as variações de local, fase lunar e esquema de randomização (figura 19). Porém estes distanciamentos não são significativas diante das variações naturais. Este fato foi evidenciado pela tabela 20 do teste PERMANOVA, o qual não evidenciou a diferença entre as exposições. A fototaxia positiva não seletiva pode ser

Tabela 20 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de Harpaticoida nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\Pr(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\Pr(>F)$
Fase Lunar	1	0,13262	0,13262	0,79829	0,04286	0,480
Local	1	0,30384	0,30384	1,82898	0,09819	0,147
Erro Residual	16	2,65801	0,16613		0,85896	
Total	18	3,09447			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,2097	0,10485	0,58155	0,06777	0,738
Erro Residual	16	2,8848	0,18030		0,93223	
Total	18	3,0945			1,00000	

Código das significância (p<): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1

Tabela 21 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de Harpaticoida. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	0	(63)	164	(63)	37	(63)	47	(63)
	Cheia	0	(6)	10	(6)	7	(6)	7	(6)
Ens. Ubatuba	Nova	0	(8)	10	(8)	13	(8)	8	(8)

$\chi^2 = 260,3$
 DF = 10
 p<0,01

rejeitada conforme sugere o teste χ^2 da tabela 21 com significância estatística inferior a 1% (p<0,01), logo devemos aceitar a hipótese alternativa como sendo a verdadeira.

As capturas de organismos do filo Chaetognatha foi uma das menores entre os táxons classificados. Este táxon esteve no limiar de sucesso das análises estatísticas com 43 exemplares. Nenhum exemplar foi capturado pelas armadilhas de luz na presença da lua cheia e nos gráficos de ordenação (figura 20), as exposições entre locais e esquema de randomização foram similares. Na tabela 22 observamos, através de teste de PERMANOVA,

Figura 20 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas Chaetognatha entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (o) - Enseada do Flamengo e (Δ) - Enseada de Ubatuba. Em B: (o) - Lua Cheia e (Δ) - Lua Nova. Em C: (o) - Randomização modelo 1, (Δ) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,006, B = 0,006, C = 0,006.

Tabela 22 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas Chaetognatha nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(> F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum (x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2 / N$	F	R^2	$\text{Pr}(> F)$
Local	1	0,1300	0,12999	1,0809	0,04023	0,335
Erro Residual	17	2,0445	0,12026		0,63279	
Total	19	3,2309			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,5395	0,26973	0,80745	0,11861	0,588
Erro Residual	12	4,0086	0,33405		0,88139	
Total	14	4,5481			1,00000	

Código das significância ($p <$): “***” 0,001 “**” 0,01 “*” 0,05 “.” 0,1 “ ” 1

Tabela 23 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de Chaetognatha. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	5	(31)	57	(31)	43	(31)	18	(31)
Ens. Ubatuba	Nova	3	(8)	6	(8)	15	(8)	7	(8)
$\chi^2 = 63,6$									
DF = 5									
p<0,01									

que as variação das médias entres os locais de coleta e os esquemas de randomização não foram diferentes. O teste χ^2 da tabela 23 nos permite rejeitar a hipótese de que a atração luminosa seria igual para os diferentes comprimentos de onda (vermelho, verde, azul e branco) e podemos aceitar a hipótese alternativa de que a fototaxia positiva é espectralmente seletiva para este táxon.

Tabela 24 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de Nauplio nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. Pr(>F): significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	Pr(>F)
Fase Lunar	1	0,0881	0,088065	0,45079	0,02413	0,692
Local	1	0,2406	0,240618	1,23170	0,06593	0,287
Erro Residual	17	3,3210	0,195355		0,90994	
Total	19	3,6497			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,9583	0,47913	3,0263	0,26256	0,02 *
Erro Residual	17	2,6915	0,15832		0,73744	
Total	19	3,6497			1,00000	

Código das significância (p<): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1

Os náuplios, abundantes nas amostras com 1.830 exemplares, foram influenciados pelo esquema de randomização (esquema de randomização 2 diferente dos esquemas

Figura 21 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de Nauplio entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (o) - Enseada do Flamengo e (Δ) - Enseada de Ubatuba. Em B: (o) - Lua Cheia e (Δ) - Lua Nova. Em C: (o) - Randomização modelo 1, (Δ) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,046, B = 0,046, C = 0,046.

Tabela 25 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de Nauplio. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho	Verde	Azul	Branco				
Ens. Flamengo	Nova	33 (424)	857 (424)	361 (424)	435 (424)				
	Cheia	0 (3)	7 (3)	4 (3)	2 (3)				
Ens. Ubatuba	Nova	2 (30)	31 (30)	83 (30)	2 (30)				

$\chi^2 = 967,3$
DF = 10
p<0,01

de randomização 1 e 3) conforme podemos analisar nos gráficos de ordenação da figura 21. Eles não foram influenciados por local ou fase lunar, conforme observamos no teste PERMANOVA (tabela 24) mas apenas pelo esquema de randomização com significância estatística inferior a 5% ($p < 0,05$). Estes organismos são elementos chave na cadeia trófica, com importante função ecológica, porém são de difícil identificação taxonômica, assumimos que são náuplios de copépode, pois devem refletir a composição percentual dos organismos capturados. Assim como os demais táxons do holoplâncton, apresentaram fototaxia espectral seletiva (rejeição da hipótese nula, $p < 0,01$) de acordo com os resultados da tabela 25.

5.3 Capturas do Meroplâncton marinho

Vários organismos marinhos apresentam comportamento planctônico durante apenas alguma fase de seu desenvolvimento. Nesta fase sua capacidade natatória é limitada. Após este período de importante interação ecológica com a comunidade planctônica, sua forma de vida sofre alterações e conseqüentemente passam a ocupar outros compartimentos do habitat marinho. Esta transformação lhes confere novas classificações e a partir destes eventos compõem as partições bentônicas ou nectônicas. Esta é a principal característica dos organismos do meroplâncton. Ela não ocorre apenas durante o desenvolvimento larval de algumas espécies, também acontecem na fase adulta como estratégia alimentar ou reprodutiva.

Neste estudo vários exemplares do meroplâncton, tanto em desenvolvimento larval quanto nas fases adultas, foram capturados pela armadilha de luz, induzidos pelos tratamentos luminosos.

Durante a classificação taxonômica foi possível diferenciar os exemplares de Bra-

Tabela 26 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de larvas de Brachyura nos estágios de desenvolvimento de zoea nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. Pr(>F): significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	Pr(>F)
Fase Lunar	1	0,06542	0,065418	0,49334	0,02101	0,638
Local	1	0,13133	0,131326	0,99037	0,04217	0,405
Erro Residual	22	2,91727	0,132603		0,93682	
Total	24	3,11402			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,11361	0,056803	0,20833	0,0365	0,98
Erro Residual	11	2,99928	0,272662		0,9635	
Total	13	3,11288			1,0000	

Código das significância (p<): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘.’ 1

Tabela 27 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de larvas de Brachyura nos estágios de desenvolvimento de zoea. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	24	(1441)	2357	(1441)	2333	(1441)	1034	(1441)
	Cheia	0	(47)	60	(47)	67	(47)	58	(47)
Ens. Ubatuba	Nova	1	(40)	55	(40)	59	(40)	46	(40)

$\chi^2 = 2.758$
DF = 10
p<0,01

Figura 22 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de larvas de *Brachyura* nos estágios de desenvolvimento de zoea entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,029, B = 0,029, C = 0,029.

chyura capturados nas amostras em dois níveis de desenvolvimento larval: zoea e megalopa. Com isso podemos perceber se houve alguma mudança na percepção visual durante o desenvolvimento larval.

Os exemplares de zoea de *Brachyura* apresentaram, nos gráficos de NMDS (figura 22), distanciamento entre os centróides das elipses para todos os casos. Porém, de acordo com teste estatístico PERMANOVA da tabela 26, podemos aceitar que os distanciamentos não possuem significância estatística relevante. Os teste apontaram que não houve influência no comportamento fototático causado pelas fases lunares, pelas diferenças de

Figura 23 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de larvas de *Brachyura* nos estágios de desenvolvimento de megalopa entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,35 , B = 0,35 , C = 0,35 .

localidade e pelos esquemas de randomização. O comportamento destes organismos indicaram que existe fototaxia positiva seletiva, ou seja, devemos rejeitar a hipótese nula de fototaxia positiva não seletiva ($p < 0,01$ – tabela 27).

Já as fases de desenvolvimento de megalopa dos exemplares de *Brachyura* demonstraram ser mais sensíveis à influência da fase lunar do que os exemplares na fase de zoea (capturas lua nova > capturas lua cheia, $p < 0,001$, PERMANOVA tabela 28). Porém as variações de local ou randomização dos tratamento não causaram influência significativa nas coletas, observados através dos gráficos de NMDS (figura 23) ou da tabela do teste

Tabela 28 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de larvas de Brachyura nos estágios de desenvolvimento de megalopa nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\Pr(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\Pr(>F)$
Fase Lunar	1	1,08253	1,08253	13,334	0,45088	0,001 ***
Local	1	0,01941	0,01941	0,239	0,00808	0,812
Erro Residual	16	1,29900	0,08119		0,54104	
Total	18	2,40094			1,00000	
Esq. Randomização	2	0,40838	0,20419	1,6396	0,17009	0,189
Erro Residual	16	1,99256	0,12454		0,82991	
Total	18	2,40094			1,0000	

Código das significância (p<): '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

Tabela 29 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de larvas de Brachyura nos estágios de desenvolvimento de megalopa. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho	Verde	Azul	Branco				
Ens. Flamengo	Nova	5 (53)	79 (53)	67 (53)	62 (53)				
	Cheia	0 (3)	0 (3)	11 (3)	1 (3)				
Ens. Ubatuba	Nova	5 (18)	18 (18)	26 (18)	20 (18)				

$\chi^2 = 103,3$
DF = 10
p<0,01

Figura 24 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de larvas de Caridea entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,137, B = 0,137, C = 0,137.

de PERMANOVA (tabela 28). Assim como na fase zoea, o comportamento destes organismos indicam que existe fototaxia positiva seletiva, ou seja, devemos rejeitar a hipótese nula de fototaxia positiva não seletiva ($p < 0,01$, $\chi^2 = 2.758$, tabela 29).

Local e fase lunar não influenciaram as capturas dos organismos da infra ordem Caridea nas coletas, apesar dos distanciamentos dos centróides das elipses dos gráficos NMDS (figura 24). Esta afirmação foi sustentada pela tabela 30 do teste de PERMANOVA. Esta análise também indicou que o esquema de randomização das armadilhas de luz não influenciaram nas coletas destes organismos se considerado o limite para a signifi-

Tabela 30 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de larvas de Caridea nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\text{Pr}(>F)$
Fase Lunar	1	0,11481	0,114814	2,0443	0,08433	0,108
Local	1	0,01106	0,011064	0,1970	0,00813	0,916
Erro Residual	22	1,23560	0,056163		0,90754	
Total	24	1,36147			1,0000	
Esq. Randomização	2	0,21214	0,106068	2,0303	0,15581	0,06 .
Erro Residual	22	1,14934	0,052243		0,84419	
Total	24	1,36147			1,00000	

Código das significância ($p <$): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘.’ 1

Tabela 31 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de larvas de Caridea. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	18	(196)	298	(196)	264	(196)	202	(196)
	Cheia	7	(26)	38	(26)	39	(26)	16	(26)
Ens. Ubatuba	Nova	45	(408)	535	(408)	556	(408)	494	(408)

$\chi^2 = 702,6$
 DF = 10
 p < 0,01

cância estatística inferior a 5% ($p < 0,05$), neste caso o valor apurado foi de $p = 0,06$. Neste táxon, assim como nos demais, a hipótese nula foi rejeitada ($p < 0,01$), consequentemente a hipótese alternativa do deslocamento por fototaxia positiva seletiva foi aceita.

Entre as larvas de Cirripedia, capturadas pelos experimentos, as pequenas variações de local, fase lunar e randomização podem ser observadas claramente através dos gráficos da figura 25. Os centróides das elipses se distanciam um dos outros, porém, podemos considerar apenas que houve diferenças nas exposições entre lua cheia e lua nova

Figura 25 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de larvas de Cirripedia entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,072, B = 0,072, C = 0,072.

($p < 0,05$, PERMANOVA, tabela 32), os demais distanciamentos não são significativos. Novamente, a hipótese nula deve ser rejeitada ($p < 0,01$) de acordo com a tabela χ^2 e deve ser aceita a hipótese alternativa da fototaxia positiva seletiva conforme indicam os dados coletados.

Muitos dos organismos da classe Polychaeta, com hábito bentônico na fase adulta, realizam a migração para a coluna d'água como estratégia reprodutiva, interagindo com as comunidades planctônicas. Exemplos destes organismos capturados pelas armadilhas de luz apresentaram diferenças nas capturas entre os esquemas de randomização (tabela 34,

Tabela 32 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de larvas de Cirripedia nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(> F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum (x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2 / N$	F	R^2	$\text{Pr}(> F)$
Fase Lunar	1	0,28008	0,280077	3,3038	0,1464	0,036*
Local	1	0,02445	0,024447	0,2884	0,0127	0,794
Erro Residual	19	1,617070	0,084774		0,8410	
Total	21	1,91522			1,0000	
Esq. Randomização	2	0,23826	0,119129	1,3497	0,1244	0,252
Erro Residual	19	1,67696	0,088261		0,8756	
Total	21	1,91522			1,0000	

Código das significância ($p <$): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1

Tabela 33 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de Cirripedia. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	28	(632)	1188	(632)	601	(632)	687	(632)
	Cheia	4	(26)	27	(26)	44	(26)	28	(26)
Ens. Ubatuba	Nova	18	(88)	127	(88)	109	(88)	95	(88)

$\chi^2 = 1182,5$
 DF = 10
 p < 0,01

PERMANOVA, $p < 0,05$), porém não apresentaram diferenças nas coletas entre a Enseada do Flamengo e Enseada de Ubatuba, e nem entre lua nova e lua cheia. Na figura 26, observamos através dos gráficos de ordenação multidimensional não métrica (NMDS) que os centróides de influência de local e fase lunar estão bem próximos. Este organismo apresentaram fototaxia positiva seletiva, apontado pelo teste χ^2 da tabela 35 em que indica a rejeição da hipótese nula ($p < 0,01$) da fototaxia não seletiva.

Entre os decapodas, os 57 exemplares do gênero *Lucifer* sp capturados nas arma-

Figura 26 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de Polychaeta entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (○) - Enseada do Flamengo e (△) - Enseada de Ubatuba. Em B: (○) - Lua Cheia e (△) - Lua Nova. Em C: (○) - Randomização modelo 1, (△) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,047, B = 0,047, C = 0,047.

dilhas de luz, nenhum deles foi capturado durante as coletas da lua cheia. Fica evidente através dos gráficos da figura 27 a influência da fase lunar sobre o comportamento destes organismos. As capturas não sofreram influência de local e nem de esquema de randomização, conforme podemos observar pela tabela 36 do teste PERMANOVA. Além disso, podemos rejeitar a hipótese nula do deslocamento em direção aos tratamentos luminosos sem seleção espectral e aceitar a hipótese alternativa do deslocamento seletivo com significância maior que 99% ($p < 0,01$) baseados no teste χ^2 da tabela 37.

Tabela 34 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de Polychaeta nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\Pr(>F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum(x_i - \bar{x})^2$	$\sum(x_i - \bar{x})^2/N$	F	R^2	$\Pr(>F)$
Fase Lunar	1	0,16269	0,16269	1,28822	0,05548	0,296
Local	1	0,11746	0,11746	0,93009	0,04006	0,453
Erro Residual	21	2,65213	0,12629		0,90446	
Total	23	2,93228			1,0000	
Esq. Randomização	2	0,62898	0,31449	2,8673	0,2145	0,015 *
Erro Residual	21	2,30331	0,10968		0,7855	
Total	23	2,93228			1,0000	

Código das significância (p<): ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘.’ 1

Tabela 35 – Tabela de contingência com análise de χ^2 para as capturas de Polychaeta. Números entre parêntesis são as frequências esperadas para cada tratamento baseado no total capturado e considerando a hipótese nula. DF: graus de liberdade. p: significância estatística.

Local (Enseada)	Fase Lunar	Tratamentos Luminosos							
		Vermelho		Verde		Azul		Branco	
Ens. Flamengo	Nova	16	(92)	129	(92)	126	(92)	94	(92)
	Cheia	3	(8)	8	(8)	14	(8)	4	(8)
Ens. Ubatuba	Nova	0	(80)	87	(80)	184	(80)	47	(80)

$\chi^2 = 329.3$
 DF = 10
 p<0,01

5.4 Comparação dos controles

Uma preocupação durante o estudo foi de garantir que o tratamento controle em cada unidade experimental pudesse ser utilizado como comparativo e não estivesse sob influência dos outros tratamentos luminosos. Estes frascos mostrariam de certa forma a disponibilidade dos organismos ali presentes, sem a ação da atração luminosa. Em função desta preocupação comparamos os frascos de controle local com os frascos de controle absoluto. Através do gráfico de ordenação NMDS da figura 28 foi verificado que

Figura 27 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de *Lucifer* sp entre os diferentes locais (A), fases lunares (B) e esquema de randomização (C) dos tratamentos luminosos. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. Em A: (o) - Enseada do Flamengo e (Δ) - Enseada de Ubatuba. Em B: (o) - Lua Cheia e (Δ) - Lua Nova. Em C: (o) - Randomização modelo 1, (Δ) - Randomização modelo 2 e (+) - Randomização modelo 3. Nos vetores: vermelho (R), verde (G), azul (B), branco (W) e controle (C). NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress: A = 0,029, B = 0,029, C = 0,029.

Tabela 36 – Teste de PERMANOVA multivariada aplicada para as capturas de *Lucifer* sp nos tratamentos considerando a influência da fase lunar e dos locais de coleta. DF: graus de liberdade, F: valor de F do modelo estatístico. R^2 : coeficiente de determinação do modelo linear. $\text{Pr}(> F)$: significância estatística. Método Bray-Curtis. Número de permutações livres: 999.

	DF	$\sum (x_i - \bar{x})^2$	$\sum (x_i - \bar{x})^2 / N$	F	R^2	$\text{Pr}(> F)$
Local	1	0,14729	0,14729	0,84281	0,07117	0,468
Erro Residual	11	1,92238	0,17476		0,92883	
Total	12	2,06967			1,0000	
Esq. Randomização	2	0,11489	0,057444	0,29386	0,05551	0,894
Erro Residual	10	1,95478	0,195478		0,94449	
Total	12	2,06967			1,00000	

Código das significância (p<): “***” 0,001 “**” 0,01 “*” 0,05 “.” 0,1 “ ” 1

Figura 28 – Diagrama de ordenação NMDS resumindo a similaridade das capturas de organismos entre os diferentes controles. As cores correspondentes nas elipses são os desvios padrões da variância das capturas de cada grupo com 0,95% de intervalo de confiança. (○) - Frasco de Controle Absoluto da fototaxia e (△) - Frasco de Controle Local da fototaxia em cada armadilha luminosa. NMDS pelo método Bray-Curtis, 2- dimensões stress = 0,151.

Tabela 39 – Síntese de capturas dos controles absolutos e locais de efeito nulo por táxon de classificação em todas as exposições.

	<i>N</i>		<i>%C</i>	
	Absoluto	Local	Absoluto	Local
<i>Acartia</i> sp	24	101	0,0	0,1
<i>Brachyura</i> (megalopa)	0	1	0,0	0,1
<i>Brachyura</i> (zoea)	24	19	0,3	0,3
Monstrilloida	0	4	0,0	0,4
Caridea	4	11	0,1	0,4
Chaetognatha	0	2	0,0	4,6
<i>Copilia</i> sp	5	14	0,9	2,7
Cirripedia	5	27	0,1	0,9
<i>Lucifer</i> sp	0	0	0,0	0,0
<i>Penilia</i> sp	1	3	0,2	0,7
Polychaeta	1	4	0,1	0,5
Harpaticoida	2	6	0,6	1,9
<i>Temora</i> sp	14	78	0,0	0,2
Nauplio	6	10	0,3	0,5
<i>Oncaea</i> sp	11	25	1,5	3,6
Podonidae	66	69	0,5	0,5

6 Discussão

Antes de prosseguirmos com a discussão dos resultados obtidos, com a intenção de fundamentar a discussão, vamos propor uma construção racional inicial simplificada sobre o estímulo visual da maioria destes organismos marinhos dispersos na coluna d'água em relação a dois fenômenos ecológicos de extrema importância para a sobrevivência: a presença do predador nas cercanias e a problemática do encontro entre machos e fêmeas para a reprodução sexual em ambiente de dispersão espacial com três graus de liberdade (x,y,z) . Na sequência discutiremos os resultados obtidos através das armadilhas de luz e as possíveis inferências e consequências em outros fenômenos ecológicos com reflexo na distribuição da biomassa.

O Objetivo aqui não é produzir um tratado sobre a percepção visual dos organismos do plâncton marinho mas sim de orientar os aspectos principais sobre a discussão da percepção visual testada neste estudo e seus reflexos nos fenômenos ecológicos de maior importância (alimentação e reprodução). Esta premissa inicial focaliza a questão sobre os resultados do experimento sem a interferência e os desvios em outros fenômenos além desta percepção, que pode parecer mais simples e objetiva que sob a óptica de um olho humano complexo. A frequente interferência da consciência humana na interpretação e avaliação dos resultados aponta para a necessidade da construção de uma ponte que traduza de forma clara uma percepção para outra. Esta é uma tentativa racional de tradução da percepção visual destes organismos para a lógica humana.

6.1 A evolução dos órgãos fotossensores e a percepção visual

O primeiro passo é o de mais fácil compreensão, graças ao conhecimento da óptica geométrica newtoniana, diz respeito à formação da imagem virtual na face fotossensível dos órgãos visuais, pois independe de fenômenos subjetivos como a percepção. É um processo físico consequente do desenvolvimento biomecânico da câmara ocular.

Não há a formação de imagem em terminações nervosas revestidas com proteínas fotossensíveis, como a opsina, ou organelas fotossensíveis expostas em uma superfície sem invaginação. Estes fotóforos dispersos ou aglomerados simplesmente perceberão a luminosidade ambiente (JÉKELY et al., 2008). Um conjunto destes elementos fotossensíveis agrupados são comumente denominadas ocelos (LAND; FERNALD, 1992). A percepção desta luminosidade limita o organismo a reagir apenas em fenômenos de fotoperiodismo como as sincronizações diurnas de ritmo circadiano, eventos reprodutivos sincronizados pela intensidade e duração lunar, entre outros nos quais a luz é fundamental (GEHRING; ROSBASH, 2003).

Na medida que estas organelas passam a sofrer um leve invaginação, como na superfície interna de uma semi esfera, a intensidade luminosa recebida nesta superfície é variável. Esta variação está relacionada com o alinhamento do feixe luminoso e o centro da invaginação conforme observamos no proto olho da figura 29. Consequentemente, estes diferentes estímulos permitem ao organismo detectar a direção do feixe luminoso (LAMB et al., 2007). Em organismos com fototaxia positiva, este primeiro desenvolvimento biomecânico do órgão fotossensível permite o direcionamento do movimento para a fonte luminosa e o contrário, ou seja o distanciamento, em organismos com fototaxia negativa.

No próximo passo do desenvolvimento biomecânico destas estruturas visuais, só

obteremos a formação da imagem real ou projeção da imagem luminosa na base fotossensível, se este processo de invaginação continuar para a formação de uma câmara semi fechada com a diminuição do diâmetro da abertura livre ou seja o quase fechamento desta esfera em formação. É primordial a presença de um orifício diminuto por onde entra a luz e os raios luminosos convirjam como em uma câmera de pinhole (HECHT, 1998; LINDBERG, 1970). Característico deste olho tipo pinhole o foco da imagem e a profundidade de campo são fixos. Variando o diâmetro deste orifício variam-se também o foco e profundidade de campo (LAND; NILSSON, 2002). Intuitivamente, no próximo passo evolutivo, foi necessário o preenchimento ou fechamento desta câmara por tecido celular translúcido para evitar o acúmulo de fluídos devido à obstrução da circulação, o qual propiciaria a colonização por fungos e bactérias.

A formação de um olho mais complexo começa a partir da especialização final deste órgão que ocorre com o desenvolvimento de uma musculatura ocular conectada a uma lente orgânica gelatinosa capaz de modificar a sua geometria permitindo o controle da distância focal da imagem projetada na retina e conseqüentemente a seleção consciente do objeto focado (GEHRING, 2005; LAMB, 2011). Neste passo evolutivo a percepção da presa e do predador tornam-se ferramentas essenciais de sobrevivência, bem como o encontro visual dos pares sexuais e o desenvolvimento dos mecanismos de mimetização e camuflagem.

Enquanto que as questões da formação da imagem representaram vários passos das adaptações físicas dos órgãos fotossensores, a percepção da cor é o correlato da evolução das adaptações químicas e bioquímicas das proteínas fotossensíveis em relação à qualidade da luz do habitat. A opsina, maior representante desta classe de proteínas, foi delicadamente ajustada para perceber diferentes comprimentos de onda da luz visível

Figura 29 – Evolução dos órgãos fotossensores e a formação da imagem. Na parte superior modelo teórico do aparelho visual e na parte inferior modelo teórico pixelizado da imagem formada pelo respectivo órgão visual.

ambiente (FERNALD, 2006). Naturalmente, neste contexto, organismos do ambiente terrestre diferenciaram muito sua percepção em relação aos organismos do ambiente aquático devido ao efeito da atmosfera ou da coluna d'água no processo de seleção de determinados comprimentos de onda do espectro eletromagnético da luz.

Isto de certa forma permitiu ao indivíduo a melhor percepção dos pares sexuais, do alimento e dos predadores nas redondezas. Na figura 30 podemos observar uma simulação teórica simples de indivíduos marinhos com olhos complexos porém sensíveis apenas a um determinado comprimento de onda.

Apesar de possuírem similaridade genética e bioquímica, quando tratamos de percepção visual, é difícil garantir que a mesma cor seja percebida igualmente por diferentes indivíduos da mesma espécie. Devemos pontuar a sutil diferença entre percepção visual e percepção sensorial do órgão visual, enquanto que a primeira se refere a respostas comportamentais em função dos estímulos luminosos processados pelos órgãos neuronais, a segunda é apenas o estímulo dos órgãos sensores. Neste caso, no qual pretende-se avaliar a

Figura 30 – Evolução dos órgãos fotossensores e a percepção da cor. Duas simulações teóricas de percepção visual em organismos com visão monocromática sensíveis a diferentes comprimentos de onda. Da esquerda para a direita: (C) imagem original colorida, (R) imagem monocromática do espectro sensível ao vermelho, (G) imagem monocromática do espectro sensível ao verde e (B) imagem monocromática do espectro sensível ao azul.

percepção visual, poderemos testar padrões luminosos ou cromáticos e observar a resposta comportamental mais frequente de uma mesma população. Estas respostas geralmente descrevem uma curva gaussiana típica. Em outras palavras, indivíduos saudáveis da mesma espécie, com aparelho visual similar podem fornecer respostas comportamentais díspares, porém a população expressará, no conjunto, o caso mais comum. Outro aspecto importante é perceber que nos organismos que possuem visão colorida ou pancromática, além da percepção da cor existe a percepção do brilho (intensidade) da cor. já nos organismos com visão monocromática a percepção da cor ocorre como nuances de brilho, como se fossem diferentes tons de cinza. Estes tons de cinza serão mais claros quanto mais sensíveis forem as proteínas para aquele determinado comprimento de onda da luz visível. Este aspecto estará sujeito ainda a pequenas variações naturais na população.

Para finalizar a discussão inicial simplificada sobre a percepção visual destes organismos do plâncton basta unirmos o desenvolvimento mecânico do aparelho visual para

a formação da imagem e o desenvolvimento bioquímico para a percepção da cor em um único contexto conforme propomos em um ensaio teórico ilustrado na figura 31. Desta forma poderemos então discutir de forma mais clara os resultados obtidos considerando a tradução desta percepção para a racionalidade lógica.

Em nossos estudos mais de 80% dos organismos coletados apresentam ocelo, sem a formação de imagem, e com percepção monocromática da cor. Sabemos que a luz que chega até estes organismos foi filtrada espectralmente e atenuada ao penetrar na coluna d'água (LI et al., 2014). Porém não sabemos ainda sobre a percepção visual destes indivíduos. Não podemos afirmar em hipótese alguma que estes organismos percebem visualmente seus predadores nem suas presas, e sob este aspecto o encontro sexual entre machos e fêmeas ocorreria ao acaso. O rastro bioquímico percebido por estes indivíduos, como observou Strickler (1998), não permaneceria por muito tempo na coluna d'água nem se estenderia por grandes dimensões, mesmo em ambientes viscosos, pois sabe-se que a dissipação de energia mecânica deste ambiente, extremamente turbulento, é transferida da grande escala (m – km) para escalas micrométricas (mm – μm) através de microturbulências destruindo os rastros bioquímicos baseado em Kolmogorov (1991). O agrupamento destes organismos somente seria possível pela ação fototática seletiva da luz solar na coluna d'água. Estes agrupamentos seriam primordiais para o aumento das probabilidades de encontros sexuais através da diminuição da influência ou eliminação de um grau de liberdade (profundidade ou eixo z). A partir disto a eficiência dos encontros sexuais seria maior através da ação dos rastros bioquímicos observado por Strickler (1998). É racionalmente aceitável que o encontro sexual destes organismos entre machos e fêmeas sejam muito prováveis e eficientes pois eles compõem o elo trófico entre os produtores primários e os primeiros carnívoros até os predadores de topo de cadeia.

Figura 31 – Estudo teórico da percepção visual dos organismos marinhos em dois casos de águas superficiais. Na metade superior o estudo baseado em água tipicamente oceânica e na metade inferior água costeira. Da direita para esquerda a evolução da biomecânica do aparelho visual com relação a formação da imagem. Nas linhas a sensibilidade espectral seletiva para o vermelho, verde e azul.

6.2 Abordagem determinística do estudo

Segundo Gotelli & Ellison (2011) podemos considerar que todos experimentos ou abordagens em estudos de ecologia comportamental com organismos vivos envolvem uma série de variáveis, os padrões comportamentais são reflexos de uma mistura de forças estocásticas e determinísticas.

Representa um grande desafio avaliar o comportamento de organismos que não conseguem expressar claramente sua percepção. No caso deste estudo, de avaliação da percepção visual do zooplâncton, devemos propor aos organismos opções de escolha com respostas simples para indubitavelmente concluirmos sobre as questões básicas conceituais propostas. Podemos modelar deterministicamente uma teoria com base no estudo conceitual probabilístico das variáveis manipuladas. É neste sentido que iniciamos a discussão deste estudo sob esta abordagem.

Consideramos inicialmente que todos os organismos com fototaxia positiva nas proximidades da armadilha de luz que tenham interceptado um dos quatro feixes luminosos sejam induzidos a se locomover na direção desta luz. Este organismo hipotético encontrará no plano da base maior da armadilha uma região aonde todos os feixes luminosos convergem. Nesta posição, ele poderá decidir qual dos tratamentos luminosos é o mais intenso segundo sua percepção visual, pois todos os feixes luminosos (com mesma intensidade regulados eletronicamente) incidirão sobre seu aparelho fotossensor. Diante deste estímulo, o indivíduo poderá alterar sua trajetória na direção do frasco com o fluxo luminoso que considerou mais intenso e lá permanecer atraído pela luz.

Sabemos ainda que a intensidade dos feixes luminosos de cada tratamento eventualmente podem sofrer dispersão e atenuação. Estes fenômenos podem ser espectralmente seletivo ou não devido a vários fatores ambientais relacionados com a absorção e o espa-

lhamento destas fontes luminosas em função das interações físicas entre a luz e o meio de propagação. Porém segundo Shen et al. (2013) o que conhecemos sobre as teorias tradicionais de transferência óptica submarina não devem ser aplicadas em sistemas luminosos aquáticos que utilizam como fonte luminosa os diodos emissores de luz (LED). Isto se deve basicamente ao ângulo de emissão destes elementos luminosos que são muito mais estreitos e colimados que qualquer outra fonte luminosa com exceção do laser. Além disso, em nosso caso, o ponto de decisão para estes organismos fica a aproximadamente 20 *cm* da fonte de emissão luminosa, se comparado com os dados do estudo de Shen et al. (2013) e suas unidades de medidas básicas, nossa distância é uma ou duas ordens de grandeza inferior aos resultados nos quais se observam os efeitos de atenuação luminosa. Portanto podemos considerar desprezíveis estas interferências em nossos resultados e no funcionamento de nossa armadilha de luz.

Já discutimos na seção anterior, na qual discorremos sobre a evolução dos órgãos fotossensores, que a maioria destes organismos possuem percepção visual muito primitiva ou quase inexistente de seus predadores e parceiros sexuais portanto assumimos exclusivamente que os deslocamentos em direção aos tratamentos luminosos tenham ocorrido pela resposta de se moverem em direção a luz através dos estímulos sensoriais.

Deterministicamente estes eventos, de decisão por um tratamento ou outro, são mutuamente exclusivo com resultados completos, ou seja, a escolha por um tratamento implica na exclusão de outro e completo pois os registros são baseados nos indivíduos capturados. Isto é importante na definição de nosso espaço amostral, estatisticamente teremos a seguinte situação:

$$Ind. \text{ capturado} = \{(R), (G), (B), (W), (C)\} \quad (6.1)$$

Onde: O universo amostral A_i dos indivíduos capturados no (R) tratamento luz vermelha, (G) tratamento luz verde, (B) tratamento luz azul, (W) tratamento controle luz branca e (C) tratamento controle com a luz ambiente.

O primeiro axioma da probabilidade, definido como a soma das probabilidades de todos os resultados de A_i do universo amostral é igual a 1, matematicamente descrito na equação 6.2, teremos que a probabilidade de cada tratamento será de $1/5$ ou 20%.

$$\sum_{i=1}^n P(A_i) = 1,0 \quad (6.2)$$

Analisando profundamente as possibilidades do valor esperado no campo da probabilidade poderemos encontrar os seguintes casos possíveis:

1. O valor esperado de captura será de $1/5$ ou 20% em cada tratamento se o evento ocorrer ao acaso e não houver efeito da fototaxia positiva presente nos organismos capturados;
2. O valor esperado de captura será de $1/4$ ou 25% em cada tratamento se o evento ocorrer ao acaso considerando a ação da fototaxia positiva nos organismos e não houver seleção espectral, efeito da exclusão da condição controle (C) do espaço amostral;
3. O valor esperado de captura será maior que $1/4$ ou 25%, em determinado tratamento, caso houver efeito da fototaxia positiva e da seleção espectral por determinado comprimento de onda, ou seja, existe a ação de um atrator diferencial;

Ainda segundo Gotelli & Ellison (2011), se definirmos a probabilidade de cada tratamento A como sendo o número de vezes em que ele ocorre no espaço de observações,

matematicamente teremos:

$$P[A] = \frac{n_t}{n_{total}} \quad (6.3)$$

$$0, 0 \leq P[A] \leq 1, 0 \quad (6.4)$$

onde: n_t é o número de indivíduos capturados em determinado tratamento e n_{total} como sendo o número total de organismos capturados.

Podemos criar uma relação comparativa muito direta entre a teoria do modelo da abordagem determinística apresentada e os resultados práticos do experimento. Em síntese o resumo do teste chi-quadrado, da seção materiais e métodos, examina através do valor esperado da probabilidade (equação 6.2) o valor das capturas da população total em determinado nível taxonômico em cada tratamento (equação 4.1).

6.3 A seleção espectral observada

Após a discussão teórica preliminar da percepção visual e das bases do método aplicado, tendo em mente os pressupostos sugeridos inicialmente, nesta seção discutiremos profundamente os resultados obtidos com a intenção de elucidar as proposições iniciais e averiguar o efeito da seleção espectral na indução do deslocamento do zooplâncton marinho.

Nossos resultados demonstraram que todos os táxons avaliados apresentaram fototaxia positiva seletiva com significância relevante, principalmente expresso pela fraca atração dos táxons pelo tratamento com luz vermelha.

Além disso, considerando os grupos mais abundantes, o tratamento com luz verde concentrou a maioria das capturas. Um resultado não óbvio se considerarmos que a

luz azul é a que possui maior penetração na coluna d'água e portanto maior influência para a seleção bioquímica da proteína fotossensível. Se considerarmos porém, que a penetração do espectro da luz verde no ambiente marinho é o que possui gradiente mais suave possibilitando maior resolução espectral (LI et al., 2014), seria racional esperar os resultados obtidos das capturas neste tratamento.

Várias pesquisas anteriores usaram armadilhas de luz para estudos do zooplâncton e nécton, mas nenhuma delas supôs que a diferença espectral luminosa tivesse efeito na eficiência das capturas. Kawaguchi et al. (1986) utilizaram com sucesso seu modelo com luz branca de acampamento para coletar krill e micronecton na costa da Antártica, seguido por Doherty (1987) em um outro modelo com o mesmo tipo de fonte luminosa para capturar larvas de peixe na grande barreira de corais na ilhas Lizard. Hernandez Jr. & Shaw (2003), com luz branca de halogênio mais potente, capturaram larvas e peixes em plataformas de petróleo na Lousiana. Shaw et al. (2007) investigaram a influências dos formatos mecânicos dos modelos de armadilhas de luz na eficiência das capturas, porém todas com luz branca como fonte luminosa. Este tipo de técnica de coleta continuou sendo utilizada nas mais diversas áreas e para os mais diversos fins de captura do zooplâncton (HICKFORD; SCHIEL, 1999; PORTER et al., 2008).

Considerando o aspecto geral dos resultado, a eficiência de captura de todas as armadilhas de luz anteriores a este estudo se alterariam ao trocar a luz branca pela luz verde monocromática. Esta é a primeira vez que se utilizam armadilhas luminosas com o objetivo de avaliar a resposta da percepção espectral do zooplâncton marinho através da eficiência de captura.

Martynova & Gordeeva (2010) propuseram investigar a fototaxia positiva de alguns organismos do zooplâncton do Mar Branco, com experimentos de laboratório em lâmina

d'água de poucos milímetros, suas conclusões interessantes são limitadas pois assumiram que a luz vermelha e amarela (testadas em seus experimentos) seriam o limiar entre a zona fótica e afótica. Elas testaram também o efeito da radiação UV-B sobre o comportamento dos organismos. Sabemos porém que os tratamentos luminosos testados nesta pesquisa não ultrapassam os vinte metros na coluna d'água. Outra limitação é a compreensão das camadas fóticas entre esta duas zonas distintas sob a ação da luz solar. Sabemos que há uma camada muito grande de luz disfótica, negligenciada no trabalho de Martynova & Gordeeva (2010), onde os outros comprimentos de ondas vão se atenuando gradativamente com a profundidade até sua completa extinção e onde se distribuem os organismos do zooplâncton testados.

Em nosso estudo, dentre os organismos capturados mais sensíveis a luz do luar estão os exemplares do gênero *Acartia* sp, Cirripedia e Brachyura (megalopa). Estes táxons ou se ausentaram da camada de água mais superficial ou diminuíram consideravelmente sua abundância nestes locais. Estas conclusões são baseadas nos dados de captura e nas observações da literatura. Este fenômeno já havia sido abordado por Gliwicz (1986) em um lago no baixo Zambezi, porém foram Hernández-León et al. (2001) que estudaram esta flutuação no ambiente marinho e a correlacionaram com as fases lunares. É interessante a explicação causal para esta variação: no primeiro estudo é a predação do zooplâncton por organismos nectônicos que causam o sumiço deles na superfície. No segundo estudo é a luz do luar responsável pela migração desta camada superficial abundante de zooplâncton para regiões um pouco mais profundas. De qualquer forma as considerações de Hernández-León et al. (2001), Hernández-León et al. (2002), intimamente relacionados com as nossas descobertas, nos forneceram as evidências para a compreensão desta oscilação.

Os exemplares de *Copilia*, Polychaeta e náuplios distinguiram os tratamentos lu-

minosos circunvizinhos potencializando ou dissipando a captura destes táxons nas coletas com randomização cruzada. Não podemos afirmar ao certo qual comprimento de onda foi responsável pelo efeito aditivo ou subtrativo, e nem estimar o comprimento de onda ideal para a atração da fototaxia positiva deles, pois o escalonamento das cores dos tratamentos é muito grosseiro. Porém podemos afirmar com confiança que a maior sensibilidade luminosa espectral à luz vermelha repeliu a captura destes organismos.

Outro caso notável dos nossos dados é o aumento da sensibilidade espectral durante o desenvolvimento dos estágios larvais de Brachyura. A diferença na quantidade de organismos capturados entre larvas de zoea e megalopa é muito evidente principalmente na comparação da lua cheia. Enquanto que zoea apresentou uma distribuição parecida entre os tratamentos G, B e W a fase megalopa se ausentou da captura do tratamento da luz verde (G). Este resultado diverge de Forward Jr. et al. (1984) que mediram a resposta da fototaxia positiva de larvas de Brachyura na fase zoea de *Rhithropanopeus harrisii* utilizando-se de luz artificial verde em 500 nm, orientado por seus trabalhos anteriores, e concluíram que não haviam diferenças durante o desenvolvimento larval. Suas medidas porém apenas consideraram a variação da intensidade luminosa no mesmo espectro luminoso.

Cronin & Forward Jr. (1988) com ensaios bioquímicos de máxima absorção espectral da rhodopsina, encontraram máxima sensibilidade para Brachyura em torno de 480 a 490 nm, muito próximo dos nossos resultados.

Em um estudo mais generalista sobre decapodas mesopelágicos da família Euphausiidae, Penaeidae, Caridea, Phronimidae e Sergestidae, Frank & Widder (1999) detectaram, através de eletrorretinogramas, que em geral o pico de sensibilidade espectral destes organismos encontram-se dentro do espectro da luz azul esverdeada (aproximadamente

500 nm), coincidentemente nossos resultados apontam na mesma direção para os exemplares da família Caridea.

A literatura sobre este assunto, de maneira geral, possui mais estudos sobre sensibilidade do órgão visual do que percepção visual ou luminosa. Estes trabalhos baseiam-se em resultados de eletrorretinografia submetidos a diversos comprimentos de onda e contém mais informações sobre a bioquímica sensora do que sobre o comportamento estimulado visualmente com reflexo nos fenômenos ecológicos conforme discutimos inicialmente.

Uma exceção desta afirmação são os estudos de Bollens & Frost (1990) sobre os fatores que influenciam a distribuição vertical diurna de *Acartia hudsonica* no qual concluíram que a radiação UV-B ($290 \leq \lambda \leq 315 \text{ nm}$) não é a responsável por esta atração. De fato, nossos dados apontam para uma atração fototática positiva na faixa do verde ($520 \leq \lambda \leq 550 \text{ nm}$), além disso, sabemos que a penetração da radiação UV-B é limitada na coluna d'água. Esta evidência, fototaxia positiva de *Acartia* sp para o espectro da luz verde, também é compartilhada por Stearns & Forward Jr. (1984) ao estudarem exemplares de *Acartia tonsa* em condições laboratoriais com espectro contínuo de luz de 380 a 700 nm.

Buskey et al. (1989), ao analisarem a sensibilidade espectral de duas espécies de Calanoidas do gênero *Pleuromammias* sp encontrou fototaxia negativa entre $480 \leq \lambda \leq 520 \text{ nm}$. Esta conclusão diverge de nossos estudos para os Calanoidas do gênero *Acartia* sp e *Temora* sp. O estudo de Cohen & Forward Jr. (2002) com duas espécies de Calanoida, *Centropages typicus* e *Calanopia americana*, assim como nossos resultados, também encontraram fototaxia máxima no espectro da luz verde, porém para o Calanoida da família Ponteliidae, *Labidocera aestiva* e *Anomalocera ornata*, foi relacionado com o espectro da luz azul.

6.3.1 Os dados ambientais observados

A respeito dos dados ambientais, devemos pontuar que as diferenças observadas de temperatura, ficoeritrina e turbidez entre os locais não representam de fato particularidades oceanográficas distintas, mas podem ser efeitos da variação sazonal já observada por Castro Filho et al. (1987) em função da estratificação da coluna d'água nas camadas superficiais durante os meses de verão e a falta dela nos meses de inverno na plataforma continental interna na região de Ubatuba. Esta coluna d'água mais homogênea e mais fria causada pelas condições meteorológicas atua nas duas enseadas (do Flamengo e de Ubatuba) da mesma forma assim como em todo o litoral norte da região sudeste do Brasil (CASTRO FILHO, 2014). Mesmo que estas diferenças entre enseadas fossem pertinentes, atuariam de maneira igualitária nos tratamentos testados em cada exposição. De certa forma estas diferenças ambientais entre verão e outono acrescentaram variabilidade nos dados observados, mas não resultaram em distinção entre as campanhas de coleta. Conforme discutido por Cumming et al. (2007) estas diferenças nas forçantes estocásticas aumentam a robustez e a exatidão do experimento facilitando a reprodutibilidade deste estudo.

6.4 Inferência com a Migração Vertical Diurna

Talvez um dos fenômenos naturais com maior influência da percepção espectral dos organismos do zooplâncton marinho seja a migração vertical diurna (MVD). Em linhas gerais sabemos que existem três padrões da migração vertical diurna: os organismos que sobem para superfície no pôr do sol e voltam para as camadas mais profundas durante o nascer do sol (o caso mais comum); os organismos que também sobem neste mesmo momento, porém descem para as camadas mais profundas ainda durante a noite; e o

fenômeno inverso, no qual sobem para as camadas superficiais durante o dia e voltam para as profundezas no início da noite. A complexidade deste fenômeno amplia a quantidade de teorias elucidativas e uma delas argumenta exatamente sobre a sensibilidade espectral relacionados a este movimento.

Porém conforme relatado na revisão sobre MVD por Cohen & Forward Jr. (2009), a maioria dos estudos de sensibilidade espectral são abordagens de manipulações em laboratório que medem a absorção luminosa dos pigmentos fotossensíveis e são expressas através de eletrorretinogramas ou técnicas de sequenciamento de biologia molecular sobre os aparelhos fotossensores que identificam os compostos fotossensíveis. Neste sentido, nossos resultados acrescentam novas perspectivas com medidas e manipulações em campo com objetivo de avaliar a percepção espectral destes organismos.

Reexaminando o paradigma da MVD mais comum considerando os nossos resultados temos as seguintes evidências:

Evidência 1. Filtro espectral da luz na coluna d'água – Segundo os estudos de Jerlov (1976), Li et al. (2014), McClatchey et al. (1972), Spinrad et al. (1998) a luz solar é filtrada (intensidade e cor) pela coluna d'água resultando em uma luminosidade diferenciada espectralmente a cada gradiente de profundidade. Obviamente esta luminosidade também é variável ao longo do dia. A medição destas quantidades luminosas na coluna d'água sob determinados espectros de luz é um desafio para a ciência em função das alterações luminosas da composição espectral com a profundidade, alterações da atenuação difusa da luz, sensibilidade e seletividade espectral dos instrumentos de medição. Até algumas alternativas criativas de medida de luz foram inventadas para superar a questão da sensibilidade espectral, Gal et al. (1999) criaram o “mylux” baseado na sensibilidade espectral do gênero *Mysis* sp, Cohen & Forward Jr. (2005) inventaram o “copelux” baseado

na sensibilidade espectral de *Calanopia americana*.

Evidência 2. Persistência da MVD – Com exceção da penetração da luz na coluna d'água, não existe nenhuma outra feição oceanográfica que persista inalterável durante o tempo. As picnoclinas, nutriclinas, camadas finas de fitoplâncton, entre outras feições ficam presentes no ambiente marinho, mas inevitavelmente sofrem interrupções constantes. A migração vertical diurna marinha do zooplâncton é persistente no tempo e necessita de uma forçante física ou oceanográfica que justifique seu sincronismo. Não há outra candidata se não a penetração da luz solar na coluna d'água que sincronize a MVD.

Evidência 3. Migração vertical em agregações interespecíficas – As observações visuais de Frank & Widder (1997), Frank & Widder (2002), na qual relataram que o zooplâncton faz a migração vertical diurna em camadas de organismos intraespecífica foi uma importante contribuição para o entendimento da MVD. Sabemos que o processo de MVD é diferenciado de espécie para espécie e até entre os estágios de desenvolvimento dentro da mesma espécie. Conclui-se então que o início do processo da MVD não é comum a todos os organismos do zooplâncton, mas deve ser comuns a grupos deles pois formam camadas de agrupamentos densos que são visíveis e detectáveis.

Evidência 4. Limitação visual dos organismos do zooplâncton – Este estudo discutiu de maneira geral a limitação visual existente entre a maioria dos organismos do zooplâncton que realizam MVD. Desta forma não podemos acreditar que o fenômeno da evidência 3 ocorra em função da percepção visual entre os indivíduos das mesma espécie, por efeito do comportamento de manada (COUZIN; KRAUSE, 2003). Nem que eles estejam fugindo de seus predadores ou que estão indo ao encontro de suas presas. Segundo ainda as teorias de dissipação de energia de Kolmogorov todos os rastros bioquímicos

perderiam o direcionamento orientado ou se dissipariam em função da microturbulência dos movimentos dos aparelhos locomotores dos primeiros indivíduos a iniciarem a MVD.

Evidência 5. Percepção espectral seletiva – Este estudo demonstrou, entre os táxons capturados, que existe percepção espectral seletiva do zooplâncton. Estes dados podem ser extrapolados para comunidades maiores, pois estes indivíduos também realizam MVD. Como explorado em nossos estudos, tudo indica ser esta a diferença na sensibilidade espectral dos organismos aliada à fototaxia positiva que causa o estímulo ao deslocamento. As diferenças espectrais de estímulo entre os diferentes táxons pode ser responsável pelas observações da evidência 3.

Considerando as evidências acima, podemos supor que exista uma “zonação” do zooplâncton na coluna d’água regida pela penetração da luz solar no ambiente marinho em função da resposta da percepção espectral seletiva destes organismos. A migração vertical diurna que observamos diariamente é a consequência do movimento vertical destas agregações seguindo o espectro e a intensidade luminosa ideal para sua espécie (isolume espectral) até a superfície no início do entardecer ou o retorno para águas mais profundas no início do amanhecer.

7 Conclusão

De acordo com os dados observados nos diferentes táxons através das capturas realizadas nas armadilhas luminosas, podemos concluir em linhas gerais que:

- Existem evidências de uma seleção espectral na percepção luminosa dos organismos capturados. Esta sensibilidade óptica seria a principal responsável pela fototaxia positiva e consequentemente pelas induções ao deslocamento e capturas nos tratamentos luminosos das armadilhas de luz;
- De maneira geral a luz verde exerceu maior atração nos organismos;
- A luz vermelha foi o tratamento que causou menor influência no deslocamento dos organismos com fototaxia positiva;
- As fases lunares ou o esquema de randomização podem provocar influências nas capturas das armadilhas de luz, dependendo da sensibilidade luminosa de cada táxon;
- A seletividade espectral destes organismos pode ser o mecanismo responsável pela distribuição vertical de camadas intraespecíficas na coluna d'água, alterando assim os padrões de distribuição de biomassa;
- Nossa proposta de armadilha de luz foi eficiente na captura de organismos planctônicos podendo ser adaptada para trabalhar em diferentes profundidades e em estudos mais complexos com objetivo de estudar estas camadas verticais;

Para o avanço deste assunto e entendimento dos fenômenos naturais correlatos sugerimos para os próximos passos os seguintes desafios:

- Desenvolvimento de equipamentos mais sensíveis pra a medição da penetração de luz na coluna d'água tomando-se como padrão a percepção dos organismos planctônicos mais abundantes e não a percepção visual humana;
- O desenvolvimento de armadilhas de luz com maior resolução espectral para compreender a ação desta nos processos ecológicos principalmente relacionados a reprodução e predação;
- A comprovação da persistência temporal e espacial das zonação vertical de zooplâncton marinho;
- A proposição de uma história evolutiva da deriva genética do zooplâncton para realização da migração vertical;
- A adoção de novas técnicas de coleta do zooplâncton marinho para estudos ambientais;
- Estudos da poluição luminosa costeira sobre a alteração na ecologia da comunidade planctônica.

Referências

- ANGEL, M.; PUGH, P. Quantification of diel vertical migration by micronektonic taxa in the northeast atlantic. *Hydrobiologia*, v. 440, n. 1-3, p. 161–179, dec 2000.
- ARENDT, D.; WITTBRODT, J. Reconstructing the eyes of urbilateria. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, v. 356, n. 1414, p. 1545–1563, oct 2001.
- BARGHINI, A.; SOUZA DE MEDEIROS, B. A. Uv radiation as an attractor for insects. *LEUKOS*, v. 9, n. 1, p. 47–56, jul 2012.
- BELGRANO, A. et al. *Aquatic food webs, an ecosystem approach*. [S.l.]: Oxford University Press, 2005.
- BERGE, J. et al. Diel vertical migration of arctic zooplankton during the polar night. *Biology Letters*, v. 5, p. 69–72, oct 2009.
- BOLLENS, S. M.; FROST, B. Uv light and vertical distribution of the marine planktonic copepod *Acartia hudsonica* pinhey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, n. 137, p. 89–93, 1990.
- BOLTOVSKOY, D. *South Atlantic Zooplankton*. [S.l.]: Backhuys Publishers, 1999.
- BRAMM, M. E. et al. The role of light for fish-zooplankton-phytoplankton interactions during winter in shallow lakes – a climate change perspective. *Freshwater Biology*, v. 54, p. 1093–1109, 2009.
- BRUCE-WHITE, C.; SHARDLOW, M. *A Review of the Impact of Artificial Light on Invertebrates*. [S.l.]: Buglife, 2011.
- BUSKEY, E. et al. Photosensitivity of the oceanic copepods *Pleuromamma gracilis* and *Pleuromamma xiphias* and its relationship to light penetration and daytime depth distribution. *Marine Ecology Progress Series*, n. 55, p. 207–216, 1989.
- CARLOTTI, F. et al. Zooplankton community structure, biomass and role in carbon fluxes during the second half of a phytoplankton bloom in the eastern sector of the kerguelen shelf (january–february 2005). *Deep-Sea Research II*, v. 55, p. 720–733, 2008.
- CASTRO FILHO, B. M. Summer/winter stratification variability in the central part of south brazil bight. *Continental Shelf Research*, n. 89, p. 15–23, 2014.
- CASTRO FILHO, B. M. et al. Condições hidrográficas na plataforma continental ao largo de ubatuba: variações sazonais e em média escala. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, v. 35, n. 2, p. 135–151, 1987.
- CEPAGRI. *Clima dos municípios paulistas - Ubatuba*. 2015. Online; acessado em 16/sep/2015. Disponível em: <http://www.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima_muni_624.html>.
- COHEN, J.; FORWARD JR., R. Spectral sensitivity of vertically migrating marine copepods. *Biological Bulletin*, n. 203, p. 307–314, 2002.

- COHEN, J.; FORWARD JR., R. Diel vertical migration of the marine copepod *Calanopia americana*. *Marine Biology*, n. 147, p. 387–410, 2005.
- COHEN, J. H.; FORWARD JR., R. B. Zooplankton diel vertical migration - a review of proximate control. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, v. 47, p. 77–110, 2009.
- COUZIN, I. D.; KRAUSE, J. Self-organization and collective behavior in vertebrates. *ADVANCES IN THE STUDY OF BEHAVIOR*, v. 32, 2003.
- CRONIN, T.; FORWARD JR., R. The visual pigments of crabs: Spectral characteristics. *Journal of Comparative Physiology*, n. 162A, p. 463–478, 1988.
- CUMMING, G. et al. Error bars in experimental biology. *Journal of Cell Biology*, v. 177, n. 1, p. 7–11, apr 2007.
- DOHERTY, P. J. Light-traps: Selective but useful devices for quantifying the distributions and abundances of larval fishes. *Bulletin of Marine Science*, v. 41, n. 2, p. 423–431, aug 1987.
- FERMIN, A. C.; SERONAY, G. A. Effects of different illumination levels on zooplankton abundance, feeding periodicity, growth and survival of the asian sea bass, *Lates calcarifer* (bloch), fry in illuminated floating nursery cages. *Aquaculture*, n. 157, p. 227–237, 1997.
- FERNALD, R. D. Casting a genetic light on the evolution of eyes. *SCIENCE*, v. 313, p. 1914–1918, sep 2006.
- FORWARD JR., R. et al. Control of diel vertical migration: Photoresponses of a larval crustacean. *Limnology and Oceanography*, n. 29, p. 146–154, 1984.
- FRANK, T.; WIDDER, E. A. Comparative study of the spectral sensitivities of mesopelagic crustaceans. *Journal of Comparative Physiology A*, n. 185, p. 255–265, 1999.
- FRANK, T.; WIDDER, E. A. Effects of a decrease in downwelling irradiance on the daytime vertical distribution patterns of zooplankton and micronekton. *Marine Biology*, n. 140, p. 1181–1193, 2002.
- FRANK, T. M.; WIDDER, E. A. The correlation of downwelling irradiance and staggered vertical migrations patterns of zooplankton in wilkinson basin, gulf of maine. *Journal of Plankton Research*, v. 19, n. 12, p. 1975–1991, 1997.
- GAL, G. et al. Light and diel vertical migration: Spectral sensitivity and light avoidance by mysis relicta. *CANADIAN JOURNAL OF FISHERIES AND AQUATIC SCIENCES*, n. 56, p. 311–322, 1999.
- GEHRING, W.; IKEO, K. Pax 6: mastering eye morphogenesis and eye evolution. *Trends Genet.*, v. 15, n. 9, p. 371–377, sep 1999.
- GEHRING, W.; ROSBASH, M. The coevolution of blue-light photoreception and circadian rhythms. *Journal of Molecular Evolution*, v. 57, p. S286–S289, nov 2003.
- GEHRING, W. J. New perspectives on eye development and the evolution of eyes and photoreceptors. *Journal of Heredity*, v. 96, n. 3, p. 171–184, jan 2005.

- GLIWICZ, Z. M. A lunar cycle in zooplankton. *Ecology*, v. 67, n. 4, p. 883–897, aug 1986.
- GORSKY, G. et al. Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system. *Journal of Plankton Research*, v. 32, n. 3, p. 285–303, 2010.
- GOTELLI, N. J.; ELLISON, A. M. *Princípios de estatística em ecologia*. [S.l.]: Artmed, 2011.
- HADDOCK, S. H. D. et al. Bioluminescence in the sea. *Annual Review of Marine Science*, v. 2, p. 443–493, oct 2010.
- HAREN, H. Monthly periodicity in acoustic reflections and vertical motions in the deep ocean. *Geophysical Research Letters*, v. 34, aug 2007.
- HAREN, H.; COMPTON, T. J. Diel vertical migration in deep sea plankton is finely tuned to latitudinal and seasonal day length. *PLoS ONE*, v. 8, n. 5, 2013.
- HARRIS, R. et al. *ICES Zooplankton Methodology Manual*. [S.l.]: Elsevier, 2000.
- HAYS, G. C. A review of the adaptive significance and ecosystem consequences of zooplankton diel vertical migrations. *Hydrobiologia*, v. 503, n. 1-3, p. 163–170, aug 2003.
- HECHT, E. *Optics*. [S.l.]: Addison-Wesley, 1998.
- HERNANDEZ JR., F. J.; SHAW, R. F. Comparison of plankton net and light trap methodologies for sampling larval and juvenile fishes at offshore petroleum platforms and a coastal jetty off louisiana. *American Fisheries Society Symposium*, v. 36, p. 15–38, oct 2003.
- HERNÁNDEZ-LEÓN, S. et al. Zooplankton abundance in subtropical waters: is there a lunar cycle? *Scientia Marina*, v. 65, n. 1, p. 59–63, jan 2001.
- HERNÁNDEZ-LEÓN, S. et al. Lunar cycle of zooplankton biomass in subtropical waters: biogeochemical implications. *Journal of plankton research*, v. 24, n. 9, p. 935–939, dec 2002.
- HICKFORD, M. J. H.; SCHIEL, D. R. Evaluation of the performance of light traps for sampling fish larvae in inshore temperate waters. *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES*, v. 186, p. 293–302, oct 1999.
- HUNTLEY, M. E.; LOPEZ, M. D. Temperature-dependent production of marine copepods: a global synthesis. *The American Naturalist*, v. 140, n. 2, p. 201–242, aug 1992.
- HURLBERT, S. H. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*, v. 54, n. 2, p. 187–211, 1984.
- JERLOV, N. G. *MARINE OPTICS*. [S.l.]: ELSEVIER, 1976. (Elsevier Oceanography Series, v. 14).
- JÉKELY, G. et al. Mechanism of phototaxis in marine zooplankton. *Nature*, v. 456, p. 395–399, nov 2008.

- KAWAGUCHI, K. et al. A light trap to collect krill and other micronektonic and planktonic animals under the antarctic coastal fast ice. *Polar Biology*, v. 6, n. 1, p. 37–42, aug 1986.
- KEHAYIAS, G. et al. Using plankton nets as light traps: application with chemical light. *JOURNAL OF PLANKTON RESEARCH*, v. 30, n. 9, p. 1075 – 1078, oct 2008.
- KOLMOGOROV, A. N. Dissipation of energy in the locally isotropic turbulence. *Mathematical and Physical Sciences*, v. 434, 1991.
- LAMB, T. D. Evolution of the eye. *Scientific American*, p. 64–69, July 2011.
- LAMB, T. D. et al. Evolution of the vertebrate eye: opsins, photoreceptors, retina and eye cup. *Nat Rev Neurosci*, v. 8, n. 12, p. 960–976, dec 2007.
- LAND, M. F.; FERNALD, R. D. The evolution of eyes. *Annual Review of Neuroscience*, v. 15, p. 1–29, mar 1992.
- LAND, M. F.; NILSSON, D. E. *Animal Eyes*. [S.l.]: Oxford Univ. Press, 2002. 1-15 p.
- LI, L. et al. Characterization of the solar light field within the ocean mesopelagic zone based on radiative transfer simulations. *Deep-Sea Research I*, v. 87, 2014.
- LINDBERG, D. C. A reconsideration of roger bacon's theory of pinhole images. *Archive for History of Exact Sciences*, v. 6, n. 3, p. 214–223, 1970.
- LONGCORE, T.; RICH, C. Ecological light pollution. *Frontiers in Ecology and the Environment*, v. 2, n. 4, p. 191–198, may 2004.
- MARCOLIN, C. et al. Seazonal and interannual variability of zooplankton vertical distribution and biomass size spectra off ubatuba, brazil. *Journal of Plankton Research*, v. 37, 2015.
- MARTYNOVA, D.; GORDEEVA, A. Light-dependent behavior of abundant zooplankton species in the white sea. *Journal of Plankton Research*, v. 32, 2010.
- MATELATTO, F.; FRANSOZO, A. Characterization of the physical and chemical parameters of ubatuba bay, northern coast of são paulo state, brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 59, 1999.
- MAUCHLINE, J. *Advances in Marine Biology: The Biology of Calanoid Copepods*. [S.l.]: Academic Press, 1998.
- MCCLATCHEY, R. A. et al. *Optical Properties of the Atmosphere*. [S.l.]: AIR FORCE CAMBRIDGE RESEARCH LABORATORIES, 1972. (ENVIRONMENTAL RESEARCH PAPERS, v. 411).
- MILSTEIN, A. Vertical distribution of paracalanus crassirostris (copepoda, calanoidea): Analysis by the general linear model. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, v. 28, n. 2, 1979.
- MINUTOLI, R. et al. Mesozooplankton carbon requirement in the southern adriatic sea: vertical distribution, diel and seasonal variability, relation to particle flux. *Marine Ecology Progress Series*, v. 495, p. 91–104, 2014.

- PINESE, J. F. *Distribuição vertical e variação sazonal de Acartia lilljeborgi (Copepoda, Calanoidea) na enseada do Flamengo - Ubatuba*. 55 p. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) — Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1982.
- PORTER, S. S. et al. Comparison of light traps and plankton tows for sampling brachyuran crab larvae in an alaskan fjord. *Journal of Crustacean Biology*, v. 28, n. 1, p. 175 – 179, oct 2008.
- RINGELBERG, J. *Diel Vertical Migration of Zooplankton in Lakes and Oceans*. [S.l.]: Springer Netherlands, 2010.
- ROENNEBERG, T.; MERROW, M. Circadian clocks - the fall and rise of physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, v. 6, n. 12, p. 965–971, dec 2005.
- SALDANHA-CORRÊA, F.; GIANESELLA, S. A microcosm approach on the potential effects of the vertical mixing of water masses over the primary productivity and phytoplankton biomass in the southern brazilian coastal region. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 52, 2004.
- SHAW, F. et al. Comparison of plankton catch by three light-trap designs in the northern gulf of mexico. *Gulf of Mexico Science*, n. 2, p. 109–118, 2007.
- SHEN, S. C. S. C. et al. Design and analysis of an underwater white led fish-attracting lamp and its light propagation. *International Journal of Advanced Robotic Systems*, v. 10, 2013.
- SPINRAD, R. W. et al. *Ocean Optics*. [S.l.]: OXFORD UNIVERSITY PRESS, 1998. (OXFORD MONOGRAPHS ON GEOLOGY AND GEOPHYSICS).
- STEARNS, D.; FORWARD JR., R. Photosensitivity of the calanoida copepode *Acartia tonsa*. *Marine Biology*, n. 82, p. 85–89, 1984.
- STRICKLER, J. R. Observing free-swimming copepods mating. *Philosophical Transactions Royal Society London B Biology Science*, v. 353, 1998.
- TURNER DESIGNS. *Optical Specification Guide Cyclops-7 Submersible Sensors*. 2015. Online; acessado em 6/jun/2015. Disponível em: <<http://www.turnerdesigns.com/t2/doc/spec-guides/998-2181.pdf>>.
- VAUX, D. L. Know when your numbers are significant. *NATURE*, v. 492, p. 180–181, dec 2012.
- VERNIER SOFTWARE TECHNOLOGY. *Turbidity Sensor*. 2015. Online; acessado em 6/jun/2015. Disponível em: <<http://www.vernier.com/files/manuals/trb-bta.pdf>>.
- VOLPATO, G. *Bases teóricas para redação científica*. [S.l.]: Cultura Acadêmica, 2007. 85-102 p.

Anexos

ANEXO A – Coordenadas Geográficas das Coletas

Os pontos amostrados estão descritos geograficamente através das coordenadas de GPS na tabela 40, cada um dos pontos (A,B,C,D,E,F).

Tabela 40 – Dados geográficos dos pontos coletados na Enseada do Flamengo e na Enseada de Ubatuba durante os experimentos.

	Local Id.	Longitude	Latitude	Profundidade (m)
Enseada do Flamengo				
	A	23°30'02.5"S	045°07'03.9"W	3,5
	B	23°30'02.9"S	045°07'03.3"W	3,5
	C	23°30'03.0"S	045°07'03.6"W	3,5
Enseada de Ubatuba				
	D	23°27'05.3"S	045°02'49.7"W	4
	E	23°27'04.2"S	045°02'49.4"W	4
	F	23°27'04.1"S	045°02'48.3"W	4