

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

Joana Dutilh De Capitani

**Estrutura populacional e variabilidade genética de
anêmonas-do-mar da região entremarés de costão
rochoso**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biologia para
obtenção do Título de Mestre em
Ecologia

Orientadora: Prof. Dr. Luiz Francisco Lembo Duarte

Co-Orientadora: Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini

Campinas, 2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

D355e	<p>De Capitani, Joana Dutilh Estrutura populacional e variabilidade genética de anêmonas-do-mar da região entremarés de costão rochoso / Joana Dutilh De Capitani. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.</p> <p>Orientador: Luiz Francisco Lembo Duarte. Co-orientadora: Vera Nisaka Solferini. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.</p> <p>1. Anêmonas-do-mar. 2. Costões rochosos. 3. Região entremarés. 4. Variabilidade genética. 5. Nicho (Ecologia). I. Duarte, Luiz Francisco Lembo. II. Solferini, Vera Nisaka. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.</p> <p>(rcdt/ib)</p>
--------------	---

Título em inglês: Population structure and genetic variability of sea anemones from the intertidal rocky shore.

Palavras-chave em inglês: Sea anemones; Rocky shore; Intertidal zonation; Genetic variability; Niche (Ecology).

Área de concentração: Ecologia.

Titulação: Mestre em Ecologia.

Banca examinadora: Luiz Francisco Lembo Duarte, Alvaro Esteves Migotto, Sônia Cristina da Silva Andrade.

Data da defesa: 01/08/2007.

Programa de Pós-Graduação: Ecologia.

Campinas, 01 de agosto de 2007

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr Luiz Francisco Lembo Duarte

Assinatura

Prof. Dr Alvaro Esteves Migotto

Assinatura

Profa. Dra Sônia Cristina da Silva Andrade

Assinatura

Profa. Dra .Fosca Pedini Pereira Leite

Assinatura

Profa. Dra .Natália Pirani Ghilardi-Lopes.

Assinatura

Aos meus pais,

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, me ajudando nas coletas de campo, no laboratório e na análise dos dados ou me acalmando nas crises existenciais. Em especial,

Agradeço ao Guil, por todo o apoio, paciência e carinho, pela ajuda no campo e por me escutar em todos os momentos difíceis (centenas de horas, na soma total), enfim, pela presença em todos os momentos deste trabalho. Obrigada também por tornar estes últimos sete anos tão divertidos!

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e paciência, e também pelas eternas discussões, científicas e filosóficas, que contribuíram enormemente para minha formação pessoal e também para a realização desta dissertação.

Aos meus quatro avós pelos exemplos de vida que sempre nortearam meus caminhos e decisões, e pelo apoio constante.

Aos meus familiares, pela presença e pelo apoio em todos os momentos importantes da minha vida.

A todos que me ajudaram no campo e tornaram o trabalho uma diversão: Mari, Tiago, Vicente, Felipe, Sónia, Joice, Bruno, René, Paula e, é claro, Focolina.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Duarte, pela disponibilidade e paciência, e pelo exemplo de seriedade e caráter.

À minha co-orientadora, Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini, pela tranquilidade e simpatia, e também pelo ótimo ambiente por ela criado no laboratório de genética.

À Sónia, pela imensa e indispensável ajuda nas corridas e leituras de gel, assim como nas análises dos dados. Agradeço ainda pelas sugestões durante o desenvolvimento do presente trabalho (e na pré-banca), e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Álvaro Esteves Migotto pelo auxílio na identificação das espécies de anêmonas-do-mar.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Ecologia que contribuíram para minha formação, em especial ao Prof. Dr. Woodruff Benson e ao Prof. Dr. Thomas M. Lewinsohn.

Ao Prof. Dr. João Semir, pelas sugestões e apoio, não apenas durante o mestrado, mas desde o início da minha graduação.

Ao Gustavo, pela boa vontade em me ajudar com todas as minhas dúvidas, e pelas conversas agradáveis no laboratório.

Ao Tiago Pereira, Danilo Clemente, Gustavo, Danilo e Tiago Sobreira, pela ajuda nas análises estatísticas e pelas discussões sobre análises que não poderiam ser feitas.

A todos do laboratório de genética por toda ajuda e convívio divertido durante as muitas horas de corrida de gel.

À minha irmã, pela companhia e apoio nos momentos de estresse. Mari, obrigada pelos cafés e almoços!

Ao M. Briant, pelo exemplo de dedicação, paciência e humildade, e por nunca desistir de tentar me ensinar a estudar de forma organizada e clara.

A todos os meus amigos biólogos pelos momentos de descontração, conversas e apoio, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho: Zé (quase da Bio), Fê, Leo, Shirley, Marcela, Carol Cornetta, Mari, Daniel, Carol Góis, Tiago, Thierry, e os outros que já foram mencionados.

Aos membros da pré banca, pelas sugestões, críticas e correções.

À CAPES que financiou este trabalho através de bolsa de mestrado.

AO CEBIMAR pela infra-estrutura disponibilizada para a realização do presente trabalho.

A Fapesp pela ajuda financeira nas viagens de campo.

ÍNDICE

	Pgs
Resumo	VIII
Abstract	X
Introdução Geral	01
Objetivos	11
1. Estrutura populacional de anêmonas-do-mar do entremarés rochosos da região de São Sebastião, SP	12
1.1. Resumo.....	13
1.2. Introdução.....	14
1.3. Material e métodos.....	19
1.3.1. Áreas de estudo.....	19
1.3.2. Coleta de dados.....	21
1.3.3. Análise dos dados.....	25
1.4. Resultados.....	26
1.4.1. Riqueza e abundância.....	26
1.4.2. Contribuição para a comunidade.....	35
1.4.3. Tamanho dos indivíduos.....	36
1.4.4. Ocupação e preferência por microhabitats.....	42
1.5. Discussão.....	45
1.5.1. Riqueza e abundância.....	45
1.5.2. Contribuição para a comunidade e crescimento das anêmonas.....	45
1.5.3. Ocupação e preferência por microhabitats.....	55
1.5.4. Estudos Futuros.....	59
2. Genetic variability of three species of sea anemones (Actiniaria: Actiniidae) from the Brazilian coast	70
2.1. Abstract.....	71
2.2. Introduction.....	72
2.3. Material and methods.....	73
2.3.1. Sampling.....	73
2.3.2. Electrophoresis.....	74
2.3.3. Data analysis.....	75
2.4. Results.....	76
2.4.1. Genetic variability.....	76
2.4.2. Genetic structure.....	76
2.4.3. Genotypic diversity.....	77
2.5. Discussion.....	79
2.5.1. Genetic variability.....	79
2.5.2. Genetic structure.....	81
2.5.3. Genotypic diversity.....	83
Considerações Finais	85
Referências Bibliográficas	87

RESUMO

A riqueza de espécies, abundância, proporção de jovens, crescimento corporal, seleção de microhabitat, diversidade genotípica, variabilidade e estrutura genética de anêmonas-do-mar da região entremarés foram estudados no período de agosto de 2005 a julho de 2006. Cinco espécies foram encontradas e tiveram as suas populações acompanhadas em duas praias do município de São Sebastião, SP: *Bunodosoma caissarum*, *Bunodosoma cangicum*, *Anthopleura cascaia*, *Actinia bermudensis* e *Phyllactis flosculifera*. Destas, as mais abundantes foram *Bunodosoma caissarum*, *Bunodosoma cangicum* e *Anthopleura cascaia*. Estas três espécies mostraram oscilações muito grandes em seus tamanhos populacionais, padrão não esperado considerando a longevidade de anêmonas-do-mar. As espécies *B. caissarum* e *B. cangicum* mostraram um padrão de recrutamento aparentemente contínuo e pequeno enquanto *A. bermudensis* e *A. cascaia* apresentaram um maior número de jovens principalmente na primavera. Não foi verificado um padrão claro de crescimento corporal das espécies estudadas, devido, possivelmente, à variação no número de indivíduos amostrados em cada mês, ou a uma taxa de crescimento muito pequena para ser detectada no período de um ano. Os microhabitats ocupados pelas espécies foram significativamente relacionados às suas preferências, mostrando que a localização espacial não acontece aleatoriamente.

Bunodosoma caissarum, *B. cangicum* e *Phyllactis flosculifera* foram as espécies escolhidas para as análises genéticas. Cada uma delas teve duas populações amostradas, e as populações de *B. caissarum* foram também organizadas localmente em subgrupos. As três espécies apresentaram altos valores de diversidade genética e todas as populações apresentaram déficits de heterozigotos. Os valores de diferenciação genética encontrados

para *B. caissarum* ($\theta = 0.039$) são significativos, considerando que a espécie apresenta larva planctônica e as populações amostradas estavam separadas por apenas 13 km. Além disso, foi encontrada evidência de estruturação microgeográfica para esta espécie. *Bunodosoma cangicum* apresentou valores baixos de estruturação genética ($\theta = 0.021$) e *P. flosculifera* valores moderados ($\theta = 0.080$). *Phyllactis flosculifera* e *B. cangicum* apresentam populações distantes (1000 km e 1300 km, respectivamente) geneticamente conectadas, o que sugere que ambas as espécies tenham larvas com capacidade de dispersão em grandes distâncias. Todos os indivíduos das populações estudadas das três espécies apresentaram genótipos únicos, o que sugere que nenhuma delas tenha reprodução assexuada.

ABSTRACT

We studied the richness of species, abundance, proportion of juveniles, growth, microhabitat selection, genotypic diversity, genetic variability and structure of intertidal sea anemones between August 2005 and July 2006. Five species were found and their populations were studied in São Sebastião, SP: *Bunodosoma caissarum*, *B. cangicum*, *Anthopleura cascaia*, *Actinia bermudensis* and *Phyllactis flosculifera*. The most abundant ones were *Bunodosoma caissarum*, *B. cangicum* and *Anthopleura cascaia*. These three species showed important oscillations in their populations sizes, a pattern that was not expected considering the long life of sea anemones. *Bunodosoma caissarum* and *B. cangicum* showed small and continuous recruitment, while *A. bermudensis* and *A. cascaia* presented a bigger number of juveniles mainly in the spring. A clear pattern of growth was not observed for any of the species studied, probably due to the variation in populations' size during the study or it could have been caused by a growth rate too small to be detected in one year time. The microhabitats occupied by all five species were related to their preferences, indicating that the spatial distribution found was not at random.

Bunodosoma caissarum, *B. cangicum* and *P. flosculifera* were also genetically analyzed. Each one of them had two populations sampled, and the ones of *B. caissarum* were sampled in subgroups following spatial distribution *in situ*. All the species showed high levels of genetic diversity and all the populations presented a deficit of heterozygotes. The values of genetic differentiation found for *B. caissarum* ($\theta = 0.039$) are significant given the long-lived planktonic larva of the species and the small distance between the samples (13 km) and we also found evidence of microgeographic structuring in this species. *Bunodosoma cangicum* showed low levels of genetic structuring ($\theta = 0.021$) while *P.*

flosculifera presented a moderate value of structuring ($\theta = 0.080$). *Phyllactis flosculifera* and *B. cangicum* present distant populations (1000 km and 1300 km apart, respectively) genetically connected suggesting that both species have larvae capable of good dispersal distances. All of the individuals of the three species showed unique genotypes, suggesting that none of them have asexual reproduction.

INTRODUÇÃO GERAL

População é o termo utilizado para definir um grupo de indivíduos de uma mesma espécie que coexiste numa mesma área e tempo. Cada população apresenta uma organização (ou estrutura) própria, que é resultado de características intrínsecas da espécie, de fatores físicos do ambiente onde ela se encontra, e de interações intra-específicas e interespecíficas. Alguns aspectos importantes da estrutura populacional são: densidade de organismos, espaçamento entre eles, migrações, proporção de indivíduos em diferentes classes etárias, sistema de acasalamento, estrutura genética e disposição em áreas de habitat propício (Ricklefs & Miller, 2000).

Cada espécie possui uma área geográfica de ocorrência potencial, que é determinada pelas tolerâncias fisiológicas e pelas interações biológicas vivenciadas pelo organismo. As populações, então, distribuem-se em habitats adequados dentro desta área geográfica.

Invertebrados marinhos bentônicos sésseis, apesar de não se movimentarem (ou se movimentarem pouco) depois de adultos, se dispersam através de propágulos móveis (Strathmann, 1974; Jockiel, 1984). Desta forma eles podem ocupar amplas áreas geográficas, e são capazes de apresentar migrações importantes entre populações (Hughes *et al.*, 1999; Ayre & Hughes, 2000).

A forma mais importante de dispersão desses invertebrados são as larvas planctônicas. Elas podem ser lecitotróficas, ou seja, dependentes de material embrionário para alimentação, e, portanto, com uma grande limitação de tempo de permanência no plâncton, ou podem ser planctotróficas, capazes de se alimentar enquanto à deriva, e

apresentando desta forma maior potencial de tempo de permanência no plâncton. A amplitude de dispersão e ocupação geográfica desses organismos depende em grande parte da duração das suas larvas, de sua posterior fixação e da sobrevivência pós-fixação (Carlson & Olson, 1993; Hughes *et al.*, 1999; Harrington *et al.*, 2004).

O estabelecimento no ambiente bentônico pode ser indiscriminado, ou seja, a larva se fixa no primeiro substrato que encontrar, ou pode ser seletivo. Neste último caso, as larvas podem ativamente escolher uma determinada altura do costão, com relação ao nível da água, na qual se fixar, como no caso de *Chthamalus montagui* e *C. stellatus* (Jenkins, 2005) e da ascídia colonial *Diplosoma similis* (Stoner, 1992).

No caso de organismos marinhos sésseis do mediolitoral de costões rochosos, os fatores físicos que mais influenciam na ocupação local do ambiente são: incidência solar, temperatura e batimento de ondas (Nybakken, 1997; Levinton, 2001). Os dois primeiros estão relacionados ao fenômeno da dessecação. Cada espécie possui uma tolerância fisiológica própria à exposição ao sol e às altas temperaturas, e será ela a determinante da altura máxima potencialmente ocupada por essa espécie no costão rochoso. Já o último fator está relacionado com o impacto físico sofrido pelos organismos (tanto pela força da água como de objetos por ela trazidos) e também, indiretamente, com a dessecação, pois borrifos de água causados pelas ondas podem retardar o processo de perda de água dos organismos, permitindo a eles a ocupação de uma área mais alta no costão do que lhes seria possível sem as ondas.

Stephenson e Stephenson (1949) notaram a existência de uma zonação constante na região entremarés e dividiram o costão rochoso em faixas, de acordo com as espécies dominantes em cada uma delas. A zona ocupada por cada espécie depende do tempo que

essa área permanece emersa durante a maré baixa e da tolerância fisiológica da espécie. Após este, muitos outros trabalhos relacionaram a tolerância fisiológica das espécies à exposição ao ar com as suas respectivas amplitudes de ocupação do costão rochoso (Southward, 1957; Dayton, 1971; Sebens, 1982b)

Além dos fatores físicos, interações biológicas também determinam a amplitude de distribuição das espécies. A importância da competição interespecífica é ilustrada no trabalho clássico de Connell (1961), onde ele demonstra a exclusão de *Chthamalus stellatus* de zonas inferiores do costão rochoso como resultado de sua interação com indivíduos de *Balanus balanoides*. Já os trabalhos de Paine (1966; 1974) e Sebens (1982b) demonstram a importância da predação na distribuição local de várias espécies de costão rochoso.

Um dos aspectos mais conspícuos da estrutura populacional, além da ocorrência desta em um determinado local e microhabitat, é sua densidade. A densidade local de uma determinada espécie pode ser o resultado da interação de fatores físicos, ciclos sazonais, fecundidade específica, interações intra-específicas e taxa de recrutamento.

Segundo Hayward (2004), quando o espaço é limitado, o que é freqüente em costões rochosos entremareais, a densidade populacional é controlada por fatores bióticos. Entretanto, Duarte e Guerrazzi (2004) relatam diminuição da densidade de poliquetas coloniais devido ao impacto das ondas, sugerindo, desta forma, a importância de fatores físicos.

Stocker e Bergquist (1986) ilustram a importância dos ciclos sazonais na abundância da ascídia colonial *Pseudodistoma novaezelandiae*. Neste trabalho, eles concluem que o ciclo de crescimento intrínseco da espécie interfere mais na abundância

da ascídia do que outros fatores como competição interespecífica, predação, doenças, senescência e distúrbios biológicos e físicos.

O recrutamento local de espécies sésseis do costão rochoso também é muito importante na determinação da densidade das populações (Underwood & Fairweather, 1989). Ele dependerá primeiramente do espaço livre disponível para fixação de novos indivíduos. E no caso de espécies com larva planctônica, estará relacionado também com as correntes marítimas que trazem as larvas. Nessas espécies, a densidade pode ser independente da fecundidade local (Hughes, 1990), e mais dependente das correntes e da interação destas com a configuração geográfica regional (ex: Archambault & Bourget, 1999).

O comportamento larval também interfere nos padrões de densidade locais na hora da fixação. Existem exemplos de juvenis que se fixam entre os adultos (McGrath *et al.*, 1988) ou ainda entre adultos de outra espécie (Sebens, 1981). Esta estratégia está provavelmente relacionada à proteção conferida pelos adultos contra predadores, dessecação e/ou desalojamento por impactos físicos (como, por exemplo, por ondas).

Outro fator influente na manutenção temporal da densidade das populações de invertebrados marinhos sésseis é a taxa de sobrevivência dos indivíduos adultos (Gotelli, 1991). A maioria das espécies de animais marinhos sésseis apresenta sobreposição de gerações, com diferentes coortes coexistindo em locais próximos (Roughgarden *et al.*, 1985; David *et al.*, 1997).

As interações intra-específicas que determinam a existência de um espaçamento entre os indivíduos também interferem na densidade de uma população (Davis & Campbell, 1996). Interações agonísticas geralmente criam uma distância mínima entre os

indivíduos, o que leva a um espaçamento regular. Quanto mais fortes forem essas interações, e, portanto, maior a distância entre os indivíduos, menor a densidade máxima potencial para aquela população.

Outro aspecto importante da organização de uma população é sua estrutura genética. Apesar dos animais sésseis ficarem fixos no substrato, isso não significa que suas populações estejam geneticamente isoladas umas das outras. A troca gênica é garantida pelas larvas planctônicas, pela deriva de adultos e/ou pela deriva de fragmentos reprodutivos (Strathmann, 1974; Jockiel, 1984; Hughes *et al.*, 1999).

Através desses propágulos reprodutivos, genes de organismos sésseis podem ser trocados entre indivíduos distantes até cerca de 1000 km uns dos outros (Kinlan & Gaines, 2003). Ainda segundo os mesmos autores, propágulos de corais podem se deslocar entre 44 e 785 m, enquanto que os de esponjas se deslocam entre 1km e 4km e de bivalves, cracas e anêmonas podem se dispersar a distâncias entre 20 a 500km.

A distância média de dispersão depende dos mecanismos utilizados para tal. No caso de organismos sem larva planctônica a distância não passa de 1 a 10km, dependendo da existência ou não de mecanismos secundários de dispersão (Kinlan & Gaines, 2003). Já no caso de organismos com larva planctônica, os genes podem ser levados de 30 a 100km, dependendo do tipo de larva (lecitotrófica no primeiro caso e planctotrófica no segundo) (Kinlan & Gaines, 2003).

Solé-Cava e Thorpe (1991) encontraram altos valores de heterozigidade em espécies de poríferos e cnidários, o que está de acordo com os dados de Kinlan e Gaines, (2003). O padrão geral encontrado é de que quanto maior a capacidade de dispersão,

menor a estruturação populacional e maior a heterozigosidade das populações (Bohonak, 1999).

O trabalho de Hellberg (1996) também é um exemplo deste padrão geral. Ele estudou uma espécie de coral solitário poedeiro (cuja larva demora mais tempo para se fixar), *Paracyathus stearnsii*, e uma espécie incubadora (cuja larva se fixa mais rapidamente), *Balanophyllia elegans*. Seus resultados indicam que a primeira espécie apresenta populações menos subdivididas do que a segunda, e que as trocas gênicas diminuem com a distância mais fortemente no caso da espécie incubadora.

Ayre *et al.* (1997a) estudaram duas espécies de ascídias coloniais e uma espécie solitária e encontraram valores de heterozigosidade que se relacionam com o tipo de dispersão larval conhecido. As espécies coloniais teoricamente possuem larvas que dispersam menos, e apresentaram deficiências de heterozigotos em suas populações. Já a espécie solitária, com maior capacidade de dispersão, apresentou frequências gênicas em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A estrutura genética das populações marinhas não é, entretanto, apenas resultado do tipo de dispersão da espécie. O fato de populações que se inter cruzam no presente não se apresentarem em equilíbrio esperado por Hardy-Weinberg pode ser resultado de eventos geológicos passados. Estes eventos podem ter sido responsáveis pelo isolamento e posterior diferenciação destas populações que, por sua vez, encontram-se agora em processo de contato secundário (Hilbish, 1996).

Condições locais de hidrografia e diferentes pressões seletivas também podem dificultar trocas gênicas. Dessa forma, podem ser responsáveis pela existência de clinas genéticas entre populações que estão dentro do raio de dispersão potencial de suas larvas

(Burton, 1983; Gutiérrez-Rodríguez & Lasker, 2004; Sotka *et al.*, 2004; Sotka & Palumbi, 2006).

Assim como o potencial máximo de dispersão de uma espécie pode não ser atingido por causa de condições locais, o contrário também é observado. Ou seja, o potencial de dispersão de uma espécie pode ser aumentado através de modos alternativos de deslocamento, como colônias que crescem em material à deriva (Dias *et al.*, 2006).

Mesmo que poucos indivíduos consigam se deslocar por grandes distâncias, esse pequeno fluxo gênico é importante. Ayre e Hughes (2000) demonstram que poucos migrantes por geração são necessários para que subpopulações distantes entre 500 e 1200 km permaneçam panmíticas, embora com razoável diferenciação local.

O modo de reprodução também tem forte influência na estrutura genética de uma população. Muitas populações marinhas apresentam deficiências de heterozigotos, o que pode ser causado pela reprodução assexuada. Os descendentes permanecem próximos do progenitor, levando à endogamia baixa variabilidade.

Entretanto, se os indivíduos apresentarem alta longevidade, mesmo uma população que se reproduz predominantemente de forma assexuada pode apresentar variabilidade compatível com a de uma população sexuada (McFadden, 1997).

Embora não seja o grupo mais abundante, as anêmonas-do-mar são um dos grupos mais conspícuos dos costões rochosos. São cnidários da Classe Anthozoa, subclasse Zoantharia, Ordem Actiniaria, que apresentam apenas a forma polipóide em seu ciclo de vida (Ruppert & Barnes, 1996). Caracterizam-se por pólipos solitários, com duas sifonoglifas, com mais de oito tentáculos e septos, geralmente em ciclos de doze, e cujos tentáculos raramente são apresentados em forma de pena. As anêmonas se

alimentam de pequenas presas presentes no plâncton, principalmente crustáceos devido a sua grande abundância, e também de algumas presas bentônicas móveis. Podem ainda absorver matéria orgânica dissolvida (especialmente importante para anêmonas pequenas e as que se enterram) e muitas vezes apresentam interações com organismos fotossintetizantes (zooxantelas ou zooclorélas) (Shick, 1991).

As anêmonas-do-mar podem apresentar reprodução assexuada através de laceração podal, fissão longitudinal ou fissão transversal. E podem também apresentar reprodução sexuada. Ambas as formas de reprodução podem ocorrer numa mesma espécie. A larva planular ciliada e livre natante pode ser planctotrófica ou lecitotrófica e a expectativa de vida larval varia conforme a espécie (Shick, 1991; Ruppert & Barnes, 1996).

Shick (1991) acredita que o modelo proposto por Williams (1975), no qual a reprodução assexuada garante a multiplicação de genótipos localmente bem adaptados, enquanto a reprodução sexuada permite a dispersão da progênie a locais imprevisíveis, pode ser usado para descrever o padrão reprodutivo de anêmonas.

Há vários trabalhos que evidenciam proliferação local de genótipos em anêmonas-do-mar, tais como os de Shick *et al.* (1979), Sebens (1982a) e Ayre (1985). Entretanto, este fato pode ser explicado tanto pela melhor adaptação local do genótipo (Shick *et al.*, 1979; Ayre, 1985) como também pelo maior tamanho do indivíduo mais antigo na área, o que lhe confere vantagens em disputas territoriais. Agressões entre indivíduos geneticamente diferentes já foram observadas em vários estudos (Ottaway, 1978; Ayre, 1983; Sebens, 1984). Ayre (1983) propôs que estas disputas podem ser utilizadas para

manter o espaço livre de competidores para a fixação da progênie do indivíduo localmente dominante.

Evidências da alta capacidade de dispersão da larva sexuada de antozoários são abundantes (Hunt & Ayre, 1989; Russo & Solé-Cava, 1991; Russo *et al.*, 1994; Edmands & Potts, 1997; McFadden *et al.*, 1997), o que confirma a importância deste modo reprodutivo para a ocupação de novos e imprevisíveis habitats.

Desvios de Hardy-Weinberg são comuns em anêmonas clonais (Ayre, 1983; Bucklin, 1985; Hoffmann, 1986) e podem ser explicados pela replicação assexuada de genótipos, o que diminui a diversidade genotípica sem afetar a heterozigosidade (Shick, 1991). Em *Actinia tenebrosa*, quando cada genótipo é analisado como uma entidade (genet) os desvios desaparecem (Ayre, 1983).

Os valores de variabilidade genética (heterozigosidade e proporção de genes polimórficos) são normalmente altos em anêmonas-do-mar quando comparados a valores de outros animais marinhos (Russo & Solé-Cava, 1991; Solé-Cava & Thorpe, 1991), e não demonstram relação com habitat, modo reprodutivo, tamanho corporal, bioma ou taxonomia (Shick, 1991).

Tendo em vista a importância dos fatores citados na determinação da estrutura populacional, e sabendo-se que o conhecimento desta estrutura é muito importante para a compreensão de padrões de interações biológicas de declínio e aumento populacional (importantes para os esforços de conservação) e também padrões de resposta populacional a alterações ambientais (importantíssimo em áreas de impacto antrópico considerável), o presente trabalho tem como objetivo o entendimento da estrutura populacional de anêmonas-do-mar da região entremarés.

Foram analisados, ao longo de um ano, os aspectos de densidade, tamanho (crescimento) e ocupação preferencial de microhabitat. Além disso, para complementação do estudo, foram feitas análises genéticas através de eletroforese de isozimas para três das espécies estudadas.

OBJETIVOS

Estudos que procuram entender os padrões de estrutura populacional de anêmonas-do-mar são muito escassos, e muitas das espécies que ocorrem no Estado de São Paulo ainda não foram estudadas do ponto de vista ecológico. Neste contexto, os objetivos deste projeto foram:

- Caracterizar a biodiversidade de anêmonas-do-mar da região entremarés em duas praias de São Sebastião, SP.
- Avaliar as populações de anêmonas-do-mar presentes nas duas praias quanto à abundância, proporção de jovens e crescimento dos indivíduos ao longo do ano e seleção de microhabitat.
- Avaliar a variabilidade genética de *Bunodosoma caissarum*, *B. cangicum* e *Phyllactis flosculifera*, com o intuito de entender o grau de estruturação entre as populações.
- Inferir o tipo de reprodução destas três espécies de anêmonas através de análises de diversidade genotípica

Capítulo 1

Estrutura populacional de anêmonas-do-mar do mediolitoral rochoso da região de São Sebastião, SP

1.1. RESUMO

O presente trabalho foi realizado em duas praias do Município de São Sebastião, no litoral norte do Estado de São Paulo, entre agosto de 2005 e julho de 2006 e teve como objetivos analisar a biodiversidade, abundância, recrutamento, crescimento e seleção de microhabitats de anêmonas-do-mar da região entremarés.

Cinco espécies foram encontradas na região estudada: *Bunodosoma caissarum* Corrêa, in Belém, 1988, *Bunodosoma cangicum* Corrêa, in Belém & Preslercravo, 1973, *Anthopleura cascaia* Corrêa, in Dube, 1978, *Phyllactis flosculifera* (Lesueur 1817) e *Actinia bermudensis* McMurrich, 1889. Destas, as três primeiras são as que mais contribuem em densidade para a comunidade de anêmonas. Estas três espécies mostraram oscilações muito grandes em seus tamanhos populacionais, padrão não esperado considerando a longevidade de anêmonas-do-mar.

As espécies *B. caissarum* e *B. cangicum* apresentaram um padrão de recrutamento aparentemente contínuo e pequeno enquanto *A. bermudensis* e *A. cascaia* apresentaram um maior número de indivíduos jovens principalmente na primavera.

Através de medidas do diâmetro podal das anêmonas não foi possível detectar um padrão claro de crescimento corporal. Isto pode ser devido à variação no número de indivíduos amostrados em cada mês ou a uma taxa de crescimento muito pequena para ser detectada no período de um ano.

Todas as espécies estudadas mostraram que selecionam microhabitat, indicando, desta maneira, que a localização espacial dos indivíduos de cada uma delas, no costão rochoso, não ocorre aleatoriamente.

1.2. INTRODUÇÃO

A região entremarés ou mediolitoral é uma área estreita do ambiente costeiro que tem seu limite superior no ponto mais alto atingido pela água durante a maré alta, e seu limite inferior no ponto mais baixo exposto ao ar durante a maré baixa (Levinton, 2001). Dentre os habitats sujeitos à variação de maré, os costões rochosos são as áreas mais densamente ocupadas por macroorganismos e aquelas que apresentam a maior diversidade de espécies animais e vegetais (Nybakken, 1997). Os organismos sésseis que habitam este ambiente são quase que exclusivamente marinhos, mas são obrigados a ficarem emersos por um longo período de tempo em cada ciclo da maré (Raffaelli & Hawkins, 1996; Nybakken, 1997; Levinton, 2001). Quando expostos ao ar, estes organismos ficam sujeitos a variações de temperatura muito mais drásticas do que as marinhas (Helmuth & Hofmann, 2001), e também a variações de salinidade (quando expostos a chuvas fortes ou em contato com água de poças que teve sua salinidade aumentada pela evaporação). Por ser uma região de batimento de ondas, estes organismos estão ainda expostos a estresse mecânico e sujeitos a serem desalojados ou fisicamente danificados (Raffaelli & Hawkins, 1996; Nybakken, 1997; Levinton, 2001).

Devido a estas condições extremamente variáveis, os organismos que habitam a região entremarés normalmente apresentam adaptações para minimizar o estresse físico, como por exemplo, aquelas que permitem melhor resistência à dessecação e ao estresse mecânico, maior tolerância à variação de salinidade e uma melhor manutenção do balanço da temperatura corporal (Nybakken, 1997; Levinton, 2001). Estas adaptações podem ser morfológicas, fisiológicas ou comportamentais e são muito importantes, pois o

estresse corporal causado pelas condições adversas pode, mesmo que em níveis sub-letais, interferir nas interações ecológicas e prejudicar fortemente o indivíduo (Helmuth & Hofmann, 2001).

No âmbito da morfologia, os organismos podem apresentar conchas ou carapaças que quando fechadas impedem completamente a perda de água, como é o caso de alguns moluscos e crustáceos. Outra estratégia é apresentar uma relação superfície/ volume pequena, o que também diminui a dessecação (uma vez que é pela superfície que a perda de água para o ambiente ocorre), por isso muitos animais do entremarés são arredondados, como as anêmonas-do-mar (Newell, 1979).

Os organismos do entremarés tendem a apresentar, fisiologicamente, uma ampla faixa de tolerância térmica e tolerância à dessecação. Uma das estratégias para tal é a presença, dentro da população, de múltiplas enzimas, cada uma com uma resistência térmica diferente. Além disso, os animais podem se aclimatizar, ou ainda podem usar respiração anaeróbia durante exposição aérea, minimizando assim o contato com o ar (Newell, 1979).

Dentre as estratégias comportamentais existe o exemplo das anêmonas que recolhem seus tentáculos e se fecham em cúpula, minimizando a superfície de evaporação. Há também a tática de aglutinar sedimento não consolidado ao corpo, o que, além de diminuir a superfície de evaporação, cria uma camada de ar isolante (Hart & Crowe, 1977). Os animais podem ainda se enterrar na areia úmida, protegendo-se da incidência solar, abaixando a temperatura e também diminuindo a perda de água corporal (Magnum, 1970; Traldi & Schlenz, 1990).

Outra tática utilizada pelos animais do entremarés para diminuir o estresse causado pelas condições adversas é a ocupação de microhabitats que proporcionem condições físicas mais adequadas do que as presentes no seu entorno (Helmuth & Hofmann, 2001). Um buraco na rocha em uma área totalmente exposta ao sol, por exemplo, pode criar uma sombra e assim diminuir significativamente a temperatura em comparação com a rocha exposta. Outro exemplo pode ser uma fenda na rocha, que protege o indivíduo ali fixado contra o batimento das ondas em uma área muito exposta.

O microhabitat ideal depende da massa corporal, morfologia e tamanho do organismo (Richardson *et al.*, 1997; Helmuth & Hofmann, 2001), e, portanto, será diferente para cada espécie.

Os microhabitats favoráveis são também importantes para que organismos que são fisiológica e morfologicamente limitados a áreas estreitas do entremarés possam aumentar sua área de ocupação potencial. Por exemplo, indivíduos de uma espécie com pouca resistência à dessecação normalmente não poderiam se afastar mais do que alguns centímetros da linha da água, porém podem vir a ocupar regiões mais afastadas desde que dentro de poças de maré.

Entretanto, nem sempre um microhabitat adequado é aquele que oferece apenas proteção contra altas temperaturas e dessecação. A disponibilidade de comida ou a facilidade de captura de presas são fatores também importantes. A anêmona *Anthopleura xanthogrammica*, por exemplo, ocupa locais que ficam logo abaixo de bancos de mexilhões, de forma que quando um deles se solta do substrato, é levado pela água até o alcance dos tentáculos do antozoário (Sebens, 1981, 1982c). Além disso, o fluxo de água local pode interferir na deformação dos tentáculos dos animais, e assim diminuir a

taxa de captura de presas (Wolcott & Gaylord, 2002). Por outro lado, um fluxo local muito pequeno pode levar a uma baixa disponibilidade de presas. Ottaway (1980) inclusive propõe que a quantidade de alimento ingerido, no caso da anêmona *Actinia tenebrosa*, depende mais do local de fixação do indivíduo do que da disponibilidade de plâncton na água.

Uma forte evidência da importância da fixação em um local adequado para o organismo é a existência de seleção larval de habitat. (Stoner, 1992; Jenkins, 2005)

Mesmo após a fixação, se o local não é adequado, o organismo pode buscar outro ponto para se estabelecer, locomovendo-se (Ottaway, 1978) ou soltando-se do substrato (Shick, 1991). Há exemplos também de troca de microhabitat de acordo com fase ontogenética, quando o melhor local de fixação para o adulto não é igual ao do recruta. Desta forma, após atingir o tamanho adulto o indivíduo pode se realocar (Sebens, 1981).

Outro fator que pode interferir na determinação de um microhabitat ideal é a interação com simbiontes. Quando existe este tipo de relação, é necessário que o habitat seja adequado para ambas as espécies envolvidas. Portanto, no caso da interação com organismos fotossintetizantes, o microhabitat ideal é aquele que, além de suas outras características, recebe luz solar.

As anêmonas-do-mar são cnidários sésseis da Classe Anthozoa e Ordem Actiniaria. São um grupo conspícuo nos costões rochosos do mundo todo, inclusive no Estado de São Paulo (Traldi & Schlenz, 1990). São organismos solitários que se alimentam de pequenas presas presentes no plâncton e também de presas móveis, além de terem a capacidade de absorver matéria orgânica dissolvida e de muitas espécies apresentarem endossimbiontes fotossintetizantes (Shick, 1991).

Os actiniários são animais de vida longa, com uma média de 50 anos de idade, podendo chegar aos 210 anos (Ottaway, 1980; Shick, 1991). Desta forma, o padrão geral encontrado nas populações naturais é o de sobreposição de gerações.

Dependendo das condições ambientais e da disponibilidade de alimento, as anêmonas podem crescer, diminuir ou simplesmente manter o seu tamanho. Chomsky *et al.* (2004) observaram uma diminuição do tamanho corporal de indivíduos da espécie *Actinia equina* quando submetidos a altas temperaturas, possivelmente devido a um maior gasto metabólico com a respiração. Coma & Ribes (2003), por sua vez, observaram que anêmonas entram em dormência no Mediterrâneo quando expostas a uma baixa disponibilidade de alimento.

Considerando a sua longevidade, é esperado que as anêmonas apresentem taxas de crescimento baixas, especialmente depois de atingirem o tamanho adulto. Estudos realizados em campo corroboraram esta expectativa (Ottaway, 1980; Sebens, 1980, 1983), enquanto outros trabalhos em laboratório observaram taxas de crescimento altas (Bucklin, 1985; Holbrook & Schmitt, 2005).

As anêmonas podem se reproduzir assexuada ou sexuadamente e algumas espécies podem apresentar os dois tipos de reprodução dependendo das condições ambientais (Shick, 1991; Ruppert & Barnes, 1996).

No caso das anêmonas que se reproduzem assexuadamente, o padrão populacional é normalmente agregado, pois os clones permanecem próximos dos pais (Shick *et al.*, 1979). A estratégia de reprodução assexuada possibilita um crescimento rápido de populações com genótipos bem adaptados localmente (Williams, 1975). Existem estudos, inclusive, que observaram comportamentos agonísticos entre indivíduos

geneticamente diferentes, enquanto que um reconhecimento mútuo de clones idênticos permite o convívio sem atritos (revisão em Shick, 1991).

Já na reprodução sexuada, a larva é livre natante e ciliada (Ruppert & Barnes, 1996). O padrão primitivo de alimentação da larva é planctotrófico, mas algumas espécies apresentam larva lecitotrófica (Shick, 1991). No primeiro caso o potencial de dispersão é maior, mas mesmo uma larva lecitotrófica pode viajar distâncias da ordem de dezenas de quilômetros (Kinlan & Gaines, 2003).

Assim, considerando as peculiaridades físicas e bióticas da região entremarés de costões rochosos e a ocorrência de anêmonas-do-mar neste habitat, este trabalho tem por objetivo a compreensão de aspectos da estrutura populacional como densidade, proporção de jovens e tamanho (crescimento), além de localização preferencial das espécies destes cnidários no mediolitoral rochoso da região de São Sebastião, SP.

1.3. MATERIAL E MÉTODOS

1.3.1. Áreas de Estudo

O presente trabalho foi realizado em duas praias do Município de São Sebastião, no litoral norte do Estado de São Paulo. Na praia de Barequeçaba foi estudado o costão norte, enquanto que na praia Grande foi estudado o costão sul. As duas praias apresentam baixa exposição à ação das ondas e sedimentos finos (Denadai *et al.*, 2005). Ambas estão localizadas no Canal de São Sebastião e a distância entre elas é de aproximadamente 1600 metros. (Figuras 1 a 3).



Figura 1. Vista do canal de São Sebastião, SP, com a localização das duas praias estudadas: Praia Grande e Barequeçaba. Imagem de satélite.

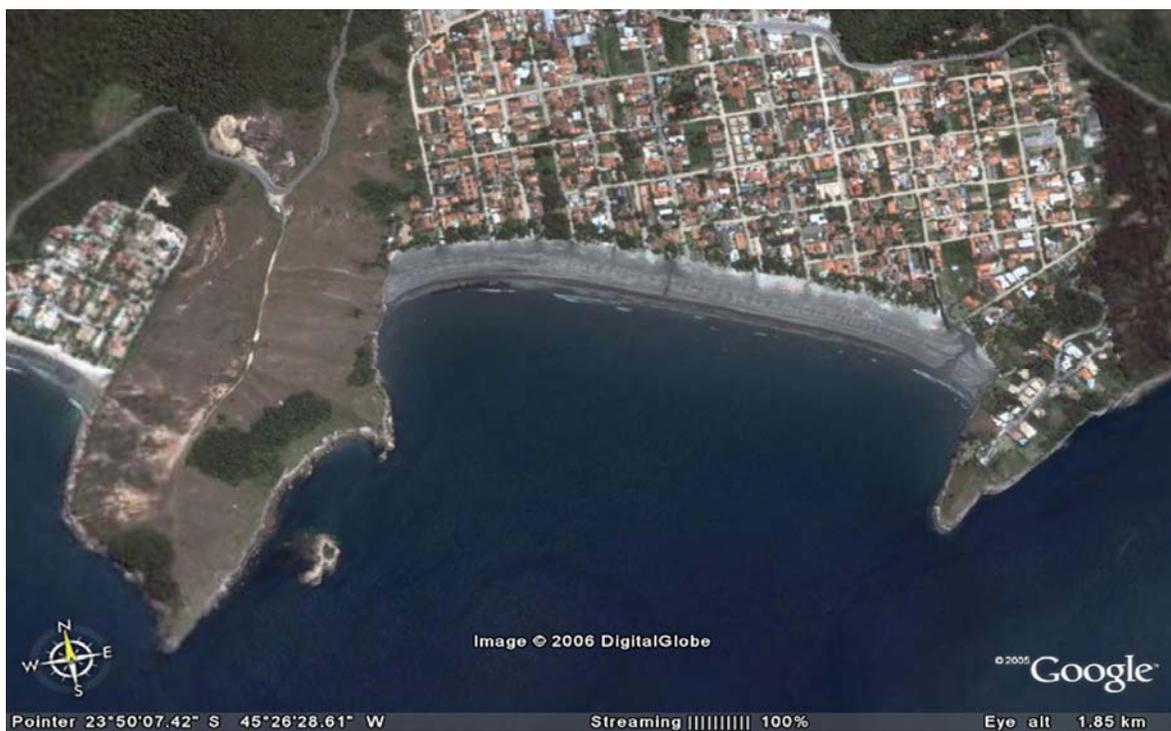


Figura 2. Vista da praia de Barequeçaba, em São Sebastião, SP. Imagem de satélite.

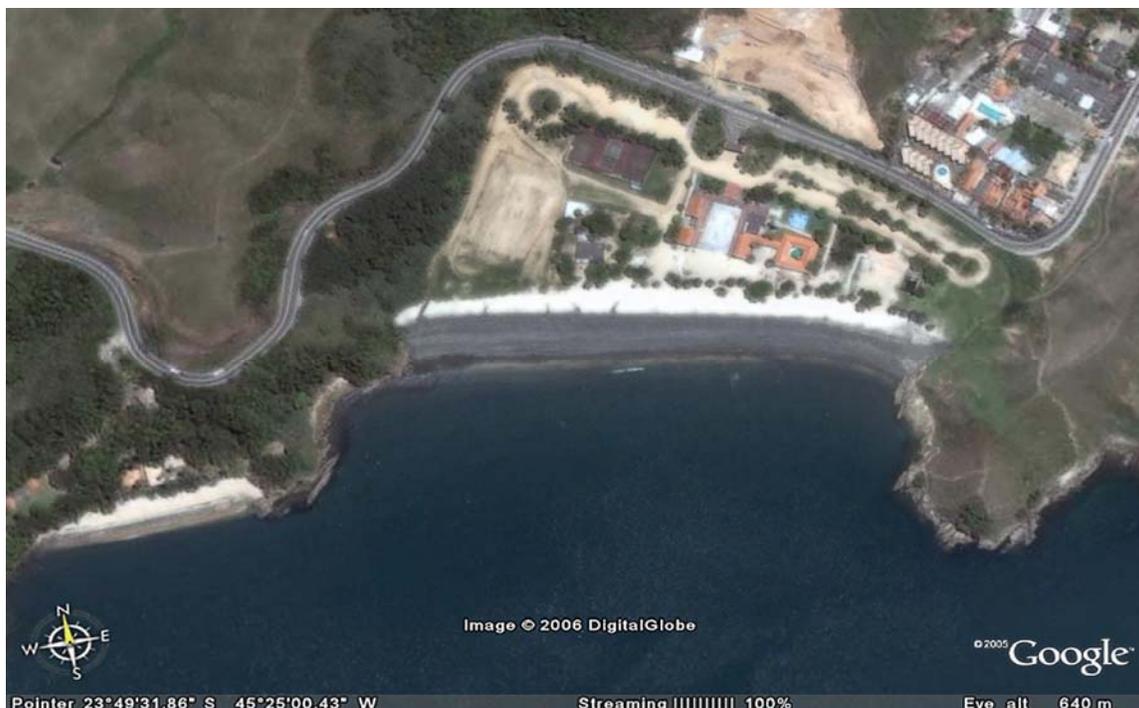


Figura 3. Vista da praia Grande, em São Sebastião, SP. Imagem de satélite.

A área do costão norte da praia de Barequeçaba utilizada neste estudo apresenta aproximadamente 250 m². É composta de muitas rochas de tamanhos médio e grande, fixas no solo, que nem sempre ficam totalmente expostas por ocasião da maré baixa (Figuras 4 e 5).

A área estudada do costão sul da praia Grande também apresenta cerca de 250 m², com uma região considerável de rocha contínua, e diversas rochas de tamanho grande fixas no solo (Figura 6).

1.3.2. *Coleta de Dados*

As amostragens foram feitas na região entremarés dos costões rochosos das áreas de estudo entre agosto de 2005 e julho de 2006, com o intuito inicial de terem uma periodicidade mensal. Entretanto, devido às condições do mar, as coletas de dados foram

realizadas com sucesso apenas nos meses de agosto, setembro e novembro de 2005 e janeiro, março, abril, junho e julho de 2006.



Figura 4. Costão norte da praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP.

Por ocasião das amostragens, cada anêmona encontrada, além de identificada a nível específico, era medida com o auxílio de um paquímetro com precisão de 0,1cm. Nas espécies fixadas em sedimento consolidado, a medida tomada foi a do diâmetro do disco podal. Entretanto, no caso de *Phyllactis flosculifera* (Lesueur 1817), a medida tomada foi do diâmetro da região oral exposta, já que o disco podal nesta espécie se encontra sempre encoberto por areia ou fixado dentro de cavidades inalcançáveis da rocha. A medida desta espécie foi tomada sem que o indivíduo fosse tocado, evitando-se assim sua contração.



Figura 5. Costão norte da praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP.



Figura 6. Costão sul da praia Grande, São Sebastião, SP.

Todos os indivíduos eram catalogados também quanto à ocupação de microhabitats. Para tal foram definidas seis categorias de microhabitats utilizados pelas anêmonas-do-mar: face horizontal de rocha, face lateral de rocha, face inferior de rocha, interface rocha/areia, buraco de rocha e fenda de rocha (Tabela 1).

Tabela 1. Categorias de microhabitats ocupados pelas anêmonas-do-mar

Categoria de microhabitat	Abreviação	Descrição
Face horizontal de rocha	HR	superfície exposta e paralela ao solo
Face lateral de rocha	LR	superfície perpendicular ao solo
Face inferior de rocha	IR	superfície paralela ao solo, mas de forma que a anêmona que o ocupa apresenta a região podal numa altura superior à dos tentáculos, os quais por sua vez ficam projetados para baixo
Interface rocha/areia	R/A	região onde a areia envolve a rocha, de tal forma que o animal se fixa nesta, mas a coluna fica recoberta pela areia, expondo apenas os tentáculos do animal
Buraco de rocha	BR	área fortemente côncava da rocha
Fenda de rocha	FR	fenda na própria rocha, ou região entre duas rochas que se tocam, formando uma espécie de entalhe

Para entender se o microhabitat ocupado por cada espécie era o resultado de sua preferência e não simplesmente um estabelecimento aleatório no habitat, foi feita uma estimativa da disponibilidade de microhabitats nas áreas de estudo para relacionar com a ocupação real de cada espécie. Desta forma, em cada um dos costões foram sorteadas

aleatoriamente 20 parcelas de 1m² nas quais foram medidas (em cm²) as áreas de cada uma das seis categorias de microhabitats determinadas. Posteriormente essas medidas foram extrapoladas para o total da área e transformadas em proporções.

1.3.3. Análise dos Dados

Para análise de abundância ao longo do ano, os indivíduos foram divididos em adultos e juvenis. Foram considerados adultos os indivíduos de *Actinia bermudensis* (McMurrich, 1889), *Bunodosoma caissarum* Corrêa, in Belém, 1988 e *Bunodosoma cangicum* Corrêa, in Belém & Preslercravo, 1973 com diâmetro podal acima de 1,5 cm, enquanto os indivíduos de *Anthopleura cascaia* Corrêa, in Dube, 1978 foram considerados adultos com diâmetro podal maior que 1,2 cm. As categorias foram criadas arbitrariamente, porém baseadas nos trabalhos de Ottaway (1979), Sebens (1980) e Belém (1988). Os dois primeiros autores consideraram, respectivamente, *B. caissarum* e *Actinia tenebrosa* (mesmo gênero e tamanho aproximado de *A. bermudensis*, embora esta última seja um pouco menor) como sendo adultos a partir de 1,5 cm de diâmetro podal. Como *B. cangicum* possui tamanho aproximado de *B. caissarum*, o mesmo critério foi aplicado para esta espécie. Sebens (1980) considerou *Anthopleura elegantíssima* (mesmo gênero de *A. cascaia*) como adulto a partir de 1,2 cm. A separação em duas categorias não foi feita para *P. flosculifera* porque o número de indivíduos encontrados foi muito pequeno.

Não foram feitas análises estatísticas para comparar as médias de tamanho do diâmetro podal dos indivíduos (e diâmetro da região oral, no caso de *P. flosculifera*), pois os dados não apresentaram homogeneidade de variâncias e nem normalidade. Além

disso, o número de indivíduos medidos variou muito ao longo dos meses, o que acarretou dificuldades apontadas na discussão.

Para comparar as proporções de microhabitats utilizados pelas espécies com as proporções de microhabitats disponíveis nas áreas estudadas, os dados foram transformados em ASen (arco seno) e em seguida foram feitos testes de Qui-quadrado de aderência com proporções desiguais. Desta forma é possível saber se a ocupação diferencial se deu por preferência das espécies a determinados microhabitats ou pela simples disponibilidade diferencial dos diferentes tipos de microhabitats. Os testes foram realizados através do programa BioStat 4.0.

1.4. RESULTADOS

1.4.1. Riqueza e Abundância

Foram encontradas cinco espécies de anêmonas de região entremarés nas áreas estudadas durante o período compreendido entre agosto de 2005 e julho de 2006 (Figura 7). Três destas espécies ocorreram nas duas praias: *Bunodosoma caissarum* Corrêa, in Belém, 1988, *Bunodosoma cangicum* Corrêa, in Belém & Preslercravo, 1973 e *Anthopleura cascaia* Corrêa, in Dube, 1978. A espécie *Phyllactis flosculifera* (Lesueur 1817) foi encontrada apenas em Barequeçaba e *Actinia bermudensis* (McMurrich, 1889) somente na praia Grande. As espécies ocorreram em todos os meses amostrados, exceto *P. flosculifera* que não foi encontrada no mês de abril de 2006.

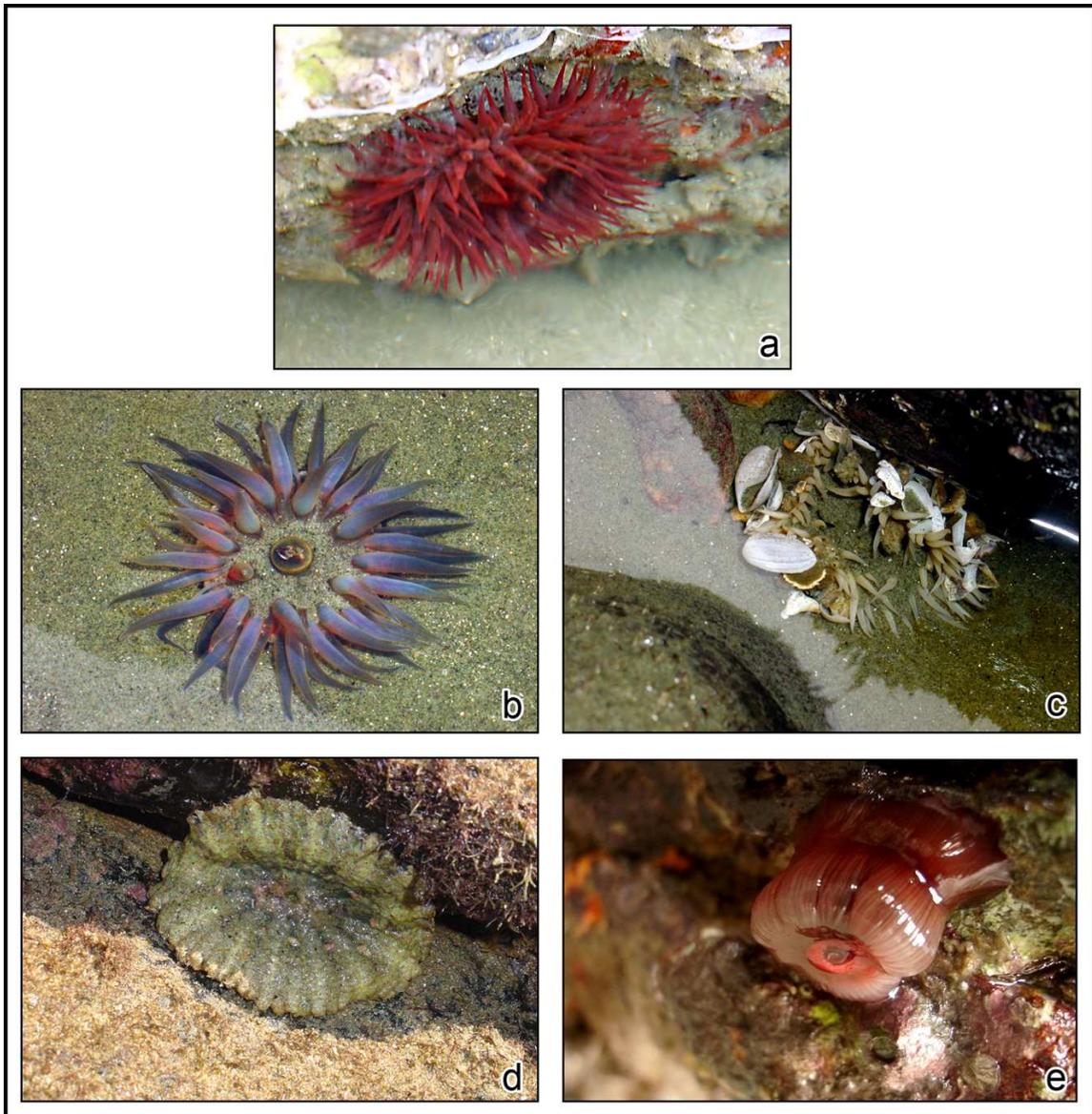


Figura 7. Indivíduos das cinco espécies encontradas nas áreas de estudo. (a)*Bunodosoma caissarum*; (b)*Bunodosoma cangicum*; (c)*Anthopleura cascaia*; (d)*Phyllactis flosculifera*; (e)*Actinia bermudensis*.

As espécies *B. cangicum*, *A. cascaia* e *P.flosculifera* são encontradas em regiões próximas à linha da água, na maioria das vezes rente à areia. Assim, quando a maré não desce, elas ficam submersas. Como as praias estudadas apresentam sedimento fino, a água fica turva com qualquer agitação do mar e maré menos propícia, dificultando incrivelmente a localização e mensuração destes indivíduos (Figuras 8 e 9). Por este motivo apenas foram consideradas as amostragens que puderam ser feitas com segurança

da qualidade dos dados obtidos: agosto, setembro e novembro de 2005 e janeiro, março, abril, junho e julho de 2006.



Figura 8. Indivíduo da espécie *Bunodosoma cangicum* parcialmente coberto por areia

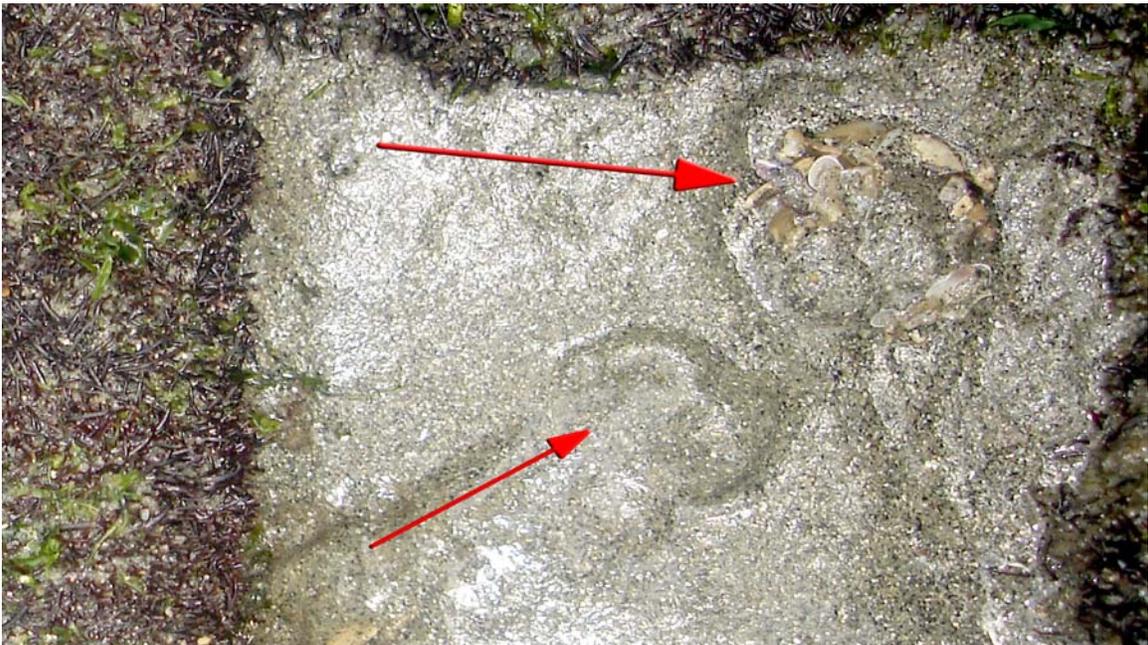


Figura 9. Indivíduos de anêmonas-do-mar totalmente cobertos por areia. As setas indicam a localização dos animais.

As Figuras 10 e 11 mostram a variação da abundância de indivíduos encontrados em cada praia ao longo do período amostrado. Em ambas as praias houve um aumento do número de indivíduos de *B. caissarum*, *B. cangicum* e *A. cascaia* na primavera de 2005 (meses de setembro e novembro) seguido de uma queda desses números em janeiro de 2006. Na praia de Barequeçaba as três espécies apresentaram uma segunda queda acentuada em abril, seguida de uma recuperação em junho. Já na praia Grande os números permaneceram relativamente constantes a partir de janeiro até o final das amostragens. As espécies *P. flosculifera* e *A. bermudensis* apresentaram populações pequenas e constantes durante todo o período estudado, exceto pela ausência de indivíduos de *P. flosculifera* em abril. Esta espécie nunca apresentou mais de 15 indivíduos, e *A. bermudensis* nunca mais de 25.

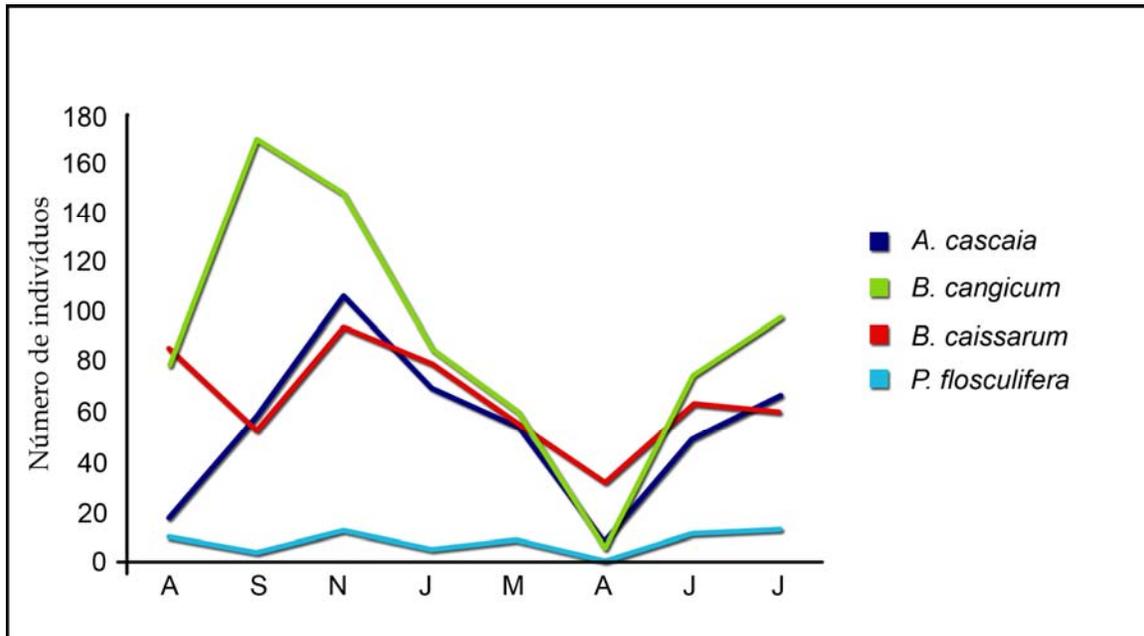


Figura 10. Variação do número de indivíduos de quatro espécies de anêmonas-do-mar na praia de Barequeçaba, SP, no período de Agosto de 2005 a Julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. Eixo x=meses do ano.

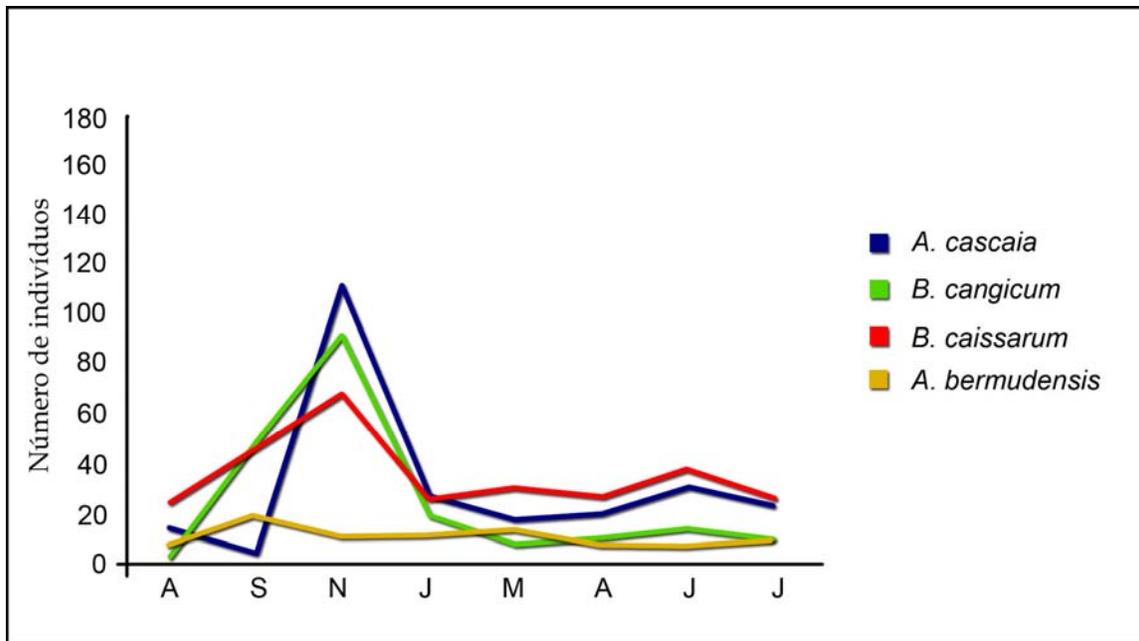


Figura 11. Variação do número de indivíduos de quatro espécies de anêmonas-do-mar na praia Grande, São Sebastião, SP, no período de Agosto de 2005 a Julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. Eixo x=meses do ano.

As Figuras 12 a 18 apresentam os dados de tamanho populacional de cada uma das espécies, exceto *P. flosculifera*, ao longo do ano nas categorias de juvenis e adultos.

A população de *A. bermudensis* apresentou mais juvenis do que adultos em três dos meses estudados (setembro, janeiro e junho). Pela Figura 18 percebe-se aporte de recrutas na população nos meses mais quentes. Este padrão de entrada de juvenis foi também observado nas duas populações de *A. cascaia* (Figuras 12 e 13), embora, diferentemente de *A. bermudensis*, elas tenham apresentado mais adultos do que juvenis. As populações de *B. caissarum* e *B. cangicum* (Figuras 14 a 17) apresentaram um número muito maior de adultos do que de jovens ao longo de todo o ano. Em nenhuma das duas espécies foi possível detectar uma época do ano específica na qual tenha havido um maior aporte de recruta nas populações. Houve uma entrada pequena e contínua de jovens ao longo de todo o ano.

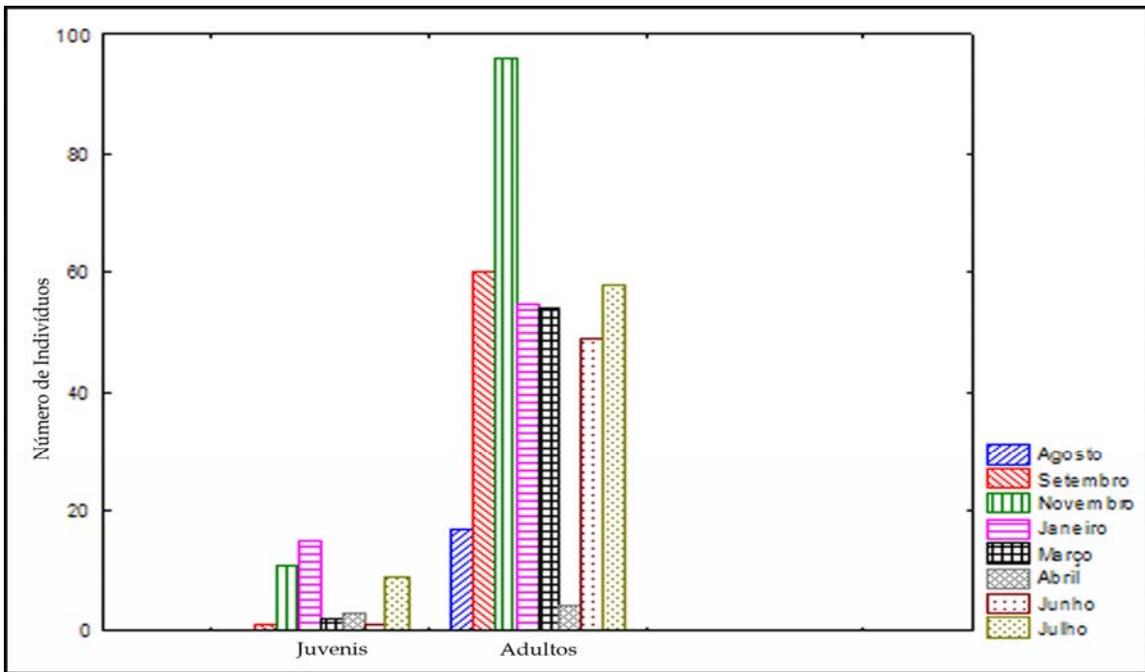


Figura 12. Número de indivíduos de *A. cascaia* na praia de Barequeçaba, em São Sebastião, separados em duas categorias: Juvenis (indivíduos < 1,2cm de diâmetro podal) e adultos (indivíduos > 1,2cm de diâmetro podal); entre agosto de 2005 e julho de 2006.

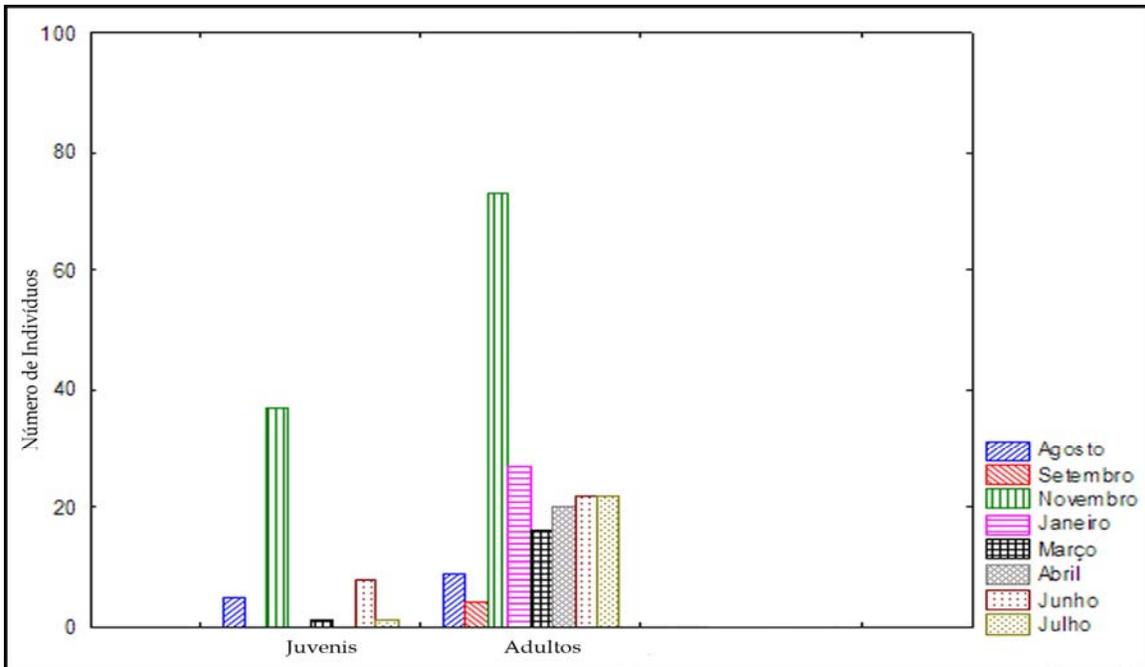


Figura 13. Número de indivíduos de *A. cascaia* na praia Grande, em São Sebastião, separados em duas categorias: Juvenis (indivíduos < 1,2cm de diâmetro podal) e adultos (indivíduos > 1,2cm de diâmetro podal); entre agosto de 2005 e julho de 2006.

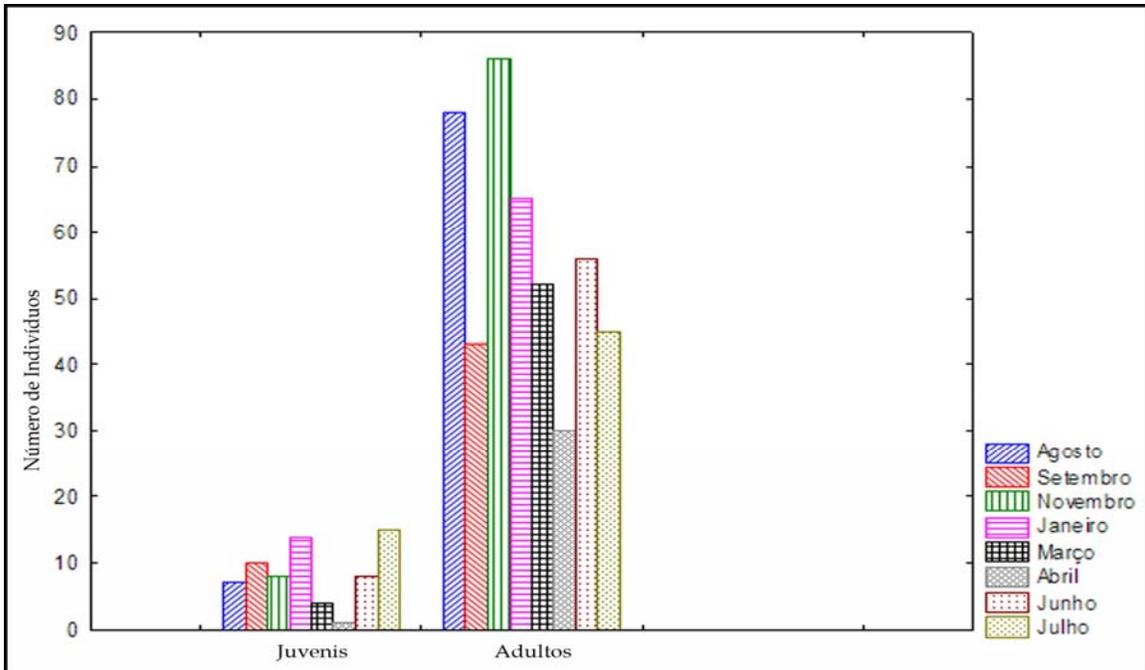


Figura 14. Número de indivíduos de *B. caissarum* na praia de Barequeçaba, em São Sebastião, separados em duas categorias: Juvenis (indivíduos < 1,5cm de diâmetro podal) e adultos (indivíduos > 1,5cm de diâmetro podal); entre agosto de 2005 e julho de 2006.

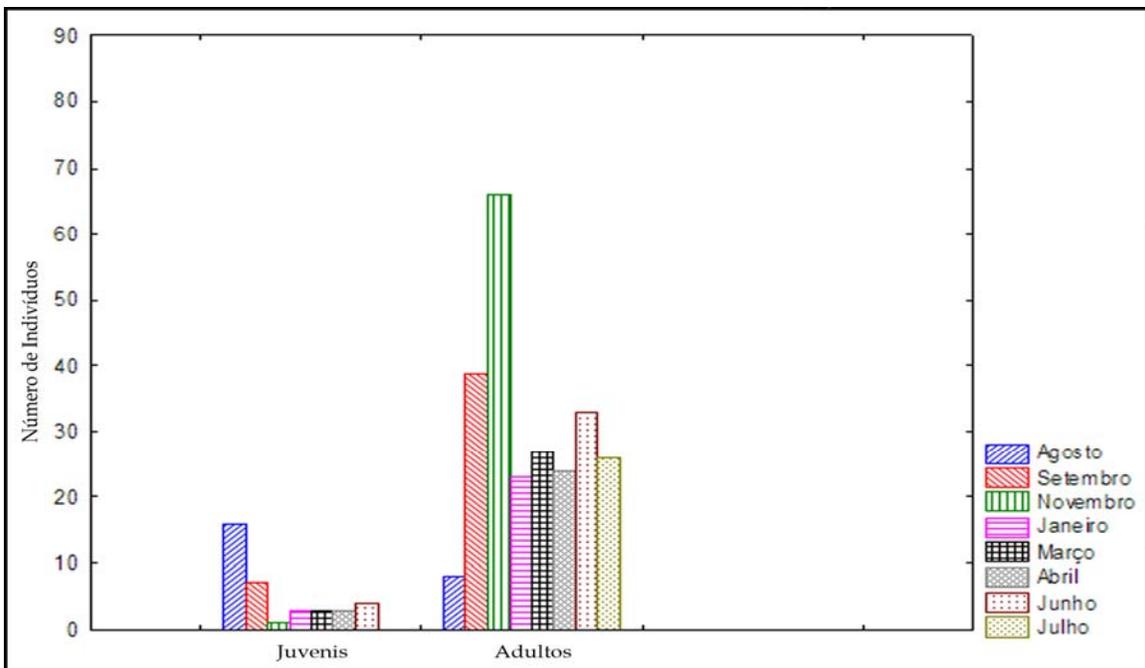


Figura 15. Número de indivíduos de *B. caissarum* na praia Grande, em São Sebastião, separados em duas categorias: Juvenis (indivíduos < 1,5cm de diâmetro podal) e adultos (indivíduos > 1,5cm de diâmetro podal); entre agosto de 2005 e julho de 2006.

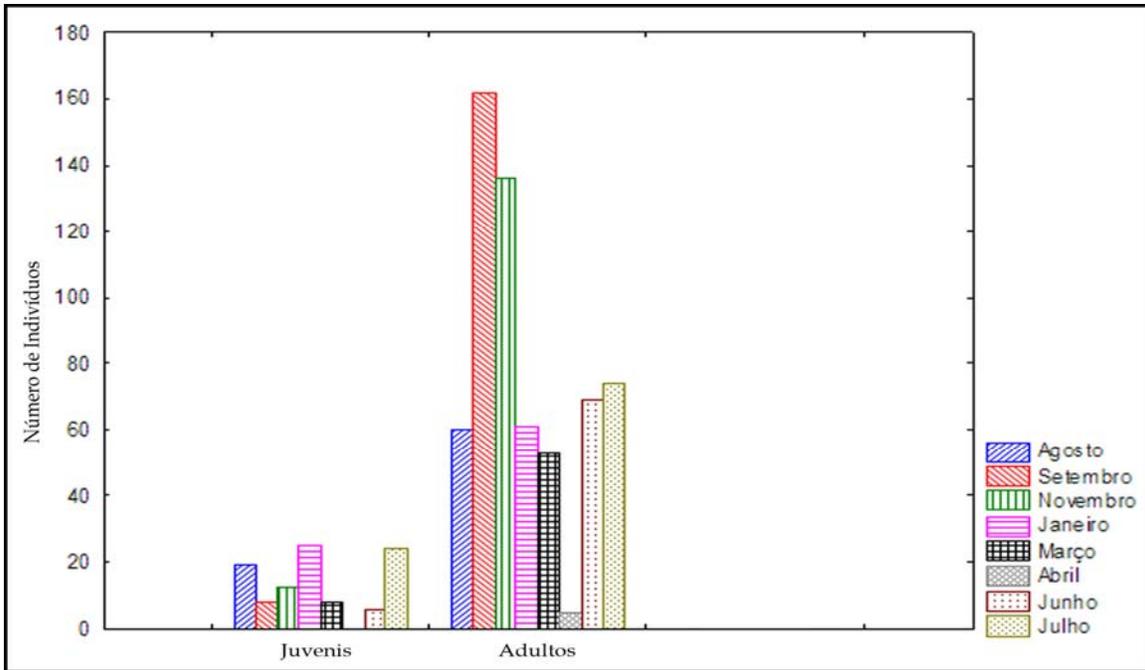


Figura 16. Número de indivíduos de *B. cangicum* na praia de Barequeçaba, em São Sebastião, separados em duas categorias: Juvenis (indivíduos < 1,5cm de diâmetro podal) e adultos (indivíduos > 1,5cm de diâmetro podal); entre agosto de 2005 e julho de 2006.

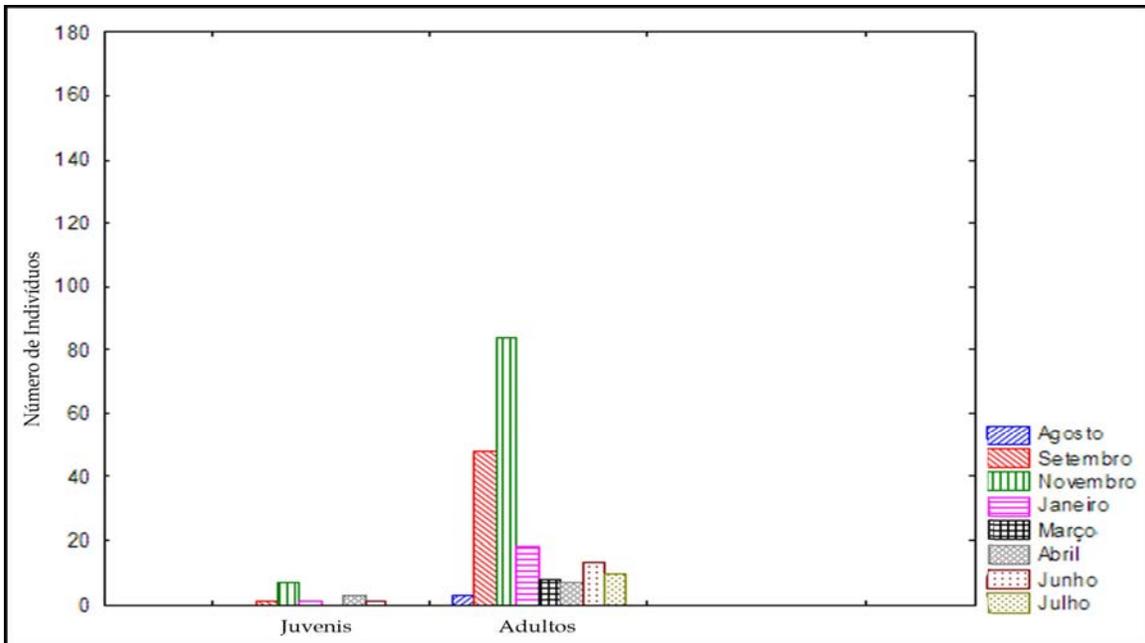


Figura 17. Número de indivíduos de *B. cangicum* na praia Grande, em São Sebastião, separados em duas categorias: Juvenis (indivíduos < 1,5cm de diâmetro podal) e adultos (indivíduos > 1,5cm de diâmetro podal); entre agosto de 2005 e julho de 2006.

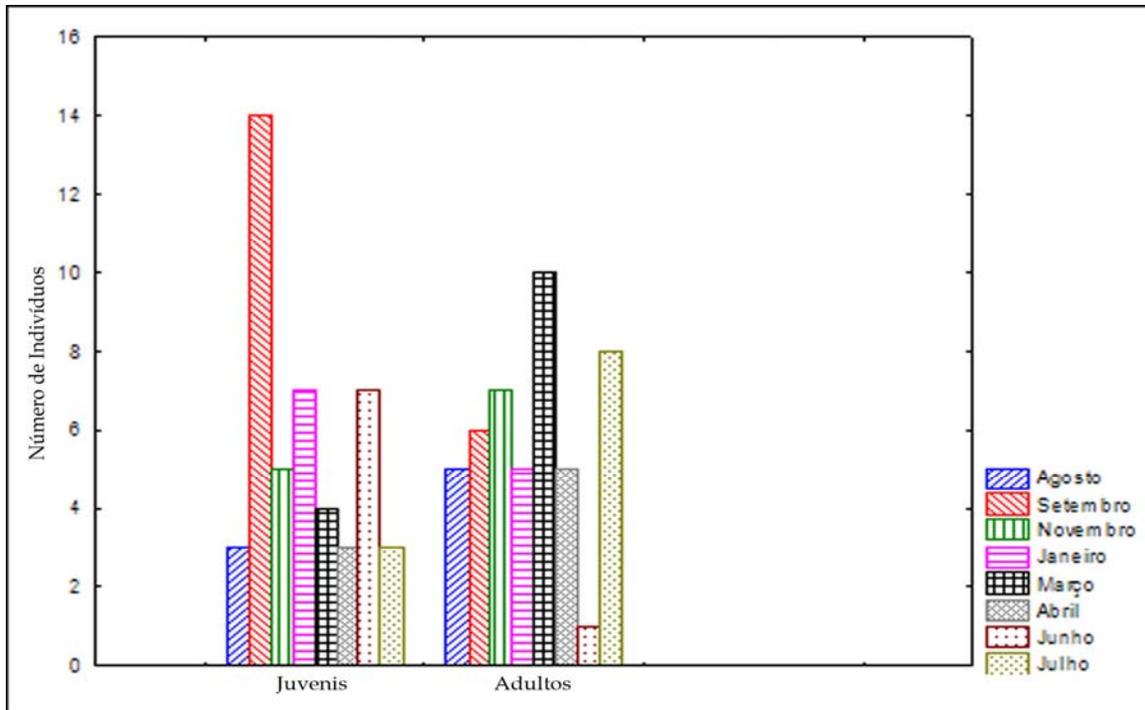


Figura 18. Número de indivíduos de *A. bermudensis* na praia Grande, em São Sebastião, separados em duas categorias: Juvenis (indivíduos < 1,2cm de diâmetro podal) e adultos (indivíduos > 1,2cm de diâmetro podal); entre agosto de 2005 e julho de 2006.

A medida da área amostrada foi a mesma nas duas praias, aproximadamente 250m², e a constituição das duas é muito semelhante quanto aos microhabitats disponíveis. Desta forma é possível utilizar o número de indivíduos como medida direta (sem a necessidade de dividi-lo pela área) para comparar a densidade de anêmonas entre as praias (Figura 19).

Os dados indicam que ao longo do ano a densidade de indivíduos foi maior em Barequeçaba do que na praia Grande. Isso exceto pelo mês de abril, quando a densidade da comunidade de anêmonas (todas as espécies somadas) foi praticamente igual nas duas localidades. Neste mês houve uma queda no tamanho das populações de anêmonas em Barequeçaba, principalmente para *B. cangicum*, *A. cascaia* e *P. flosculifera* (Figura 10), o que fez com que o número de indivíduos ficasse próximo do encontrado na praia Grande.

As Figuras 10 e 11 mostram que o número de indivíduos das três espécies que ocorrem nas duas áreas foi sempre maior em Barequeçaba, exceto em Abril.

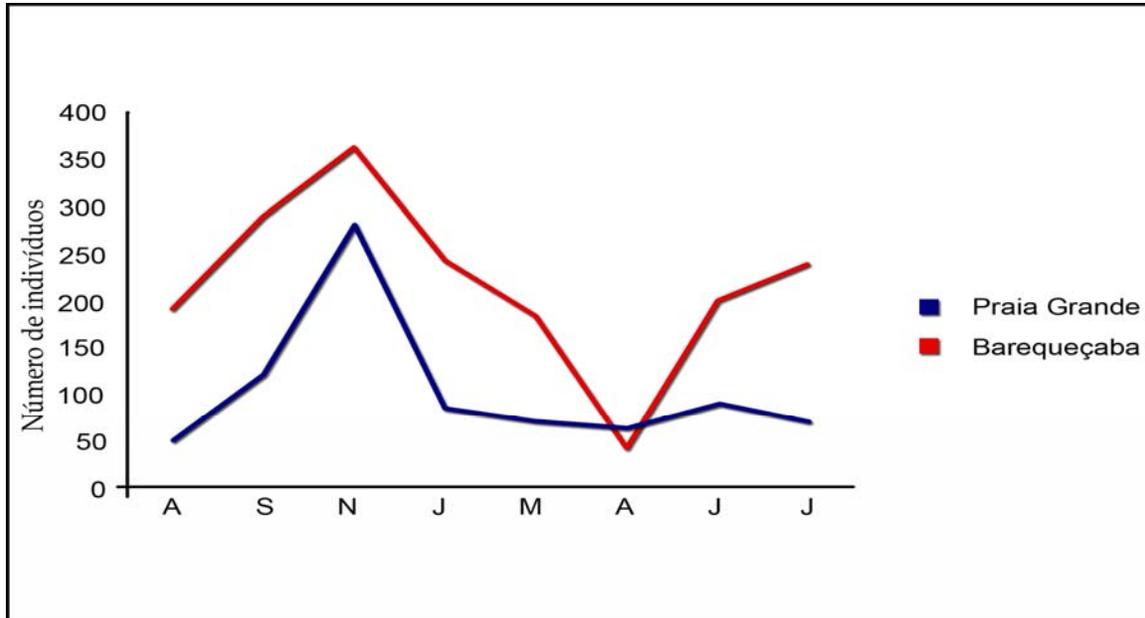


Figura 19. Número de indivíduos de anêmonas-do-mar encontrados nas praias de Barequeçaba e Grande, em São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho.

1.4.2. Contribuição para a Comunidade

Nas duas praias a proporção de cada espécie dentro da comunidade de anêmonas foi relativamente estável nos meses amostrados (Figuras 20 e 21).

Em Barequeçaba as três espécies mais abundantes (*B. caissarum*, *B. cangicum* e *A. cascaia*) apresentaram contribuições razoavelmente semelhantes para a comunidade (cerca de 30% cada uma), enquanto *P. flosculifera* representou menos de cinco por cento de todas as anêmonas da região entremarés.

Na praia Grande *B. cangicum* representou cerca de 15% da comunidade de anêmonas, *B. caissarum* aproximadamente 40%, *A. cascaia* cerca de 30% e *A. bermudensis* 15%.

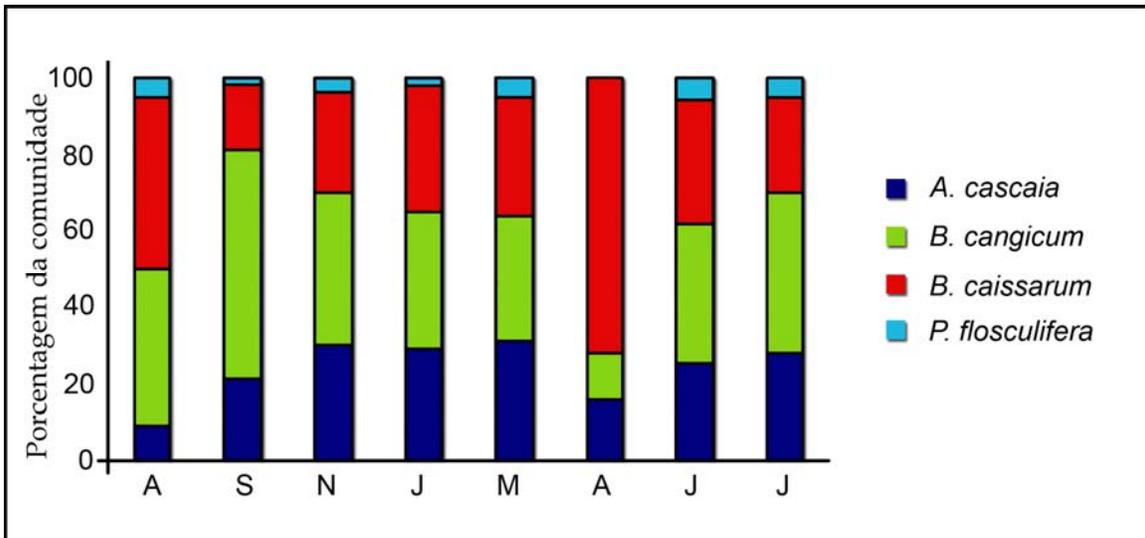


Figura 20. Proporção da contribuição, em número de indivíduos, das quatro espécies encontradas para a comunidade de anêmonas-do-mar da praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP. Eixo x=meses do ano (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho.

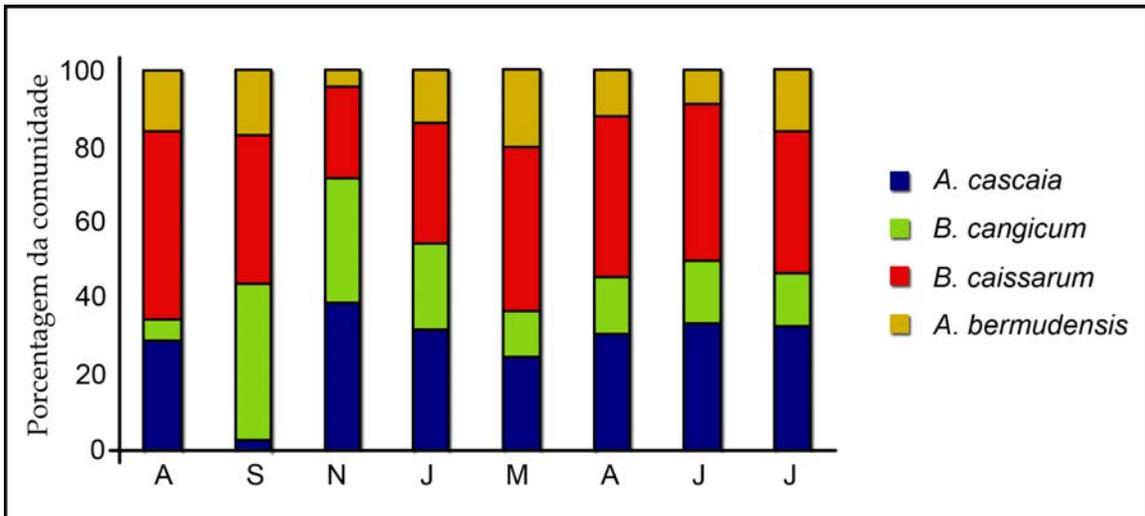


Figura 21. Proporção da contribuição, em número de indivíduos, das quatro espécies encontradas para a comunidade de anêmonas-do-mar da praia Grande, São Sebastião, SP. Eixo x=meses do ano (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho.

Nas duas praias, as espécies mais abundantes na comunidade são *B. caissarum*, *B. cangicum* e *A. cascaia*, e existe uma quarta espécie com contribuição marginal (*P. flosculifera* no caso de Barequeçaba e *A. bermudensis* na praia Grande).

1.4.3. Tamanho dos Indivíduos

As médias das medidas do diâmetro do disco podal de cada uma das espécies em cada mês em cada localidade estão representadas nas Figuras 22 a 29. Estão também representados o erro e desvio padrão de cada média.

Anthopleura cascaia apresentou uma amplitude semelhante nas duas praias, exceto por setembro na praia Grande quando a média foi maior do que o padrão (3,3 cm). Em Barequeçaba a mínima foi de 1,5cm (em abril) e a máxima de 2,2cm (em agosto) (Figura 22). Na praia Grande as médias ficaram entre 1,6cm (em novembro) e 2,1cm (em junho) (Figura 23). Nas duas praias houve uma queda próximo ao final da primavera e uma segunda queda no início do outono.

As médias do diâmetro podal de *B. caissarum* foram no geral maiores em praia Grande do que em Barequeçaba. Na primeira praia o padrão foi de uma variação entre 2,4cm (em julho) a 2,8cm (em novembro), com a ocorrência de uma média muito mais baixa do que o padrão dos demais meses em agosto (1,4cm) (Figura 25). Em Barequeçaba as médias ficaram entre 1,9cm (em julho) a 2,4cm (em agosto) (Figura 24). O mês de julho apresentou uma média baixa nas duas praias, enquanto os meses de novembro e março apresentaram médias altas também nas duas áreas estudadas. Agosto apresentou resultados conflitantes, com média alta em Barequeçaba e média muito baixa na praia Grande.

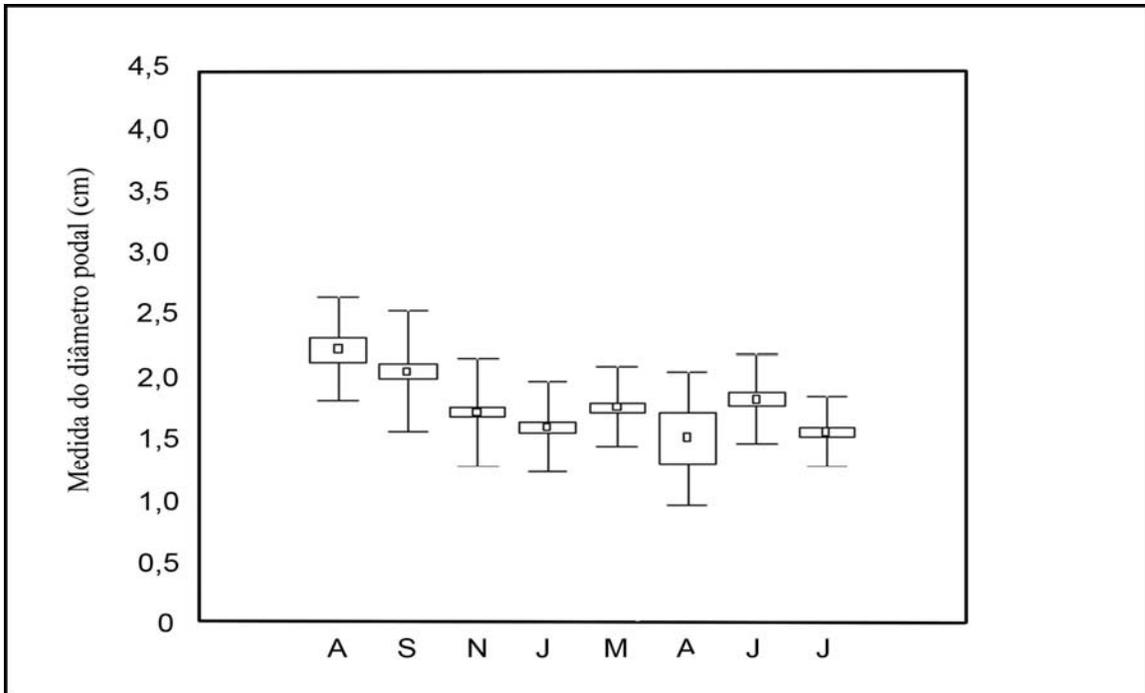


Figura 22. Medida do diâmetro podal dos indivíduos de *A.cascaia* na praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

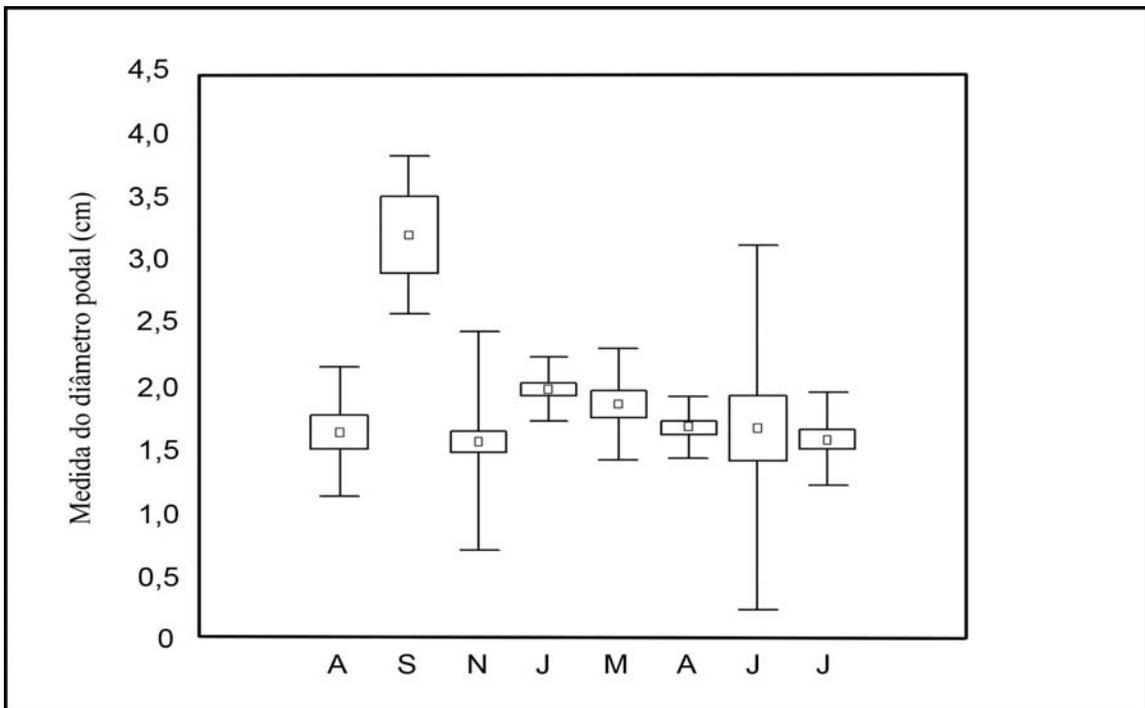


Figura 23. Medida do diâmetro podal dos indivíduos de *A.cascaia* na praia Grande, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

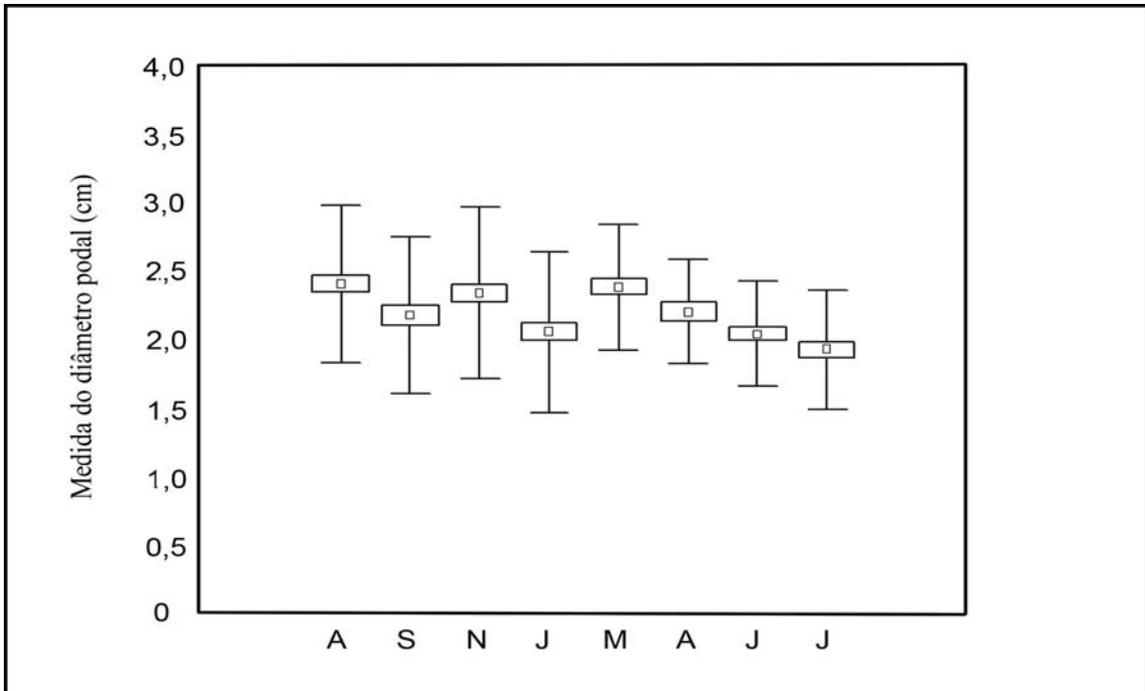


Figura 24. Medida do diâmetro podal dos indivíduos de *B.caissarum* na praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

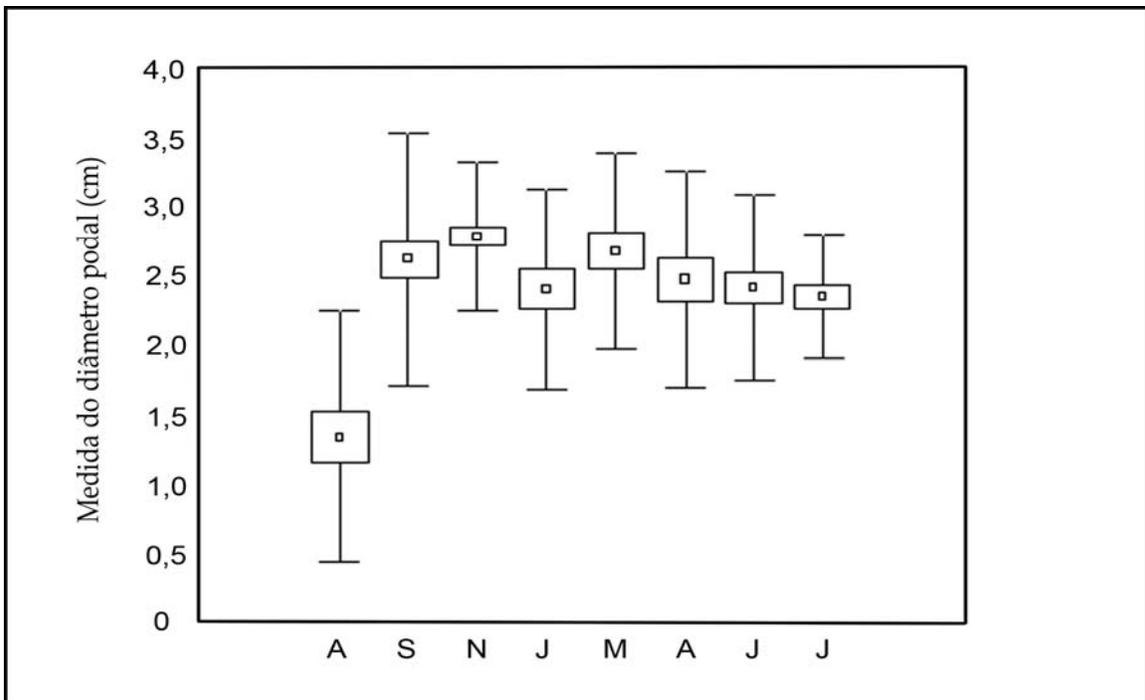


Figura 25. Medida do diâmetro podal dos indivíduos de *B.caissarum* na praia Grande, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

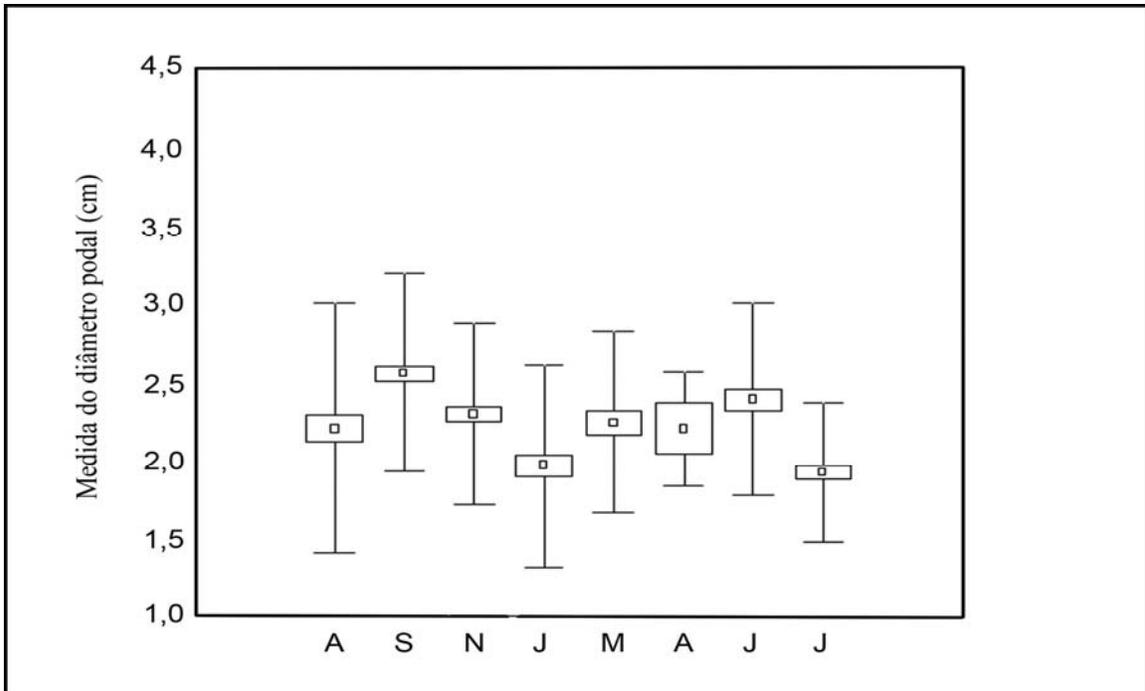


Figura 26. Medida do diâmetro podal dos indivíduos de *B.cangicum* na praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

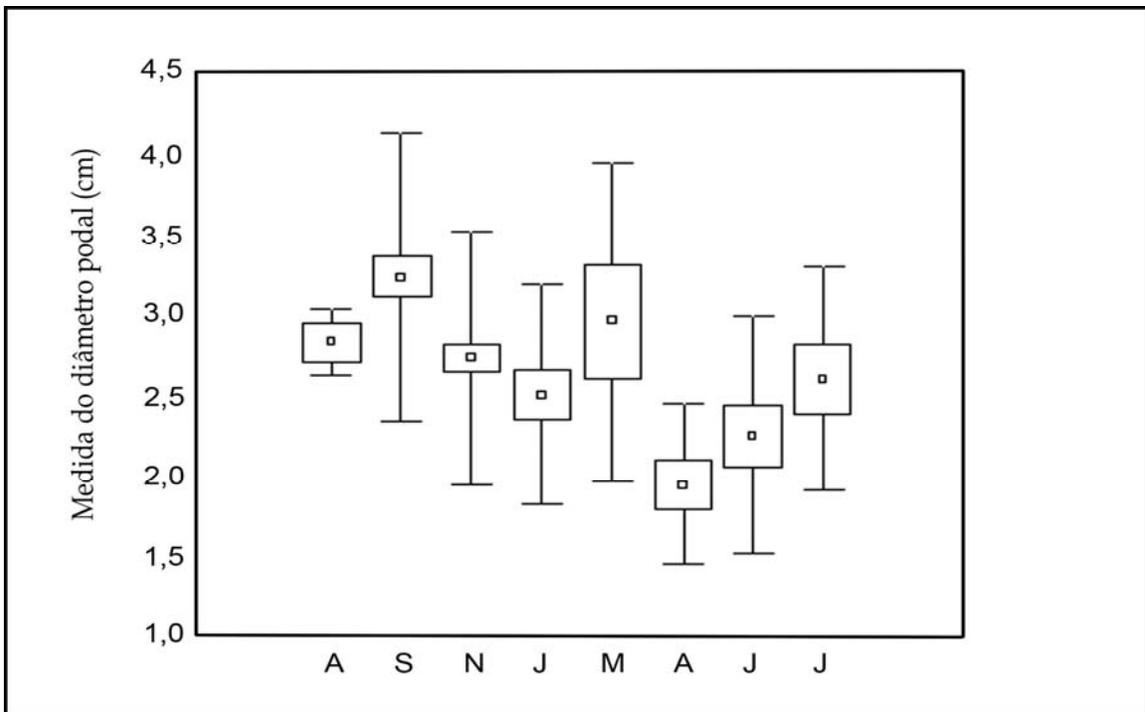


Figura 27. Medida do diâmetro podal dos indivíduos de *B.cangicum* na praia Grande, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

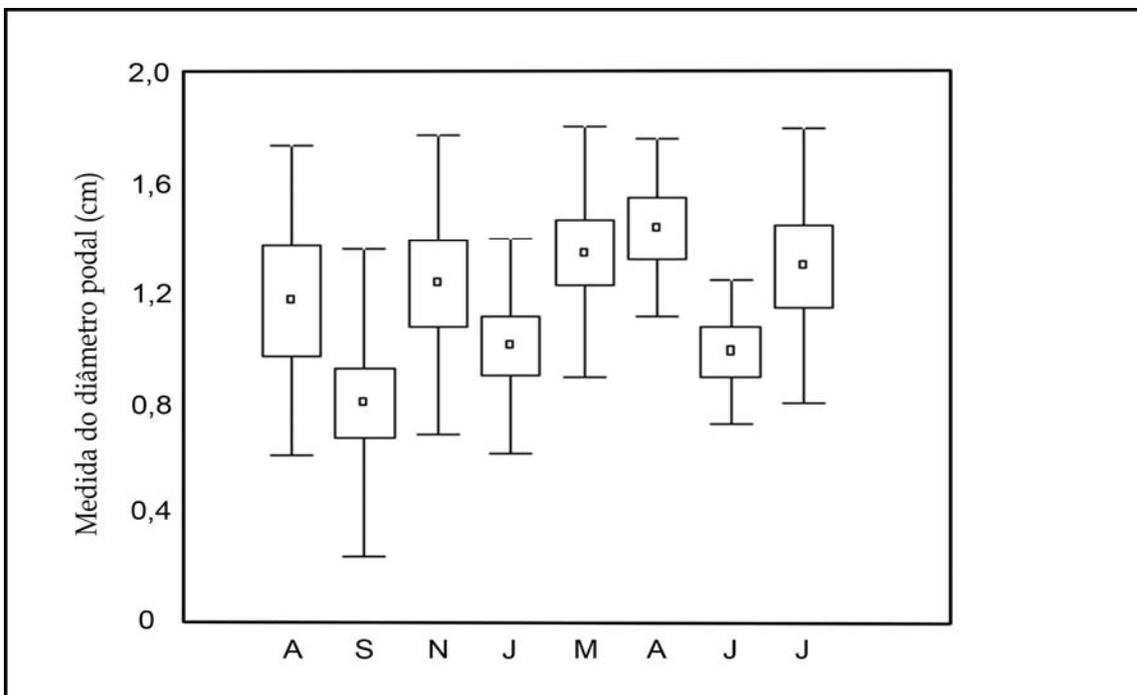


Figura 28. Medida do diâmetro podal dos indivíduos de *A.bermudensis* na praia Grande, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

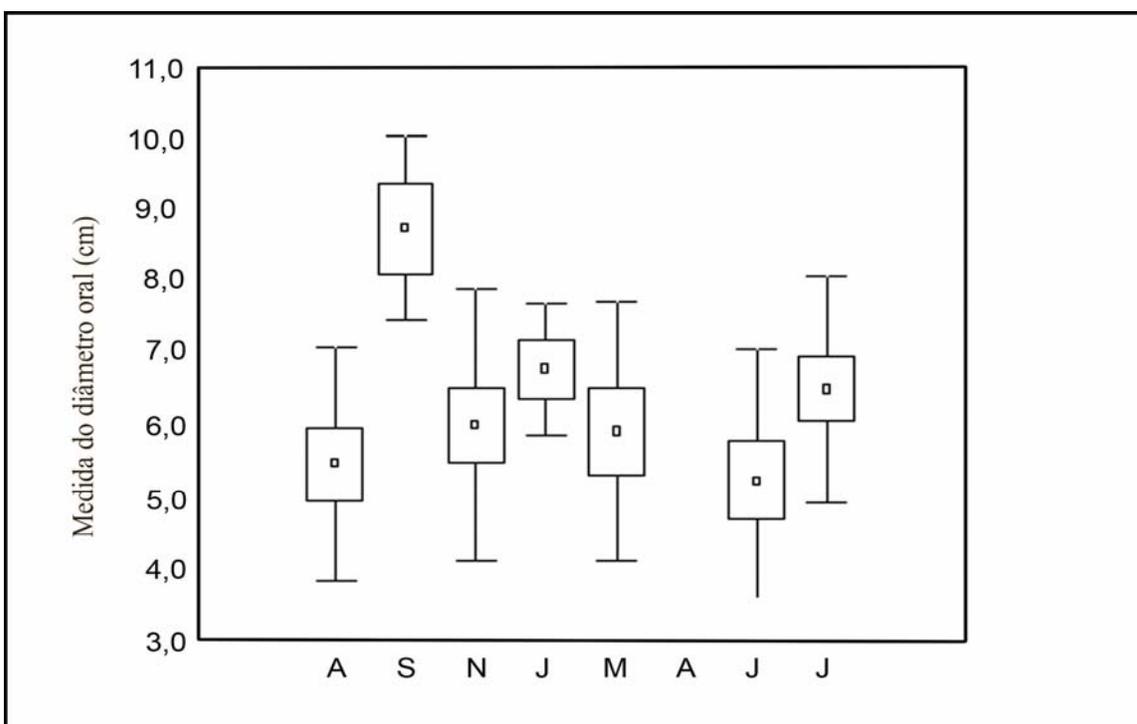


Figura 29. Medida do diâmetro da região oral exposta dos indivíduos de *P.flosculifera* na praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP, entre agosto de 2005 e julho de 2006. (A) agosto, (S) setembro, (N) novembro, (J) janeiro, (M) março, (A) abril, (J) junho, (J) julho. (◻ média; ◻ erro padrão; I desvio padrão).

As médias do diâmetro podal de *B. cangicum* apresentaram uma amplitude de variação maior na praia Grande, onde a mínima foi próxima de 1,9cm (em abril) e máxima em torno de 3,3cm (em setembro) (Figura 27). Em Barequeçaba as médias ficaram entre 1,9cm (em julho) e 2,5cm (em setembro) (Figura 26). As maiores médias para esta espécie ocorreram em setembro, tanto na praia Grande quanto em Barequeçaba. Março também foi um mês de médias altas, enquanto janeiro foi um pico de queda nas duas áreas. No geral as médias foram maiores na praia Grande do que em Barequeçaba.

Actinia bermudensis teve sua média mais alta em abril (em torno de 1,4cm) e sua média mais baixa em setembro (em torno de 0,8cm). (Figura 28).

Phyllactis flosculifera apresentou sua maior média de diâmetro oral em setembro (8,9cm) e sua menor média em junho (5,2cm). Entretanto, é importante ressaltar que o número de indivíduos amostrados para esta espécie foi pequeno em todos os meses (Figura 29).

1.4.4. Ocupação e Preferência por Microhabitats

As duas praias apresentaram proporções semelhantes de microhabitats disponíveis, como pode ser visto na Figura 30.

A ocupação de microhabitat está expressa em porcentagem nas Tabelas 2 e 3. As espécies estudadas apresentaram uma ocupação diferencial de microhabitat nas áreas estudadas. *Bunodosoma caissarum* foi predominantemente encontrada em face inferior de rocha e face lateral de rocha, enquanto *B. cangicum* foi encontrada principalmente na interface rocha/areia nas duas áreas.

Anthopleura. cascaia ocupava preponderantemente a interface rocha/areia e fendas de rocha em ambas as praias (Tabelas 2 e 3).

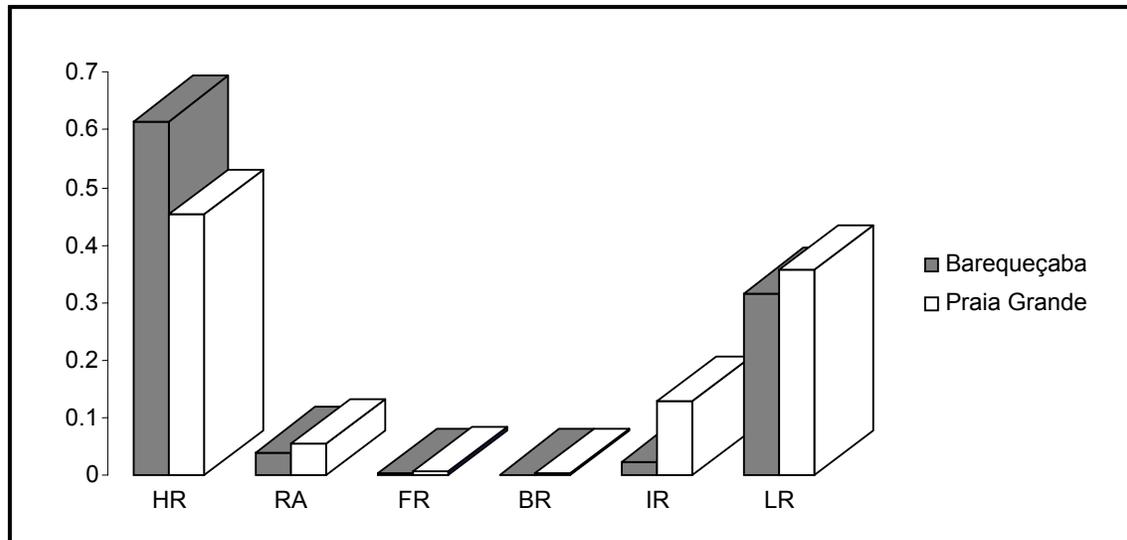


Figura 30. Proporção de microhabitat disponível nas praias de Barequeçaba e Grande, em São Sebastião, SP. **(HR)** face superior de rocha; **(RA)** interface rocha/areia; **(FR)** fendas de rocha; **(BR)** buracos de rocha; **(IR)** face inferior de rocha; **(LR)** face lateral de rocha.

Phyllactis flosculifera foi encontrada em apenas três categorias de microhabitats determinados. Ocorreu mais comumente na interface rocha/areia e fendas de rocha, e apenas no mês de setembro foi registrada em superfície horizontal de rocha (Tabela 2).

Actinia bermudensis foi encontrada quase exclusivamente em face inferior de rocha, exceto por três meses nos quais foi registrada, em pequena proporção, também em face lateral de rocha (Tabela 3).

Todos os valores de qui-quadrado foram significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha= 5\%$ e $gl=5$). Através destes resultados ficou evidente que *B. caissarum* prefere o ambiente de face inferior de rocha nas duas praias (Tabelas 4 e 5), já que a ocupação desta categoria foi proporcionalmente muito maior do que sua disponibilidade. Ficou claro também, pelas Tabelas 4 e 5, que existe uma rejeição desta espécie pela face horizontal de rocha, já que foi o único tipo de microhabitat cuja disponibilidade foi proporcionalmente maior do que a ocupação.

Bunodosoma cangicum, por sua vez, apresentou preferência pela interface rocha/areia e fendas de rocha para se fixar, como mostram os altos valores do quadrado representados nas Tabelas 6 e 7. Foi possível perceber também a rejeição de face horizontal de rocha como microhabitat para fixação (Tabelas 6 e 7).

O ambiente de face horizontal de rocha também foi rejeitado pela espécie *A. cascaia*. Esta categoria de microhabitat, apesar de sua grande disponibilidade nas áreas estudadas, apresentou praticamente nenhuma ocupação pela espécie. Nas duas praias esta espécie apresentou uma preferência por fendas de rocha (Tabelas 8 e 9). Em Barequeçaba ficou evidente a preferência também por buracos de rocha e interface rocha/areia, sendo esta última a menos importante das três. Já em praia Grande a interface rocha/areia foi a segunda categoria de microhabitat preferida pela espécie, enquanto curiosamente buraco de rocha apresentou uma ocupação quase nula (exceto pelos meses de novembro e março).

A espécie *P. flosculifera*, presente apenas em Barequeçaba, apresentou uma preferência evidente por interface rocha/areia e fendas de rocha (Tabela 10). Exceto pelo mês de setembro, quando foi registrada sua ocorrência também em face horizontal de rocha, a espécie não foi encontrada em nenhuma das outras categorias de microhabitat definidas.

Actinia bermudensis apresentou preferência por face inferior de rocha (Tabela 11), como já havia ficado evidente devido a sua ocupação quase que exclusiva deste microambiente (Tabela 3).

1.5. DISCUSSÃO

1.5.1. Riqueza e Abundância

As cinco espécies de anêmonas-do-mar encontradas neste estudo são comumente observadas no entremarés rochoso do Estado de São Paulo (Corrêa, 1964; Traldi & Schlenz, 1990). *Bunodosoma cangicum*, *Bunodosoma caissarum*, *Anthopleura cascaia* e *Actinia bermudensis* foram inclusive citadas por Corrêa (1964) como espécies que frequentemente ocorrem juntas no mesmo local.

Todas as espécies apresentaram variação no número de indivíduos nas suas populações ao longo do ano. As três mais abundantes (*B. caissarum*, *B. cangicum* e *A. cascaia*) mostraram oscilações muito grandes em seus tamanhos populacionais, enquanto as espécies *Phyllactis flosculifera* e *A. bermudensis* sofreram variações menores.

Phyllactis flosculifera apresentou um número de indivíduos muito pequeno porque as praias estudadas não dispõem de áreas grandes com ambiente propício para esta espécie. Os indivíduos de *P. flosculifera* são normalmente encontrados em locais com areia um pouco mais grossa e muitas pedras pequenas. Em Barequeçaba há uma pequena região que atende estes requisitos e é exatamente neste pequeno local que os indivíduos desta espécie foram encontrados. No entanto, como a área é pequena, a densidade populacional também o é.

Como as anêmonas geralmente têm vida muito longa (Ottaway, 1980; Shick, 1991) não é esperado um padrão de oscilação sazonal no número de indivíduos da população. Em todas as espécies variações no número de indivíduos ocorreram tanto na categoria de jovens quanto na categoria de adultos. Este padrão encontrado não era

esperado, já que as anêmonas têm vida muito longa e acompanhamentos populacionais feitos anteriormente (Ottaway, 1979; 1980; Sebens, 1982c, 1983) relataram pouquíssima variação no número de adultos. Nestes estudos, o número de adultos permaneceu com número de indivíduos estável por até três anos. A semelhança do presente trabalho com estes estudos anteriores é a oscilação no número de juvenis, que já havia sido relatada por estes autores e foi atribuída à alta taxa de predação sofrida pelos novos recrutas.

Nas duas praias houve um aumento do número de indivíduos no início do verão, fato que foi também observado por Sebens (1982c). Entretanto, o aumento observado por este autor ocorreu por causa da entrada de novos recrutas na população, já o aumento do tamanho populacional observado no presente estudo se deu tanto no número de jovens quanto no de adultos.

Predação por outros animais não é uma explicação plausível para a diminuição do número de anêmonas nas populações estudadas, pois o número de adultos dificilmente é tão afetado (Ottaway, 1979; 1980; Sebens, 1983). Contudo, um fator que pode ter causado quedas nos tamanhos populacionais observados é a ação humana. As duas praias são bastante freqüentadas por banhistas e coletores de animais de costão rochoso, e o tráfego de pessoas na área onde estão as anêmonas é grande. E é interessante notar que nas duas áreas houve uma queda grande nos tamanhos populacionais no final do verão, após a época em que há o maior número de pessoas na praia.

Entretanto, além da queda observada após os meses de verão, a população de adultos aumentou e diminuiu rapidamente ao longo do ano. E como as anêmonas demoram em torno de dois anos para atingirem a maturidade (Ottaway, 1980; Sebens,

1980), não se pode atribuir o aumento do número de adultos de um mês para o outro ao crescimento corporal de jovens.

Uma possível explicação para a oscilação do número de indivíduos encontrados durante a realização do presente trabalho é a variação no aporte de sedimentos ao longo do ano. Muitos indivíduos ficam fixados no substrato consolidado próximo ao solo, e quando há um aumento da quantidade de areia trazida pelo mar, podem ficar soterrados (Figuras 8 e 9). Donohue *et al.* (2003) estudaram o efeito do aporte de sedimentos numa comunidade bentônica e observaram que há uma diminuição na quantidade de indivíduos da comunidade após o acréscimo de grandes quantidades de sedimento no sistema.

As anêmonas do entremarés possuem uma grande capacidade de ficarem soterradas e permanecerem vivas (Corrêa, 1964; Magnum, 1970; Traldi & Schlenz, 1990), e, desta forma, uma variação na quantidade de sedimento ao longo dos meses pode levar a uma oscilação no número de anêmonas visíveis e passíveis de serem amostradas pelo pesquisador.

Esta situação pode ocorrer principalmente com as espécies *B. cangicum*, *A. cascaia* e *P. flosculifera*, pois são as que ficam mais próximas da linha da água e do sedimento não consolidado.

Entretanto, *B. caissarum* e *A. bermudensis* se fixam em locais mais altos do que as outras três, e ficam normalmente a uma distância maior da areia. Logo, para estas duas últimas espécies, o sedimento não teria feito uma grande diferença no tamanho populacional. *Actinia bermudensis* apresentou, de fato, uma população razoavelmente estável, porém *B. caissarum* apresentou grandes oscilações.

Em alguns locais de fácil reconhecimento, como uma das faces de uma grande pedra em Barequeçaba, foi notado, ao longo do período de estudo, que indivíduos adultos de *B. caissarum* desapareciam em um determinado mês e outros indivíduos adultos (ou os mesmos) reapareciam alguns meses depois (ou já no mês seguinte). Esta situação nunca foi descrita antes para anêmonas-do-mar.

Estes animais possuem a capacidade de locomoção pedal, mas estudos anteriores relataram deslocamentos de apenas poucos centímetros (Ottaway & Thomas, 1971; Ottaway, 1978; Shick, 1991). As anêmonas também podem mudar de local de fixação no momento de transição da fase jovem para a adulta (Sebens, 1981, 1982c), um processo conhecido como seleção secundária de habitat. Neste caso as anêmonas podem se soltar do substrato e se fixar novamente. Entretanto, este é um processo que se acredita ocorrer apenas uma vez na vida (ou poucas vezes) e não frequentemente.

Durante o trabalho de campo para realização do presente estudo foi observado um indivíduo adulto de *Actinia bermudensis* se soltar da rocha onde estava fixado quando esta foi retirada de dentro da água. Esta observação, somada aos desaparecimentos e aparecimentos de adultos observados nos meses de estudo, sugere que os indivíduos adultos de anêmonas-do-mar têm maior capacidade de escolha de seu local de fixação e de reação a fatores bióticos e abióticos desfavoráveis do que antes esperado. Uma revisão feita por Riemann-Zürneck (1998) também sugere que as anêmonas-do-mar tenham maior capacidade de passar parte de sua vida soltas ou à deriva do que se imaginava.

Ottaway (1978) já havia relacionado a locomoção pedal a uma resposta a estímulos desfavoráveis, porém as locomoções observadas eram pequenas. O que se

acredita ocorrer nas populações estudadas das anêmonas *B. caissarum* e *A. bermudensis* é que estas se soltam do substrato onde estão fixadas e se estabelecem novamente em outro local distante, em resposta a condições adversas, com certa frequência (embora a frequência exata com que isso ocorra ainda precise ser estudada).

As espécies *B. caissarum* e *B. cangicum* apresentaram um padrão de recrutamento aparentemente contínuo e pequeno. O número de juvenis em nenhum dos meses foi muito grande em comparação com o número de adultos. Ottaway (1979) também observou um padrão de recrutamento contínuo para *Actinia tenebrosa*.

Já *A. bermudensis* e *A. cascaia* apresentaram um maior número de indivíduos jovens em alguns meses, principalmente na primavera. Aparentemente estas duas espécies apresentam um recrutamento mais sazonal do que *B. caissarum* e *B. cangicum*, o que seria mais parecido com o que já foi observado para *Anthopleura elegantíssima* e *A. xanthogrammica* (Shick, 1991).

No caso de *B. caissarum* e *B. cangicum*, quase não foram encontrados indivíduos muito pequenos (com menos de 1 cm de diâmetro podal), o que levanta a pergunta de onde estariam estes juvenis. Sebens (1981) observou que juvenis de *A. xanthogrammica* se fixam entre os mexilhões (provavelmente porque este ambiente proporciona maior proteção contra perda de água, ação das ondas e predação), e mudam de local de fixação quando atingem o tamanho adulto. Desta forma, é possível que os indivíduos pequenos de *B. caissarum* e *B. cangicum* estejam fixados em locais mais protegidos ou mesmo no infralitoral, para somente depois de grandes ocuparem áreas mais expostas da região entremarés.

Indivíduos muito pequenos de *A. cascaia* foram vistos na região entremarés ocupando fendas de rochas. Logo, nesta espécie, os recrutas ocupam o mesmo microhabitat dos adultos.

Os juvenis de *A. bermudensis* foram vistos ao longo do período de estudo dentro de uma gruta na praia Grande, protegidos completamente do sol. Já indivíduos grandes desta espécie não permaneciam muito tempo dentro da gruta (não eram vistos nos meses seguintes) o que indica que estariam migrando deste para outro local (assim como *A. xanthogrammica*). Desta forma, provavelmente nesta espécie há uma seleção secundária de habitat que ocorre quando o indivíduo atinge um certo tamanho. Entretanto, o número de indivíduos analisados de *A. bermudensis* foi pequeno, e por isso é necessário cautela na interpretação destes resultados.

1.5.2. Contribuição para a Comunidade e Crescimento das Anêmonas

As espécies que mais contribuem para a comunidade de anêmonas do entremarés na região do canal de São Sebastião são *Bunodosoma caissarum*, *B. cangicum* e *A. cascaia*. Estas espécies são comuns no litoral brasileiro e também já haviam sido encontradas em São Sebastião (Corrêa, 1964; Belém, 1987; Traldi & Schlenz, 1990; Russo & Solé-Cava, 1991; Monteiro *et al.*, 1998).

Os dados obtidos através das medidas do diâmetro podal das anêmonas não apresentam nenhum padrão claro de crescimento ou diminuição ao longo do período estudado. As médias oscilam ao longo dos meses e os erros-padrão foram sempre muito grandes. Mesmo quando se compara os dados da mesma espécie em praias diferentes os gráficos (Figuras 22 a 29) não apresentam semelhanças claras.

O número de indivíduos amostrados variou muito de mês para mês (Figuras 10 e 11). Por exemplo, *B. cangicum* chegou a apresentar 170 indivíduos em setembro e 5 em abril na praia de Barequeçaba. Essas diferenças tornam muito delicadas as comparações entre as médias de tamanho das anêmonas ao longo dos meses. E talvez até por causa destas diferenças muito grandes, as variâncias das médias das medidas do diâmetro podal não se apresentaram homogêneas.

As diferenças entre as médias dos tamanhos do diâmetro podal das anêmonas ao longo dos meses ficaram geralmente em torno de 0,5 cm em todas as espécies, o que é um valor muito pequeno se considerarmos os erros inerentes à medida. As exceções (quando as diferenças foram muito maiores do que 0,5) foram três, e ocorreram todas na praia Grande. No mês de setembro *A. cascaia* apresentou uma média do diâmetro podal muito maior do que os outros meses, mas coincidentemente foi o mês com o menor número de indivíduos medidos (foram apenas 4 indivíduos encontrados). A segunda exceção foi no mês de agosto, quando a espécie *B. caissarum* apresentou tamanhos menores do que os outros meses, mas o número de indivíduos também foi um dos menores medidos (24 indivíduos). A outra exceção foram as medidas de *B. cangicum* na praia Grande, mas o número de indivíduos foi muito pequeno neste caso (tirando os meses de setembro, novembro e janeiro, quando foram encontrados 49, 90 e 19 indivíduos, respectivamente, os outros meses tiveram menos de 15 indivíduos medidos). Em todos os casos os erros e desvios padrão foram sempre muito altos, muito maiores do que a diferença entre as médias.

Ottaway (1979) acredita que as variações diurnas na hidratação e intensidade de contração da anêmona são responsáveis por 15% do tamanho do diâmetro da coluna. Isto

equivale a uma variação em torno de 0,375 cm para um indivíduo que tenha um diâmetro podal de 2,5 cm.

Além disso, o diâmetro podal, apesar de ser a medida mais usada em trabalhos com anêmonas-do-mar (Ottaway, 1979, 1980; Sebens, 1980, 1983; Bucklin, 1985; Shick, 1991; Chomsky *et al.*, 2004) não é um estimador exato do tamanho de uma anêmona. Tanto o diâmetro da coluna quanto o diâmetro podal variam de acordo com a intensidade de contração dos músculos do indivíduo (Shick, 1991). Desta forma, mesmo que dois indivíduos possuam mesma massa, um pode apresentar um diâmetro podal maior que o outro desde que ele esteja com seus músculos mais contraídos. O diâmetro podal pode variar, também, de acordo com o local de fixação do indivíduo. Quando uma anêmona está ocupando um local onde o batimento de ondas é forte, por exemplo, seu diâmetro podal é maior por causa da necessidade de uma base mais larga (mais músculos) para fixação (observação pessoal).

Uma alternativa seria a medida do peso do indivíduo. No entanto, o peso varia com a quantidade de água presente no corpo da anêmona. E como a quantidade de água é dependente de uma série de fatores além da massa do organismo (Shick, 1991), o peso é um medida inexata também.

Logo, a única solução seria a medida de peso seco individual. Porém, este método é extremamente invasivo, pois implica no sacrifício de muitos indivíduos, impossibilitando o acompanhamento de outros parâmetros populacionais.

Portanto, apesar da medida do diâmetro podal não ser tão precisa quanto seria desejável, ela ainda é sem dúvida a melhor opção metodológica. No entanto,

considerando as limitações amostrais deste método, uma diferença da ordem de 0,5 cm não pode ser considerada biologicamente significativa.

Um outro fator que pode ter dificultado a detecção de um aumento corporal dos indivíduos é a taxa de crescimento das anêmonas. Ottaway (1980) observou um aumento corporal médio em uma população de *Actinia tenebrosa* de 0,16 cm por ano. É um acréscimo tão pequeno, que o autor só conseguiu detectá-lo depois de acompanhar uma população que permaneceu constante em número de indivíduos por três anos consecutivos. Sebens (1982c) também observou taxas de crescimentos significativas estatisticamente, mas não muito grandes, para *A. elegantissima*. No entanto, ele trabalhou com populações grandes e, assim como Ottaway (1980), com números de indivíduos constantes nas amostragens.

Infelizmente, no presente trabalho, o número amostral não se manteve constante ao longo de todo período de análise e, portanto, a interpretação dos resultados deve ser feita de forma mais cuidadosa.

Taxas de crescimentos maiores foram verificadas em trabalhos anteriores apenas em experimentos em laboratório e/ou em espécies com reprodução assexuada (Bucklin, 1985; Chomsky *et al.*, 2004; Holbrook & Schmitt, 2005). Em laboratório as condições ambientais são mais controladas, o que favorece o crescimento das anêmonas. Os baixos valores de aumento corporal em acompanhamentos em campo provavelmente se deve à manifestação de condições ambientais sub-ótimas (variabilidade térmica, estresse osmótico e dessecativo, variabilidade e disponibilidade de comida, competição, entre outros) (Shick, 1991).

As anêmonas-do-mar podem viver até 210 anos (Ottaway, 1980), portanto, um ano é um período de tempo muito pequeno na vida de tais animais. Inclusive porque estes organismos provavelmente entram em um platô de crescimento quando atingem o tamanho adulto. Caso o crescimento fosse linear e contínuo, mesmo com uma taxa pequena de aumento corporal (por exemplo, os 0,16 cm por ano verificados por Ottaway, 1980), em 210 anos uma anêmona mediria em trono de 35,7 cm de diâmetro podal!

Além disso, altas temperaturas podem levar a uma diminuição da taxa de crescimento em anêmonas, e mesmo a uma diminuição de tamanho, causadas por maiores gastos com respiração (Chomsky *et al.*, 2004). Logo, anêmonas em locais quentes provavelmente apresentam taxas de crescimento menores do que anêmonas de regiões de clima temperado.

No período de doze meses analisado em São Sebastião não houve evidência, pelos dados do presente trabalho, de um padrão de aumento ou diminuição do diâmetro podal médio das populações analisadas. Duas situações podem ter ocorrido durante o trabalho de campo, a primeira delas é que a taxa de crescimento das espécies estudadas seja tão pequena que não foi possível de ser detectada com os métodos utilizados e com o intervalo de tempo do estudo. A segunda hipótese é a de que as populações estudadas estivessem passando por um período temporário de não crescimento causado por um estresse externo, como altas temperaturas ou baixa disponibilidade de recursos alimentares.

Tanto a temperatura quanto a abundância de alimento podem variar de ano para ano. Como apenas um ano foi analisado, não se pode descartar a hipótese de que tenha sido uma conjuntura eventual a responsável pelo padrão observado. Assim como não se

pode descartar a possibilidade de que a taxa de crescimento destas espécies seja realmente pequena.

Assim são necessários mais estudos, preferencialmente mais longos, para que o padrão observado durante o período de agosto de 2005 a julho de 2006 seja confirmado.

1.5.3. Ocupação e Preferência por Microhabitats

Pode-se perceber uma rejeição de todas as espécies pela face horizontal de rocha como local para fixação. Isto se deve provavelmente ao fato deste ser um microhabitat muito exposto, tanto ao sol quanto ao vento, e ambos são fatores que levam à dessecação dos animais no ambiente entremarés. Os microhabitats preferidos por todas as espécies estudadas são aqueles que proporcionam uma relativa proteção aos fatores que causam perda de água durante o período de emersão na maré baixa.

Cada uma das quatro espécies estudadas apresentou preferência por um tipo diferente de microhabitat. Isto é esperado se pensarmos que cada espécie é morfológica e fisiologicamente diferente das outras, o que faz com que tenham resistências maiores ou menores aos fatores limitantes do costão rochoso (interações biológicas e estresse por fatores físicos). Como cada espécie tem necessidades e tolerâncias ambientais diferentes, ocuparão microhabitats que sejam mais adequados a cada uma delas.

Bunodosoma cangicum, *A. cascaia* e *P. flosculifera* ficam sempre próximas do substrato úmido e só são encontradas longe da areia quando em frestas, fendas ou buracos (locais onde maiores umidades e temperaturas menores podem ser mantidas). Traldi e Schlenz (1990) também observaram que indivíduos das espécies *B. cangicum* e *A. cascaia* ficam sempre próximos da areia. *Anthopleura cascaia* e *P.flosculifera*

apresentam ainda a capacidade de se enterrarem quando sofrem algum estresse (Corrêa, 1964; Magnum, 1970; Traldi & Schlenz, 1990). Elas se enterram imediatamente quando tocadas e é possível que se enterrem também quando as condições ambientais estejam desfavoráveis (por exemplo, quando a temperatura esteja muito alta ou quando a incidência solar esteja muito forte). Esta estratégia permite que fiquem mais protegidas dos fatores que causam a perda de água e também de potenciais predadores.

A ocupação de fendas foi mais frequentemente observada em *A. cascaia* do que em *B. cangicum*. As duas espécies ocupam a mesma faixa do entremarés e ambas possuem adaptações para evitar a perda de água. *Anthopleura cascaia*, além de se encolher, apresenta vesículas adesivas que aderem partículas do substrato e assim diminuem ainda mais a superfície de evaporação (Traldi & Schlenz, 1990). Já *B. cangicum* apresenta estruturas de armazenamento de água em sua superfície, o que garante uma maior umidade durante a exposição aérea (Traldi & Schlenz, 1990). O que, então, diferenciaria as duas espécies quanto à ocupação de fendas? *Anthopleura cascaia* é normalmente menor do que *B. cangicum*, o que significa que sua relação superfície volume é maior. Como a perda de água se dá através da superfície do organismo, é possível que *A. cascaia* tenha maior necessidade de proteção. Uma outra possibilidade é que o menor tamanho da espécie permita a ocupação de fendas que são muito estreitas, enquanto espécies maiores (*B. cangicum*, por exemplo) não consigam explorar esse tamanho de microhabitat. O fato é que, devido ao seu maior tamanho, *B. cangicum* provavelmente não consegue ocupar fendas de rocha muito estreitas, e *A. cascaia*, sendo menor o consegue. Corrêa (1964) também observou a ocupação de fendas por *A. cascaia* e não mencionou este mesmo microhabitat para *B. cangicum*.

Phyllactis flosculifera ocorre sempre em locais com pedras que apresentem cavidades ou buracos estreitos e relativamente profundos, onde os indivíduos desta espécie se fixam. Assim, quando eles são expostos a algum estresse, se contraem e se escondem nestas cavidades de forma que ficam extremamente bem protegidos, tanto da perda de água quanto de possíveis predadores.

Actinia bermudensis só foi encontrada em regiões distantes da água quando dentro de uma gruta. Este local era extremamente sombreado e apresentava sempre uma grande umidade e temperaturas muito mais baixas do que as sofridas por rochas expostas ao sol. Corrêa (1964) já havia observado que esta espécie é geralmente encontrada em locais protegidos da luz ou na superfície inferior de pequenas rochas. Portanto, *A. bermudensis* provavelmente apresenta menor resistência à dessecação e por isso está sempre em locais mais protegidos. Traldi & Schlenz (1990) observaram a espécie ocupando fendas que canalizam a água do mar, porém com baixo impacto.

Bunodosoma caissarum e *A. bermudensis* são frequentemente encontradas com a região oral voltada para baixo, ou seja, ocupando o ambiente de face inferior de rocha. Corrêa (1964) também já havia notado este hábito em *A. bermudensis*, e Traldi & Schlenz (1990) o relatam para *B. caissarum*. Isso provavelmente ocorre porque essa posição faz com que os tentáculos e a abertura do celêntero sejam os últimos a perder contato com a água durante o recuo da maré, e sejam os primeiros a submergir de novo durante a subida da maré. Desta forma a anêmona aumenta seu tempo de alimentação, ou seja, ela pode ocupar áreas superiores da região entremarés sem diminuir muito seu tempo de alimentação. Isto é muito importante já que alimento pode ser um fator limitante para as anêmonas-do-mar (Wolcott & Gaylord, 2002; Coma & Ribes, 2003).

Além da proteção contra predadores e perda de água, outro fator que pode influenciar na preferência por microhabitats é a presença de simbioses nas espécies em questão. Locais sombreados são muito menos estressantes do que locais expostos ao sol, tanto por causa das temperaturas mais baixas quanto pela maior umidade. Seria de se esperar, portanto, que a maioria das espécies preferisse locais protegidos do sol. No entanto, não é isso que ocorre. A maioria dos indivíduos é encontrada em locais ensolarados. As anêmonas-do-mar podem apresentar endossimbiontes fotossintetizantes, embora a importância desta relação dependa da espécie e das condições locais de disponibilidade alimentar.

Phyllactis flosculifera não foi encontrada em locais sombreados, o que sugere uma possível importância de simbioses para a espécie. *Bunodosoma cangicum*, *B. caissarum* e *A. cascaia* foram encontradas desde áreas totalmente expostas ao sol até áreas parcialmente sombreadas, o que também sugere uma relação com os endossimbiontes. Já *A. bermudensis* só foi vista em locais sombreados, e foi a única encontrada em locais totalmente sem luz. Assim é possível que esta espécie não seja tão dependente da relação com organismos fotossintetizantes e que, em pelo menos um período de sua vida, possam ser aposimbiontes. Secord e Augustine (2000) propuseram que a interação de *A. elegantissima* e *A. xanthogrammica* com os endossimbiontes é variável, podendo haver relação com um de dois tipos de organismos (zooxantelas e zooclorelas) e que esta relação depende da latitude, da espécie e também do micro ambiente onde está a espécie. Numa caverna estudada por Secord em 1995 na sua dissertação ele encontrou indivíduos de *A. elegantissima* com zooxantelas na boca da caverna, indivíduos com zooclorela no meio e indivíduos aposimbiontes no fundo da

caverna (Secord & Augustine, 2000). Portanto, tais associações mutualísticas podem estar mediando também a localização física ideal de cada espécie (e mesmo a dos indivíduos) e isso talvez seja mais um fator importante na determinação dos padrões de ocupação e preferência por microhabitat observados no presente estudo.

1.5.4. Estudos Futuros

O presente trabalho levanta diversas questões que podem ser esclarecidas com estudos futuros. Uma das mais importantes é determinar a real importância do impacto dos sedimentos e do impacto antrópico na flutuação, ao longo do ano, no número de indivíduos de anêmonas do entremarés. Uma avaliação neste sentido é indispensável para qualquer esforço de conservação.

Com relação ao deslocamento das anêmonas, estudos que busquem entender a frequência e a distância de locomoção das espécies estudadas, bem como possíveis locais de abrigo seriam muito interessantes.

São também necessários estudos que avaliem a importância da competição por espaço na comunidade de anêmonas do entremarés rochoso, dado que existe uma ocupação diferencial de microhabitats.

Ainda com relação à distribuição espacial, seriam interessantes estudos que relacionem a ocupação diferencial de microhabitats a diferentes tolerâncias fisiológicas e à presença de simbioses nos actinários.

Tabela 2. Ocupação de microhabitat, em porcentagem (%), pelas espécies encontradas na praia de Barequeçaba, São Sebastião, SP, no período entre agosto de 2005 e julho de 2006.

<i>B. caissarum</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	1.19	3.57	3.57	1.19	44.05	46.43
setembro	1.89	3.77	3.77	1.89	22.64	66.04
novembro	3.19	0.00	4.26	3.19	42.55	46.81
janeiro	0.00	3.80	6.33	0.00	32.91	56.96
março	3.57	3.57	5.36	1.79	19.64	66.07
abril	0.00	16.13	0.00	0.00	16.13	67.74
junho	3.17	0.00	1.59	1.59	41.27	52.38
julho	5.00	1.67	3.33	8.33	20.00	61.67
<i>B. cangicum</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	2.44	74.39	14.63	1.22	2.44	4.88
setembro	10.06	40.83	28.99	2.37	2.37	15.38
novembro	4.73	66.89	20.27	2.70	2.03	3.38
janeiro	0.00	82.56	15.12	0.00	0.00	2.33
março	6.56	67.21	14.75	3.28	1.64	6.56
abril	0.00	40.00	40.00	0.00	0.00	20.00
junho	12.00	45.33	34.67	0.00	0.00	8.00
julho	3.06	62.24	23.47	0.00	1.02	10.20
<i>A. cascaia</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	17.65	64.71	11.76	5.88	0.00	0.00
setembro	3.33	16.67	61.67	13.33	0.00	5.00
novembro	0.94	40.57	45.28	12.26	0.00	0.94
janeiro	5.71	40.00	47.14	5.71	0.00	1.43
março	1.79	51.79	30.36	16.07	0.00	0.00
abril	0.00	42.86	28.57	28.57	0.00	0.00
junho	2.00	10.00	72.00	16.00	0.00	0.00
julho	2.99	20.90	67.16	7.46	0.00	1.49
<i>P. flosculifera</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
setembro	25.00	50.00	25.00	0.00	0.00	0.00
novembro	0.00	61.54	38.46	0.00	0.00	0.00
janeiro	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00
março	0.00	88.89	11.11	0.00	0.00	0.00
junho	0.00	63.64	36.36	0.00	0.00	0.00
julho	0.00	53.85	46.15	0.00	0.00	0.00

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Tabela 3. Ocupação de microhabitat, em porcentagem (%), pelas espécies encontradas na praia Grande, São Sebastião, SP, no período entre agosto de 2005 e julho de 2006.

<i>B. caissarum</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	7.41	11.11	0.00	0.00	66.67	14.81
setembro	0.00	4.44	0.00	0.00	48.89	46.67
novembro	1.49	1.49	1.49	0.00	50.75	44.78
janeiro	0.00	11.11	0.00	0.00	29.63	59.26
março	6.67	6.67	0.00	0.00	40.00	46.67
abril	3.70	7.41	0.00	0.00	37.04	51.85
junho	2.70	8.11	0.00	0.00	59.46	29.73
julho	0.00	26.92	0.00	0.00	38.46	34.62
<i>B. cangicum</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	33.33	66.67	0.00	0.00	0.00	0.00
setembro	10.00	50.00	8.00	0.00	2.00	30.00
novembro	8.79	63.74	7.69	2.20	0.00	17.58
janeiro	21.05	73.68	0.00	0.00	0.00	5.26
março	25.00	37.50	12.50	0.00	0.00	25.00
abril	20.00	70.00	10.00	0.00	0.00	0.00
junho	28.57	57.14	7.14	0.00	0.00	7.14
julho	0.00	70.00	30.00	0.00	0.00	0.00
<i>A. cascaia</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	0.00	92.86	0.00	0.00	0.00	7.14
setembro	0.00	25.00	50.00	0.00	0.00	25.00
novembro	6.36	19.09	70.00	1.82	0.00	2.73
janeiro	0.00	40.74	59.26	0.00	0.00	0.00
março	17.65	35.29	41.18	5.88	0.00	0.00
abril	5.00	40.00	55.00	0.00	0.00	0.00
junho	6.45	45.16	48.39	0.00	0.00	0.00
julho	0.00	8.70	91.30	0.00	0.00	0.00
<i>A. bermudensis</i>						
Meses	HR	RA	FR	BR	IR	LR
agosto	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
setembro	0.00	0.00	0.00	0.00	90.00	10.00
novembro	0.00	0.00	0.00	0.00	91.67	8.33
janeiro	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
março	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
abril	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
junho	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00
julho	0.00	0.00	0.00	0.00	91.67	8.33

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Tabela 4. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Bundosoma caissarum*, na praia de **Barequeçaba**, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.68	2.05	2.05	0.68	26.13	27.66
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	36.66	0.02	17.60	6.36	449.08	4.57
Qui-quadrado						514.29
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.08	2.16	2.16	1.08	13.09	41.33
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	35.88	0.00	19.88	17.14	100.55	28.28
Qui-quadrado						201.74
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.83	0.00	2.44	1.83	25.18	27.91
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	34.44	2.24	25.85	51.48	415.29	4.82
Qui-quadrado						534.12
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	2.18	3.63	0.00	19.22	34.72
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	0.00	60.53	0.06	233.21	14.30
Qui-quadrado						346.12
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	2.05	2.05	3.07	1.02	11.33	41.35
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	34.03	0.02	42.46	15.25	72.65	28.35
Qui-quadrado						192.75
Abril						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	9.28	0.00	0.00	9.28	42.64
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	22.16	0.19	0.06	45.87	31.63
Qui-quadrado						137.92
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.82	0.00	0.91	0.91	24.37	31.59
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	34.46	2.24	2.62	11.86	387.53	9.31
Qui-quadrado						448.02
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	2.87	0.95	1.91	4.78	11.54	38.07
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	32.49	0.74	15.11	366.74	75.73	20.80
Qui-quadrado						511.60

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha=5\%$ e $gl=5$).

Tabela 5. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Bundosoma caissarum*, na praia Grande, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	4.25	6.38	0.00	0.00	41.81	8.52
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	19.14	3.33	0.30	0.09	160.40	7.30
Qui-quadrado						190.56
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	2.55	0.00	0.00	29.27	27.82
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	0.11	0.30	0.09	64.80	2.32
Qui-quadrado						94.59
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.86	0.86	0.86	0.00	30.49	26.60
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	25.29	1.67	1.05	0.09	72.28	1.58
Qui-quadrado						101.95
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	6.38	0.00	0.00	17.24	36.34
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.33	0.30	0.09	13.13	11.48
Qui-quadrado						55.29
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	3.82	3.82	0.00	0.00	23.58	27.82
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	19.87	0.15	0.30	0.09	35.48	2.32
Qui-quadrado						58.20
Abril						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	2.12	4.25	0.00	0.00	21.74	31.23
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	22.89	0.39	0.30	0.09	27.88	5.15
Qui-quadrado						56.70
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.55	4.65	0.00	0.00	36.48	17.30
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	23.96	0.72	0.30	0.09	114.60	0.61
Qui-quadrado						140.28
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	15.62	0.00	0.00	22.62	20.25
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	49.48	0.30	0.09	31.41	0.02
Qui-quadrado						108.26

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha=5\%$ e $gl=5$).

Tabela 6. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Bundosoma cangicum*, na praia de **Barequeçaba**, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.40	48.06	8.41	0.70	1.40	2.80
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	35.26	938.15	346.86	6.70	0.00	13.30
Qui-quadrado						1340.29
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	5.77	24.10	16.85	1.36	1.36	8.85
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	27.34	213.45	1424.71	27.63	0.00	5.01
Qui-quadrado						1698.14
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	2.71	41.98	11.70	1.55	1.16	1.94
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	32.78	705.69	678.91	36.46	0.03	14.80
Qui-quadrado						1468.66
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	55.65	8.69	0.00	0.00	1.33
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	1274.30	370.84	0.06	1.37	15.90
Qui-quadrado						1700.47
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	3.76	42.23	8.48	1.88	0.94	3.76
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	30.86	714.52	352.75	54.43	0.13	11.72
Qui-quadrado						1164.42
Abril						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	23.58	23.58	0.00	0.00	11.54
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	203.43	2806.80	0.06	1.37	2.60
Qui-quadrado						3052.27
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	6.89	26.96	20.28	0.00	0.00	4.59
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	25.47	272.97	2071.59	0.06	1.37	10.43
Qui-quadrado						2381.89
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.75	38.50	13.57	0.00	0.58	5.86
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	34.58	587.24	918.82	0.06	0.45	8.61
Qui-quadrado						1549.77

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha=5\%$ e $gl=5$).

Tabela 7. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Bundosoma cangicum*, na praia Grande, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	19.47	41.81	0.00	0.00	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	2.08	475.39	0.30	0.09	7.39	20.87
Qui-quadrado						506.12
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	5.74	30.00	4.59	0.00	1.15	17.46
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	16.71	229.33	61.92	0.09	5.27	0.56
Qui-quadrado						313.89
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	5.04	39.60	4.41	1.26	0.00	10.13
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	17.83	422.49	56.93	14.35	7.39	5.53
Qui-quadrado						524.50
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	12.15	47.46	0.00	0.00	0.00	3.02
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	8.14	624.55	0.30	0.09	7.39	15.27
Qui-quadrado						655.74
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	14.48	22.02	7.18	0.00	0.00	14.48
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	5.79	113.34	159.34	0.09	7.39	1.96
Qui-quadrado						287.90
Abril						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	11.54	44.43	5.74	0.00	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	8.83	541.91	99.58	0.09	7.39	20.87
Qui-quadrado						678.67
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	16.60	34.85	4.10	0.00	0.00	4.10
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	3.99	319.64	48.53	0.09	7.39	13.48
Qui-quadrado						393.11
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	44.43	17.46	0.00	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	541.91	990.27	0.09	7.39	20.87
Qui-quadrado						1587.50

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha=5\%$ e $gl=5$).

Tabela 8. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Anthopleura cascaia*, na praia de **Barequeçaba**, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	10.16	40.32	6.76	3.37	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	20.40	647.85	221.01	180.57	1.37	18.47
Qui-quadrado						1089.66
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.91	9.59	38.07	7.66	0.00	2.87
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	34.28	24.17	7365.11	951.42	1.37	13.18
Qui-quadrado						8389.53
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.54	23.93	26.93	7.04	0.00	0.54
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	36.94	210.24	3667.88	803.08	1.37	17.41
Qui-quadrado						4736.91
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	3.28	23.58	28.13	3.28	0.00	0.82
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	31.74	203.43	4005.07	170.20	1.37	16.87
Qui-quadrado						4428.67
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.02	31.19	17.67	9.25	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	35.99	374.41	1568.02	1389.88	1.37	18.47
Qui-quadrado						3388.14
Abril						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	25.38	16.60	16.60	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	239.17	1381.79	4504.90	1.37	18.47
Qui-quadrado						6183.71
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.15	5.74	46.05	9.21	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	35.75	5.47	10795.92	1377.37	1.37	18.47
Qui-quadrado						12234.35
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	1.71	12.06	42.19	4.28	0.00	0.86
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	34.66	43.10	9054.77	293.09	1.37	16.80
Qui-quadrado						9443.80

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha=5\%$ e $gl=5$).

Tabela 9. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Anthopleura cascaia*, na praia Grande, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	68.21	0.00	0.00	0.00	4.10
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	1346.31	0.30	0.09	7.39	13.48
Qui-quadrado						1394.53
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	14.48	30.00	0.00	0.00	14.48
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	40.84	2966.87	0.09	7.39	1.96
Qui-quadrado						3044.11
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	3.65	11.01	44.43	1.04	0.00	1.56
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	20.17	19.65	6548.91	9.49	7.39	17.86
Qui-quadrado						6623.46
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	24.04	36.34	0.00	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	138.86	4368.88	0.09	7.39	20.87
Qui-quadrado						4563.06
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	10.16	20.67	24.32	3.37	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	10.47	97.63	1939.97	113.64	7.39	20.87
Qui-quadrado						2189.97
Abril						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	2.87	23.58	33.37	0.00	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	21.54	132.76	3677.62	0.09	7.39	20.87
Qui-quadrado						3860.28
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	3.70	26.85	28.94	0.00	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	20.08	178.64	2758.60	0.09	7.39	20.87
Qui-quadrado						2985.67
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	4.99	65.93	0.00	0.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	1.08	14485.70	0.09	7.39	20.87
Qui-quadrado						14542.10

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha=5\%$ e $gl=5$).

Tabela 10. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Phyllactis flosculifera*, na praia de **Barequeçaba**, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	90.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	3440.73	0.19	0.06	1.37	18.47
Qui-quadrado						3498.83
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	14.48	30.00	14.48	0.00	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	14.57	344.29	1047.17	0.06	1.37	18.47
Qui-quadrado						1425.93
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	37.98	22.62	0.00	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	570.67	2581.46	0.06	1.37	18.47
Qui-quadrado						3210.03
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	90.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	3440.73	0.19	0.06	1.37	18.47
Qui-quadrado						3498.83
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	62.73	6.38	0.00	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	1634.89	196.34	0.06	1.37	18.47
Qui-quadrado						1889.14
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	39.52	21.32	0.00	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	620.95	2291.66	0.06	1.37	18.47
Qui-quadrado						2970.52
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	32.58	27.49	0.00	0.00	0.00
Esperado	38.01	2.24	0.19	0.06	1.37	18.47
(Obs - Esp) ² /Esp	38.01	411.23	3823.46	0.06	1.37	18.47
Qui-quadrado						4292.60

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha= 5\%$ e $gl=5$).

Tabela 11. Resultados do teste de Qui-quadrado aplicados aos dados de ocupação de microhabitat pela espécie *Actinia bermudensis* na praia Grande, São Sebastião, SP, no período de agosto de 2005 a julho de 2006.

Agosto						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	90.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	923.83	20.87
Qui-quadrado						975.20
Setembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	64.16	5.74
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	436.26	10.97
Qui-quadrado						477.73
Novembro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	66.44	4.78
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	472.09	12.40
Qui-quadrado						515.00
Janeiro						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	90.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	923.83	20.87
Qui-quadrado						975.20
Março						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	90.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	923.83	20.87
Qui-quadrado						975.20
Abril						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	90.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	923.83	20.87
Qui-quadrado						975.20
Junho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	90.00	0.00
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	923.83	20.87
Qui-quadrado						975.20
Julho						
	HR	RA	FR	BR	IR	LR
Observado	0.00	0.00	0.00	0.00	66.44	4.78
Esperado	26.97	3.14	0.30	0.09	7.39	20.87
(Obs - Esp) ² /Esp	26.97	3.14	0.30	0.09	472.09	12.40
Qui-quadrado						515.00

(HR) face horizontal de rocha; (RA) interface rocha/areia; (FR) fendas de rocha; (BR) buracos de rocha; (IR) face inferior de rocha; (LR) face lateral de rocha.

Todos os valores de qui-quadrado são significativos ($\chi^2=11,07$, com $\alpha=5\%$ e $gl=5$).

Capítulo 2

Genetic variability of three species of sea anemones (Actiniaria:Actiniidae) from the Brazilian coast

2.1. ABSTRACT

In this study we accessed, through isozyme analyses, the genotypic diversity, genetic variability and genetic structure in three species of sea anemones: *Bunodosoma caissarum* Corrêa, in Belém 1988, *Bunodosoma cangicum* Corrêa, in Belém & Preslercravo, 1973 and *Phyllactis flosculifera* (Lesueur, 1817). Each one of them had two populations sampled, and the ones of *B. caissarum* were also organized locally in subgroups. All three species presented high levels of genetic variability and all the populations showed a departure from Hardy-Weinberg expectations. The values of genetic differentiation found for *B. caissarum* ($\theta = 0.039$) are significant given the long-lived planktotrophic larva of the species and the small distance between the samples (13 km) and we also found evidence of microgeographic structuring in this species. *Bunodosoma cangicum* showed low levels of genetic structuring ($\theta = 0.021$) while *P. flosculifera* presented a moderate value of structuring ($\theta = 0.080$).

Phyllactis flosculifera and *B. cangicum* had distant populations sampled (1000 km and 1300 km, respectively) genetically connected, suggesting that both species have larvae capable of good dispersal distances.

All of the individuals of the three species had unique genotypes, suggesting that none of them have asexual reproduction.

2.2. INTRODUCTION

Organisms are restricted to environmental patches that suit their physiological characteristics. The movement of individuals between these patches determines the organization of the genetic variability in each species. In marine sessile species, the genetic exchange is achieved by dispersal of gametes (Grosberg, 1991), larvae (Strathmann, 1974) or drifting adults (Jockiel, 1984). The most effective dispersal is during the larvae stage, which can last for a long time and travel long distances, promoting gene flow among populations more than a 1000 km apart (Bohonak, 1999; Andrade *et al.*, 2003; Kinlan & Gaines, 2003).

The general pattern is that the higher the dispersal capacity, there are more gene flow among populations (Bohonak, 1999). Several studies found correlation between dispersal capability of a species and the level of genetic structure among its subpopulations (Ayre *et al.*, 1997a; Ayre & Hughes, 2000; Kyle & Boulding, 2000). Nevertheless, sometimes dispersal capability is not fully achieved, and populations are more structured than the expected based on the length of duration of the species' propagules (Palumbi, 1994). Different situations can limit dispersal: local hydrographic features (Burton, 1983; Gutiérrez-Rodríguez & Lasker, 2004), natural selection (Burton, 1983; Hilbish, 1996) and larval behavior (Grosberg, 1987). Despite these barriers to genetic exchange, most marine populations are panmitic over wide geographic areas because only a few migrants are necessary for maintaining very distant subpopulations linked (Ayre & Hughes, 2000; Andrade *et al.*, 2003; Bengtsson, 2003).

The mode of reproduction is also very important in determining the genetic structure of a population (Bengtsson, 2003). Asexual populations tend to have less genetic variability and offspring usually stay near their parents, whereas sexual populations are more genetic variable and their propagules disperse further (Shick *et al.*, 1979; Hoffmann, 1986; Belém, 1988; Bengtsson, 2003; Whitaker, 2006).

Knowing the population structure and within population genetic variability of a species helps us to understand many aspects of a species biology that would otherwise remain unexplored.

In this study we accessed the genotypic diversity, genetic variability and genetic structure in three species of intertidal sea anemones commonly found in the Brazilian coast: *Bunodosoma caissarum* Corrêa, in Belém 1988, *Bunodosoma cangicum* Corrêa, in Belém & Preslercravo, 1973 and *Phyllactis flosculifera* (Lesueur, 1817). The mode of reproduction of the two latter ones is still unknown. Previous studies with *B. caissarum* revealed that it reproduces only sexually and that it has a planktotrophic larva (Belém, 1987; Russo & Solé-Cava, 1991; Russo *et al.*, 1994). For *B. caissarum* we also investigated evidence of micro geographic structuring.

2.3. MATERIAL AND METHODS

2.3.1. Sampling

Each one of the three species (*B. caissarum*, *B. cangicum* and *P. flosculifera*) had two populations sampled. Localities' names and distances between samples are presented

in Table 1. Approximately 30 individuals were sampled in each population (but samples of *P. flosculifera* were smaller, due to low local abundance).

The specimens of *B. caissarum* were distributed in small groups. In population 1 there were 3 subgroups displayed in line so the first subgroup was 20 m away from the second one and 40 m away from the third one (10 individuals were collected from each group). The second population was subdivided by 2 subgroups and they were 50 m apart (15 individuals were collected from each group).

The collected individuals were frozen in liquid nitrogen *in situ*.

2.3.2. Electrophoresis

A small piece of the individual was squashed in extraction buffer (0,1 M Tris pH 8.0, 0,5% β -mercaptoethanol). The extracts were blotted onto Whatman no. 3 paper wicks and loaded on to 8.5% starch gels (hydrolysed potato starch, Sigma, St. Louis, MO, USA). Three buffer systems were used: (1) electrode: 0.3 M boric acid, 60 mM NaOH, pH 8.0, and gel: 10 mM Tris, pH 8.5 (Shaw & Prasad, 1970-with modifications); (2) electrode: 0.04 M citric acid and N (3 aminopropyl) morpholine adjusted to pH 6.1, and gel: electrode solution diluted 1:20 (Clayton & Tretiak, 1972); (3) electrode: 0.25 M Tris and 0.057 M citric acid, pH 8.0, and gel: electrode solution diluted 1:25 (Ward & Warwick, 1980).

Twenty enzyme systems were initially tested for the three species, but some of them presented no scorable results. Finally a total of 11, 13 and 10 enzymes were screened for *B. caissarum*, *B. cangicum* and *P. flosculifera*, respectively. The loci analysed are presented in Table 2.

2.3.3. Data Analysis

Alleles were identified by their mobility relative to the most common allele of each species.

The program Genetix v. 4.02 (Belkhir *et al.*, 2003) was used to estimate intrapopulational parameters, as the number of polymorphic loci (P), the observed heterozygosity (H_o) and the genic diversity (H_e according to Nei, 1978).

The θ and f fixation indexes were estimated according to Weir e Cockerham (1984). Confidence intervals (95%) were determined for θ and f values by bootstrapping 1,000 times across loci. The value of θ_s (fixation index between subgroups among the same population) was also calculated, and confidence intervals were determined by 5,000 bootstraps. All fixation index were obtained with the program GDA (Lewis & Zaykin, 2001).

The genotypic diversity was inferred using the approach described by Stoddart and Taylor (1988). First, multi-locus genotypes of each individual (N) were obtained and the number of the unique multi-locus genotypes (N_g) was established. The ratio $N_g:N$ provides the simplest index of the effects of asexual reproduction on genotypic diversity. The ratio of observed multilocus genotypic diversity (G_o) was then obtained and compared to that expected (G_e) under conditions of sexual reproduction with free recombination. Departures of $G_o:G_e$ from unity provide an index of the combined effects of departure from Hardy-Weinberg equilibrium and multi-locus linkage equilibrium. Samples with high levels of asexual recruitment should exhibit a low $G_o: G_e$ ratio. In contrast, samples with high levels of sexually derived recruitment will display a $G_o: G_e$ ratio close to unity. Individuals that had half (or more) of the loci without information

were excluded from the genotypic diversity analysis. The analysis was done by comparing the alleles of all the loci of all the individuals of the same population. The aim of it was to verify if there were any identical genotypes among the individuals.

2.4. RESULTS

2.4.1. Genetic Variability

The number of alleles in *B. caissarum* ranged from three in ME, AK-1 and GOT to 10 in MPI and HK (the average number of alleles per locus is presented in Table 3). The number of polymorphic loci (P) was high, and H_e was higher than H_o in both populations (Table 3). The estimated f was high for the two samples (Table 3).

In *B. cangicum* the number of alleles ranged from three alleles in PGM and PGI-2 to nine in MPI. The number of polymorphic loci (P) was high, and H_e was higher than H_o in both populations (Table 3). The estimated f was high for the two samples (Table 3).

In *P. flosculifera* there were four alleles in PGM and PGI-2 and eight in 6PGD (the average number of alleles per locus is presented in Table 3). The number of polymorphic loci (P) was high, and H_e was higher than H_o in both populations (Table 3). The estimated f was high for the two samples (Table 3).

2.4.2. Genetic Structure

P. flosculifera had the highest value of θ (0.080 ; CI 95% = 0.005 – 0.203) among the three species studied. In *B. caissarum* $\theta = 0.0393$ (CI 95% = 0.019 – 0.057) and the lowest value was found in *B. cangicum* ($\theta = 0.021$; CI 95% = 0.001 – 0.046).

When the two populations of *B. caissarum* were analysed separately (3 groups in population 1 and 2 subgroups in population 2) the fixation index among all subgroups was $\theta_s = 0.040$. For population 1, $\theta_s = -0.021$ (95% CI = -0,038155 – -0.005562); and for population 2, $\theta_s = 0.028$ (95% CI = 0.000027 – 0.0593).

2.4.3. Genotypic Diversity

All individuals of the three species had unique genotypes, so the ratio $N_g:N$ and the ratio $G_o:G_e$ were equal to 1 for the six populations sampled. Therefore there is no sign of asexual reproduction in any one of the three species.

Table 1. Localities sampled for the three species.

Species	N	Population	Locality	Approximate distance between localities
<i>B. caissarum</i>	30	1	Florianópolis - SC	
<i>B. caissarum</i>	29	2	Gov. Celso Ramos - SC	13 km
<i>B. cangicum</i>	30	1	Conde - BA	
<i>B. cangicum</i>	30	2	Búzios - RJ	1300 km
<i>P. flosculifera</i>	20	1	Salvador - BA	
<i>P. flosculifera</i>	26	2	Jacaraípe - ES	1000 km

SC = Santa Catarina ; RJ = Rio de Janeiro ; ES = Espírito Santo ; BA = Bahia
N= Number of individuals analyzed

Table 2. Enzyme systems and number of loci stained for the three species studied.

Enzyme system	Loci		
	<i>B. caissarum</i>	<i>B. cangicum</i>	<i>P. flosculifera</i>
6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD)	1	1	1
Adenylate kinase (AK)	2	1	1
Esterase (EST)	2	2	1
Glutamate oxaloacetate transaminase (GOT)	1	1	----
Hexokinase (HK)	1	1	----
Isocitrate dehydrogenase (IDH)	2	2	1
Leucine amino peptidase (LAP)	1	1	1
L-leucyl-L-glycylglycine peptidase (PEP1gg)	----	1	1
Malate dehydrogenase (MDH)	----	2	1
Malic enzyme (ME)	1	1	2
Mannose phosphate isomerase (MPI)	1	1	----
Phosphoglucomutase (PGM)	1	1	1
Phosphoglucose isomerase (PGI)	2	2	2

Table 3. Estimates of genetic variability for the populations sampled.

Population	H _o	H _e	Average alleles/locus	P(0.95)	f	CI (95%)
<i>B. caissarum</i> 1	0.249	0.417	4.2	1.0	0.408	0.309 – 0.470
<i>B. caissarum</i> 2	0.316	0.488	4.4	0.93	0.357	0.261 – 0.408
<i>B. cangicum</i> 1	0.249	0.351	4.29	0.882	0.293	0.194 – 0.357
<i>B. cangicum</i> 2	0.261	0.398	4.65	0.882	0.349	0.247 – 0.409
<i>P. flosculifera</i> 1	0.203	0.319	3.58	0.916	0.370	0.205 – 0.463
<i>P. flosculifera</i> 2	0.272	0.508	5	1.0	0.471	0.282 – 0.585

H_o=observed heterozygosity; H_e=genetic diversity; P=polyomorphic loci; f=fixation index; CI=confidence interval.

All f values were significant.

2.5. DISCUSSION

2.5.1. Genetic Variability

All three species presented high levels of genetic variability. High polymorphism and high values of heterozygosity are common in sea anemones (McCommas, 1982; Bucklin, 1985; Russo & Solé-Cava, 1991; Solé-Cava & Thorpe, 1991; Russo *et al.*, 1994; Solé-Cava *et al.*, 1994a; Bronsdon *et al.*, 1997; Monteiro *et al.*, 1998; Adjeroud & Tsuchiya, 1999) and in other marine organisms (Ayre & Dufty, 1994; Andrade *et al.*, 2003; Nóbrega *et al.*, 2004; Dias *et al.*, 2006; José & Solferini, 2007; Neves *et al.*, 2007). High genetic variability may be favoured by environmental heterogeneity (Powell, 1971), which is a characteristic especially important in the intertidal zone. It has also been suggested that high levels of genetic variation can be adaptive in polluted areas (Nevo *et al.*, 1984), and from the three species analysed in this study, at least *B. caissarum* is frequently found in polluted places (Russo & Solé-Cava, 1991). Another factor that may enhance variability is the long life of sea anemones: as individuals can live easily for more than 50 years (Ottaway, 1980; Shick, 1991) many distinct cohorts might coexist, increasing the number of different alleles in the population (McFadden, 1997; Bengtsson, 2003). In plants, which are also sessile organisms, asexual reproduction can also maintain different genotypes in the population for a long time, preserving a high genetic variability (Borba *et al.*, 2001; Azevedo *et al.*, 2007).

All the populations studied here showed a deficit of heterozygotes (f values were high and positive). Deviations from Hardy-Weinberg are common in marine populations (Burton, 1983; Solé-Cava & Thorpe, 1991) specially ones that have asexual reproduction (Adjeroud & Tsuchiya, 1999; Ayre & Hughes, 2000; Duran *et al.*, 2004). In plants,

deviations from Hardy-Weinberg are also common (Borba *et al.*, 2001; Alcantara *et al.*, 2006). For sea anemones no consistent pattern relating Hardy-Weinberg equilibrium and mode of reproduction has been found, yet. Many studies with anemones have shown deviations from equilibrium (Ayre, 1983; Hoffmann, 1986; Russo *et al.*, 1994; Edmands & Potts, 1997), while others have found populations in agreement with Hardy-Weinberg expectations (Hunt & Ayre, 1989; Russo & Solé-Cava, 1991; Solé-Cava *et al.*, 1994b; Bronsdon *et al.*, 1997; McFadden *et al.*, 1997; Monteiro *et al.*, 1997).

Wahlund effect can explain our results, since anemones have long lives and so different cohorts might have been sampled in the same population. Environmental heterogeneity can also cause populations to be structured in micro geographic scale and so lead to deviations from Hardy-Weinberg (Hedrick, 2005). Inbreeding can also explain heterozygotes deficiency (Ayre *et al.*, 1997b; Ayre & Hughes, 2000). The populations sampled in this study were relatively small and the discontinuity of their habitats could lead to some level of isolation between subpopulations (values of θ from *B. caissarum* were significant in populations separated by only a few kilometers).

Heterozygotes deficits have been reported for species of sea anemones (Shick 1991) and they could be caused by a local fertilization of eggs, before the larval dispersal. The local fertilization would lead to a genetic pool smaller than expected if the whole population would be taken into account. This hypothesis was also proposed by Smith e Potts (1987). Sea anemones have been seen spawning at low tide or during periods of emersion and in some cases a sticky matrix surrounds the eggs and links them to the parent (Siebert Jr 1974; Sebens 1981; Marshal, Semmens *et al.* 2004). This would be a system of protecting the eggs from dehydration and to guarantee the fertilization with

neighbor eggs, once in the intertidal zone the hydrographic conditions are extremely variable, and thus the success of fertilization is expected to be low (Denny and Shibata 1989). Therefore the condition of panmixia is not achieved, because the probability of mating is bigger with the neighbor than with the rest of the population, while in a panmitic population the probabilities are equal.

2.5.2. Genetic Structure

Studies with marine organisms have shown that moderate to high structuring between populations are common in species with poor dispersal capability (Ayre & Dufty, 1994; McFadden, 1997; Miller, 1997; Darling *et al.*, 2004; Duran *et al.*, 2004; Whitaker, 2006) and low genetic differentiation is usually found when the species has a planktonic larvae (Hellberg, 1996; Kyle & Boulding, 2000; Nóbrega *et al.*, 2004; José & Solferini, 2007). In sea anemones, high structuring values have been found when some level of asexual reproduction exists (Ayre *et al.*, 1991; Russo *et al.*, 1994; Billingham & Ayre, 1996; Darling *et al.*, 2004) and low values have been found in strictly sexual species (Hunt & Ayre, 1989; Russo & Solé-Cava, 1991; Russo *et al.*, 1994).

The values of genetic differentiation found for *B. caissarum* ($\theta = 0.039$) are significant when we take into account that this species has a long-lived planktotrophic larva (Belém, 1987) and that only 13 km separated the sampled populations. This result can be due to the hydrographic features of the area where the populations are. There are many examples of organisms that have a good dispersal capability but instead show a moderate or high degree of differentiation between subpopulations due to the local movement of water (Ayre & Dufty, 1994; Miller, 1997; Adjeroud & Tsuchiya, 1999; Gutiérrez-Rodríguez & Lasker, 2004). Besides, many studies have shown that

recruitment in marine organisms usually happens in a local scale even if the species have a planktonic larva that can stay in the water for quite a long time. When dispersal is enough for maintaining gene flow between distant populations, but the majority of larva recruit locally, the patterns observed can be one of more differentiation in smaller scales than in larger ones (Ayre *et al.*, 1997b; Miller, 1997; Ayre & Hughes, 2000; Bastidas *et al.*, 2001). This could happen with *B. caissarum* populations, given that the species showed approximately the same value of differentiation ($\theta = 0.040$) between populations separated by only 13 km and populations 1150 km apart (data from Russo *et al.*, 1994).

The value of θ_S found when populations of *B. caissarum* were subdivided ($\theta_S = 0.040$) shows that there is microgeographic structuring in the species. Microgeographic structuring has already been seen in marine populations with planktonic larvae (Janson & Ward, 1984; Darling *et al.*, 2004; Andrade & Solferini, 2007), and could be caused by local adaptation. Natural selection is a very important feature in the gene flow of marine organisms (Burton, 1983; Hilbish, 1996; Sotka & Palumbi, 2006) and can explain the often found pattern of local recruitment, given that offspring from local adapted parents are more likely to survive near their birth place than in a different environment (Grosberg, 1987).

Bunodosoma cangicum is less selective about its habitat, it's usually found in moderate calm waters, fixed in rocks (personal observation) and its populations are often much larger than *P. flosculifera*'s. So, a long-lived larva could be more effective in promoting low levels of genetic structuring, as the one found ($\theta = 0.021$).

Phyllactis flosculifera lives in the intertidal zone in areas of calm water and where there is sand and rocks with small holes (where it can fix itself and hide). The moderate

value of structuring found for the species ($\theta = 0.080$) is probably caused by the discontinuity and specificity of its habitat (personal observation), which leads to small populations and long unsuitable coast areas.

Phyllactis flosculifera and *B. cangicum* have distant populations (1000 km and 1300 km, respectively) genetically connected. So we can assume that both species have larvae capable of good dispersal distances, and it is likely that those are planktonic. The θ values found for the two species are consistent with the ones found in other marine organisms with planktonic larvae (Hunt & Ayre, 1989; Russo *et al.*, 1994; Kyle & Boulding, 2000; Andrade *et al.*, 2003; José & Solferini, 2007).

More samples have been collected from different populations of the three species here studied and are being analysed. Results from these other samples are going to enrich the results here presented and further enhance understanding of the genetic patterns of *B. caissarum*, *B. cangicum* and *P. flosculifera*.

2.5.3. Genotypic Diversity

Previous studies have shown that *B. caissarum* reproduces only sexually (Belém, 1987; Russo *et al.*, 1994) and our results corroborate these previous studies.

The fact that only unique genotypes were found in *B. cangicum* and *P. flosculifera* suggests that none of these species have asexual reproduction. However, in many studies with marine organisms (including sea anemones) that were previously known to reproduce both sexually and asexually, the values of genotypic diversity found were the ones expected for outcrossing sexual populations (Ayre & Dufty, 1994; McFadden, 1997; Ayre & Hughes, 2000; Bastidas *et al.*, 2001; Zilberberg *et al.*, 2006; Neves *et al.*, 2007). This happens when sexual reproduction is more important to the

population structure than the asexual reproduction, and it might be the case in newly founded populations or very unstable environments (Williams, 1975; Shick *et al.*, 1979). The populations sampled for this study were small, which means that there is a chance they are new or disturbed ones. So, in fact, what can be said about our data is that there is no sign whatsoever of any of the three species having asexual reproduction and that certainly the sexual reproduction might have the most important role in the structure of these sampled populations.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho atesta a grande importância das espécies *Bunodosoma caissarum*, *B. cangicum* e *Anthopleura cascaia* para a comunidade de anêmonas-do-mar do mediolitoral da região de São Sebastião;

Verifica a existência de oscilações grandes no tamanho populacional destas três espécies ao longo do período de estudo;

Mostra um padrão de recrutamento aparentemente contínuo e pequeno para as espécies *B. caissarum* e *B. cangicum*, enquanto sugere um recrutamento maior durante a primavera para *A. bermudensis* e *A. cascaia*;

Não encontra um padrão claro de crescimento corporal para nenhuma das espécies acompanhadas ao longo do período de estudo;

Este trabalho demonstra que a ocupação de microhabitats pelas cinco espécies estudadas (*Bunodosoma caissarum*, *B. cangicum*, *Anthopleura cascaia*, *Actinia bermudensis* e *Phyllactis flosculifera*) não ocorre de maneira aleatória, estando relacionada com a preferência de cada uma delas;

Demonstra a alta variabilidade genética de *Bunodosoma caissarum*, *B. cangicum* e *Phyllactis flosculifera*;

Mostra a existência de estruturação microgeográfica para a espécie de anêmona-do-mar *Bunodosoma caissarum* em Santa Catarina;

Reforça a exclusividade da reprodução sexuada em *B. caissarum*, e atesta a importância deste modo de reprodução em *B. cangicum* e *P. flosculifera*;

E demonstra que populações de *B. cangicum* e *P. flosculifera* estão conectadas mesmo quando distantes cerca de 1000km, sugerindo a existência de larva planctônica com grande tempo de permanência na água no ciclo de vida das duas espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adjeroud, M. & Tsuchiya, M. (1999) Genetic variation and clonal structure in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* in the Ryukyu archipelago, southern Japan. *Marine Biology*, **134**, 753-760.
- Alcantara, S., Semir, J., & Solferini, V.N. (2006) Low genetic structure in an Epiphytic Orchidaceae (*Oncidium hookeri*) in the Atlantic Rainforest of South-eastern Brazil. *Annals of Botany*, **98**, 1207-1213.
- Andrade, S.C.A. & Solferini, V.N. (2007) Fine-scale genetic structure overrides macro-scale structure in a marine snail: non-random recruitment, demographic events or selection? *Biological Journal of the Linnean Society*, **91**, 23-36.
- Andrade, S.C.S., Magalhães, C.A., & Solferini, V.N. (2003) Patterns of genetic variability in Brazilian Littorinids (Mollusca): a macrogeographic approach. *Journal of Zoological Systematic and Evolutionary Research*, **41**, 249-255.
- Archambault, P. & Bourget, E. (1999) Influence of shoreline configuration on spatial variation of meroplanktonic larvae, recruitment and diversity of benthic subtidal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **238**, 161-184.
- Ayre, D.J. (1983) The effects of asexual reproduction and inter-genotypic aggression on the genotypic structure of populations of the sea anemone *Actinia tenebrosa*. *Oecologia*, **57**, 158-165.
- Ayre, D.J. (1985) Localized adaptation of clones of the sea anemone *Actinia tenebrosa*. *Evolution*, **39**, 1250-1260.
- Ayre, D.J., Davis, A.R., Billingham, M., Llorens, T., & Styan, C. (1997a) Genetic evidence for contrasting patterns of dispersal in solitary and colonial ascidians. *Marine Biology*, **130**, 51-61.
- Ayre, D.J. & Dufty, S. (1994) Evidence for restricted gene flow in the viviparous coral *Seriatopora hystrix* on Australia's Great Barrier Reef. *Evolution*, **48**, 1183-1201.
- Ayre, D.J. & Hughes, T.P. (2000) Genotypic diversity and gene flow in brooding and spawning corals along the Great Barrier Reef, Australia. *Evolution*, **54**, 1590-1605.
- Ayre, D.J., Hughes, T.P., & Standish, R.J. (1997b) Genetic differentiation, reproductive mode, and gene flow in the brooding coral *Pocillopora damicornis* along the Great Barrier Reef, Australia. *Marine Ecology Progress Series*, **159**.

- Ayre, D.J., Read, J., & Wishart, J. (1991) Genetic subdivision within the eastern Australian population of the sea anemone *Actinia tenebrosa*. *Marine Biology*, **109**, 379-390.
- Azevedo, M.T.A., Borba, E., L., Semir, J., & Solferini, V.N. (2007) High genetic variability in Neotropical myophilous orchids. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **153**, 33-44.
- Bastidas, C., Benzie, J.A.H., Uthicke, S., & Fabricius, K.E. (2001) Genetic differentiation among populations of a broadcast spawning soft coral *Sinularia flexibilis*, on the Great Barrier Reef *Marine Biology*, **138**, 517-525.
- Belém, M.J.d.C. (1987) Aspectos da biologia de *Bunodosoma caissarum* Correa, 1964 (Cnidaria, Anthozoa, Actiniidae) do litoral do Estado do Rio de Janeiro, com ênfase na estimativa do seu comportamento reprodutivo. Tese de doutorado, USP, São Paulo.
- Belém, M.J.d.C. (1988) Anatomy and Biology of *Bunodosoma caissarum* Corrêa, 1964 (Cnidaria, Anthozoa, Actiniidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, **60**, 365-375.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., & Bonhomme, F. (2003) GENETIX, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Bengtsson, B.O. (2003) Genetic variation in organisms with sexual and asexual reproduction. *Journal of Evolutionary Biology*, **16**, 189-199.
- Billingham, M. & Ayre, D.J. (1996) Genetic subdivision in the subtidal, clonal sea anemone *Anthothoe albocincta*. *Marine Biology*, **125**, 153-163.
- Bohonak, A.J. (1999) Dispersal, gene flow, and population structure. *The quarterly review of biology*, **74**, 21-45.
- Borba, E., L., Felix, J.M., Solferini, V.N., & Semir, J. (2001) Fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae): Evidence from isozyme markers. *American Journal of Botany*, **88**, 419-428.
- Bronsdon, S.K., Rogers, A.D., Tyler, P.A., Rice, A.L., & Gage, J.D. (1997) Genetic study of the extent and consequences of sexual and asexual reproduction in the deep-sea epizoic anemones *Amphianthus inornata* and *Kadosactis commensalis* (Cnidaria: Anthozoa). *Marine Biology*, **128**, 231-239.
- Bucklin, A. (1985) Biochemical genetic variation, growth and regeneration of the sea anemone, *Metridium*, of British shores. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **65**, 141-157.

- Burton, R.S. (1983) Protein polymorphisms and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Marine Biology Letters*, **4**, 193-206.
- Carlson, D.B. & Olson, R.R. (1993) Larval dispersal distance as an explanation for adult pattern in two Caribbean reef corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **173**, 247-263.
- Chomsky, O., Kamenir, Y., Hyams, M., Dubinsky, Z., & Chadwick-Furman, N.E. (2004) Effects of temperature on growth rate and body size in the mediterranean sea anemone *Actinia equina*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **313**, 63-73.
- Clayton, J.W. & Tretiak, D.N. (1972) Amine-citrate buffers for pH control in starch-gel electrophoresis. *Journal of Fish Research of the Board of Canada*, **29**, 1169-1172.
- Coma, R. & Ribes, M. (2003) Seasonal energetic constraints in Mediterranean benthic suspension feeders: effects at different levels of ecological organization. *Oikos*, **101**.
- Connell, J.H. (1961) The influence of interspecific competition and other factors on the distribution of the barnacle *Chthamalus stellatus*. *Ecology*, **42**, 710-723.
- Corrêa, D.D. (1964) Corallimorpharia e Actiniaria do Atlântico Oeste Tropical, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Darling, J.A., Reitzel, A.M., & Finnerty, J.R. (2004) Regional population structure of a widely introduced estuarine invertebrate: *Nematostella vectensis* Stephenson in New England. *Molecular Ecology*, **13**, 2969-2981.
- David, P., Berthou, P., Noel, P., & Jarne, P. (1997) Patchy recruitment patterns in marine invertebrates: a spatial test of the density-dependent hypothesis in the bivalve *Spisula ovalis*. *Oecologia*, **111**, 331-340.
- Davis, A.R. & Campbell, D.J. (1996) Two levels of spacing and limits to local population density for settled larvae of the ascidian *Clavelina moluccensis*: a nearest-neighbour analysis. *Oecologia*, **108**, 701-717.
- Dayton, P.K. (1971) Competition, disturbance, and community organization: the provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community. *Ecological Monographs*, **41**, 351-389.
- Denadai, M.R., Amaral, A.C., & Turra, A. (2005) Structure of molluscan assemblages in sheltered intertidal unconsolidated environments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **48**, 825-839.
- Dias, G.M., Duarte, L.F.L., & Solferini, V.N. (2006) Low genetic differentiation between isolated populations of the colonial ascidian *Symplegma rubra* Monniot, C. 1972. *Marine Biology*, **148**, 807-815.

- Donohue, I., Verheyen, E., & Irvine, K. (2003) *In situ* experiments on the effects of increased sediment loads on littoral rocky shore communities in Lake Tanganyika, East Africa. *Freshwater Biology*, **48**, 1603-1616.
- Duarte, L.F.L. & Guerrazzi, M.C. (2004). Zonação do costão rochoso da praia do Rio Verde: Padrões de distribuição e abundância. In *Estação Ecológica Juréia-Itatins: Ambiente físico, flora e fauna* (eds O.A.V. Marques & W. Duleba). Holos, Ribeirão Preto.
- Duran, S., Pascual, M., Estoup, A., & Turon, X. (2004) Strong population structure in the marine sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida) as revealed by microsatellite markers. *Molecular Ecology*, **13**, 511-522.
- Edmands, S. & Potts, D.C. (1997) Population genetic structure in brooding sea anemones (*Epiactis* spp.) with contrasting reproductive modes. *Marine Biology*, **127**, 485-498.
- Gotelli, N.J. (1991) Demographic models for *Leptogorgia Virgulata*, a shallow-water Gorgonian. *Ecology*, **72**, 457-467.
- Grosberg, R.K. (1987) Limited dispersal and proximity-dependent mating success in the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. *Evolution*, **41**, 372-384.
- Grosberg, R.K. (1991) Sperm-mediated gene flow and the genetic structure of a population of the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. *Evolution*, **45**, 130-142.
- Gutiérrez-Rodríguez, C. & Lasker, H.R. (2004) Microsatellite variation reveals high levels of genetic variability and population structure in the gorgonian coral *Pseudopterogorgia elisabethae* across Bahamas. *Molecular Ecology*, **13**, 2211-2221.
- Harrington, L., Fabricius, K., De'ath, G., & Negri, A. (2004) Recognition and selection of settlement substrata determine post-settlement survival in corals. *Ecology*, **85**, 3428-3437.
- Hart, C.E. & Crowe, J.H. (1977) The effect of attached gravel on survival of intertidal anemones. *Trans. Amer. Micros. Soc.*, **96**, 28-41.
- Hayward, P.J. (2004) *A Natural History of the Seashore* HarperCollins Publishers, London.
- Hedrick, P.W. (2005) *Genetics of Populations*, 3rd ed. edn. Jones & Bartlett Publishers, Sudbury, MA.
- Hellberg, M.E. (1996) Dependence of gene flow on geographic distance in two solitary corals with different larval dispersal capabilities. *Evolution*, **50**, 1167-1175.

- Helmuth, B.S.T. & Hofmann, G.E. (2001) Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *Biological Bulletins*, **201**, 374-384.
- Hilbish, T.J. (1996) Population genetics of marine species: the interaction of natural selection and historically differentiated populations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **2000**, 67-83.
- Hoffmann, R.J. (1986) Variation in contribution of asexual reproduction to the genetic structure of populations of the sea anemone *Metridium senile*. *Evolution*, **40**, 357-365.
- Holbrook, S.J. & Schmitt, R.J. (2005) Growth, reproduction and survival of a tropical sea anemone (Actiniaria): benefits of hosting anemone fish. *Coral Reefs*, **24**, 67-73.
- Hughes, T.P. (1990) Recruitment limitation, mortality, and population regulation in open systems: a case study. *Ecology*, **71**, 12-20.
- Hughes, T.P., Baird, A.H., Dinsdale, E.A., Moltschaniwskyj, N.A., Pratchett, M.S., Tanner, J.E., & Willis, B.L. (1999) Patterns of recruitment and abundance of corals along the Great Barrier Reef. *Nature*, **397**, 59-63.
- Hunt, A. & Ayre, D.J. (1989) Population structure in the sexually reproducing sea anemone *Oulactis muscosa*. *Marine Biology*, **102**, 537-544.
- Janson, K. & Ward, R.D. (1984) Microgeographic variation in allozyme and shell characters in *Littorina saxatilis* Olios (Prosobranchia: Littorinidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **22**, 289-307.
- Jenkins, S.R. (2005) Larval habitat selection, not larval supply, determines settlement patterns and adult distribution in two chitonalid barnacles. *Journal of Animal Ecology*, **74**, 893-904.
- Jockiel, P.L. (1984) Long distance dispersal of reef corals by rafting. *Coral Reefs*, **3**, 113-116.
- José, J. & Solferini, V.N. (2007) Population genetics of *Collisella subrugosa* (Patellogastropoda: Acmaeidae): evidence of two scales of population structure. *Genetica*, **130**, 73-82.
- Kinlan, B.P. & Gaines, S.D. (2003) Propagule Dispersal in Marine and Terrestrial Environments: a Community Perspective. *Ecology*, **84**, 2007-2020.
- Kyle, C.J. & Boulding, E.G. (2000) Comparative population genetic structure of marine gastropods (*Littorina* spp.) with and without pelagic larval dispersal. *Marine Biology*, **137**, 835-845.

- Levinton, J.S. (2001) *Marine Biology: Function, Biodiversity, Ecology*, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford.
- Lewis, P.O. & Zaykin, D. (2001) Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html/s>.
- Magnum, D.C. (1970) Burrowing behavior of the sea anemone *Phyllactis*. *Biological Bulletins*, **138**, 316-325.
- McCommas, S.A. (1982) Biochemical genetics of the sea anemone *Bunodosoma cavernata* and the zoogeography of the Gulf of Mexico. *Marine Biology*, **68**, 169-173.
- McFadden, C.S. (1997) Contributions of sexual and asexual reproduction to population structure in the clonal soft coral, *Alcyonium rudyi*. *Evolution*, **51**.
- McFadden, C.S., Grosberg, R.K., Cameron, B.B., Karlton, D.P., & Secord, D. (1997) Genetic relationships within and between clonal and solitary forms of the sea anemone *Anthopleura elegantissima* revisited: evidence for the existence of two species. *Marine Biology*, **128**, 127-139.
- McGrath, D., King, P.A., & Gosling, E.M. (1988) Evidence for the direct settlement of *Mytilus edulis* larvae on adult mussel beds. *Marine Ecology Progress Series*, **47**, 103-106.
- Miller, K.J. (1997) Genetic structure of black coral populations in New Zealand's fiords. *Marine Ecology Progress Series*, **161**, 123-132.
- Monteiro, F.A., Russo, C.A.M., & Solé-Cava, A.M. (1998) Genetic evidence for the asexual origin of small individuals found in the coelenteron of the sea anemone *Actinia bermudensis* McMurrich. *Bulletin of Marine Science*, **63**, 257-264.
- Monteiro, F.A., Solé-Cava, A.M., & Thorpe, J.P. (1997) Extensive genetic divergence between populations of the common intertidal sea anemone *Actinia equina* from Britain, the Mediterranean and the Cape Verde Islands. *Marine Biology*, **129**, 425-433.
- Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583-590.
- Neves, E.G., Andrade, S.C.S., da Silveira, F.L., & Solferini, V.N. (2007) Genetic variation and population structuring in two brooding coral species (*Siderastrea stellata* and *Siderastrea radians*) from Brazil. *Genetica*, **in press**.
- Nevo, E., Ben-Shlomo, R., & Lavie, B. (1984) Mercury selection of allozymes in marine organisms: prediction and verification in nature. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **81**, 1258-1259.

- Newell, R.C. (1979) *Biology of Intertidal animals*, 3rd edn. Marine Ecological Surveys Ltd, Kent.
- Nóbrega, R., Solé-Cava, A.M., & Russo, C.A.M. (2004) High genetic homogeneity of an intertidal marine invertebrate along 8000 km of the Atlantic coast of the Americas. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **303**, 173-181.
- Nybakken, J.W. (1997) *Marine Biology: an Ecological Approach*, 4th edn. Addison-Wesley Educational Publishers Inc.
- Ottaway, J.R. (1978) Population ecology of the intertidal anemone *Actinia tenebrosa* I. Pedal locomotion and intraspecific aggression. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, **29**, 787-802.
- Ottaway, J.R. (1979) Population ecology of the intertidal anemone *Actinia tenebrosa* III* Dynamics and environmental factors. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, **30**, 41-62.
- Ottaway, J.R. (1980) Population ecology of the intertidal anemone *Actinia tenebrosa* IV. Growth rates and longevities. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, **31**, 385-395.
- Ottaway, J.R. & Thomas, I.M. (1971) Movement and zonation of the intertidal anemone *Actinia tenebrosa* Farqu. (Cnidaria: Anthozoa) under experimental conditions. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, **22**, 63-78.
- Paine, R.T. (1966) Food web complexity and species diversity. *The American Naturalist*, **100**, 65-75.
- Paine, R.T. (1974) Intertidal community structure *Oecologia*, **15**, 93-120.
- Palumbi, S.R. (1994) Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **25**, 547-572.
- Powell, R. (1971) Genetic polymorphisms in varied environments. *Science*, **174**, 1035-1036.
- Raffaelli, D. & Hawkins, S.J. (1996) *Intertidal Ecology* Chapman & Hall.
- Richardson, D.L., Harriott, V.J., & Harrison, P.L. (1997) Distribution and abundance of giant sea anemones (Actiniaria) in subtropical eastern Australian waters. *Marine and Freshwater Research*, **48**, 59-66.
- Ricklefs, R.E. & Miller, G.L. (2000) *Ecology*, 4th edn. W.H. Freeman and Company, New York.
- Riemann-Zürneck, K. (1998) How sessile are sea anemones? A review of free-living forms in the Actiniaria (Cnidaria: Anthozoa). *Marine Ecology*, **19**, 247-261.

- Roughgarden, J., Iwasa, Y., & Baxter, C. (1985) Demographic theory for an open marine population with space-limited recruitment. *Ecology*, **66**, 54-67.
- Ruppert, E.E. & Barnes, R.D. (1996) *Zoologia dos Invertebrados*, 6th edn. Editora Roca.
- Russo, C.A.M. & Solé-Cava, A.M. (1991) High levels of gene variation and the population structure of *Bunodosoma caissarum* (Cnidaria: Actiniidae). *Revista de Biologia Tropical*, **39**, 41-46.
- Russo, C.A.M., Solé-Cava, A.M., & Thorpe, J.P. (1994) Population structure and genetic variation in two tropical sea anemones (Cnidaria, Actinidae) with different reproductive strategies. *Marine Biology*, **119**, 267-276.
- Sebens, K.P. (1980) The regulation of asexual reproduction and indeterminate body size in the sea anemone *Anthopleura elegantissima* (Brandt). *Biological Bulletin*, **158**, 370-382.
- Sebens, K.P. (1981) Recruitment in a sea anemone population: juvenile substrate becomes adult prey. *Science*, **213**, 785-787.
- Sebens, K.P. (1982a) Asexual reproduction in *Anthopleura elegantissima* (Anthozoa: Actiniaria) seasonality and spatial extent of clones. *Ecology*, **63**, 434-444.
- Sebens, K.P. (1982b) Intertidal distribution of zoanths on the Caribbean coast of Panamá: Effects of predation and desiccation. *Bulletin of Marine Science*, **32**, 316-335.
- Sebens, K.P. (1982c) Recruitment and habitat selection in the intertidal sea anemone, *Anthopleura elegantissima* (Brandt) and *A. xanthogrammica* (Brandt). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **59**, 103-124.
- Sebens, K.P. (1983) Population dynamics and habitat suitability of the intertidal sea anemones *Anthopleura elegantissima* and *A. xanthogrammica*. *Ecological Monographs*, **53**, 405-433.
- Sebens, K.P. (1984) Agonistic behavior in the intertidal sea anemone *Anthopleura xanthogrammica*. *Biological Bulletin*, **166**, 457-472.
- Secord, D. & Augustine, L. (2000) Biogeography and microhabitat variation in temperate algal-invertebrate symbioses: zooxanthellae and zoochlorellae in two Pacific intertidal sea anemones, *Anthopleura elegantissima* and *A. xanthogrammica*. *Invertebrate Biology*, **119**, 139-146.
- Shaw, C.R. & Prasad, R. (1970) Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. *Biochemical Genetics*, **4**, 297-320.
- Shick, J.M. (1991) *A functional biology of sea anemones* Chapman & Hall, London.

- Shick, J.M., Hoffmann, R.J., & Lamb, A.N. (1979) Asexual reproduction, population structure, and genotype-environment interactions in sea anemones. *American Zoology*, **19**, 699-713.
- Solé-Cava, A.M., Russo, C.A.M., Araujo, M.E., & Thorpe, J.P. (1994a) Cladistic and phenetic analysis of allozyme data for nine species of sea anemones of the family Actiniidae (Cnidaria: Anthozoa). *Biological Journal of the Linnean Society*, **52**, 225-239.
- Solé-Cava, A.M. & Thorpe, J.P. (1991) High levels of genetic variation in natural populations of marine lower invertebrates. *Biological Journal of the Linnean Society*, **44**, 65-80.
- Solé-Cava, A.M., Thorpe, J.P., & Todd, C.D. (1994b) High genetic similarity between geographically distant populations in a sea anemone with low dispersal capabilities. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, **74**, 895-902.
- Sotka, E.E. & Palumbi, S.R. (2006) The use of genetic clines to estimate dispersal distances of marine larvae. *Ecology*, **87**, 1094-1103.
- Sotka, E.E., Wares, J.P., Barth, J.A., Grosberg, R.K., & Palumbi, S.R. (2004) Strong genetic clines and geographical variation in gene flow in the rocky intertidal barnacle *Balanus glandula*. *Molecular Ecology*, **13**, 2143-2156.
- Southward, A.J. (1957) The zonation of plants and animals on the rocky sea shore. *Biological Reviews*, **3**, 9-177.
- Stephenson, T.A. & Stephenson, A. (1949) The universal features of zonation between tide-marks on rocky coasts. *The Journal of Ecology*, **37**, 289-305.
- Stocker, L.J. & Bergquist, P.R. (1986) Seasonal cycles, extrinsic factors, and the variable effects of turfing algae on the abundance of a colonial ascidian. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **102**, 1-21.
- Stoddart, J.A. & Taylor, J.F. (1988) Genotypic Diversity: Estimation and prediction in samples. *Genetics*, **118**, 705-711.
- Stoner, D.S. (1992) Vertical distribution of a colonial ascidian on a coral reef: the roles of larval dispersal and life-history variation. *The American Naturalist*, **139**, 802-824.
- Strathmann, R. (1974) The spread of sibling larvae of sedentary marine invertebrates. *American Naturalist*, **108**, 29-44.
- Traldi, E.S. & Schlenz, E. (1990) Estratégias de ocupação de um costão rochoso por cinco espécies de anêmonas no litoral do Estado de São Paulo. In II Simpósio de Ecossistemas da costa Sul e Sudeste do Brasil: estrutura, função e manejo, Vol. 3, pp. 67-74. Academia de Ciências do Estado de São Paulo Press, Águas de Lindóia.

- Underwood, A.J. & Fairweather, P.G. (1989) Supply-side ecology and benthic marine assemblages. *Trends in Ecology and Evolution*, **4**, 16-20.
- Ward, R.D. & Warwick, T. (1980) Genetic differentiation in the molluscan species *Littorina rudis* and *L. arcana* (Prosobranchia: Littorinidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **14**, 417-428.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C. (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- Whitaker, K. (2006) Genetic evidence for mixed modes of reproduction in the coral *Pocillopora damicornis* and its effect on population structure. *Marine Ecology Progress Series*, **306**, 115-124.
- Williams, G.C. (1975) *Sex and Evolution* Princeton University Press, Princeton.
- Wolcott, B.D. & Gaylord, B. (2002) Flow-induced energetic bounds to growth in an intertidal sea anemone. *Marine Ecology Progress Series*, **245**, 101-109.
- Zilberberg, C., Maldonado, M., & Solé-Cava, A.M. (2006) Assessment of the relative contribution of asexual propagation in a population of the coral-excavating sponge *Cliona delitrix* from the Bahamas. *Coral Reefs*, **25**, 297-301.