



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Tecnologia

Lucas Alegretti

Análise de tabela de vida de uma população natural de *Parhyale hawaiiensis*: Recomendações para experimento de toxicidade crônica.

Limeira

2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Tecnologia

Lucas Alegretti

Análise de tabela de vida de uma população natural de *Parhyale hawaiiensis*: Recomendações para experimento de toxicidade crônica.

Dissertação apresentada à Faculdade de Tecnologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia, na área de Tecnologia e Inovação.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maurea Nicoletti Flynn.

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Gisela de Aragão Umbuzeiro.

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pelo aluno Lucas Alegretti, e orientado pelo Prof.^a Dr^a Maurea Nicoletti Flynn.

Limeira

2015

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Tecnologia
Felipe de Souza Bueno - CRB 8/8577

Al25a Alegretti, Lucas, 1988-
Análise de tabela de vida de uma população de *Parhyale hawaiiensis* :
recomendações para experimento de toxicidade crônica / Lucas Alegretti. –
Limeira, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Maurea Nicoletti Flynn.
Coorientador: Gisela de Aragão Umbuzeiro.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Tecnologia.

1. Dinâmica populacional. 2. Toxicologia ambiental. 3. Amphipoda. I. Flynn,
Maurea Nicoletti. II. Umbuzeiro, Gisela de Aragão, 1957-. III. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Tecnologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Life table analysis of a natural population of *Parhyale hawaiiensis* :
recommendations for chronic toxicity experiment

Palavras-chave em inglês:

Population dynamics

Environmental toxicology

Amphipoda

Área de concentração: Ambiente

Titulação: Mestre em Tecnologia

Banca examinadora:

Maurea Nicoletti Flynn [Orientador]

Antônio José Arsénia Nogueira

Franci Mary Fatinato

Data de defesa: 26-02-2015

Programa de Pós-Graduação: Tecnologia

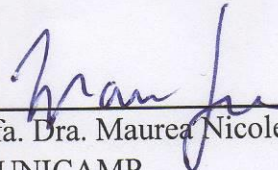
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

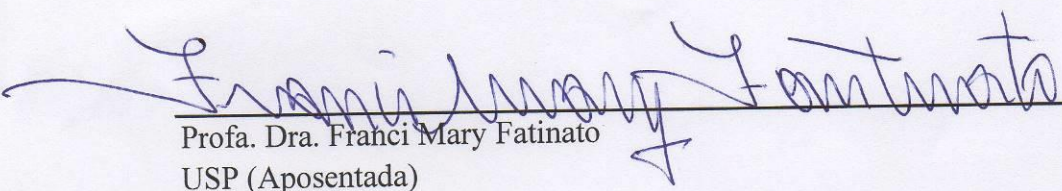
Análise de tabela de vida de uma população natural de *Parhyale hawaiiensis*. Recomendações para experimento de toxicidade crônica.

Lucas Alegretti

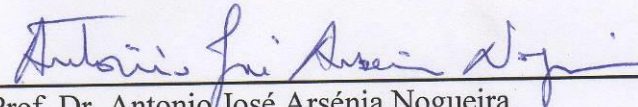
A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:



Profa. Dra. Maurea Nicoletti Flynn
FT-UNICAMP
Presidente



Profa. Dra. Franci Mary Fatinato
USP (Aposentada)



Prof. Dr. Antonio José Arsénia Nogueira
Universidade de Aveiro

Resumo

As respostas de populações ao estresse ambiental têm sido avaliadas em relação a efeitos na taxa de crescimento da população, na capacidade suporte do meio, na densidade e viabilidade populacional. Os objetivos deste trabalho englobam a descrição da estrutura e da dinâmica de uma população natural de *Parhyale hawaiensis* através da confecção de tabela de vida idade-específica para obtenção de parâmetros vitais populacionais, além de fornecer recomendações metodológicas para testes de toxicidade crônica, conhecido como LTRE (Life Table Responde Experiment). A estrutura populacional, a classe etária, a evolução da densidade, a razão sexual, a curva de sobrevivência, a taxa líquida de reprodução, o tempo de geração e a taxa per capita de crescimento foram estabelecidos para uma população da região entre marés do cinturão de algas, em Poço de Anchietá, Itanhaém - SP. A estratégia de vida identificada para a espécie está associada a um padrão de dinâmica populacional consistente com o comportamento adotado por espécies costeiras em ambientes fisicamente controlados e sujeitos a frequentes perturbações, e sugerem tendências relacionadas à latitude, produtividade e previsibilidade que podem ser resumidas nas hipóteses de seleção r-K relacionadas à longevidade, maturidade e fecundidade da espécie. A abordagem experimental aqui recomendada procura delinear um experimento com período de 12 semanas com a espécie teste *P. hawaiensis*, com o objetivo de obter respostas a agentes estressores em nível populacional, utilizando com *endpoints* as estatísticas demográficas: o potencial reprodutivo (R_0), a taxa intrínseca de crescimento (r) e o tempo de geração (T). Os valores guias estimados foram respectivamente $R_0 = 1.45 \pm 1.01$, $r = 0.057 \pm 0.169$ e $T = 3.510 \pm 1.305$.

Palavras-chaves: Dinâmica populacional, Amphipoda, Toxicologia Ambiental.

Abstract

Population's responses to environmental stress have been evaluated for effects on parameters such as population growth rate, environment carrying capacity, population density and viability. The objectives of this study are to describe the structure and dynamics of a natural population of *Parhyale hawaiiensis* by constructing age-specific life tables to obtain population vital parameters and provide methodological recommendations for chronic toxicity tests, known as LTRE (Life Table Response Experiments). The population structure, age group, temporal evolution of the density, sex ratio, survival curve, net reproductive rate, generation time and per capita growth rate were established for a population of the intertidal belt algae, in Poço de Anchieta, Itanhaém - SP. The life strategy identified for the species is associated with a pattern of population dynamics consistent with the behavior adopted by coastal species in physically controlled environments and subject to frequent disruptions, suggesting trends related to latitude, productivity and predictability summarized by rK selection related to longevity, maturity and fecundity of the species. The experimental approach recommended here seeks to outline an experiment with 12-week period with the test species *P. hawaiiensis*, in order to get answers to stressors at the population level, using endpoints with demographic statistics: the reproductive potential (R_0), the intrinsic growth rate (r) and the generation time (T). The estimated guide values were respectively $R_0 = 1.45 \pm 1.01$, $r = 0.057 \pm 0.169$ and $T = 3.510 \pm 1.305$

Keywords: Population dynamics, Aphipoda, Environmental toxicology.

Sumário

1. <i>Introdução</i>	1
2. <i>Material e Métodos</i>	7
2.1. <i>Área de Coleta</i>	7
2.2. <i>Coleta de campo</i>	8
2.3. <i>Triagem do Material Coletado</i>	10
2.4. <i>Identificação da espécie, sexagem e mensurações dos indivíduos</i>	11
2.5. <i>Análise dos dados obtidos</i>	13
3. <i>Resultados</i>	16
4. <i>Discussão</i>	36
5. <i>Conclusão</i>	45
6. <i>Referências Bibliográficas</i>	46

Agradecimentos

Agradeço especialmente à Prof^ª Dr^a Maurea Nicoletti Flynn, pela orientação tanto na vida acadêmica como na vida profissional e por todos os ensinamentos.

À Prof^ª Dr^a Gisela de Aragão Umbuzeiro, pela oportunidade de fazer o mestrado.

À toda equipe do LEAL, especialmente, Adria C. de Oliveira, Anjaína F. Albuquerque Josiane Vendemiatti, e Gilberto de Almeida, por todo trabalho e ajuda no laboratório

Às funcionárias da pós-graduação Karen e Fátima, por toda ajuda e paciência nos processos burocráticos.

Aos colegas do curso de pós-graduação da FT.

À Prof^ª Dr^a Franci Mary Fatinato e ao Prof^º Dr. Antonio José de Arsénia Nogueira por aceitarem fazer parte da banca examinadora.

“The essence of the ocean cannot be seen in a drop of seawater.”
Kurt Tucholsky, 1925

Lista de Ilustrações

FIGURA 1 – LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETA: A - MAPA DA REGIÃO (FONTE: GOOGLE EARTH), B - VISTA APROXIMADA DO LOCAL DE COLETA (FONTE: GOOGLE EARTH) E C – FOTO DO LOCAL DE COLETA.....	7
FIGURA 2 – REALIZAÇÃO DA COLETA DURANTE A MARÉ BAIXA, NO POÇO DE ANCHIETA EM ITANHAÉM – SP.	9
FIGURA 3 - BANDEJA COM RÉPLICA DURANTE LAVAGEM DO MATERIAL.....	10
FIGURA 4 – FOTOS SOB LUPA DURANTE A IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE. A – DETALHE MOSTRANDO A DIFERENÇA DE TAMANHO ENTRE O PRIMEIRO E O SEGUNDO PAR DE ANTENAS, CARACTERÍSTICO DA FAMÍLIA HYALIDAE. B – ESPINHOS CARACTERÍSTICOS DA ESPÉCIE <i>P. HAWAIENSIS</i> , LOCALIZADOS NA PARTE POSTERIOR DOS 6º E 7º PARES DOS PLEÓPODES. C – ZOOM DA IMAGEM B.	11
FIGURA 5 – SEXAGEM DOS INDIVÍDUOS COLETADOS. A – JOVEM. B – FÊMEA OVÍGERA COM DOIS OVOS. C – GNATÓPODE DE FÊMEA ADULTA E D – GNATÓPODE DE MACHO ADULTO.	12
FIGURA 6 - MEDIÇÃO DE FÊMEA OVÍGERA COM A UTILIZAÇÃO DO SOFTWARE IMAGE TOOL 3.0.	13
FIGURA 7 – CORRELAÇÃO ENTRE TAMANHO DO CEFALOTÓRAX E TAMANHO TOTAL DOS INDIVÍDUOS COLETADOS NAS DUAS PRIMEIRAS CAMPANHAS REALIZADAS EM DEZEMBRO DE 2012 E JANEIRO DE 2013, RESPECTIVAMENTE.....	17
FIGURA 8 – VARIAÇÃO TEMPORAL DA PROPORÇÃO ENTRE MACHO E FÊMEA, DEZEMBRO DE 2012 E NOVEMBRO DE 2013.....	18
FIGURA 9 – ABUNDÂNCIA MÉDIA DE INDIVÍDUOS DA ESPÉCIE <i>P. HAWAIENSIS</i> POR CAMPANHA AMOSTRAL.	19
FIGURA 10 – ABUNDÂNCIA TOTAL DE INDIVÍDUOS DA ESPÉCIE <i>P. HAWAIENSIS</i> (EM $\ln(N_x+1)$) POR CAMPANHA AMOSTRAL E PROPORÇÕES ENTRE AS CATEGORIAS: FÊMEAS OVÍGERAS, FÊMEAS, MACHOS E JOVENS.....	20
FIGURA 11 – VARIAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO (R_0) PARA O PERÍODO DE ESTUDO.....	27
FIGURA 12 – VARIAÇÃO DA TAXA DE CRESCIMENTO INTRÍNSECA DA POPULAÇÃO DE <i>P. HAWAIENSIS</i> ENTRE DEZEMBRO DE 2012 E NOVEMBRO DE 2013.	28
FIGURA 13 – CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA MENSIS PARA <i>P. HAWAIENSIS</i> ENTRE O PERÍODO DE DEZEMBRO DE 2012 E NOVEMBRO DE 2013.	29
FIGURA 14 – CURVA DE SOBREVIVÊNCIA MÉDIA E DESVIO PADRÃO PARA <i>P. HAWAIENSIS</i> ENTRE O PERÍODO DE DEZEMBRO DE 2012 E NOVEMBRO DE 2013.	30
FIGURA 15 – CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES ABSOLUTOS DE ABUNDÂNCIA E A TAXA DE CRESCIMENTO INTRÍNSECA (R).....	30

FIGURA 16 – CORRELAÇÃO ENTRE O PESO SECO (G) E O PESO ÚMIDO (G) DE 30 RÉPLICAS DE ALGA/SUBSTRATO.	32
FIGURA 17 – CURVA DE CRESCIMENTO LOGÍSTICO DE <i>PARHYALE HAWAIENSIS</i> DE AMOSTRAS COLETADAS EM DEZEMBRO DE 2012 E JANEIRO DE 2013.....	35

Lista de Tabelas

TABELA 1 – VALORES ABSOLUTOS DE JOVENS, MACHOS, FÊMEAS, FÊMEAS OVÍGERAS E TOTAL DE <i>P. HAWAIENSIS</i> EM CADA COLETA REALIZADA NO POÇO DE ANCHIETA, ITANHAÉM-SP.	16
TABELA 2 - DEFINIÇÃO DAS CLASSES ETÁRIAS, EM MILÍMETROS.	17
TABELA 3 – CÁLCULO DA FECUNDIDADE (M_x), PARA CADA CLASSE ETÁRIA, A PARTIR DA DIVISÃO DO NÚMERO DE OVOS PELO NÚMERO DE FÊMEAS DE CADA CLASSE.....	20
TABELA 4 – TABELAS DE VIDA IDADE ESPECÍFICA MENSAS, DE DEZEMBRO DE 2012 A NOVEMBRO DE 2013. LEGENDA: N_x = NÚMERO DE INDIVÍDUOS; L_x = TAXA DE SOBREVIVÊNCIA; M_x = FECUNDIDADE.	22
TABELA 5 – VALORES OBTIDOS PARA OS PARÂMETROS POPULACIONAIS, POTENCIAL REPRODUTIVO (R_0), TAXA DE CRESCIMENTO INTRÍNSECA (R) E TEMPO DE GERAÇÃO (T) EM CADA COLETA REALIZADA NO POÇO DE ANCHIETA, EM ITANHAÉM – SP.	25
TABELA 6 – VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO DA SOBREVIVÊNCIA (L_x) DAS DIFERENTES CLASSES ETÁRIAS DA ESPÉCIE <i>P. HAWAIENSIS</i> , PARA O PERÍODO DE DEZEMBRO DE 2012 A NOVEMBRO DE 2013.	28
TABELA 7 – VALORES DE PESO ÚMIDO E SECO, DAS ALGAS/SUBSTRATO, PARA AS COLETAS REALIZADAS ENTRE DEZEMBRO DE 2012 E NOVEMBRO DE 2013.	31
TABELA 8 – PESO SECO ENCONTRADO POR RÉPLICA, ABUNDÂNCIA DE INDIVÍDUOS E DENSIDADE, EM INDIVÍDUOS POR GRAMA DE ALGA/SUBSTRATO, DE <i>P. HAWAIENSIS</i> , PARA O PERÍODO AMOSTRADO. .	33
TABELA 9 – MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS PARÂMETROS POPULACIONAIS (R_0 , T E R) INDICADOS PARA UTILIZAÇÃO COMO <i>ENDPOINTS</i> OBTIDOS NA ANÁLISE DE TABELA DE VIDA IDADE-ESPECÍFICA DE POPULAÇÃO NATURAL DE <i>PARHYALE HAWAIENSIS</i>	43

1. Introdução

Os sistemas aquáticos são reconhecidos como destino final de vários estressores ou agentes tóxicos, dos quais uma parte significativa é potencialmente genotóxica para organismos vivos e fator causal provável da perda da biodiversidade global (BOUDOU; RIBEYRE, 1997; SCHMITT-JANSEN et al., 2008; BYRNE, 2012; BEYER et al., 2013). Há, portanto, necessidade de se prever os efeitos dos estressores em populações naturais e em sistemas ecológicos aquáticos, o que tem propiciado o aparecimento de um grande número de modelos preditivos. Estes modelos incrementam o conjunto de modelos mais convencionalmente usados nas derivações reducionistas da ecotoxicologia que consideram efeitos tóxicos em níveis moleculares, bioquímicos, celulares, teciduais e de organismos.

A realização de experimentos ecotoxicológicos em qualquer nível de organização biológica é possível porque os agentes tóxicos têm o potencial de produzir, em efeito cascata, mudanças adversas desde o nível celular até o populacional ou o ecossistêmico (NEWMAN; JAGOE, 1996). Apesar de historicamente os estudos ecotoxicológicos privilegiarem parâmetros de referência (*endpoints*) individuais em testes de toxicidade aguda e crônica, os modelos reducionistas não permitem a real incorporação da teoria ecológica ao focar, como é prática usual, na resposta individual às concentrações de determinado agente (CALOW, 1993). A partir do início da década de 90 houve um salto no pensamento da comunidade de pesquisadores de ecotoxicologia do nível individual para os níveis mais complexos. Os sistemas mais complexos, como por exemplo, populações, comunidades e ecossistemas, apresentam maior pertinência ecológica por abrangerem um grupo muito maior de organismos e pela simples razão de que não é aconselhável supor uma ligação direta e obrigatória entre as respostas obtidas em níveis individuais e aquelas obtidas em níveis mais complexos (FORBES; CALOW, 1999) já que a extrapolação para sistemas complexos dos resultados obtidos por *endpoints* individuais pode mascarar efeitos subletais críticos (WATHALL; STARK, 1997).

Corriqueiramente se assume que a ecologia não possua poder preditivo por não estabelecer facilmente conexões causais, procedimento relativamente simples e direto nas derivações reducionistas da toxicologia (VAN STRAALLEN, 2003). Entretanto há na ecologia populacional muitos princípios que podem ser considerados gerais, com padrões e regras replicáveis que permitem a obtenção de taxas demográficas de populações de espécies

bioindicadoras, as quais podem ser utilizados para avaliar a toxicidade e magnitude do impacto de agentes tóxicos no sistema natural (FLYNN; PEREIRA, 2009, 2011 e 2013; FLYNN et al., 2008 e 2009, CALOW e SIBLY, 1990). Alguns desses princípios se assemelham às leis gerais da física, dentre estes, o crescimento exponencial, simulado pela equação de Malthus, a autolimitação populacional, e o crescimento logístico de Verhust. Estas curvas, redescobertas por Pearl (1925), foram aplicadas ao crescimento de diversas populações animais (FLYNN; PEREIRA, 2013). A incorporação de princípios ecológicos amplia a interpretação toxicológica aos sistemas naturais mais complexos (TURCHIN, 2001).

Nos modelos derivados das aplicações de Pearl às populações naturais estão inseridos importantes parâmetros vitais populacionais, tais como os termos r , que regula a taxa de crescimento, e K , que corresponde à capacidade de auto sustentação do meio. A curva derivada é sigmóide e incorpora o conceito de capacidade suporte do ambiente, já que nesta, diferentemente do que ocorre na curva exponencial, há o momento em que a taxa relativa de crescimento populacional é freada. Neste ponto, a população começa a sentir os efeitos das restrições ao crescimento impostas pelo ambiente. O efeito máximo dessas restrições ocorre quando a população chega, finalmente, a capacidade suporte. Neste momento o contingente populacional não aumenta ou diminui à medida que o tempo passa, ficando sempre próximo ao valor condicionado por K . Ecologicamente dizemos que a população está em equilíbrio (FLYNN; PEREIRA, 2013).

Há algum tempo, *endpoints* populacionais são gerados para avaliação de estresse toxicológico através da construção de tabelas de vida, que representam um sumário conciso das estatísticas demográficas de uma população. As tabelas de vida podem ser tempo-específico (1) ou idade-específica (2), e para a construção destas são utilizados os seguintes dados, respectivamente: (1) a estrutura etária estabelecida a partir de um senso obtido por amostra aleatória da população, sendo a mortalidade inferida a partir da retração entre diferentes classes etárias; (2) a sobrevivência de uma coorte (indivíduos nascidos em um mesmo momento) através do acompanhamento de sua existência, frequentemente feita em laboratório (WATHALL; STARK, 1997; FORBES; CALOW, 1999).

As respostas de populações ao estresse ambiental têm sido avaliadas em relação a efeitos em: taxa de crescimento da população com base na evidencia obtida pela associação estabelecida

entre o declínio do crescimento e aumento do estresse; capacidade suporte do meio, definida como o tamanho da população onde o crescimento da população é nulo, crucial na percepção do efeito desta em ambientes naturais (SIBLY et al., 2000); densidade populacional, especialmente na avaliação de efeitos em curto prazo representa uma indicação direta de como alterações nos parâmetros demográficos se acumulam em nível populacional (NOËL et al., 2006); e viabilidade populacional, referente à avaliação do risco de extinção ou quase extinção (HOLMES et al., 2007; SABO; GERBER, 2007; FLYNN; PEREIRA, 2013).

Os experimentos baseados em respostas oriundas da tabela de vida (LTRE - Life Table Response Experiment) são capazes de avaliar as consequências da exposição aos contaminantes em nível populacional integrando uma grande quantidade de parâmetros demográficos. Nos estudos envolvendo a LTRE a variável resposta é uma tabela de vida completa, sendo que os efeitos dos tratamentos de exposição são medidos diretamente por meio de modelo demográfico usado para o cálculo dos índices demográficos (LEVIN et al., 1996).

Através da tabela de vida, os parâmetros vitais de determinada população, como por exemplo, os períodos reprodutivos, a taxa líquida de reprodução, o risco de extinção, a taxa per capita de crescimento populacional, a fecundidade, a sobrevivência e o crescimento de jovens até a maturidade, são obtidos e podem ser utilizados como *endpoints* relativos ao ambiente em que estão inseridas. Dessa forma é possível estudar com maior precisão os efeitos de substâncias naturais ou sintéticas sobre a população.

A importância da determinação de *endpoints* relativos ao condicionamento (*fitness*) reprodutivo como parâmetro na avaliação da toxicidade crônica, particularmente em estágios mais vulneráveis como, por exemplo, na eclosão e em estágio juvenil, já está estabelecida (LAWRENCE; POULTER 2001; DEVAUX et al., 2011). Alguns estudos procuram promover o estabelecimento da relação entre os efeitos fisiológicos do agente testado no indivíduo e a consequência em nível populacional ou de comunidade (MORIARTY, 1988; FLYNN; PEREIRA, 2013), uma vez que o efeito crônico da poluição no crescimento e reprodução de invertebrados em laboratório tem sido amplamente constatado (DILLON et al., 1993; MCGEE et al., 1993; BYRNE, 2012).

O entendimento da dinâmica das populações associadas aos ambientes aquáticos, e em particular ao ambiente costeiro, é muito importante, já que estes sofrem constantemente com a poluição. Os ambientes costeiros exibem alta densidade e diversidade de organismos, e são de fácil acesso, o que facilita os estudos e o monitoramento das espécies locais (VALÉRIO-BERARDO; FLYNN, 2002). Especialmente nos extensos cordões de macrófitas ocupados por diversas espécies de invertebrados marinhos, o conjunto denominado de fital (JACOBUCCI et al., 2009) de extrema importância para o fluxo de energia de sistemas costeiros (JACOBUCCI; LEITE, 2008).

Dentre os organismos do fital, os amphipoda formam um grupo ecologicamente muito bem sucedido, apresentando geralmente uma grande abundância de indivíduos e alta diversidade. Várias espécies do grupo são adequadas ao cultivo e manipulação experimental devido as estratégias de vida que apresentam, tais como: produção continuada de ovos ao longo da vida, embriões disponíveis o ano inteiro, e pelo fato de exibirem o comportamento de amplexo copulatório, facilitando assim a determinação dos casais em cópula. Por essas características, o grupo tem sido utilizado em estudos ecológicos no sudeste brasileiro, englobando estudos de biologia reprodutiva (JACOBUCCI; LEITE, 2006; LEITE, 1996a, 1996b e 2002) e dinâmica populacional (VALÉRIO-BERARDO; FLYNN, 2002, 2004; FLYNN et al., 2008; FLYNN et al. 2009; FLYNN; PEREIRA, 2013).

O amphipoda *Parhyale hawaiiensis* (Dana, 1853) é um Crustacea Peracarida da ordem amphipoda (WAKABARA; SEREJO, 1998; LOWRY; MYERS, 2009) considerada como a ordem de maior sucesso, colonizando todos os ambientes aquáticos, marinhos, continentais e estuarinos, além de ambientes terrestres muito úmidos, como zonas entre marés, planícies de inundação e áreas de manguezal (BARNARD; KARAMAN, 1991; LINDEMAN, 1991; VINOGRADOV et al., 1996; FLYNN et al., 1998; KAMALTYNOV, 1999; SHERBAKOV et al., 1999; VAINOLA; KAMALTYNOV, 1999; POLTERMANN et al., 2000; SHEADER et al., 2000; GASCA; HADDOCK, 2004; JACOBUCCI; LEITE, 2008). Embora *P. hawaiiensis* tenha sido usada esporadicamente em estudos toxicológicos e ecológicos ao longo dos anos, um esforço orquestrado está sendo desenvolvido para estabelecê-la como espécie modelo para estudos dentro do filo Arthropoda (BROWNE et al., 2005; REHM et al., 2009).

Nesse contexto, *P. hawaiiensis*, espécie de amphipoda litorâneo, de pequeno tamanho (<1,3 cm), detritívoro, com distribuição circuntropical e cosmopolita, que vive agregadamente em grandes populações (POOVACHIRON, 1986) e atua na conversão da energia de detritos em matéria orgânica particulada fina (WEN, 1992), é uma espécie extremamente interessante aos estudos de desenvolvimento genético, evolucionário e populacional (BROWNE et al., 2005) e também aos estudos ecotoxicológicos pela sensibilidade que muitas espécies apresentam em relação aos diversos agentes estressores (KRUSCHWITZ, 1978; PILGRIM; BURT, 1993; RINDERHAGEN et al., 2000; NEUPARTH et al., 2002).

Características do comportamento reprodutivo da espécie facilitam a manipulação dos experimentos populacionais. Os machos seguram as fêmeas com seus gnatópodes, formando um amplexo pré-copulatório. Esses pares permanecem unidos até que a fêmea realize uma muda, quando então o macho libera seus espermatozoides nos ovidutos da fêmea e a solta. A fêmea libera através desses ovidutos os ovos, que são então fertilizados. As fêmeas geram seus filhotes em uma bolsa ventral (marsúpio), protegidos por uma estrutura chamada oostegito, e podem produzir embriões a cada duas semanas após atingirem a maturidade sexual. A duração da embriogênese é relativamente curta, durando cerca de 10 dias (250 horas). Os indivíduos sexualmente maduros se reproduzem a cada 2 ou 3 semanas durante todo o ano. Cada fêmea ovígera produz em média seis embriões por ninhada, mas essa quantidade pode variar de um a 25 ovos. A espécie apresenta desenvolvimento direto, ou seja, os jovens já nascem similares aos adultos (GERBERDING et al., 2002; BROWNE et al., 2005).

Os objetivos deste trabalho englobam a descrição da estrutura e da dinâmica de uma população natural de *P. hawaiiensis* através da confecção de tabela de vida tempo-específica para obtenção de parâmetros vitais populacionais, além de fornecer recomendações metodológicas para testes de toxicidade crônicos conhecido como LTRE (Life Table Responde Experiment) sensu Calow (1996). Estatísticas demográficas como, por exemplo, o potencial reprodutivo (R_0), o tempo de geração (T), a distribuição etária, a sobrevivência, e em especial, a taxa de crescimento intrínseco (r), são úteis para a proposição de experimento de toxicidade crônica baseado nas respostas obtidas por tabela de vida (LTRE). Estes parâmetros fornecem informações valiosas, não disponíveis na análise de indivíduos, que podem ser usadas como resposta da exposição a agentes tóxicos, além de servir como base para avaliação do bem estar

do cultivo desenvolvido no Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental Dr. Abílio Lopes na Faculdade de Tecnologia da UNICAMP - FT/UNICAMP.

2. Material e Métodos

2.1. Área de Coleta

As coletas foram realizadas no Município de Itanhaém – SP, no costão rochoso conhecido popularmente como Poço de Anchieta (Figura 1).



Figura 1 – Localização da área de coleta: **A** - Mapa da região (Fonte: Google Earth), **B** - Vista aproximada do local de coleta (Fonte: Google Earth) e **C** – foto do local de coleta.

A área de estudo está localizada nas coordenadas geográficas: 24°12'6,42'' Sul e 46°48'38,47'' Oeste, na Planície Costeira de Peruíbe – Itanhaém, sudeste brasileiro, constituída por uma faixa de cerca de 25 km de extensão, com largura que varia de 4 a 14 km e altitude entre 0 e 14 m. Os limites da planície são a Serra de Peruíbe ao sul, a Serra do Mar no interior e o Morro do Poço de Anchieta ao norte (GIANNINI, 1987), o Poço de Anchieta fica a aproximadamente 2,5 km ao sul do delta do Rio Itanhaém, uma das maiores bacias litorâneas do Estado de São Paulo, que desempenha importante papel no padrão de sedimentação e nas feições costeiras das praias adjacentes (LOURO, 2007).

O Poço de Anchieta é um costão rochoso que fica submerso durante a maré alta, permanecendo úmido na maré baixa pela presença de poças e piscinas formadas com o recuo da maré e sofre constantemente variações osmóticas e de temperatura devido à proximidade com o delta do rio Itanhaém. Em relação à comunidade de invertebrados bentônicos, Valério-Berardo e Fantinato (2000) avaliaram a variação temporal da comunidade associada ao tipo morfológico de algas e Valério-Berardo e colaboradores (2006) registraram a presença de 16 taxa principais entre Ostracoda, Polychaeta e Mollusca, com distribuição influenciada principalmente pela variação de salinidade.

De dezembro de 2012 a novembro de 2013, os parâmetros medidos da água do mar apresentaram pequenas alterações quanto aos parâmetros físicos e químicos: salinidade (32 ppm +/- 2,887), pH (7, 81 +/- 0,300), oxigênio dissolvido (4,48 +/- 0,824) e temperatura da água superficial (23,8 +/- 2,152).

O local de coleta foi escolhido por ter sido a área de origem dos organismos da espécie *P. hawaiiensis* mantidos em cultura no Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental Dr. Abílio Lopes na Faculdade de Tecnologia da UNICAMP - FT/UNICAMP.

2.2. Coleta de campo

Durante o período de dezembro de 2012 a novembro 2013, foram realizadas 12 campanhas amostrais mensais, respeitando intervalos de aproximadamente 4 semanas. O dia da coleta era escolhido de modo que a maré se encontrasse baixa o suficiente para facilitar a retirada

dos organismos e do substrato. A previsão das marés foi obtida por consulta à tabua de marés da Marinha do Brasil (www.marinha.mil.br).

Para a obtenção dos organismos foram coletadas 60 réplicas do conjunto de algas marinhas e substrato onde se estabelecem aderidos os indivíduos da espécie *P. hawaiiensis* (Figura 2), sendo cinco réplicas por campanha amostral. Cada réplica foi dimensionada por delimitação de um quadrado de aproximadamente 20 por 20 cm de área, sendo retirados, a alga e o substrato aderido. O material coletado foi cuidadosamente raspado do costão com auxílio de espátula e depositado em sacos plásticos preenchidos com água do mar. As amostras foram acondicionadas em gelo até a chegada ao laboratório, onde eram congeladas. Posteriormente os sacos foram descongelados, e o material, lavado e triado, sendo os indivíduos fixados em álcool 70% para posterior análise.

Em todas as campanhas amostrais foram também coletados 500 ml de água do mar, acondicionados em gelo até a chegada ao laboratório, para análise dos seguintes parâmetros físico-químicos: salinidade, oxigênio dissolvido e pH. Ainda em campo, a temperatura superficial da água do mar foi obtida por termômetro.



Figura 2 – Realização da coleta durante a maré baixa, no Poço de Anchieta em Itanhaém – SP.

2.3. Triagem do Material Coletado

Para a triagem do material coletado, foi primeiramente preparada uma bandeja preenchida com água de torneira para lavagem em separado de cada réplica. Na bandeja os amphipoda observáveis a olho nu já eram retirados e acondicionados em frascos devidamente identificados e preenchidos com álcool 70%. As algas coletadas, juntamente com o substrato aderido, eram cuidadosamente lavadas, e os animais desprendidos eram separados manualmente. Os organismos ficavam então no fundo da bandeja e as algas eram transferidas para outro recipiente. O material que permanecia na bandeja era filtrado em rede de 400 micra para retenção dos amphipoda não vistos a olho nu (Figura 3).



Figura 3 - Bandeja com réplica durante lavagem do material.

O procedimento de lavagem era repetido por três vezes para garantir que todos os organismos que estivessem aderidos às algas e substrato não fossem perdidos e pudessem posteriormente ser contabilizados.

Ao final da lavagem as algas foram congeladas em sacos plásticos para obtenção do peso úmido após secagem por 24 horas em temperatura ambiente. Além do peso úmido foi obtido também o peso seco de 30 réplicas de alga após secagem em estufa a 60° C por 48 horas.

Procedimento realizado para que fosse possível, além da obtenção de uma regressão linear entre os valores de peso seco e úmido, a determinação da densidade de organismos em relação ao peso das algas e substrato coletados.

O material filtrado retido na rede foi acondicionado em frascos com solução de álcool 70% para posterior triagem dos amphipoda com o auxílio de lupa estereoscópica. Os organismos encontrados eram separados em frascos para posterior identificação da espécie.

2.4. Identificação da espécie, sexagem e mensurações dos indivíduos.

Com o auxílio de lupa estereoscópica, os indivíduos da espécie *P. hawaiiensis* eram identificados e separados em: a) jovens; b) fêmeas ovígeras; c) fêmeas sem ovo e d) machos (figura 4).

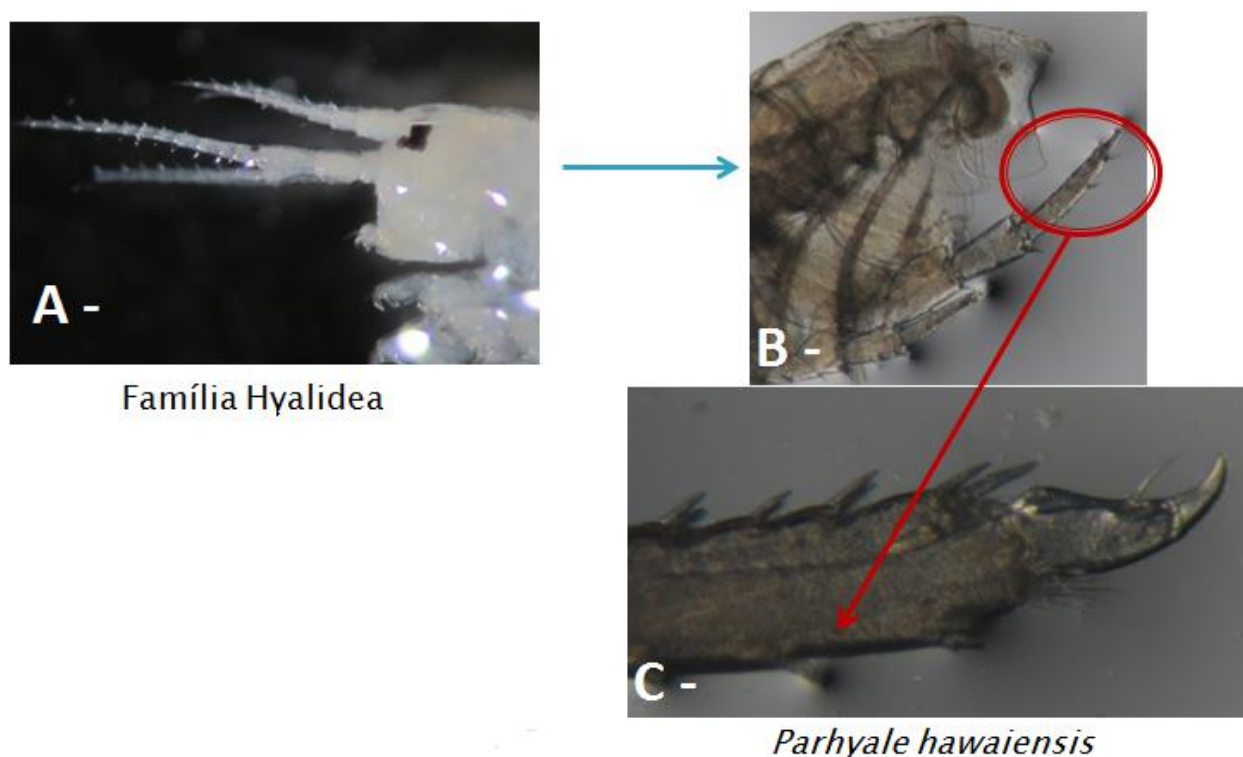


Figura 4 – Fotos sob lupa durante a Identificação da espécie. **A** – Detalhe mostrando a diferença de tamanho entre o primeiro e o segundo par de antenas, característico da família Hyalidae. **B** – Espinhos característicos da espécie *P. hawaiiensis*, localizados na parte posterior dos 6º e 7º pares de pleópodes. **C** – Zoom da imagem B.

A classificação nas quatro categorias foi feita segundo: Serejo (1999), LeCroy (2007) e documento oficial de identificação da espécie *P. hawaiiensis* fornecido pelas especialistas Dra. Fosca Pedini Pereira Leite e Dra. Silvana Gomes Leite Siqueira do Departamento de Biologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Campinas – UNICAMP e Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, respectivamente.

Foram considerados: machos, os indivíduos com ausência de espinho medial na palma do primeiro gnatópode e segundo gnatópode desenvolvido; fêmeas, os indivíduos que apresentaram oostegito e segundo gnatópode menos desenvolvido; fêmeas ovígera, fêmeas portadoras de ovos; e jovens, indivíduos com ausência de oostegito e nenhuma diferenciação dos gnatópodes (Figura 5).



Figura 5 – Sexagem dos indivíduos coletados. **A** – Jovem. **B** – Fêmea ovígera com dois ovos. **C** – Gnatópode de fêmea adulta e **D** – Gnatópode de macho adulto.

Os indivíduos foram fotografados e medidos desde o começo da cabeça (base da inserção do primeiro par de antenas) até o final do cefalotórax (7º segmento abdominal), e agrupados em

classes de tamanho por milímetro, além disso, foram obtidos o número de fêmeas ovígeras e a quantidade de ovos que cada uma carregava.

A medida de comprimento dos indivíduos foi realizada com o auxílio do software Image Tool 3.0, devidamente calibrado. Para tanto, os indivíduos eram colocados em placa milimetrada e eram tiradas no mínimo duas fotos, sob lupa, no aumento de 16x (Figura 6).

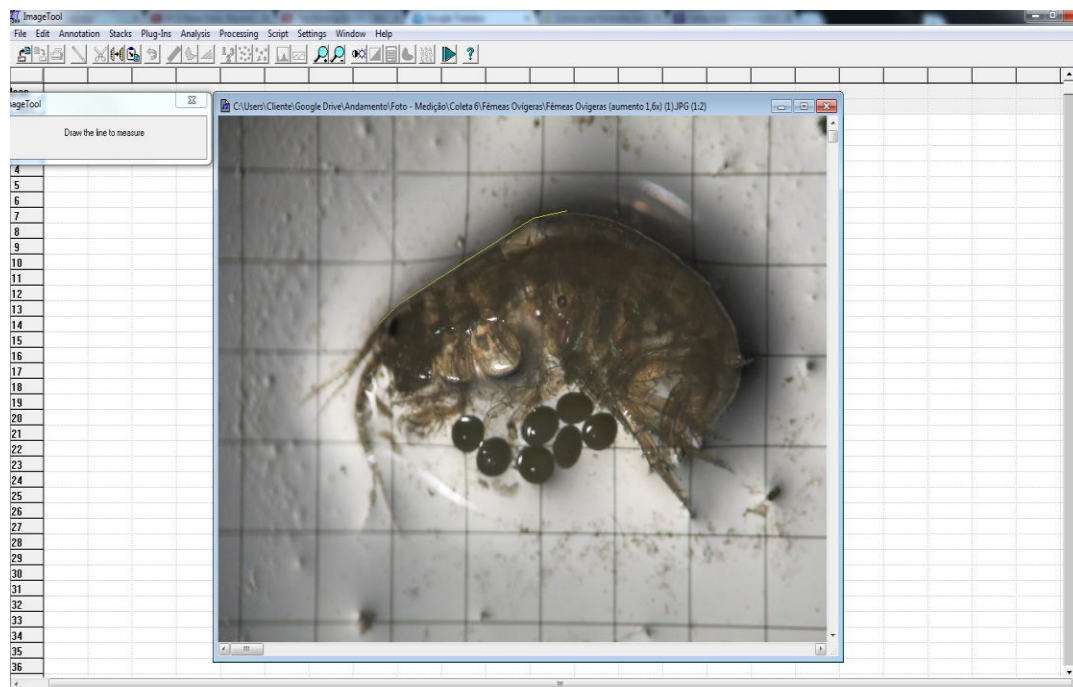


Figura 6 -Medição de fêmea ovígera com a utilização do software Image Tool 3.0.

2.5. Análise dos dados obtidos

As fêmeas foram agrupadas em classes de comprimento de aproximadamente 0,65 mm. Calculou-se, mensalmente, a razão sexual, razão entre o número de machos para fêmeas totais (fêmeas + fêmeas ovígera), e a proporção do número de fêmeas para fêmeas ovígeras. A razão sexual foi aplicada ao número total de jovens em cada classe etária a fim de se obter o número de fêmeas jovens.

Quando o número de indivíduos de *P. hawaiiensis* coletados em uma mesma campanha era muito elevado (mais de 500 indivíduos), uma subamostragem era realizada. Em apenas duas

do total de 12 amostras foram capturados mais de 500 indivíduos. Para a subamostragem, o frasco de 10 ml em que as fêmeas estavam armazenadas tinha seu conteúdo homogeneizado, e 2 ml eram então retirados. As fêmeas da subamostragem eram então medidas para a determinação da classe etária, e o número de indivíduos obtidos em cada classe etária multiplicado por 5 (cinco) para obtenção do número total. Como representativo de jovens para o perfil da população subamostral, o número de indivíduos medidos foi de 25% do total de fêmeas da subamostra, já que, o número de classes etárias representativas de jovens era de 2 para um total de 8 classes etárias.

Para a construção das tabelas de vida referentes a cada mês de campanha amostral, foram consideradas somente as fêmeas, obtendo-se o número de fêmeas (N_x) para cada classe de tamanho. O número de fêmeas inicial (N_0) de cada mês foi padronizado como sendo 1000 indivíduos, adaptado de Stiling (2002).

A taxa de sobrevivência para cada classe etária (l_x) foi calculada pela divisão do número de fêmeas de cada classe de comprimento x pelo número de fêmeas na classe inicial: $l_x = N_x/N_0$

A fecundidade (m_x) foi obtida para cada classe etária pela divisão do número total de ovos, encontrados nas fêmeas ovígeras, pelo número total de fêmeas da mesma classe.

O potencial reprodutivo (R_0) foi calculado pelo somatório do produto $l_x.m_x$ de cada classe de comprimento: $R_0 = \sum l_x m_x$

O tempo de geração (T) foi calculado pela divisão da soma total de $l_x m_x \times x$ pelo R_0 : $T = \sum l_x m_x x / \sum l_x m_x$

A taxa intrínseca de crescimento (r) foi calculada como sendo a razão entre o logaritmo neperiano do potencial reprodutivo e o tempo de geração: $r = \ln(R_0) / T$

As curvas de sobrevivência foram obtidas mensalmente pela plotagem em gráfico do logaritmo decimal da abundância em cada classe etária (N_x). A partir das curvas de sobrevivência para cada mês, foi obtida uma curva de sobrevivência média para a espécie *P. hawaiiensis*.

A curva logística usada como modelo representativo da dinâmica populacional da espécie é representada pela equação Ricker (versão discreta da logística de Verhulst), sugerida por Flynn e Pereira (2013) para a modelagem de populações naturais e para o estabelecimento de endpoints experimentais.

$$N_i(t + 1) = N_i(t) \exp \left[r_i \left(1 - \frac{N_i(t)}{K_i} \right) \right]$$

N = Número indivíduos;

K = Capacidade suporte;

t = tempo;

r = taxa intrínseca de crescimento

A capacidade suporte do ambiente (K) foi estabelecida como sendo a maior densidade de indivíduos da espécie *P. hawaiiensis* por grama de alga e substrato seco total coletado. Para obtenção do gráfico de crescimento logístico foi utilizada como capacidade suporte do ambiente (K) a maior densidade de indivíduos por 100 g de alga seca, adaptado de Flynn e colaboradores (2009) para a área.

Todos os valores de N_x para cada tempo considerado t, ($t_1, t_2, \dots, t_{200}$, até se atingir a capacidade suporte) dos 12 meses amostrados foram calculados e uma curva logística média foi construída.

Outro possível “*endpoint*” a ser utilizado como parâmetro na ecotoxicologia é a viabilidade populacional e para a quantificação da probabilidade de extinção foi considerada a relação proposta por Gotelli (2001), onde a probabilidade de extinção aumenta com o aumento da variância da taxa intrínseca de crescimento (r), de modo que se a variância de r (σ_r) ultrapassar o dobro do valor médio de r a extinção local da espécie é esperada:

$$\sigma_r^2 > 2 r_{\text{médio}}$$

3. Resultados

Um total de 2126 indivíduos pertencentes à espécie *P. hawaiiensis* foram coletados nas doze campanhas amostrais realizadas entre o período de dezembro de 2012 a novembro de 2013. Sendo 684 jovens, 412 machos, 784 fêmeas e 246 fêmeas ovígeras ao longo dos meses de coleta (Tabela 1). Os jovens e as fêmeas não ovígeras constituíram o maior percentual da população em todas as campanhas amostrais, com exceção dos meses de fevereiro e março quando não foram encontrados indivíduos da espécie.

Tabela 1 – Valores absolutos de jovens, machos, fêmeas, fêmeas ovígeras e total de *P. hawaiiensis* em cada coleta realizada no Poço de Anchieta, Itanhaém-SP.

	Jovens	Machos	Fêmeas	Fêmeas Ovígeras	Total
Dez/2012	43	14	25	20	102
Jan/2013	60	34	79	21	194
Fev/2013	1	0	0	0	1
Mar/2013	2	1	1	0	4
Abr/2013	4	3	6	0	13
Mai/2013	217	153	196	101	667
Jun/2013	81	54	115	17	267
Jul/2013	183	70	258	32	543
Ago/2013	2	3	7	2	14
Set/2013	4	15	10	11	40
Out/2013	37	42	52	29	160
Nov/2013	50	23	35	13	121
Total	684	412	784	246	2126

Para a determinação das classes etárias foi utilizado o tamanho do cefalotórax, já que este apresenta uma correlação direta com o tamanho total do animal ($R^2=0,9813$), como mostra a Figura 7. O uso do cefalotórax minimiza os erros de mensuração devidos à curvatura do corpo do animal.

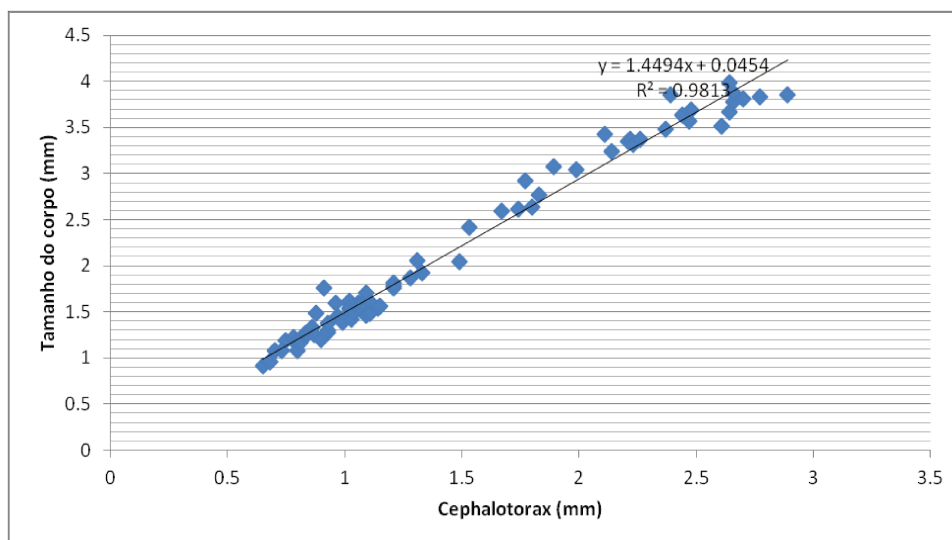


Figura 7 – Correlação entre tamanho do cefalotórax e tamanho total dos indivíduos coletados nas duas primeiras campanhas realizadas em dezembro de 2012 e janeiro de 2013, respectivamente.

A correlação entre tamanho do cefalotórax e tamanho total do indivíduo foi calculada com as medidas de oitenta e três (83) indivíduos considerando fêmeas e jovens coletados nas duas primeiras campanhas amostrais, já que para a confecção de tabela de vida somente as fêmeas são consideradas. As fêmeas e jovens coletados foram divididos em oito (8) classes etárias (mm), que estão apresentadas na Tabela 2, a seguir.

Tabela 2 - Definição das classes etárias, em milímetros.

Tamanho (mm)	Classe Etária
0-1.7	0
1.8-2.5	1
2.6 - 3.2	2
3.3 - 3.9	3
4.0 - 4.7	4
4.8 - 5.4	5
5.5 - 6.1	6
6.2 - 6.8	7

Cada classe etária definida pelo tamanho do cefalotórax dos indivíduos representa em tempo aproximadamente o período de um mês. Esse tempo foi determinado com base em observações realizadas durante o acompanhamento da cultura no laboratório. A primeira classe etária corresponde somente a jovens, a segunda classe etária corresponde a jovens e fêmeas imaturas, a terceira classe etária corresponde às fêmeas no início da maturidade sexual, as classes seguintes são formadas de fêmeas adultas e sexualmente maduras.

Para obtenção do número de fêmeas encontradas no grupo dos jovens foram obtidas as razões sexuais mensais, entre macho e fêmea, como mostra a Figura 8. A razão sexual média para o período de dezembro de 2012 a novembro de 2013 foi aproximadamente de 69,8% em favor das fêmeas com desvio padrão de $\pm 0,065$, ou seja, para cada macho existem em média 2,31 fêmeas (1:2,31).

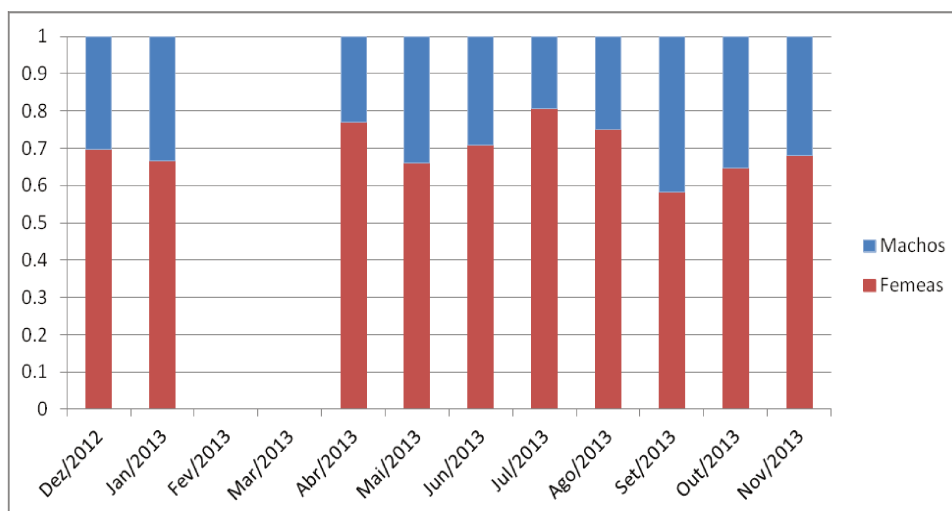


Figura 8 – Variação temporal da proporção entre macho e fêmea, dezembro de 2012 e novembro de 2013.

Foi possível a construção de dez (10) tabelas de vida para os doze (12) meses de campanha amostral, já que nos meses de fevereiro e março não foram encontrados indivíduos de *P. hawaiiensis*.

A abundância média, considerando as réplicas mensais, ao longo do período de estudo mostra um pico com o maior número de indivíduos entre maio e julho, e outro pico menor,

porém mais longo entre os meses de outubro e janeiro. A Figura 9 apresenta a variação média da abundância de indivíduos coletados por campanha amostral.

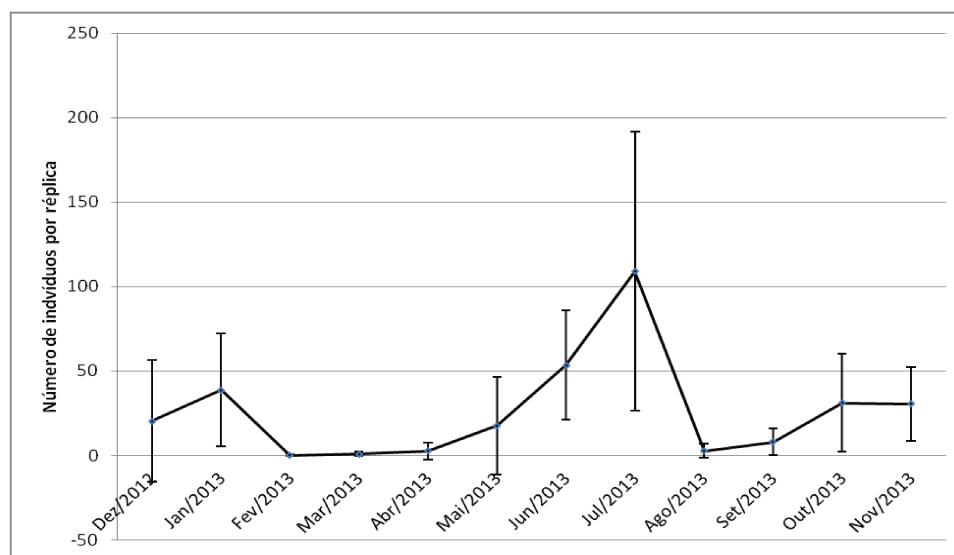


Figura 9 – Abundância média de indivíduos da espécie *P. hawaiiensis* por campanha amostral.

Para a montagem das tabelas de vida mensais, o total coletado em todas as réplicas de um mesmo mês foi considerado como a população representativa de cada mês. A figura 10 mostra a variação temporal da abundância total em $\ln(N_x+1)$ das quatro diferentes categorias (machos, jovens, fêmeas e fêmeas ovígeras). O padrão aqui descrito para *P. hawaiiensis* mostra um pequeno deslocamento temporal em relação ao constatado para *Hyale nigra* por Valério-Berardo e Flynn (2004) ocupando o fital na mesma área. Ambas as espécies, contudo, se reproduzem continuamente ao longo do ano e apresentam dois picos reprodutivos.

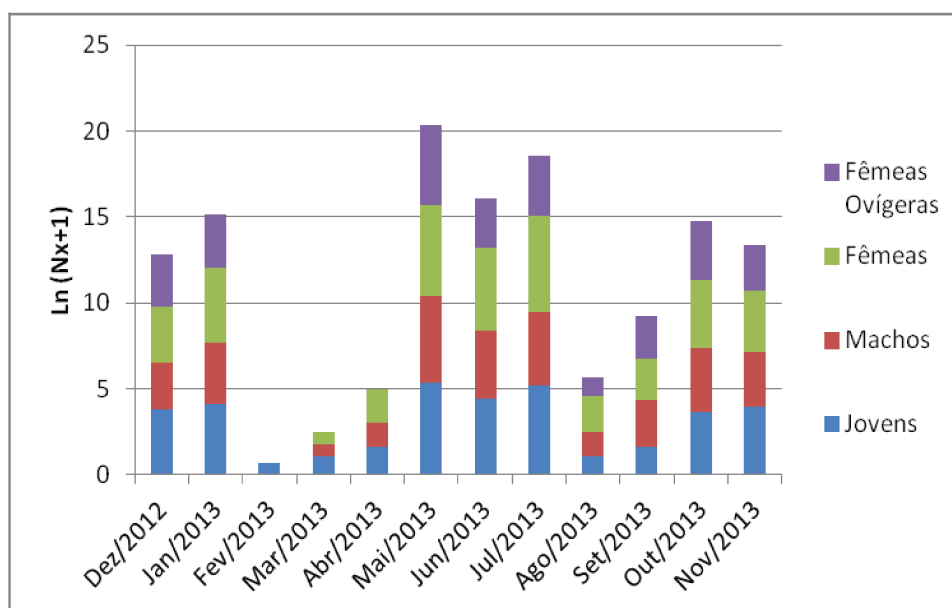


Figura 10 – Abundância total de indivíduos da espécie *P. hawaiiensis* (em $\ln(N_x+1)$) por campanha amostral e proporções entre as categorias: fêmeas ovíferas, fêmeas, machos e jovens.

A fecundidade (m_x) foi obtida para cada classe etária, em cada coleta, pela divisão do número total de ovos, encontrados nas fêmeas ovíferas, pelo número total de fêmeas da mesma classe (Tabela 3), os jovens pertencentes a classe etária 0 (zero) e 1 não foram considerados na tabela a seguir pois estes são indivíduos imaturos e portanto não são relevantes para o cálculo de fecundidade.

Tabela 3 – Cálculo da fecundidade (m_x), para cada classe etária, a partir da divisão do número de ovos pelo número de fêmeas de cada classe.

	Tamanho (mm)	Classe Etária	Fêmeas	Número de ovos	m_x
Dez/2012	2.6 - 3.2	2	6	0	0
	3.3 - 3.9	3	6	6	1
	4.0 - 4.7	4	15	89	5.93
	4.8 - 5.4	5	4	16	4
	5.5 - 6.1	6	2	0	0
	6.2 - 6.8	7	0	0	0
Jan/2013	2.6 - 3.2	2	34	0	0
	3.3 - 3.9	3	20	16	0.8
	4.0 - 4.7	4	21	67	3.19
	4.8 - 5.4	5	6	39	6.5
	5.5 - 6.1	6	0	0	0
	6.2 - 6.8	7			
Fev/2013			*N/D		

	Tamanho (mm)	Classe Etária	Fêmeas	Número de ovos	m _x
Mar/2013			*N/D		
Abr/2013	2.6 - 3.2	2	2	0	0
	3.3 - 3.9	3	0	0	0
	4.0 - 4.7	4	3	0	0
	4.8 - 5.4	5	0	0	0
	5.5 - 6.1	6			
	6.2 - 6.8	7			
Mai/2013	2.6 - 3.2	2	59	0	0
	3.3 - 3.9	3	54	13	0.23
	4.0 - 4.7	4	86	237	2.76
	4.8 - 5.4	5	48	185	3.85
	5.5 - 6.1	6	22	93	4.23
	6.2 - 6.8	7	1	11	11
Jun/2013	2.6 - 3.2	2	24	5	0.21
	3.3 - 3.9	3	39	19	0.49
	4.0 - 4.7	4	20	21	1.05
	4.8 - 5.4	5	6	6	1
	5.5 - 6.1	6	1	0	0
	6.2 - 6.8	7	0	0	0
Jul/2013	2.6 - 3.2	2	78	0	0
	3.3 - 3.9	3	45	55	1.22
	4.0 - 4.7	4	58	161	2.78
	4.8 - 5.4	5	10	20	2
	5.5 - 6.1	6	3	0	0
	6.2 - 6.8	7	0	0	0
Ago/2013	2.6 - 3.2	2	3	0	0
	3.3 - 3.9	3	2	4	2
	4.0 - 4.7	4	1	2	2
	4.8 - 5.4	5	0	0	0
	5.5 - 6.1	6			
	6.2 - 6.8	7			
Set/2013	2.6 - 3.2	2	1	0	0
	3.3 - 3.9	3	3	2	0.67
	4.0 - 4.7	4	14	41	2.93
	4.8 - 5.4	5	3	4	1.33
	5.5 - 6.1	6	0	0	0
	6.2 - 6.8	7			
Out/2013	2.6 - 3.2	2	14	0	0
	3.3 - 3.9	3	9	7	0.78
	4.0 - 4.7	4	25	111	4.44
	4.8 - 5.4	5	12	58	4.83
	5.5 - 6.1	6	4	8	2
	6.2 - 6.8	7	0	0	0
Nov/2013	2.6 - 3.2	2	9	0	0
	3.3 - 3.9	3	9	6	0.67
	4.0 - 4.7	4	12	28	2.33
	4.8 - 5.4	5	6	39	6.5
	5.5 - 6.1	6	1	10	10
	6.2 - 6.8	7	0		0

*N/D – Fecundidade não determinada.

Na Tabela 4, são apresentadas as tabelas de vida tempo-específica, referentes a cada campanha amostral, com o valor calculado para os parâmetros, número de indivíduos em cada classe etária (N_x), taxa de sobrevivência para cada classe etária (l_x), a taxa de fecundidade obtida para cada classe etária (m_x).

Tabela 4 – Tabelas de vida idade específica mensais, de dezembro de 2012 a novembro de 2013. **Legenda:** N_x = Número de indivíduos; l_x = Taxa de sobrevivência; m_x = fecundidade.

	Tamanho (mm)	Classe Etária (x)	N_x	l_x	m_x	$l_x m_x$	$l_x m_x x$
Dez/2012	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	800	0.80	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	440	0.44	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	360	0.36	1.00	0.36	1,08
	4.0 - 4.7	4	280	0.28	5.93	1.66	6,65
	4.8 - 5.4	5	80	0.08	4.00	0.32	1,6
	5.5 - 6.1	6	27	0.03	0	0	0
	6.2 - 6.8	7	0	0	0	0	0
Jan/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	838	0.84	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	576	0.58	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	333	0.33	0.80	0.27	0,8
	4.0 - 4.7	4	190	0.19	3.19	0.61	2,43
	4.8 - 5.4	5	40	0.04	6.50	0.26	1,32
	5.5 - 6.1	6	0	0	0	0	0
	6.2 - 6.8	7					
Fev/2013	Não foram coletados indivíduos suficientes para obtenção da tabela de vida						
Mar/2013	Não foram coletados indivíduos suficientes para obtenção da tabela de vida						
Abr/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	915	0.91	0	0	0

	Tamanho (mm)	Classe Etária (x)	N_x	l_x	m_x	l_xm_x	l_xm_xx
	2.6 - 3.2	2	547	0.55	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	325	0.32	0	0	0
	4.0 - 4.7	4	325	0.32	0	0	0
	4.8 - 5.4	5	0	0	0	0	0
	5.5 - 6.1	6					
	6.2 - 6.8	7					
Mai/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	820	0.82	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	647	0.65	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	481	0.48	0.23	0.11	0,33
	4.0 - 4.7	4	355	0.35	2.76	0.98	3,91
	4.8 - 5.4	5	161	0.16	3.85	0.62	3,10
	5.5 - 6.1	6	53	0.05	4.23	0.22	1,34
	6.2 - 6.8	7	3	0	11	0.04	0,26
Jun/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	711	0.71	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	489	0.49	0.19	0.09	0,18
	3.3 - 3.9	3	347	0.35	0.49	0.17	0,51
	4.0 - 4.7	4	140	0.14	1.05	0.15	0,59
	4.8 - 5.4	5	34	0.03	1.00	0.03	0,17
	5.5 - 6.1	6	3	0	0	0	0
	6.2 - 6.8	7	0	0	0	0	0
Jul/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	891	0.89	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	510	0.51	0	0	0,00
	3.3 - 3.9	3	295	0.30	1.22	0.36	1,08

	Tamanho (mm)	Classe Etária (x)	N_x	I_x	m_x	I_xm_x	I_xm_xx
	4.0 - 4.7	4	177	0.18	2.78	0.49	1,97
	4.8 - 5.4	5	26	0.03	2.00	0.05	0,26
	5.5 - 6.1	6	0	0	0	0	0
	6.2 - 6.8	7					
Ago/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	864	0.86	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	523	0.52	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	250	0.25	2.00	0.50	1,50
	4.0 - 4.7	4	68	0.07	2.00	0.14	0,55
	4.8 - 5.4	5	0	0	0	0	0
	5.5 - 6.1	6					
	6.2 - 6.8	7					
Set/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	924	0.92	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	899	0.90	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	855	0.86	0.67	0.57	1,71
	4.0 - 4.7	4	725	0.72	2.93	2.12	8,49
	4.8 - 5.4	5	116	0.12	1.33	0.15	0,77
	5.5 - 6.1	6	0	0	0	0	0
	6.2 - 6.8	7					
Out/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	759	0.76	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	577	0.58	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	448	0.45	0.78	0.35	1,05
	4.0 - 4.7	4	371	0.37	4.44	1.65	6,59
	4.8 - 5.4	5	155	0.16	4.83	0.75	3,75

	Tamanho (mm)	Classe Etária (x)	N _x	l _x	m _x	l _x m _x	l _x m _x x
	5.5 - 6.1	6	52	0.05	2.00	0.10	0,62
	6.2 - 6.8	7	17	0.02	0	0	0
Nov/2013	0-1.7	0	1000	1.00	0	0	0
	1.8-2.5	1	793	0.79	0	0	0
	2.6 - 3.2	2	451	0.45	0	0	0
	3.3 - 3.9	3	341	0.34	0.67	0.23	0,68
	4.0 - 4.7	4	231	0.23	2.33	0.54	2,16
	4.8 - 5.4	5	73	0.07	6.50	0.48	2,38
	5.5 - 6.1	6	12	0.01	10.00	0.12	0,73
	6.2 - 6.8	7	0	0	0	0	0

A idade de maturidade foi considerada como aquela em que se encontrou a fêmea ovígera de menor tamanho (WELLBORN, 1994; EHSAN et al., 2010). Como se observa na Tabela 4 referente a junho de 2013, *P. hawaiiensis* atinge maturidade sexual na terceira classe etária (2,6 - 3,2 mm), ou seja, aproximadamente dois meses após o nascimento. Porém, na maioria dos meses as fêmeas mostraram maturidade sexual na classe etária 4 (3,3-3,9 mm). A fecundidade máxima encontrada está nas classes etária 5 e 6, onde a média do número de ovos por fêmea é igual a $2,74 \pm 1,65$ e $3,00 \pm 2,48$, respectivamente (Tabela 3). A taxa de fecundidade para o mês de abril de 2013 foi de zero (0) para todas as classes etárias, já que nenhuma fêmea ovígera foi coletada.

A partir das tabelas de vida foi possível calcular o potencial reprodutivo ($R_0 = \sum l_x m_x$), tempo de geração ($T = \sum l_x m_x x / \sum l_x m_x$) e a taxa de crescimento intrínseca ($r = \ln(R_0) / T$) (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores obtidos para os parâmetros populacionais, potencial reprodutivo (**R₀**), taxa de crescimento intrínseca (**r**) e tempo de geração (**T**) em cada coleta realizada no Poço de Anchieta, em Itanhaém – SP.

	R₀	r	T
Dezembro/2012	2,34	0,21	3,98

	R0	r	T
Janeiro/2013	1,14	0,03	3,99
Fevereiro/2013	0	0	0
Março/2013	0	0	0
Abril/2013	0	0	0
Maió/2013	1,97	0,15	4,54
Junho/2013	0,44	- 0,25	3,28
Julho/2013	0,91	- 0,03	3,66
Agosto/2013	0,64	- 0,14	3,21
Setembro/2013	2,85	0,27	3,85
Outubro/2013	2,85	0,25	4,21
Novembro/2013	1,37	0,07	4,36
Média	1,45	0,06	3,51
Desv. Pad.	±1,01	±0,17	±1,31

Para os meses de fevereiro e março os valores de R_0 , T e r foram iguais a zero (0), bem como no mês de abril quando a fecundidade de todas as classes etárias foi de zero (0). Para os demais meses R_0 , variou entre 0,44 e 2,85, sendo que em seis dos doze meses coletados se manteve superior a um, que indica crescimento populacional.

A Figura 11 e Tabela 5 mostram a variação de R_0 no período contemplado nesse estudo e é possível observar um pico no mês de maio ($R_0= 1,97$) e um período mais longo em que R_0 se mantém com valores superiores a um, entre setembro ($R_0= 2,85$) e janeiro ($R_0= 1,14$). Na época do inverno, entre os meses de junho e agosto, R_0 ficou abaixo de um, que indica decréscimo populacional, variando entre 0,44 e 0,91. Já o tempo de geração (T) apresentou menor variação, com o mínimo de 3,21 (agosto) e o máximo de 4,54 (maio) e 4,36 (novembro), não se considerando os meses de fevereiro, março e abril quando o valor de R_0 foi igual a zero (0). O tempo de geração médio foi de 3,51 meses com desvio padrão de $\pm 1,31$.

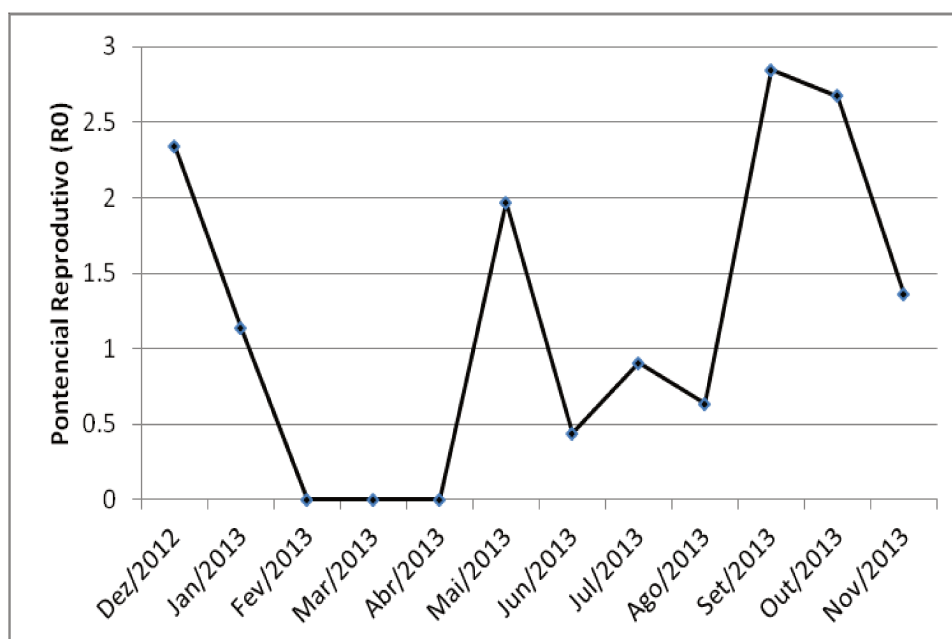


Figura 11 – Variação do potencial reprodutivo (R_0) para o período de estudo.

A taxa de crescimento intrínseco (r) mostrou variação anual com picos em maio, setembro e outubro, períodos semelhantes aos de picos em R_0 , com valores entre -0,25 e 0,27. No caso do r , semelhante ao que acontece com R_0 , valores superiores a zero indicam que a população está em crescimento, valores igual a zero que a população se mantém estável e valores menores que zero que a população está diminuindo (Figura 12 e Tabela 5).

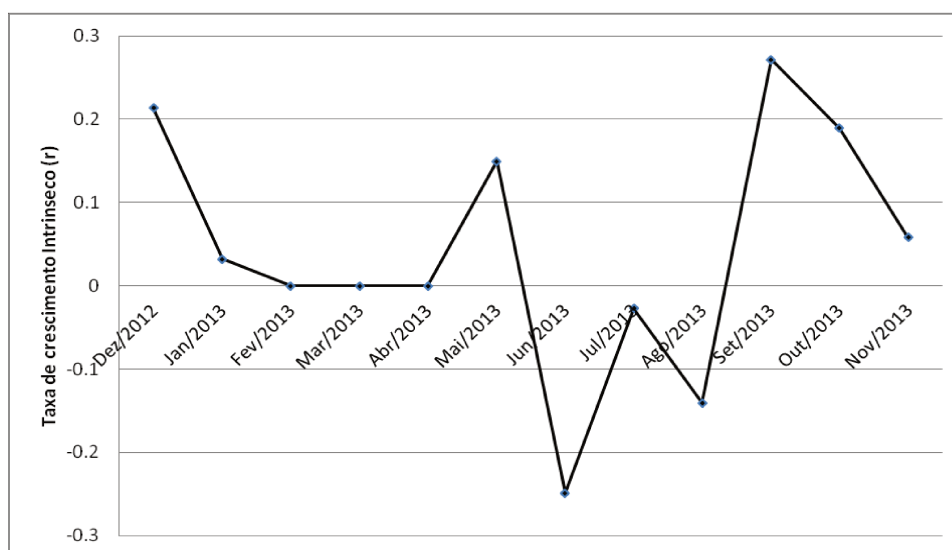


Figura 12 – Variação da taxa de crescimento intrínseca da população de *P. hawaiiensis* entre dezembro de 2012 e novembro de 2013.

Os valores de R_0 e r indicam que a população natural de *P. hawaiiensis* apresenta crescimento no período de setembro ($R_0 = 2,85$ e $r = 0,27$) a janeiro ($R_0 = 1,14$ e $r = 0,03$) e um pico no mês de maio ($R_0 = 2,85$ e $r = 0,15$), ficando estável nos meses de fevereiro a abril ($R_0 = 0$ e $r = 0$) e uma diminuição no inverno entre junho e agosto onde r variou entre -0,25 e -0,14, e R_0 0,44 a 0,64.

Para o cálculo de probabilidade de extinção, o quadrado da variância de r foi igual a 0,027, menor do que $2r_{\text{médio}}$ (0,099) indicando que não há previsibilidade de extinção.

A Tabela 6 mostra o valor da média da sobrevivência de cada classe etária com desvio padrão. A taxa de sobrevivência (l_x) foi calculada pela divisão do número de fêmeas de cada classe de comprimento x pelo número de fêmeas na classe inicial: $l_x = N_x/N_0$

Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão da sobrevivência (l_x) das diferentes classes etárias da espécie *P. hawaiiensis*, para o período de dezembro de 2012 a novembro de 2013.

Classe Etária	l_x	Desvio Padrão
0	1	0
1	0.832	±0.069
2	0.566	±0.133

Classe Etária	l_x	Desvio Padrão
3	0.404	± 0.172
4	0.286	± 0.182
5	0.086	± 0.053
6	0.025	± 0.024
7	0.010	± 0.010

O logaritmo do decaimento médio ($\log N_x$) da espécie *P. hawaiiensis* indicou uma curva de sobrevivência do tipo II para cada uma das tabelas de vida obtidas, com uma menor mortalidade nas primeiras classes etárias e grande mortalidade nas classes 5 e 6 (Figura 13).

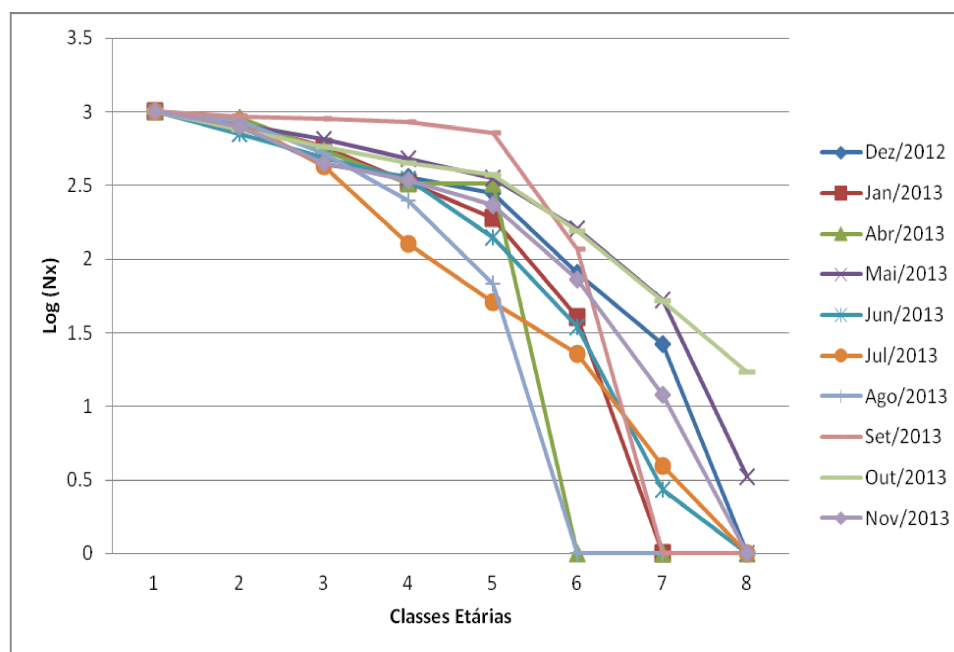


Figura 13 – Curvas de sobrevivência mensais para *P. hawaiiensis* entre o período de dezembro de 2012 e novembro de 2013.

A partir das curvas de sobrevivência mensais foi obtida uma curva de sobrevivência com a média anual, como mostra a Figura 14.

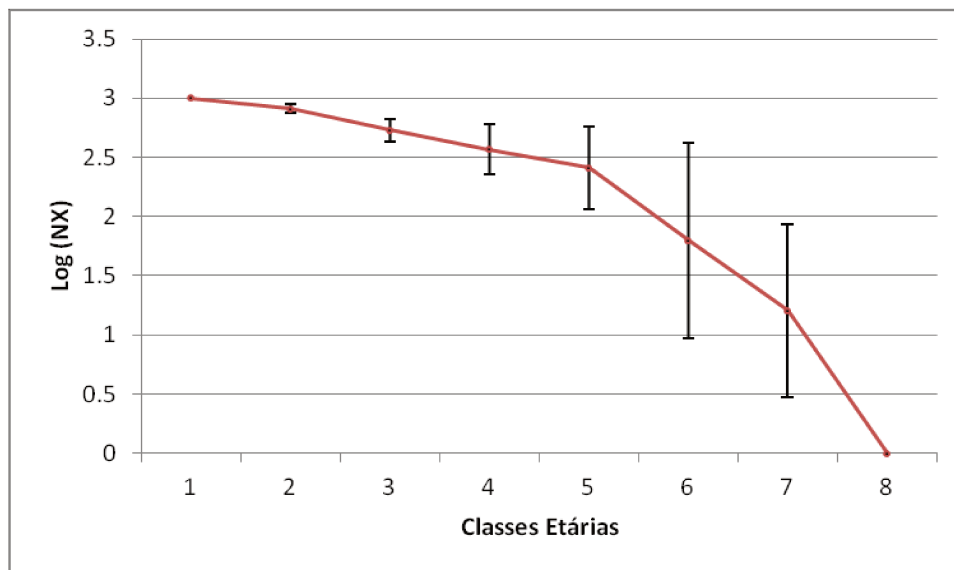


Figura 14 – Curva de sobrevivência média e desvio padrão para *P. hawaiiensis* entre o período de dezembro de 2012 e novembro de 2013.

Não houve correlação entre a taxa de crescimento intrínseca (r) e a abundância (N) de indivíduos coletados mensalmente, o valor da correlação foi $R^2 = 0,0531$ (Figura 15).

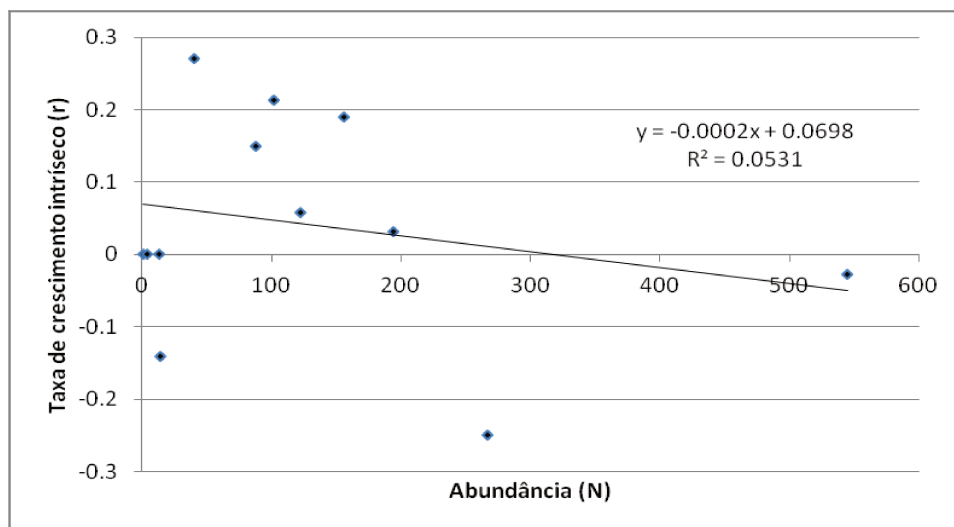


Figura 15 – Correlação entre os valores absolutos de abundância e a taxa de crescimento intrínseca (r).

Para obtenção da densidade de indivíduos por grama de alga seca foram pesadas e medidas 30 amostras de algas/substrato. O peso do material, algas/substrato seco apresentou uma média mensal de $19,55\text{g} \pm 9,26$, com uma máxima de 48,03g e uma mínima de 8,96 g. O peso do substrato úmido apresentou uma média mensal de $44,36 \pm 30,06$ com uma máxima de 121,74 g e uma mínima de 17,34g (tabela 7).

Tabela 7 – Valores de peso úmido e seco, das algas/substrato, para as coletas realizadas entre dezembro de 2012 e novembro de 2013.

Coleta	Réplica	Peso úmido (g)	Peso seco (g)	Coleta	Réplica	Peso úmido (g)	Peso seco (g)
Dez/2012	1	57.4	22.8	Jun/2013	1	22.8	15.0
	2	90.5	33.2		2	18.5	9.6
	3	51.3	20.9		3	29.3	16.1
	4	64.8	25.1		4	29.0	13.7
	5	78.6	29.5		5	17.3	9.0
Jan/2013	1	13.6	9.0	Jul/2013	1	37.2	22.1
	2	33.2	15.2		2	35.1	20.2
	3	20.9	11.3		3	26.7	16.9
	4	9.2	7.6		4	24.8	15.3
	5	23.6	12.2		5	32.4	18.6
Fev/2013	1	26.1	12.9	Ago/2013	1	54.6	20.5
	2	11.8	8.4		2	68.4	21.9
	3	9.2	7.6		3	43.6	14.4
	4	10.3	8.0		4	28.1	12.6
	5	6.1	6.6		5	41.4	19.1
Mar/2013	1	14.7	9.3	Set/2013	1	74.4	30.8
	2	14.9	9.4		2	48.8	23.7
	3	12.6	8.7		3	47.6	24.7
	4	26.2	13.0		4	65.8	31.1
	5	14.5	9.3		5	102.7	47.2
Abr/2013	1	58.0	23.0	Out/2013	1	39.4	16.9
	2	76.5	28.8		2	55.9	21.3
	3	53.1	21.5		3	56.9	18.8
	4	112.6	40.2		4	40.7	11.2
	5	79.5	21.0		5	62.0	16.1
Mai/2013	1	66.7	17.2	Nov/2013	1	54.6	21.9
	2	121.7	48.0		2	48.2	19.9
	3	43.2	13.8		3	33.9	15.4
	4	92.1	31.9		4	63.7	24.8

5	68.5	23.7	5	51.4	20.9
---	------	------	---	------	------

A densidade de indivíduos da população de *P.hawaiensis* foi calculada a partir do peso seco das amostras e apresentada na forma de indivíduos/g de substrato seco. Foi calculada uma regressão linear entre os pesos úmido e seco para a verificação de correlação de $R^2 = 0,743$, entre esses valores (Figura 16).

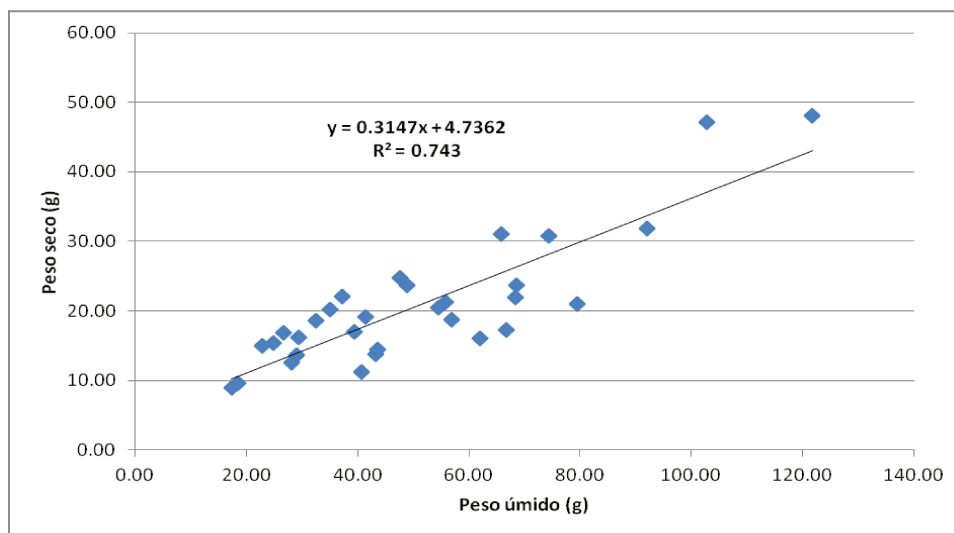


Figura 16 – Correlação entre o peso seco (g) e o peso úmido (g) de 30 réplicas de alga/substrato.

A partir da função da correlação obtida entre os pesos de alga/substrato, estimou-se a capacidade suporte (K) para 100 g alga/substrato secos como sendo:

K = Número máximo de indivíduos encontrados em 100 g alga/substrato secos.

Dessa maneira, o valor para K foi de 1236, obtido a partir de uma amostra com 292 indivíduos de *P. hawaiensis* distribuídos em 23,7 g de alga/substrato, na réplica 5 do mês de maio de 2013 (Tabela 8).

Tabela 8 – Peso seco encontrado por réplica, abundância de indivíduos e densidade, em indivíduos por grama de alga/substrato, de *P. hawaiiensis*, para o período amostrado.

Coleta	Réplica	Peso seco (g)	Abundância de <i>P. hawaiiensis</i>	Densidade (indivíduos/g)
Dez/2012	1	22.8	12	0.5
	2	33.2	5	0.2
	3	20.9	0	0.0
	4	25.1	84	3.3
	5	29.5	1	0.0
Jan/2013	1	9.0	0	0.0
	2	15.2	7	0.5
	3	11.3	71	6.3
	4	7.6	49	6.4
	5	12.2	67	5.5
Fev/2013	1	12.9	0	0.0
	2	8.4	0	0.0
	3	7.6	0	0.0
	4	8.0	1	0.1
	5	6.6	0	0.0
Mar/2013	1	9.3	3	0.3
	2	9.4	0	0.0
	3	8.7	1	0.1
	4	13.0	0	0.0
	5	9.3	0	0.0
Abr/2013	1	23.0	2	0.1
	2	28.8	0	0.0
	3	21.5	0	0.0
	4	40.2	11	0.3
	5	21.0	0	0.0
Mai/2013	1	17.2	3	0.2
	2	48.0	68	1.4
	3	13.8	18	1.3
	4	31.9	249	7.8
	5	23.7	292	12.3
Jun/2013	1	15.0	20	1.3
	2	9.6	39	4.1
	3	16.1	64	4.0
	4	13.7	40	2.9
	5	9.0	104	11.6
Jul/2013	1	22.1	40	1.8
	2	20.2	207	10.3

Coleta	Réplica	Peso seco (g)	Abundância de <i>P. hawaiiensis</i>	Densidade (indivíduos/g)
	3	16.9	174	10.3
	4	15.3	108	7.0
	5	18.6	16	0.9
Ago/2013	1	20.5	0	0.0
	2	21.9	14	0.6
	3	14.4	0	0.0
	4	12.6	3	0.2
	5	19.1	10	0.5
Set/2013	1	30.8	15	0.5
	2	23.7	18	0.8
	3	24.7	2	0.1
	4	31.1	1	0.0
	5	47.2	4	0.1
Out/2013	1	16.9	36	2.1
	2	21.3	80	3.8
	3	18.8	9	0.5
	4	11.2	14	1.2
	5	16.1	17	1.1
Nov/2013	1	21.9	52	2.4
	2	19.9	19	1.0
	3	15.4	0	0.0
	4	24.8	42	1.7
	5	20.9	9	0.4

Foi calculada a curva logística média (Figura 17) que representa o comportamento previsto quanto ao crescimento da população, sendo considerado para o modelo $N_0 = 10$ (valor escolhido devido à baixa densidade encontrada em alguns meses do período amostrado) e $K = 1236$, e a variável “r” (taxa de crescimento intrínseca) média de 0,05 com desvio padrão de $\pm 0,16$. No gráfico de crescimento logístico, é possível observar que o modelo indica que com uma população inicial de 10 indivíduos a espécie atingiria, em ambiente natural, a capacidade suporte (para 100 g de alga/substrato seco) em 35 a 40 gerações, o que equivaleria a aproximadamente a um período de 130 a 150 meses.

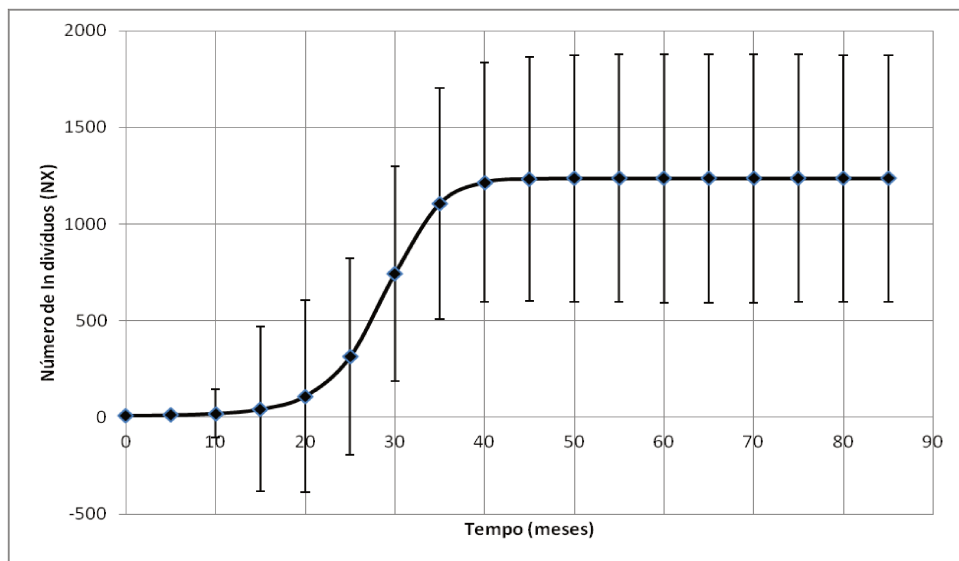


Figura 17 – Curva do modelo de crescimento logístico de *Parhyale hawaiiensis*.

4. Discussão

As espécies de Hyalidae que ocupam os sistemas aquáticos de baixas latitudes apresentam um padrão de reprodução com períodos reprodutivos extensos (SAINTE-MARIE, 1991). A população natural de *P. hawaiiensis* estudada apresentou dois períodos reprodutivos mais importantes, um mais curto no final do outono/inverno e outro mais longo no final da primavera e período de verão, como constatado para diversas espécies litorâneas no sudeste brasileiro (VALÉRIO-BERARDO; FLYNN, 2004). Este comportamento é explicado pela variação latitudinal da temperatura que permite a produção de duas ou mais gerações por ano nas baixas latitudes (CUNHA et al., 2000). O recrutamento decorrente do produto reprodutivo acarreta na observada variação estacional da abundância de *P. hawaiiensis*, frequentemente relacionada à disponibilidade de alimento e temperatura (FLYNN et al., 1998; XINQING et al., 2013).

A presença ao longo do ano de jovens e fêmeas ovígeras em populações de Hyalidae é uma forte evidência de reprodução contínua como estratégia vantajosa de espalhar a reprodução ao longo do ano quando a espécie vive em condições desfavoráveis e corre o risco de perder toda sua prole se esta nascer no momento errado (LEWIS, 1998; GOTELLI, 2001). A razão sexual encontrada entre machos e fêmeas de 1:2,31 em favor das fêmeas é bastante comum para populações costeiras e pode ser explicada pela maior mortalidade de machos, quando comparados às fêmeas (HASTINGS, 1981; CARRASCO; ARCOS, 1984; DAUVIN, 1988; MARQUES; NOGUEIRA, 1991; VALÉRIO-BERARDO; FLYNN, 2004). A maior mortalidade dos machos pode estar relacionada ao comportamento agressivo na disputa por fêmeas como observado nas culturas de laboratório.

A estratégia de vida utilizada por determinada espécie é bem caracterizada por parâmetros da estatística demográfica como: tipo de reprodução (semélpara ou iterópara), taxa de crescimento (r) e tempo de geração (T) (WINEMILLER; TAPHORN, 1989). A maioria dos amphipoda da família Hyalidae apresenta reprodução iterópara, incluindo a sobreposição de gerações, o que é evidenciado pela grande variação no potencial reprodutivo (R_0) e consequente variação na taxa de crescimento intrínseca (r). O tempo de geração (T), para espécies que se reproduzem continuamente, é um conceito muito deceptivo, já que este é representado pela

idade média dos indivíduos parentais de toda prole produzida em uma coorte (CAUGHLEY, 1977). A sobreposição de gerações é muito comum em habitats pouco previsíveis, e é consistente com o comportamento oportunista de espécies epifaunais de comunidades fisicamente controladas, de acordo com a teoria tempo-estabilidade proposta por Sanders (1969). O que inclui o rápido aumento de abundância quando em condições ambientais favoráveis, a razão sexual favorável às fêmeas ao longo de todo o ano, a presença de fêmeas iteróparas com ciclo multivoltínico e com produção de baixo número de ovos por ninhada, características também documentadas no presente trabalho para *P. hawaiiensis* (WILDISH, 1988; SAINTE-MARIE, 1991; JEONG et al., 2007).

As características relacionadas à estratégia de vida mencionadas acima estão associadas a um padrão de dinâmica populacional consistente com o comportamento adotado por espécies costeiras em ambientes fisicamente controlados e sujeitos a frequentes perturbações (VALERIO-BERARDO; FLYNN, 2002); e sugerem tendências relacionadas à latitude, produtividade e previsibilidade que podem ser resumidas nas hipóteses de seleção r-K relacionadas à longevidade, maturidade e fecundidade da espécie (SAINTE-MARIE, 1991), sistema tricotômico contínuo com três estratégias de vida distintas.

O conceito de estratégia de vida postula que a seleção natural molda a ocorrência e duração de eventos chave ao longo do ciclo de vida de forma que a sobrevivência da prole seja otimizada. A idade e tamanho que a maturidade sexual é atingida, os eventos reprodutivos, o sucesso reprodutivo, a senescência e morte dependem das condições ecológicas as quais os organismos foram submetidos ao longo do tempo, determinando seu caminho evolutivo (TOWNSEND; HARPER; BEGON, 2010). Dentre as teorias sobre estratégias de vida, a de maior respaldo é a estratégia r-K. A estratégia K é associada a uma alta taxa de sobrevivência tanto para os adultos como para os indivíduos jovens de uma população. Nessa estratégia as fêmeas apresentam baixa fecundidade, longo tempo de geração e são iteróparas, dessa maneira a densidade da população acaba se mantendo relativamente estável. A estratégia *r* caracterizada por baixa sobrevivência dos adultos, alta fecundidade, fêmeas iteróparas, tempo de geração curto, e densidade populacional variável, pode ser subdividida em r_1 e r_2 , que diferem na mortalidade dos jovens, alta em r_1 e baixa em r_2 (MACARTHUR; WILSON, 1967; PIANKA, 1970; STEARNS, 1976).

As regiões costeiras, expostas às variações de maré, de pressão osmótica e choque térmico são ocupadas por estrategistas em r com baixa longevidade e alta fecundidade, onde a evolução de estratégias oportunistas como atividade sexual contínua ao longo de todo o ano é esperada (VAN DOLAH; BIRD, 1980; MARQUES; NOGUEIRA, 1991; MARTIN-SMITH, 1994; VALÉRIO-BERARDO; FLYNN, 2004; FLYNN et al., 2008). A espécie *P. hawaiiensis*, representante de estratégia r_2 , compensa o pequeno número de ovos produzido por ninhada pela baixa mortalidade dos filhotes ao deixarem o marsúpio e uma idade precoce de maturidade sexual. Deste modo aumenta a produção do número de ninhadas ao longo da vida e diminui o tempo de geração (T) com o consequente aumento da taxa de crescimento intrínseca (r). Esta hipótese é corroborada por trabalhos realizados com outra espécie de amphipoda costeiro, a *Hyale media* (LEITE, 1996b). A estratégia adotada tem sucesso, pois não foi prevista a possibilidade de extinção para a população local.

Endpoints que levam em consideração taxas e variáveis em nível populacional, como por exemplo, a taxa de crescimento intrínseca (r), são medidas alternativas de toxicidade, que historicamente têm sido criticadas por falta de sensibilidade quando comparadas aos *endpoints* individuais (mortalidade, sobrevivência ou fecundidade). Porém quando se trata de prever a resposta de uma população a qualquer agente tóxico, a sensibilidade do *endpoint* talvez não seja o melhor critério a ser utilizado para o monitoramento desses estresses toxicológicos, já que apesar de menos sensíveis, os *endpoints* populacionais podem ser medidas mais realistas no que se trata de efeitos ecologicamente mais relevantes da resposta tóxica (WHATALL; STARK, 1997). Segundo Forbes e Calow (1999) a aplicação de r , pelo fato deste integrar valores de sobrevivência das classes etárias específicas e fecundidade em um mesmo parâmetro, faz deste por definição, um *endpoint* ecologicamente mais relevante na avaliação de xenobióticos do que as medições de parâmetros individuais tradicionais.

A taxa de crescimento intrínseca (r) apresentada por *P. hawaiiensis* parece ser densidade-independente, ou seja, o que controla a densidade da população é a estocasticidade ambiental e não diretamente as taxas de mortalidade e natalidade. Fato comum quando o habitat da população apresenta constante estresse físico (LEWONTIN; COHEN, 1969). Dessa maneira r varia com fatores externos, que não estão relacionados com a abundância da população (N), comportamento evidenciado pela baixa correlação entre r e N . Na tentativa de prever o

comportamento dessas populações, a variação da população ao longo do tempo deve levar em consideração a estocasticidade ambiental já que a variação temporal de r , como a obtida nesse estudo, não apresenta correlação com a variação da abundância da população ao longo do período estudado.

A composição da associação de amphipoda local é dominada por *Hyale nigra*, *Caprella penantis* e *Caprella danilevskii*, com clara alternância de dominância (VALÉRIO-BERARDO; FLYNN, 2004). Valério-Berardo e Flynn (2002) sugerem que a flutuação numérica na densidade das espécies dominantes indica a tentativa de distinção do nicho ecológico por meio de uma estratégia reprodutiva, diferenciando períodos de incubação e fecundidade. Entretanto, as tentativas para explicar o padrão temporal exibido falharam quando foram considerados somente parâmetros físico-químicos como variáveis independentes. Flynn e Pereira (2013) propuseram um modelo de dinâmica populacional simulando diferentes cenários de estresse ambiental para as populações associadas ao estrato algal do costão rochoso conhecido como Poço de Anchieta baseado nos dados empíricos anteriormente obtidos por Valério-Berardo e Flynn (2002, 2004) e Flynn e colaboradores (2009). A dinâmica característica foi explicada e mantida pela inserção de números obtidos aleatoriamente entre 0.6 e 1.0 representando a estocasticidade ambiental, sendo o efeito desta inserção a diminuição das densidades populacionais com o aumento do estresse. A curva logística obtida para a população analisada com os valores médios de r mostra que a variância no tamanho da população aumenta de acordo com o tempo, o que é típico de uma população que cresce em um habitat com estocasticidade ambiental. Quanto mais longa for a previsão, maior será a incerteza na estimativa do tamanho da população, essa incerteza se estabiliza quando a capacidade suporte do ambiente é atingida (MARTIN-SMITH, 1994).

Com o contínuo desenvolvimento de testes ecotoxicológicos em direção a testes com maior relevância ecológica, a abordagem de resposta de parâmetros de tabela de vida (LEVIN et al., 1996; CONRADI; DEPLEDGE, 1998, 1999; FORBES; CALLOW, 1999 e 2010) é privilegiada. Os experimentos que consideram tabela de vida integram respostas a contaminantes a nível populacional (LEVIN et al., 1996; FORBES; CALLOW, 1999 e 2010), pois os “endpoints” obtidos levam em consideração a mortalidade e a natalidade das diferentes classes etárias da população.

A seguir serão apresentadas recomendações metodológicas adaptadas de trabalhos publicados que utilizaram metodologia LTRE (LEVIN et al., 1996; NEUPARTH et al., 2002), sendo a metodologia de cultivo recomendada aquela já adotada nos cultivos realizados no Laboratório de Ecotoxicologia e Microbiologia Ambiental Prof. Abílio Lopes – LEAL.

Para a obtenção dos casais de *P. hawaiiensis* em cópula devem ser coletadas amostras do conjunto de algas marinhas e substrato aderido ao costão de áreas litorâneas, onde se espera encontrar indivíduos da espécie *P. hawaiiensis* associados. A espécie pode ser também encontrada associada à vegetação de marisma recobrando a área litorânea de estuários, como por exemplo, no estuário de Cananéia – SP, onde é documentada a dominância de *P. hawaiiensis* de comunidades associadas à *Spartina alterniflora* (FLYNN et al., 1998). O material alga/substrato deve ser cuidadosamente recolhido da região costeira escolhida e depositado em sacos plásticos preenchidos com água do mar. As amostras devem ser acondicionadas em caixas com gelo e mantidas em aeração artificial até a chegada ao laboratório, quando as amostras devem ser transferidas para aquários de aclimatização. O processo de aclimatização deve ser feito pela troca da água do mar pela água reconstituída utilizada no cultivo, na chegada ao laboratório o aquário deve ser montado com a água coletada do mar. Esta água deve ser progressivamente trocada pela água reconstituída utilizada no cultivo dos animais. Quanto mais lenta a troca da água menos brusca será a mudança entre as condições de cultivo no laboratório e as condições da água do mar do dia da coleta.

Após a aclimação dos organismos, casais pertencentes à espécie *P. hawaiiensis* devem ser separados. Estes casais serão os geradores do cultivo dando origem às coortes que serão utilizadas nos testes. Para tanto será necessária realização de busca no material coletado por casais de anfípodes, em geral, em amplexo copulatório, já que não é possível identificar a espécie *P. hawaiiensis* a olho nu. A confirmação da identidade da espécie *P. hawaiiensis*, deve ser feita com auxílio de microscópio estereoscópico segundo guias de identificação, como por exemplo, o Guia de identificação ilustrado de Amphipoda, Gammaridae da Florida, por Lecroy (2007). Depois de identificados e separados, os casais devem ser mantidos seguindo os padrões de cultivo utilizados no Leal e descritos a seguir.

Nas campanhas em campo devem ser trazidos pelo menos 20 litros de água do mar que serão utilizadas para a manutenção do aquário de aclimação até finalização do processo com

preenchimento total do aquário com água reconstituída, ou até que seja encontrado um número suficiente de casais em amplexo para o estabelecimento da cultura. No laboratório também devem ser analisados, para o controle da qualidade da água, os seguintes parâmetros físico-químicos: salinidade, oxigênio dissolvido, temperatura e pH.

A cultura de laboratório deve ser mantida em recipiente de vidro com capacidade de 3 a 4 litros cheios com água deionizada reconstituída entre 30 e 34 ppt salinidade. Como substrato de fixação para os organismos pedaços de 10 cm x 10 cm de redes de náilon, com 2,5 mm entrenós e espessura de 1 mm, devem ser adicionadas. O fotoperíodo deve ser ajustado para 16 horas de luz e 8 horas de escuro. A temperatura do cultivo deve ser mantida, entre 23-25° C, já que na natureza esses organismos habitam áreas onde a temperatura da água apresenta uma média anual entre 23-24°C (AZEVEDO; BRAGA, 2011). A alimentação deve ser fornecida com periodicidade de duas vezes por semana, 1 pellet de alimento de peixes (Spirulina) para cada tanque de cultura.

O cultivo deve ser mantido sob aeração constante. Para evitar a proliferação de fungos todo equipamento que entrar em contato com os animais como, por exemplo, substrato (rede de nylon), vidrarias, béqueres, pipetas e etc., devem ser lavados somente com água da torneira e depois enxaguados com água destilada, preferencialmente deionizada, sem a utilização de qualquer agente químico como detergentes ou outros solventes antes do uso. Mangueiras de ar e pedras de aeração devem ser verificadas quanto ao bom funcionamento e frequentemente trocadas e limpas. A manutenção dos cultivos deve ser feita sempre que necessário, o indicado é entre 1 a 2 semanas, dependendo da densidade populacional. O manuseio excessivo dos animais deve ser evitado, já que pode causar estresse e provocar efeitos negativos no cultivo.

A cultura teste deve ser mantida em condições semelhantes às de cultivo de manutenção, ou seja, a 23-24° C, foto período de 16/8 hs, aeração constante em recipiente de 2 l. Como o teste proposto tem abordagem populacional os parâmetros a serem medidos não dependem da reação de um indivíduo e sim da interação de uma coorte, não sendo necessária a realização de réplicas por tratamentos. Pode ser montado um cultivo teste para cada tratamento. Um controle sem adição de estressores deve ser montado, para se avaliar condições diversas ao tratamento testado.

Para cada tratamento 10 casais em amplexo copulatório devem ser separados e mantidos em béqueres de 250 ml até o nascimento da primeira coorte. A escolha do número de casais se baseou no número médio de ovos produzidos por *P. hawaiiensis*, que é de seis ovos por fêmea por ninhada.

Dentre os jovens neonatos liberados do marsúpio, 60 indivíduos, nascidos em intervalo de 3 dias, devem ser retirados dos béqueres e colocados juntos em recipiente com capacidade para 2 litros de água contendo os agentes estressores nas concentrações testadas. Após a colocação dos jovens nos diferentes tratamentos testes e controle, estes devem ser mantido por 12 semanas. O tempo de duração do experimento foi sugerido como o tempo médio entre a maturação sexual e o tempo de geração (T).

Para a determinação do comprimento dos jovens, os mesmos devem ser fotografados sobre lamina milimetrada e sob microscópio estereoscópico no início de cada teste, e quinzenalmente após a data inicial. A água de cultivo dos testes deve ser trocada quinzenalmente desde que os cristalizadores se mantenham limpos e sem contaminações, de outra maneira trocas semanais são aconselháveis.

Semanalmente o decaimento da população deve ser avaliado por censo total, ou seja, contagem dos indivíduos. O censo nos dá a sobrevivência da coorte.

Quando do primeiro evento reprodutivo as fêmeas devem ser medidas e fotografadas para determinação do tamanho da maturidade sexual. A cada semana os jovens nascidos devem ser retirados do cultivo teste e utilizados para o cálculo da fecundidade das fêmeas daquela classe etária. A partir desses dados é possível montar uma tabela de vida idade específica e calcular parâmetros populacionais, como taxa de crescimento intrínseco, potencial reprodutivo e tempo de geração, bem como outros parâmetros como sobrevivência ou tamanho ao atingir a maturidade.

Os parâmetros populacionais indicados para utilização como *endpoints* incluem: o potencial reprodutivo (R_0), tempo de geração (T) e a taxa de crescimento instantâneo (r), sendo os intervalos de valores a serem utilizados com base comparativa para os testes indicados na Tabela abaixo obtidos pelos desvios padrões calculados. Para obtenção destes, deve ser utilizada

a mesma metodologia descrita no item 2.5. Análise dos dados obtidos e comparados aos valores aqui indicados.

Tabela 9 – Média e desvio padrão dos parâmetros populacionais (R_0 , T e r) indicados para utilização como *endpoints* obtidos na análise de tabela de vida idade-específica de população natural de *Parhyale hawaiiensis*

Parâmetros	Média	Desvio Padrão
Potencial Reprodutivo (R_0)	1,45	$\pm 1,01$
Tempo de geração (T)	3,51	$\pm 1,31$
Taxa intrínseca de crescimento (r)	0,06	$\pm 0,17$

A abordagem experimental aqui recomendada procura delinear um experimento de longa duração com *P. hawaiiensis*, com o objetivo de obter respostas a agentes estressores em nível populacional, utilizando com *endpoints* as estatísticas demográficas: o potencial reprodutivo, a taxa intrínseca de crescimento e o tempo de geração. O potencial reprodutivo (R_0) é considerado por alguns como uma medida de condicionamento populacional, entretanto este pressuposto é arriscado, isto porque o R_0 mede somente o rendimento reprodutivo ($\sum l_x m_x$), ignorando o momento em que isto ocorre dentro do ciclo de vida da espécie. A taxa intrínseca de crescimento populacional (r) é considerada um índice mais robusto (LEVIN et al. 1996) e o tempo de geração parece corroborar a máxima de que uma população com taxa de crescimento mais rápido apresenta tempo de geração mais curto (NEUPARTH et al., 2002).

A duração de testes ecotoxicológicos, particularmente testes crônicos, se constitui geralmente em um importante problema técnico. Idealmente, um teste crônico deve englobar todo ciclo de vida dos organismos, desde o nascimento até a época de reprodução, ou pelo menos os estágios mais sensíveis (HILL et al., 1994). Apesar de um teste de longa duração ter grande utilidade quando se considera do ponto de vista científico, um período de 4 semanas foi acordado para testes crônicos envolvendo amphipoda (NIPPER; ROPER 1995; MARTINEZ-

MADRID et al., 1999). Para o teste proposto por esse estudo, é indicado para a duração do experimento o período de 12 semanas, pois se considerou o tempo médio entre a idade de maturação sexual e o tempo de geração.

Várias linhas de evidência sugerem que os efeitos de estressores em populações podem ser acuradamente calculados por abordagem populacional. Uma grande variedade de modelos populacionais pode ser aplicada com base em parâmetros matemáticos derivados de princípios estritamente biológicos e ecológicos (CASWELL, 2001; NOËL et al., 2006; JAGER; KLOK, 2010; KRAMER et al., 2011). Apesar de não existir uma única lei que governe a dinâmica populacional da totalidade de organismos existentes, há muitas evidências de regras que governam o comportamento de crescimento das populações, o estabelecimento da capacidade suporte do ambiente e o risco de extinção, todos úteis *endpoints* populacionais (BARNTHOUSE et al., 2007; MUNNS et al., 2008; PASTOROK et al., 2002; THORBEK et al., 2009; WANG; GRIMM, 2010).

5. Conclusão

O conhecimento das estatísticas demográficas e estratégia de vida de uma espécie são importantes no estabelecimento de endpoints populacionais a ser utilizados em experimentos de ecotoxicologia crônica com maior poder de previsibilidade para o efeito de agentes estressores. As recomendações para o modelo de teste ecotoxicológico proposto neste estudo, com base em confecção de tabela de vida idade específica, visa integrar as respostas em nível populacional relativas aos contaminantes e oferece uma opção metodológica para testes de ecotoxicidade com organismo marinho de fácil manutenção em cultura.

Os dados aqui obtidos permitem o uso dos parâmetros, taxa de sobrevivência (l_x), fecundidade (m_x), tamanho na maturidade sexual, capacidade suporte (K), probabilidade de extinção ($\sigma^2 > 2 r_{\text{médio}}$) como *endpoints*. É recomendada a utilização da taxa de crescimento intrínseca (r), do potencial reprodutivo (R_0) e do tempo de geração (T) como endpoints potencialmente mais eficazes, com a sugestão de que sejam refinados pela obtenção experimental dos mesmos em culturas laboratoriais em ambiente controlado.

6. Referências Bibliográficas

- AZEVEDO, J. S.; BRAGA, E. S. Caracterização hidro química para qualificação ambiental dos estuários de Santos-São Vicente e Cananéia. **Arquivos de Ciência do Mar**, v. 44, n. 2, p. 52-61, 2011.
- BARNARD, J.L.; KARAMAN, G.S. The families and genera of marine gammaridean Amphipoda (except marine gammaroids). **Records of the Australian Museum Supplement**, v.13, n.1, p.1-417, 1991.
- BARNTHOUSE, L. W.; MUNNS, W. R.; SORENSON, M. T. **Population-Level Ecological Risk Assessment**. Taylor & Francis, Boca Raton, Florida, U. S. A.2007
- BEYER, J.; PETERSEN, K.; SONG, Y; RUUS, A.; GRUNG, M.; BAKKE, T.; TOLLEFSEN, K. E. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: a discussion paper. **Marine Environmental Research**, 31 p., 2013.
- BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. Aquatic Ecotoxicology: From ecosystem to the Cellular and Molecular levels, **Environmental Health Perspectives**, v. 105, s. 1, p. 21-35, 1997.
- BROWNE, W. E; PRICE, A. L; GERBERDING, M; PATEL, N. H. Stages of Embryonic Development in the Amphipod Crustacean, *Parhyale hawaiiensis*. **Genesis**, n. 42, p. 124-149, 2005.
- BYRNE, M. Global change ecotoxicology: identification of early history bottlenecks in marine invertebrates, variable species responses and variable experimental approaches. **Marine Environmental Research**, v.76, p. 3-15, 2012.
- CALOW, P. Hazards and risks in Europe: challenges for ecotoxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.12, n.9, p. 1519-1520, 1993.
- CALOW, P., Ecology in ecotoxicology: some possible 'rules of thumb'. In: **BAIRD, D.J., MALTBY, L., GREIG-SMITH, P.W., DOUBEN, P.E.T. (Eds.), Ecotoxicology: Ecological Dimensions**. Chapman and Hall, SETAC Press Series, Cambridge, UK, p. 5–12, 1996.
- CALOW, P.; SIBLY R. M. A physiological basis of population processes: ecotoxicological implications. **Functional ecology**, v. 4, p. 283-288, 1990.
- CARRASCO, F. D.; ARCOS, D. F. Life history and production of a cold-temperate population of the sublittoral amphipod *Ampelisca auracana*. **Marine Ecology Progress Series**, v.14, p. 245-252, 1984.
- CASWELL, H. **Matrix Population Models**. 2nd edn. Sinauer Associates, Sunderland, MA, 2001.

CAUGHLEY, G. **Analysis of Vertebrate Populations**. Wiley, New York, 1977.

CONRADI, M.; DEPLEDGE, M. H. Population responses of the marine amphipod *Corophium volutator* (Pallas, 1766) to copper. **Aquatic Toxicology**, v. 44, p. 31–45, 1998.

CONRADI, M.; DEPLEDGE, M. H. Effects of zinc on the life history, growth and reproduction of the marine amphipod *Corophium volutator*. **Marine Ecology Progress Series**, v.176, p. 131–138, 1999.

CUNHA, M.R.; SORBE, J.C.; MOREIRA, M.H. The amphipod *Corophium multisetosum* (Corophiidae) in Ria de Aveiro (NW Portugal). I. Life history and aspects of reproductive biology. **Marine Biology**, v.137, p. 637-650, 2000.

DAUVIN, J. C. Biologie, dynamique et production de populations de crustacés amphipodes de la Manche occidentale 1 *Ampelisca tenuicornis* Liljeborg. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 118, p. 55-84, 1988.

DEVAUX, A; FIAT, L; GILLET, C.; BONY, S. Reproduction impairment following paternal genotoxin exposure in brown trout (*Salmo trutta*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). **Aquatic toxicology**, n. 101, p. 405-411, 2011.

DILLON, T. M.; MOORE, D. W.; GIBSON, A. B. Development of a chronic sub lethal bioassay for evaluating contaminated sediment with the marine polychaete worm *Nereis* (Neanthes) *arenaceodentata*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.12, p. 589-605, 1993.

EHSAN, K.; SABILI, A. N.; YAHYAVI, M. Stock assessment and reproductive biology of the blue swimming crab, *Portunus pelagicus*, in Badar Abbas Coastal Waters, Northern Persian Gulf. **Journal of the Persian Gulf (Marine Science)**, v. 1, n. 2, p. 11-22, 2010.

FLYNN, M. N.; PEREIRA, W.R.L.S. Estimation of Taylor's Power Law Parameters a and b for. **Oceánides**, v. 24, p. 85-90, 2009.

FLYNN, M. N.; PEREIRA, W. R. L. Abordagem Populacional na Ecotoxicologia. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 3, p. 79-91, out. 2011.

FLYNN, M. N.; PEREIRA, W. R. L. Population approach in ecotoxicology (Stress Ecology). **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n.1, p. 75-85, 2013.

FLYNN, M. N.; PEREIRA, W.R.L.S.; PIRES, R. DA C.; VALERIO-BERARDO, M. T. Population dynamics of *Hyale nigra* (Haswell, 1879) (Hyalidae, Amphipoda, Crustacea) associated to *Bryocladia thysigera* (J. Agardh) at Peruibe Beach, Itanhaém, southeastern Brazil. **Nauplius**, v. 17, p. 1-8, 2009.

FLYNN, M. N.; VALERIO-BERARDO, M. T.; PEREIRA, W.R.L.S. Dinâmica populacional de *Jassa slatteryi* em substrato artificial, São Sebastião, São Paulo, Brasil. **Biomatemática** (UNICAMP), v. 18, p. 57-68, 2008.

FLYNN, M. N.; WAKABARA, Y.; TARARAM, A. S. Macrobenthic associations of the lower and upper marshes of a tidal flat colonized by *Spartina alterniflora* in Cananéia lagoon estuarine region (Southeastern Brazil). **Bulletin o Marine Science**, v. 63, n. 2, p. 427-442, 1998.

FORBES, V. E; CALOW, P. Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology, **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 7, p. 1544-1556, 1999.

FORBES, V. E.; CALOW, P. Contaminant effects on population demographics. **In: (ed). Fundamentals of Ecotoxicology**, NEWMAN, MC, 3rd edn. CRC, Boca Raton, FL, p. 293-297, 2010.

GASCA, R.; HADDOCK, S. H.D. Associations between gelatinous zooplankton and hyperiid amphipods (Crustacea: Peracarida) in the Gulf of California. **Hydrobiologia**, v. 530/531, p. 529-535, 2004.

GERBERDING, M; BROWNE, W. E; PATEL, N. H. Cell lineage analysis of the amphipod crustacean *Parhyale hawaiiensis* reveals an early restriction of cell fates. **Development**, n. 129, p. 5789–5801, 2002.

GIANNINI, P. C. F. Sedimentação quaternária na planície costeira de Peruíbe-Itanhaém (SP). **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo – Instituto de Geociências, 115p., 1987.

GOTELLI, N.J. **A primer of ecology**. Sinauer Associates Inc. Ma, U.S.A, 2001.

HASTINGS, M. H. The life cycle and productivity of an intertidal population of the amphipod *Ampelisca brevicornis*. **Estuarine Coastal Shelf Science**, v.12, p. 665-677, 1981.

HILL, I.R.; HEIMBACH, F.; LEEUWANGH, P.; MATTHIESSEN, P. (Eds.), **Freshwater Field Tests for Hazard Assessment of Chemicals**. CRC Press, Boca Raton-FL, 1994.

HOLMES, E. E., SABO, J. L., VISCIDO, S. V., FAGAN, W. F. A statistical approach to quasi-extinction forecasting. **Ecology Letters**, v10, p. 1182–1198, 2007.

JACOBUCCI, G. B.; LEITE, F. P. P. Biologia populacional das espécies de Ampithoidae (Amphipoda, Crustacea) associadas a *Sargassum filipendula* C. Agarth, na Praia da Fortaleza, Ubatuba, São Paulo. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 23, n.00, p. 1207-1216, 2006.

JACOBUCCI, G. B.; P. P. Effect of temporal variation and size of herbivorous amphipods on consumption levels of *Sargassum filipendula* (Phaeophyta, Fucales) and their main epiphyte, *Hypnea musciformis*. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 3, p. 78-85, 2008.

JACOBUCCI, G. B. ; TANAKA, M. O; LEITE, F. P. P. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. **Aquatic Ecology**, v. 43, p. 1031-1040, 2009.

JAGER, T.; KLOK, C. Extrapolating toxic effects on individuals to the population level: the role of dynamic energy budgets. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.365, p. 3531-3540, 2010.

JEONG, S. J.; YU, O. H.; SUH, H. L. Life history and reproduction of *Jassa slatteryi* (Amphipoda, Ischyroceridae) on a sea grass bed (*Zostera marina* L.) in Southern Korea. **Journal of Crustacean Biology**, v.27, p. 65-70, 2007.

KAMALTYNOV, R.M. On the higher classification of Lake Baikal amphipods. **Crustaceana**, v.72, n.8, p. 933-944, 1999.

KRAMER, V. J.; ETTERSON, M. A.; HECKER, M.; MURPHY, C. A.; ROESIADI, G.; SPADE, D. J.; SPROMBERG, J. A.; WANG, M.; ANKLEY, G. T. Adverse outcome pathways and ecological risk assessment: bridging to population-level effects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.30, n.1, p. 64-76, 2011.

KRUSCHWITZ, L. G. Environmental factors controlling reproduction of the amphipod *Hyaella azteca*. **Proceedings of the Oklahoma Academy of Science**, v. 58, p. 16-21, 1978.

LAWRENCE, A. J.; POULTER, C. Impact of copper, pentachlorophenol and benzo[a]pyrene on the swimming efficiency and embryogenesis of the amphipod *Chaetogammarus marinus*. **Marine Ecology Progress Series**, n. 223, p. 213-223, 2001.

LECROY, S. E. **An illustrated identification guide to the near shore marine and estuarine Gammaridean Amphipoda of Florida**, Annual Report for Department of Environmental Protection, Tallahassee, Florida, USA, v.4, p. 503-614 ,2007.

LEITE, F.P.P. Alterações morfológicas dos estádios de crescimento de *Amphilocus neapolitanus* della valle (Gammaridea, Amphilochidae) e *Ampithoe ramondi audouin* (Gammaridea, Ampithoidae), anfípodes associados à alga *Sargassum cymosum*. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 13, n. 1, p. 47-60, 1996 a.

LEITE, F.P.P. Crescimento e reprodução de *Hyale media* Dana (Amphipoda, Gammaridea, Hyalidae) associada à *Sargassum cymosum* C. Agardh. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 13, n. 3, p. 597-606, 1996 b.

- LEITE, F.P.P. Life Cycle Observations on *Amphilocus neapolitanus* (Della Valle, 1853) (Crustacea, Amphipoda) Associated with *Sargassum cymosum* C. Agardh, 1820 in Ubatuba, (SP), Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 3, p. 355-363, 2002.
- LEVIN, L.; CASWELL, H.; BRIDGES, T.; DIBACCO, C.; CABRERA, D.; PLAIA, G. Demographic responses of estuarine Polychaetes to pollutants: Life table Response Experiments. **Ecological Applications**, v. 6, n. 4, p. 1295-1313, 1996.
- LEWIS, J. B. Occurrence and distribution of the tanaid crustacean *Leptochelia savignyi* on the calcareous hydrozoan *Millepora complanata*. **Bulletin of Marine Science**, v.63, n.3, p. 629-632, 1998.
- LEWONTIN, R. C; COHEN, D. On population growth in a randomly varying environment. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 62, n. 4, p. 1056-1060, 1969.
- LINDEMAN, D. Natural history of the terrestrial amphipod *Cerrorchestia hyloraina*(Lindeman) (Crustacea: Amphipoda; Talitridae) in a Costa Rican cloud forest. **Journal of Natural History**, v.25, p. 623–638, 1991.
- LOURO, M. P. A. Ictiofauna do estuário do Rio Itanhaém: Dinâmica espaço temporal e aspectos biológicos das espécies principais. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo – Instituto Oceanográfico, 248 p., 2007.
- LOWRY, J.K.; MYERS, A.A. Benthic Amphipoda (Crustacea: Peracarida) of the Great Barrier Reef, Australia. **Zootaxa**, v. 2260, p. 1–930, 2009.
- MACARTHUR, R. H.; WILSON, E. O. **The theory of Island Biogeography**. Princeton University Press, 1967.
- MARQUES, J. C.; NOGUEIRA, A. Life cycle, dynamics and production of *Echinogammarus marinus* (Leach(Amphipoda)) in the Mondego Estuary (Portugal).**Oceanology Acta**, v.11, p. 213- 223, 1991.
- MARTINEZ-MADRID, M.; RODRIGUEZ, P.; PEREZ-IGLESIAS, J. I.; NAVARRO, E. Sediment toxicity bioassays for assessment of contaminated sites in the Nervion River (Northern Spain). 2. *Tubifex tubifex* reproduction sediment bioassay. **Ecotoxicology**, v.8, p. 111–124, 1999.
- MARTIN-SMITH, K. M. Short-term dynamics of tropical macroalgal epifauna: patterns and process in recolonization of *Sargassum fissifolium*. **Marine Ecology Progress Series**, v.110, p. 177-185, 1994.
- MCGEE, B. L.; SCHLEKAT, C. E.; REINHARZ, E. Assessing sublethal levels of sediment contamination using the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, p. 577-587, 1993.

MORIARTY, G. **Ecotoxicology: the study of pollutants in ecosystems**. Academic, San Diego, California, USA, 289 p., 1988.

MUNNS, W. R.; GERVAIS, J.; HOFFMAN, A. A.; HOMMEN, U.; NACCI, D. E.; NAKAMARU, M.; SIBLY, R.; TOPPING, C. J. Modeling approaches to population-level ecological risk assessment. **In: Population-Level Ecological Risk Assessment**, BARNTHOUSE, L. W.; MUNNS, W. R.; SORENSON, M. T., Eds., CRC, Boca Raton, FL, USA, p. 179-210, 2008.

NEUPARTH, T.; COSTA, F. O.; COSTA, M. H. Effects of temperature and salinity on life history of the marine Amphipod *Gammaru locusta*. Implications for ecotoxicological testing. **Ecotoxicology**, v. 11, p. 61-73, 2002.

NEWMAN, M. C.; JAGOE, C. H. **Ecotoxicology: a hierarchical treatment** (Vol. 2). CRC Press, 1996.

NIPPER, M. G.; ROPER, D. S. Growth of an amphipod and a bivalve in uncontaminated sediments: implications for chronic toxicity assessments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, n. 4-12, p. 424-430, 1995

NOËL, H. L.; HOPKIN, S. P.; HUTCHINSON, T. H.; WILLIAMS, T. D.; SIBLY, R. M. Towards a population ecology of stressed environments: the effects of zinc on the springtail *Folsomia candida*. **Journal of Applied Ecology**, v.43, p. 325-332, 2006.

PASTOROK, R. A.; BARTELL, S. M.; FERSON, S.; GINZBURG, L. R. **Ecological Modeling in Risk Assessment: Chemical Effects on Populations, Ecosystems, and Landscapes**, CRC, Boca Raton, FL, USA, 2002.

PEARL, R. **The Biology of Population Growth**, Knopf, New York, 1925.

PIANKA, E. R. On r- and K- selection. **The American Naturalist**, v.104, n. 940, p. 592-597, 1970.

PILGRIM, W.; BURT, M.D. Effect of acute pH depression on the survival of the freshwater amphipod *Hyaella azteca* at variable temperatures: field and laboratory studies. **Hydrobiologia**, v.254, p. 91-98, 1993.

POLTERMANN, M.; HOP, H.; FALK-PETERSON, S. Life under Arctic sea ice; reproduction strategies of two sympatric (ice-associated) amphipod species, *Gammarus wilkitzkii* and *Apherusa glacialis*. **Marine Biology**, v.136, p. 913-920, 2000.

POOVACHIRANON, S.; BOTO, K.; DUKE, N. Food preference studies and ingestion rate measurements of the mangrove amphipod *Parhyale hawaiiensis* (Dana). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 98, p. 129-140, 1986.

- REHM, E.J., HANNIBAL, R.L., CHAW, R.C., VARGAS-VILA, M.A., AND PATEL, N.H. The crustacean *Parhyale hawaiiensis*: A new model for arthropod development. **Cold Spring Harb. Protoc.**, v. 4, n. 1, 2009.
- RINDERHAGEN, M.; RITTERHOFF, J.; ZAUKE, G. P. Crustaceans as bioindicators. **In: Gerhardt. A. (Eds.). Biomonitoring of Polluted Water - Reviews on Actual Topics.** Trans Tech Publications - Scitech Publications. Environmental Research Forum Vol. 9. Uetikon-Zuerich, p. 161-194, 2000.
- SABO, J. L. & GERBER, L. R. Predicting extinction risk in spite of predator–prey oscillations. **Ecological Applications**, v.17, p. 1543–1554, 2007.
- SAINTE-MARIE, B. A review of the reproductive bionomics of aquatic gammaridean amphipods: variation of life history traits with latitude, depth, salinity and superfamily. **Hydrobiologia**, v.223, p. 189-227, 1991.
- SANDERS, H.L. Benthic marine diversity and the stability-time hypothesis. **Brookhaven Symposium of Biology**, n.22, p.71-81, 1969.
- SCHMITT-JANSEN, M.; VEIT, U.; DUDEL, G.; ALTENBURGER, R. An ecotoxicological perspective in aquatic ecotoxicology: Approaches and challenges. **Basic and Applied Ecology**, v. 9, p. 337-345, 2008.
- SEREJO, C. S. Taxonomy and distribution of the family Hyalidae (Amphipoda, Talitroidea) on the Brazilian coast. **Proceedings of the Fourth International Crustacean Congress, 1998**, Amsterdam, vol. 1, 591-616, 1999.
- SHEADER, M.; VAN DOVER C. L.; SHANK, T. M. Structure and function of *Halice hesmonectes* (Amphipoda: Pardaliscidae) swarms from hydrothermal vents in the eastern Pacific. **Marine Biology**, v.136, p. 901–911, 2000.
- SHERBAKOV, D.Y.; KAMALTYNOV, R. M.; OGARKOV, O. B.; VAINOLA, R; VAINIO, J. K.; VERHEYEN, E. On the phylogeny of Lake Baikal amphipods in the light of mitochondrial and nuclear DNA sequence data. **Crustaceana**, v.72, p. 911–919, 1999.
- SIBLY, R. M.; WILLIAMS, T. D.; JONES, M. B. How environmental stress affects density dependence and carrying capacity in a marine copepod. **Journal of Applied Ecology**, v.37, p. 388–397, 2000.
- STEARNS, S.C. Life history tactics: a review of the ideas. **Quarterly Review of Biology**, v.51, n.1, p. 3-47, 1976.
- STILING, P. **Ecology: Theories and Applications**. University of South Florida, 4 Ed., 403p., 2002.

THORBEK, P.; FORBES, V. E.; HEIMBACH, F.; HOMMEN, U.; THULKE, H-H.; VAN DEN BRINK, P. J.; WOGRAM, J.; GRIMM, V. **Ecological Models for Regulatory Risk Assessments of Pesticides: Developing a Strategy for the Future**. SETAC, Pensacola, FL, USA, 2009.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em Ecologia**. Porto Alegre, Artmed, 576 p., 2010.

TURCHIN, P. Does population ecology have general laws? **Oikos**, v.94, n.1, p. 17–26, 2001.

VALÉRIO-BERARDO, M.T.; FANTINATO, F.M. Variação temporal associada ao tipo morfológico de algas da comunidade fital na Praia do Poço (Itanhaém, SP). **Revista Acta Biologica Leopoldensia**, Univ. Vale do Rio dos Sinos -, v. 22, n.1, p. 45-53, 2000.

VALERIO-BERARDO, M. T.; FLYNN, M. N. . Composition and seasonality of an amphipod community associated to the algae *Bryocladia trysigera*. Brazilian **Journal of Biology**, v. 62, n.4, p. 735-742, 2002.

VALERIO-BERARDO, M. T.; FLYNN, M. N. . Population Biology of *Hyale nigra* (Haswell, 1879) (Amphipoda Crustacea) associated to *Bryocladia Thysigera*, at Poço de Anchieta, Peruibe, Itanhaém, Southeastern Brazil. **Nauplius**, v. 12, p. 1-10, 2004.

VALERIO-BERARDO, M. T.; FLYNN, M. N.; RODRIGUES, L.M.R; ATOLLINI, F. S. Seasonal composition and spatial distribution of macrobenthic associations along an estuarine gradient in Itanhaem, São paulo, Brazil. **Investigaciones marinas CICIMAR**, v. 21, p. 1-9, 2006.

VAN DOLAH, R. F. e BIRD, E. A comparison of reproductive patterns in epifaunal and infaunal gammaridean amphipods. **Estuaries Coastal Marine Science**, n. 2, p. 583-604, 1980.

VAN STRAALLEN, N. M. Ecotoxicology becomes stress ecology. **Environmental Science and Technology**, n. 37, p. 324A–330A, 2003.

VAINOLA, R.; KAMALTYNOV, R. M. Species diversity and speciation in the endemic amphipods of Lake Baikal: molecular evidence. **Crustaceana**, v.72, p. 945–956, 1999.

VINOGRADOV, M. E.; VOLKOV A. F.; SEMENOVA, T. N. **Hyperiid amphipods (Amphipoda, Hyperiidea) of the world oceans**. Smithsonian Institution Libraries, Washington, DC, 632 p., 1996.

WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. Comparison of two population-level ecotoxicological endpoints: the intrinsic (rm) and instantaneous (ri) rates of increase. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, n. 5, p. 1068–1073, 1997.

WANG, M.; GRIMM, V. Population models in pesticide risk assessment: Lessons for assessing population-level effects, recovery and alternative exposure scenarios from modeling a small mammal. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.29, p. 1292–1300, 2010.

WAKABARA, Y.; SEREJO, C.S. Malacostraca - Peracarida. Amphipoda. Gammaridea and Caprellidea. In: YOUNG, P.S. (ed.). Catalogue of Crustacea of Brazil. Rio de Janeiro: Museu Nacional. p. 561-594. (Série Livros n. 6), 1998.

WELLBORN, G. A. Size-biased predation and prey life histories a comparative study of freshwater amphipod populations, **Ecology**, v. 75, n. 7, p. 2104-2117, 1994.

WEN, Y. H. Life history of *Hyaella azteca* (Crustacea:Amphipoda) in a hypereutrophic prairie pond in southern Alberta. **Canadian Journal of Zoology**, v.70, p. 1417–1424, 1992.

WILDISH, D. J. Ecology and natural history of aquatic Talitroidea. **Canadian Journal of Zoology**, v.66, p. 2340-2359, 1988.

WINEMILLER, K. O.; TAPHORN, D. C. Evolución de estrategias de vida. **Biollania**, v. 6, p. 77-122, 1989.

XINQING, Z.; HUANG, L.; HUANG, B.; LIN, Y. Factors regulating population dynamics of the amphipod *Ampithoe valida* in a eutrophic subtropical coastal lagoon. **Acta Oceanologica Sinica**, v. 32, n. 6, p. 56-65, 2013.