

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MICHELI CRISTINA THOMAS

**DISPERSÃO E FLUXO GÊNICO DE METAPOPULAÇÕES DE NEMATOIDES
MARINHOS DE VIDA LIVRE**

**CURITIBA
2011**

MICHELI CRISTINA THOMAS

**DISPERSÃO E FLUXO GÊNICO DE METAPOPULAÇÕES DE NEMATOIDES
MARINHOS DE VIDA LIVRE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Zoologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração Zoologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana
Co-orientador: Prof. Walter A. Boeger PhD

**CURITIBA
2011**

Onde você vê um obstáculo,
alguém vê o término da viagem
e o outro vê uma chance de crescer.
Onde você vê um motivo pra se irritar,
Alguém vê a tragédia total
E o outro vê uma prova para sua paciência.
Onde você vê a morte,
Alguém vê o fim
E o outro vê o começo de uma nova etapa...
Onde você vê a fortuna,
Alguém vê a riqueza material
E o outro pode encontrar por trás de tudo, a dor e a miséria total.
Onde você vê a teimosia,
Alguém vê a ignorância,
Um outro compreende as limitações do companheiro,
percebendo que cada qual caminha em seu próprio passo.
E que é inútil querer apressar o passo do outro,
a não ser que ele deseje isso.
Cada qual vê o que quer, pode ou consegue enxergar.
"Porque eu sou do tamanho do que vejo.
E não do tamanho da minha altura."

Fernando Pessoa

FOLHA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós.
Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós”

Antoine de Saint-Exupéry

A jornada árdua de quatro anos foi cheia de desafios, construções de ideias e amadurecimento. Aprendi também que nenhum objetivo é realizado de forma fácil e sem esforço. Se não desisti perante as dificuldades, é porque ao meu lado estavam as pessoas que muito me encorajaram e me ajudaram a construir esse trabalho e, mais que isso, contribuíram para a minha vida. A essas pessoas agradeço sincera e profundamente pelo crédito e apoio incondicional.

Primeiramente, agradeço ao professor e amigo Paulo Lana pela orientação por mais de dez anos! Foi uma honra e orgulho tê-lo como orientador e jamais me esquecerei de seus ensinamentos e conselhos. Espero saber aproveitar tudo isso! Ao professor Walter Boeger, muito obrigada pela confiança e oportunidade de ingressar nas técnicas moleculares e pelo incentivo para sempre perseverar, quando os protocolos insistiam em não funcionar e quando achava que não iria conseguir.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Sérgio Netto, Dr. Gustavo Fonseca, Profa. Dra. Rosana Moreira da Rocha, Prof. Dr. Márcio Pie e Prof. Dr. José Francisco de Oliveira-Netto, agradeço as correções e sugestões para a tese.

Devo também minha gratidão aos amigos que sempre estiveram ao meu lado mesmo nos momentos em que necessitei estar ausente. Considerem-se TODOS abraçados: Lali, Ana, Carola, Sandra, Shanna, Cris, Lê e pequeno Nicolas, Flavia, Flavinha, Priscila, Mônica, Miodeli, Tuca, Renato, Felipe, Tiago, Marcelo, Fábio, Jú, Laura, Márcia, Luana, Tati, Gustavo, Fabi, Neivan, Betânia, Cinthia, Dr. Rosa, Sr. Maneco. Aos amigos e colegas de laboratório de Bentos e de Ecologia Molecular, que sempre atenciosa e prontamente me ajudaram em todas as fases do trabalho, contribuindo para muitas gargalhadas no laboratório (momentos deliciosos!!): Verônica, Marco, Maikon, Cinthya, Aline, Leo, Dani, Fabi, Carlos, Jú, Zé, Marlus, Sérgio, Lú, Sandra, Rodrigo, Rafa, Marcel, Karina, Ricardo, Baggio, Flávio, Raquel, Carol.

Agradeço também aos professores, funcionários e amigos do Centro de Estudos do Mar e Departamento de Zoologia-UFPR que tornaram possível a realização deste trabalho, direta ou indiretamente: Prof. Hedda, Prof. Henry, Prof. Maurício Camargo, Prof. Marcelo, Prof. Jean, Prof. Maurício, Sr. Antônio e Estér, Carol, Nara, Abrão, Josias, Moises, Ronei, Rutinha, Liciane, Mari, Fernando, Vera, Cida, Adriana...

Meu muito obrigado ao meu Flavinho, que me encoraja e me faz feliz e por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis (incluindo várias TPMs infernais!) sempre com sorriso, beijos e um abraço carinhoso.

Por fim, agradeço em especial aqueles que sempre me apoiaram incondicionalmente, que apostaram em mim mais do que ninguém, e que seguramente são os que mais compartilham da minha alegria: minha amada e querida família que tem como braço forte meu adorável pai e a memória das lindas lembranças da minha doce mãe.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Imagens dos vídeos com os modos de deslocamento de cada indivíduo observado, em agar salino 1 %, para categorização das estratégias de locomoção.....17
- Figura 2. Desenho esquemático dos modos de deslocamento observados na superfície do agar e registrados em vídeos. A flecha representa o nematoide e a direção do deslocamento. A linha pontilhada representa o caminho do movimento do nematoide.....18
- Figura 3. Diversidade de estruturas bucais em nematoides marinhos de vida livre, segundo a classificação de Wieser (1953). Figura modificada de Giere (2002).....20
- Figura 4. As espécies observadas foram categorizadas de acordo com as formas da cauda em 2- *clavada-cônica/cilíndrica*, 3- *cônica* e 4- *alongada/filiforme* (Figuras adaptadas de THISTLE *et al.*, 1995).....21
- Figura 5. Categorias de forma e tamanho do corpo das espécies observadas e classificadas em duas categorias de comprimento 1= < 2 mm e 2= > 2 mm e duas categorias de forma de corpo 1= robusto e 2 = esbelto. Figuras adaptadas de chaves de identificação de Platt e Warwick (1983, 1988).....22
- Figura 6. Tipos de cutícula A= *lisa*, B e C= *estriada* e D= *anulada/ornamentada*. Figuras adaptadas de chaves de identificação de Platt e Warwick (1983, 1988).....22
- Figura 7. Escalonamento multidimensional não-métrico (MDS) baseado em matrizes de similaridade de Bray-Curtis feitas a partir da presença e ausência dos modos de deslocamento nas estratégias de locomoção nos dias de observação (D1, D2 e D3).....27
- Figura 8. Análise de escalonamento multidimensional (MDS), gerada sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis tendo as estratégias de locomoção como fatores e os modos de deslocamento, características morfológicas e grupos tróficos de cada espécie como atributos.....35
- Figura 9: Complexo estuarino da Baía de Paranaguá, com destaque para o setor sub-estuarino da Cotinga e para o Baixio dos Papagaios, local do experimento. A reta em preto indica o transecto experimental.....55
- Figura 10. Diagrama do delineamento experimental e disposição esquemática do ponto corado e dos pontos onde foram posicionadas as redes na coluna d'água e retiradas as amostras de sedimento.58
- Figura 11. Análise de escalonamento multidimensional (MDS), gerada sobre a matriz de similaridade (Bray Curtis) da abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão na coluna d'água e no sedimento.....65
- Figura 12. Localização dos pontos de coleta nas Baías de Paranaguá e Guaratuba, localizadas no litoral do Estado do Paraná, Brasil.....79
- Figura 13. Rede da frequência haplotípica baseado na parcimônia das sequências do DNA mitocondrial, Citocromo oxidase I, da espécie *sedentária M. chandleri*, para todos os pontos amostrados. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência dos haplótipos.....87
- Figura 14. Rede da frequência haplotípica baseado na parcimônia das sequências do DNA mitocondrial, citocromo oxidase I, da espécie *vágil nadadora V. cobbi*, para todos os pontos amostrados. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência dos haplótipos.....87
- Figura 15. Distribuição das frequências do número de diferenças pareadas (distribuição *mismatch*) dos haplótipos das sequências de *M. chandleri* com as populações agrupadas e separadas. Os pontos representam os dados observados. Linha contínua - resultado esperado. Linha pontilhada – resultado observado.....89

Figura 16. Distribuição das frequências do número de diferenças pareadas (distribuição *mismatch*) dos haplótipos das sequências de *V. cobbii* com populações separadas e agrupadas. Os pontos representam os dados observados. Linha contínua - resultado esperado. Linha pontilhada – resultado observado.....89

Figura 17. Médias e intervalo de confiança (95 %) do tamanho efetivo das populações (Θ) da espécie *sedentária M. chandleri* calculadas no programa MIGRATE92

Figura 18. Média e intervalo de confiança (95 %) do tamanho efetivo das populações (Θ) da espécie *vágil nadadora V. cobbii* calculadas no programa MIGRATE-n93

Figura 19. Intervalo de confiança (95 %) da taxa de migração por geração (M) entre as populações de *M. chandleri* calculada no programa migrate-n94

Figura 20. Intervalo de confiança (95 %) da taxa de migração por geração (M) entre as populações de *V. cobbii* calculada no programa migrate-n94

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Modelo experimental para análise das estratégias de locomoção e modos de deslocamento. os pontos 1, 2 e 3 distam 50 metros um do outro no baixio dos papagaios.....16
- Tabela 2. Características e categorias comportamentais, morfológicas e grupos tróficos utilizados para definir os grupos funcionais de dispersão.....19
- Tabela 3. Comparação dos modos de deslocamento entre as estratégias de locomoção nos três dias de observação (Dia 1, 2 e 3). *N: nadador, R:rastejador e L: letárgico* Termos significativos de interesse ($\alpha = 0,05$) estão destacados em negrito. Legenda da tabela: gl= grau de liberdade; QM= média dos quadrados; F= f valor e p= p valor.....26
- Tabela 4. Análise de similaridade (SIMPER) aplicada para a matriz de presença e ausências de modos de deslocamento que mais contribuíram para a similaridade entre as estratégias de locomoção nos três dias de observação.....26
- Tabela 5. Lista das categorias de comportamento, morfológicas e grupos tróficos dos morfotipos, e respectivas espécies, observados em cada dia de observação no experimento em laboratório.....29
- Tabela 6. Comparação das características comportamentais, morfológicas e história de vida entre as estratégias de locomoção; *N: nadador, R:rastejador e L: letárgico*. Termos significativos de interesse ($\alpha = 0,05$) estão destacados em negrito. Legenda da tabela: gl= grau de liberdade; QM= média dos quadrados; F= f valor e p= p valor34
- Tabela 7. Análise de similaridade (SIMPER) aplicada para matriz de presença e ausências de modos de deslocamento, morfologia e história de vida para determinação das características que mais contribuíram para a similaridade das estratégias de locomoção *nadador, rastejador e letárgico*.....37
- Tabela 8. Grupos funcionais de dispersão *vágil nadador, vágil rastejador e sedentário* definidos a partir da integração dos comportamentos, associados com a morfologia do corpo e ao comportamento trófico de diferentes espécies de nematoides marinhos (Capítulo I desta tese).....53
- Tabela 9. Densidade média (10 cm^2), desvio padrão e grupos funcionais de dispersão das espécies encontradas nas amostras do sedimento nos pontos P1 a P7 dos experimentos I e II, *GD* (grupos funcionais de dispersão): VN=*vágil nadador*, VR= *vágil rastejador* e S= *sedentário* (Dp= desvio padrão).....62
- Tabela 10. Densidade média (23 m^2), desvio padrão e grupos funcionais de dispersão das espécies encontradas nas redes P1 a P7 dispostas na coluna d'água nos experimentos I e II, *GD* (grupos funcionais de dispersão): VN=*vágil nadador*, VR= *vágil rastejador* e S= *sedentário* (Dp= desvio padrão).....63
- Tabela 11. Comparação da abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão nos compartimentos *coluna d'água* e *sedimento* e nos pontos P1 a P7 (P1 a 3 m, P2 a 6 m, P3 a 12 m, P4 a 24 m, P5, 48 m, P6 a 96 m e P7 a 192 m de P0). Termos significativos de interesse ($\alpha = 0,05$) estão destacados em negrito. Legenda da tabela: gl= grau de liberdade; QM= média dos quadrados; F= f valor; p= p valor; n= número de amostras.....64
- Tabela 12. Dissimilaridades médias de Bray-Curtis e comparações pareadas *a posteriori*. Diagonais contêm estimativas dentro dos pontos.*p < 0,05; ns: p > 0,05.....64
- Tabela 13. Resultados da análise de similaridade (SIMPER) para determinação dos grupos funcionais de dispersão que mais contribuíram para a similaridade na coluna d'água e no sedimento (similaridade de Bray-Curtis).....66

Tabela 14. Lista das espécies e seus respectivos grupos funcionais de dispersão, capturadas coradas, com o corante vital Vermelho neutro, na coluna d'água durante os experimentos I e II. As distâncias são relativas ao ponto corado. VN= <i>vágil nadador</i> , VR= <i>vágil rastejador</i> , S= sedentário....	66
Tabela 15. Localidades de coleta, período e espécies coletadas.....	80
Tabela 16. Valores de diversidade haplotípica e nucleotídicas encontrados para cada espécie em cada ponto amostral.....	85
Tabela 17. Sítios polimórficos dos haplótipos de <i>M. chandleri</i> da Baía de Paranaguá e Guaratuba...	86
Tabela 18. Sítios polimórficos dos haplótipos de <i>V. cobbi</i> da Baía de Paranaguá e Laranjeiras.....	86
Tabela 19. Valores obtidos através dos testes de neutralidade seletiva de D' de Tajima (D e p-valor) e Fs de Fu, (Fs e p-valor) para as sequências de DNA mitocondrial (COI) de <i>M. chandleri</i> e <i>V. cobbi</i> , examinadas juntas e separadamente para cada ponto.....	88
Tabela 20. Valores (+- desvio padrão) dos índices de fixação genética (Fst) para as populações de <i>Metachromadora chandleri</i>	90
Tabela 21. Valores de p-valor (+- desvio padrão) dos índices de fixação genética (Fst) das populações de <i>V. cobbi</i> , sendo * para valores significativos.....	91

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 A VAGILIDADE E O SEDENTARISMO DE NEMATOIDES MARINHOS DEFINEM GRUPOS FUNCIONAIS DE DISPERSÃO?.....	9
2.1 INTRODUÇÃO	9
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
2.3 RESULTADOS	25
2.4 DISCUSSÃO	38
3 GRUPOS FUNCIONAIS DE DISPERSÃO DE NEMATOIDES MARINHOS: RESPOSTAS PARA A PRESENÇA DE ESPÉCIES NA COLUNA D'ÁGUA?.....	49
3.1 INTRODUÇÃO	49
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	54
3.3 RESULTADOS	61
3.4 DISCUSSÃO	67
4 GRUPOS FUNCIONAIS DE DISPERSÃO DE DISPERSÃO “VÁGIL NADADOR” VERSUS “SEDENTÁRIO”: TESTANDO HIPÓTESES SOBRE A PREVISIBILIDADE DE METAPOPULAÇÕES DE NEMATOIDES MARINHOS	74
4.1 INTRODUÇÃO	74
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	78
4.3 ANÁLISES MOLECULARES	81
4.4 RESULTADOS	84
4.5 DISCUSSÃO	95
5 DISCUSSÃO GERAL	102
REFERÊNCIAS	105

RESUMO

Este trabalho teve como primeiro objetivo categorizar grupos funcionais de dispersão de nematoides marinhos de vida livre, com base na combinação das suas estratégias de locomoção e modos de deslocamentos e de suas características morfológicas e estratégias de vida. Em uma primeira etapa, as estratégias de locomoção e os modos de deslocamentos de nematoides marinhos foram categorizados experimentalmente em laboratório, usando como modelos espécies de uma planície entremarés não vegetada na Baía de Paranaguá, um grande sistema estuarino na costa sul do Brasil. Em uma segunda etapa, para a definição formal dos grupos funcionais de dispersão, estas categorias foram combinadas com as características morfológicas e estratégias de vida, a partir de dados secundários obtidos da literatura específica. Como segundo objetivo do trabalho, foi avaliada a presença de nematoides marinhos na da coluna d'água relacionada com o potencial de dispersão por meio de um experimento de campo em um baixo subtropical não vegetado, também na Baía de Paranaguá. O experimento foi replicado durante eventos únicos de maré enchente em julho de 2008 e janeiro de 2009. De modo geral o grupo funcional de dispersão *vágil nadador* apresentou comportamento ativo, com capacidade de natação por deslocamentos *senoidal mola* e *senoidal ômega*, possibilitados pelo corpo *esbelto e cauda cônica/cilíndrica*. Ao considerar as espécies de nematoides marinhos associadas à macroalgas, espécies *vágeis nadadoras* foram relacionadas, principalmente, aos processos de dispersão por "rafting". Espécies desse grupo funcional de dispersão mostram uma grande agilidade para se locomoverem tanto no sedimento quanto nadar na coluna d'água. Ao contrário das espécies *vágeis nadadoras*, as espécies *vágeis rastejadoras* apresentam modo de deslocamento *senoidal circular* e pertencem ao grupo trófico *comedor de depósito seletivo* e apresentaram a estratégia de evitar a suspensão, através da locomoção ativa no ambiente intersticial, migrando para as camadas mais profundas do sedimento. Eventualmente espécies *vágeis rastejadoras* podem ser encontradas na coluna d'água decorrente dos processos de erosão e transporte passivo. Por fim, o grupo funcional de dispersão *sedentário* é formado por espécies com corpo relativamente *pequeno e robusto*, o que restringe o deslocamento a movimentos *senoidais* ou similares, mostrando-se completamente *estáticos* ou parados. A presença das espécies *sedentárias* na coluna d'água é uma função dos processos de erosão dos fundos por correntes e subsequente transporte passivo, facilitado pelo seu hábito de vida restrito às camadas superficiais do sedimento e por seu comportamento letárgico. As populações da espécie sedentária *Metachromadora chandleri*, apresentaram amplo fluxo gênico, não sendo possível reconhecer populações locais e regionais geneticamente estruturadas. A distribuição dessa espécie não representa uma metapopulação *clássica*, mas pode ser considerada uma metapopulação *Fonte-dreno*. Por outro lado, *Viscosia cobbi* por ser uma espécie *vágil nadadora* é capaz de resistir ao carreamento após suspensão, através do comportamento ativo de natação. Espécies *vágeis nadadoras* se ajustam assim ao conceito clássico de metapopulações, com populações regionais apresentando fluxo gênico restrito. Em última análise, para determinar a importância dos grupos funcionais de dispersão na estrutura genética das populações e aplicação do conceito de metapopulações para nematoides marinhos, a comparação com espécies *vágeis rastejadoras*, assim como para outras espécies *sedentárias* e *vágeis nadadoras*, é extremamente relevante e necessária.

Palavras chave: nematoides, dispersão, *Metachromadora*, genética de população, comportamento de locomoção, *Viscosia*.

ABSTRACT

The first objective was to categorize free-living marine nematodes into the functional dispersal groups by using a set of biological data (mobility strategies, locomotion patterns, morphology and life strategies). In the laboratory, we categorized experimentally mobility strategies and locomotion patterns of the nematodes. Nematodes species from the intertidal flat of Paranaguá Bay, a large estuarine system in southern coast of Brazil, were used in this experiment as a model. Thereafter, these categories were combined with morphological and life strategies data from literature to obtain the formal definition of functional dispersal groups of nematodes. Our second objective was to evaluate the presence of marine nematodes in the water column associated with their dispersal capacity based on a field experiment. This experiment was performed during a single tidal event in a non-vegetation intertidal flat of Paranaguá Bay and replicated in July 2008 and January 2009. Generally, the *vagile swimmer* functional dispersal group showed active behavior, swimming capacity and senoidal omega locomotion patterns, facilitated by a slender body and conical/cylindrical tail. When considering the nematodes species associated with marine macroalgae, *vagile swimmer* species were mainly related to the rafting events, which suggest that algal rafting is an important mean of transport. Species of this functional group showed a high dispersal agility to move in the sediment and swim in the water column. These species were able to avoid getting suspended in the water column. Unlike *vagile swimmer* species, *vagile crawlers* showed circular senoidal locomotion pattern and could be grouped into the selective deposit feeding trophic group. The species classified as *vagile crawlers* revealed the strategy to avoid the suspension by active movement of the interstitial environment, moving to the deeper layers. Eventually, *vagile crawlers* species can be found in the water column due to the erosion processes and passive transport. Finally, the *sedentary* functional group of dispersion consists of specimens with relatively small and robust body, which restricts the offset senoidal or similar movements, being static or completely stationary. The presence of sedentary species in the water column is a function of the erosion process of bottom substrate by the currents and subsequent passive transport, which it could be facilitated by their life strategy restricted to the superficial layers of the sediment and lethargic behavior. Populations of *Metachromadora chandleri* showed high gene flow, thus it was not possible to recognize local and regional populations genetically structured. The distribution of this species is not like expected for a metapopulation classic, but it may be presented a source-sink metapopulation. On the other hand, the *vagile swimmer* *Viscosia cobbi* was able to avoid the carrying in the water column after suspension and it could be adapted to the classical metapopulation concept, with regional populations with restricted gene flow. At last, to determine the importance of functional groups dispersal in the genetic populations structure and application of metapopulation concept to marine nematodes, comparative estimates with *vagile crawlers* species as well as other *vagile swimmer* and *sedentary* species is extremely relevant and necessary.

Keywords: nematodes, dispersal, *Metachromadora*, genetic population, locomotion behavior, *Viscosia*.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O termo meiofauna (do grego, “*meion*” – menor) é aplicado aos metazoários bentônicos que ficam retidos numa malha de 63 μ ou 43 μ (THIEL, 1983). As espécies da meiofauna permanente, incluindo a maioria dos nematoides e muitas espécies de copépodos, permanecem durante toda a vida nos interstícios do sedimento. Enquanto as espécies da meiofauna temporária, como alguns poliquetas e crustáceos, permanecem no ambiente intersticial apenas nos estágios iniciais do ciclo de vida (GIERE, 2002), no substrato, por meio de suas atividades de alimentação, excreção e locomoção, esses organismos atuam em processos como bioturbação, mineralização e estímulo ao crescimento bacteriano, participando ativamente na moderação do fluxo de energia, em distintas cadeias tróficas (GIERE, 2002).

Os nematoides são os principais componentes da meiofauna, devido à sua abundância e diversidade nos sedimentos marinhos. Possuem alta variabilidade no tempo e no espaço resultante da interação de fatores bióticos e abióticos que afetam os *habitats*, em distintas escalas locais, determinando os padrões de distribuição das populações de nematoides (CHAPMAN *et al.*, 2010).

Para as espécies da meiofauna, destacando os nematoides, reconhece-se que a distribuição espacial da população é do tipo agregada (OZORIO *et al.*, 1999; GINGOLD *et al.*, 2011). Constata-se que diversos fatores determinam esse padrão, dependendo da escala aplicada. Em microescala (centímetros a metros), tais agregações são determinadas e estruturadas por fatores biológicos, relações intra e interespecíficas, pela presença de estruturas biogênicas e disponibilidade de alimento (SANTOS *et al.*, 1996; MOENS *et al.*, 1999). Enquanto em mesoescala (metros a dezenas de metros), os fatores abióticos como granulometria do sedimento, salinidade e hidrodinâmica, geralmente são considerados como os mais importantes na estruturação das comunidades (SOETAERT *et al.*, 1994; SMOL *et al.*, 1994; GALLUCCI e NETTO, 2004, GALLUCCI *et al.*, 2005). Em larga escala espacial (centenas de metros), a dispersão dos organismos através da coluna d'água que pode até transpor oceanos é considerada a explicação mais plausível para a distribuição das espécies. A distribuição de *Metasphaerolaimus hamatus*, *Metasphaerolaimus crassicayda*, *Syringolaimus renaudae* e *Halichoalaimus minor*,

por exemplo, atravessa uma grande porção latitudinal do Oceano Atlântico Oriental (20°S a 70°N), aproximadamente 10.000 km de distância (JENSEN, 1992). Esse padrão demonstra que existe um mecanismo de dispersão efetivo, quando uma causa histórica, como a tectônica de placas, não pode ser aplicada como agente causador desta distribuição (ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003).

É fundamental compreender que o termo dispersão é comumente aplicado para o movimento de indivíduos de uma espécie para um local diferente daquele de seus progenitores. Convém clarificar o termo, ou seja, um organismo pode mover-se para outro local em busca de alimento. Se o organismo não encontra um local com disponibilidade de alimento, esse movimento pode ser definido como dispersão. Por outro lado, se o organismo encontrar um local, relativamente próximo do ponto de origem, esse movimento pode ser caracterizado como a atividade de forragear. Tanto no movimento de dispersão, quanto no movimento de forragear os modos e mecanismos de locomoção são similares (NATHAN *et al.*, 2008; GIBBS *et al.*, 2010). Por suas similitudes, adotou-se uma definição mais ampla de dispersão, qual seja: qualquer movimento entre locais distantes em distintas escalas espaciais.

A dispersão é uma característica intrínseca dos organismos e está diretamente envolvida na estrutura e na organização espacial das populações. Para elucidar os processos de dispersão, tanto quanto suas consequências na distribuição espacial das populações, sendo necessário o conhecimento das estratégias de locomoção das espécies, assim como os mecanismos de dispersão envolvidos. De modo geral, os processos naturais de dispersão ocorrem por meio ativos ou passivos, quer seja pelo vento, água ou ação de outros organismos.

É reconhecido que os processos de dispersão ativos e/ou passivos influenciam a dinâmica e a persistência das populações. No que se refere aos nematoides, é relevante ressaltar que a capacidade de dispersão dessas espécies - essencial para compreensão dos padrões de distribuição em distintas escalas espaciais - permanece pouco conhecida. Por meio de abordagem ecológica descritiva e experimental e de técnicas moleculares, o objetivo geral desta tese é investigar como a combinação das características comportamentais, morfológicas e grupos tróficos determina distintas capacidades de dispersão e afeta a estrutura das populações de diferentes espécies de nematoides marinhos.

Adaptações para a vida no interstício, como pequeno tamanho e presença de estruturas para fixação aos grãos de sedimento, além da ausência da fase larval, tornam os organismos da meiofauna reconhecidos pela restrita capacidade de dispersão (GIERE, 2002). A presença ou a ausência de estágios larvais é essencial para avaliar a capacidade de dispersão dos organismos, através da coluna d'água e suas formas de dispersão prevalentes. Além de serem reconhecidamente maus nadadores, os nematoides marinhos não apresentam estágio pelágico larval como meio de dispersão, observado na maioria das espécies de invertebrados macrobênticos. Contudo, a presença da fase larval para muitas espécies não está diretamente associada aos processos de dispersão por longas distâncias, não induzindo ou acarretando distribuições homogêneas dessas espécies (YOUNG, 1995).

A princípio, a capacidade de dispersão dos nematoides foi definida a partir de observações e constatações resultantes de pesquisas sobre os processos evolutivos das espécies, estratégias de vida e os *habitats* que ocupam (BOADEN, 1989). Os *habitats* bênticos foram tomados como locais de origem dos grupos meiofaunais, que vivem, em sua maioria, diretamente associados aos fundos marinhos (WRAY, 1995). No entanto, suas atuais estratégias de vida sugerem que tenham passado pelo *habitat* pelágico em algum momento da sua trajetória evolutiva.

Segundo Westheide (1987), os representantes intersticiais dos Annelida e Crustacea teriam tido origem a partir da progênese de organismos epibênticos da macrofauna, que apresentavam desenvolvimento indireto, com uma fase larval planctônica. Nematoides marinhos de vida livre também tiveram sua origem em *habitats* bênticos, mas sua história de vida não contemplou o aparecimento de larvas planctônicas. Os últimos ancestrais comuns dos protostômios/deuterostômios e Ecdysozoa/Lophotrocozoa podem ter tido desenvolvimento direto, como postulado por muitos autores (SALVINI-PLAWEN, 1978; BARNES, 1980; AX, 1987) e evidenciado pela presença de embriões fósseis do Neoproterozóico com tamanho muito reduzido, o que sugere desenvolvimento direto (XIAO *et al.*, 1998).

Visto que a fecundidade é necessariamente baixa em metazoários pequenos, a planctotrofia torna-se uma alternativa adaptativa de desenvolvimento, desvantajosa para muitas espécies devido ao estresse, durante a dispersão, que

pode diminuir as chances de assentamento (PECHENIK, 1999). Desvantagens, tais como a dispersão por longas trajetórias diminuindo o tempo para adaptação local, também devem ser consideradas (PECHENIK, 1999).

Em nematoides, modos não-planctotróficos, especialmente o desenvolvimento direto, são favorecidos assim como para outros táxons marinhos, nos quais a dispersão se dá basicamente por meio de adultos ou juvenis. Por serem pequenos e reconhecidamente maus nadadores, sua capacidade de dispersão é considerada limitada (FLEEGER *et al.*, 1984; FEGLEY, 1985).

No entanto, trabalhos mais recentes mostraram que esses organismos podem ser ressuspensos e dispersos na coluna d'água (PALMER, 1988; ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003; FONSECA-GENEVOIS *et al.*, 2006, THOMAS e LANA, 2011; BOECKNER *et al.*, 2009), onde sua presença e abundância são influenciadas por sua morfologia e comportamento. Nesse sentido, foi justamente o desenvolvimento de estratégias adaptativas, morfológicas, fisiológicas e comportamentais, que permitiu aos adultos utilizar a coluna d'água como possível meio de dispersão, possibilitando a colonização de novas áreas.

A reconhecida baixa capacidade de dispersão dos nematoides foi avaliada em pesquisas que utilizaram diferentes escalas espaciais (PALMER, 1988; ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003; FONSECA-GENEVOIS *et al.*, 2006; THOMAS e LANA, 2011; BOECKNER *et al.*, 2009), tornando a busca por generalizações, a respeito dos efeitos da dispersão e os comportamentos intrínsecos a esse processo, ainda mais complexos.

A dispersão de nematoides marinhos, avaliada em distintas escalas espaciais, pode ocorrer passivamente - após ressuspensão do sedimento - por emergência ativa do sedimento para a coluna d'água - menos difundida para a maioria das espécies de nematoides marinhos e "rafting", o transporte associado a materiais flutuantes. A ocorrência de nematoides em amostras de zooplâncton, mesmo que em baixa densidade, é geralmente associada à suspensão do sedimento para a coluna d'água e conseqüente carreamento.

Por outro lado, muitas vezes os nematoides são encontrados na coluna d'água sem qualquer indicação prévia de ressuspensão do sedimento, indicando a ocorrência de um componente ativo nos processos de dispersão desses

organismos, e que os processos de dispersão predominantes para os nematoides parecem depender da hidrodinâmica prevalente.

Os processos de dispersão de nematoides também suscitaram estudos que os avaliaram indiretamente, por meio de análises da estrutura genética das populações (DERYCKE *et al.*, 2005; DERYCKE *et al.*, 2007 a,b; DERYCKE *et al.*, 2008; DERYCKE *et al.*, 2010). Para a genética de populações, a dispersão pode ser compreendida, no contexto ecológico, como o conjunto de estratégias e traços de vida condicionadores da migração, sendo esse um vetor de transferência de material genético de uma população para outra, o que acarreta mudanças nas frequências alélicas.

Os estudos que analisaram a estrutura genética das populações indicaram que muitas espécies - tidas com uma distribuição cosmopolita - evidenciaram um complexo de espécies morfológicamente idênticas, mas geneticamente diferentes, sendo a capacidade de dispersão restrita à escala de centenas de quilômetros. Dentre esses estudos, destacam-se Derycke *et al.* (2005) por demonstrar que as abundâncias dos morfotipos de *Pellioditis marina*, que vivem associados às macroalgas, variam consideravelmente ao longo do espaço e do tempo, refletindo em diferentes preferências abióticas.

Os resultados também sugeriram que a dispersão de nematoides por “rafting” em macroalgas é relativamente baixa e que uma verdadeira distribuição cosmopolita é provavelmente resultado de uma dispersão ocasional por longas distâncias (DERYCKE *et al.*, 2005). Nesse caso, a estrutura genética das populações de nematoides associados à macroalga, caracterizada pelo processo de dispersão por “rafting”, foi melhor explicada pela dinâmica de metapopulações do que por eventos do passado demográfico.

Dentro de uma estrutura populacional, é possível caracterizar a distribuição de uma metapopulação. Em ecossistemas marinhos, uma metapopulação é definida como descrita no modelo clássico de Levins (1942), que considera populações locais com tamanho efetivo da população semelhantes, tendo como característica principal o risco de extinção de uma população local.

Atualmente, uma nova perspectiva a respeito da definição do conceito de metapopulação de organismos marinhos está sendo amplamente debatida. Para definir uma distribuição em metapopulação, devem ser consideradas abundância,

idade, tamanho e estrutura genética das populações locais, assim como o fluxo gênico entre as populações, independentemente de risco de extinção local (KRITZER e SALE, 2006).

Além disso, para a compreensão da estrutura genética das populações, as informações comportamentais, ecológicas e biogeográficas são tão relevantes quanto o fluxo gênico. Convém ponderar, no entanto, que esses conhecimentos são ainda compostos por lacunas e hipóteses para a maioria das espécies de nematoides marinhos (KRITZER e SALE 2006).

De uma forma geral, os trabalhos a respeito da dispersão de nematoides marinhos indicaram que as espécies possuem diferentes mecanismos de dispersão, acarretando em distintos padrões de distribuição, pelo menos em curta escala temporal e espacial (JENSEN, 1981; ESKIN e PALMER, 1985; COMMITO e TITA, 2002; ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003; FONSECA-GENEVOIS *et al.*, 2006; THOMAS e LANA, 2011; DERYCKE *et al.*, 2008; BOECKNER *et al.*, 2009). Por sua vez, a capacidade de dispersão de nematoides marinhos, condicionada pelas estratégias de locomoção, é um fator importante que deve ser considerado na distribuição das espécies em distintas escalas espaciais.

Em se tratando de dispersão, é vital ressaltar que se por um lado os processos de dispersão são condicionados por pelos fatores ecológicos, como bioturbação, presença de estruturas vegetais e hidrodinâmica local, por outro lado, a capacidade de dispersão das espécies nematoides marinhos é condicionada às estratégias de locomoção por rastejamento entre os grãos de sedimento, carreamento ou por natação na coluna d'água. É importante ressaltar que a natação de nematoides marinhos deve ser interpretada como a interação entre o deslocamento senoidal e a dinâmica do fluido no qual o organismo está imerso.

A combinação desses fatores determina a propulsão do organismo. O deslocamento senoidal resulta da ação de ondas por contrações sucessivas e o relaxamento dos músculos longitudinais ao longo do corpo. As ondas passam ao longo do corpo em uma direção oposta à qual o nematoide está se movendo (WALLACE, 1968). Gray e Lissmann (1964) demonstraram que tanto espécies de nematoides de vida livre como parasitas de vertebrados, com morfologia do corpo similar, apresentam movimentos senoidais tanto para nadar quanto para rastejar.

A principal diferença no deslocamento entre espécies de vida livre e parasitas estaria na razão entre a amplitude e o comprimento de onda do movimento senoidal (GRAY e LISSMANN, 1964). No entanto, esse modo de deslocamento foi observado apenas em espécies de corpo longo e retilíneo, que não representam a diversidade morfológica efetivamente encontrada nas espécies marinhas de vida livre.

Mesmo na ausência de modelos teóricos, ou de testes experimentais robustos, as características morfológicas, fisiológicas e comportamentais dos nematoides marinhos, como a vagilidade e o sedentarismo, podem determinar sua presença e abundância na coluna d'água, aumentando ou reduzindo suas chances de dispersão e consequente capacidade de dispersão. Posto que nematoides vágéis são todos aqueles que conseguem se locomover ativamente, seja através da natação ou do rastejamento e sedentários, são caracterizados por movimentos limitados no tempo e no espaço. Utilizou-se do conceito de grupos funcionais relativos aos padrões morfológicos e comportamentais compartilhados por espécies distintas, mas que atuam de forma similar nas espécies mais suscetíveis à dispersão e naquelas que tendem a permanecer no substrato. Por exemplo, as combinações de diferentes comportamentos, como vagilidade e sedentarismo e morfologia do corpo como forma do corpo e da cauda, afetam e/ou condicionam a capacidade de dispersão de espécies de nematoides marinhos? Tais combinações podem ser formalmente categorizadas como grupos funcionais de dispersão pela maior vagilidade ou sedentarismos, determinando a presença de nematoides na coluna d'água? Os grupos funcionais de dispersão podem explicar os distintos padrões de distribuição, permitindo o reconhecimento de metapopulações reconhecíveis por sua maior ou menor estruturação genética?

Cabe esclarecer a estrutura e ordenação da pesquisa, por meio dos objetivos específicos ressaltados nos temas abordados em cada capítulo. O objetivo específico do Capítulo I consistiu em categorizar grupos funcionais de dispersão de nematoides marinhos de vida livre, com base na combinação das suas estratégias de locomoção, modos de deslocamento e de suas características morfológicas e grupos tróficos.

No Capítulo II, a dispersão foi avaliada por meio de um experimento de campo, testando-se a hipótese de que a dispersão de nematoides marinhos é uma

função da capacidade de locomoção definida pelos grupos funcionais *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário*. Finalmente, no Capítulo III, o fluxo gênico e a estruturação genética de populações de nematoides pertencentes aos grupos funcionais *vágil nadador* e *sedentário* foram avaliadas na escala de metros a dezenas de quilômetros, pela análise da frequência de haplótipos em sequências de citocromo oxidase I (COI) do DNA mitocondrial.

Em suma, através dos modelos teóricos, testes experimentais e análise das frequências dos haplótipos de um fragmento do DNA mitocondrial (COI), foram propostos os grupos funcionais de dispersão *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário*. As predições a respeito dos padrões encontrados estão sujeitas a rejeições. Cabe ressaltar que, por meio de uma abordagem matemática, um número maior de espécies e de distintos ambientes marinhos deve ser avaliado para que os grupos funcionais possam ser formalizados. Por enquanto, as interpretações a partir das estratégias de vida subjacente das espécies agrupadas foram consideradas e indicaram que os grupos funcionais de dispersão podem ser uma importante classificação ecológica, que ainda não havia sido incorporada nos grupos funcionais de alimentação (WIESER, 1953) e reprodução/locomoção, bem como nas análises de estrutura genética das populações.

2 A VAGILIDADE E O SEDENTARISMO DE NEMATOIDES MARINHOS DEFINEM GRUPOS FUNCIONAIS DE DISPERSÃO?

2.1 INTRODUÇÃO

Nematoides marinhos são os metazoários mais representativos, em termos numéricos, nos sedimentos marinhos e estuarinos (WARWICK e PRICE, 1979). A alta densidade desses organismos pode ser explicada pela capacidade de ocupar os espaços intersticiais, devido, principalmente, ao seu tamanho reduzido, tolerância a vários tipos de estresse ambientais e a diversidade da estrutura bucal, que permitem explorar uma ampla faixa de itens alimentares (BOUWMAN, 1983). Esses fatores também contribuem para a ampla distribuição geográfica dos nematoides, que estão distribuídos em todas as latitudes, desde a zona litorânea até grandes profundidades oceânicas, habitando todos os tipos de sedimentos (HEIP *et al.*, 1985).

Durante muito tempo acreditou-se que a distribuição em larga escala das espécies da meiofauna marinha - incluindo nematoides - era cosmopolita, originada pelos movimentos das placas tectônicas. Contudo, evidências de uma colonização eficiente de diversos táxons, que incluem nematoides marinhos em praias “virgens” no Arquipélago de Galápagos, mostraram que outros fatores devem ser considerados na distribuição atual das espécies (WESTHEIDE, 1991). Portanto, se a teoria das placas tectônicas é questionável, quais fatores explicariam os padrões atuais de distribuição das espécies de nematoides marinhos em curtas e largas escalas espaciais?

Inúmeros fatores bióticos e abióticos afetam os *habitats* em distintas escalas espaciais, determinando os padrões de distribuição das populações de nematoides (CHAPMAN *et al.*, 2010). Em curta escala espacial, fatores biológicos como relações intra e interespecíficas, presença de estruturas biogênicas e disponibilidade de alimento, e os fatores abióticos, como granulometria do sedimento, salinidade e hidrodinâmica são geralmente considerados importantes na estruturação e distribuição espacial da população do tipo agregada (SOETAERT *et al.*, 1994; SMOL *et al.*, 1994; GALLUCCI e NETTO, 2004; OZORIO *et al.*, 1999; GALLUCCI *et al.*, 2005; GINGOLD *et al.*, 2011). Entretanto, a dispersão e colonização mediadas por processos na coluna d'água também devem ser consideradas uma importante

explicação para a distribuição espacial da meiofauna, tanto em curta como larga escala espacial (PALMER, 1988; ARMONIES, 1988; COMMITO e TITA, 2002). Apesar da dispersão de nematoides marinhos pela coluna d'água ser ainda pouco estudada, existem estudos recentes que utilizaram armadilhas dispostas na coluna d'água, reforçando o conhecimento a respeito da ocorrência de nematoides na coluna d'água e os processos de dispersão envolvidos (COMMITO e TITA, 2002; FONSECA-GENEVOIS *et al.*, 2006; THOMAS e LANA, 2011; BOECKNER *et al.*, 2009).

Experimentos realizados em planícies de maré não vegetadas mostraram que os gêneros mais abundantes nas populações locais foram ressuspensos. Foram encontrados nematoides em até 2 metros do ponto de origem, em um único evento de maré enchente (COMMITO e TITA, 2002; THOMAS e LANA, 2011). Fonseca-Genevois *et al.* (2006) associaram a colonização de substratos suspensos a dezenas de metros do fundo oceânico por espécies dos gêneros *Chromadorinae* *Viscosia* a processos de erosão do sedimento e comportamento de natação na coluna d'água. Ullberg e Ólafsson (2003) mostraram que *Trichoeristus sp.* é capaz de permanecer nadando na coluna d'água após suspensão, não mostrando preferência por nenhum local de assentamento. *Oncholaimidae* mostraram grande capacidade para colonizar novos *habitats* (RIEMANN, 1986; LORENZEN *et al.*, 1987; PREIN, 1988, FONSECA-GENEVOIS *et al.*, 2006), de forma que somente a dispersão passiva e a reconhecida limitada capacidade de dispersão não foram suficientes para explicar a rápida recolonização. Esses resultados sugerem, para determinadas espécies de nematoides marinhos, um componente ativo associado aos processos de dispersão passiva, após ressuspensão para coluna d'água.

Ao contrário, a ausência de determinadas espécies de nematoides na coluna d'água pode estar relacionada com o deslocamento vertical no sedimento, através do rastejamento, como uma forma direta ou indireta de evitar a ressuspensão. Experimentos de curto prazo que utilizaram armadilhas no sedimento mostraram que espécies de nematoides de distribuição mais superficial podem ser mais facilmente ressuspensos, após um ciclo de maré, do que as espécies que podem migrar para as camadas mais profundas do sedimento (PALMER e MOLLOY, 1986; FEGLEY, 1985; COMMITO e TITA, 2002). *Sabatieria punctata* pode se locomover ativamente para as camadas mais profundas em sedimentos reduzidos ou oxidados. Portanto, a

distribuição vertical desta espécie depende mais da disponibilidade de alimento do que das concentrações de oxigênio (STEYART *et al.* 1999), mas depende também da estratégia de locomoção de rastejamento entre os grãos de sedimento. Nesse caso, a dispersão dos nematoides é restrita a poucos milímetros ou centímetros, por causa do pequeno tamanho do corpo e consequente baixo deslocamento no ambiente intersticial (SCHRATZBERGER *et al.*, 2000).

Se por um lado a capacidade de natação e rastejamento, que caracteriza o comportamento vágil dos organismos, foi reconhecida para várias espécies de nematoides marinhos, o comportamento sedentário também foi descrito para outras espécies. Comportamento sedentário é caracterizado como a ausência de comportamento ativo, ou seja, organismos naturalmente letárgicos, ou quando o organismo pode fixar-se ao substrato por estruturas adesivas. Espécies de *Metachromadora* apresentaram a mais alta abundância na coluna d'água, distante a 0,5 km do ponto de origem, aproximadamente, sendo capazes de recolonizar uma área defaunada em apenas um ciclo de maré (BELL e SHERMAN, 1980). Organismos do gênero *Metachromadora* foram ressuspensos por ocuparem a camada superficial do sedimento e carregados pela corrente durante a maré enchente, sem movimentos de natação na coluna d'água (THOMAS e LANA, 2011). Esse resultado corrobora outros trabalhos que sugerem que a distribuição superficial ou subsuperficial do gênero *Metachromadora*, a morfologia do corpo robusto e seu comportamento sedentário aumentam a probabilidade de ressuspensão (BELL e SHERMAN, 1980; ESKIN e PALMER, 1985).

Assim como a posição de nematoides no sedimento pode aumentar ou diminuir a probabilidade de ressuspensão e dispersão passiva (COMMITO e TITA, 2002) características morfológicas e comportamentais também foram associadas à diferente capacidade de dispersão passiva entre as espécies de nematoides (ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003). Os gêneros que apresentaram as maiores taxas de dispersão possuíam adaptações morfológicas tanto para a locomoção quanto para se fixarem aos grãos de sedimento. A presença de glândulas caudais permitiu aos organismos fixarem-se aos grãos de sedimento e impedir a ressuspensão para a coluna d'água em ambientes de baixa energia; enquanto em ambientes de alta energia, com ondas e correntes de marés, a presença das glândulas caudais permitiu que essas espécies fossem carregadas por distâncias menores após a

ressuspensão, em relação aos nematoides que não são fixos aos grãos (GINGOLD *et al.*, 2011). Todavia, as estratégias de locomoção e a capacidade de dispersão permanecem pouco conhecidas para a maioria das espécies de nematoides marinhos.

De forma geral, os trabalhos a respeito da dispersão de nematoides marinhos indicaram que as espécies possuem diferentes mecanismos de dispersão, acarretando em distintos padrões de dispersão em distintas escalas temporais e espaciais (JENSEN, 1981; ESKIN e PALMER, 1985; COMMITO e TITA, 2002; ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003; FONSECA-GENEVOIS *et al.* 2006; THOMAS e LANA, 2011; DERYCKE *et al.*, 2008; BOECKNER *et al.*, 2009). Por sua vez, o potencial de dispersão de nematoides marinhos condicionado pelas estratégias de locomoção é um fator importante, que deve ser considerado na distribuição das espécies em distintas escalas espaciais.

Os trabalhos que avaliaram detalhadamente o comportamento de natação, em espécies de nematoides parasitas e de vida livre, utilizaram observações diretas em *gel de agar* ou em gotas de água (WALLACE, 1968; GRAY e LISSMAR, 1964). Esses trabalhos sugerem que o modo de deslocamento mais usual é o senoidal, resultante da ação de ondas por contrações sucessivas e relaxamento dos músculos longitudinais ao longo do corpo. As ondas passam ao longo do corpo em uma direção oposta àquela que o nematoide está se movendo (WALLACE 1968). Gray e Lissmar (1964) mostraram que tanto espécies de nematoides de vida livre, como parasitas de vertebrados com a mesma morfologia do corpo, apresentam movimentos senoidais para nadar e rastejar. É importante ressaltar que a natação de nematoides marinhos deve ser interpretada como a interação entre o deslocamento senoidal e a dinâmica do fluido no qual o organismo está imerso. A combinação desses fatores determina a propulsão do organismo. Desta forma, o desenvolvimento de estratégias adaptativas, tanto morfológicas quanto comportamentais, permitiu aos nematoides utilizarem a coluna d'água por natação e carreamento, como possível meio de dispersão, e a evitarem a ressuspensão enterrando-se, pelo rastejamento, para as camadas mais profundas do sedimento.

Mesmo na ausência de modelos teóricos ou de testes experimentais robustos, as características morfológicas, fisiológicas e comportamentais - como a vagilidade e o sedentarismo dos nematoides marinhos - determinaram sua presença

e abundância na coluna d'água, aumentando ou reduzindo as chances de deslocamento ativo ou passivo. Nesse contexto, utilizou-se o conceito de grupos funcionais relativos aos padrões morfológicos e comportamentais, compartilhados por espécies distintas, que atuam de forma similar nas espécies mais suscetíveis à dispersão e aquelas que tendem a permanecer no substrato.

A aplicação do conceito de grupos funcionais de dispersão, ou grupos funcionais, tem se mostrado uma preciosa ferramenta nas generalizações sobre as interações entre as espécies e na análise de comunidades de nematoides, assim como em diversos táxons animais e de plantas (WIESER, 1953; MOENS *et al.*, 1997; BONGER, 1990, 1999; SCHRATZBERGER *et al.*, 2007; KARR e JAMES, 1975; FAUCHALD e JUMARS, 1979). O conceito refere-se a um conjunto de espécies relacionadas funcionalmente (MARGALEF, 1989), mas não necessariamente próximas evolutivamente.

A princípio, grupos funcionais de dispersão, ou grupos funcionais de dispersão de nematoides marinhos de vida livre, deveriam incluir todas as características morfológicas e comportamentais, que afetem de alguma forma a capacidade ou o potencial de locomoção dos organismos como a própria morfologia do corpo. Por exemplo, a existência dos morfotipos truncados e retilíneos em nematoides marinhos de vida livre foi constatada por Soetaert *et al.* (2002). Espécies com morfotipo retilíneo mostram alta capacidade de locomoção ativa, como provável resposta à pressão da predação. Por outro lado, espécies com morfotipo truncado permanecem restritas às camadas superficiais do sedimento devido à baixa capacidade de locomoção (SOETAERT *et al.*, 2002). Por sua vez, o hábito alimentar pode determinar a ressuspensão, à maior ou menor suscetibilidade, como no caso dos comedores de depósito superficial, que dependem primariamente das algas ou bactérias na superfície do sedimento e, por isso, são facilmente ressuspensos para a coluna d'água (COMMITO e TITA, 2002; ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003; THOMAS e LANA, 2011; BOECKNER *et al.*, 2009). Por outro lado, *Sabatieria pulchra*, *Terschellingia longicaudata* e *Odontophorasetosa* são frequentemente mais abundantes nas camadas mais profundas do sedimento e, por isso, raramente são ressuspensas (ESKIN e PALMER, 1985). Características morfológicas como forma da cauda e estruturas que permitem a aderência ao substrato (ADAMS e TYLER, 1980; THISTLE e SHERMAN, 1985; THISTLE *et al.*, 1995) também foram

relacionadas aos modos de locomoção e alimentação. Por exemplo, *Theristus caudasaliens* possui glândula caudal que permite a fixar a cauda ao grão de sedimento e assim movimentar o corpo ativamente em círculos em busca de alimento (ADAMS e TYLER, 1980).

Nesse contexto, a combinação das formas do corpo (SOETAERT *et al.*, 2002), formas da cauda (THISTLE e SHERMAN, 1985) e outras características morfológicas, relevantes para a locomoção, juntamente com os hábitos alimentares (WIESER, 1953) e comportamentos vágil e sedentário podem determinar grupos funcionais de dispersão caracterizados por uma maior ou menor suscetibilidade à ressuspensão e conseqüente potencial de dispersão das espécies. Com base nesse conhecimento, os padrões de distribuição e processos de recolonização de nematoides marinhos poderiam ser avaliados por seus grupos funcionais de dispersão, tanto em curta como em larga escala espacial, embora estas ainda não tenham sido formalmente descritas ou reconhecidas na literatura.

Este trabalho teve o objetivo de propor grupos funcionais de dispersão, ou grupos funcionais de dispersão de nematoides marinhos de vida livre, com base na combinação das suas estratégias de locomoção, modos de deslocamento, morfologia da cavidade bucal (grupos tróficos), tamanho e forma do corpo, tipos de caudas e tipos de cutícula. Em uma primeira etapa, as estratégias de locomoção de nematoides marinhos foram categorizados experimentalmente em laboratório, usando como modelos espécies de uma planície entremarés não vegetada na Baía de Paranaguá e os modos de deslocamentos observados em agar gel. Em uma segunda etapa, para a definição formal dos grupos funcionais de dispersão, ou grupos funcionais de dispersão de nematoides marinhos de vida livre, tais categorias foram combinadas com as características morfológicas e grupos tróficos, a partir de dados secundários obtidos da literatura específica.

Assim como na proposta de grupos funcionais de dispersão de alimentação para poliquetas, por Fauchald e Jumars (1977), as predições a respeito dos grupos funcionais de dispersão de nematoides marinhos estão na forma de hipóteses que podem ser futuramente testadas. A intenção foi criar a possibilidade de um novo grupamento funcional, de forma que possa ser continuamente testado em trabalhos que avaliam o potencial de dispersão e padrões de distribuição das espécies de nematoides marinhos.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Modelo experimental para as observações das estratégias de locomoção e modos de deslocamento

O modelo experimental, aqui utilizado para categorizar as estratégias de locomoção e os modos de deslocamento dos nematoides marinhos, foi baseado em uma metodologia originalmente desenvolvida para descrição de síndromes de comportamento em condições de laboratório, com o uso de aquários e a realização de observações repetidas em três dias consecutivos. As síndromes são características comportamentais intrínsecas de cada indivíduo, decorrentes da condição de vida do indivíduo em um determinado momento e ambiente (DOCHTERMANN, 2010). Esses modelos podem ser aplicados para a identificação de comportamentos anômalos, resultantes de artefatos experimentais, como forma de diferenciá-los de comportamentos “normais”. Segundo Logue *et al.* (2009), duas questões-chave devem ser consideradas em um modelo “ideal” para estudo das síndromes do comportamento: (a) a ordem na qual o comportamento é analisado pode afetar as respostas nos comportamentos subsequentes e (b) a identificação dessas síndromes reduz o risco das correlações espúrias causadas por artefatos experimentais. Neste sentido, o modelo experimental utilizado, esquematizado na Tabela 1, procurou amenizar ou evitar os artefatos comumente associados às observações de organismos sob condições de laboratório.

2.2.2 A montagem dos aquários experimentais

O sedimento com os organismos observados foi coletado em três pontos distantes 50 metros um do outro, no Baixio dos Papagaios, na Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil), em abril de 2010. Foram montados ainda em campo três aquários em béqueres de 600 ml, com sedimento de cada um dos pontos de coleta, totalizando nove aquários. Foi utilizado um “*corer*” de PVC com as mesmas dimensões do aquário (10 cm de diâmetro e 15 de altura) para a retirada do sedimento. O *corer* foi enterrado até 10 cm de profundidade e o sedimento foi cuidadosamente removido e depositado em cada aquário. Os aquários, contendo

apenas o sedimento, foram levados em caixas térmicas para o Laboratório de Bentos do Centro de Estudos do Mar, onde foi adicionada água coletada nos mesmos locais de coleta do sedimento. Os aquários foram oxigenados com aeradores e mantidos em temperatura de 18° C e fotoperíodo de 12 h, durante todo o experimento.

2.2.3 A categorização das estratégias de locomoção e modos de deslocamento

O experimento durou três dias consecutivos, sendo que em cada dia foi seguida uma ordem distinta para a observação das estratégias de locomoção em um dos três aquários de cada ponto, escolhido aleatoriamente (Tabela 1). Foram retirados de cada aquário aproximadamente 10 ml de sedimento, entre os 5 primeiros centímetros da superfície, e água, colocados em placas de Petri, sob lupa estereoscópica, para observação das estratégias de locomoção dos primeiros 14 nematoides tomados aleatoriamente. A identificação específica dos nematoides não foi feita *a priori*. Os indivíduos observados foram sucessivamente codificados como morfotipos D1_1, D1_2, considerando-se D1 como primeiro dia de experimento, D2 como segundo dia de experimento e assim por diante.

Tabela 1. Modelo experimental para análise das estratégias de locomoção e modos de deslocamento. Os pontos 1, 2 e 3 distam 50 metros um do outro no baixio dos papagaios.

OBSERVAÇÃO	PONTO 1	PONTO 2	PONTO 3
Dia 1	14 observações <i>nadador</i>	14 observações <i>letárgico</i>	14 observações <i>rastejador</i>
Dia 2	14 observações <i>rastejador</i>	14 observações <i>nadador</i>	14 observações <i>letárgico</i>
Dia 3	14 observações <i>letárgico</i>	14 observações <i>rastejador</i>	14 observações <i>nadador</i>

As estratégias de locomoção: nadador, rastejador e letárgico foram definidas *a priori*, com base em observações anteriores sistemáticas de organismos vivos, a partir dos comportamentos vagil e sedentário dos organismos (THOMAS e LANA, 2011). Desta forma, foram considerados nadadores os animais ativos no sedimento e com capacidade de natação quando suspensos na coluna d'água; rastejadores,

os animais sem capacidade de natação, mas com capacidade de se locomover ativamente entre os grãos no sedimento e letárgicos, os animais sem movimentos ativos no sedimento ou na coluna d'água, que afundam passivamente sempre que ressuspendidos.

Posteriormente, cada indivíduo observado para categorização das estratégias de locomoção foi colocado na superfície de agar salino a 1% (30 de salinidade) em placas de Petri, sob microscópio estereoscópico (GRAY e LISSMANN, 1964); 100 ml de água salgada do ambiente, filtrada em kit Kitassato com filtro de membrana de celulose (Whatman n°1), e 1g de agarose foram utilizados para preparação de 10 placas de Petri (35x10 mm), posteriormente esterilizadas em autoclave. A concentração de 1 % foi definida após verificar que os nematoides que foram colocados em agar, com concentração menor, moveram-se para o interior do agar, dificultando a observação e registro em vídeo.

Senoidal ômega



Senoidal mola



Senoidal circular



Estático



Figura 1: Imagens dos vídeos com os modos de deslocamento de cada indivíduo observado, em agar salino 1 %, para categorização das estratégias de locomoção.

Filtração da água e esterilização das placas foram necessárias para evitar a contaminação na superfície de agar. A presença de matéria orgânica dissolvida e de microorganismos poderia interferir no deslocamento, atuando como uma forma de

atrativo alimentar para os nematoides, podendo interferir também na análise do deslocamento, discutidas posteriormente.

O modo de deslocamento de cada nematoide foi filmado com câmera digital acoplada ao microscópio estereoscópico por aproximadamente 60 segundos (Figura 1). Em algumas situações, os nematoides foram tocados com a ponta de um estilete como forma de estimular o seu deslocamento assim que depositados na superfície do agar. Posteriormente, os vídeos foram analisados e os modos de deslocamentos categorizados como senoidal ômega, senoidal mola, senoidal circular e estático (Figura 2).

Após as observações dos modos de deslocamento em agar, os animais foram colocados em lâminas e identificados em nível específico, sob microscópio ótico, a partir das chaves de identificação de Platt e Warwick (1983, 1988) e Warwick *et al.* (1998).

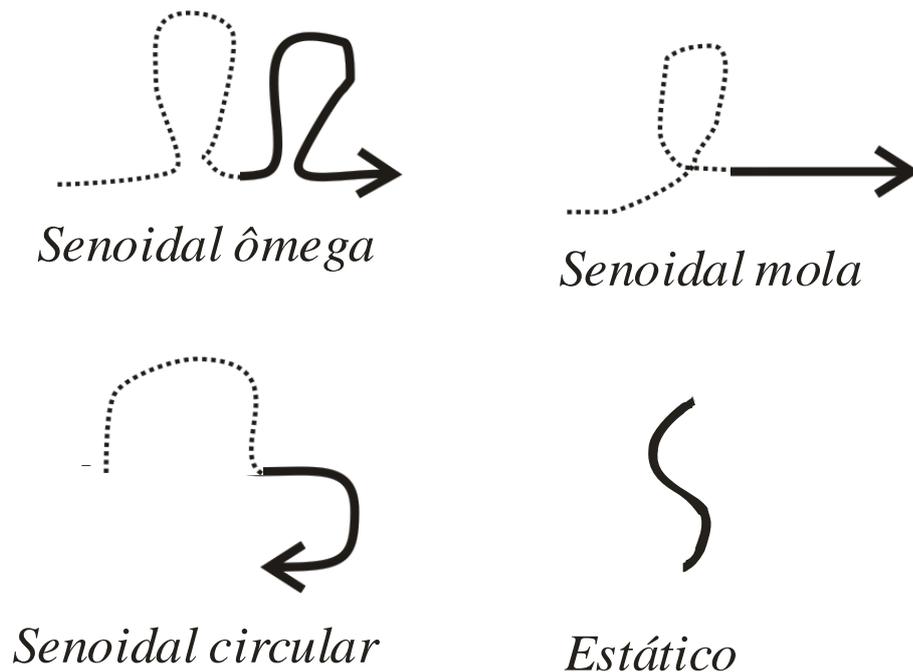


Figura 2. Desenho esquemático dos modos de deslocamento observados na superfície do agar e registrados em vídeos. A flecha representa o nematoide e a direção do deslocamento. A linha pontilhada representa o caminho do movimento do nematoide.

2.2.4 Grupos tróficos e morfologia das espécies de nematoides

Após categorização das estratégias de locomoção e modos de deslocamento, as espécies observadas foram classificadas de acordo com a morfologia da cavidade bucal (grupos tróficos), tamanho e forma do corpo, tipos de caudas e tipos de cutícula (Tabela 2).

Tabela 2. Características e categorias comportamentais, morfológicas e grupos tróficos utilizados para definir os grupos funcionais de dispersão.

Características	Categorias
Estratégias de locomoção	Nadador
	Rastejador
	Letárgico
Modos de deslocamento	Senoidal ômega
	Senoidal mola
	Senoidal circular
Grupos tróficos	Estático
	1A- comedores seletivos de depósito
	1B- comedores não seletivos de depósitos
	2A- comedores de superfície
Tamanho do corpo	2B- predadores
	< 2mm
Forma do corpo	> 2mm
	Robusto
	Esbelto
Tipos de cauda	Clavada-cônica/cilíndrica
	Cônica
	Alongada/filiforme
Tipos de cutícula	Lisa
	Estriada
	Anulada/ornamentada

Com base na diversidade de estruturas bucais em nematoides marinhos de vida livre, Wieser (1953) determinou grupos funcionais de dispersão alimentares que incluem: 1A- comedores seletivos de depósito apresentam cavidade bucal reduzida e ausência de dentes e se alimentam de bactérias e pequenas partículas orgânicas;

1B- comedores não seletivos de depósitos, apresentam uma cavidade bucal ampla e ausência de dentes e também se alimentam de depósitos orgânicos, incluindo as partículas de tamanho grande; 2A- comedores de superfície apresentam cavidade bucal com dentes de tamanho reduzido e se alimentam de microfítobentos na superfície do sedimento e 2B- predadores, apresentam cavidade bucal com dentes fortes ou mandíbulas e se alimentam de nematoides e outros pequenos invertebrados (Figura 3).

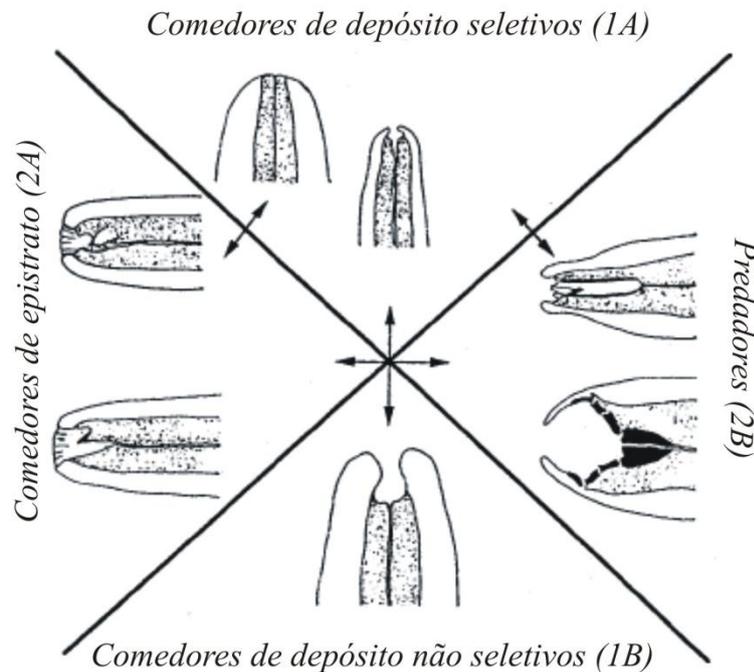


Figura 3. Diversidade de estruturas bucais em nematoides marinhos de vida livre, segundo a classificação de Wieser (1953). Figura modificada de Giere (2002).

As formas da cauda de nematoides também estão reconhecidamente relacionadas com a sua capacidade de locomoção e reprodução (THISTLE e SHERMAN, 1985). Adams e Tyler (1980) constataram que estruturas morfológicas que auxiliam no comportamento de movimentação, aderência ao substrato e alimentação, como as glândulas caudais, contribuem para as diferenças no comportamento de movimentação de *Theristus caudasaliens* em relação a outras espécies. As variadas formas da cauda e de morfologia bucal foram utilizadas para agrupar espécies de associações de nematoides do Atlântico Norte (THISTLE *et al.*, 1995). Com base nestes trabalhos, as espécies observadas foram categorizadas de acordo com as formas da cauda em clavada-cônica/cilíndrica, cônica e alongada/filiforme (Figura 4).

O comprimento e a forma do corpo também estão associados com a capacidade de deslocamento. Ratsimbazafy *et al.* (1994) foram os primeiros a reconhecer a existência dos morfotipos “retilíneos” e “truncados” em nematoides do Mar do Norte, categorização posteriormente confirmada em espécies de nematoides de várias áreas da plataforma continental do Atlântico Norte (SOETAERT *et al.*, 2002). As morfologias corporais robusto, esbelto e longo/filiforme se originaram de diferentes pressões seletivas (SOETAERT *et al.*, 2002). Os nematoides esbeltos e longos e filiformes têm a capacidade de deslocar-se ativamente no sedimento. Em contraste, a morfologia robusta provavelmente evoluiu como uma adaptação para evitar a pressão de predação (SOETAERT *et al.*, 2002). Isso aconteceu porque a vulnerabilidade ao ataque de predadores está inversamente relacionada ao tamanho das presas. Portanto, nematoides marinhos podem ter aumentado a largura do corpo em vez do comprimento, como forma de evitar o ataque de predadores maiores, o que acarretaria paralelamente uma redução em sua mobilidade (SOETAERT *et al.*, 2002).



Figura 4. As espécies observadas foram categorizadas de acordo com as formas da cauda em 2- *clavada-cônica/cilíndrica*, 3- *cônica* e 4- *alongada/filiforme* (Figuras adaptadas de THISTLE *et al.*, 1995).

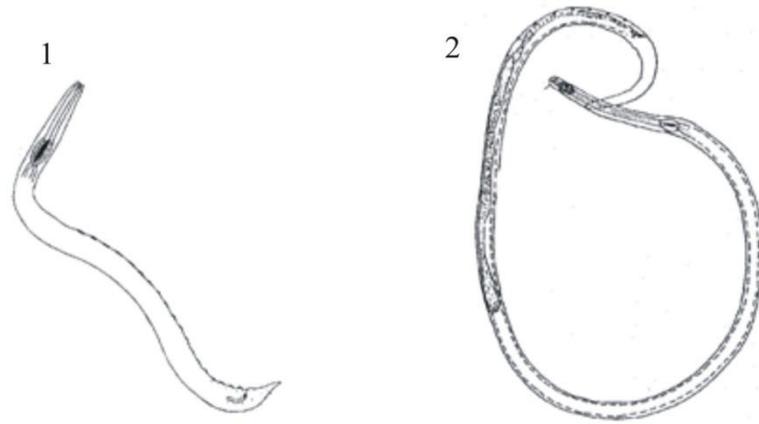


Figura 5. Categorias de forma e tamanho do corpo das espécies observadas e classificadas em duas categorias de comprimento 1= < 2 mm e 2= > 2 mm e duas categorias de forma de corpo 1= robusto e 2 = esbelto. Figuras adaptadas de chaves de identificação de Platt e Warwick (1983, 1988).

Com base nas categorias de forma e tamanho do corpo adotadas por Schratzberger *et al.* (2007), as espécies observadas foram classificadas em duas categorias de comprimento (< 2mm e > 2mm) e duas categorias de forma de corpo *robusto* e *esbelto* baseadas no trabalho de Soetaert *et al.* (2002) (Figuras 4 e 5)

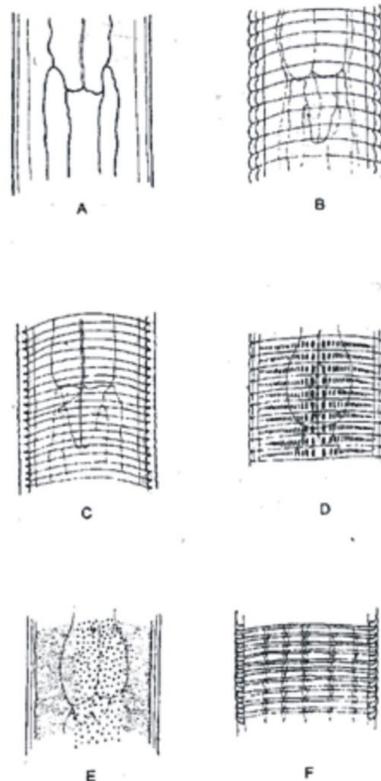


Figura 6. Tipos de cutícula A= *lisa*, B e C= *estriada* e D= *anulada/ornamentada*. Figuras adaptadas de chaves de identificação de Platt e Warwick (1983, 1988).

Os tipos de cutícula (lisa, estriada e anulada/ornamentada) também foram considerados para definição dos grupos funcionais de dispersão (Figura 6). A estrutura da cutícula nos nematoides pode variar de uma simples e única camada para múltiplas camadas, altamente complexas. Devido à falta de esqueleto e de músculo circular, a cutícula funciona como um sistema antagônico que previne a deformação do corpo quando os músculos longitudinais são contraídos durante os movimentos ondulatórios (HARRIS e CROFTON, 1957). O tipo de cutícula, portanto, pode influenciar no comportamento vágil e sedentário das espécies de nematoides marinhos.

2.2.5 Análise e interpretação dos dados

Antes de analisar os grupos funcionais de dispersão, foi necessário testar o modelo experimental desenvolvido para avaliar a presença de comportamentos inconsistentes, ou anômalos, resultantes dos artefatos experimentais nas observações das estratégias de locomoção e modos de deslocamento. Se as categorias das estratégias de locomoção *nadador* (*N*), *rastejador* (*R*) e *letárgico* (*L*) formadas pela presença ou ausência dos modos de deslocamento são diferentes nos três dias de observação ($N \neq R \neq L$), então as estratégias de locomoção não foram influenciadas por artefato experimental. Se as categorias das estratégias de locomoção *nadador* (*N*), *rastejador* (*R*) e *letárgico* (*L*) formadas pela presença ou ausência dos modos de deslocamento são iguais entre todos os dias de observação ($N=R=L$), então as estratégias de locomoção foram influenciadas por artefato experimental.

As análises estatísticas foram realizadas para comparação das estratégias de locomoção nos diferentes dias de observação. O desenho experimental utilizado nas análises multivariadas incluiu dois fatores e apresentou a seguinte estrutura: estratégias de locomoção (3 níveis; fixo; *nadador*, *rastejador* e *letárgico*) e dias de observação (3 níveis; fixo; dias de observação 1, 2 e 3). Diferenças nas estratégias de locomoção foram testadas pela análise de variância multivariada permutacional (ANDERSON, 2001) com a aplicação programa PERMANOVA, versão 1.6 (ANDERSON, 2005).

Esta análise permite aplicar o mesmo modelo aditivo da análise de variância sobre uma matriz de distância qualquer e testar o efeito dos fatores através de permutações (ANDERSON, 2005). Quando apropriado, comparações pareadas *a posteriori* foram realizadas. Os resultados dos testes foram sustentados pela avaliação visual dos padrões no gráfico de escalonamento multidimensional (MDS). Posteriormente, uma análise de porcentagem de similaridade (SIMPER) foi aplicada para avaliar os modos de deslocamento que foram responsáveis pelas dissimilaridades das estratégias de locomoção em cada dia de observação. Todas as análises multivariadas utilizaram o coeficiente de dissimilaridade de *Bray-Curtis* com dados transformados para presença e ausência.

Finalmente, para avaliar se as categorias resultantes da combinação das características comportamentais, morfológicas e grupos tróficos determinam grupos funcionais de dispersão foi utilizada a análise de PERMANOVA. Se as categorias das estratégias de locomoção *nadador (N)*, *rastejador (R)* e *letárgico (L)* formadas pela presença ou ausência dos modos de deslocamento, morfologia da cavidade bucal, tamanho e forma do corpo, tipos de caudas e tipos de cutícula são diferentes entre si ($N \neq R \neq L$), então as estratégias de locomoção podem determinar grupos funcionais ou grupos funcionais de dispersão de dispersão. A análise incluiu o fator estratégias de locomoção (3 níveis; fixo; *nadador*, *rastejador* e *letárgico*). Os resultados dos testes foram sustentados pela avaliação visual dos padrões no gráfico MDS. Posteriormente, uma análise de porcentagem de similaridade (SIMPER) foi utilizada para avaliar a contribuição relativa dos modos de deslocamento, características morfológicas e grupos tróficos na formação dos agrupamentos identificados no gráfico MDS, considerando as estratégias de locomoção (*nadador*, *rastejador* e *letárgico*) como fator. Com essa análise foi possível definir as características comportamentais e morfológicas que mais contribuíram para categorizar as espécies de nematoides nos grupos funcionais de dispersão.

As análises multivariadas (MDS e SIMPER) foram feitas com o pacote estatístico PRIMER 6.0, de Clarke e Warwick (2001) (*Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research*).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Análise das síndromes do comportamento

As relações das estratégias de locomoção com modos de deslocamento foram diferentes ao longo dos dias de observações (interação $D \times E$ significativa, Tabela 3a). A estratégia de locomoção *nadador* diferiu das estratégias *rastejador* e *letárgico* no primeiro e segundo dia de observação ($N \neq R \neq L$, Tabela 3b). No entanto, as estratégias de locomoção *nadador* e *rastejador* foram similares, em relação aos modos de deslocamento no terceiro dia de observação ($N = R \neq L$, Tabela 3b). No gráfico de MDS os morfotipos que não foram agrupados foram considerados artefatos experimentais, sugerindo que as variações das estratégias de locomoção e modos de deslocamento foram influenciadas pelas condições experimentais principalmente no terceiro dia de observação (Figura 7).

A estimativa das dissimilaridades médias de Bray-Curtis entre os dias de observação ajuda a sustentar esse resultado (Tabela 3b). A dissimilaridade entre as estratégias de locomoção *nadador* e *rastejador* (N vs R) foi significativa nos dois primeiros dias de observação. No terceiro dia de observação, a dissimilaridade foi menor e não diferiu significativamente. A dissimilaridade entre as estratégias *rastejador* e *letárgico* (R vs L) foi relativamente baixa e não diferiu significativamente apenas no primeiro dia de observação. O segundo e terceiro dias de observação apresentaram as maiores dissimilaridades (R vs L), com valores significativamente diferentes (Tabela 3b). As estratégias de locomoção *nadador* e *letárgico* (N vs L) apresentaram as maiores dissimilaridades nos dois primeiros dias de observação, diferindo significativamente nos três dias de observação (Tabela 3b).

Por outro lado, a dissimilaridade dentro da estratégia de locomoção *nadador* (N vs N) aumentou progressivamente ao longo do experimento. No caso da estratégia de locomoção *rastejador* (R vs R) a dissimilaridade foi bastante alta para os três dias de observação. Ao contrário da categoria *letárgico* (L vs L) que foi igual a zero para os três dias de observação (Tabela 3b).

Tabela 3. Comparação dos modos de deslocamento entre as estratégias de locomoção nos três dias de observação (Dia 1, 2 e 3). *N*: nadador, *R*:rastejador e *L*: letárgico. Termos significativos de interesse ($\alpha = 0,05$) estão destacados em negrito. Legenda da tabela: gl= grau de liberdade; QM= média dos quadrados; F= f valor e p= p valor.

a) PERMANOVA (n= 14, 9999 permutações utilizadas)				
	gl	QM	F	p
Dia=D	2	4801,5873	2,5	0,03
Estratégias de locomoção=EI	2	85992,0635	44,5	0,0001
DxEI	4	5753,9683	3,0	0,001 *
Resíduo	117	1935,2869		

b) Dissimilaridades médias de Bray-Curtis e comparações pareadas <i>a posteriori</i> . Diagonais contêm estimativas dentro das estratégias de locomoção. *p < 0,05; ns: p > 0,05			
Dia 1	<i>Nadador</i>	<i>Rastejar</i>	<i>Letárgico</i>
<i>Nadador</i>	0,0		
<i>Rastejar</i>	93,0 *	70,0	
<i>Letárgico</i>	100,0 *	50,0 ns	0,0
Dia 2	<i>Nadador</i>	<i>Rastejar</i>	<i>Letárgico</i>
<i>Nadador</i>	50,0		
<i>Rastejar</i>	81,0 ns	80,0	
<i>Letárgico</i>	100,5 *	78,5 *	0,0
Dia 3	<i>Nadador</i>	<i>Rastejar</i>	<i>Letárgico</i>
<i>Nadador</i>	78,0		
<i>Rastejar</i>	81,0 ns	71,5	
<i>Letárgico</i>	72,0 *	78,5 *	0,0

Tabela 4. Análise de similaridade (SIMPER) aplicada para a matriz de presença e ausências de modos de deslocamento que mais contribuíram para a similaridade entre as estratégias de locomoção nos três dias de observação

Estratégia de locomoção (% similaridade)	de Modos de deslocamento	de Média similaridade	Contribuição %
<i>Nadador</i> 58 %	<i>Senoidal ômega</i>	52	90
	<i>senoidal mola</i>	12	10
<i>Rastejador</i> 27 %	<i>Senoidal circular</i>	10	38
	<i>Estático</i>	9	37
<i>Letárgico</i> 100 %	<i>Estático</i>	100	100

Na análise de porcentagem de similaridade (SIMPER) o modo de deslocamento que mais contribuiu para a similaridade da estratégia de locomoção *nadador* foi o *senoidal ômega*. Com 100% de similaridade, a estratégia de

locomoção *letárgico* foi caracterizada pelo modo de deslocamento *estático* (Tabela 4). Finalmente, o modo de deslocamento que mais contribuiu para a estratégia de locomoção *rastejador* foi o *senoidal circular*.

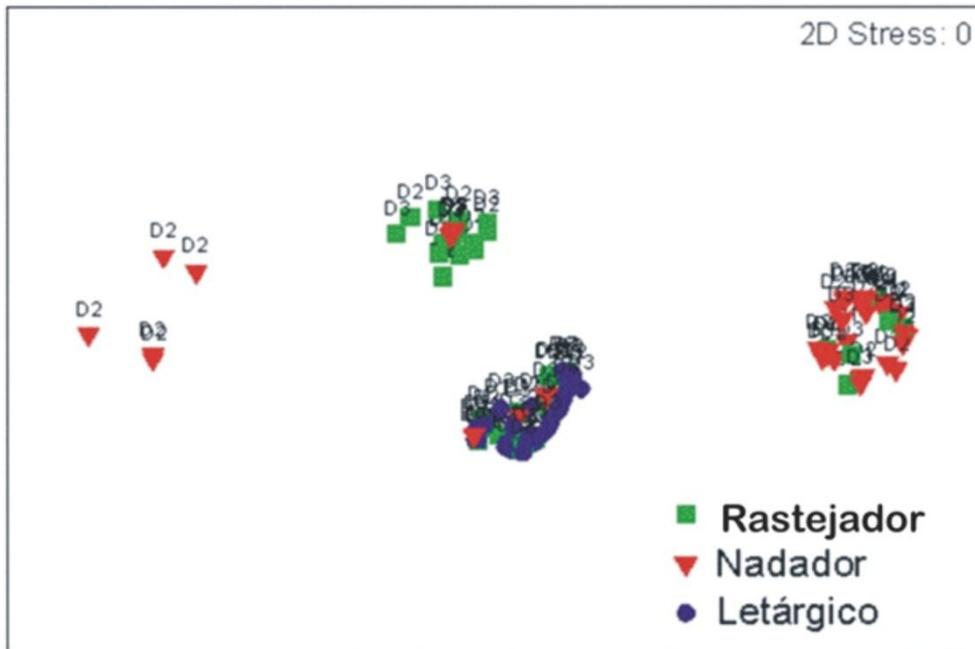


Figura 7. Escalonamento multidimensional não-métrico (MDS) baseado em matrizes de similaridade de Bray-Curtis feitas a partir da presença e ausência dos modos de deslocamento nas estratégias de locomoção nos dias de observação (D1, D2 e D3)

Logo, os comportamentos inconsistentes com esse padrão podem ser considerados como síndromes do comportamento, originadas por artefatos experimentais, principalmente no terceiro dia de observação. Nesse caso, os modos de deslocamentos originados por artefatos experimentais foram alterados para o modo de deslocamento que mais contribuiu para a similaridade das estratégias de locomoção.

2.3.2 Análise dos grupos funcionais de dispersão

Após categorização das estratégias de locomoção e modos de deslocamentos, as espécies observadas foram classificadas de acordo com a morfologia da cavidade bucal (grupos tróficos), tamanho e forma do corpo, tipos de caudas e tipos de cutícula. Antes de analisar e categorizar os grupos funcionais de dispersão se fez necessário uma breve descrição a respeito das espécies e características morfológicas que mostraram inconsistências.

Um total de 18 espécies foi identificado nos 126 morfotipos analisados nos experimentos para determinação das estratégias de locomoção e modos de deslocamento. Destes, apenas um indivíduo de *Axonolaimus* sp1, *Viscosia cobbi*, *Chromadora* sp1, *Halichoanolaimus* sp1 foram observados no primeiro e segundo dia de observação. Enquanto, *Diplolaimoides* sp1 e *Neochromadora* sp1 foram observados apenas uma vez no terceiro dia de observações (Tabela 5). A princípio, para que uma maior diversidade de espécies fosse testada nas análises de grupos funcionais de dispersão, todas as espécies foram classificadas nas categorias de morfologia do corpo e grupos tróficos (Tabela 5). O fato das espécies terem sido observadas uma única vez no terceiro dia de observação, quando foi identificado maior número de artefatos experimentais, não foi considerado (Tabela 5).

Entre as espécies categorizadas com forma do corpo *robusto* apenas *Daptonema* sp1 foi descrita no trabalho de Soetaert *et al.* (2002). *Metachromadora chandleri*, *Pseudochromadora incubans*, *Batylaimus* sp1 e *Halichoanolaimus* sp1 foram categorizadas com a forma do corpo *robusto* a partir de observações empíricas sem a utilização de medidas sistemáticas do corpo. De modo geral, essas espécies mostraram um corpo uniformemente robusto, sendo visualmente mais largo do que as espécies consideradas com forma do corpo *esbelto* (Tabela 5).

Tabela 5. Lista das categorias de comportamento, morfológicas e grupos tróficos dos morfotipos, e respectivas espécies, observados em cada dia de observação no experimento em laboratório.

Morfotipo	Espécie	Estratégia de locomoção	Modos de deslocamento			Forma do corpo			Tamanho de corpo		Tipos da cauda		Tipos de cutícula			Grupos tróficos				
			S/o	S/m	S/c	P	E	R	< 2	> 2	Al/f	Co	Cl	L	Es	An	Cds	Cdns	Cep	P/f
S1P1_1	<i>Batylaimus sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
S1P1_2	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_3	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_4	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_5	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_6	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_7	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_8	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_9	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_10	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_11	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_12	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_13	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P1_14	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P2_1	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_2	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_3	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_4	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_5	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_6	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_7	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_8	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_9	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_10	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_11	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_12	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_13	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P2_14	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0

Morfotipo	Espécie	Estratégia de locomoção	Modos de deslocamento			Forma do corpo			Tamanho de corpo		Tipos da cauda		Tipos cutícula			de Grupos tróficos				
			S/o	S/m	S/c	P	E	R	< 2	> 2	Al/f	Co	Cl	L	Es	An	Cds	Cdns	Cep	P/f
S1P3_1	<i>Halalaimus sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
S1P3_2	<i>Viscosia glabra</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
S1P3_3	<i>Viscosia glabra</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
S1P3_4	<i>Axonolaimus sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
S1P3_5	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P3_6	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P3_7	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S1P3_8	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P3_9	<i>M. chandleri</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P3_10	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S1P3_11	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S1P3_12	<i>T.longicaudata</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
S1P3_13	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S1P3_14	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S2P1_1	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P1_2	<i>T.longicaudata</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
S2P1_3	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P1_4	<i>T.longicaudata</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
S2P1_5	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P1_6	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P1_7	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P1_8	<i>Daptonema sp2</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P1_9	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P1_10	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S2P1_11	<i>T.longicaudata</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
S2P1_12	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P1_13	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P1_14	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0

Morfotipo	Espécie	Estratégia de locomoção	Modos de deslocamento			Forma do corpo			Tamanho de corpo		Tipos da cauda		Tipos cutícula			de Grupos tróficos				
			S/o	S/m	S/c	P	E	R	< 2	> 2	Al/f	Co	Cl	L	Es	An	Cds	Cdns	Cep	P/f
S2P2_1	<i>E. ornata</i>	N	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
S2P2_2	<i>S.parasitifera</i>	N	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P2_3	<i>Viscosia cobbi</i>	N	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
S2P2_4	<i>Chromadora sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
S2P2_5	<i>Daptonema sp1</i>	N	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P2_6	<i>Daptonema sp1</i>	N	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P2_7	<i>Daptonema</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S2P2_8	<i>Viscosia glabra</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
S2P2_9	<i>Sabatieria sp1</i>	N	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S2P2_10	<i>E. ornata</i>	N	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0
S2P2_11	<i>Sabatieria sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S2P2_12	<i>Halichoanolaimus sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
S2P2_13	<i>Anoplostoma sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
S2P2_14	<i>Anoplostoma sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
S2P3_1	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_2	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_3	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_4	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_5	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_6	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_7	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_8	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_9	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_10	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_11	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_12	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_13	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S2P3_14	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0

Morfotipo	Espécie	Estratégia de locomoção	Modos de deslocamento			Forma do corpo			Tamanho de corpo		Tipos da cauda		Tipos cutícula			de Grupos tróficos				
			S/o	S/m	S/c	P	E	R	< 2	> 2	Al/f	Co	Cl	L	Es	An	Cds	Cdns	Cep	P/f
S3P1_1	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_2	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_3	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_4	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_5	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_6	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_7	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_8	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_9	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_10	<i>S.parasitifera</i>	L	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_11	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_12	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_13	<i>Metachromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P1_14	<i>Pseudochromadora sp1</i>	L	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P2_1	<i>T.longicaudata</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_2	<i>S.parasitifera</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P2_3	<i>Batylaimus sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_4	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_5	<i>Daptonema</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P2_6	<i>Halalaimus sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
S3P2_7	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_8	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P2_9	<i>Daptonema sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P2_10	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_11	<i>Batylaimus sp1</i>	Nn	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_12	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_13	<i>Sabatieria sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S3P2_14	<i>Diplolaimoides sp1</i>	Nn	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0

Morfotipo	Espécie	Estratégia de locomoção	Modos de deslocamento			Forma do corpo			Tamanho de corpo		Tipos da cauda		Tipos cutícula			de Grupos tróficos				
			S/o	S/m	S/c	P	E	R	< 2	> 2	Al/f	Co	Cl	L	Es	An	Cds	Cdns	Cep	P/f
S3P3_1	<i>Daptonema</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P3_2	<i>Daptonema</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P3_3	<i>Halalaimus sp1</i>	N	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0
S3P3_4	<i>Daptonema</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P3_5	<i>Sabatieria sp1</i>	N	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
S3P3_6	<i>Anoplostoma sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
S3P3_7	<i>Anoplostoma sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
S3P3_8	<i>Viscosia glabra</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1
S3P3_9	<i>Neochromadora sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
S3P3_10	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P3_11	<i>Anoplostoma sp1</i>	N	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
S3P3_12	<i>S.parasitifera</i>	N	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
S3P3_13	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
S3P3_14	<i>Daptonema sp1</i>	N	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0

Nas análises dos grupos funcionais de dispersão, a estratégia de locomoção *nadador* diferiu das estratégias *rastejador* e *letárgico* ($N \neq R \neq L$, Tabela 6a) em função da presença e ausência dos modos de deslocamento, características morfológicas e grupos tróficos. A análise das dissimilaridades médias de Bray-Curtis forneceu suporte adicional para as diferenças entre as estratégias de locomoção. Primeiro, a maior dissimilaridade foi encontrada entre as estratégias *rastejador* e *letárgico* (L vs R). Segundo, a diferença entre *rastejador* e *nadador* (R vs N) foi aproximadamente igual à calculada entre *letárgico* e *nadador* (L vs N). Por último, a dissimilaridade interna das estratégias de locomoção *nadador* (N vs N) e *letárgico* (L vs L) foi baixa (Tabela 6b). Por outro lado, a estratégia *rastejador* (R vs R) apresentou uma dissimilaridade interna alta (Tabela 6b).

Tabela 6. Comparação das características comportamentais, morfológicas e história de vida entre as estratégias de locomoção; *N*: *nadador*, *R*: *rastejador* e *L*: *letárgico*. Termos significativos de interesse ($\alpha = 0,05$) estão destacados em negrito. Legenda da tabela: gl= grau de liberdade; QM= média dos quadrados; F= f valor e p= p valor

a) PERMANOVA (n= 14, 9999 permutações utilizadas)				
	gl	QM	F	p
Estratégias de locomoção	2	22794,31,	45,9	0,0001
Resíduo	39	497,04		

b) Dissimilaridades médias de Bray-Curtis e comparações pareadas <i>a posteriori</i> . Diagonais contêm estimativas dentro das estratégias de locomoção. *p < 0,05			
	<i>Nadador</i>	<i>Rastejar</i>	<i>Letárgico</i>
<i>Nadador</i>	5,0		
<i>Rastejar</i>	56,0 *	47,0	
<i>Letárgico</i>	67,0 *	61,0 *	13,0

Esse padrão também foi observado na análise de escalonamento multidimensional (MDS) na qual as estratégias de locomoção (*nadador*, *rastejador* e *letárgico*) tendem a formar grupos distintos, em função dos modos de deslocamento, características morfológicas e grupos tróficos das espécies analisadas (Figura 8). Apesar das estratégias de locomoção *nadador* e *rastejador* não terem formado agrupamentos bem definidos, o gráfico de MDS mostra que há diferenças entre as duas estratégias. Ao contrário, a categoria *letárgico* formou um agrupamento com todos os morfotipos analisados situados graficamente em uma posição distinta dos demais agrupamentos (Figura 8).

Adicionalmente, quando analisadas as espécies relativas a cada morfotipo (Figura 8) foi possível identificar incongruências que podem explicar o padrão dos agrupamentos na análise de escalonamento multidimensional (MDS). No caso das espécies *Batylaimus* sp1 e *Viscosia glabra*, foram analisadas as estratégias de locomoção de dois indivíduos de cada espécie, sendo cada um classificado como *rastejador* e *nadador*. Assim como *Halalaimus* sp1, que entre os três indivíduos analisados 2 foram classificados como *rastejador* e um como *nadador*. A princípio, as espécies que foram observadas apenas uma vez, como *V. cobbi* e *Neochromadora* sp1, ou que não foram agrupadas, como *E. ornata*, devem ser consideradas nos grupos funcionais com cautela e são discutidas posteriormente.

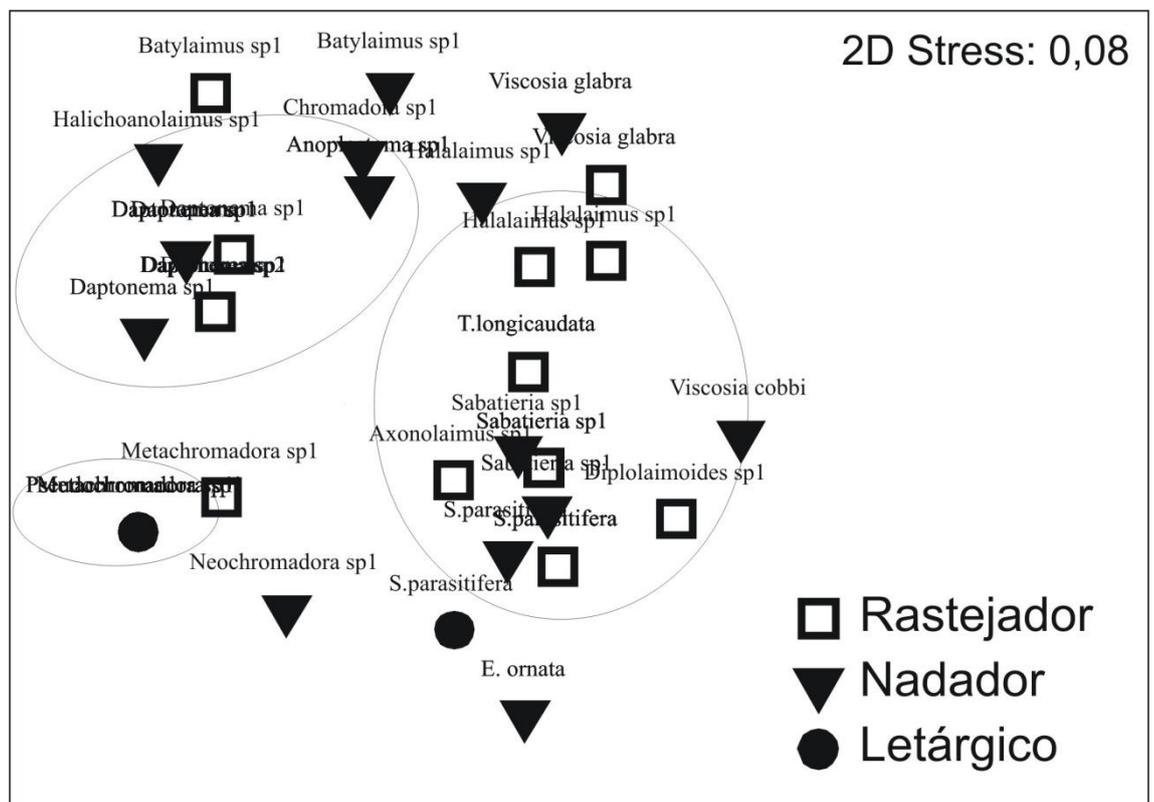


Figura 8. Análise de escalonamento multidimensional (MDS), gerada sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis tendo as estratégias de locomoção como fatores e os modos de deslocamento, características morfológicas e grupos tróficos de cada espécie como atributos.

Por outro lado, para *S. parasitifera* foram analisados 8 indivíduos sendo apenas um classificado como *letárgico* e os demais classificados como *rastejador*.

Para *Sabatieria* sp1, um total de 12 indivíduos foram analisados e três

indivíduos foram classificados como *letárgico* e os demais como *rastejador*. No caso de *Daptonema* sp1, dos 32 indivíduos analisados apenas 7 mostraram incongruência com o agrupamento *nadador*, sendo classificados como *rastejador*. Ao contrário, para as espécies *M. chandleri* e *P. incubans*, a estratégia de locomoção *letárgica* foi predominante. Apenas um indivíduo de *M. chandleri* apresentou uma estratégia de locomoção incongruente, sendo classificado como *rastejador*.

A análise SIMPER mostrou que as características que mais contribuíram para a formação da categoria *nadador*, com 58 % de similaridade, foram o modo de deslocamento *senoidal ômega*, *tamanho de corpo < 2 mm*, *cauda clavada-cônica/cilíndrica* e grupo trófico *comedor de depósito não seletivo*. Seguido do tipo de cutícula *estriada* e forma do corpo *robusto* e *esbelto* como as características que menos contribuíram para o agrupamento. (Tabela 7). A categoria *rastejador* mostrou similaridade de 59 %, principalmente pela presença das características deslocamento *senoidal circular*, *cutícula estriada* e forma do corpo *esbelto*, grupo trófico *comedor de depósito seletivo*. Tamanho de corpo e forma da cauda foram as categorias secundariamente importantes para o agrupamento (Tabela 7).

A estratégia de locomoção *letárgica* apresentou 97% de similaridade. As características que mais contribuíram foram modo de deslocamento *estático*, *cauda cônica*, *cutícula estriada*, forma do corpo *robusto*, *tamanho 0- < 2 mm*, , e grupo trófico *comedor de epistrato* (Tabela 7).

Tabela 7. Análise de similaridade (SIMPER) aplicada para matriz de presença e ausências de modos de deslocamento, morfologia e história de vida para determinação das características que mais contribuíram para a similaridade das estratégias de locomoção *nadador, rastejador e letárgico*.

Estratégias de locomoção (%similaridade)	de	Categorias	Tipos	Média similaridade	Contribuição %
Nadador 58 %		Modo de deslocamento	<i>Senoidal ômega</i>	12,3	21,24
		Tamanho do corpo	< 2 mm	10,3	17,81
		Forma da cauda	<i>Clavada-cônica/cilíndrica</i>	9,6	16,6
		Grupo trófico	<i>Comedor de depósito não seletivo</i>	7,9	13,6
		Tipo de cutícula	<i>Estriada</i>	6,8	11,7
		Forma do corpo	<i>Robusto</i>	4,9	8,5
			<i>Esbelto</i>	2,9	5,1
Rastejador 59 %		Modo de deslocamento	<i>Senoidal circular</i>	16,7	28,1
		Tipo de cutícula	<i>Estriada</i>	11,5	19,4
		Forma do corpo	<i>Esbelto</i>	7,3	12,4
		Grupo trófico	<i>Comedor de depósito não seletivo</i>	6,8	11,6
		Tamanho do corpo	< 2 mm	4,9	8,3
			> 2 mm	3,3	5,6
		Forma da cauda	<i>Clavada-cônica/cilíndrica</i>	3,3	5,5
Letárgico 97 %		Modo de deslocamento	<i>Estático</i>	17,0	14,2
		Forma da cauda	<i>Cônico</i>	17,0	14,3
		Tipo de cutícula	<i>Estriada</i>	17,0	14,3
		Forma do corpo	<i>Robusto</i>	16,3	14,3
		Tamanho do corpo	< 2 mm	16,3	14,3
		Grupo trófico	<i>Comedor de epistrato</i>	16,3	14,3

2.4 DISCUSSÃO

Os grupos funcionais de dispersão para as espécies analisadas experimentalmente foram definidos, a partir da presença em comum ou predominância de características comportamentais e morfológicas. Os agrupamentos formados pelo comportamento vágil e sedentário mostraram conter importantes informações a respeito da dispersão das espécies de nematoides relacionados à maior ou menor susceptibilidade à ressuspensão para a coluna d'água e conseqüente potencial de dispersão.

Cabe ressaltar que as predições a respeito dos padrões encontrados estão sujeitas a rejeições. Quando as predições qualitativas estiverem testadas para um número maior de espécies, pela abordagem matemática, os grupos funcionais podem ser futuramente formalizados. Por enquanto, interpretações a partir das estratégias de vida subjacente das espécies, que foram agrupadas, podem revelar se os grupos funcionais são promissores e como as características que mais contribuíram para a formação dos agrupamentos podem estar relacionados com o potencial de dispersão.

Os grupos funcionais de dispersão foram propostos pelo conjunto de relações entre as estratégias de locomoção, modos de deslocamento, morfologia e hábitos alimentares. Os comportamentos vágil e sedentário, associados aos grupos tróficos, foram importantes para caracterizar as espécies mais suscetíveis à dispersão passiva e/ou ativa e as que tendem a permanecer no substrato. Adicionalmente, os comportamentos associados à morfologia do corpo definem em última análise os mecanismos e potencial de dispersão das espécies.

De um total de aproximadamente 5 mil espécies de nematoides marinhos distribuídas globalmente, apenas 18 espécies de um ambiente entremarés da Baía de Paranaguá (Brasil) foram utilizadas para a análise dos grupos funcionais de dispersão. Apesar do baixo número de espécies, a combinação do comportamento, morfologia do corpo e grupos tróficos indicou que os grupos funcionais de dispersão podem ser uma importante classificação ecológica que ainda não havia sido incorporada nos grupos funcionais. Por exemplo, as propostas de grupos tróficos, pelas características do aparato bucal (WIESER, 1953) e reprodução/locomoção, através da forma da cauda (THISTLE *et al.*, 1995), não abordaram os

comportamentos vágil e sedentário. De acordo com a revisão de literatura a respeito da mobilidade da macrofauna, Posey (1987) propôs grupos funcionais para explicar a ocorrência de grupos faunísticos, bem como suas interações com a comunidade bentônica. De modo geral, os grupos funcionais mostraram que, dependendo da mobilidade dos organismos e independente do tamanho do corpo, as agregações podem ser mais ou menos densas. Ou dependendo da composição do sedimento juntamente com a mobilidade, algumas espécies podem ser excluídas da comunidade macrofaunal (POSEY, 1987).

Devido à falta de informações factuais na literatura, foi necessário um prévio reconhecimento experimental das estratégias de locomoção e dos modos de deslocamento de nematoides marinhos. A análise experimental em agar evidenciou a estreita dependência entre as estratégias de locomoção, *nadador*, *rastejador* e *letárgico*, aos modos de deslocamento, *senoidal ômega*, *senoidal mola*, *senoidal circular* e *estático*. Como a maioria dos nematoides é microscópica e ocupa ambientes relativamente escuros, seus movimentos ainda não foram observados diretamente na natureza. A maioria das observações foram em agar, onde aspectos específicos da locomoção podem ser muito diferentes dependendo da espécie e objetivo, mas são considerados similares aos modos de deslocamento no ambiente natural (GRAY e LISSMANN, 1964).

Em geral, os nematoides tornam-se mais lentos e a frequência, amplitude e comprimento de onda aumentam quando transferidos da água para o agar (GRAY e LISSMANN, 1964). Contudo, alterações nos modos de deslocamento podem ocorrer devido a diferentes condições no tratamento do agar. Os modos de deslocamento de *C. elegans*, por exemplo, em geral se movem lentamente e balançam a cabeça na presença de bactérias no agar. Por outro lado, em agar livre de bactérias movem-se invertendo a direção espontaneamente com uma ou mais ondulações no corpo e seguem em outra direção (CROLL, 1972; ALEXANDER, 2002). Portanto, considerando que o agar utilizado no experimento foi livre de bactéria, os modos de deslocamento *senoidal ômega*, *senoidal mola*, *senoidal circular* e *estático* foram considerados distintos, não havendo necessidade de desenvolvimento de qualquer modelo matemático para distinguir os modos de deslocamento entre as espécies *nadadoras*, *rastejadoras* e *letárgicas*.

Segundo Burr e Robinson (2004), alguns nematoides podem efetivamente nadar, embora poucos trabalhos tenham abordado a capacidade de natação dos nematoides marinhos de vida livre. A espécie fital *Chromadorita tenuis* pode nadar rapidamente (5 cm. s⁻¹) do sedimento para vegetação submersa (JENSEN, 1981). *Viscosia* pode, por movimentos ativos de natação, deslocar-se por até 2 m durante um evento único de maré enchente (THOMAS e LANA, 2011). Um estudo mais detalhado dos comportamentos de natação mostrou que espécies que são reconhecidas como mal nadadoras apresentaram ondulações do corpo com frequência maior e amplitude na água do que no agar, mas o movimento senoidal foi similar. Por outro lado, *Turbatrixaceti*, por exemplo, que apresenta comportamento de natação eficiente, quando observado em agar gerou ondas com maior amplitude e velocidade do que a espécies que não nadam (GRAY e LISSMANN, 1964).

A análise experimental das estratégias de locomoção *nadador*, *rastejador* e *letárgico* mostrou que outros modos de deslocamento podem estar relacionados aos comportamentos de nadar e rastejar além do padrão senoidal de deslocamento já reconhecido por Gray e Lissmann (1964).

Os modos de deslocamento *senoidal mola* e *senoidal ômega* foram relacionados às espécies categorizadas como *nadadoras*. O modo *senoidal mola* foi consistente no caso de *Eurystomina ornata* Eberth, 1863e *Sphaerolaimus* sp1. Esse deslocamento pode ser descrito como uma volta, similar a uma mola, na porção terminal do corpo, quando o restante do corpo é estendido para frente. O efeito mola serve como um impulso para o deslocamento dos indivíduos, geralmente em animais maiores, como é o caso de *Eurystomina ornata*. Como apenas os modos de deslocamento foram filmados, não foi possível detectar com precisão o deslocamento *senoidal mola* na natação, devido ao batimento rápido do corpo. No entanto, o modo de deslocamento *senoidal mola* pode ser considerado análogo ao deslocamento descrito para *Nippostrongylus brasiliensis*, uma espécie intestinal parasita, que apresenta a técnica peculiar de “rolos helicoidais” quando nada (LEE e BIGGS, 1990).

Diferente do movimento clássico senoidal, o *senoidal ômega* proporciona mais agilidade porque uma onda formada não é totalmente finalizada, quando outra onda já se inicia. Nas observações do comportamento de natação, o modo de deslocamento *senoidal ômega* foi diagnosticado com frequência na espécie

Daptonema sp1. Indivíduos dessa espécie são nadadores ágeis, assim como os indivíduos de *Anoplostoma* sp1.

As espécies com estratégias de locomoção *rastejador* apresentaram os modos de deslocamento *circular estático* e *senoidal letárgico*. O modo de deslocamento *circular estático* pode ser descrito como um movimento em que o organismo dá voltas em torno do próprio corpo sem muita agilidade corporal e o *senoidal letárgico*, literalmente, como um movimento senoidal lento. As espécies *Spirinia parasitifera* Bastian, 1865 e *Sabatieria* sp1, categorizadas como *rastejadoras* apresentaram o deslocamento *senoidal circular*. Essas espécies se mostraram ágeis entre os grãos de sedimento, mas quando ressuspendidas não exibiam comportamento de natação e logo afundavam. Portanto, a estratégia *rastejador* pode ser relacionada ao modo de deslocamento *senoidal circular*, eficiente para a movimentação no sedimento, mas não suficientemente ágil para a natação. A princípio, os modos de deslocamento *senoidal ômega* e *senoidal circular* associados, respectivamente, com as estratégias de locomoção *nadador* e *rastejador* complementam as observações de Gray e Lissmann (1964). Segundo esses autores, as estratégias de rastejar e nadar podem variar de acordo com o ambiente, mas o modo de deslocamento *senoidal* é sempre o mesmo.

A estratégia de locomoção *letárgica* foi facilmente identificada, porque os organismos observados não apresentam quaisquer movimentos corporais, tanto no sedimento como na coluna d'água. As espécies *Pseudochromadora incubans* Goubault e Vincx, 1990 e *Metachromadora chandleri* mostraram comportamento letárgico no sedimento em praticamente todas as observações. As espécies letárgicas apresentaram o mesmo padrão quando observadas em agar, sem deslocamento, o que justifica a sua categorização como *estáticas*.

Em suma, o modelo experimental proposto foi considerado eficiente para identificar os artefatos experimentais, permitindo um melhor reconhecimento dos comportamentos atípicos, graças a observações sistemáticas em dias sucessivos, quando presumidamente as condições de manutenção dos animais vão se deteriorando. Esses comportamentos anômalos, frutos de artefatos experimentais, foram principalmente alterações da estratégia de locomoção *nadador* e *rastejador* para *letárgico* e modo de deslocamento *senoidal ômega* e *senoidal circular* para *estático*. Isto ressalta a importância da aplicação de um modelo experimental

baseado nas síndromes em estudos de comportamento sob condições de laboratório.

Em última análise, a integração das estratégias de locomoção, modos de deslocamento, morfologias e grupos tróficos permitiu o reconhecimento de distintos grupos funcionais de dispersão. Posto que nematoides vágeis são todos aqueles que conseguem se locomover ativamente, seja através da natação ou do rastejamento e sedentários, são caracterizados por movimentos limitados no tempo e no espaço, às estratégias de locomoção, *nadador*, *rastejador* e *letárgico*, determinaram os grupos funcionais de dispersão, respectivamente, como *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário*.

De forma geral, o grupo funcional *vágil nadador* mostra comportamento ativo, com capacidade de natação, proporcionado pelo modo de deslocamento *senoidal ômega*, tamanho de corpo $< 2 \text{ mm}$ e forma da cauda *clavada-cônica/cilíndrica*.

As espécies que foram agrupadas com o comportamento *vágil nadador* foram *Daptonema* sp1, *Anoplostoma* sp1, *Halichoabolaimus* sp1 e *Chromadora* sp1. No entanto, *Batylaimus* sp1 e *Viscosia glabra* foram classificadas tanto como *rastejador* quanto *nadador* e *V. cobbi* e *Neochromadora* foram observadas apenas uma vez com comportamento *nadador*. Ainda, *Eurystomina ornata* mostrou estratégia de locomoção *nadador*, mas não foi agrupada nos agrupamento *vágil nadador*. Nesse caso, tanto as espécies que foram agrupadas quanto as que a princípio mostraram inconsistências podem ser consideradas no grupo funcional *vágil nadador*. Isso porque nessas espécies as características da forma da cauda *clavada-cônica/cilíndrica* e modo de deslocamento *senoidal ômega* e *senoidal mola*, no caso de *E. ornata*, sugerem uma grande agilidade dos nematoides para se locomover tanto no sedimento quanto na coluna d'água auxiliando no movimento de natação.

A forma do corpo não mostrou uma relação direta com a maior ou menor agilidade nos movimentos de natação, evidenciando que tanto espécies *robustas* quanto *esbeltas* são capazes de nadar. Fonseca-Genevois *et al.* (2006) mostraram que a robusta *Daptonema* sp1, *comedora de depósito não seletivo*, foi a exceção entre as espécies que colonizaram substratos artificiais dispostos na coluna d'água a 3 metros do fundo marinho após eventos de ressuspensão, sugerindo que além dos

eventos de ressuspensão e dispersão passiva a natação também foi considerada. Nossos resultados mostraram além de *Daptonema* sp1, as espécies comedora de depósito não seletivo com forma do corpo robusta *Halichoabolaimus* sp1 e *Batylaimus* sp1 e esbeltas, *Anoplostoma* sp1, *Halichoabolaimus* sp1 e *Halalaimus* sp1, também mostraram comportamento vágil nadador.

Da mesma forma, o tamanho do corpo não mostrou relação direta com a maior ou menor capacidade de natação. As espécies que foram agrupadas com o comportamento vágil nadador variaram entre menores e maiores de 2 mm. Segundo o modelo desenvolvido por Crofton (1966), somente indivíduos menores que 1 mm, na maioria das vezes a fase livre natante do ciclo de vida de espécies parasitas, teriam a habilidade de nadar livremente com movimentos ondulatórios do corpo, já que a viscosidade da água pode impedir a movimentação de organismos maiores. No entanto, Ullberg e Ólafsson (2003) mostraram que a capacidade de natação não é exibida apenas por espécies pequenas. Mostraram que *Trichotheristus* sp., espécie relativamente grande e com setas cefálicas longas, é capaz de permanecer nadando na coluna d'água, não mostrando preferência por nenhum local de assentamento. Da mesma forma, animais do gênero *Viscosia*, espécie relativamente grande e com setas cefálicas curtas, têm a capacidade de permanecer na coluna d'água e atingir com movimentação ativa distâncias superiores a um metro durante um único evento de maré (THOMAS e LANA, 2011). A pequena habilidade natatória, acarretada pelo tamanho maior que 2 mm em relação à viscosidade da água, pode ter sido superada pela alta frequência de ondulações do corpo (THOMAS e LANA, 2011).

O experimento de colonização de substratos dispostos na coluna d'água após eventos de ressuspensão foram recolonizados principalmente por comedoras de epistrato, *Chromadora*, *Chromadorella*, *Chromadorina*, *Euchormadora* e *Ptychoaimellus* e as predadoras *Viscosia* e *Oncholaimus* (FONSECA-GENEVOIS et al., 2006). Nesse caso, as espécies comedoras de epistrato e predadoras foram as que mostraram potencial de dispersão pela coluna d'água e capacidade de atingir, através da natação após suspensão ou saída ativa do sedimento a coluna d'água, distâncias que somente a dispersão passiva combinada com a presumida limitada capacidade de dispersão não poderiam explicar (FONSECA-GENEVOIS et al. 2006). A concepção de nematoides como partículas passivas já havia sido

contestada por Ullberg e Ólafsson (2003), que mostraram que algumas espécies são capazes de nadar na coluna d'água e escolher o local de assentamento. Além da relação com o processo de ressuspensão e/ou saída ativa do sedimento, o comportamento de natação em nematoides marinhos foi também relacionado às espécies que vivem associadas à macroalgas. Jensen (1981) mostrou que a espécie fital *Chromadorita tenuis* pode nadar rapidamente do sedimento para a macroalga submergida, atingindo velocidades de até 5 cm. s^{-1} . Posto que o agrupamento vágil nadador foi composto, além de *comedoras de depósito não seletivo*, por *comedoras de epistrato*, *Chromadora* sp1, *Neochromadora* sp1 e *E. ornata* e predadoras, *Viscosia glabra* e *V. cobbi*, nossos resultados reforçam a existência de um componente ativo associado aos processos de dispersão passiva, após ressuspensão para coluna d'água, relacionado a morfologia da cauda e modo de deslocamento.

Ao contrário das espécies *vágeis nadadoras*, as espécies *vágeis rastejadoras*, *T. longicaudata*, *Sabatieria* sp1 e *Axonolaimus* sp1 apresentaram modo de deslocamento *senoidal circular*, cutícula *estriada*, corpo *esbelto* e grupo trófico *comedor de depósito seletivo*, como suas características primárias que determinam a locomoção ativa no ambiente intersticial, com exceção de *Halalaimus* sp1 e *Diplolaimoides* sp1 que não apresentam cutícula *estriada* e *Spirinia parasitifera*, que é do grupo trófico *comedores de epistrato*. Espécies desse grupo funcional teriam a capacidade de rastejar entre os grãos de sedimento, com a finalidade de localizar alimento, principalmente nas camadas mais profundas do sedimento. A categorização de um grupo funcional *vágil rastejador* ratifica outros trabalhos que também descreveram a alta capacidade de migração vertical no sedimento associando estratégias de locomoção ativa com a forma da cauda (THISTLE e SHERMAN, 1985, THISTLE *et al.*, 1995) e tamanho e forma do corpo (SOETAERT *et al.*, 2002).

O potencial de dispersão das espécies *vágeis rastejadoras* pode estar associada à busca por diferentes itens alimentares. Espécies *comedoras de depósito seletivas* são extremamente especialistas e respondem de forma diferenciada à qualidade e densidade do alimento (MOENS *et al.*, 1999). *Sabatieria pulchra* é capaz de migrar em direção à superfície do sedimento durante períodos de emersão, realizando migração inversa em períodos de submersão (FRANCO *et al.*,

2008). Este comportamento pode estar relacionado à preferência por temperaturas mais elevadas na interface sedimento-água em períodos de emersão e à busca por microalgas (FRANCO *et al.*, 2008). A espécie *Sabatieria punctata* também pode penetrar profundamente em sedimentos reduzidos ou oxidados e sua distribuição vertical parece ser mais dependente da disponibilidade de alimento do que das concentrações de oxigênio (STEYART *et al.*, 1999). Da mesma forma que os nematoides que apresentam capacidade de natação após ressuspensão (JENSEN, 1981; ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003), outros estudos mostraram que determinadas espécies tem a capacidade de migração vertical no sedimento, evitando a ressuspensão e dispersão passiva através da coluna d'água, (STEYAERT *et al.*, 1999, 2001).

É fundamental compreender que estratégias de dispersão mais precisas ainda necessitam ser elucidadas devido à alta diversidade de espécies de nematoides em diferentes ambientes marinhos. Por exemplo, Steyaert *et al.* (2001) relataram que a migração descendente da predadora *Enoploides longispiculosus* durante a maré baixa, seguido de um retorno para as camadas mais superficiais durante a submersão, ao contrário da ideia em comum de que nematoides movem-se para as camadas mais profundas do sedimento para evitar a ressuspensão (BOADEN e PLATT, 1971; PALMER e MOLLOY, 1986; FEGLEY, 1985).

Gallucci *et al.* (2005) relacionaram o comportamento de migração vertical em espécies predadoras à proporção de silte, que determina o grau de porosidade do sedimento. Sugerindo que a distribuição vertical do nematoide predador, *Enoploides longispiculosus* podem ser reguladas mais por influência de características do sedimento e eficiência de forragear do que somente pela disponibilidade de alimento. As espécies predadoras *Viscosia glabra* e *V. cobbi*, a princípio foram categorizadas no grupo funcional vágil nadador, mas também mostraram estratégia de locomoção de rastejamento, sugerindo que a vagilidade pode estar relacionada tanto à natação quanto ao rastejamento dependendo da composição do sedimento. Condições ambientais também influenciaram nos mecanismos de dispersão da *vágil rastejadora* *S. parasitifera*, que é classificado como grupo trófico *comedores de epistrato*. Embora espécies desse gênero sejam classificadas como *vágeis rastejadores*, podem apresentar cerdas somáticas grandes e conspícuas além de glândulas caudais que são relacionadas à adesão ao sedimento (ADANS e TYLER,

1980), atuando como âncoras. Em ambientes de alta energia, a presença dessas estruturas permitiu que organismos fossem carregados por distâncias menores após a ressuspensão, em relação aos nematoides que não são fixos aos grãos (GINGOLD *et al.*, 2011).

A guilda *sedentária* foi formada por *Metachromadora chandleri* e *Pseudochromadora incubans* que apresentam um corpo $< 2\text{ mm}$ e formato *robusto*, o que restringe o deslocamento por movimentos senoidais ou similares. A combinação dessas características com a presença de cauda *cônica* e cutícula *estriada* pode estar diretamente relacionada ao comportamento *sedentário*. De forma geral, a categorização de uma guilda *sedentária* é reforçada por outros trabalhos que sugerem que corpos robustos estão relacionados com o comportamento letárgico. A ausência de movimentação vertical de *Metachromadora chandleri* durante um ciclo de maré pode ser relacionada à sua menor mobilidade, resultante da forma do corpo como resposta adaptativa à pressão da predação, como sugeridas para espécies robustas por Soetaert *et al.* (2002). O fato de habitarem as camadas superficiais do sedimento, devido ao hábito alimentar *comedor de epistrato* e comportamento *letárgico*, torna ainda maior a probabilidade dessas espécies serem suspendidas na coluna d'água (BELL e SHERMAN 1980; ESKIN e PALMER 1985; THOMAS e LANA, 2011; GINGOLD *et al.*, 2011).

A integração das estratégias de locomoção, modos de deslocamento, características morfológicas e grupos tróficos em grupos funcionais permite antever a capacidade de locomoção das espécies de nematoides, atendendo ao primeiro dos componentes que determinam a dinâmica da dispersão, ou seja, a vagilidade e o sedentarismo. O conjunto dessas informações pode auxiliar na compreensão dos processos de dispersão e, conseqüentemente, facilitar o reconhecimento dos padrões de distribuição de espécies de nematoides em distintas escalas espaciais.

Convém ressaltar que a princípio não existe um agrupamento com características morfológicas exclusivas, bem como ausências de exceções, se considerarmos a grande diversidade e capacidade adaptativa de nematoides. Todavia, a combinação de características dos comportamentos *vágil* e *sedentário* com os hábitos alimentares pode conter importantes informações a respeito do potencial de dispersão das espécies, que depende, em última análise, da eficiência das estratégias de locomoção, como nadar e rastejar. A suscetibilidade ao

carreamento pela coluna d'água, em distintas escalas espaciais, também deve ser considerada e, dependendo das condições ambientais, podem gerar uma impressão errônea de que as espécies são adaptadas a um ou possivelmente dois grupos funcionais de dispersão, mostrando sobreposição dos grupos funcionais. Portanto, os grupos funcionais de dispersão não dependem exclusivamente da combinação dos comportamentos vágil e sedentário, morfologia e grupo trófico, mas também da hidrodinâmica local, que determina os processos de dispersão prevalente - passivo, ativo ou "rafting".

É evidente que uma abordagem de grupos funcionais que abrem espaço para sobreposições das características, tanto comportamentais quanto morfológicas, não é mais poderosa do que uma classificação única, mas pode ser bastante interessante se considerarmos uma abordagem evolutiva das espécies nos diversos ambientes marinhos. Ao contrário de Wieser (1953), que propôs grupos funcionais de alimentação com características da morfologia da boca exclusivas para cada grupo trófico, Thistle *et al.* (1995) mostraram que as formas da cauda não são restritas a determinadas morfologias bucais e que dependendo das condições do ambiente podem ocorrer sobreposição de características, assim como para os grupos tróficos propostos por Wieser (1953).

Nesse caso, a sobreposição de características dos grupos funcionais de alimentação (WIESER, 1953), locomoção (THISTLE *et al.*, 1995) e dispersão, proposto na presente tese, pode ser relevante para explicar os padrões atuais de distribuição das espécies em distintos ambientes marinhos e abre uma nova perspectiva evolutiva dos nematoides marinhos. Por exemplo, Thistle e Sherman (1985) sugeriram pela relação da forma da cauda e grupo trófico, que a estratégia dos organismos fixarem-se aos grãos de sedimento favorece a formação de populações agregadas tanto em ambientes de alta energia quando baixa energia. Entende-se aqui, que as espécies que se fixam aos grãos de sedimento correspondem as *vágeis rastejadoras* como forma de evitar a ressuspensão. Por outro lado, Gingold *et al.* (2011) mostraram que a hidrodinâmica prevalente em ambientes entremarés determinaram os padrões de distribuição da *sedentária Metachormadora* sp. Em um ambiente de alta energia, organismos deste gênero foram ressuspensos e dispersados passivamente pela coluna d'água determinando uma distribuição da população mais homogênea. Ao contrário, um

ambiente sem correntes e ondas permitiu a formação de populações agregadas no entorno de manchas de microfitobentos, que é fonte de alimento desta espécie (GINGOLD *et al.*, 2011).

Por fim, o sistema de grupo funcional de dispersão mais informativo será aquele que melhor corresponde ao conjunto de estratégias de vida das espécies para todos os ambientes. Reconhecida a grande diversidade de espécies, os três grupos funcionais de dispersão, *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário* podem ser suficientes para definir os padrões de distribuição em distintos ambientes e podem ser um novo passo em direção à compreensão dos mecanismos e potencial de dispersão dos nematoides marinhos.

3 GRUPOS FUNCIONAIS DE DISPERSÃO DE NEMATOIDES MARINHOS: RESPOSTAS PARA A PRESENÇA DE ESPÉCIES NA COLUNA D'ÁGUA?

3.1 INTRODUÇÃO

As populações de organismos bênticos marinhos são reconhecidas por sua alta variabilidade no tempo e no espaço. Avanços recentes no conhecimento dos padrões de distribuição de nematoides marinhos de vida livre em pequena e grande escala enfatizaram a importância dos processos de dispersão envolvidos (GIERE, 2002; BOECKNER *et al.*, 2009; GINGOLD *et al.*, 2011).

Para as espécies da meiofauna, destacando os nematoides, reconhece-se que a distribuição espacial da população, em micro e mesoescala, é do tipo agregada (OZORIO *et al.*, 1999; GINGOLD *et al.*, 2011). Em microescala (centímetros até metros), as agregações são determinadas e estruturadas por fatores biológicos, relações intra e interespecíficas, pela presença de estruturas biogênicas e disponibilidade de alimento (SANTOS *et al.*, 1996; MOENS *et al.*, 1999). Enquanto em mesoescala (metros a dezenas de metros), os fatores abióticos como granulometria do sedimento, salinidade e hidrodinâmica, geralmente são considerados como os mais importantes na estruturação das comunidades (SOETAERT *et al.*, 1994; SMOL *et al.*, 1994; GALLUCCI e NETTO, 2004; GALLUCCI *et al.*, 2005). Gingold *et al.* (2011) mostraram que diferentes regimes hidrodinâmicos associados a distintas condições do ambiente intersticiais influenciaram a distribuição das populações de nematoides. Nesse caso, a importância de estudos a respeito dos processos físicos e biológico, assim como os distintos mecanismos de dispersão das espécies de nematoides foi ressaltada para explicar os padrões de distribuição observados.

Em larga escala espacial, a dispersão dos organismos, através da coluna d'água - que pode até transpor oceanos - foi considerada a explicação mais plausível para a distribuição das espécies. Por exemplo, a distribuição de *Metasphaerolaimus hamatus*, *Metasphaerolaimus crassicayda*, *Syringolaimus renaudae* e *Halichoalaimus minor* atravessa uma grande porção latitudinal do Oceano Atlântico Oriental (20°S a 70°N), aproximadamente 10 000 km de distância (JENSEN, 1992). Esse padrão sugere um mecanismo de dispersão efetivo, quando

uma causa histórica, como a tectônica de placas, não pode ser aplicada como agente causador desta distribuição (ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003).

Ao contrário, Todaro *et al.* (1986) questionaram a alta proporção de espécies cosmopolitas de acordo com registros a respeito dos padrões de distribuição das espécies, geralmente originados de diferentes escalas espaciais e temporais, e o número de indivíduos examinados ser muito baixo não permitindo comparações mais complexas. Atualmente, por meio de análises moleculares, muitas espécies que acreditava-se ter uma distribuição cosmopolita revelaram-se um complexo de espécies, morfologicamente idênticas, mas geneticamente distintas (BHADURY *et al.*, 2008; DERYCKE *et al.*, 2008; FONSECA *et al.*, 2008; DERYCKE *et al.*, 2010). Devido a essas inconsistências e contradições da literatura, o padrão de distribuição das espécies, assim como o potencial de dispersão de espécies de nematoides marinhos e escalas espaciais atingidas permanecem pouco conhecidas.

Embora longe de ser compreendidos, os processos de dispersão sejam passivo, após ressuspensão do sedimento, emergência ativa do sedimento para coluna d'água ou por "rafting" (transporte associado a materiais flutuantes), devem ser considerados em quaisquer análises da abundância, dinâmica da população, colonização e distribuição geográfica de animais meiofaunais, posto que esses distintos processos certamente influenciam na distribuição de espécies de nematoides em fundos marinhos.

Uma vez na coluna d'água, os nematoides podem ser transportados por longas distâncias, justamente por causa de seu pequeno tamanho. Experimentos realizados em planícies de maré não vegetadas mostraram que animais pertencentes aos gêneros mais abundantes, nas assembleias bênticas, foram suspensos e encontrados a até 2 metros do ponto de origem em um único evento de maré enchente (COMMITO e TITA, 2002; THOMAS e LANA, 2011). A suspensão talvez seja a melhor explicação para a rápida recolonização destas planícies de marés areno-lodosas, com a recuperação das densidades iniciais de áreas defaunadas após um único ciclo de maré (ATILLA e FLEEGER, 2000; ZHOU, 2001).

Os processos de dispersão por erosão e carreamento dos nematoides na coluna d' água dependem de um conjunto de fatores abióticos, como a hidrodinâmica e a textura dos sedimentos (PALMER, 1988), mas também das características morfológicas e comportamentais dos próprios animais (PALMER,

1988; COMMITO e TITO, 2002; THOMAS e LANA, 2011, Capítulo 1 desta tese). Os animais mais comumente encontrados na coluna d'água ocorrem nas camadas superficiais do sedimento, sendo a princípio mais suscetíveis à suspensão passiva (PALMER e GUST, 1985; COMMITO e TITA, 2002, BOECKNER *et al.*, 2009, THOMAS e LANA, 2011). Isso ocorre em áreas de alta energia, onde as ondas e correntes de maré provocam a suspensão principalmente de comedores de depósito superficial, que dependem primariamente das algas ou bactérias na superfície do sedimento, como é o caso de *Ptycholaimellus ponticus* (COMMITO e TITA, 2002). Igualmente, espécies associadas a algas de deriva podem ser mais propensas à suspensão (DERYCKE *et al.*, 2008). Por outro lado, espécies frequentemente abundantes nas camadas mais profundas do sedimento, como *Sabatieria pulchra*, *Terschellingia longicaudata* e *Odontophora setosa*, raramente são suspensas (ESKIN e PALMER, 1985).

De uma forma geral, os trabalhos a respeito da distribuição das populações indicaram que as espécies de nematoides marinhos possuem diferentes padrões de dispersão, pelo menos em curta escala temporal e espacial (JENSEN, 1981; ESKIN e PALMER, 1985; COMMITO e TITA, 2002; ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003;; DERYCKE *et al.*, 2008; BOECKNER *et al.*, 2009; THOMAS e LANA, 2011). Mesmo na ausência de modelos teóricos ou de testes experimentais robustos, esses trabalhos sugerem que as características morfológicas, fisiológicas e comportamentais dos nematoides marinhos podem determinar sua presença e abundância na coluna d'água, aumentando ou reduzindo suas chances de deslocamento ativo ou passivo.

Algumas adaptações morfológicas foram observadas em nematoides que vivem em *habitats* expostos à ação de ondas e correntes de maré, tais como o pequeno comprimento do corpo, anelações e ornamentações na cutícula e espinhos que oferecem resistência para evitar a suspensão, além de uma cauda comprida e esguia (THISTLE e SHERMAN, 1985). Por outro lado, Gerlach (1948) descreveu a presença de secreções adesivas produzidas por glândulas, especialmente as caudais, que permitiriam a fixação dos organismos aos grãos de sedimento e, conseqüentemente, evitar a suspensão para a coluna d'água. Estratégias comportamentais também foram observadas. Para evitar a suspensão, os nematoides deslocam-se verticalmente, enterrando-se quando o fluxo de corrente

aumenta alternativamente, deixando o sedimento para serem transportados ativamente (CHANDRASEKARA e FRID, 1996). Apesar de reconhecerem a importância primária das correntes no transporte dos organismos, Thomas e Lana (2011) enfatizaram o papel das características morfológicas e de vida como condicionadores dos processos de dispersão dos nematoides marinhos através da coluna d'água após um evento de maré enchente.

Nesse sentido, os modos de vida e a morfologia corporal, que afetam ou condicionam a capacidade de locomoção, podem ser determinantes para definir os padrões de distribuição espacial das espécies mais suscetíveis de suspensão por erosão e das espécies que tendem a permanecer no substrato. Ao combinar ou integrar características compartilhadas de vida, o conceito de grupos funcionais dispersão, entendidos como um conjunto de animais que se dispersam de forma similar em seus espaços de vida, representa um importante avanço teórico para compreender os padrões de distribuição de nematoides de vida livre.

No capítulo I desta tese, espécies *vágeis nadadoras* foram definidas pelo conjunto de características como comportamento ativo, com capacidade de natação, possibilitado pelo modo de deslocamento *senoidal ômega*, tamanho de corpo < 2 mm e forma da cauda *clavada-cônica/cilíndrica*. Ao contrário, as espécies *vágeis rastejadoras* apresentaram modo de deslocamento *senoidal circular*, cutícula *estriada*, corpo *esbelto* e grupo trófico *comedor de depósito seletivo* como suas características primárias que determinam a locomoção ativa no ambiente intersticial. Por fim, o grupo funcional *sedentário* foi formado pelas espécies que apresentam um corpo < 2 mm e formato *robusto*, o que restringe o deslocamento por movimentos senoidais ou similares. O fato de habitarem as camadas superficiais do sedimento, pelo hábito alimentar *comedor de epístrato*, aumenta a probabilidade das espécies *sedentárias* serem mais facilmente suspendidas para a coluna d'água (Tabela 8).

Tabela 8. Grupos funcionais de dispersão *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário* definidos a partir da integração dos comportamentos, associados com a morfologia do corpo e ao comportamento trófico de diferentes espécies de nematoides marinhos (Capítulo I desta tese).

Grupos funcionais de dispersão	Características	Categorias
<i>Vágil nadador</i>	Estratégias de locomoção	<i>Nadador</i>
	Modos de deslocamento	<i>Senoidal ômega</i>
	Grupos tróficos	<i>1B- comedores não seletivos de depósitos e 2B- predadores</i>
	Forma do corpo	<i>Esbelto</i>
	Tipos de cauda	<i>Clavada-cônica/cilíndrica</i>
<i>Vágil rastejador</i>	Estratégias de locomoção	<i>Rastejador</i>
	Modos de deslocamento	<i>Senoidal circular</i>
	Grupos tróficos	<i>1A- comedores seletivos de depósito</i>
	Forma do corpo	<i>Esbelto</i>
<i>Sedentário</i>	Estratégias de locomoção	<i>Letárgico</i>
	Modos de deslocamento	<i>Estático</i>
	Grupos tróficos	<i>2A- comedores de superfície</i>
	Tamanho do corpo	<i>< 2 mm</i>
	Forma do corpo	<i>Robusto</i>
	Tipos de cauda	<i>Cônica</i>
	Tipos de cutícula	<i>Estriada</i>

Por meio de um experimento de campo, em um baio subtropical não vegetado na Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil), este trabalho avaliou a presença de nematoides marinhos na coluna d'água relacionada com o potencial de dispersão. Testamos a hipótese de que a dispersão de nematoides marinhos de vida livre através da coluna d'água é uma função da suscetibilidade a ressuspensão e dos distintos potenciais associados às grupos funcionais de dispersão *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário*. Para isto, comparamos a abundância relativa desses três grupos funcionais de dispersão de dispersão na coluna de água e no sedimento, no sentido de uma corrente unidirecional de maré enchente, com capacidade de suspender e carrear nematoides corados para locais distantes do ponto corado.

Foi testada a seguinte hipótese:

H: Se a erosão das camadas superficiais do sedimento, e a subsequente suspensão e carreamento dos nematoides na coluna d'água, é o condicionador primário da dispersão, então a abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão *vágil nadador* (VN), *vágil rastejador* (VR) e *sedentário* (S) não deverá diferir entre a coluna d'água e o sedimento ao longo do transecto amostral.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Área de estudo

A Baía de Paranaguá, centrada em 25°30'S / 48°25'W é um complexo estuarino semifechado, com uma área total de 612 km², bordejado por extensas planícies de marés colonizadas por manguezais e marismas. A baía possui dois eixos principais, um de orientação leste-oeste, formado pelas Baías de Paranaguá propriamente dita e de Antonina (260 km²), e o segundo de orientação norte-sul, formado pelas Baías de Guaraqueçaba, Pinheiros e das Laranjeiras (200 km²). A maré é do tipo semidiurno misto. A amplitude de maré aumenta da porção leste para a montante do estuário, onde a variação média está em torno de 2,2 m. A amplificação da maré pode ser causada por ventos fortes e constantes, do quadrante sul, que geralmente ocorrem no inverno (MARONE e CAMARGO, 1994).

A estrutura e o funcionamento do sistema são influenciados por diferentes gradientes. Um gradiente ambiental de salinidade e energia, que define condições de água doce até condições marinhas, ao longo dos eixos norte-sul e leste-oeste, divide a baía em quatro setores, reconhecidos como euhalino, com salinidades próximas ou superiores a 30, polihalino, oligohalino e mesohalino, com salinidades entre 0-25 (LANA *et al.*, 2000).

O experimento foi realizado em um baixio não vegetado na Ilha dos Papagaios (25°32'48"S;48°26'12"W; Figura 9), no setor euhalino da baía. Noernberg *et al.* (2004) classificaram essa região como sub-estuário da Cotinga, com base em suas características hidrográficas e morfológicas. O sub-estuário é drenado por rios de maré meandantes, responsáveis, juntamente com fluxos de marés no sentido leste-oeste, pelo aporte de sedimentos para extensas planícies de maré não vegetadas, frequentes na Ilha Rasa, Ilha Rasa da Cotinga e Ilha dos Papagaios. A hidrodinâmica local é fortemente influenciada pelas marés e correntes de marés, sobrepujando o efeito dos fluxos fluviais adjacentes (BIGARELLA *et al.*, 1978). Essa região também sofre com a maior influência da água marinha, com suas planícies entremarés sendo formadas basicamente por areia fina bem selecionada e com baixo teor de matéria orgânica (NOERNBERG *et al.*, 2004).

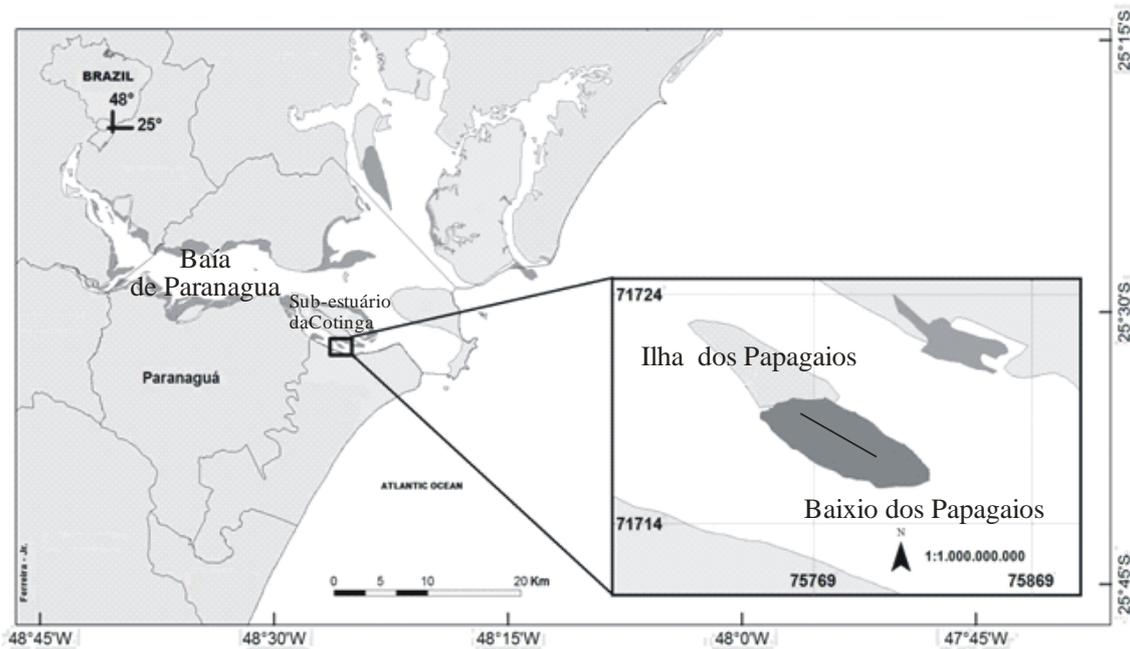


Figura 9: Complexo estuarino da Baía de Paranaguá, com destaque para o setor sub-estuarino da Cotinga e para o Baixo dos Papagaios, local do experimento. A reta em preto indica o transecto experimental.

As características do baixo da Ilha dos Papagaios são similares às do baixo da Ilha Rasa, descritas em detalhe por Fonseca *et al.* (1998). Esse baixo compreende três áreas determinadas por distintos graus de hidrodinamismo: a região localizada nos primeiros 100 m de extensão da planície, medidos a partir do limite do infralitoral, que apresenta o maior hidrodinamismo, definido como alto a muito alto; a porção mediana da planície é caracterizada pelo hidrodinamismo alto a moderado, enquanto a região superior comporta-se como um ambiente de energia moderada.

Em regiões tropicais e subtropicais, as planícies também podem ser colonizadas por marismas e mangues, microfítobentos e macroalgas de deriva. Gêneros de macroalgas *Ulva* e *Enteromorpha* (Ulvaceae, Chlorophyta) são comuns nesses ambientes entremarés (BLOMSTER *et al.*, 2002). Na área experimental, principalmente no mês de junho, foram observadas altas densidades de *Ulva flexuosa*, tanto no sedimento quanto na coluna d'água (obs. pessoal).

3.2.2 Procedimentos de campo e laboratório

O experimento foi realizado na porção mediana do baixio da Ilha dos Papagaios, caracterizada pela prevalência de um fluxo de maré enchente unidirecional, com velocidade média de 9 cm/s (THOMAS e LANA, 2011) durante sizígias e extensão superior a 200 m, considerada adequada para avaliar experimentalmente a dispersão de nematoides. O experimento I foi realizado em junho de 2008 e o experimento II em janeiro de 2009, durante períodos de maré enchente de sizígia (Figura 10).

Durante a maré baixa, sob condições de exposição, foi demarcado um transecto de aproximadamente 200 m a partir de P0 (ponto zero ou inicial) na região mediana do baixio. Em P0 foram enterrados 2 cores de PVC, com 30 cm de diâmetro e 30 cm de altura a 5 cm um do outro, para delimitar e isolar a área de sedimento a ser corado. Com o sedimento ainda exposto, foram aplicados 120 ml do corante vital Vermelho Neutro a 0,1% no interior de cada um dos cores, com uma seringa hipodérmica. Nessa concentração, são necessárias pelo menos de 3 horas de exposição ao corante para marcação eficaz dos nematoides (THOMAS e LANA, 2011). Momentos antes da chegada da primeira onda de maré, o corer foi retirado para que a água pudesse fluir livremente sobre as seções de sedimento coradas.

Ao longo do transecto foram posicionadas mini redes de fitoplâncton com 30 cm de diâmetro de boca, 60 cm de comprimento, malha de 42 μ e copo coletor terminal que serviu como uma boia elevando a rede na coluna d'água paralelamente ao fundo, sempre a aproximadamente 10 cm de altura do sedimento. Três redes foram posicionadas em cada um dos pontos: P1 a 3 do P0, P2 a 6 m, P3 a 12 m, P4 a 24 m, P5, 48 m, P6 a 96 m e P7 a 192 m (Figura 10). As redes tiveram por objetivo capturar os nematoides corados, ou não corados, na coluna d'água durante maré enchente em diferentes escalas espaciais. Após uma hora de encobrimento total pela maré enchente, as redes foram retiradas e lavadas com água do próprio ambiente, para extração dos organismos capturados vivos.

As amostras foram armazenadas em vidros devidamente etiquetados, mantidas em caixa térmica com gelo e levadas a laboratório climatizado para posterior triagem dos organismos vivos. A triagem das amostras foi feita em placa de

Dollfus com aproximadamente 30 ml de água do local de coleta, sob microscópio estereoscópico.

Todos os nematoides capturados nas redes, corados ou não corados, foram retirados com micropipeta e separados para posterior montagem das lâminas permanentes utilizando a técnica modificada de diafanização (DE GRISSE, 1969). Os organismos foram transferidos para cadinhos com solução I (1 parte de glicerina para 99 partes de formalina) que permaneceram em um dessecador, com álcool 95%, durante 24 horas em estufa a 40 °C. Durante esse processo, a formalina da solução I evaporou e foi automaticamente substituída pelo álcool presente no dessecador. Os cadinhos com os nematoides foram então retirados do dessecador e mantidos em estufa a 40 °C, durante 12 horas, acrescentando-se a Solução II (5 partes de glicerina para 95 partes de álcool 95%) a cada 4 horas. No final do processo foi acrescentada a solução III (50 partes de glicerina para 50 partes de álcool) para montagem das lâminas permanentes. Os nematoides dos cadinhos foram transferidos com uma alça para uma gota de glicerina em lâminas pré-preparadas com um anel de parafina (SOMERFIELD e WARWICK, 1996), e recobertas por uma lamínula. As lâminas foram colocadas em uma chapa elétrica para derreter a parafina e fixar a lamínula. A identificação em nível de espécie foi feita sob microscopia ótica, utilizando as chaves pictóricas de Platt e Warwick (1983, 1988) e Warwick *et al.* (1998), além de literatura especializada. Após identificação, todas as espécies foram alocadas aos três distintos grupos funcionais de dispersão de dispersão, reconhecidas *a priori*.

A abundância relativa dos grupos tróficos de dispersão no sedimento foi analisada em amostras tomadas nos 7 pontos ao longo do transectos (P1 a 3 metros do P0, P2 a 6 m, P3 a 12 m, P4 a 24 m, P5, 48 m, P6 a 96 m e P7 a 192 m). As amostras foram retiradas do sedimento, aproximadamente, em um raio de 30 cm, do entorno de cada ponto no qual foram posicionadas as redes descritas anteriormente (Figura 10). Em cada ponto foram tomadas aleatoriamente 3 amostras de sedimento com um amostrador de 2,5 cm de diâmetro e retirados apenas os cinco primeiros centímetros da amostra.

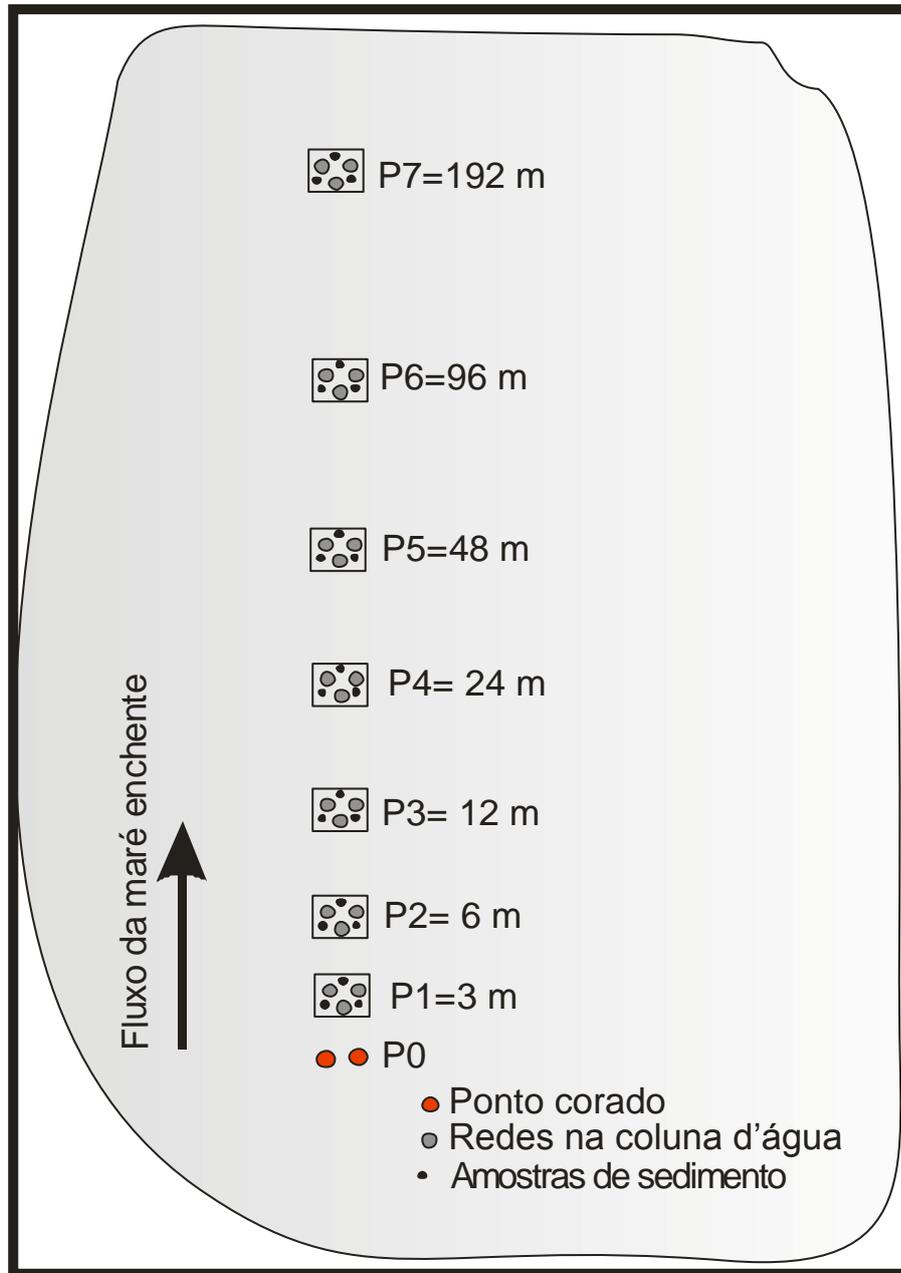


Figura 10. Diagrama do delineamento experimental e disposição esquemática do ponto corado e dos pontos onde foram posicionadas as redes na coluna d'água e retiradas as amostras de sedimento.

As amostras de sedimento para extração da meiofauna foram processadas segundo o procedimento proposto por Somerfield e Warwick (1996). Inicialmente, foram fixadas em formol a 4% e triadas com peneira de malha de 63 μ . O material retido foi flotado com utilização de sílica coloidal (Ludox TM 50) diluída à gravidade específica de 1.15 durante 40 minutos. O sobrenadante foi retirado e novamente passado na peneira de 63 μ . Esse procedimento foi repetido três vezes com o

sedimento decantado. O material sobrenadante final de cada amostra foi transferido para uma placa de Dollfus e 100 indivíduos (ou todos os indivíduos, quando seu número era inferior a 120 na amostra), foram retirados com auxílio de estilete e colocados em cadinhos para diafanização (DE GRISSE, 1969). Após esse procedimento, 10 indivíduos foram depositados em cada lâmina previamente preparada com um círculo de parafina, contendo uma gota de glicerina. Ao final, foi acrescentada uma lamínula e o conjunto levado ao aquecimento para fixação da lamínula a parafina. Os nematoides presentes nas lâminas permanentes foram contados e identificados, sob microscópio estereoscópico, em nível de espécie a partir das chaves de identificações de Platt e Warwick (1983, 1988) e Warwick *et al.* (1998). Finalmente, o número total de nematoides em cada amostra foi multiplicado pelo número de indivíduo de cada espécie relativo aos 120 nematoides separados inicialmente para identificação. As espécies identificadas foram alocadas nas três grupos funcionais de dispersão estabelecidas *a priori*.

3.2.3. Análises dos dados

As espécies foram categorizadas nos grupos funcionais de dispersão propostos no Capítulo I, adotando-se os códigos VN = *vágil nadador*; VR = *vágil rastejador* e S = *sedentário* (Tabela 8). Posto que para a amostragem do sedimento foi utilizado um amostrador cuja unidade é em área (m^2) e para coluna d'água foi utilizada rede de captura, na qual a unidade é em volume (m^3), a densidade relativa (transformados para $23 m^3$) dos grupos funcionais de dispersão na coluna d'água e nas amostras de sedimento (transformados para $10 cm^2$) foi utilizada apenas para análises qualitativas e descritivas. A densidade de nematoides na coluna d'água foi transformada pelo volume de água filtrado por uma rede, calculado através da fórmula:

$$\text{Vol} = A \times v \times t$$

em que :

A = área da boca da rede de plâncton (30 cm de diâmetro)

v = velocidade da corrente de maré (aproximadamente 9 cm/s)

t = tempo que as redes ficaram na coluna d'água (3600s=1h)

Os experimentos I e II foram tratados como réplicas experimentais nas análises multivariadas e os dados brutos foram logaritimizados e standardizados para minimizar o efeito de diferentes unidades de medida e obter-se homogeneidade das variâncias.

Análises estatísticas multivariadas foram realizadas para testar a significância das diferenças na abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão no sedimento e na coluna d'água (interação Compartimento, *sedimento* e *coluna d'água*, vc Ponto, P1 a P7 > 0,05). O desenho experimental utilizado nas análises multivariadas incluiu dois fatores e apresentou a seguinte estrutura: compartimentos (2 níveis; fixos; *sedimento* e *coluna d'água*) e pontos (7 níveis; aleatórios; pontos P1, P2, P3, P4, P5, P6 e P7). Diferenças na abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão no sedimento e na coluna d'água foram testadas pela análise de variância multivariada permutacional (ANDERSON, 2001) com a aplicação do programa PERMANOVA, versão 1.6 (ANDERSON, 2005). Esta análise permite aplicar o mesmo modelo aditivo da análise de variância sobre uma matriz de distância qualquer e testar o efeito dos fatores através de permutações (ANDERSON, 2005). Quando apropriado, comparações pareadas *a posteriori* foram realizadas. Os resultados dos testes foram sustentados pela avaliação visual dos padrões nos gráficos MDS. Posteriormente, uma análise de porcentagem de similaridade (SIMPER) foi aplicada para avaliar os grupos funcionais de dispersão responsáveis pelas similaridades nas assembleias do sedimento e na coluna d'água. Todas as análises multivariadas utilizaram o coeficiente de dissimilaridade de Bray-Curtis. As análises multivariadas (MDS e SIMPER) foram geradas a partir do pacote estatístico PRIMER 6.0, de Clarke e Warwick (2001) (*Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research*) .

3.3 RESULTADOS

As espécies rastejadoras *Spirinia parasitifera*, *Terschellingia longicaudata* e *Sabatieria pulchrae* e as sedentárias *Metachromadora chandlei* e *Pseudochromadora incubans* dominaram numericamente as amostras do sedimento nos experimentos I e II (Tabela 9). A densidade do grupo funcional de dispersão *vágil rastejador* foi maior que as densidades dos demais grupos funcionais de dispersão correspondendo a 50% do total de nematoides do sedimento no experimento de 45 % no experimento II (Tabela 9). No experimento I, 30 % dos nematoides do sedimento foram categorizados no grupo funcional de dispersão *vágil nadador*, seguido das espécies *sedentárias*, com 20 % (Tabela 9). No experimento II, as espécies categorizadas como *sedentárias* representaram 30 % e as *vágeis nadadoras* 25 % do total dos nematoides do sedimento (Tabela 9).

As espécies *vágeis nadadoras* foram as numericamente dominantes na coluna d'água representadas respectivamente por *Chromadorina germanica*, *Euchromadora striata* e *Eurystomina* sp 1, no experimento I. *Chromadorina germanica* (VN), *Pseudochromadora incubans* (S), *Parodontophora* sp1 (VN) e *Spirinia parasitifera* (VR) foram as numericamente dominantes na coluna d'água no experimento II (Tabela 10). No experimento II, 87 % dos nematoides encontrados na coluna d'água foram categorizados no grupo funcional de dispersão *vágil nadador*, seguido das espécies *sedentárias*, com 20 % e 10 % *vágeis rastejadoras* (Tabela 10). No experimento II, as espécies categorizadas como *vágeis nadadoras* representaram 64 %, *sedentárias* 20 % e *vágeis rastejadoras* 16 % do total dos nematoides encontrados na coluna d'água (Tabela 10).

A abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão não diferiu significativamente entre a coluna d'água e o sedimento (Tabela 11). A proporção dos grupos funcionais de dispersão *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário* diferiu significativamente entre os pontos P1 a P7 (Tabela 11), sendo que a interação dos compartimentos *coluna d'água* e *sedimento* entre os pontos P1 a P7 não diferiu significativamente (interação P = C, Tabela 11) . Observamos que existe um padrão na abundância relativa entre os pontos ao longo do transecto amostral, onde as diferença foram justamente relativas aos pontos mais distantes do ponto corado, de acordo com o gradiente de inundação da planície entre maré. Os pontos que foram

significativamente diferentes foram discriminados na Tabela 12 e ilustrados na Figura 11.

Tabela 9. Densidade média (10 cm²), desvio padrão e grupos funcionais de dispersão das espécies encontradas nas amostras do sedimento nos pontos P1 a P7 dos experimentos I e II, GD (grupos funcionais de dispersão): VN=vágil nadador, VR= vágil rastejador e S= sedentário (Dp= desvio padrão).

Família	Espécie	Experimento I			Experimento II	
		GD	Média	Dp (+/-)	Média	Dp (+/-)
Anoplostomatidae	<i>Anoplostoma</i> sp1	VN	20,5	12,2	80,4	102,3
	<i>Parodontophora</i> sp1	VN	31,6	17,8	2,1	5,1
Axonolaimidae	<i>Axonolaimus</i> sp1	VN	0	0	8,5	18,5
Tripyloididae	<i>B. australis</i>	VN	0	0	8,2	17,6
	<i>Chromadora</i> sp1	VN	32,5	19,6	3,2	8,4
Chromadoridae	<i>C. germanica</i>	VN	10,7	5,2	9,3	21,8
	<i>N. bonita</i>	VN	28,3	17,3	51,5	76,3
	<i>E. striata</i>	VN	0	0	0,2	0,6
Xyalidae	<i>D. pontica</i>	VN	90,1	59	14,6	20,9
Monhysteridae	<i>Diplolaimoides</i> sp1	VR	18,7	12,6	0,5	1,4
Enchelidiidae	<i>Eurystomina</i> sp1	VN	94,9	65,5	0	0
Neotonchidae	<i>Gonphionema</i> sp1	S	24,6	10,3	77,5	138
Oxystominidae	<i>Halalaimus</i> sp1	VR	0	0	0,8	2,30
Selachinematidae	<i>Halichoanolaimus</i> sp1	VN	0	0	0,2	0,7
	<i>M. chandleri</i>	S	158,8	62,7	207,7	237,9
Desmodoridae	<i>P. incubans</i>	S	115,1	57,1	155,9	189,9
	<i>S. parasitifera</i>	VR	335,2	100,5	552,2	554,5
Microlaimidae	<i>Microlaimus</i> sp1	S	20,5	13	0	0
	<i>Oncholaimus</i> sp1	VN	21	12,1	29,3	50,1
Oncholaimidae	<i>V. cobbi</i>	VN	107	71,6	1,4	5
	<i>V. glabra</i>	VN	22,1	11,8	76,8	94,7
Cyatholaimidae	<i>Paracanthonchus</i> sp1	VN	0	0	62,7	76,6
Comesomatidae	<i>S. pulchra</i>	VR	129,2	49,6	10,8	26
Sphaerolaimidae	<i>Sphaerolaimus</i> sp1	VN	27	18,4	21,3	32,3
Linhomoeidae	<i>T. comunis</i>	VR	19,8	12,3	3,2	7,2
	<i>T. longicaudata</i>	VR	333,8	123,3	96,6	111,3

Tabela 10. Densidade média (23 m²), desvio padrão e grupos funcionais de dispersão das espécies encontradas nas redes P1 a P7 dispostas na coluna d'água nos experimentos I e II, GD (grupos funcionais de dispersão): VN=vágil nadador, VR= vágil rastejador e S= sedentário (Dp= desvio padrão).

Família	Espécie	Experimento I			Experimento II	
		GD	Média	Dp (+/-)	Média	Dp (+/-)
Chromadoridae	<i>C. germanica</i>	VN	1,34	29,6	0,77	18,3
	<i>Chromadora</i> sp1	VN	0,00	0,0	0,27	6,1
	<i>N. bonita</i>	VN	0,00	0,0	0,09	2,1
Xyalidae	<i>D. pontica</i>	VN	0,10	3,5	0,10	2,6
Neotonchidae	<i>Gonphionema</i> sp1	S	0,00	0,0	0,01	1,0
	<i>M. chandleri</i>	S	0,09	3,8	0,18	3,9
Desmodoridae	<i>P. incubans</i>	S	0,00	0,0	0,50	13,5
	<i>S. parasitifera</i>	VR	0,12	4,9	0,38	5,3
	<i>Parodontophora</i> sp1	VN	0,02	1,2	0,42	7,7
Anoplostomatidae	<i>Anoplostoma</i> sp1	VN	0,00	0,0	0,10	2,8
	<i>S. pulchra</i>	VR	0,06	2,7	0,03	1,4
Comesomatidae	<i>V.cobbi</i>	VN	0,11	3,0	0,19	4,5
	<i>Oncholaimus</i> sp1	VN	0,09	4,0	0,10	5,2
Axonolaimidae	<i>Axonolaimus</i> sp1	VN	0,00	0,0	0,00	0,0
Tripyloididae	<i>B. australis</i>	VN	0,00	0,0	0,05	2,1
Enchelidiidae	<i>Eurystomina</i> sp1	VN	0,24	5,9	0,10	2,9
Oxystominidae	<i>Halalaimus</i> sp1	VR	0,00	0,0	0,03	1,6
Selachinematidae	<i>Halichoanolaimus</i> sp1	VN	0,00	0,0	0,3	0,8
Sphaerolaimidae	<i>Sphaerolaimus</i> sp1	VN	0,00	0,0	0,0	0,0
Linhomoeidae	<i>T. comunis</i>	VR	0,00	0,0	0,9	1,6
	<i>T. longicaudata</i>	VR	0,12	4,5	1,1	1,7

Tabela 11. Comparação da abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão nos compartimentos *coluna d'água* e *sedimento* e nos pontos P1 a P7 (P1 a 3 m, P2 a 6 m, P3 a 12 m, P4 a 24 m, P5, 48 m, P6 a 96 m e P7 a 192 m de P0). Termos significativos de interesse ($\alpha = 0,05$) estão destacados em negrito. Legenda da tabela: gl= grau de liberdade; QM= média dos quadrados; F= f valor; p= p valor; n= número de amostras.

Fatores	gl	QM	F	p
Pontos=P	6	9127,94	6,4	0,0001
Compartimentos=C	1	3066,62	2,1	0,09
Interação PxC	6	1038,05	0,8	0,7
Resíduo	28	1407,86		

Tabela 12. Dissimilaridades médias de Bray-Curtis e comparações pareadas *a posteriori*. Diagonais contêm estimativas dentro dos pontos. *p < 0,05; ns: p > 0,05.

	PI	PII	PIII	PIV	PV	PVI	PVII
PI	51,4 ns						
PII	53,9 ns	57,5 ns					
PIII	38,5 ns	43,4 ns	9,9 ns				
PIV	46,4 ns	50,5 ns	21,1 ns	30,1 ns			
PV	64,4*	63,6*	46,9 ns	46,6 ns	48,3 ns		
PVI	76,1*	73,8*	63,43*	58,6 ns	44,6 ns	37,8 ns	
PVII	74,9*	71,4*	58,3 ns	54,8 ns	45,2 ns	39,1 ns	42,5 ns

Na análise de SIMPER, o grupo funcional de dispersão *vágil nadador* contribuiu com 81 % e a *sedentário* com 12 % para a similaridade de 42 % entre as amostras de coluna d'água (Tabela 13). No sedimento, os grupos funcionais de dispersão que mais contribuíram para a similaridade de 52 % entre as amostras foram *vágil rastejador*, com 54 % e *sedentário* com 31 % (Tabela 13).

Ao longo do transecto amostral, foram capturados na rede 18 indivíduos corados pertencentes a 7 espécies no inverno e 4 espécies no verão (Tabela 14). A *sedentária Pseudochromadora incubans* atingiu a maior distância, sendo recapturada corada a 192 m do ponto de origem. As espécies *vágeis nadadoras* atingiram a distância máxima de 48 m do ponto corado. Esse grupo funcional de dispersão apresentou ainda o maior número de indivíduos capturados corados, principalmente *Euchromadora striata* (Tabela 10). A espécie *vágil rastejadora*

Terschellingia longicaudata foi capturada nos pontos distanciados a 6 e 48 m do ponto corado.

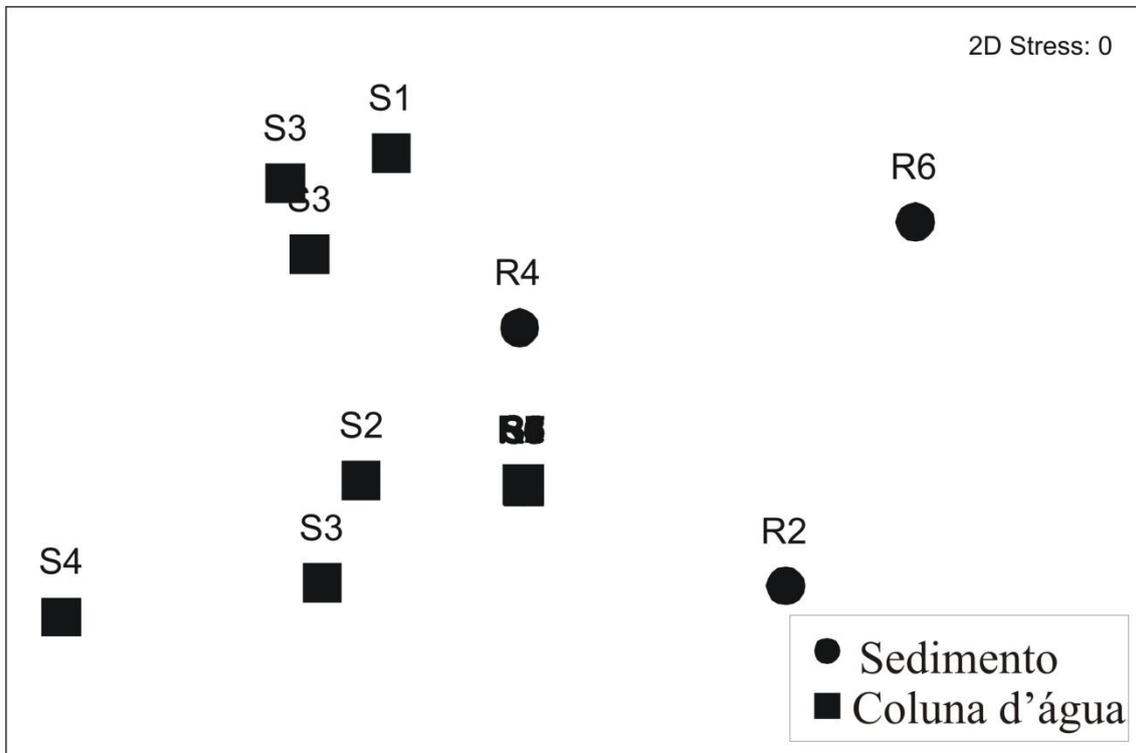


Figura 11. Análise de escalonamento multidimensional (MDS), gerada sobre a matriz de similaridade (Bray Curtis) da abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão na coluna d'água e no sedimento.

Tabela 13. Resultados da análise de similaridade (SIMPER) para determinação dos grupos funcionais de dispersão que mais contribuíram para a similaridade na coluna d'água e no sedimento (similaridade de Bray-Curtis).

Similaridade	Guilda de dispersão	Média da similaridade	% Contribuição
Coluna d'água 42 %	<i>Vágil nadadora</i>	34,42	81
	<i>Sedentária</i>	4,75	12
Assembléias do sedimento 51 %	<i>Vágil rastejadora</i>	27,88	54,4
	<i>Sedentária</i>	16,14	31,52
	<i>Vágil nadadora</i>	7,18	14,02

Tabela 14. Lista das espécies e seus respectivos grupos funcionais de dispersão, capturadas coradas, com o corante vital Vermelho neutro, na coluna d'água durante os experimentos I e II. As distâncias são relativas ao ponto corado. VN= *vágil nadador*, VR= *vágil rastejador*, S= *sedentário*.

Distâncias do ponto corado/ Experimento	GD	3 m		6 m		12 m		24		48 m		96 m		192m	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
<i>C. germanica</i>	VN	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>E. striata</i>	VN	0	0	2	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>V. cobbi</i>	VN	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Eurystomina</i> sp1	VN	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. longicaudata</i>	VR	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>M. chandleri</i>	S	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>P. incubans</i>	S	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0

3.4 DISCUSSÃO

Os resultados experimentais estão de acordo com a previsão da hipótese de que a erosão das camadas superficiais do sedimento e subsequente carreamento dos nematoides através da coluna d'água é o processo primário para que ocorra a dispersão, na medida em que a abundância relativa dos grupos funcionais de dispersão encontrados na coluna d'água não diferiu significativamente do sedimento.

A presença de nematoides na coluna d'água foi associada a um ambiente de alta energia, como planícies entremarés, onde a corrente de maré enchente pode ressuspender as espécies mais abundantes no sedimento (COMMITO e TITA, 2002; BOECKER *et al.*, 2010, THOMAS e LANA, 2011). A erosão do sedimento, com a subsequente suspensão de nematoides na coluna d'água, pode ocorrer quando a velocidade das correntes de maré excede um limiar em planícies não vegetadas e na ausência de detritos orgânicos depositados sob o sedimento (PALMER e GUST, 1985; PALMER, 1986).

Durante os experimentos, 5,5 % do total de nematoides do sedimento foram suspensos. Esse resultado está de acordo com outros experimentos que avaliaram os processos de erosão na dispersão de nematoides. Até 10 % dos nematoides encontrados no sedimento foram suspensos na coluna d'água após a passagem de uma maré enchente em uma planície de maré areno-lodosa (COMMITO e TITA, 2002). Eskin e Palmer (1985) mostraram que a abundância de nematoides pode ser quatro vezes menor na coluna d'água do que no sedimento após a passagem de uma maré enchente, com velocidade de corrente de 6-8 cm/s. Palmer e Gust (1985) sugeriram que a dispersão de nematoides pela coluna de água foi principalmente resultado da erosão e transporte passivo, com a suspensão de até 5% do total de nematoides do sedimento. A ausência de detritos orgânicos depositados sobre o sedimento e correntes de fundo de aproximadamente 9 cm/s foram os fatores determinantes na suspensão dos nematoides para a coluna d'água em um experimento realizado no Baixio dos Papagaios (THOMAS e LANA, 2011). Portanto, a erosão das camadas superficiais do sedimento para a coluna d'água é o processo primário na dispersão de nematoides marinhos.

A princípio, a categorização das espécies em grupos funcionais de dispersão não mostrou diferenças significativas da abundância relativa dos nematoides na

coluna d'água em relação a do sedimento. Por outro lado, o baixo número de réplicas tanto espaciais quanto temporais e baixa frequência de indivíduos tanto corados, quanto não corados, capturados nas redes na coluna d'água não permitiram a diferenciação entre os compartimentos, sedimento e coluna d'água, pelas análises multivariadas. No entanto, os resultados disponíveis foram suficientes e adequados para relacionar os grupos funcionais de dispersão de nematoides com os processos de dispersão após eventos de maré enchente ainda que de forma qualitativa e descritiva.

Além da utilização de redes para captura de nematoides na coluna d'água, a metodologia de marcação vital *in situ* de nematoides e captura dos indivíduos corados na coluna d'água contribuiu para caracterizar as distâncias atingidas pelos distintos grupos funcionais de dispersão, em mesoescala espacial durante um ciclo de maré, apesar do baixo número de indivíduos capturados corados. Em última análise, a categorização das espécies presentes na coluna d'água, coradas e não coradas, nos grupos funcionais de dispersão foi determinante para definir as espécies mais suscetíveis à suspensão por erosão e aquelas que tendem a permanecer no substrato. De acordo com Eskin e Palmer (1985), em relação às espécies mais suscetíveis à ressuspensão, *Metachromadora* representou 57% dos nematoides resuspendidos, seguida das espécies *Chromadorita minima* e *Ptycholaimellus pandispiculatus*. Outros estudos relacionaram a presença de algumas espécies na coluna d'água com o comportamento de natação ativa após a suspensão (GERLACH, 1977; JENSEN, 1981). Palmer e Gust (1985) sugeriram que a baixa porcentagem de organismos suspensos foi relacionada ao comportamento das espécies de evitar às camadas superficiais do sedimento, reduzindo a probabilidade de suspensão.

Vágeis nadadores apresentaram a menor abundância relativa no sedimento e foram os mais expressivos na coluna d'água. Esse resultado mostrou que além dos processos de suspensão durante a passagem de uma maré enchente a presença dessas espécies na coluna d'água pode estar relacionada também às características que definem os distintos grupos funcionais de dispersão. As espécies numericamente dominantes na coluna d'água e que não foram as mais abundantes no sedimento, como *Chromadorina germanica*, *Euchromadora striata* e *Eurystomina* sp 1, sugerem uma relação da presença do grupo funcional *vágil*

nadador na coluna d'água com a presença de alga de deriva *Ulva flexuosa* na área experimental. Diversos trabalhos têm mostrado que espécies de *Chromadoridae*, como *Chromadorina germanica* e *Euchromadora striata*, estão frequentemente associadas à macroalgas (TROTTER e WEBSTER, 1983; ATILLA *et al.*, 2003). Palmer (1988) também registrou a presença de espécies de *Chromadoridae* na coluna d'água ou na superfície de sedimento associadas à macroalgas. O fato das vágéis nadadoras *Chromadorina germanica* e *Euchromadora striata* serem reconhecidas como espécies fitais explicaria, portanto, suas maiores densidades na coluna d'água do que no sedimento.

Jensen (1981) mostrou que as maiores densidades da espécie fital *Chromadorita tenuis* no sedimento estão inversamente correlacionadas com a densidade de macroalgas. Indivíduos dessa espécie teriam a capacidade de nadar rapidamente do sedimento para a vegetação submergida, atingindo velocidades de até 5 cm.s^{-1} (JENSEN, 1981) e serem consecutivamente ressuspendidas para a coluna d'água, após a passagem de uma maré enchente. Nesse caso, as espécies fitais são mais suscetíveis à suspensão e as maiores densidades na coluna d'água estão geralmente relacionadas aos processos de “rafting” (WARWICK, 1977; ALKEMADE *et al.*, 1994; THIEL e GUTOW, 2005).

A espécie *vágil nadadora* *Anoplostoma* sp 1, uma das espécies mais frequentes no sedimento, não foi comum na coluna d'água e não foi recapturada corada nas redes dispostas em diferentes distâncias relativas ao ponto corado. Ao contrário, as espécies *vágéis nadadoras* *Parodontophora* sp1, *Chromadora* sp1 e *Viscosia cobbi*, presentes na coluna d'água, apresentaram as menores densidades no sedimento. Mesmo considerando que as espécies *vágéis nadadoras* não associadas à macroalgas foram menos frequentes na coluna d'água, a estratégia de locomoção de natação e modo de deslocamento *senoidal ômega*, juntamente com as características morfológicas e grupo trófico indicaram que o processo de emergência ativa do substrato também pode estar relacionado à presença do grupo funcional *vágil nadador* na coluna d'água, assim como o processo de “rafting”.

Em função de suas características comportamentais e morfológicas, *Viscosia cobbi*, classificada por Wieser (1953) como *predadora facultativa*, foi categorizada como *vágil nadadora*. Indivíduos de *Viscosia cobbi* não foram capturados corados nos pontos mais distantes do transecto experimental, sugerindo que seu potencial

de dispersão pode estar associado com a saída ativa do substrato para a coluna d'água e escolha do local de assentamento, em busca de recursos alimentares próximo ao ponto de origem. Thomas e Lana (2011) evidenciaram que para espécies de tamanho de corpo relativamente grande, como *Viscosia* sp1, a habilidade natatória, provocada normalmente pelo pequeno tamanho do corpo em relação à viscosidade da água pode ser superada pela alta frequência de ondulações do corpo. Portanto, características morfológicas e comportamentais do grupo funcional *vágil nadador* sugerem uma grande agilidade das espécies para se locomover tanto no sedimento quanto nadar na coluna d'água, sendo capazes de contraporem-se ao transporte na coluna d'água após suspensão. Um experimento mostrou que espécies dos gêneros *Chromadorina* e *Viscosia* não foram capazes de colonizar armadilhas com sedimento dispostos na coluna d'água, a 6 metros do fundo, nadando após eventos periódicos de suspensão (BOECKNER *et al.*, 2009). Por outro lado, Fonseca-Genevois *et al.* (2006) associaram a colonização de substratos suspensos a dezenas de metros do fundo oceânico por espécies dos gêneros *Chromadorina* e *Viscosia* a processos de erosão do sedimento e comportamento ativo de natação na coluna d'água. Portanto, a ocorrência do grupo funcional *vágil nadador* na coluna d'água pode estar de fato relacionada à suspensão e/ou saída ativa do sedimento através de natação na coluna d'água, com posterior assentamento em áreas adjacentes.

A espécie *Chromadora* sp 1, pertencente ao grupo trófico *comedores de epistrato*, também apresenta as características de *vágil nadador*. Nesse caso, seu comportamento de natação pode estar relacionado à procura de alimento, principalmente do microfítobentos. Jensen (1981) sugeriu que a sensibilidade fitoquímica pode estar relacionada ao comportamento de natação de nematoides marinhos de vida livre. Órgãos sensoriais, como anfídeo e setas cefálicas, são essenciais para a percepção e orientação dos organismos até os ambientes fitais. Ullberg e Olafson (2003) mostraram ainda que algumas espécies de nematoides *comedores de epistrato*, principalmente de pequeno tamanho, são capazes de escolher o ambiente de assentamento, mostrando preferência por ambientes fitais.

Por outro lado, os resultados experimentais mostraram que espécies do grupo funcional *sedentário* foram mais facilmente suspendidas para coluna d'água devido aos seus hábitos de vida, sendo passivamente transportados a maiores

distâncias durante uma maré enchente. *Pseudochromadora incubans* e *Metachromadora chandleri* foram categorizadas nesse grupo funcional de dispersão, principalmente pelo tamanho *pequeno do corpo* e forma do corpo *abaulada*, com *cauda curta* e *cônica* e grupo trófico *comedores de epistrato*. Essas espécies foram numerosas na coluna d'água e atingiram as maiores distâncias do ponto corado. As maiores densidades das espécies *comedoras de epistrato* nas camadas superficiais do sedimento estão relacionadas com o aumento da intensidade luminosa e conseqüente aumento do microfitobentos, que é a sua principal fonte de alimento (WETZEL *et al.*, 2002). A morfologia do corpo truncada e abaulada, o comportamento letárgico e o fato de serem restritas às camadas superficiais do sedimento, devido ao hábito alimentar, podem aumentar a sua probabilidade de suspensão e dispersão (ESKIN e PALMER, 1985; THOMAS e LANA, 2007). Portanto, a maior ocorrência do grupo funcional *sedentário* na coluna d'água está claramente relacionada com seu comportamento letárgico e com os processos de erosão e, conseqüentemente, dispersão passiva por distâncias relativamente longas.

Por fim, o grupo funcional de dispersão *vágil rastejador* foi o menos expressivo na coluna d'água em contraste com a maior densidade no sedimento. Esse resultado sugere que espécies desse grupo funcional apresentam maior resistência à suspensão durante a maré enchente, migrando verticalmente para as camadas mais profundas do sedimento. *Spirinia parasitifera* e *Sabatieria pulchra* foram categorizadas no grupo funcional de dispersão *vágil rastejador* por apresentarem forma do corpo *esbelto*, modo de deslocamento *senoidal circular* que possibilitam uma locomoção mais ativa no ambiente intersticial. As espécies *Spirinia parasitifera*, *Terschellingia longicaudata* e *Sabatieria pulchra* foram mais numerosas no sedimento, mas pouco frequentes na coluna d'água, não sendo capturadas nos pontos mais distantes. *Sabatieria pulchra*, grupo trófico *comedor seletivo de depósitos*, é capaz de migrar em direção à superfície do sedimento durante períodos de emersão, realizando migração inversa em períodos de submersão (FRANCO *et al.*, 2008). Esse comportamento está relacionado com sua preferência por temperaturas mais elevadas na interface sedimento-água em períodos de emersão e à busca por microalgas (FRANCO *et al.*, 2008). A espécie também pode penetrar profundamente em sedimentos reduzidos ou oxidados e sua distribuição vertical

parece ser mais dependente da disponibilidade de alimento do que das concentrações de oxigênio (STEYART *et al.*, 1999). Espécies *vágeis rastejadoras* podem, portanto, diminuir sua suscetibilidade à suspensão migrando verticalmente com a finalidade de localizar os recursos alimentares, principalmente em estratos mais profundos do sedimento.

Assim como a posição de nematoides no sedimento pode aumentar ou diminuir a probabilidade de ressuspensão e dispersão passiva (COMMITO e TITA, 2002) características morfológicas e comportamentais também foram associadas à dispersão passiva entre as espécies de nematoides (ULLBERG e ÓLAFSSON, 2003). Os gêneros que apresentaram as maiores taxas de dispersão apresentaram adaptações morfológicas tanto para a locomoção quanto para se fixarem aos grãos de sedimento (ADANS e TYLER, 1980). A presença de glândulas caudais permitiu aos organismos fixarem-se aos grãos de sedimento e impedir a ressuspensão para a coluna d'água em ambientes de baixa energia. Enquanto em ambientes de alta energia, com ondas e correntes de marés, a presença das glândulas caudais permitiu que essas espécies fossem carregadas por distâncias menores após a ressuspensão, em relação aos nematoides que não se fixaram aos grãos (GINGOLD *et al.*, 2011).

A presença de nematoides na coluna d'água pode ser associada ao potencial de dispersão dos grupos funcionais de dispersão *vágil nadador*, *vágil rastejador* e *sedentário* e aos processos de dispersão condicionados pela hidrodinâmica local. Por exemplo, *vágil nadador* mostrou uma relação direta com os processos de “*rafting*” (HICKS, 1988) e saída ativa do substrato (ARMONIES, 1988). *Vágil rastejador* e *sedentário* podem ser associados, respectivamente, a migração vertical (STEYART *et al.*, 1999) e à erosão e dispersão passiva (PALMER e GUST, 1985). Espécies do grupo funcional de dispersão *vágil nadador* fazem uso, principalmente, de processos de dispersão por “*rafting*”. Espécies desse grupo funcional são capazes de saída ativa do sedimento e natação para locais próximos ao ponto de origem podendo ir contra aos efeitos das correntes. Por outro lado, a presença das espécies *sedentárias* na coluna d'água é uma função dos processos de erosão dos fundos por correntes e subsequente dispersão passiva para locais distantes, facilitado, respectivamente, pelo hábito de vida restrito às camadas superficiais do sedimento e por seu comportamento letárgico. Ao contrário, as

espécies do grupo funcional *vágil rastejador* evitam ativamente a suspensão, por locomoção ativa no ambiente intersticial, migrando para as camadas mais profundas do sedimento. Eventualmente, dependendo da intensidade das correntes, espécies desse grupo podem ser encontradas na coluna d'água, mas devido à presença de glândulas caudais as espécies *vágeis rastejadoras* são carregadas por distâncias menores após suspensão, em relação aos nematoides que não são fixos aos grãos, como os sedentários.

Durante muito tempo acreditou-se que na ausência de gradientes físicos ou químicos a distribuição dos organismos meiofaunais em ambientes intersticiais era imprevisível (FLEEGER e DECHO, 1987). Apesar de não termos testado diretamente a influência do potencial de dispersão das espécies de nematoides nos padrões de distribuição espaciais, nós sugerimos, em última análise, que a presença de nematoides na coluna d'água é uma função das características que definem os grupos funcionais de dispersão contrastando com os padrões de distribuição em distintas escalas espaciais.

4 GRUPOS FUNCIONAIS DE DISPERSÃO DE DISPERSÃO “VÁGIL NADADOR” VERSUS “SEDENTÁRIO”: TESTANDO HIPÓTESES SOBRE A PREVISIBILIDADE DE METAPOPULAÇÕES DE NEMATÓIDES MARINHOS

4.1 INTRODUÇÃO

A dispersão nas mais variadas escalas espaciais e temporais é um dos processos essenciais da história de vida dos organismos, por influenciar ou condicionar os seus padrões de distribuição e, conseqüentemente, as estruturas das populações. A dispersão de organismos individuais determina as taxas de fluxo gênico entre populações, assim como os processos de adaptações locais, especiação e evolução (LENORMAND, 2002). A dispersão pode ser compreendida no contexto ecológico como o conjunto de estratégias de vida condicionadores do deslocamento e fixação dos indivíduos em locais distintos do ponto de origem (FELSENSTEIN, 1975). Para a genética de populações, a migração é entendida como um vetor de transferência de material genético de uma população para outra, acarretando mudanças nas frequências alélicas (FELSENSTEIN, 1975).

Muitas espécies marinhas possuem larvas que podem ser transportadas por correntes e sofrer assentamento em áreas significativamente distantes da geração parental (YOUNG, 1995). Essa dispersão por longas distâncias poderia induzir ou acarretar distribuições homogêneas dessas espécies, mas nem sempre esse padrão é observado (PALUMBI, 1992; RUNDLE *et al.*, 2000; ROCHA *et al.*, 2005). Por outro lado, muitos organismos bênticos se distribuem de forma marcadamente heterogênea mesmo em pequenas escalas espaciais, mantendo populações locais geneticamente estruturadas (PALUMBI, 1992; BARBER *et al.*, 2002; OVENDEN *et al.*, 2004). O conceito de metapopulações é aplicado nessas situações, principalmente quando os *habitats* de vida e reprodução dos organismos não são homogêneos, mas formado por mosaicos ou manchas (LEVINS, 1969). A princípio, populações discretas em manchas individuais possuem suas dinâmicas próprias, o que poderia implicar uma elevada independência entre elas. No entanto, dependendo da escala espacial envolvida, as manchas podem não estar completamente isoladas, havendo, portanto, a possibilidade de cruzamento entre indivíduos (CONRADT *et al.* 2003; HEINZ *et al.* 2005).

Nesse contexto, processos locais de extinção, migração e recolonização são centrais para a compreensão da dinâmica e da estrutura das populações (HANSKI e SIMBERLOFF, 1997). As taxas de trocas genéticas por migração e transferência entre as populações locais tendem a ser tão baixas que a dinâmica dessas populações discretas (temporárias) pode sofrer flutuações mais significativas do que a população regional (permanente) (HUMMEL, 2003). Espécies distribuídas em um número elevado de manchas tendem a possuir menor diversidade gênica intrapopulacional e maior diferenciação interpopulacional. Com o aumento do fluxo gênico entre populações, ocorreria o aumento da diversidade genética e diminuição da diferenciação, com as populações locais passando por um processo de homogeneização (BARTON e WHITLOCK, 1997).

De uma forma geral, organismos marinhos bênticos com desenvolvimento indireto, ou seja, com larvas planctônicas no seu ciclo de vida, podem se dispersar por longas distâncias, permitindo assim a conexão de populações bênticas aparentemente isoladas. Nesse caso, a aplicação do conceito de metapopulação é pouco operacional, pois populações discretas locais tendem a apresentar poucas diferenças, sendo de difícil discriminação (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2007).

Uma situação muito distinta poderia ser proporcionada pelos nematoides marinhos de vida livre, que não apresentam estágio pelágico larval como meio de dispersão, caracterizando-se, como muitos outros grupos meiofaunais, por desenvolvimento direto. Por causa disto, durante muito tempo acreditou-se que a ligação ou troca de material genético entre populações distantes pudesse acontecer apenas episodicamente, devido à limitada capacidade de dispersão desses animais (GIERE, 2002).

No entanto, o uso de marcadores moleculares mitocondriais mostrou mais recentemente que duas espécies de nematoides marinhos *Pellioditis marina* Andrassy, 1983, (sin. *Rhabditis marina* Bastian 1865) e *Halomonhystera disjuncta* Andrassy, 2007, têm capacidade de dispersão relativamente alta, na escala de 100 km, principalmente por “rafting” em macroalgas (DERYCKE *et al.*, 2005; 2008). Apesar disto, a análise da estrutura genética das populações de *Pellioditis marina*, coletadas no sedimento em uma planície entremarés e associadas ao depósito de macroalgas, mostrou estruturação na população na escala de quilômetros e foi relacionada a um complexo de espécies crípticas (DERYCKE *et al.*, 2007a). Há

também evidências de estruturação genética das populações e complexo de espécies crípticas de *Thoracostoma trachygaster* Hope, 1967, associadas à alga marinha *Macrocystis pyrifera*, na escala de centenas de quilômetros, apesar de sua restrita capacidade de dispersão (DERYCKE *et al.*, 2010).

A princípio, as inferências a respeito da estrutura genética das populações de espécies de nematoides marinhos foram fundamentadas em fatores estocásticos, como isolamento por distância, efeito fundador ou gargalo populacional (DERYCKE *et al.*, 2005, 2007a, 2008, 2010). Por exemplo, estudos preliminares sugeriram que a estruturação das populações de *Pellioditis marina* estaria relacionada a microhabitats fragmentados, em função da deposição irregular das macroalgas na linha de detritos de uma planície de maré (DERYCKE 2007b). De fato, taxas de migração são reconhecidamente muito variáveis e podem ser influenciadas por condições ambientais locais e temporais específicas (COLOMBINI e CHELAZZI 2003). Por outro lado, estudos na escala de centenas de quilômetros revelaram que as populações de *T. trachygaster* são de fato um complexo de espécies geneticamente distintas, embora morfologicamente iguais (DERYCKE *et al.*, 2010).

Apesar de ter sua importância reconhecida, o papel da migração e do fluxo gênico na determinação dos padrões de distribuição em metapopulações permanece pouco estudado em animais marinhos. Isso acontece porque o real potencial de dispersão desses animais ainda não foi avaliado satisfatoriamente e nem incorporado às hipóteses sobre a estruturação genética e a distribuição de populações, o que é particularmente verdadeiro para os nematoides marinhos. Informações comportamentais, ecológicas e biogeográficas são igualmente importantes para a compreensão da estrutura genética das populações. No entanto, essas informações são ainda insatisfatórias para a maioria das espécies, dificultando a formulação de boas hipóteses de trabalho (BOHONAK e VANDERGAST, 2011).

Os Capítulos I e II, deste trabalho, abordaram os mecanismos e processos de dispersão de nematoides marinhos de vida livre, respectivamente, através da categorização dos grupos funcionais de dispersão e avaliação do seu potencial de dispersão através da coluna d'água. Espécies do grupo funcional de dispersão *vágil nadador* foram relacionadas, principalmente, aos processos de dispersão por "rafting". Espécies desse grupo funcional encontradas na coluna d'água são capazes de resistir ao carreamento após suspensão, pelo comportamento ativo de natação e

retornar a locais próximos do ponto de origem, contrapondo a corrente. Por outro lado, a presença das espécies *sedentárias* na coluna d'água é uma função dos processos de erosão dos fundos por correntes e subsequente dispersão passiva, facilitado pelo seu hábito de vida restrito às camadas superficiais do sedimento e por seu comportamento letárgico. As espécies categorizadas como *vágeis rastejadoras* apresentaram a estratégia de evitar a suspensão, pelo deslocamento no ambiente intersticial, migrando para as camadas mais profundas do sedimento. Eventualmente, espécies *vágeis rastejadoras* podem ser encontradas na coluna d'água em decorrência de correntes mais intensas. Neste contexto, o maior ou menor potencial de dispersão de diferentes grupos funcionais de dispersão ou grupos funcionais de nematoides pode modular o padrão de distribuição das populações de espécies de nematoides marinhos, afetando assim as suas taxas de fluxo gênico. O modelo teórico de metapopulações é o que mais parece se ajustar ao padrão de distribuição em mosaico, típico de espécies bênticas. Este modelo descreve uma estrutura populacional hierárquica natural, definida espacialmente por populações locais conectadas entre si por algum grau de fluxo gênico (HANSKI e GILPIN, 1991; HANSKI, 1999). O modelo de metapopulações envolve ainda populações locais com tamanho efetivo da população semelhantes e que são continuamente extintas e recolonizadas (LEVINS, 1969).

Para testar a hipótese geral de que a estruturação genética de nematoides marinhos de vida livre é modulada por seu potencial de dispersão, avaliamos a estrutura genética e o fluxo gênico de populações de *Viscosia cobbi* Filipjev 1918, grupo funcional de dispersão *vágil nadador*, e de *Metachromadora chandleri* Chitwood 1951, grupo funcional de dispersão *sedentário*, na escala de metros a quilômetros (escala local) e dezenas de quilômetros (escala regional), pela análise da frequência de haplótipos em sequências de DNA mitocondrial.

Foram testadas as seguintes hipóteses específicas:

Se a dispersão da espécie *sedentária* *M. chandleri* é condicionada por seu comportamento passivo após erosão do sedimento por correntes de fundo e transporte subsequente na coluna d'água, então populações regionais apresentariam amplo fluxo gênico, não sendo possível reconhecer populações locais e regionais geneticamente estruturadas. O conceito clássico de metapopulação não se aplicaria neste caso.

Se a dispersão da espécie vágil nadadora *V. cobbi* é condicionada pela sua capacidade de natação ativa, contrapondo-se à dispersão passiva na coluna d'água, então suas populações apresentariam fluxo gênico restrito ao longo de um gradiente estuarino de metros a dezenas de quilômetros (escala local), formando populações locais geneticamente não estruturadas, mas estruturadas na escala de dezenas de quilômetros (regional). O conceito clássico de metapopulação se aplicaria neste caso.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Procedimentos amostrais e análises moleculares

As coletas foram realizadas no litoral do Paraná, em planícies de marés não vegetadas, ao longo de gradientes estuarinos das Baías de Paranaguá e Guaratuba (Figura 12). O Complexo Estuarino de Paranaguá é composto por dois eixos principais formados pelas baías de Laranjeiras, Pinheiros e Guaraqueçaba, na direção NNE-SSW, e pelas baías de Paranaguá propriamente dita e Antonina, na direção W-E. Este grande sistema conecta-se ao oceano aberto através de três canais (ANGULO 1992). A Baía de Guaratuba, que se comunica com o Oceano Atlântico por uma abertura única de 500 m, prolonga-se para continente adentro por aproximadamente 15 quilômetros.

As coletas foram realizadas em períodos de maré de sizígia, durante os anos de 2009 e 2010. Amostras de sedimento com a espécie *sedentária* *M. chandleri* foram coletadas em 5 pontos ao longo do Complexo Estuarino de Paranaguá e da Baía de Guaratuba (Figura 12 e Tabela 15). A determinação dos pontos amostrais seguiu um gradiente espacial de metros a dezenas de quilômetros, iniciado no ponto Baixio dos Papagaios P1 na área de transição da planície entremarés com o manguezal. O segundo ponto, Baixio dos Papagaios P2 foi amostrado a 200 m do ponto Baixio dos Papagaios P1, no sentido das correntes de maré, no mesmo baixio. Na escala de quilômetros, amostras de sedimento para essa espécie foram coletadas na Ilha Rasa da Cotinga, Baía de Paranaguá, e na escala de dezenas de quilômetros, nos baixios Pescaria e Cabaraquara, na Baía de Guaratuba.

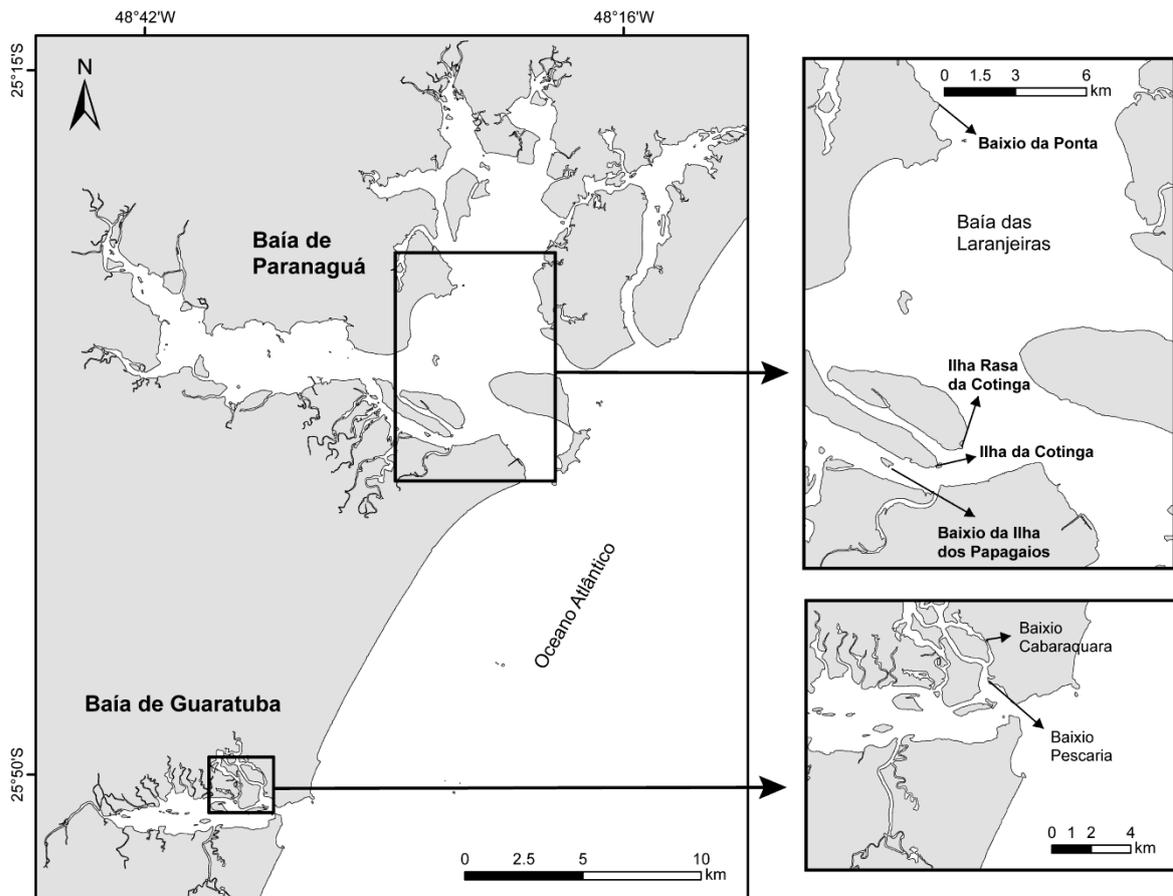


Figura 12. Localização dos pontos de coleta nas Baías de Paranaguá e Guaratuba, localizadas no litoral do Estado do Paraná, Brasil.

A amostragem de *V. cobbii*, não encontrada na Baía de Guaratuba, apesar de tentativas exaustivas, seguiu um gradiente espacial diferente, com as amostras na escala de dezenas de quilômetros tomadas na Baía de Laranjeiras, ainda no Complexo Estuarino de Paranaguá (Figura 12 e Tabela 15).

Na Ilha Rasa da Cotinga, na Baía de Paranaguá, foi determinado o ponto Ilha Rasa da Cotinga P1, na transição da planície entremarés não vegetada e o manguezal, e a 200 m foi determinado o ponto Ilha Rasa da Cotinga P2, no sentido oeste-leste da baía. Na escala de quilômetros, a coleta foi realizada no baixio da Ilha da Cotinga, na Baía de Paranaguá (Tabela 15 e Figura 12). Na escala de dezenas de quilômetros, a espécie foi coletada no Baixo da Ponta, na Baía de Laranjeiras (Tabela 15 e Figura 12).

Tabela 15. Localidades de coleta, período e espécies coletadas.

Localidades de coleta	Baía	Coordenadas geográficas	Período coleta	da	Espécie
Baixio dos Papagaios	Paranaguá	25°32'46.27"S 48°25'47.75" W	08/2009		<i>M. chandleri</i>
Ilha Rasa da Cotinga	Paranaguá	25°32'19.81"S 48°24'12.11" W	03/2010		<i>M. chandleri</i> <i>V. cobbi</i>
Ilha da Cotinga	Paranaguá	25°32'55.17"S 48°24'51.58" W	03/2010		<i>V. cobbi</i>
Baixio da Ponta	Laranjeiras	25°24'56.31"S 48°25'05.46" W	10/2010		<i>V. cobbi</i>
Baixio Pescaria	Guaratuba	25°50'54.54"S 48°34'47.02" W	03/2010		<i>M. chandleri</i>
Baixio do Cabaraquara	Guaratuba	25°49'57.38"S 48°34'46.46" W	03/2010		<i>M. chandleri</i>

As amostras de sedimento foram fixadas em álcool 95% e mantidas em laboratório constantemente refrigeradas a 8°C. Os espécimes, triados diretamente do sedimento em placa de Petri com auxílio de estilete, foram colocados em lâminas com WLB (*Worm Buffer Lysis* por WILLIAMS *et al.* 1994) para identificação em microscópio. Antes de iniciar o procedimento de extração, foi necessário um banho de água ultrapura nos espécimes, de aproximadamente 20 minutos, para retirar substâncias que podem inibir a reação de PCR. Posteriormente, cada indivíduo foi colocado em microtubos de 1 ml, devidamente identificados, com 20 µl do WLB (*Worm Buffer Lysis*).

O DNA dos espécimes foi extraído com WLB (*Worm Buffer Lysis*), adicionado 20 µl de proteinase K (60 µg ml⁻¹). Em seguida, foi incubado por 10 minutos em freezer a -80°C e incubado mais uma vez por 1 h a 65°C e 10 minutos a 95°C, com posterior centrifugação por 1 minuto na velocidade de 13200 rpm. Para a reação de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi utilizado 1 µl do extrato do DNA (DERYCKE *et al.*, 2005). Nesse procedimento, um fragmento do DNA mitocondrial, citocromo oxidase subunidade 1, foi amplificado com os primers BJ3-5' TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3' e BJ5 - 5'-AGCACCTAAACTTAAACATAATGAAAATG-3' (DERYCKE, 2005).

O DNA mitocondrial pode ser considerado um marcador molecular adequado para estudos evolutivos. O fato dessa molécula ser haplóide e herdada uniparentalmente faz com que o tempo médio de coalescência, como um todo, seja

quatro vezes superior quando comparada a genes nucleares (AVISE, 2004). Há evidências de que o sistema de reparo de DNA seja ausente ou defectivo na mitocôndria (SCHEFFER, 1999), o que aumentaria ainda mais os danos ao DNA e, conseqüentemente, a frequência de mutações.

As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 25 µl, sendo 2,5µl de tampão 10x de PCR; 2 µl de MgCl₂ 25mM; 1,0 µL de CoralLoad 10x, 0,5 µL de dNTP 25mM (mix de nucleotídeo para PCR); 0,125 µL de Taq Polimerase de DNA; 1 µL de cada primer 25mM; água ultra-pura para completar o volume desejado. A otimização da reação para amplificação do DNA foi de 35 ciclos. Cada ciclo consistiu de 30 s de desnaturação a 94⁰ C, 30 s de anelamento a 52⁰ C, para *M. chandlerie* 50⁰ C para *V. cobbi*, e 30 s de extensão a 72⁰ C com um passo inicial de desnaturação de 5 min a 94⁰ C e extensão final de 5 min 72⁰ C. O resultado dessa reação foi visualizado em gel de agarose a 1,5 % sob luz ultravioleta após coloração em brometo de etídeo.

O produto proveniente de todas as amplificações foi purificado através de PEG 8.000 (Polietilenoglicol), resultando em um volume final de cerca de 10 µl de extrato. As concentrações do produto purificado foram aferidas através do Nanodrop ND-1000.

A reação de sequenciamento nas seguintes condições: 1µL do DNA purificado, 1µL de Big Dye, 1µL do primer na concentração de 1,6 pmol, 1 µL de tampão de sequenciamento e 6µL água de ultrapura. A purificação, após reação de sequenciamento, foi feita a precipitação com isopropanol 95% e álcool 70 %. As sequências do DNA foram obtidas em um sequenciador automático de DNA Applied Biosystems 3130 do Laboratório de Ecologia Molecular e Parasitologia Evolutiva.

4.3 ANÁLISES MOLECULARES

4.3.1. Análises de diversidade genética e passado demográfico

As sequências foram editadas e alinhadas usando o programa *Geneious* 5.0, sendo utilizado o algoritmo ClustalX v.1.74 (THOMPSON *et al.*, 1997) para os alinhamentos, que foram corrigidos visualmente. As análises de diversidade genética de cada espécie foram realizadas considerando cada população amostrada. O

número de haplótipos foi estimado por contagem direta e a diversidade de nucleotídeos foi computada como sendo a probabilidade de que dois nucleotídeos homólogos escolhidos ao acaso sejam diferentes entre si (TAJIMA, 1989, NEI, 1973). Deleções, transições e transversões foram consideradas com pesos iguais. A porcentagem permitida de dados faltantes por sítio (*missing data per site*) foi de 5%. A diversidade nucleotídica (número de sítios variáveis e a taxa de transição/transversão), índices de diversidade haplotípica (h) e nucleotídica (π) (Nei 1973) e o teste de neutralidade D de Tajima e (D) de Fu (F_s ; Fu 1997) foram determinados no programa ARLEQUIN 3.1. A curva dos valores observados e esperados para a distribuição *mismatch* geradas a partir destes dados foi realizada no programa DNAsp 4.0 (ROZAS, 2003).

O teste de neutralidade D de Tajima (1989) e Fu (F_s ; FU, 1997) foi utilizado para verificar se as substituições nucleotídicas causaram desvios às expectativas do modelo neutro dos sítios infinitos. O parâmetro h é estimado duas vezes independentemente no teste de Tajima (1989). Uma estimativa é calculada a partir do número de sítios polimórficos e a outra a partir da média de diferenças das amostras. As diferenças entre as duas estimativas são então atribuídas à seleção ou a história demográfica da população estudada. Similarmente, a estatística F_s de Fu (1997) compara o número observado de alelos em uma amostra com o número observado de alelos esperados em uma população que se mantém em tamanhos constantes. Nesses testes, valores iguais a zero ou não significativos indicam que não está ocorrendo desvio da neutralidade. Valores negativos e significativos podem indicar seleção direcional recente, seleção de alelos ligeiramente deletérios e expansão populacional. Valores positivos e significativos podem indicar seleção balanceada, subdivisão populacional, gargalo genético ou efeito fundador (FU, 1997).

A história demográfica das populações foi inferida através da análise de distribuição *mismatch* (ROGERS e HARPENDING, 1992), que se baseia no número de diferenças observadas entre todos os pares de haplótipos e representada pela frequência da distribuição dessas diferenças. Esta distribuição apresenta padrões gráficos que caracterizam diferentes tipos de histórias demográficas. Segundo simulações, populações em equilíbrio demográfico longo e estável devem apresentar um padrão multimodal, enquanto populações que experimentaram uma

expansão recente apresentam geralmente uma distribuição unimodal (ROGERS e HARPENDING, 1992). Gargalos populacionais são representados por distribuições próximas a zero ou bimodais, dependendo se o gargalo apenas reduziu ou removeu completamente a diversidade genética (FRANKHAM *et al.*, 2004). Contato secundário entre populações que estiveram isoladas por longos períodos também é representado por um padrão bimodal (FRANKHAM *et al.*, 2004).

Uma rede de haplótipos para cada espécie, *M. chandleri* e *V. cobbi*, foi construída para facilitar a visualização do relacionamento entre os haplótipos, assim como o modo pelo qual esses estão distribuídos nas diferentes populações, através do programa TCS versão 1.21 (CLEMENT *et al.*, 2000). Este programa utiliza dados estatísticos de probabilidade baseados no critério da parcimônia para estimar genealogias tendo por base sequências de DNA mitocondrial (TEMPLETON *et al.* 1992).

4.3.2. Análise da estrutura genética da população

A diferenciação genética entre pares de populações foi estimada usando o índice de fixação F_{st} (EXCOFFIER *et al.*, 1992) e sua significância testada por 10.000 permutações, implementada pelo programa ARLEQUIN 3.1. A estruturação populacional foi analisada pela AMOVA (EXCOFFIER *et al.*, 1992) que define se há diferenças significativas dentro das populações, entre as populações e/ou entre os grupos de populações.

As taxas de migração por geração (m) e as direções do fluxo gênico foram calculadas utilizando o programa *MIGRATE-n* 2.3, através de inferência Baesyana (BEERLI e FELSENSTEIN, 2001). O modelo utilizado foi o “modelo completo” que considera o tamanho efetivo da população igual para cada ponto amostrado. Nesse modelo, também é considerado o fluxo gênico entre todos os pontos e nos dois sentidos entre os pontos. O número efetivo de migrantes por geração foi calculado com a fórmula $m = \frac{1}{2N}$, onde N é o tamanho efetivo da população e m é a taxa de migração por geração (BEERLI e FELSENSTEIN, 2001).

Foram utilizadas as configurações sugeridas no manual do programa *MIGRATE-n* 2.3 (BEERLI e FELSENSTEIN, 2001) para as corridas iniciais. Os resultados das corridas iniciais foram usados para estimar os parâmetros da corrida

final, que apresentou a seguinte configuração: Taxa de mutação entre loci: constante; Estratégia da análise: inferência bayesiana; Parâmetros propostos: Theta- Metropolis e M- Metropolis; Distribuição dos parâmetros dos priors: Theta- Exponential 0.000000 0.050000 0.100000 – 1000 e M Exponential 0.000000 500.000000 1000.000000 – 1000; Cadeia longa e número de cadeia-1; número de gerações 100000 e réplica igual a 3, Árvores visitadas a cada 10000 e burn-in10000; Esquema do aquecimento estático - 4 cadeias com temperaturas 6.00 3.00 1.50 1.00 e intervalo de 1

As ferramentas importantes para avaliar o êxito da análise são a presença de picos únicos na curva de distribuição de frequência (Intervalo de confiança), os valores do tamanho efetivo da população (\hat{N}) e a taxa de migração por geração (\hat{I}), apresentada pelos gráficos gerados pelo programa. Os tamanhos efetivos das amostras (ESS) precisam ser maiores que 500 e valores de autocorrelação baixos.

4.4 RESULTADOS

4.4.1 Diversidade genética

Um total de 320 pares de bases de um fragmento da região citocromo oxidase I (COI) do DNA mitocondrial foi amplificado em 110 indivíduos da espécie *sedentária* *M. chandleri* para os 5 pontos amostrados nas baías de Paranaguá e Guaratuba (Figura 12 e Tabela 15). Foram amplificados 402 pares de bases de 52 indivíduos da espécie *vágil nadadora* *V. cobbi*, coletados nos 4 pontos amostrados nas Baías de Paranaguá e Laranajeiras. O alinhamento, após remoção das regiões ambíguas, resultou em sequências de 119 pares de bases para *M. chandleri* e 134 para *V. cobbi*. Nas 110 sequências de *M. chandleri* foram detectados 6 sítios polimórficos e 7 haplótipos. Nas 52 sequências de *V. cobbi* foram detectados 14 sítios e 9 haplótipos. Apenas uma sequência da espécie *vágil nadadora* *V. cobbi*, do ponto Baixio da Ponta, na Baía de Laranjeiras, e uma de *M. chandleri* no ponto Baixio dos Papagaios P1 apresentaram divergência nucleotídica maior que 3%. Populações locais de *M. chandleri*, no ponto da Ilha Rasa da Cotinga, na Baía de Paranaguá, e no Baixio Pescaria, na Baía de Guaratuba, apresentaram um haplótipo com diversidade nucleotídica menor que 1% (Tabela 16).

Tabela 16. Valores de diversidade haplotípica e nucleotídicas encontrados para cada espécie em cada ponto amostral.

Espécie	Pontos	Número de indivíduos (n)	Número de haplótipos (n _h)	Diversidade de Nucleotídeos (π)
<i>M. chandleri</i> 119 pares de base	Baixio dos Papagaios P1	24	4	0,01 +/- 0,009
	Baixio dos Papagaios P2	25	3	0,0002+/-0,0003
	Ilha Rasa da Cotinga	27	1	0,0000+/-0,0000
	Baixio Pescaria	14	1	0,0000+/-0,0000
	Baixio Cabaraquara	20	3	0,002+/- 0,03
<i>V. cobbi</i> 134 pares de bases	Ilha Rasa da Cotinga P1	13	3	0,01+/-0,01
	Ilha Rasa da Cotinga P2	10	2	0,01+/-0,008
	Ilha da Cotinga	12	2	0,01 +/- 0,008
	Baixio do Ponta	17	8	0,03+/-0,01

Houve uma dominância do haplótipo A na rede de haplótipos de *M. chandleri*, com uma distribuição homogênea entre todos os pontos. As frequências dos demais haplótipos, que apareceram de forma esporádica dentro das populações, foram bem menores (Figura 13). Uma variação de um a três nucleotídeos separou os haplótipos, sendo os haplótipos B, C, e G, 1 nucleotídeo, F, 2 nucleotídeos e E e D, 3 nucleotídeos, do haplótipo A (Figura 13). O ponto Baixio dos Papagaios P1 apresentou alta diversidade haplotípica, seguido do ponto Baixio Cabaraquara, na Baía de Guaratuba. Os pontos Ilha Rasa da Cotinga, na Baía de Paranaguá, e baixio Pescaria, na Baía de Guaratuba apresentaram apenas o haplótipo A.

O haplótipo B e haplótipo C foram os mais frequentes em *V. cobbi*, ocorrendo em todos os pontos (Figura 14). O haplótipo B foi dominante nos pontos Ilha Rasa da Cotinga P1 e Ilha da Cotinga, na Baía de Paranaguá e o haplótipo C, no ponto Baixio da Ponta, na Baía de Laranjeiras.

O haplótipo D foi mais frequente no ponto Ilha Rasa da Cotinga P1. O ponto Baixio da Ponta, na Baía de Laranjeiras mostrou a maior diversidade haplotípica, com haplótipos menos frequentes e com maior variação de nucleotídeos. Da mesma forma que *M. chandleri*, a maioria dos haplótipos de *V. cobbi* partem de um mesmo haplótipo (A), sugerindo uma relação genealógica (Figura 14).

Tabela 17. Sítios polimórficos dos haplótipos de *M. chandleri* da Baía de Paranaguá e Guaratuba.

Nucleotídeo polimórficos	15	55	56	83	98	99
Haplótipo A	-	-	-	-	-	-
Haplótipo B	-	T	-	-	-	-
Haplótipo C	-	-	-	-	-	A
Haplótipo D	-	T	-	G	-	G
Haplótipo E	-	T	-	-	T	A
Haplótipo F	T	-	-	-	-	A
Haplótipo G	-	A	-	-	-	-

Tabela 18. Sítios polimórficos dos haplótipos de *V. cobbi* da Baía de Paranaguá e Laranjeiras.

Nucleotídeo Polimórficos	6	8	12	14	15	17	33	67	68	69	79	93	96	98
Haplótipo A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Haplótipo B	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Haplótipo C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	A
Haplótipo D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	T	-	-
Haplótipo E	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
Haplótipo F	-	G	-	-	-	-	-	A	G	-	-	-	-	-
Haplótipo G	-	-	-	T	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Haplótipo H	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-

Os testes D de Tajima e Fs de Fu mostraram que tanto a espécie *sedentária* *M. chandleri*, quando a *vágil nadadora* *V. cobbi*, apresentaram desvio da neutralidade (Tabela 19). Portanto, a região citocromo oxidase I do DNA mitocondrial analisado não está sob efeito da deriva genética e pode ainda indicar expansão populacional. No entanto, quando os pontos foram analisados separadamente, os testes D de Tajima e Fs de Fu para *M. chandleri* foram positivos e não significativos apenas nos pontos Ilha rasa da Cotingae Baixio Pescaria, indicando que esses pontos podem estar sob influência da deriva genética (Tabela 19). O valor de D de Tajima da espécie *vágil nadadora* *V. cobbi* foi positivo e não significativo para todos os pontos analisados separadamente (Tabela 19). No entanto, foram negativos e significativos para todos os pontos no teste Fs de Fu, indicando desvio da neutralidade (Tabela 19). Na análise de *distribuição mismatch* as populações de *M. chandleri* em conjunto e separadamente. O padrão observado resultou em curvas unimodais com a média das diferenças entre os pares de sequência muito próxima de zero, o que indicaria um possível “efeito gargalo populacional” (Figura 15). As análises de *mismatch* não foram realizadas nas populações do Baixio Ilha Rasa da Cotingae Baixio Pescaria pela ausência de polimorfismos. Os resultados sugerem que as populações de *M. chandleri* passaram por um evento de gargalo populacional, nos baixios de Baía de Paranaguá e Guaratuba.

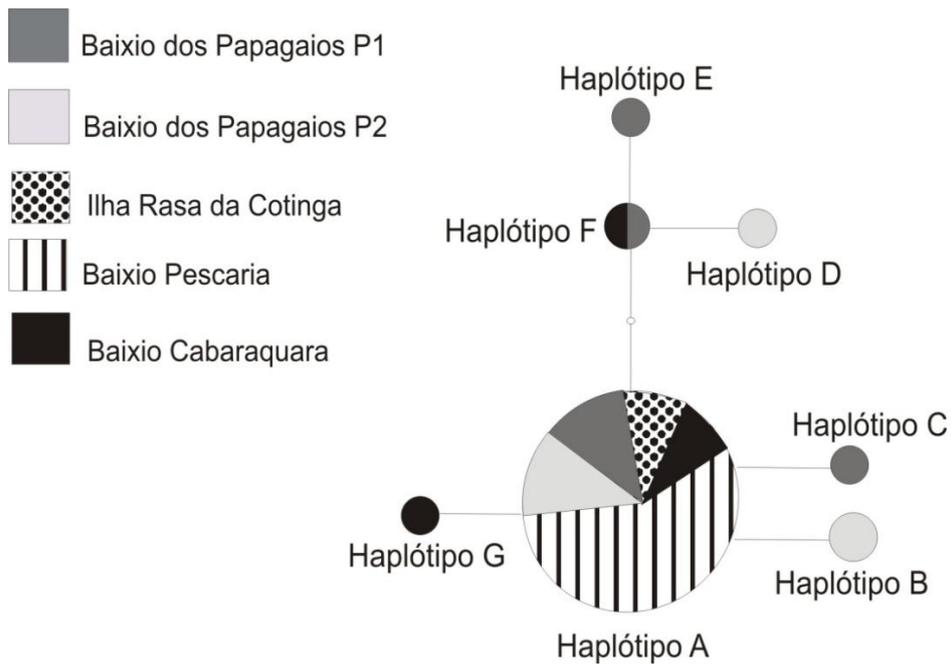


Figura 13. Rede da frequência haplotípica baseado na parcimônia das sequências do DNA mitocondrial, Citocromo oxidase I, da espécie *sedentária* *M. chandleri*, para todos os pontos amostrados. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência dos haplótipos.

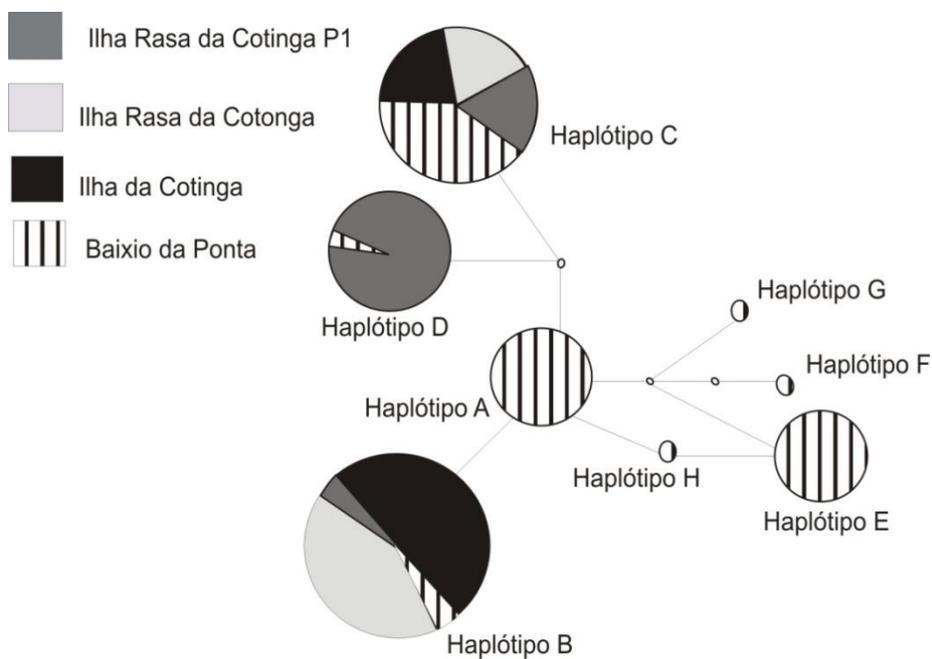


Figura 14. Rede da frequência haplotípica baseado na parcimônia das sequências do DNA mitocondrial, citocromo oxidase I, da espécie *vágil nadadora* *V. cobbi*, para todos os pontos amostrados. O tamanho dos círculos é proporcional à frequência dos haplótipos.

Tabela 19. Valores obtidos através dos testes de neutralidade seletiva de D' de Tajima (D e p-valor) e Fs de Fu, (Fs e p-valor) para as sequências de DNA mitocondrial (COI) de *M. chandleri* e *V. cobbi*, examinadas juntas e separadamente para cada ponto.

Espécies	Pontos	D' de Tajima		Fs de Fu	
		D	P _D	F _S	P _F
<i>M. chandleri</i>	Baixio dos Papagaios P1	-2,3	0,01+-0,001	-27,4	0,00+-0,001
	Baixio dos Papagaios P2	-1,7	0,00+-0,001	-4302	0,00+-0,001
	Ilha Rasa da Cotinga	0,000	1+-0,001	0,000	1+-0,001
	Baixio Pescaria	0,000	1+-0,001	0,000	1+-0,001
	Baixio Cabaraquara	-1,7	0,02+-0,001	-3402	0,00+-0,001
	Total	-2,5	0,00+-0,001	-8,2	0,0001+-0,001
	<i>V. cobbi</i>	Ilha Rasa da Cotinga P1	-0,5	0,3+-0,00	-14,4
Ilha Rasa da Cotinga P2		1,8	0,9+-0,00	-11,9	0,00+-0,00
Ilha da Cotinga		1,5	0,9+-0,00	-16,8	0,00+-0,00
Baixio do Ponta		3,1	0,9+-0,00	-2,26	0,1+-0,00
Total		1,6	0,9+-0,00	-24,1	0,000+-0,00

Os padrões da *distribuição mismatch* nos baixios da Ilha da Cotinga e Ilha Rasa da Cotinga resultaram em curvas unimodais para todas as amostras agrupadas de *V. cobbi*. A distribuição apresentou curvas multimodais nos pontos Ilha Rasa e Baixio da Ponta (Figura 16). A distribuição da frequência da diferença entre pares de sequências apresentou um padrão multimodal quando as populações estão em equilíbrio demográfico. Populações em expansão, como no caso dos baixios da Ilha Rasa da Cotinga e Ilha da Cotinga, são representadas por um padrão unimodal.

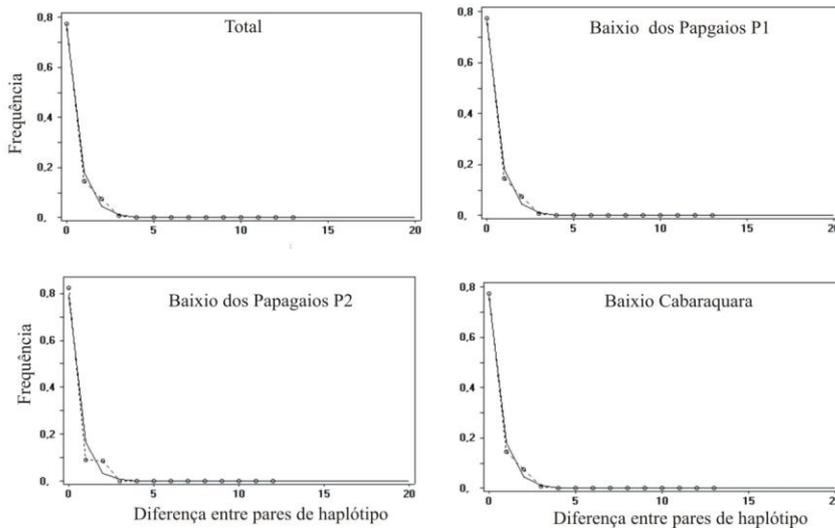


Figura 15. Distribuição das frequências do número de diferenças pareadas (distribuição *mismatch*) dos haplótipos das sequências de *M. chandleri* com as populações agrupadas e separadas. Os pontos representam os dados observados. Linha contínua - resultado esperado. Linha pontilhada – resultado observado.

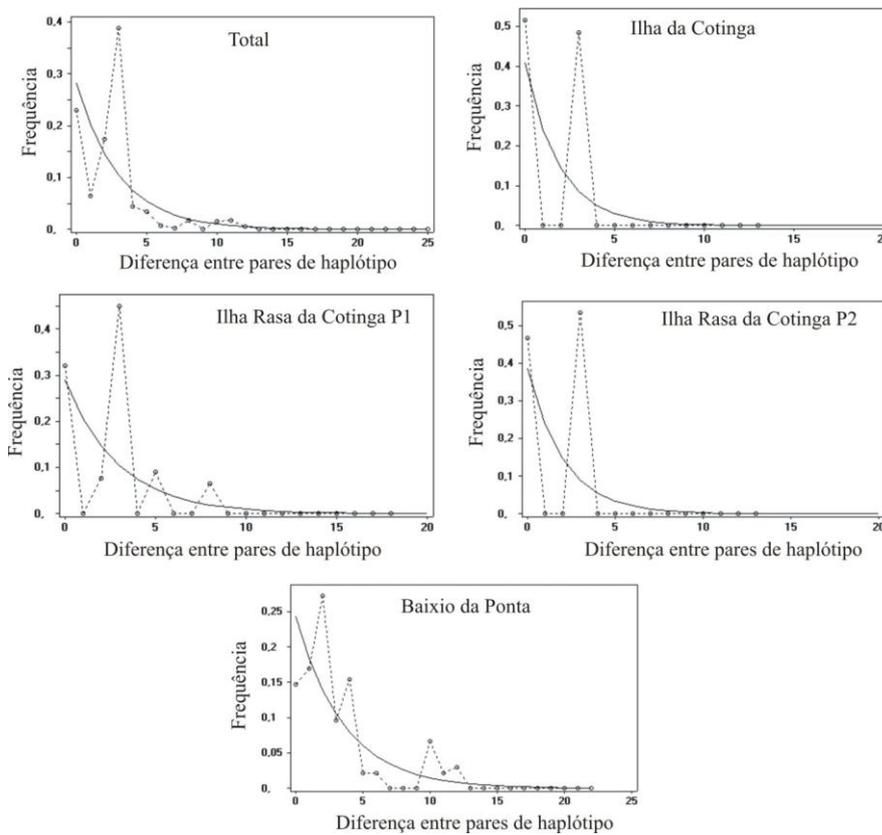


Figura 16. Distribuição das frequências do número de diferenças pareadas (distribuição *mismatch*) dos haplótipos das sequências de *V. cobbii* com populações separadas e agrupadas. Os pontos representam os dados observados. Linha contínua - resultado esperado. Linha pontilhada – resultado observado.

4.4.2 Estrutura genética das populações

Os resultados da AMOVA mostraram populações não estruturadas geneticamente na escala de metros a dezenas de quilômetros e estão de acordo com as frequências haplotípicas para a espécie *sedentária M. chandleri* (Tabela 20). Os resultados indicam ainda que existe mais variação dentro das populações locais do que entre elas, com respectivamente 99,19 % e 0,81 % ($p= 0,28+-0,01$). A análise F_{st} indicou ausência de estruturação com valores de $F_{st}= 0,008$ e $p>0,01$.

Tabela 20. Valores (+- desvio padrão) dos índices de fixação genética (F_{st}) para as populações de *Metachromadora chandleri*

Populações	Mp1	Mp2	Mp3	Mp4	Mp5
Baixio dos Papagaios P1	-	-	-	-	-
Baixio dos Papagaios P2	0,5+-0,003	-	-	-	-
Ilha Rasa da Cotinga	0,02+-0,01	0,05+-0,01	-	-	-
Baixio Pescaria	0,7+-0,04	0,9+-0,03	0,9+-0,03-	-	-
Baixio Cabaraquara	0,7+-0,04	0,7+-0,03	0,9+-0,04	0,07+-0,003-	-

Por outro lado, o resultado da AMOVA aplicada à *vágil nadadora V. cobbi* mostrou estruturação entre as populações, com valores de $F_{st}= 0,16$ e $p<0,001$. A variação dentro das populações foi de 83 % e entre as populações de 16 %. No entanto, na análise pareada os valores de p do F_{st} mostraram estruturação da população local somente no Baixio da Ponta, na Baía de Laranjeiras, em relação às demais populações locais da Baía de Paranaguá (Tabela 21).

As médias mais baixas de tamanho efetivo da população (\bar{N}) foram registradas na espécie *sedentária M. chandleri*, não havendo diferenças significativas entre as populações na escala de dezenas de quilômetros, na Ilha Rasa da Cotinga P1 ,na Baía de Paranaguá, e no baixio Pescaria, na Baía de Guaratuba (Figura 17). Ao contrário, as populações da Ilha dos Papagaios P1 Ilha Rasa da Cotinga e baixio Cabaraquara apresentaram os maiores tamanhos efetivos de população e diferenças significativas entre estes três pontos (Figura 17). Os maiores tamanhos efetivos das populações *V. cobbi*, foram registrados nos pontos 1 e 2 da Ilha Rasa da Cotinga. Os menores tamanhos efetivos foram registrados na Ilha da Cotinga, na Baía de Paranaguá, e no baixio da Ponta, na Baía de Laranjeiras

(Figura 18). Os tamanhos efetivos variaram significativamente entre todos os pontos (Figura 18).

Tabela 21. Valores de p-valor (+- desvio padrão) dos índices de fixação genética (F_{st}) das populações de *V. cobbi*, sendo * para valores significativos.

Populações	Vp1	Vp2	Vp3	Vp4
Ilha Rasa da Cotinga P1	-	-	-	-
Ilha Rasa da Cotinga P2	0,999+-0,003	-	-	-
Ilha da Cotinga	0,51+-0,03-	0,49+-0,04	-	-
Baixio da Ponta	0,0001+-0,0001*	0,0001+0,0001*	0,0001+0,0001*	-

As maiores taxas de migração de *M. chandleri* entre os pontos mostraram um fluxo assimétrico entre as Baías de Paranaguá e Guaratuba (Figura 19), como indicativo de amplo fluxo gênico entre os dois estuários, distanciados dezenas de quilômetros. As taxas de migrantes por geração de *M. chandleri* variaram de aproximadamente zero indivíduo, do baixio da Pescaria para a Ilha Rasa da Cotinga, a 1000 indivíduos por geração, da Ilha Rasa para o Baixio Cabaraquara, na Baía de Guaratuba. Baixas taxas de migração, próximas a zero, também foram observadas no sentido da Ilha dos Papagaios P1 e baixio Cabaraquara para Ilha Rasa da Cotinga (Figura 19).

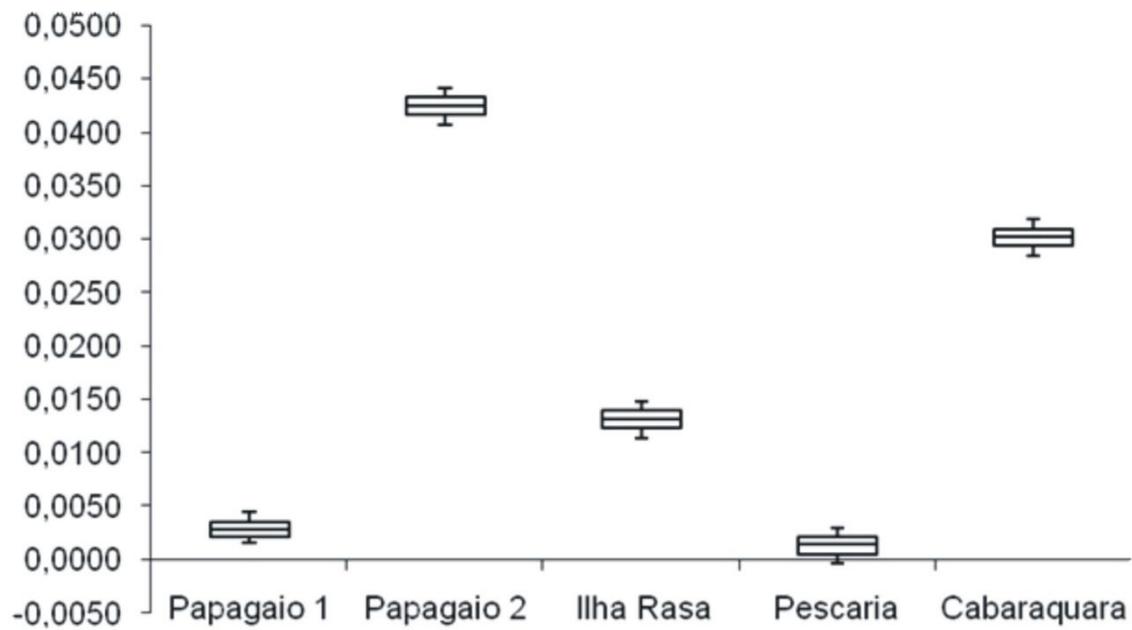


Figura 17. Médias e intervalo de confiança (95 %) do tamanho efetivo das populações (Θ) da espécie *sedentária M. chandleri* calculadas no programa MIGRATE

De forma geral, altas taxas de migração foram observadas tanto no sentido do Baixio dos Papagaios para o baixio Cabaraquara, na Baía de Guaratuba, quanto no sentido inverso (Baixio Pescaria, na Baía de Guaratuba para Baixio dos Papagaios P1 e P2, na Baía de Paranaguá). As taxas de migração mais altas variaram de aproximadamente 600 a 1000 indivíduos por geração no sentido da Ilha Rasa da Cotinga e os pontos P1 e P2 do Baixio dos Papagaios (na escala de quilômetros) e entre os baixios Pescaria e Cabaraquara, (na escala de dezenas de quilômetros) (Figura 19). Também foi registrada alta taxa de migração por geração do Baixio Cabaraquara para o Baixio Pescaria, na Baía de Guaratuba (Figura 19).

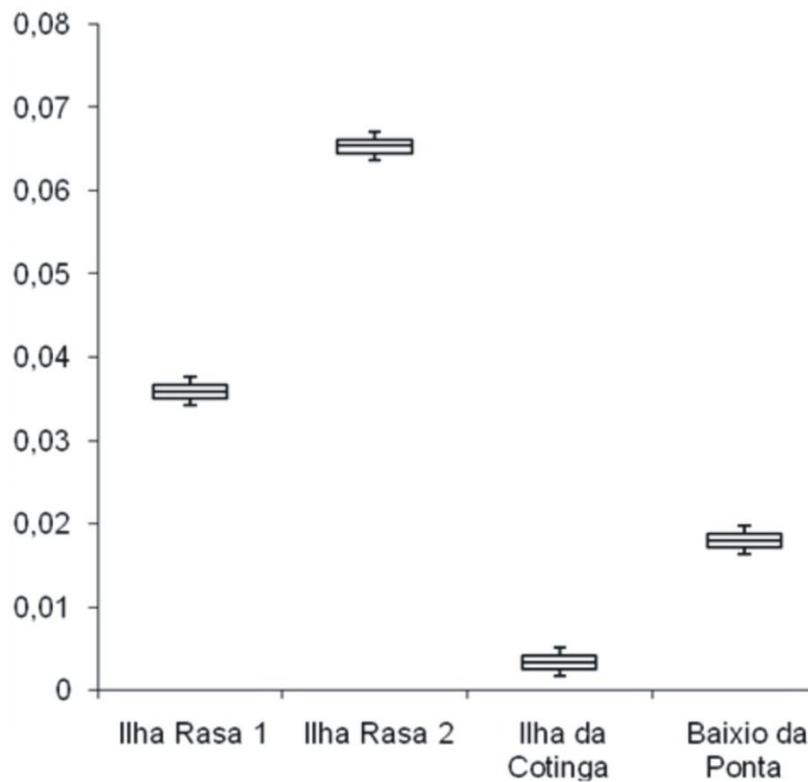


Figura 18. Média e intervalo de confiança (95 %) do tamanho efetivo das populações (Θ) da espécie *vágil nadadora V. cobbi* calculadas no programa MIGRATE-n

A espécie *vágil nadadora V. cobbi* mostrou altas taxas de migração, significativamente diferentes umas das outras e variando entre 100 e 900 indivíduos por geração, da Ilha da Cotinga para a Ilha Rasa da Cotinga P1 e P2, da Ilha Rasa da Cotinga P1 para o Baixio da Ponta, em Laranjeiras, e da Ilha Rasa da Cotinga p2 para a Ilha da Cotinga (Figura 20). As taxas de migração por geração também foram altas do Baixio da Ponta, na Baía de Laranjeiras para os pontos 1 e 2 da Ilha Rasa da Cotinga, distanciados dezenas de quilômetros (Figura 20). O fluxo gênico foi menor, próximo a zero, não variando significativamente no sentido da Ilha da Cotinga para o Baixio da Ponta, na Baía de Laranjeiras e no sentido inverso (Figura 20), assim como no sentido da Ilha Rasa da Cotinga P1 para Ilha Rasa da Cotinga P2 e da Ilha da Cotinga e Ilha Rasa da Cotinga P2 para a Ilha Rasa da Cotinga P1 e Baixio da Ponta, em Laranjeiras, que mostraram baixo fluxo gênico, não variando significativamente entre si (Figura 20).

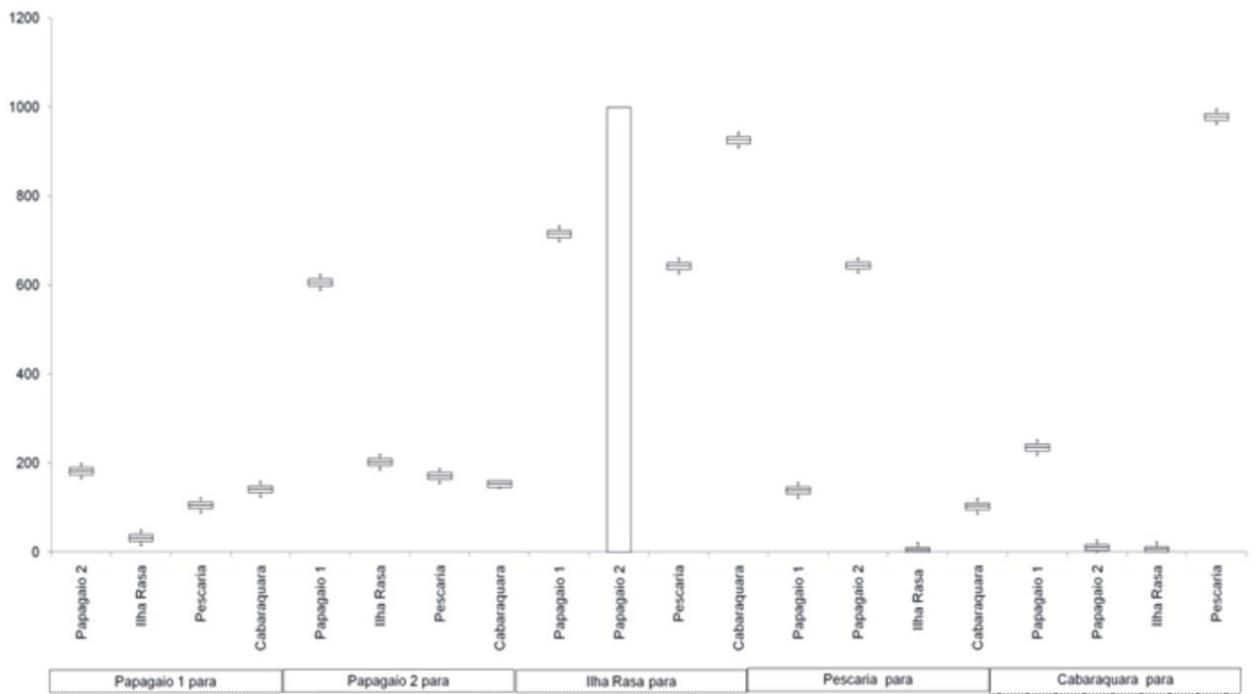


Figura 19. Intervalo de confiança (95 %) da taxa de migração por geração (M) entre as populações de *M. chandleri* calculada no programa migrate-n .

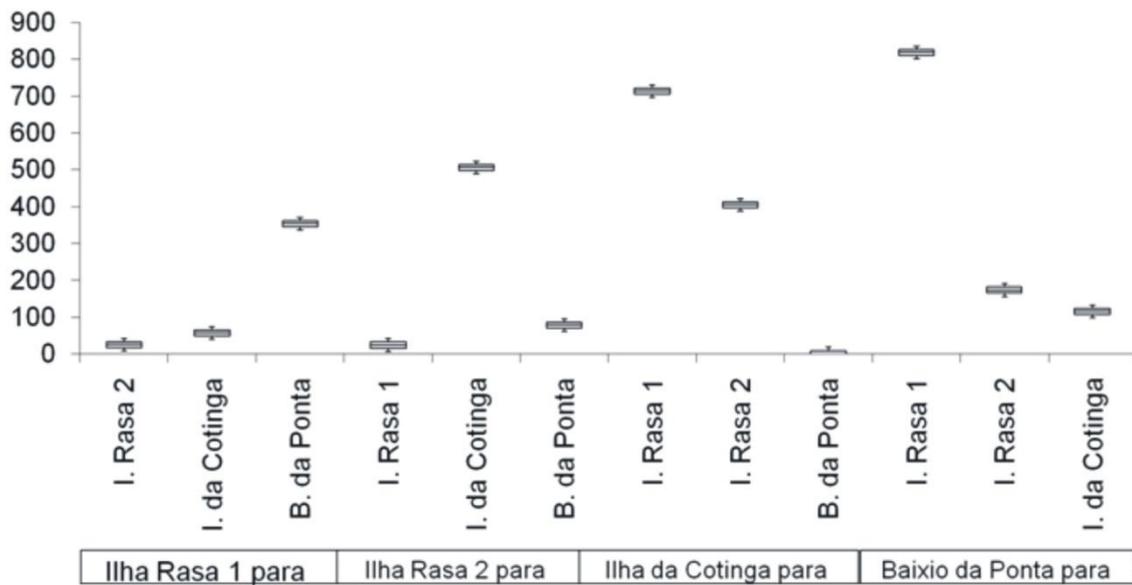


Figura 20. Intervalo de confiança (95 %) da taxa de migração por geração (M) entre as populações de *V. cobbi* calculada no programa migrate-n

4.5 DISCUSSÃO

A análise das frequências dos haplótipos de um fragmento do DNA mitocondrial (COI) evidenciou distintos padrões de estruturação genética em populações regionais de duas espécies de nematoides marinhos pertencentes a dois grupos funcionais de dispersão distintos, em ambientes estuarinos subtropicais da costa sul brasileira. A análise corroborou a previsão da hipótese principal de que os grupos funcionais de dispersão, propostas teoricamente no Capítulo I e testadas experimentalmente no Capítulo II, modulam de fato a distribuição e o fluxo gênico entre populações de nematoides na escala de metros a dezenas de quilômetros.

Ao considerar o conjunto de sequências do DNA mitocondrial de vários indivíduos e regiões ao longo dos estuários de Laranjeiras, Paranaguá e Guaratuba para a espécie *vágil nadadora* *V. cobbi*, e para a espécie *sedentária* *M. chandleri*, o padrão de distribuição da diversidade genética foi diferente. Apesar do menor número de indivíduos analisados para *V. cobbi*, a diversidade haplotípica e nucleotídica foi maior. Da mesma forma, a frequência dos haplótipos também foi maior nessa espécie do que para a espécie *sedentária*, *M. chandleri*. Para ambas as espécies, a diferenciação genética dentro das populações foi maior do que entre as populações, sendo que para *M. chandleri* a diferença entre as populações foi mínima.

Metachromadora chandleri, pertencente ao grupo funcional de dispersão *sedentário* (Capítulo I), é suspensa e transportada passivamente na coluna d'água após erosão do fundo por correntes, não sendo capaz de retornar ativamente ao sedimento. Seu comportamento letárgico está relacionado com o tamanho relativamente pequeno do corpo e com a morfologia *abaulada e truncada*, com cauda *curta e cônica* e com alimentação do tipo *comedor de epistrato* (Capítulo II). Espécies que dependem primariamente das algas na superfície do sedimento e apresentam comportamento letárgico são mais suscetíveis à suspensão passiva e posterior carreamento (PALMER e GUST, 1985; COMMITO e TITA, 2002; THOMAS e LANA, 2011). Blome *et al.* (1999) mostraram que a distribuição de *Metachromadora* foi ampla na escala de metros, em uma planície entremarés. Nos experimentos descritos no Capítulo II, *M. chandleri* mostrou altas taxas de dispersão na coluna d'água após a passagem de uma onda de maré enchente em uma

planície entremarés, atingindo as maiores distâncias estimada. A população regional da espécie apresentou amplo fluxo gênico, não sendo possível reconhecer populações locais geneticamente estruturadas e não se ajustando ao modelo clássico de uma metapopulação, mas sim ao modelo de *fonte-dreno*, discutido mais adiante.

Por sua vez, *Viscosia cobbi*, pertencente ao grupo funcional de dispersão *vágil nadador* (Capítulo I), é capaz de se contrapor ao transporte na coluna d'água após suspensão através da natação, retornando ao sedimento adjacente. As espécies desse grupo funcional compartilham as características de *corpo retilíneo*, comportamento de natação e modo de deslocamento *senoidal ômega* (Capítulo II). Ullberg e Olafson (2003) mostraram que algumas espécies de nematoides são capazes de escolher de forma eficiente o ambiente de assentamento após suspensão. Nossos resultados ratificam essas hipóteses de que nematoides marinhos se comportariam como partículas passivas na coluna de água após ressuspensão. Uma evidência empírica adicional do limitado potencial de dispersão desta espécie *vágil nadadora* foi sua ausência na maioria dos baixios amostrados. Essa ausência não foi causada por um esforço amostral reduzido, pois foram realizadas sete coletas em cinco planícies entremarés nas Baías de Paranaguá e Guaratuba, durante os anos de 2009 e 2010. A população regional de *V. cobbi* ajustou-se ao modelo de metapopulação clássica, sendo formada por populações locais geneticamente estruturadas, com fluxo gênico restrito, na escala de dezenas de quilômetros.

O modelo de metapopulações pressupõe maior diversidade genética dentro das populações locais do que entre elas, como resultado dos processos locais de extinção e recolonização (GRIMM *et al.*, 2003). Portanto, esse critério também suportaria a hipótese de que as populações regionais da espécie *vágil nadadora V. cobbi* ajusta-se de fato ao modelo clássico de metapopulação.

O uso do critério de diversidade genética não esclarece por si só se a espécie *sedentária M. chandleri* ajusta-se ao modelo de metapopulação, pois a diferença genética entre as populações foi mínima, não sendo possível reconhecer as populações locais. Quando as populações apresentam o mesmo tamanho efetivo e amplo fluxo gênico, o modelo não se assemelha a uma metapopulação e apenas representa uma população homoganeamente distribuída (GRIMM *et al.*, 2003).

O modelo teórico de metapopulação proposto por Levins (1969) sustenta a ideia de que grupos de manchas discretas de *habitat* aproximadamente do mesmo tamanho e que abrigam populações locais unidas pela migração e extinção estão em equilíbrio persistente (HANSKI e GILPIN, 1997). No entanto, para que isso aconteça algumas condições precisam ser satisfeitas: (1) o *habitat* deve ocorrer em manchas discretas, que podem ser ocupadas por populações locais que se reproduzem; (2) todas as populações locais devem apresentar risco de extinção; (3) as manchas de *habitat* não devem estar isoladas de forma a impedir a colonização e (4) as populações locais não devem apresentar sincronia em suas dinâmicas (HANSKI e GILPIN, 1997).

Há, no entanto, situações em que a população regional não representa necessariamente uma metapopulação clássica, podendo divergir das suposições gerais do modelo (HANSKI e SIMBERLOFF, 1997). Mesmo nestes casos os pré-requisitos de migração entre populações, a distribuição regional de *habitats* favoráveis discretos em meio a uma matriz de habitat desfavorável e extinções locais de populações devem ser mantidos mesmo nos modelos que divergem do modelo clássico de metapopulações (HANSKI, 1999). Neste contexto, considerando que o fluxo gênico da espécie *sedentária M. chandleri* foi assimétrico na escala espacial de metros a dezenas de quilômetros, seu padrão de estruturação ajusta-se melhor a um modelo de metapopulação conhecido como *fonte-dreno (source-sink)*. Neste modelo, as *populações fontes* são mais exportadoras do que importadoras de migrantes. Por outro lado, as *populações dreño* dependem da introdução de migrantes de uma população fonte e não produzem migrantes (ou produzem migrantes em proporções insignificantes). Assim, não é possível reconhecer as populações locais discretas e apenas a população local com o maior tamanho efetivo é dominante, homogeneizando geneticamente a população (PULLIAM, 1988; HARRISON e TAYLOR, 1997). Nessas situações, o parâmetro que determina primariamente o status de *população fonte* e *população dreño* é a estabilidade ambiental (HARRISON e TAYLOR, 1997).

Locais desfavoráveis para o estabelecimento e reprodução tendem a exportar indivíduos que não são bons competidores para populações em locais mais favoráveis, onde esses indivíduos podem ser bons competidores (BROWN e KODRIC-BROWN, 1977). Aplicando-se o modelo *fonte-dreno*, a população local da

Ilha Rasa da Cotinga seria a *fonte*, determinada pelas condições ambientais subótimas para estabelecimento e reprodução dos indivíduos, exportando-os para as regiões mais favoráveis. Como observado, essa dinâmica de dispersão produz populações de menores tamanhos efetivos e geneticamente semelhantes à população doadora.

Os valores significativos de F_{st} ratificaram a ausência de estruturação genética em *M. chandleri* na escala de metros a dezenas de quilômetros. Da mesma forma, os resultados da AMOVA mostraram amplo fluxo gênico, com homogeneização genética das populações locais, apoiada pelas evidências de migração entre as populações locais. Espécies com ampla distribuição geográfica e populações locais homogêneas são reconhecidamente não estruturadas por altas taxas de migração (CRONIN, 2003).

Processos de extinções das populações locais de *M. chandleri* podem estar indiretamente associados com sua baixa diversidade haplotípica e nucleotídica, evidenciada pela rede de haplótipos. Este padrão de diversidade genética pode indicar recente gargalo populacional, ou evento fundador com uma ou poucas linhagens mitocondriais. O efeito de um gargalo populacional foi identificado pelas análises da distribuição *mismatch* das populações locais. A dominância de um único haplótipo em todas as populações locais também mostra eventos de extinção com subsequente expansão populacional da espécie, como indicado pelos testes de neutralidade. Espera-se que populações fundadas recentemente apresentem apenas parte da diversidade genética encontrada na população de origem (WARES e CUNNINGHAM, 2001).

Um padrão semelhante de estruturação populacional foi descrito para a espécie estuarina *Pellioditis marina*, que mostrou reduzida diversidade genética justamente em uma região estuarina mais contaminada (DERYCKE *et al.* 2006). Nesse caso, a baixa diversidade genética foi resultado de um efeito de gargalo populacional causado pelas condições subótimas do ambiente. Este gargalo não acarreta necessariamente a redução persistente da diversidade genética, mas pode ser indicativo dos efeitos da deriva genética durante longos períodos de exposição (DERYCKE *et al.* 2006). Este efeito de gargalo populacional em *Pellioditis marina* pode ter direcionado as forças evolutivas para a seleção de um haplótipo do DNA mitocondrial, presumidamente mais resistente às altas concentrações de

contaminantes. Reduções indiretas da diversidade do DNA mitocondrial podem ser reconhecidas por contaminantes e por processos estocásticos como a deriva genética (BALLARD e RAND, 2005). Analogamente, as populações locais de *M. chandleri* habitam ambientes de alta instabilidade, característico da região de entremarés, sendo coletadas próximo de áreas com evidências de contaminação (MARTINS *et al.*, 2010). Uma reduzida diversidade mitocondrial decorrente de condições de poluição química também foi evidenciada em copépodes (STREET e MONTAGNA, 1996) e gastrópodes marinhos (KIM *et al.*, 2003).

Por outro lado, os valores significativos de F_{st} da população local de *V. cobbi* do Baixio da Ponta em Laranjeiras, em relação às demais populações da Baía de Paranaguá, na escala de dezenas de quilômetros, atestam a estruturação genética desta população regional. A rede de haplótipos mostrou um padrão geográfico consistente, com haplótipos mais frequentes nos pontos da Ilha Rasa da Cotinga (P1 e P2) e da Ilha da Cotinga, distantes entre si na escala de metros e quilômetros, além de haplótipos exclusivos no Baixio da Ponta, em Laranjeiras, a dezenas de quilômetros. Houve evidências de um fluxo gênico assimétrico entre todas as regiões amostradas na Baía de Paranaguá e Laranjeiras. Considerando-se, a princípio, os processos de extinção e recolonização, o fluxo gênico restrito na escala de dezenas de quilômetros, de acordo com os resultados da análise F_{st} , pode definir o ajuste de *V. cobbi* ao modelo de uma metapopulação *clássica*.

Muitas vezes a teoria de metapopulações (LEVINS, 1969) contrasta com o modelo de Ilhas (WRIGHT, 1951) devido às condições de fluxo gênico entre populações geneticamente estruturadas e ausência de extinção. Isso acontece porque o fluxo gênico pode estar influenciando as distribuições espaciais, subjugando a diferenciação genética (SLATKIN, 1993). Portanto, é essencial entender o conjunto de variações genéticas das populações, como número de migrantes por geração, probabilidade de origem comum e tipo de estrutura da população (HANSKI, 1999).

A partir das informações da dinâmica do fluxo gênico e da reconhecida capacidade de dispersão restrita da espécie categorizada no grupo funcional de dispersão *vágil nadador*, o modelo de ilhas e '*stepping-stones*', como indicado pelos valores significativos do p do F_{st} na escala de dezenas de quilômetros, deve ser rejeitado. No modelo de Ilhas, o movimento dos haplótipos se dá ao acaso, em

qualquer direção, entre um grupo de pequenas populações. A análise de F_{st} segue os pressupostos do modelo de Ilhas desenvolvido por Wright (1951) e foi baseada numa curva de distribuição de frequências gênicas entre grupos de uma população. Nessa análise, a migração é igual a um indivíduo por geração, não ocorrendo diferenciação genética significativa entre populações. Portanto, os efeitos da migração são provavelmente suficientes para contrapor os efeitos da deriva genética. No modelo de Ilhas os processos de extinção são desconsiderados (FELSENSTEIN, 1975, BARTON e WILSON, 1995). Ainda, as vantagens da aplicação do modelo de Ilhas para determinadas espécies devem ser reavaliadas quando esse modelo é aplicado em genes de espécies com modos de vida diferentes e contrastantes (PANNELL e CHARLESWORTH 1999).

A análise da distribuição *mismatch* de *V. cobbii* apoiou os resultados dos testes de neutralidade que apresentam valores negativos, indicando apenas que há um excesso de mutações recentes. Valores negativos nos testes de neutralidade também são interpretados como evidências de expansão populacional e equilíbrio (TAJIMA, 1989; FU, 1997). Populações que foram fundadas recentemente apresentam baixos níveis de diversidade genética e podem mostrar características genéticas de uma rápida expansão populacional ocasionada, em parte, pela tentativa de se promover um equilíbrio entre diversidade alélica e mudanças demográficas (AUSTERLITZ *et al.*, 1997; WARES e CUNNINGHAM, 2001).

Contudo, evidências indiretas do fluxo reforçam a ideia de que o modelo clássico de metapopulação, com fluxo gênico assimétrico e não restrito às populações vizinhas, é o que melhor se ajusta a *V. cobbii*. Diferenças espaciais nas frequências de haplótipos também foram observadas em populações da espécie fital *Pellioditis marina* indicando estruturação genética, influenciada principalmente pelos processos envolvidos na dinâmica da metapopulação (DERYCKE *et al.*, 2006). Apesar da estruturação na escala de dezenas de quilômetros, a presença de fluxo gênico entre todas as regiões amostradas para a espécie *vágil nadadora* ressalta, ainda, a importância dos processos de migração de longas distâncias que controlam a permanência da metapopulação. Por outro lado, os processos de migração na escala de metros a quilômetros são importantes porque influenciam a extinção de uma população ou no número de indivíduos que migram para regiões próximas. Diferentemente de uma metapopulação *fonte-dreno*, em uma metapopulação

clássica a proporção de *habitats* favoráveis ao estabelecimento e reprodução das espécies é inferior à de *habitats* desfavoráveis (HANSKI e GILPIN, 1997). Portanto, o cenário que define o ajuste da *vágil nadadora V. cobbi* ao modelo clássico de metapopulação é a constante migração e escolha de um local próximo à origem, onde as condições ambientais sejam mais favoráveis a reprodução e estabelecimento dos indivíduos.

A manutenção de populações locais e regionais após eventos de extinção, através da migração, é uma característica determinante para os processos que controlam a permanência da metapopulação (WU, 1994). Portanto, o conjunto das características dos grupos funcionais de dispersão *sedentário* e *vágil nadador* e das frequências de haplótipos em sequências de DNA mitocondrial (COI), entre populações distanciadas na escala de metros a dezenas de quilômetros, foi fundamental para a compreensão e determinação da distribuição em metapopulações de espécies de nematoides marinhos.

5 DISCUSSÃO GERAL

Na presente tese, os grupos funcionais de dispersão de nematoides marinhos de vida livre foram propostos a partir da combinação do comportamento, morfologia e grupos tróficos das espécies, determinando a suscetibilidade a suspensão para a coluna d'água. Os padrões da estrutura genética de duas espécies de distintos grupos funcionais de dispersão definiram em última análise as diferentes estratégias de dispersão em distintas escalas espaciais. Através da análise de fluxo gênico e da frequência de haplótipos em sequências de DNA mitocondrial de populações da espécie vágil nadadora *Viscosia cobbi* e da sedentária *Metachromadora chandleri*, foram investigados os processos evolutivos que afetam os padrões de distribuição em metapopulações de ambas as espécies, na escala de metros a dezenas de quilômetros.

A distribuição de organismos da meiofauna, aparentemente homogênea, foi reconhecida como "quase caótica ou certamente imprevisível" (FLEEGER e DECHO, 1987). Importantes implicações para a dinâmica das populações foram constatadas na ausência de movimentos direcionais provocados por um gradiente físico-químico que resultou em uma distribuição dos organismos de ambientes intersticiais imprevisível e com padrões estocásticos (BYERS, 2001). Nesse sentido, diversos trabalhos procuraram entender as escalas e padrões de distribuição das espécies meiofaunais essenciais para compreender as ligações, interações tróficas e biológicas, assim como os processos ambientais envolvidos (MOENS *et al.*, 1999; SANDULLI e PINCKNEY, 1999; SOMERFIELD *et al.*, 2007; GALLUCCI *et al.*, 2008; CHAPMAN *et al.*, 2010; GINGOLD *et al.*, 2011).

De modo geral, a estrutura genética de populações de espécies marinhas mostrou ser primariamente influenciada por eventos históricos, barreiras geográficas e características ecológicas e biológicas das espécies (PALUMBI, 1994). Processos e mecanismos de dispersão são temas relevantes para a presente tese e mostraram que podem e devem ser considerados nas análises de estrutura e distribuição das populações de nematoides marinhos.

Metachromadora chandleri, por ser uma espécie *sedentária*, responde de forma passiva aos processos de erosão e subsequente suspensão na coluna d'água, não sendo capaz de retornar ativamente ao sedimento. Sua população

apresentou amplo fluxo gênico, não sendo possível reconhecer populações locais geneticamente estruturadas. A distribuição dessa espécie na escala regional não representa uma metapopulação *clássica*, mas pode ser considerada uma metapopulação *Fonte-dreno*. Por outro lado, *Viscosia cobbi*, por ser uma espécie *vágil nadadora* é capaz de resistir ao carreamento após suspensão, através do comportamento ativo de natação, sendo capaz de retornar a locais próximos do ponto de origem. Espécies do grupo funcional de dispersão *vágil nadador* se ajustam assim ao conceito clássico de metapopulações, com populações locais com fluxo gênico restrito.

Por meio de comparações entre os resultados obtidos por outros trabalhos que investigaram a estrutura genética das populações de espécies de nematoides marinhos, relacionamos os padrões encontrados com os grupos funcionais de dispersão propostos na presente tese.

Derycke *et al.* (2005; 2007) avaliaram a estrutura genética de duas espécies de nematoides simpátricas em pequena escala espacial (<100km), *Pellioiditis marina* e *Halomonhystera disjuncta*. A princípio, a simpatria sugere efeitos similares da história e demografia na estrutura genética de ambas as espécies. Por outro lado, características de preferências de *habitats* e estratégias de vida de *H. disjuncta* e *P. marina* diferem em diversos aspectos: a) *P. marina* é restrita a substratos macroalgais; b) *H. disjuncta* ocorre em abundância no sedimento em regiões adjacentes de detritos vegetais e c) *P. marina* é colonizadora enquanto *H. disjuncta* é oportunista, segundo classificação de Bongers e Bongers (1998). Nesse sentido, os autores testaram a hipótese de que, se efeitos espécie-específico de preferências de *habitats* e estratégias de vida dominam na estrutura genética das populações das duas espécies, então *P. marina* apresentaria nível de diferenciação genética maior do que *H. disjuncta* devido à alta fragmentação do ambiente algal. Entretanto, foi constatado que ambas as espécies apresentaram alta estruturação genética tanto temporal quanto espacial. Portanto, as diferenças biológicas e ecológicas, avaliadas entre as espécies, não foram significantes para avaliar efeitos espécie-específico, sendo o efeito do ambiente algal altamente instável e fragmentado determinante para a estruturação das populações.

De acordo com a proposta dos grupos funcionais de dispersão, tanto *P. marina* quanto *H. disjuncta* apresentam forma do corpo esbelto e cauda clavada-

cônica/cilíndrica. Essas características, associadas ao hábito de vida fital de *P. marina* e comedora não seletiva de depósito de *H. disjuncta*, determinam a classificação em grupos funcionais de dispersão como vágeis nadadoras. Nesse caso, a estruturação genética encontrada para ambas as espécies estão de acordo com o resultado encontrado para a vágil nadadora *V. cobbii*, sugerindo que a dispersão é condicionada pela sua capacidade de natação ativa com posterior assentamento em áreas adjacentes, contrapondo-se ao transporte passivo na coluna d'água. Portanto, as populações apresentam amplo fluxo gênico ao longo de um gradiente estuarino de metros a dezenas de quilômetros, formando populações locais geneticamente não estruturadas, mas com fluxo gênico restrito e populações estruturadas na escala regional, com centenas de quilômetros. O conceito clássico de metapopulação se aplicaria nestes casos. Em última análise, para determinar a importância dos grupos funcionais de dispersão na estrutura genética das populações e aplicação do conceito de metapopulações para nematoides marinhos, a comparação com espécies vágeis rastejadoras, assim como para outras espécies sedentárias e vágeis nadadoras, é extremamente relevante e necessário.

REFERÊNCIAS

- ADANS, J.M.P.; TYLER, S. 1980. Hopping Locomotion in a Nematode: Functional Anatomy of the Caudal Gland Apparatus of *Theristus caudasaliens* sp. n. *Journal Morphology*, n.164, p. 265-285.
- ALEXANDER, R.M. 2002. Locomotion. In: Lee, D.L. (ed.) *The Biology of Nematodes*. Taylor and Francis, London.
- ALKEMADE R.; WIELEMAKER A.; HERMAN P.; HEMMINGA M. 1994. Population dynamics of *Diplolaimelloides brucei*, a nematode associated with the salt marsh plant *Spartina anglica*. *Marine Ecology Progress Series*, n. 105, p. 277–284.
- ANDERSON, M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, n. 26, p. 32-46.
- ANDERSON, M.J. 2005. PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance. Department of Statistics, University of Auckland, New Zealand. .
- ANGULO R.J. 1992. Geologia da Planície Costeira do Estado do Paraná. Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Tese de Doutorado, 334 p.
- ARMONIES W. 1988. Active emergence of meiofauna from intertidal sediment. *Marine Ecology Progress Series*, n. 43, p. 151-159.
- ATILLA N.; FLEEGER J.W. 2000. Meiofaunal colonization of artificial substrates in an estuarine embayment. *P.S.Z.N. Marine Ecology*, n. 21, p. 69– 83.
- ATILLA N., WETZEL M.A.; FLEEGER J.W. 2003. Abundance and colonization potential of artificial hard substrate-associated meiofauna. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, n. 287, p. 273–287.
- AUSTERLITZ F. 1997. Evolution of coalescence times, genetic diversity and structure during colonization. *Theoretical Population Biology*, n.51, p.148–164.
- AVISE J.C. 2004. *Molecular markers, natural history, and evolution*, 2nd ed. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Associates. 684 p.
- AX, P. 1987. *The Phylogenetic System*. London: Wiley.
- BALLARD J.W.; RAND D.M. 2005. The population biology of mitochondrial DNA and its phylogenetic implications. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, n. 36, p. 621–642.
- BARBER P.H.; MOOSA M.K.; PALUMBI S.R. 2002. Rapid recovery of genetic diversity of stomatopod populations on Krakatau: temporal and spatial scales of marine larval dispersal. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, n. 269, p. 1591–1597.

BARTON N.H.; WILSON I. 1995 Genealogies and geography. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, n. 349, p. 49-59.

BARTON N.H.; WHITLOCK M.C. 1997. The evolution of metapopulations. in I. A. Hanski and M. E. Gilpin, eds. *Metapopulation biology*. Academic Press, New York, p. 183.

BEERLI P.; FELSENSTEIN J. 2001. Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. n. 98, p. 4563-4568.

BELL S.S.; SHERMAN K.S. 1980. Tidal resuspension as a mechanism for meiofauna dispersion. *Marine Ecology. Progress Series*, n. 3, p. 245-249.

BHADURY P.; AUSTEN M.C.; BILTON D.T.; LAMBSHEAD P.J.D.; ROGERS A.D.; SMERDON G.R. 2008. Evaluation of combined morphological and molecular techniques for marine nematode (*Terschellingia* spp.) identification. *Marine Biology* n. 154, p. 509-518.

BIGARELLA J.J.; BECKER, R.D.; MATOS, D.J.; WERNER, A. 1978. (ed.). *A Serra do Mar e a Porção Oriental do Estado do Paraná. Um Problema de Segurança Ambiental e Nacional*. Curitiba, SEPL/ADEA. 249 p.

BLOMSTER J.; BÄCK S.; FEWER D.P.; KIIRIKKI M.; LEHVO A.; MAGGS C.A.; STANHOPE M.J. 2002. Novel morphology in *Enteromorpha* (Ulvophyceae) forming green tides. *The American Journal of Botany*, n. 89, 756-1 763.

BOADEN P.J.S. 1989. Meiofauna and the origins of the metazoa. *Zoology Journal Linnean Society*. n. 96, p. 217-227.

BOADEN P.J.S.; Platt, H.M. 1971. Daily migration patterns in an intertidal meiobenthic community. *Thalassia Jugoslavica*, n. 7, p. 1-12.

BOECKNER M.J.; SHARMA J.; PROCTOR H.C. 2009. REVISITING THE MEIOFAUNA PARADOX: DISPERSAL AND COLONIZATION OF NEMATODES and other meiofaunal organisms in low and high-energy environments. *Hydrobiologia*, n. 624, p. 91-106.

BOHONAK A.J.; VANDERGAST A.G. 2011. The value of DNA sequence data for studying landscape genetics. *Molecular Ecology*, n. 20, p. 2477– 2479.

BONGERS T. 1990. The maturity index, an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, n. 83, p. 14–19.

BONGERS T. 1999. The maturity index, the evolution of nematode life history traits, adaptive radiation and cp-scaling. *Plant and Soil* 212, 13–22.

BOUWMAN, L.A. 1983. A survey of nematodes from the Sem estuary. Part II. Species assemblages and associations. *Zoology Journal Biology System*, n.110, p. 345-376.

BROWN, J.H.; KODRIC-BROWN, A. 1977. Turnover rates in insular biogeography: effect of immigration on extinction. *Ecology* n. 58, p. 445-449.

BURR A.H.J.; ROBINSON A.F. 2004. Locomotion behavior. in *Nematode Behaviour*, Gaugler R. and Bilgami A. L., eds. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom, pp. 25-62.

BYERS, J.A. 2001. Correlated random walk equations of animal dispersal resolved by simulation. *Ecology*, n. 82, p. 1680-1690.

CHANDRASEKARA, W.U.; FRID, C.L.J. 1996. The effects of relic fauna on initial patch colonisation in a British saltmarsh. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, n. 30, p.49-60.

CHAPMAN, M.G.; TOLHURST, T.J.; MURPHY, R.J.; Underwood A.J. 2010. Complex and inconsistent patterns of variation in benthos, micro-algae and sediment over multiple spatial scales. *Marine Ecology Progress Series*, n. 398, p. 33-47.

CLEMENT, M.; POSADA, D.; CRANDALL K. A. 2000. TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, n. 9, p. 1657-1660.

COLOMBINI, I.; CHELAZZI I. 2003. Influence of marine allochthonous input on sandy beach communities. *Oceanography Marine Biology Annul Review*, n. 41, p. 115-159

COMMITO, J.A.; TITA G. 2002. Differential dispersal rates in an intertidal meiofauna assemblage. *Journal of Experimental Marine Biology*, n. 268, p. 237-256.

CONRADT, L.; BODSWORTH E.J.; ROPER T.J.; THOMAS C.D. 2000. Non-random dispersal in the butterfly *Maniola jurtina*: implications for metapopulation models. *Proceedings of the Royal Society of London B*, n. 267, p.1505- 1510.

CROFTON, H.D., 1966. *Nematodes*, Hutchinson University Library, London 160p.

ROLL, N.A.; MATTHEWS B.E. 1977. *Biology of Nematodes*. Glasgow and London: Blackie and Son.

CRONIN, T.W.; FORWARD R.B. 1986. Vertical migration cycles of crab larvae and their role in larval dispersal. *Bulletin of Marine Science*, n. 39, p. 192-201.

DE GRISSE. 1969. Redescription ou modification de quelques techniques utilisés dans l'étude des nematodes phytoparasitaires. *Mededelingen Rijksfakulteit Landbouwwetenschappen Gent*, n. 34, p. 251-369.

DERYCKE, S.; REMERIE T.; VIERSTRAETE A.; BACKELJAU T.; VANFLETEREN J.; VINCX M.; MOENS T. 2005. Mitochondrial DNA variation and cryptic speciation within the free-living marine nematode *Pellioiditis marina*. Marine Ecology Progress Series, n. 300, p. 91–103.

DERYCKE, S.; BACKELJAU T.; VLAEMINCK C.; VIERSTRAETE A.; VANFLETEREN J.; VINCX M.; MOENS T. 2006. Seasonal dynamics of population genetic structure in cryptic taxa of the *Pellioiditis marina* complex (Nematoda: Rhabditida). Genetica, n. 128, p. 307–321.

DERYCKE, S.; BACKELJAU, T.; VLAEMINCK, C.; VIERSTRAETE, A.; VANFLETEREN, J.; VINCX, M.; MOENS, T. 2007a. Spatiotemporal analysis of population genetic structure in *Geomonhystera disjuncta* (Nematoda, Monhysteridae) reveals high levels of molecular diversity. Marine Biology, n. 151, p. 1799–1812.

DERYCKE, S.; VAN VYNCKT, R., VANOVERBEKE, J.; VINCX, M.; MOENS, T. 2007b. Colonization patterns of Nematoda on decomposing algae in the estuarine environment: community assembly and genetic structure of the dominant species *Pellioiditis marina*. Limnology and Oceanography, n. 52, p. 992–1001.

DERYCKE, S.; REMERIE, T.; BACKELJAU, T.; VIERSTRAETE, A.; VANFLETEREN, J.; VINCX, M.; MOENS, T. 2008. Phylogeography of the *Rhabditis (Pellioiditis) marina* species complex: evidence for long-distance dispersal, and for range expansions and restricted gene flow in the northeast Atlantic. Molecular Ecology n. 17, p. 3306–3322.

DERYCKE, S.; DE LEY, P.; DE LEY, I. T.; HOLOVACHOV, O. 2010. Linking DNA sequences to morphology : cryptic diversity and population genetic structure in the marine nematode *Thoracostoma trachygaster* (Nematoda, Leptosomatidae) *Zoologica Scripta*.

DOCHTERMANN, N.A. 2010. Behavioral syndromes: carryover effects, false Discovery, and a priori hypotheses. Behavioral Ecology, Forum.

ESKIN, R.A.; PALMER, M.A. 1985. Suspension of marine nematodes in a turbulent tidal creek: species patterns. *Biological Bulletin*, n. 169, p. 615-623.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, n. 1, p. 47-50.

FAUCHALD, K.; JUMARS, P.A. 1979. The diet of worms: a study of polychaete feeding guilds. *Oceanography and Marine Biology - an Annual Review*, n. 17: p. 193-284.

FEGLEY, S.R. 1985. Experimental studies on the erosion of meiofauna from soft-substrates by currents and waves. *Dissertation Abstracts International B Sciences and Engineering*, n. 46, p. 174

FELSENSTEIN, J. 1975. A pain in the torus: some difficulties with the model of isolation with distance. *American Naturalist*, n. 109, p. 359-368.

FLEEGER J.W.; CHANDLER G.T.; FITZHUGH G.R.; PHILLIPS FE. 1984. Effects of tidal currents on meiofauna densities in vegetated salt marsh sediments. *Marine Ecology Progress Series*, n. 19, p. 49-53.

FLEEGER J.W.; DECHO A.W. 1987. Spatial variability of interstitial meiofauna: a review. *Stygologia*, n. 3, p. 35-54.

FONSECA-GENEVOIS V., SOMERFIELD P.J.; NEVES M.H.B.; COUTINHO R; MOENS T. 2006. Colonization and early succession on artificial hard substrata by meiofauna. *Marine Biology*, n. 148, p. 1039-1050.

FONSECA G.; DERYCKE S.; MOENS T. 2008. Integrative taxonomy in two free-living nematode species complexes. *Biological Journal of the Linnean Society*, n. 94, p. 737-753.

FONSECA A. 1998. Composição, distribuição, variação sazonal e produção primária do microfítobentos entremarés na Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil). Dissertação de Mestrado, Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

FRANCO M.A.; SOETAERT K.; COSTA M.J.; VINCX M., VANAVERBEKE J. 2008. Uptake of phytodetritus by meiobenthos using ^{13}C labelled diatoms and *Phaeocystis* in two contrasting sediments from North Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, n. 362, p. 1-8.

FRANKHAM R.; BALLOU J. D.; BRISCOE D. A. 2004. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge University Press. 220 p.

FU Y.X. 1997. Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics*, n. 147, p. 915-925.

GALLUCCI, F; STEYAERT M; MOENS T. 2005. Can field distributions of marine predacious nematodes be explained by sediment constraints on their foraging success? *Marine Ecology Progress Series*, n. 304, p. 167-178.

GALLUCCI F; NETTO S.A. 2004. Effects of the passage of cold fronts over a coastal site: an ecosystem approach. *Marine Ecology Progress Series*, n. 281, p.79-92.

GERLACH S.A. 1948. Die nematodenbesiedlung des sandstrandes in der Kieler Bucht. *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft Kiel*, n. 42, p.156-165.

GERLACH S.A. 1977. Means of meiofauna Dispersal. *Mikrofauna Meeresboden*, n. 61, p. 89-103.

GIBBS M.; SAASTAMOINEN M.; COULON, A.; STEVENS, V.M. 2010. Organisms on the move: ecology and evolution of dispersal. *Biology Letters*, n. 6, p. 146-148.

GIERE O. 2002. *Meiobenthology, the microscopic fauna in aquatic sediments*. Springer-Verlag: Berlin, 328pp.

GINGOLD R.; IBARRA-OBANDO S.E.; ROCHA-OLIVARES A.C. 2011. Spatial aggregation patterns of free-living marine nematodes in contrasting sandy beach micro-habitats. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, n. 91, p. 615–622.

GRAY J.; LISSMANN H.W. 1964. The locomotion of nematodes. *Journal of Experimental Biology*, n. 41, p. 135–154.

GRIMM V.; REISE K.; STRASSER M. 2003 • Marine metapopulations: a useful concept? *Helgoland Marine Research*, n. 56, p. 222–228.

HANSKI I. 1999. *Metapopulation ecology*. Oxford University Press, Oxford.

HANSKI I.; GILPIN M.E. EDS. 1997. *Metapopulation biology: ecology, genetics, and evolution*. San Diego, CA: Academic Press.

HANSKI I.; SIBERLOFF D. 1997. *The metapopulation approach, its history, conceptual domain, and application to conservation*. San Diego. Academic Press.

HARRIS J.E.; CROFTON H.D. 1957. Structure and functions in the nematodes: Internal pressure and cuticular structure in *Ascaris*. *Journal of Experimental Biology*, n. 34, p. 116–130.

HARRISON S.; TAYLOR A.D. 1997 Empirical evidence for metapopulation dynamics. In *Metapopulation biology: ecology, genetics, and evolution* (Hanski & Gilpin), pp. 27-42. San Diego, CA: Academic Press.

HEINZ S.K.; CONRADT L.; WISSEL C.; FRANK K. 2005. Dispersal in fragmented landscapes: Deriving a practical formula for patch accessibility. *Landscape Ecology*, n. 20, p. 83–99.

HUMMEL H. 2003. Geographical patterns of dominant bivalves and a polychaete in Europe: no metapopulation in the marine coastal zone? *Helgoland Marine Research*, n. 56, p. 247-251.

JENSEI P. 1981. Phyto-chemical sensitivity and swimming behaviour of the free-living marine nematode *Chromadorita tenuis*. *Marine Ecology Progress Series*, n. 4, p. 203-206.

JENSEN P. 1992. Predatory nematodes from the deep-sea: description of species from the Norwegian Sea, diversity of feeding types and geographical distribution. *Cahiers de Biologie Marine*, n. 33, p. 1-23.

KARR J.R.; JAMES F.C. 1975. Eco-morphological configurations and convergent evolution of species and communities; in *Ecology and Evolution of Communities*

(eds) M L Cody and J M Diamond (Cambridge, MA: Harvard University Press) pp 258-291.

KIM, S.J.; RODRIGUEZ-LANETTY, M.; SUH, J.H.; SONG, J.I. 2003. Emergent effects of heavy metal pollution at a population level: *Littorina brevicula*, a study case. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 74–80.

KOKKO, H.; LOPEZ-SEPULCRE, A. 2006. From individual dispersal to species ranges: perspectives for a changing world. *Science*, n. 313, p. 789–791.

KRITZER, J.P.; SALE, P.F. 2006. *Marine metapopulation*. Academic Press, pp 544.

LANA, P.C.; MARONE, E.; LOPES, R.M.; MACHADO, E. C. 2000. The subtropical estuarine complex of Paranaguá Bay, Brazil. Organizado por Seeliger, Merichi, Lacerda, I. d. de; kjerfve, B. *Coastal Marine Ecosystems of Latin América*. Berlim Heiedelberg, p. 60-75.

LEE, D.L.; BIGGS, W.D. 1990. Two-and three-dimensional locomotion of the nematode *Nippostrongylus brasiliensis*. *Parasitology*, n. 101, p. 301-308.

LENORMAND, T. 2002. Gene flow and the limits to natural selection. *Trends Ecology Evolution*, n. 17, p. 183-189.

LEVINS, R. 1969. Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, n. 15, p. 237–240.

LOGUE, D.M.; MISHRA, S.; MCCAFFREY, D.; BALL, D.; CADE, W.H. 2009. A behavioral syndrome linking courtship behavior toward males and females predicts reproductive success from a single mating in the hissing cockroach, *Gromphadorhina portentosa*. *Behavioral Ecology*, n. 20, p. 781–788.

LORENZEN, S.; PREIN, M.; VALENTIN, C. 1987. Mass aggregations of the free-living marine nematode *Pontonema vulgare* (Oncholaimidae) in organically polluted fjords. *Marine Ecology Progress Series*, n. 37, p. 27–34.

MARGALEF, R. 1989. *Ecología*. Ediciones Omega, Barcelona, 951p.

MARONE, E.; Camargo R. 1994 *Marés meteorológicas no litoral do Paraná: O evento de 18 de Agosto de 1993*. *Nerítica*, Curitiba, n. 8, p.73-85, Editora da UFPR.

MARTINS, C.C.; BRAUN J.A.F.; SEYFFERT B.H.; MACHADO E.C.; FILLMANN G. 2010. Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, no prelo.

MOENS T.; VINCX M. 1997. Observations on the feeding ecology of estuarine nematodes. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, n. 77, p. 211–227.

MOENS T.; GANSBEKE D.V.; VINCX M. 1999. Linking estuarine nematodes to their suspected food. A case study from Westerschelde estuary (south-west Netherlands). *Journal of Marine Biology Association of United Kingdom*, n. 79, p. 1017-1027.

NATHAN, R.; GETZ, W. M.; REVILLA, E.; HOLYOAK, M.; KADMON, R.; SALTZ, D.; SMOUSE, P. E. 2008. A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, n. 105, p 19-59.

NEI, M. 1973. The theory and estimation of genetic distance. In Morton, N. E. (ed.), *Genetic structure of Populations*. University of Hawaii, Honolulu, 45–54.

NOERNBERG, M.A.; LAUTERT, L. F.C.; ARAÚJO, A.D.; MARONE, E.; ANGELOTTI, R.; NETTO JR, J.P.B.; KRUG, L.A. 2004. Remote Sensing and GIS Integration for Modelling the Paranaguá Estuarine Complex – Brazil. *Journal of Coastal Research*.

OLIVEIRA-NETO, J.F.; PIE, M.R.; BOEGER, W.A; OSTRENSKY, A.; BAGGIO, R.A. 2007. Population genetics and evolutionary demography of *Ucides cordatus* (Decapoda: Ocypodidae). *Marine Ecology*, n. 28, p. 1-10.

OVENDEN, J.R.; SALINI, J.; O'CONNOR, S.; STREET, R. 2004. Pronounced genetic population structure in a potentially vagile fish species (*Pristipomoides multidens*, Teleostei; Perciformes; Lutjanidae) from the East Indies triangle. *Molecular Ecology*, n. 13, p.1991–1999.

OZÓRIO, C.P.; BEMVENUTI, C.E.; ROSA, L.C. 1999. Comparação da meiofauna em dois ambientes estuarinos da Lagoa dos Patos, RS. *Acta Limnologica Brasiliensia*, n. 11, p. 29-39.

PALMER, M.A.; MOLLOY, R.M. 1986. Water flow and the vertical distribution of meiofauna: a flume experiment. *Estuaries*, n. 9, p. 225-228.

PALMER, M.A. 1988. Dispersal of marine meiofauna: a review and conceptual model explaining passive transport and active emergence with implication to recruitment. *Marine Ecology Progress Series*, n. 48, p. 81-91.

PANNELL, J.R.; CHARLESWORTH, J.R. 1999. Neutral genetic diversity in a metapopulation with recurrent local extinction and recolonization. *Evolution*, n. 53, p. 664-676.

PALUMBI, S.R. 1992. Marine speciation on a small planet. *Trends Ecology and Evolution*, n. 7, p. 114-18.

PECHENIK, J.A. 1999. On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series*, n. 177, p. 269–297.

- PLATT, H.M.; WARWICK, R.M. 1983. Free-living Marine nematodes (Part I British Enoplids) Synopses of the British Fauna (New series) n. 28.
- PLATT, H.M.; WARWICK, R.M. 1988. Free-living Marine nematodes (Part II British Chromadorids) Synopses of the British Fauna (New series) n. 38.
- POSEY, M.H. 1987. Influence of relative mobilities on the composition of benthic communities. *Marine Ecology Progress Series*, n. 39, p. 99–104.
- PREIN, M. 1988. Evidence for a scavenging lifestyle in the free-living nematode *Pontonema vulgare* (Enoplida, Oncholaimidae). *Kieler Meeresforsch*, n. 6, p. 389–394.
- PULLIAM, H.R. 1988. Sources, sinks, and population regulation. *American Naturalist*, n. 132, p. 652–661.
- RATSIMBAZAFY, R.; BOUCHER, G.; DAUVIN, J.C. 1994. Mesures indirectes de la Biomasse des Nématodes Du méiobenthos subtidal de la Manche. *Cahiers de Biologie Marine*, n. 35, p. 511-523.
- RIEMANN, F. 1986. Berichte der Abteilung: Nematodenkunde. Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung Bremerhaven n. 21, p. 195–201.
- ROGERS, A.R.; HARPENDING, H. 1992. Population Growth Makes Waves in the Distribution of Pairwise Genetic Differences. *Molecular Biology and Evolution*, n. 9, p. 552-569.
- ROZAS, J. 2003. DNASP: DNA polymorphism analysis by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, n.19, p.2496–2497.
- SALVINI-PLAWEN, L. VON. 1978. On the origin and evolution of the lower Metazoa. *Zeitschrift fuer Zoologische Systematik und Evolutionsforschung*, n. 16, p. 40-88.
- SANDULLI, R.; PINCKNEY, J.L. 1999. Patch sizes and spatial patterns of meiobenthic copepods and benthic microalgae in sandy sediments: a microscale approach. *Journal of Sea Research*, n. 41, p. 179–187.
- SANTOS, P.J.P.; CASTEL, J.; SOUZA-SANTOS, L.P. 1996. Seasonal variability of meiofaunal abundance in the oligo-mesohaline area of the Gironde Estuary, France. *Estuarine Coastal Shelf Science*, n. 43, p. 549-563.
- SCHRATZBERGER, M.; REES, H. L.; BOYD, S. E. 2000. Effects of simulated deposition of dredged material on structure of Nematode assemblages – the role of contamination. *Marine Biology*, n. 137, p. 613-622.
- SCHRATZBERGER, M.; WARR, K.; ROGERS, S.I. 2007. Functional diversity of nematode communities in the southwestern. *Marine Environmental Research*, n. 63, p. 368-369.
- SCHEFFER, I.E. 1999. *Mitochondria*. New York: Wiley-Liss Inc.

- SLATKIN, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, n. 47, p. 264–279.
- SMOL, N.; WILLEMS, K.A.; GOVAERE, J.C.R.; SANDAE, A.J.J. 1994. Composition, distribution and biomass of meiobenthos in the Oosterschelde estuary (SW Netherlands). *Hydrobiologia*, n. 282/283, p. 197-217.
- SOETAERT, K.; VINCX, M.; WITTOECK, J.; TULKENS, M.; GANSBEKE D.V. 1994. Spatial patterns of Westerschelde meiobenthos. *Estuarine Coastal Shelf Science*, n. 39, p. 367-388.
- SOETAERT, K.; MUTHUMBI, A.; HEIP, C. 2002. Size and shape of ocean margin nematodes: morphological diversity and depth-related patterns. *Marine Ecology Progress Series*, n. 242, p. 179-193.
- SOMERFIELD, P.J.; WARWICK, R.M. 1996. *Meiofauna in Marine Pollution Monitoring Programmes: a laboratory Manual*. MAFF Directorate of Fisheries Research Technical Series, p. 71.
- STREET, G.T.; MONTAGNA, P.A. 1996. Loss of genetic diversity in Harpacticoida near offshore platforms. *Marine Biology*, n. 126, p. 271–282.
- STEYAERT, M.; GARNER, N.; VAN GANSBEKE, D.; VINCX, M. 1999. Nematode communities from the North Sea: environmental controls on species diversity and vertical distribution within the sediment. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, n.79, p.253– 264.
- STEYAERT, M.; HERMAN, P.M.J.; MOENS, T.; WIDDOWS, J.; VINCX, M. 2001. Tidal migration of nematodes on an estuarine tidal flat (the Molenplaat, Schelde Estuary, SW Netherlands). *Marine Ecology Progress Series*, n. 224, p. 209-304.
- TAJIMA, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, n. 123, p. 585–595.
- TEMPLETON, A.R.; SING, C.F. 1993. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analyses with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics*, n. 134, p. 659–669.
- THIEL, H. 1983. Meiobenthos and nanobenthos of the deep-sea. In: ROWE, G.T. ed. *The Sea*. New York, John Wiley.
- THIEL, M.; GUTOW, I. 2005. The ecology of rafting in the marine environment. II. The rafting organisms and community. *Oceanography Marine Biology Annual Review*, n. 43, p. 279–418.
- THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D.G. 1997. The Clustal_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acid Research*, n. 24, p. 4876–4882.

- THISTLE, D.; LAMBSHEAD, P.J.D.; SHERMAN, K.M. 1995. Nematode tail-shape groups respond to environmental differences in the deep sea. *Vie et Milieu*, n. 45, p. 107–115.
- THISTLE, D.; SHERMAN, K.M. 1985. The nematode fauna of a deep-sea site exposed to strong near-bottom currents. *Deep Sea Research*, n. 32, p. 1077–1088.
- THOMAS, M.C.; LANA, P.C. 2011. A new look about nematodes dispersal. *Zoology*, no prelo.
- TODARO, M.A.; FLEEGER, J.W.; HU, Y.P.; HRINCEVICH, A.W.; FOLTZ, D.W. 1996. Are meiofaunal species cosmopolitan? Morphological and molecular analysis of *Xenotrichula intermedia* (Sastrotricha: Chaetonotida). *Marine Biology*, n. 125, p.735-742.
- TOMBA A. M.; KELLER T. A.; MOORE P. A. 2001. Foraging in complex odor landscapes: chemical orientation strategies during stimulation by conflicting chemical cues. *Journal of the North American Benthological Society*, n. 20, p. 211–222.
- TROTTER, D.; WEBSTER, J.M. 1983. Distribution and abundance of marine nematodes on the kelp *Macrocystis integrifolia*. *Marine Biology*, n. 78, p. 39–43.
- ULLBERG, J.; ÓLAFSSON, E. 2003. Effects of biological disturbance by *Monoporeia affinis* (Amphipoda) on small-scale migration of marine nematodes in lowenergy soft sediments. *Marine Biology*, n. 143, p. 867-874.
- WALLACE, H.R. 1968. The dynamics of nematode movement. *Annual Review of Phytopathology*, n.6, p. 91–114.
- WARES, J.P.; CUNNINGHAM, C.W. 2001. Phylogeography and historical ecology of the north Atlantic intertidal. *Evolution*, n. 12, p.2455–2469.
- WARWICK, R.M. 1977. The structure and seasonal fluctuations of phytal marine nematode associations on the isles of scilly. In Boaden, C. (ed.), *Marine Biology of Benthic Organisms*. Keegan Pergamon Press, London.
- WARWICK, R.M.; PRICE, R. 1979. Ecological and metabolic studies on free-living nematodes from an estuarine mud-flat. *Estuarine and Coastal Marine Science*, n. 9, p. 257–271.
- WARWICK, R.M. 1971. Nematodes associations in the Exe estuary. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, n. 51, p. 439-454.
- WESTHEIDE, W. 1987. Progenesis as a principle in meiofauna evolution. *Journal Natural History*. n. 21, p, 843–54.
- WESTHEIDE, W. 1991. *The meiofauna of the Galápagos: a review*. Plenum Press, New York and London.

WETZEL, M.A.; JENSEN, P.; GIERS, O. 1985. Oxygen/sulfide regime and nematode fauna associated with *Arenicola marina* burrows: new insights in the thiobios case. *Marine Biology*, n. 124, p.301–312.

WIESER, W. 1953. Die Beziehung zwischen Mundhohlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. *ArK Zool*, n. 4, p. 439-481.

WILLIAMS, B.D.; SCHRANK, B.; HUYNH, C.; SHOWNKEEN, R.; WATERSTON, R.H. 1994. A genetic mapping system in *Caenorhabditis elegans* based on polymorphic sequence-tagged sites. *Genetics*, n. 131, p. 609-624.

WRAY, G.A. 1995. Evolution of larvae and developmental modes. In: McEdwards L (ed) *Ecology of marine invertebrate larvae*, CRC Press, Boca Raton, p. 413-447.

WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, n. 15, p. 323-354.

WU, J. 1994. Modeling Dynamics of Patchy Landscapes: Linking metapopulation theory, Landscape Ecology and Conservation Biology. In: *Yearbook in Systems Ecology (English edition)*. Chinese Academy of Sciences, Beijing.

YOUNG, C.M. 1995. Behaviour and locomotion during the dispersal phase of larval life. In "Ecology of Marine Invertebrates Larvae". CRC Press Boca Raton, pp. 249-278.

XIAO, S.; ZHANG, Y.; KNOLL, A.H. 1998. Three-dimensional preservation of algae and animal embryos in a Neoproterozoic phosphorite. *Nature*, n. 391, p. 553-558.

ZHOU, H. 2001. Effects of leaf litter addition on meiofaunal colonisation of azoic sediments in a sub-tropical mangrove in Hong Kong. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, n. 256, p. 99–121.