

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARCO COLOSSI BRUSTOLIN

Influência de *Encope emarginata* (Leske, 1778) (Echinodermata) sobre a estrutura das associações meiobêntica e microfitobêntica de fundos sublitorais estuarinos

Curitiba

2013

MARCO COLOSSI BRUSTOLIN

Influência de *Encope emarginata* (Leske, 1778) (Echinodermata) sobre a estrutura das associações meiobêntica e microfitobêntica de fundos sublitorais estuarinos

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Zoologia, Curso de Pós-Graduação em Zoologia, Departamento de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana

Curitiba

2013



**ATA DA 332ª DEFESA FINAL DE DISSERTAÇÃO NO
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOLOGIA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ.**

Às quatorze horas, do dia vinte e dois de Fevereiro do ano de dois mil e treze, reuniu-se sob a presidência do Professor Doutor Paulo da Cunha Lana a Banca Examinadora da Defesa final da dissertação do Mestrando Marco Colossi Brustolin, Intitulada: "Influência de *Encope emarginata* (Echinodermata) na estrutura das associações meiofaunal e microfitobêntica em fundos sublitorais estuarinos", no Programa de Pós Graduação Mestrado em Zoologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, com a participação, dos seguintes membros: Professora Doutora Fabiane Gallucci, Professor Doutor Luciano Felício Fernandes. O Professor Paulo da Cunha Lana, abriu a sessão, apresentando o Mestrando. Em seguida o Mestrando expôs seu trabalho de dissertação. Logo após, os membros da Banca elaboraram seus comentários e observações, considerando o aluno Marcos Calossi Brustolin, aprovado na defesa final da dissertação. Após agradecer os membros da Banca, o Presidente proclamou-o "**Mestre em Ciências Biológicas - Zoologia**", para que o título seja auferido pelo Programa, o candidato deve apresentar as correções indicadas pela banca na versão final do documento dentro dos prazos regimentais, as quais ficarão sob responsabilidade do Orientador. Encerramento: Nada mais havendo a tratar, o Senhor Presidente encerrou a reunião, da qual eu Daniel Dias, secretário do Programa de Pós-Graduação Mestrado em Zoologia, lavrei a presente Ata que após lida e aprovada será assinada pelos presentes. Curitiba, 22 de Fevereiro de 2013.

Professor Dr. Paulo da Cunha Lana (Orientador)
UFPR

Professora. Dra. Fabiane Gallucci
Membro Externo

Professor Dr. Luciano Felício Fernandes
Membro Interno

CATALOGAÇÃO NA FONTE:
UFPR / SIBI - Biblioteca do Centro de Estudos do Mar

Brustolin, Marco Colossi
B912i Influência de *Encope emarginata* (Echinodermata) sobre a estrutura das associações
meiobêntica e microfitobêntica de fundos sublitorais estuarinos. / Marco Colossi Brustolin.
– Curitiba, 2013.
99 f.; 29 cm.

Orientador: Dr. Paulo da Cunha Lana.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Departamento
de Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

1. *Encope emarginata*. 2. Microfitobentos. 3. Meiofauna. 4. Controles top-down e
bottom-up. 5. Espécies chave. 6. Engenharia de ecossistemas. I. Título. II. Paulo da Cunha
Lana. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 593.9

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a minha família que sempre me apoiou nos momentos fáceis e principalmente nos momentos difíceis de minha vida. Aos meus amigos e a minha namorada Thaise pelos momentos de diversão, mas também pela ajuda imprescindível que sempre pode ser solicitada a qualquer hora e em qualquer situação. A Universidade Federal do Paraná e a todos os funcionários e professores do Centro de Estudos do Mar e do Departamento de Zoologia, que nos forneceram apoio logístico e material de bom grado, sem a contribuição anônima de todos eles nada disso seria possível. Aos pós-graduandos em Zoologia (UFPR) pelos momentos de discussão e trocas de conhecimento. Agradeço também a todos os meus colegas do Laboratório de Bentos e do Laboratório de Microalgas (CEM/UFPR), pela convivência harmoniosa e troca de experiências que mantivemos durante o desenvolvimento de nossos trabalhos e também pelos cafezinhos e bate-papos revigorantes no meio do expediente. Ao prof. Plínio Barbosa de Camargo e ao Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA/USP) por realizarem as amostras de C e N totais. A todos que me ajudaram nos períodos de coleta e processamento dos dados, Pablo Guilherme, João Gusmão, Nathalia Moreira, Felipe “Batata”, Mariana, Roberto, Leonardo Sandrini Neto, Eliandro Gilbert, Mônica e Vanessa. Ao Prof. Sergio Antônio Netto pelas dicas e contribuições intelectuais despretensiosas. Ao meu orientador Prof. Paulo da Cunha Lana, ao Prof. Luiz L. Mafra Jr. e a Dra. Micheli C. Thomas pela contribuição intelectual e suporte material fornecidos.

Um agradecimento especial à banca avaliadora de minha dissertação composta pelos professores Luciano F. Fernandes, Fabiane Gallucci e Mauricio de Garcia Camargo pelas considerações e críticas construtivas que contribuíram para a melhoria do trabalho.

Por fim, agradeço a Coordenadoria de Apoio à Pesquisa e Ensino Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq), que forneceram bolsas de estudo e subsídios para os autores.

*“servo-mecânico para um senhor-mecanismo
conduzo com alguma elegância
meu destino de médico & monstro”
(Paulo Leminski)*

Resumo

Macroinvertebrados bênticos, como a bolacha-do-mar *Encope emarginata*, perturbam a superfície do sedimento, alterando a complexidade estrutural do habitat, as suas características biogeoquímicas e a disponibilidade de recursos alimentares. Com o intuito de avaliar a influência de *Encope emarginata* sobre a estrutura das associações microfitobêntica e meiobêntica em regiões sublitorais da Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil) este estudo tem como objetivos (1) estimar a densidade e comparar a variabilidade espacial da meiofauna, do microfitobentos e dos parâmetros texturais do sedimento em regiões do sublitoral com a presença de manchas populacionais de *E. emarginata* vivas (EV), mortas (EM) e sem a presença do equinoide (SE), em distintas escalas espaciais; e (2) avaliar a influência da alimentação e da perturbação biogênica da bolacha-do-mar sobre a estrutura das associações microfitobêntica e meiobêntica de regiões sublitorais estuarinas. Para atender os dois objetivos, o trabalho compreendeu uma abordagem descritiva em campo e um experimento em laboratório, apresentados em distintos capítulos. A densidade total de microalgas e de nematoides foi menor em EV do que nos outros dois tratamentos. Contudo, não observamos diferenças na riqueza de espécies, evidenciando a importância da predação não-seletiva e perturbação biogênica sobre o microfitobentos e a meiofauna. Em contrapartida, a concentração de clorofila-*a* e a abundância relativa dos comedores de depósito seletivos foram maiores em EV, o que sugere uma influência positiva dos processos de excreção e bioturbação por *E. emarginata* na oxigenação e difusão de nutrientes, beneficiando a produção microbiana e de microalgas, expressa por maiores biovolumes, aos quais se relacionaram indiretamente os padrões de variação espacial dos grupos tróficos de nematoides. Estas respostas puderam ser parcialmente replicadas em laboratório, demonstrando que os efeitos da perturbação biogênica, causada pela movimentação e alimentação da bolacha-do-mar sobre as associações são relativamente consistentes. *Encope emarginata* contribui significativamente para aumentar a heterogeneidade ambiental, influenciando decisivamente os padrões de distribuição da meiofauna e do microfitobentos em fundos sublitorais estuarinos. Dessa forma *E. emarginata* e outras espécies-chave podem contribuir diretamente para a manutenção da biodiversidade e funcionamento do sistema bêntico.

Palavras-chave: Espécies chave, engenharia de ecossistemas, controles top-down e bottom-up, meiofauna, microfitobentos, *Encope emarginata*.

Abstract

Benthic macroinvertebrates, such as the sand dollar *Encope emarginata*, can modify the environment and resource availability, by disturbing surface sediments and affecting nutrient fluxes, in a process often called ecosystem engineering. To determine the effects of sand dollar activities on structure of subtidal microphytobenthic and meiobenthic associations, this work: (1) Describes the variations in diversity and density of microphytobenthos, meiobenthos and sediment variables, at distinct hierarchical spatial scales, in areas with live *E. emarginata* (LE), only skeletons (DE) and without live or dead sand dollars (WE) along the shallow subtidal region (0.5 – 1.5 m of depth) of the Paranaguá Bay (Southern, Brazil); and (2) assesses the trophic and engineering effects of the sand dollar on microphytobenthos and meiobenthos associations. Although no differences were observed in species richness, the total densities of microalgae and nematodes were lower in the LE than in the other two treatments, suggesting that non-selective predation or biogenic disturbance of sediment by sand dollars can directly affect meio- and microphytobenthic associations. Conversely, chlorophyll-*a* content and the relative abundance of selective deposit feeders were higher in the LE, due to higher microbial and primary production (preferentially epipelagic centric diatoms with relatively high cell biovolumes) by positive effect of sediment oxygenation and nutrient diffusion between sediment-water interface as a result of bioturbation and excretion of *E. emarginata*. These *in situ* results were replicated successfully under experimental conditions, suggesting causal effects among feeding and biogenic disturbances activities of sand dollar and community structure of associated microalgae and fauna. We conclude that *E. emarginata* can significantly affect the dynamics of benthic associations by increasing sediment heterogeneity. Thus, keystone species can contribute to biodiversity and ecosystem functioning of benthic system.

Keywords: Brazil, ecosystem engineering, *Encope emarginata*, keystone species, meiobenthos, microphytobenthos, nematodes, subtidal, soft-sediment, top-down and bottom-up controls.

Sumário

Agradecimentos	iii
Epígrafe	iv
Resumo	v
Abstract	vi
Prefácio	8
Referências	11
Capítulo 1. Variação espacial de associações meiofaunais e microfitobênticas em regiões do sublitoral com a presença de <i>Encope emarginata</i> (Echinodermata)	
Abstract	16
Introdução	18
Material e Métodos	21
Área de Estudos	21
Delineamento Amostral	23
Processamento Amostral	24
Processamento dos dados	26
Resultados	28
Variação especial dos parâmetros texturais do sedimento	28
Variação especial da associação microfitobêntica	31
Variação especial da associação meiofaunal e de nematoides	36
Correlação entre as variáveis ambientais e as associações bênticas	41
Discussão	43
Engenharia de ecossistemas: efeitos diretos sobre as associações bênticas	45
Engenharia de ecossistemas: alterações ambientais mediadas por <i>Encope emarginata</i>	46
Conclusões	49
Agradecimentos	50
Referências	51
Anexos	59
Capítulo 2. Relações entre <i>Encope emarginata</i> (Echinodermata) e associações meio e microfitobênticas: separando efeitos tróficos de engenharia de ecossistemas	
Abstract	62
Introdução	64
Material e Métodos	67
Confecção do Experimento	67
Delineamento Amostral	68
Processamento Amostral	69
Processamento dos dados	71
Resultados	73
Efeitos do artefato experimental	73
Influências físicas e biogeoquímicas	73
Influências nos compartimentos biológicos: associação microfitobêntica	76
Influências nos compartimentos biológicos: associação meiobêntica e de nematoides	80
Influências nos compartimentos biológicos: associação macrobêntica	82
Discussão	84
Conclusões	89
Agradecimentos	90
Referências	90
Considerações Finais	97
Referências	98

Prefácio

A análise dos padrões de distribuição espacial é essencial para avaliar as relações organismo-organismo, organismo-habitat e identificar os processos que estruturam as associações bênticas e as suas escalas de atuação (Underwood e Chapman, 1996; Chapman et al., 2010).

Os processos ecológicos que atuam em pequenas escalas (mm a <1 m) afetam os organismos de forma direta ou indireta, devido a alterações no habitat. Por exemplo, processos hidrodinâmicos, como a ação de correntes e ondas, afetam a geomorfologia local e a estrutura das associações (Gallucci e Netto, 2004), enquanto interações biológicas, como a competição e a predação, podem afetar as propriedades do sedimento, a hidrodinâmica e os padrões de distribuição das associações em pequenas escalas (Hewitt et al., 2002; Chapman et al., 2010). Dessa forma, inúmeros fatores bióticos e abióticos que atuam em pequenas escalas podem afetar localmente o habitat, gerando padrões de distribuição em manchas (Chapman et al., 2010).

Organismos do macrobentos, meiobentos e microfitobentos possuem estratégias adaptativas relacionadas ao tamanho do corpo que resultam em distintas escalas de variabilidade espaço-temporais (Schwinghamer, 1981, 1983; Burkovsky et al., 1994; Azovsky, 2002; Warwick et al., 2006). Por sua vez, o tamanho do corpo é o resultado de restrições estruturais e funcionais, como metabolismo, estratégias de vida e comportamentos de movimentação e alimentação (Woodward et al., 2005; Giere, 2009).

Apesar do reconhecimento implícito de que organismos de tamanhos muito distintos interagem entre si, poucos estudos procuraram relacionar de forma sistemática e quantitativa a variabilidade espacial da meiofauna com a variabilidade de organismos com escalas de tamanho maiores, como é o caso do macrobentos, ou menores, caso do microfitobentos (Blanchard, 1990; Pinckney e Sandulli, 1990; Buffan-Dubau e Carman, 2000; Azovsky et al., 2004; Gallucci et al., 2009). Além disso, a literatura existente sugere que os efeitos da interação entre táxons de diferentes compartimentos são muito variados (Ólafsson, 2003; Giere, 2009), havendo ainda uma certa tendência para tratá-los como compartimentos estanques ou com poucos fluxos de matéria e energia entre si.

Espécies chave da macrofauna podem influenciar a estrutura do microfitobentos e do meiobentos diretamente através de interações como predação, competição por

alimento e perturbação do substrato e indiretamente através de engenharia de ecossistemas, nome convencionalmente usado para designar a capacidade biológica de construir ou modificar intensamente habitats (Kirstensen et al., 2012; Ólafsson, 2003; Ólafsson et al., 1993 e 2005; Reise, 2002). Independentemente de suas influências tróficas, tais engenheiros do ecossistema alteram o ambiente e a disponibilidade dos recursos para outras espécies (Jones et al., 1994). Os organismos macrofaunais, através dos processos de bioturbação, biodeposição ou pela própria presença, sob a forma de organismos vivos ou mortos, desempenham um papel importante na estruturação do sistema bêntico, principalmente em locais de baixa energia, onde dominam os processos de difusão (Ólafsson et al., 1993, 2005; Austen and Widdicomb, 1998; Carlén e Ólafsson, 2002; Mermillod-Blondin e Rosenberg, 2006; Braeckman et al., 2011).

Picos de densidade populacional (i.e. manchas) da espécie de bolacha-do-mar *Encope emarginata* podem ser observados no sublitoral raso de regiões estuarinas euhalinas (Giberto et al., 2004; observações pessoais). Estes equinoides possuem modo de alimentação ciliar mucóide. Os pódios localizados na região oral selecionam e transportam as partículas até os sulcos alimentares, dispostos de forma radial, onde são agregadas em cordões mucosos. Estes cordões são levados até a cavidade bucal através de pódios localizados dentro dos sulcos alimentares (Telford, 1981; Telford et al., 1985). As bolachas-do-mar bioturbam o sedimento e se alimentam de detritos orgânicos, bactérias e microeucariontes (Findlay e White, 1983), recursos alimentares que são igualmente importantes para os nematoides. Apesar de considerados sedentários, os equinoides da família Mellitidae, como *Mellita quinquesperforata*, podem se locomover através do sedimento a uma velocidade de 1 a 15 cm.h⁻¹ (Findlay e White, 1983) podendo bioturbar cerca de 14 % das camadas superficiais dos sedimentos por hora (Reidenauer, 1989).

Apesar destas evidências empíricas, são ainda inconsistentes os resultados de estudos sobre os efeitos de equinoides na densidade da meiofauna e dos nematoides. Findlay e White (1983) não observaram diferenças significativas na densidade de nematoides em sedimentos expostos à bolacha-do-mar *Mellita quinquesperforata*. Creed e Coull (1984) observaram um efeito negativo de *M. quinquesperforata* na densidade de nematoides atribuindo-o à predação ou a perturbação física do substrato. Reidenauer (1989) observou um efeito positivo das bolachas-da-praia na densidade de nematoides,

provavelmente por causa do aumento da disponibilidade de alimento de forma direta através da produção de muco ou células excretadas, ou de forma indireta pelo aumento da produção bacteriana que ocorre em decorrência disto. Estes estudos não classificaram os nematoides em nível específico, além de terem sido realizados em ambientes marinhos muito distintos entre si. Enquanto Findlay e White (1983) e Creed e Coull (1984) trabalharam em regiões entremarés, Reidenauer (1989) trabalhou no sublitoral. Dessa forma, as disparidades nos resultados encontrados podem ser consequência de diferenças metodológicas ou ainda de diferenças nas associações de nematoides.

Os nematoides possuem ampla distribuição e, na maioria dos ambientes, são os organismos meiofaunais mais abundantes e diversificados, com uma grande variedade de estratégias alimentares (Jensen, 1987; Moens e Vincx, 1997). Estudos recentes demonstraram que os padrões de distribuição e a estrutura das associações de nematoides podem ser influenciados pela disponibilidade de alimento na forma de microalgas (Franco et al., 2008a; Cibic et al., 2009). De fato, o microfitobentos pode regular os padrões de variação temporal e de microdistribuição do meiofaunais (Blanchard, 1990; Pinckney e Sandulli, 1990; Giere, 2009), na medida em que vários grupos meiofaunais se especializaram em utilizar diatomáceas como alimento.

As diatomáceas são os táxons mais representativos dentro do microfitobentos marinho, comumente dominado por espécies de pequeno tamanho (<30 μm), pertencentes ao grupo biraphid (Underwood, 1994, Fernandes et al., 1999). Estas diatomáceas têm grande relevância para a produção primária e representam uma fração importante da biomassa disponível para a teia trófica em regiões costeiras e estuarinas. Além disso, participam dos processos de transferência de nutrientes, massa e energia entre os compartimentos bêntico e pelágico (Underwood e Paterson, 1993). Adicionalmente, o muco produzido por diatomáceas pode estabilizar o sedimento formando biofilmes que, por sua vez, promovem o crescimento bacteriano alterando a dinâmica populacional de determinadas espécies ou grupos tróficos de nematoides (Franco et al., 2007 e 2008b; Passarelli et al., 2012).

Por sua vez, a bioturbação macro- e meiofaunal perturba o sedimento alterando a permeabilidade e a micro-topografia superficial promovendo erosão (Deckere et al., 2001; Passarelli et al., 2012). Por outro lado, a bioturbação macrofaunal e meiofaunal

pode beneficiar a produtividade primária bêntica através da intensificação do fluxo de nutrientes (Reise, 2002; Lohrer et al., 2004; Mermillod-Blondin e Rosenberg, 2006; Giere, 2009; Braeckman et al., 2010).

Para testar se as agregações de *Encope emarginata* afetam a estrutura da associação de nematoides e do microfitobentos, este estudo teve como objetivos: (1) quantificar e comparar a variabilidade espacial na diversidade (expressa pela riqueza de táxons) e densidade da meiofauna, microfitobentos e dos parâmetros texturais do sedimento em regiões do sublitoral com a presença de manchas populacionais de *E. emarginata* vivas, mortas e sem a presença de *E. emarginata*, em distintas escalas espaciais; bem como (2) avaliar a influência da alimentação e da perturbação biogênica da bolacha-do-mar sobre a estrutura das associações meio-bêntica e microfitobêntica de regiões sublitorais estuarinas.

Para atender os objetivos gerais do estudo, a dissertação foi organizada em dois conjuntos de atividades descritivas e experimentais, de campo e de laboratório, estruturados em dois capítulos distintos:

Capítulo 1: Variabilidade espacial da diversidade e densidade de associações meiofaunais e microfitobênticas em regiões do sublitoral com a presença de *Encope emarginata* (Echinodermata)

Capítulo 2: Relações entre *Encope emarginata* (Echinodermata) e associações meio- e microfitobênticas: separando efeitos tróficos e efeitos de engenharia de ecossistemas.

Referências

AZOVSKY, A. I. Size-dependent species-area relationships in benthos, or whether this world is more diverse for microbes? **Ecography**, 25:273-282. 2002.

AZOVSKY, A. I.; CHERTOPROOD, E. S.; SABUROVA M. A.; POLIKARPOV, I. G. Spatio-temporal variability of micro- and meiobenthic communities in a White Sea intertidal sandflat. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, 60:663-671. 2004.

BLANCHARD, G. F. Overlapping microscale dispersion patterns of meiofauna and microphytobenthos. **Marine Ecology Progress Series**, 68:101-111. 1990.

BRAECKMAN, U.; PROVOOST, P.; GRIBSHOLT, B.; VAN GASBEKE, D.; e outros. Role of macrofauna functional traits and density in biogeochemical fluxes and bioturbation. **Marine Ecology Progress Series** 399:173–186. 2010.

BRAECKMAN, U.; VAN COLEN, C.; SOETAERT, K.; VINCX, M.; VANAUVERBEKE, J. Contrasting macrobenthic activities differentially affect nematode density and diversity in a shallow subtidal marine sediment. **Marine Ecology Progress Series** 422:179-191. 2011.

BURKOVSKY, I. V.; AZOVSKY, A. I.; MOKIEVSKY, V. O. Scaling in benthos: from microflora to macrofauna. **Archive fur Hydrobiologie Supplement**, 99:517-535. 1994.

BUFFAN-DUBAU, E.; CARMAN, K. R. Diel feeding behavior of meiofauna and their relationships with microalgal resources. **Limnology and Oceanography**, 45:381-395. 2000.

CARLÉN, A.; ÓLAFSSON, E. The effects of the gastropod *Terebralia palustris* on the infaunal communities in a tropical mud-flat in East Africa. **Wetlands Ecology and Management**, 10:303–311. 2002.

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

CIBIC, T.; BLASUTTO, O.; BETTOSO, N. Microalgal-meiofaunal interactions in a subtropical site of the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea, Italy): A three-year study. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 370:144-154. 2009.

CREED, E. L.; COULL, B. C. Sand dollar *Mellita quinquesperforata* (Leske), and sea pansy, *Renilla reniformis* (Cuvier) effects on meiofaunal abundance. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 84:225-234. 1984.

DE DECKERE, E. M. G. T.; TOLHURST, T.; DE BROUWER, J. F. C. Destabilization of Cohesive Intertidal Sediments by Infauna. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 53:665–669. 2001.

FERNANDES, L. F.; BRANDINI, F. P.; GUTSEIT, K. S.; FONSECA, A. L.; PELLIZARI, F. M. Benthic diatoms growing on glass slides in the Paraguá Bay, Southern Brazil: Taxonomic structure and seasonal variation. **Insula**, 28:53–100. 1999.

FINDLAY, R. H.; WHITE, D. C. The effects of feeding by sand dollar *Mellita quinquesperforata* (Leske) on the benthic microbial community. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 72:25-41. 1983.

FRANCO, M. A.; DE MESEL, I.; DEMBA DIALLO, M.; VAN DER GUCHT, K.; VAN GANSBEKE, D.; VAN RIJSWIJK P.; COSTA, M. J.; VINCX, M.; VANAUVERBEKE, J. Effect of phytoplankton bloom deposition on benthic bacterial communities in two

contrasting sediments in the southern North Sea. **Aquatic Microbial Ecology** 48:241–254. 2007.

FRANCO, M. A.; SOETAERT, K.; COSTA, M. J.; VINCX, M.; VANAVERBEKE, J. 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**, 362:1-8. 2008a.

FRANCO, M. A.; SOETAERT, K.; VAN OEVELEN, D.; VAN GANSBEKE, D.; COSTA, M.; VINCX, M.; VANAVERBEKE, J. Density, vertical distribution and trophic responses of metazoan meiobenthos to phytoplankton deposition in contrasting sediment types. **Marine Ecology Progress Series** 358:51–62. 2008b.

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

GALLUCCI, F.; MOENS, T.; FONSECA, G. Small-scale spatial patterns of meiobenthos in the Arctic deep sea. **Marine Biodiversity**, 39:9-25. 2009.

GIBERTO, D. A.; BREMEC, C. S.; ACHA, E. M.; MIANZAN, H. Large-scale spatial patterns of benthic assemblages in the SW Atlantic: the Río de la Plata estuary and adjacent shelf waters. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** 61:1–13. 2004.

GIERE, O. Meiobenthology The Microscope Motile Fauna of Aquatic Sediments 2nd edition. **Springer-Verlag**, 2009.

HEWITT, J. E.; THRUSH, S. F.; LEGENDRE, P.; CUMMINGS, V. J.; NORKKO, A. Integrating heterogeneity across spatial scales : interactions between *Atrina zelandica* and benthic macrofauna. **Marine Ecology Progress Series** 239:115–128. 2002.

JENSEN, P. Feeding ecology of free-living aquatic nematodes. **Marine Ecology Progress Series**, 35:187–196. 1987.

JONES, C. G.; LAWTON, J. H.; SHACHAK, M. Organisms as Ecosystem Engineers. **Oikos** 69:373–386. 1994.

KRISTENSEN, E.; PENHA-LOPES, G.; DELEFOSSE, M.; VALDEMARSEN, T.; QUINTANA, C.; BANTA, G. What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. **Marine Ecology Progress Series** 446:285–302. 2012.

LOHRER, A. M.; THRUSH, S. F.; GIBBS, M. M. Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions. **Nature**, 431:1092–1095. 2004.

MERMIILLOD-BLONDIN, F.; ROSEMBERG, R. Ecosystem engineering: the impact of bioturbation on biogeochemical processes in marine and freshwater benthic habitats. **Aquatic Sciences** 68:434–442. 2006.

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

ÓLAFSSON, E. Do macrofauna structure meiofauna assemblages in marine soft-bottoms? A review of experimental studies. **Vie Milieu**, 53:249–265. 2003.

ÓLLAFSSON, E.; ULLBERG, J.; ARROYO, N. L. The clam *Macoma balthica* prevents *in situ* growth of microalgal mats: implications for meiofaunal assemblages. **Marine Ecology Progress Series**, 298:179-188. 2005.

PASSARELLI, C.; HUBAS, C.; NICOLAS, S. A.; GRANGE, J.; MEZIANE, T. Surface adhesion of microphytobenthic biofilms is enhanced under *Hediste diversicolor* (O.F. Müller) trophic pressure. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 438:52–60. 2012.

PINCKNEY, J.; SANDULLI, R. Spatial autocorrelation analysis of meiofaunal and microalgal populations on a intertidal sandflat: scale linkage between consumers and resources. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, 30:341-353. 1990.

REIDENAUER, J. A. Sand-dollar *Mellita quinquesperforata* (Leske) burrow trails: sites of hapacticoid disturbance and nematode attraction. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 130:223-235. 1989.

REISE, K. Sediment mediated species interactions in coastal waters. **Journal of Sea Research** 48:127-141. 2002.

SCHWINGHAMER, P. Characteristic size distribution of integral benthic communities. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 38:1235-1263. 1981.

SCHWINGHAMER, P. Generating ecological hypothesis from biomass spectra using causal analysis – a benthic example. **Marine Ecology Progress Series**, 13:151-166. 1983.

TELFORD, M. A hydrodynamic interpretation of sand dollar morphology. **Bulletin of Marine Science** 31(3):605–622. 1981.

TELFORD, M.; MOOI, R.; ELLERS, O. A New Model of Podial Deposit Feeding in the Sand Dollar, *Mellita quinquesperforata* (Leske): The Sieve Hypothesis Challenged. **Biological Bulletin** 169:431–448. 1985.

UNDERWOOD, G. J. C.; PATERSON, D. M. Recovery of intertidal benthic diatoms from biocide treatment and associated sediment dynamics. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** 73:25-45. 1993.

UNDERWOOD, G. J. C. Seasonal and spatial variation in epipellic diatom assemblages in the Severn estuary. **Diatom Research** 9(2):451-472. 1994.

UNDERWOOD, A. J.; CHAPMAN, M. G. Scales of spatial patterns of distribution of intertidal invertebrates. **Oecologia**, 107:212-224. 1996.

WARWICK, R. M.; DASHFIELD, S. L.; SOMERFIELD, P. J. The integral structure of a benthic infaunal assemblage. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 330:12-18. 2006.

WOODWARD, G.; EBENMAN, B.; EMMERSON, M.; MONTOYA, J. M.; OLESEN, J. M.; VALIDO, A.; WARREN, P. H. Body size in ecological networks. **Trends in Ecology and Evolution**, 20(7):402-409. 2005.

Capítulo 1**Variação espacial de associações meiobênticas e microfitobênticas em regiões do sublitoral estuarino com a presença de *Encope emarginata* (Echinodermata)**

Manuscrito formatado para a revista PloS One

ISSN: 1932-6203 - Fator de impacto JCR: 4,092 - Qualis: A1 em Biodiversidade

Does *Encope emarginata* (Leske) affect density and diversity of meio- and microphytobenthic associations in subtidal estuarine bottoms?

Marco C. Brustolin^{1,2,*}, Micheli C. Thomas³, Luiz L. Mafra Jr.¹, Paulo C. Lana¹

¹Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, Paraná, Brazil.

²Pós-graduação em Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

³Pós-graduação em Ecologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

* E-mail: marcobrustolin@gmail.com

Abstract

Benthic macroinvertebrates, such as the sand dollar *Encope emarginata*, can modify sediment properties and significantly affect the patterns of spatial distribution of microphytobenthic and meiobenthic associations, through competition, predation or simply physical disturbance. We adopted a spatial hierarchical approach composed of four spatial levels (kilometers, hundreds of

meters, tens of meters and meters) to describe the variations in diversity and density of microphytobenthos, meiobenthos and sediment variables in areas with live *E. emarginata* (LE), only skeletons (DE) and without live or dead sand dollars (WE) along the shallow subtidal region (0.5 – 1.5 m of depth) of the subtropical Paranaguá Bay (Southern, Brazil). Although no differences were observed in species richness, the total densities of nematodes were lower in the LE than in the other two treatments, suggesting that non-selective predation or biogenic disturbance of sediment by sand dollars can directly affect meiobenthic associations. Conversely, chlorophyll-*a* content and the relative abundance of selective deposit feeders were higher in the LE, due to higher microbial and primary production (preferentially epipelagic centric diatoms with relatively high cell biovolumes) by positive effect of sediment oxygenation and nutrient diffusion between sediment-water interface as a result of bioturbation and excretion of *E. emarginata*. Densities of microalgae and harpacticoid copepods were higher in the presence of dead sand dollars (DE). These calcareous skeletons alter habitat complexity and benefit meiofaunal groups with superficial vertical distributions, such as copepods and epistrate feeding nematodes that actively graze upon available microalgae and other fresh food items. We conclude that the engineering and trophic effects of *E. emarginata* can significantly alter the distribution patterns of estuarine subtidal meiobenthic and microphytobenthic associations. Thus, hydrodynamism and macrofaunal monospecific aggregations, that operates at larger spatial scales (tens of meters to kilometers), affect the structure and composition of benthic associations. Conversely, the similar species richness among regions can be related to the small-scale environmental heterogeneity (centimetres to meters) on sediment composition.

Keywords: Brazil; ecosystem engineering; Encope emarginata; keystone species; meiobenthos; microfitobenthos; nematodes; subtidal; soft-sediment; top-down control.

Introdução

O estudo dos padrões de distribuição espacial é essencial para avaliar as relações organismo-organismo, organismo-habitat e identificar os processos que estruturam as associações bêmicas e as suas escalas de atuação [1-2]. Enquanto processos hidrodinâmicos, como a ação de correntes e ondas, afetam a geomorfologia local e atuam como fatores de controle bottom-up sobre a estrutura das associações em escalas amplas, processos de bioturbação e biodeposição podem afetar as propriedades texturais e a permeabilidade do sedimento, a hidrodinâmica e os padrões de distribuição das associações em pequenas escalas [1-3-4-5-2-6]. Dessa forma, inúmeros fatores bióticos e abióticos que atuam mesmo em pequenas escalas espaciais podem afetar localmente o habitat, gerando padrões de distribuição em manchas [7-2-8].

Organismos do macrobentos, meiobentos e microfitobentos possuem estratégias adaptativas dependentes do tamanho do corpo que resultam em escalas de variabilidade espaço-temporais distintas [9-10-11]. Por sua vez, o tamanho do corpo é o resultado de restrições estruturais e funcionais, como metabolismo, estratégias de vida e comportamentos de movimentação e alimentação [12-13].

Apesar do reconhecimento implícito de que organismos de tamanhos muito distintos interagem entre si, poucos estudos procuraram relacionar de forma sistemática e quantitativa a variabilidade espacial da meiofauna com a variabilidade de organismos com maiores escalas de tamanho, como é o caso do macrobentos, ou menores, caso do microfitobentos [14-15-16-17-18-19]. Além disso, a literatura existente sugere que os efeitos da interação entre táxons de diferentes compartimentos são muito variados e dependentes do modo de vida e estratégias de alimentação [20-13].

Atuando como engenheiras de ecossistemas, espécies-chave da macrofauna podem influenciar a distribuição do microfitobentos e do meiobentos através de perturbação física, ou alterações biogeoquímicas, afetando a complexidade estrutural do habitat por bioturbação, biodeposição ou pela simples presença dos organismos vivos ou mortos. Tais espécies podem, ainda, afetar as associações através de predação ou competição por recursos alimentares [7-21-22,23-6].

Picos de densidade populacional (i.e. manchas) da espécie de bolacha do mar *Encope emarginata* são observados no sublitoral raso de regiões costeiras [24]. Estes equinoides possuem modo de alimentação ciliar mucóide. Os pódios localizados na região oral selecionam e transportam as partículas até os sulcos alimentares, dispostos de forma radial, onde são agregadas em cordões mucosos. Estes cordões são levados até a cavidade bucal através de pódios localizados dentro dos sulcos alimentares [25,26]. Os equinodermos da família Mellitidae, como *Mellita quinquiesperforata*, bioturbam o sedimento e se alimentam de detritos orgânicos, bactérias e microeucariontes [27-28-29], recursos alimentares que são igualmente importantes para a meiofauna, principalmente para os nematoides. Consideradas sedentárias, as bolachas-do-mar *E. emarginata* podem se locomover através do sedimento a uma velocidade de 1 a 15 cm.h⁻¹ podendo bioturbar uma grande quantidade de sedimento (observações pessoais).

Avaliações dos efeitos de equinoides sobre o microfitobentos e a meiofauna se mostraram inconsistentes, indicando tanto respostas positivas quanto negativas das suas atividades sobre as densidades de organismos menores [27-30-31]. Tais disparidades nos resultados encontrados podem ser consequência de diferenças metodológicas empregadas ou ainda de diferenças na composição meiofaunal, já que os nematoides ou demais grupos meiofaunais não foram identificados em nível específico. Entretanto, mais recentemente, Austen e Widdicomb [7] observaram diferenças interespecíficas e na estrutura funcional da associação meiofaunal e de

nematoides como resposta a perturbação física do substrato e a alimentação não-seletiva do ouriço *Brissopsis lyrifera*.

Os nematoides possuem ampla distribuição e, na maioria dos ambientes, são os organismos meiofaunais mais abundantes e diversificados, exibindo uma grande variedade de estratégias alimentares [32]. Os padrões de distribuição espacial e a dinâmica temporal dos nematoides e, em geral, do restante da associação meiofaunal, podem ser influenciados pela variabilidade do próprio microfitobentos [14-15-33-34]. As diatomáceas são os táxons mais representativos dentro do microfitobentos marinho, comumente dominado por espécies de pequeno tamanho (<30 µm) [35-36]. Estas diatomáceas representam uma fração importante da biomassa disponível para o sistema bêntico em regiões costeiras e estuarinas. Além disso, participam dos processos de transferência de nutrientes, massa e energia entre os compartimentos bêntico e pelágico [37]. Adicionalmente, o muco produzido por diatomáceas pode estabilizar o sedimento formando biofilmes que, por sua vez, promovem o crescimento bacteriano alterando a dinâmica populacional de determinadas espécies ou grupos tróficos de nematoides [38-39-40].

Por outro lado, a bioturbação macrofaunal e meiofaunal pode tanto beneficiar a produção do microfitobentos através da intensificação do fluxo de nutrientes quanto desestruturar estes biofilmes promovendo erosão [3-5-13-6-41-40].

Com o objetivo de quantificar e comparar a variabilidade espacial dos nematoides, do microfitobentos e dos parâmetros texturais do sedimento em regiões sublitorais com a presença de manchas populacionais de *E. emarginata* vivas (EV), mortas (EM) e sem a presença de *E. emarginata* (SE) em distintas escalas espaciais, este estudo testou as hipóteses (H1) de que:

(1) Se espécies-chave dentro do sistema bêntico, como *E. emarginata*, atua como engenheira de ecossistema, então a maior proporção da variabilidade total na estrutura das

associações, e na riqueza e densidade meio- e microfitobêntica estará concentrada nas maiores escalas espaciais, referentes às regiões e locais aninhados em regiões.

(2) Se *E. emarginata* influencia diretamente os padrões de distribuição espacial e a estrutura das associações meio- e microfitobêntica através da perturbação física do substrato ou pressão de predação não-seletiva, então uma maior variabilidade nas associações meio- e microfitobênticas será observada na região com a presença de *E. emarginata* vivas em comparação com as outras duas regiões.

(3) Se *E. emarginata* influencia indiretamente os padrões de distribuição espacial e a estrutura das associações através de alterações na complexidade estrutural do habitat, nas características biogeoquímicas do sedimento e na disponibilidade de alimento, então a proporção de células de diatomáceas cêntricas e maiores do que 20 μm e a abundância relativa dos nematoides comedores de depósito seletivos (1A) serão maiores em EV onde os processos de difusão de nutrientes são intensificados devido à bioturbação, beneficiando a produção primária e bacteriana.

Materiais e Métodos

Área de Estudo

O estudo foi realizado no sublitoral raso (entre 0,5 e 1,0 m) na Ilha das Cobras e no Baixio do Perigo, localizados no setor euhalino do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) (Fig. 1). As marés locais, com amplitudes de sizígia em torno de 2 m, são caracterizadas por desigualdades diurnas e padrões semi-diurnos durante as máximas. A salinidade média da água varia de 12 a 29 no verão e de 20 a 34 no inverno [42].

A dinâmica deste sistema é fortemente influenciada por correntes de marés, sobrepujando o efeito dos fluxos fluviais adjacentes. O setor euhalino sofre uma maior influência da água marinha, sendo as planícies de maré formadas basicamente por areia fina bem selecionada e com baixo teor de matéria orgânica [43]. Noernberg et al. [43] classificaram este setor do estuário como de “Mistura”, baseados em suas características hidrográficas e morfológicas. Tal setor é caracterizado por possuir a menor proporção relativa de áreas entremarés e as maiores profundidades do CEP.

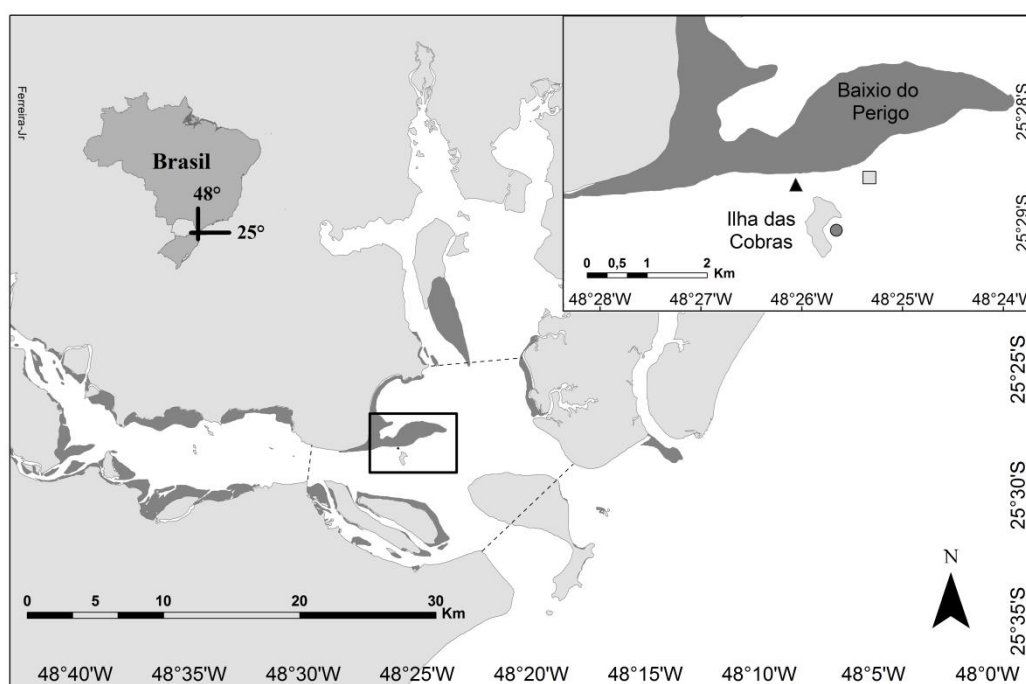


Figura 1. Mapa da área de estudo com ênfase na Ilha das Cobras e no Baixo do Perigo, linhas tracejadas representam o setor euhalino. Pontos indicam as três regiões amostradas; círculo cinza = banco com população de *E. emarginata* viva (EV); quadrado cinza claro = banco com população de *E. emarginata* morta (EM); triângulo cinza escuro = banco sem *E. emarginata* (SE).

Delineamento Amostral

Uma campanha de amostragem foi realizada em setembro de 2011 utilizando um delineamento amostral hierárquico composto de quatro escalas espaciais. Foram estabelecidas três *regiões* morfodinamicamente similares na escala de quilômetros no sublitoral do setor euhalino do

complexo estuarino de Paranaguá (Figura 1.). A primeira tinha manchas populacionais de *E. emarginata* vivas com densidade média de aproximadamente 4 ind.m² (EV), a segunda com manchas de indivíduos mortos (EM) e a terceira sem a presença do equinoide (SE). Dentro de cada região, foram escolhidos aleatoriamente dois *locais* na escala de centenas de metros. Em cada local foram estabelecidas duas *áreas* na escala de dezenas de metros e em cada área foram delimitados dois *pontos* na escala de metros. Em cada ponto foram tomadas três unidades amostrais do sedimento (na escala de centímetros) para análise da meiofauna e do microfitobentos, com um amostrador de 2,5 cm de diâmetro até a profundidade de 10 cm. Outras três amostras de sedimento (2 g cada) foram coletadas para a análise da concentração de pigmentos cloroplastídicos e para as análises granulométricas (com um amostrador de 5 cm de diâmetro até a profundidade de 10 cm).

As amostras biológicas para as análises de densidade e composição de espécies de nematoides foram fixadas com formol 4 % e do microfitobentos com lugol 1 %, ainda em campo. As amostras de sedimento para as análises de pigmentos fotossintéticos e para as análises granulométricas foram armazenadas em uma caixa térmica e posteriormente congeladas a -20 °C em laboratório.

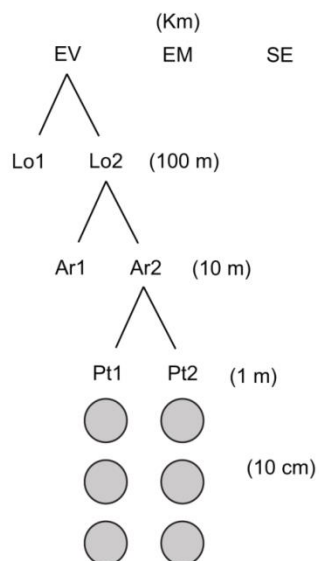


Figura 2. Delineamento experimental hierárquico utilizado no estudo.

Processamento Amostral

As amostras para estimativa da densidade e composição dos grupos meiofaunais e dos nematoides foram lavadas para remoção do formol 4 % através de uma peneira com malha de 63 μm . Após a lavagem, utilizamos o método de flotação com solução de sílica coloidal (Ludox TM 50), ajustada a uma gravidade específica de 1,15, para separação dos organismos por diferença de densidade [44].

Em cada amostra, todos os nematoides foram contados em uma placa de Dolffus sob microscópio estereoscópico, 120 organismos foram separados para a confecção de lâminas permanentes. Os nematoides foram identificados, sob o microscópio óptico, ao menor nível taxonômico possível utilizando as chaves de identificação de Platt e Warwick [45,46] e Warwick et al. [47].

As amostras para as estimativas de densidade e composição do microfítobentos foram homogeneizadas por agitação manual durante 45 s. Logo em seguida, uma alíquota de 70 ml de

cada amostra foi disposta em um tubo de ensaio de 24 cm de altura por 2 cm de diâmetro. Depois de decorridos 3 min para que houvesse a decantação das partículas maiores de sedimento, amostras foram retiradas com pipeta Pasteur a 5 cm da superfície da coluna no tubo de ensaio para contagem das células. Para a contagem das células $>20 \mu\text{m}$, 2,5 ml de amostra foram depositados diretamente em uma câmara de Utermöhl, com capacidade total de 3 ml. Para a contagem das células $<20 \mu\text{m}$, outros 2,0 ml de amostras foram retirados do tubo conforme descrito anteriormente e diluídos com a adição de 10 ml de água destilada. A amostra diluída foi então homogeneizada e dela foi coletado 1 ml para contagem em câmara de Utermöhl. As microalgas foram contadas e medidas sob microscópio óptico invertido. Células com menos de $20 \mu\text{m}$ foram contadas em magnificação de 400x na área total da câmara a fim de estimar um mínimo de 100 células, as células com mais de $20 \mu\text{m}$ foram contadas sob aumento de 200x cruzando o diâmetro da cuba quantas vezes necessárias até um mínimo de 300 indivíduos quando possível. Foram identificadas ao menor nível taxonômico possível com o auxílio da literatura disponível [48-49-50-51-52-53].

Os pigmentos fotossintéticos foram extraídos das amostras de sedimento com 10 ml de acetona 100% [54]. As concentrações de clorofila-*a* e feopigmentos foram estimadas através da equação de Lorenzen [55]. O processamento das amostras para as análises granulométricas da fração arenosa foi realizado através de peneiramento e da fração fina (silte + argila; $<62 \mu\text{m}$) através do método de pipetagem [56]. Os parâmetros estatísticos para as análises granulométricas foram calculados com o auxílio do software SysGran 3.0 [57].

Processamento dos dados

Para testar a significância das diferenças nas variáveis ambientais entre regiões expostas a diferentes condições em relação a distribuição de *E. emarginata*, foram feitas análises de variância

(ANOVA) hierárquicas em ambiente R com o auxílio do pacote (GAD) General ANOVA Designs [58], utilizando como fatores o tratamento experimental (regiões com manchas de indivíduos vivos (EV), mortos (EM) e ausência de *E. emarginata* (SE)) e os locais, áreas e pontos e como variáveis dependentes os parâmetros texturais do sedimento. O fator experimental *regiões* foi considerado fixo e os *locais*, *áreas* e *pontos* foram considerados aleatórios. A homogeneidade de variâncias foi examinada através do teste C de Cochran e a normalidade dos dados através do teste de Shapiro. Se necessário, os dados foram transformados para atender aos pressupostos das análises estatísticas.

Para visualizar os padrões de distribuição espacial das associações utilizamos uma análise de proximidade ou escalonamento multidimensional não-métrico (n-MDS) em ambiente R, com o auxílio do pacote *vegan* [59], definindo como fatores o tratamento experimental (EV, EM e SE), os locais, as áreas e os pontos e como variáveis dependentes os táxons meiofaunais, as espécies de nematoides e de microalgas. As matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis foram baseadas em planilhas de densidade de espécies, com valores não transformados.

Para testar a significância das diferenças entre possíveis agrupamentos realizamos análises de variância multivariadas permutacionais PERMANOVA [60] hierárquicas, baseadas em matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis com dados não transformados com o auxílio do software PERMANOVA 1.6 [61]. A homogeneidade de dispersão multivariada foi avaliada através do teste PERMDISP [62]. O SIMPER foi utilizado para identificar os táxons que mais contribuíram para as dissimilaridades entre regiões ao nível de corte de 75 %.

As diferenças na densidade total de nematoides e de microalgas, na abundância relativa de grupos tróficos de nematoides, tal como propostos por Wieser [63], nas razões entre tamanhos (<20/>20 μm) e formas (penadas/cêntricas) das microalgas presentes na associação e nas concentrações de pigmentos fotossintéticos foram avaliadas através de ANOVAs hierárquicas em

ambiente R com o auxílio do pacote GAD, utilizando como fator fixo o tratamento experimental (EV, EM e SE), como fatores aleatórios os locais, áreas e pontos. A homogeneidade de variâncias foi examinada através do teste C de Cochran e a normalidade dos dados através do teste de Shapiro. Para atender aos pressupostos das análises estatísticas, os dados de densidade das espécies de nematoides foram transformados para a raiz quarta, as concentrações de pigmentos cloroplásticos e a densidade dos gêneros de microalgas para $\log(x+1)$ e a abundância relativa dos grupos tróficos de nematoides para o raiz quadrada do arco-seno.

Tanto as PERMANOVAs quanto as ANOVAs realizadas foram baseadas no modelo linear

onde: μ = média global; Re_i = tratamento experimental regiões, fixo com três níveis (EV, EM e SE); $Lo_{j(i)}$ = fator local, aleatório com dois níveis, aninhado no tratamento experimental; $Ar_{k(j(i))}$ = fator área, aleatório, com dois níveis, aninhado no fator local; $Pt_{l(k(j(i)))}$ = fator ponto, com dois níveis, aninhado no fator área; e_{ijklm} = erro ou resíduo.

Com o objetivo de identificar possíveis correlações entre a estrutura das associações meio- e microfítobêntica com os parâmetros texturais do sedimento realizamos análises de correspondência canônica (CCA). As análises foram realizadas utilizando as planilhas multivariadas completas, mas foram incluídas nos biplots apenas as espécies que juntas contribuíram com mais de 75% das dissimilaridades entre regiões, obtidas através do SIMPER, As variáveis ambientais foram estandardizadas e os dados de fauna foram transformados para log. Para selecionar as variáveis ambientais que explicam de maneira significativa a variabilidade na densidade táxons ($p < 0,05$) realizamos ANOVAs. Outras ANOVAs foram realizadas para avaliar a significância dos eixos canônicos. O CCA e as análises de variância foram realizados em

ambiente R com o auxílio do pacote vegan [59]. As tabelas com os resultados completos das análises estatísticas estão contidas na seção de anexos deste trabalho.

Resultados

Variação espacial dos parâmetros texturais do sedimento

O sedimento nas regiões estudadas foi composto basicamente de areia fina, variando de pobre a moderadamente selecionado. O tamanho médio do grão (ϕ) diferiu significativamente entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, $F=2,35$ e $p=0,017$) e entre locais aninhados nas regiões (Lo(Re), centenas de metros, $F= 19,65$ e $p = 0,001$) entretanto as escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões (Re, escala do quilômetro, $Cv = 53,36 \%$) e locais (centenas de metros, $Cv = 29,04 \%$) (Fig. 3).

A concentração de matéria orgânica (M.O) foi significativamente menor em EV com $0,80 \pm 0,40 \%$ (média \pm EP), se comparada às outras duas regiões EM com $1,30 \pm 0,34 \%$ e EV com $0,80 \pm 0,40 \%$ (Re, escala de quilômetros, $F= 68,05$ e $p = 0,003$), as escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 28,67 \%$) e resíduo (escala de centímetros, $Cv = 59,40 \%$) (Tabela 1).

As porcentagens de sedimentos finos e CaCO_3 não diferiram significativamente entre tratamentos e a escala espacial que mais contribuiu para a variabilidade total nestas variáveis foi a do resíduo, com $89,54 \%$ e $79,18 \%$ respectivamente (Tabela 1).

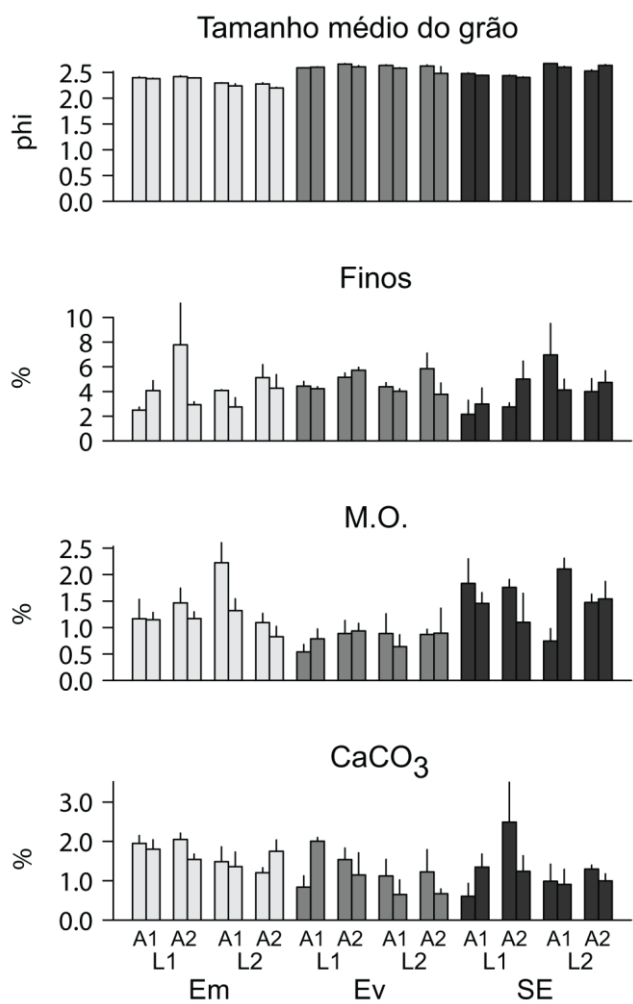


Figura 3. Variação espacial dos parâmetros texturais do sedimento em cada região (n=3, média \pm erro padrão). Barras em cinza claro = *Encope* morta, cinza = *Encope* viva, cinza escuro = sem *Encope*; cada região é composta por dois locais (L1, L2), cada local é composto por duas áreas (A1, A2) compostas por um par de barras que representam os pontos amostrais (P1, P2).

Tabela 1. Resultados das análises de variância ANOVA sobre os parâmetros texturais do sedimento, a densidade total de microalgas e nematoides, número de gêneros microalgais e espécies de nematoides, grupos tróficos de nematoides e densidade dos táxons mais abundantes, Cv(%) = Componente de variância em porcentagem, gl= graus de liberdade, n=3.

	gl	Tam. médio do grão			Finos			CaCO ₃			M.O			Clorofila-a		
		F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)
Re	2	4,64	ns	56,36	0,69	ns	0,00	2,46	ns	9,51	68,05	0,003	28,67	2,76	ns	33,09
Lo(Re)	3	19,65	0,001	29,04	1,67	ns	4,45	1,93	ns	4,76	0,11	ns	0,00	3,06	ns	25,22
Ar(Lo(Re))	6	0,76	ns	0,00	1,12	ns	2,16	0,74	ns	2,49	0,92	ns	6,40	4,10	0,017	18,48
Po(Ar(Lo(Re)))	12	2,35	0,017	4,10	1,12	ns	3,85	1,36	ns	4,05	1,88	ns	11,81	2,10	0,034	6,25
Resíduo	48	-	-	10,50	-	-	89,54	-	-	79,18	-	-	59,40	-	-	16,95
Total	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	gl	Feopigmentos			Microalgas			Riqueza microalgal			<20/>20 µm			pen/cêntr		
		F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)
Re	2	21,08	0,017	84,62	3,91	ns	45,94	6,34	ns	39,62	0,94	ns	0,00	1,54	ns	16,20
Lo(Re)	3	8,86	0,013	7,79	4,87	0,047	25,09	1,97	ns	4,77	3,13	ns	39,11	6,44	0,026	49,80
Ar(Lo(Re))	6	1,64	ns	0,00	1,67	ns	5,21	0,66	ns	1,30	9,61	0,000	33,14	3,83	0,022	13,52
Po(Ar(Lo(Re)))	12	0,96	ns	0,00	3,72	0,000	11,29	5,89	0,000	32,53	0,81	ns	0,00	1,75	ns	4,10
Resíduo	48	-	-	7,58	-	-	12,45	-	-	23,06	-	-	27,74	-	-	16,36
Total	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	gl	Copépodes			Nematoides			Riqueza nematoides			1A			1B		
		F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)
Re	2	21,28	0,016	73,25	4,74	ns	41,77	2,15	ns	11,92	14,41	0,029	71,96	6,44	ns	48,27
Lo(Re)	3	1,87	ns	0,00	3,08	ns	15,10	1,81	ns	9,22	10,10	0,009	9,16	2,31	ns	10,06
Ar(Lo(Re))	6	2,43	ns	6,40	1,05	ns	0,75	6,41	0,003	11,70	0,72	ns	0,00	2,21	ns	8,44
Po(Ar(Lo(Re)))	12	0,89	ns	0,00	3,72	0,001	20,13	0,27	ns	0,00	0,89	ns	0,00	1,44	ns	4,26
Resíduo	48	-	-	20,33	-	-	22,24	-	-	67,17	-	-	18,89	-	-	28,97
Total	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	gl	2A			2B											
		F	p	Cv(%)	F	p	Cv(%)									
Re	2	2,92	ns	28,75	79,74	0,003	45,10									
Lo(Re)	3	3,62	ns	21,62	0,21	ns	0,00									
Ar(Lo(Re))	6	1,93	ns	7,97	1,94	ns	0,00									
Po(Ar(Lo(Re)))	12	1,39	ns	4,83	0,58	ns	0,00									
Resíduo	48	-	-	36,84	-	-	54,90									
Total	71	-	-	-	-	-	-									

Varição espacial da associação microfitobêntica

A concentração de clorofila-*a* diferiu significativamente entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, $F=2,10$ e $p=0,034$) e entre áreas aninhadas nos locais (Ar(Lo(Re)), dezenas de metros, $F= 4,10$ e $p = 0,017$), contudo, as escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 33,09\%$) e locais ($Cv = 25,22\%$) (Tabela 1). Foi possível observar uma grande variabilidade nas concentrações de clorofila-*a* entre pontos aninhados nas áreas e entre áreas aninhadas nos locais principalmente em EV, apesar disso, as maiores concentrações de clorofila-*a* foram registradas em EV ($10,9 \pm 8,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e as menores em EM ($5,43 \pm 2,27 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e SE ($0,38 \pm 0,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Fig. 4).

As concentrações de feopigmentos diferiram significativamente entre locais aninhados em regiões (Lo(Re), centenas de metros, $F = 8,86$ e $p = 0,013$) e entre regiões (Re, escala de quilômetros, $F = 21,18$ e $p = 0,017$). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 84,62\%$) e locais ($Cv = 7,79\%$) (Tabela 1). As concentrações de feopigmentos seguiram um padrão distinto ao registrado para clorofila-*a*, com as maiores concentrações ocorrendo em SE ($22,9 \pm 5,06 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e EV ($15,5 \pm 5,77 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e as menores em EM ($3,9 \pm 1,94 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Fig. 4).

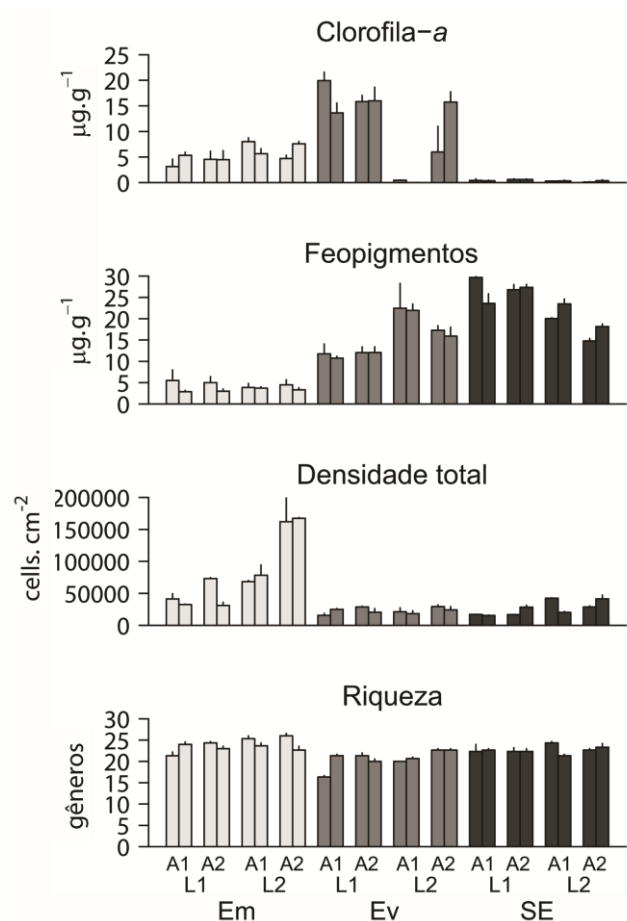


Figura 4. Concentração de clorofila-*a*, feopigmentos, densidade total e número de táxons (riqueza) de microalgas em cada região (n=3, média \pm erro padrão). Barras em cinza claro = *Encope* morta, cinza = *Encope* viva, cinza escuro = sem *Encope*; cada região é composta por dois locais (L1, L2), cada local é composto por duas áreas (A1, A2) compostas por um par de barras que representam os pontos amostrais (P1, P2).

Foram identificados 28 gêneros de microalgas, com uma densidade média de 43630 ± 43752 células. cm^{-2} nas três regiões investigadas. As maiores densidades foram registradas em EM e as menores em EV e SE (Fig. 4), apesar disso, a densidade total de células microfítobênticas variou de forma significativa apenas entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, $F = 3,72$ e $p < 0,001$) e entre locais aninhados nas regiões (Lo(Re), escala de centenas de metros, $F = 4,87$ e $p = 0,047$). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 45,94\%$) e locais ($Cv = 25,09\%$) (Tabela 1).

A riqueza de gêneros microalgais variou de forma significativa apenas entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, $F = 5,89$ e $p < 0,001$). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 39,62\%$), pontos ($Cv = 32,53\%$) e resíduo ($Cv = 23,06\%$) (Tabela 1). A variabilidade em pequenas escalas espaciais teve uma maior importância para explicar os padrões de riqueza de gêneros, entretanto existiu uma tendência de maior riqueza em EM (Fig. 4).

As diatomáceas *Nitzschia* spp., *Auliscus* sp. e *Biddulphia* sp. foram os táxons mais abundantes durante o estudo, representando respectivamente $13,09 \pm 5,57\%$, $11,01 \pm 9,9\%$ e $10,17 \pm 13,16\%$ da densidade total do microfitobentos.

Em EV, as diatomáceas *Biddulphia* sp. ($26,24 \pm 10,28\%$), *Skeletonema* sp. ($17,86 \pm 15,88\%$), *Nitzschia* spp. ($12,03 \pm 6,49\%$), *Paralia sulcata* ($9,15 \pm 4,4\%$), *Melosira* sp. ($6,76 \pm 3,56\%$) e *Amphora* sp. ($4,82 \pm 3,34\%$) juntas contribuíram com $76,86 \pm 8\%$ da densidade total de células microalgais.

Em EM, as diatomáceas *Opephora* sp. ($25,71 \pm 17,29\%$), *Cocconeis* spp. ($13,42 \pm 8,74\%$), *Nitzschia* spp. ($11,7 \pm 3,46\%$), *Auliscus* sp. ($11,29 \pm 7,6\%$), o dinoflagelado *Prorocentrum* sp. ($5,82 \pm 4,71\%$), e as diatomáceas *Amphora* sp. ($3,89 \pm 1,36\%$), *Fragilaria* sp. ($3,89 \pm 2,81\%$) e *Eunotogramma* sp. ($3,75 \pm 2,83\%$) juntas contribuíram com $79,46 \pm 7,5\%$ da densidade total.

Por fim, em SE, *Auliscus* sp. ($20,53 \pm 6,96\%$), *Opephora* sp. ($19,77 \pm 5,91\%$), *Nitzschia* spp. ($15,55 \pm 5,66\%$), *Cocconeis* spp. ($12,35 \pm 3,54\%$), *Eunotogramma* sp. ($5,67 \pm 2,88\%$) e *Fragilaria* sp. ($4,10 \pm 1,58\%$) juntas contribuíram com $77,98 \pm 6,96\%$ da densidade de microalgas.

A estrutura multivariada da associação microfitobêntica diferiu significativamente entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, pseudo- $F = 3,40$ e $p(\text{perm}) = 0,001$), entre locais aninhados nas regiões (Lo(Re), escala de centenas de metros, pseudo- $F = 3,70$

e $p(\text{perm}) = 0,001$) e marginalmente entre regiões (Re, escala de quilômetros, pseudo-F = 5,71 e $p(\text{perm}) = 0,059$) (Tabela 3). As escalas espaciais que mais contribuiram para a variabilidade total da associação foram regiões (Cv = 52,17 %) e locais (Cv = 16,14 %).

Os pontos relacionados à região EV formaram um agrupamento distinto dos demais, devido a diferenças na composição de espécies e na estrutura da associação (Fig. 5a). As comparações *a posteriori* mostraram que a estrutura da associação microfitobêntica em EV diferiu significativamente de EM e SE (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da análise de variância permutacional multivariada PERMANOVA, baseadas em matrizes de Bray Curtis, sobre as associações microfitobêntica, meiofaunal e de nematoides. Cv(%) = Componente de variância em porcentagem, gl= graus de liberdade, n=3.

	gl	Microfitobentos			Meiofauna			Nematoides					
		Pseudo-F	p(perm)	Cv(%)	Pseudo-F	p(perm)	Cv(%)	Pseudo-F	p(perm)	Cv(%)			
Re	2	5,71	0,059	52,17	6,69	0,019	41,45	6,56	0,001	48,37			
Lo(Re)	3	3,70	0,001	16,14	1,83	ns	6,61	3,15	0,001	11,87			
Ar(Lo(Re))	6	1,31	ns	2,86	0,91	ns	0,00	1,14	ns	1,38			
Po(Ar(Lo(Re)))	12	3,40	0,001	12,81	4,01	0,001	26,04	2,01	0,001	9,70			
Resíduo	48	-	-	16,00	-	-	25,88	-	-	28,66			
Total	71	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Pair-wise tests</i>		EM		SE		EM		SE		EM		SE	
		t	p(mc)	t	p(mc)	t	p(mc)	t	p(mc)	t	p(mc)	t	p(mc)
		EV	2,507	0,036	3,765	0,006	3,166	0,035	2,037	ns	2,904	0,010	2,386
EM	-	-	1,447	ns	-	-	2,411	ns	-	-	2,395	0,007	

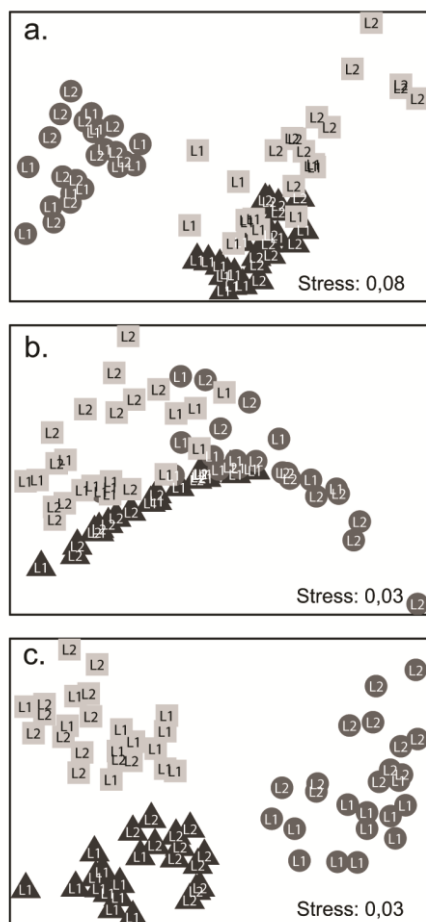


Figura 5. Escalonamentos multidimensionais não-métricos (n-MDS) das associações (a.) microfitobêntica (b.) meiofaunal e (c.) de nematóides baseados em matrizes de dissimilaridade de Bray Curtis, com dados não transformados. *Encope* morta: quadrados em cinza claro; *Encope* viva: círculos em cinza; sem *Encope*: triângulos cinza escuro. Locais aninhados nas regiões: L1 e L2.

A razão entre os tamanhos de células microalgais (<20/>20 μm) diferiu significativamente apenas entre áreas aninhadas nos locais (Ar(Lo(Re))), escala de dezenas de metros, $F = 9,61$ e $p < 0,001$). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram locais (Cv = 39,11 %) áreas (Cv = 33,14 %) e resíduo (Cv = 27,74 %) (Tabela 1).

A razão entre as formas de células microalgais (penadas/cêntricas) diferiu significativamente entre áreas aninhadas nos locais (Ar(Lo(Re))), escala de dezenas de metros, $F = 3,83$ e $p = 0,022$) e entre locais (Lo(Re), escala de centenas de metros, $F = 6,44$ e $p = 0,026$). A

escala espacial que mais contribuiu para a variabilidade total foi a de centenas de metros (Locais, $Cv = 49,80\%$) (Tabela 1).

A região EM, principalmente no local 2, foi caracterizada por uma maior proporção de células penadas <20 μm , enquanto EV foi caracterizada por uma maior proporção de células cêntricas >20 μm (Fig. 6).

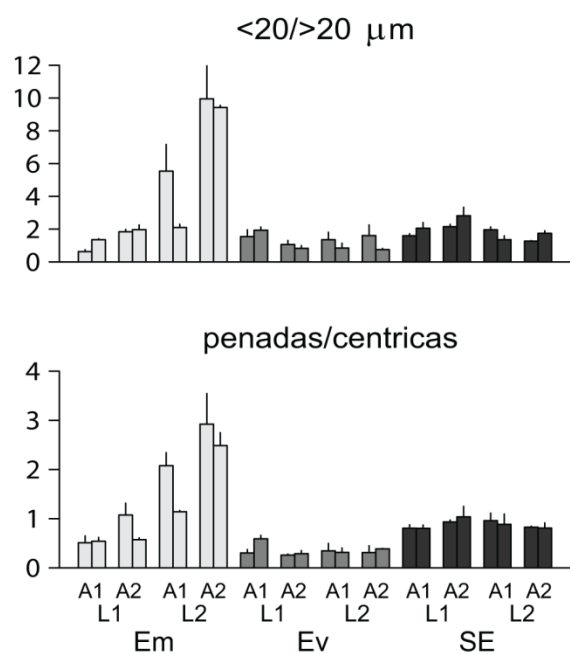


Figura 6. Razão entre tamanhos (<20/>20 μm) e formas (penadas/cêntricas) das microalgas presentes na associação ($n=3$, média \pm erro padrão). Barras em cinza claro = *Encope* morta, cinza = *Encope* viva, cinza escuro = sem *Encope*; cada banco é composto por dois locais (L1, L2), cada local é composto por duas áreas (A1, A2) compostas por um par de barras que representam os pontos amostrais (P1, P2).

Variação espacial das associações meiofaunal e de nematoides

Foram identificados indivíduos pertencentes a oito grandes grupos meiofaunais, Nematoda, Copepoda, Ostracoda, Kinorhyncha, Gastrotricha, Platyhelminthe, Oligochaeta e Acari, que totalizaram, em média (\pm EP), 1367 ± 832 ind. 10 cm^{-2} .

Nematoides, com 1211 ± 719 ind.10 cm⁻² e copépodes, com 127 ± 202 ind.10 cm⁻² foram os táxons mais abundantes e representaram $89,7 \pm 8,4$ % e $6,4 \pm 6,5$ % da densidade total da meiofauna em EV; $82,5 \pm 10,3$ % e $16,3 \pm 10,4$ % em EM; e $96,8 \pm 1,8$ % e $0,3 \pm 0,2$ % em SE.

A densidade total de nematoides diferiu significativamente apenas entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, $F = 3,72$ e $p = 0,001$), as escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões (Cv = 41,77 %), pontos (Cv = 20,13 %) e resíduo (escala de centímetros, Cv = 22,24 %) (Tabela 1). Apesar das variações bruscas de densidade em pequenas escalas espaciais (metros e centímetros), as maiores densidades foram registradas em EM e SE e as menores em EV (Fig. 7).

A densidade total de copépodes diferiu significativamente apenas entre regiões (Re, escala de quilômetros, $F = 21,28$ e $p = 0,016$), as escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões (Cv = 73,25 %) e resíduo (Cv = 20,33 %) (Tabela 1). As maiores densidades foram registradas em EM e as menores em EV e SE ($p < 0,05$ teste SNK) (Fig. 7).

O número de espécies de nematoides diferiu significativamente apenas entre áreas aninhadas nos locais (Ar(Lo(Re))), escala de dezenas de metros, $F = 6,41$ e $p = 0,003$). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total no número de espécies foram o resíduo (Cv = 67,17 %), áreas (Cv = 11,70 %) e regiões (Cv = 11,92 %) (Tabela 1) (Fig. 7).

A associação meiofaunal diferiu significativamente entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, pseudo-F = 4,01 e $p(\text{perm}) = 0,001$) e entre regiões (Re, escala de quilômetros, pseudo-F = 6,69 e $p(\text{perm}) = 0,019$) (Tabela 2). Apesar da grande variabilidade em pequenas escalas espaciais (centímetros e metros), as regiões expostas a diferentes condições relacionadas à distribuição espacial da população de *E. emarginata* formaram distintos agrupamentos (Fig. 5b). As comparações *a posteriori* mostraram que a estrutura da associação em

EM diferiu significativamente de EV e SE (Tabela 2). Nematoides e copépodes foram os táxons que mais contribuíram para as diferenças encontradas.

Ao todo, foram identificadas 53 espécies de nematoides, pertencentes a 20 famílias. Xyalidae (8 espécies), Chromadoridae (7) e Desmodoridae (5) foram as famílias mais diversas. Os grupos tróficos com maior abundância relativa em todo o estudo foram os comedores de epistrato (2A) com $51,15 \pm 16,28$ % e comedores de depósito não-seletivos (1B) com $35,80 \pm 16,22$ %.

Ptycholaimellus ponticus (26,8 %), *Terschellingia longicaudata* (14,2 %), *Gomphonema* sp. (12,4 %), *Metalinhomoeus longiseta* (8,4 %), *Spirinia parasitifera* (4,7 %), *Sabatieria pulchra* (4,5 %) e *Metachromadora chandleri* (4,3 %), juntas contribuíram com 75,6 % da densidade total de nematoides em EV.

Em EM, *Nudora besnardi* (22,1 %), *Nannolaimoides* sp. (14 %), *Dichromadora* sp. (13,4 %), *Daptonema* sp3. (9,9 %), *Parodontophora paragranelifera* (8,8 %), *Paramonhystera albigensis* (3,5 %) e *S. pulchra* (2,5 %) foram as espécies mais abundantes e correspondem a 74,4 % da densidade total na região.

Em SE, dez espécies totalizaram 75,9% da densidade total de nematoides, das quais se destacaram *P. albigensis* (16,8 %), *Microlaimus* sp. (15,4 %), *S. parasitifera* (7,7 %), *P. ponticus* (7,5 %) e *Viscosia glabra* (7,4 %).

A associação de nematoides diferiu significativamente entre pontos aninhados nas áreas (Po(Ar(Lo(Re))), escala de metros, pseudo-F = 2,01 e p(perm) = 0,001), entre locais aninhados nas regiões (Lo(Re), escala de centenas de metros, pseudo-F = 3,15 e p(perm) = 0,001) e entre regiões (Re, escala de quilômetros, pseudo-F = 6,56 e p(perm) = 0,001) (Tabela 2). Houve uma clara distinção entre agrupamentos relacionados à distribuição espacial de *E. emarginata* e entre locais aninhados nas regiões (Fig. 5c). As comparações *a posteriori* mostraram diferenças significativas entre as três regiões amostradas no estudo (Tabela 2).

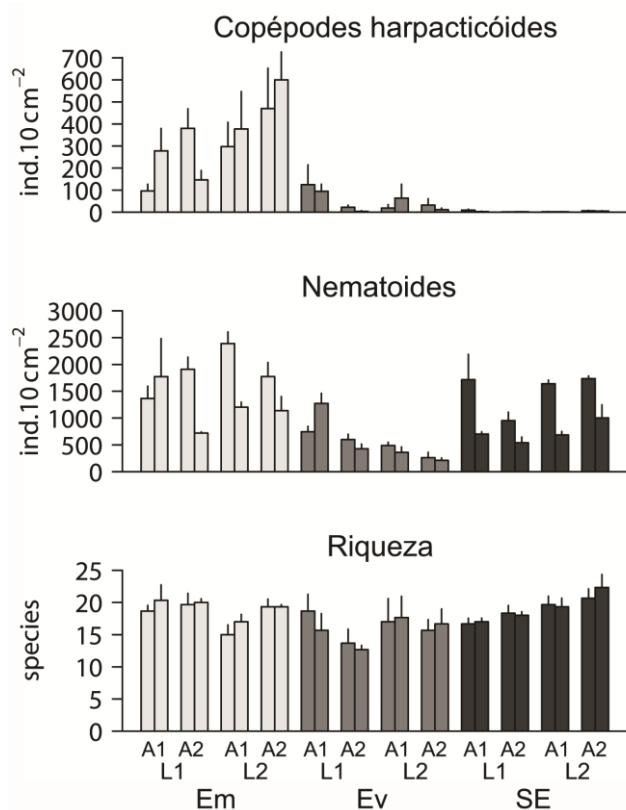


Figura 7. Densidade total de copépodes, nematoides e número de espécies de nematoides em cada região (n=3, média \pm erro padrão). Barras em cinza claro *Encope* = morta, cinza *Encope* = viva, cinza escuro = sem *Encope*; cada região é composta por dois locais (L1, L2), cada local é composto por duas áreas (A1, A2) compostas por um par de barras que representam os pontos amostrais (P1, P2).

A abundância relativa dos comedores de depósito seletivos (1A) diferiu significativamente entre locais aninhados nas regiões (Lo(Re), $F = 14,41$, $p = 0,029$) e entre regiões (Re, $F = 10,10$, $p = 0,009$) (Tabela 1). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 71,96\%$) e resíduo ($Cv = 18,89\%$). O SNK mostrou que a abundância relativa dos comedores de depósito seletivos foi significativamente maior em EV se comparada às outras duas regiões (Fig. 8).

Não foram observadas diferenças significativas na abundância relativa dos comedores de depósito não-seletivos (1B) (Tabela 1). Apesar disso, a contribuição relativa dos comedores de

depósito não-seletivos foi maior em SE do que em EV e EM (Fig. 8). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 48,27\%$) e resíduo ($Cv = 28,97\%$).

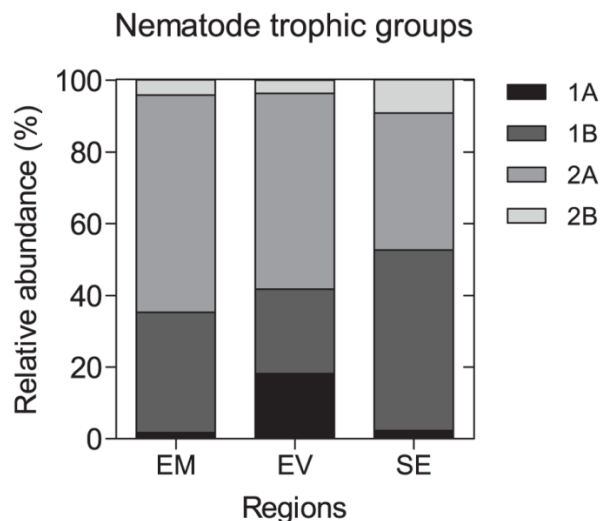


Figura 8. Abundância relativa de grupos tróficos de nematoides, segundo a categorização de Wieser (1953), em cada região ($n=3$).

Não foram observadas diferenças significativas na abundância relativa dos comedores de epistrato (2A) (Tabela 1). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram, respectivamente, resíduo ($Cv = 36,84\%$), regiões ($Cv = 28,75\%$) e locais ($Cv = 21,62\%$) (Fig. 8).

A abundância relativa de onívoros e predadores (2B) diferiu significativamente apenas entre regiões ($Re, F = 79,74, p = 0,003$) (Tabela 1). As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões ($Cv = 45,10\%$) e resíduo ($Cv = 54,90\%$). O SNK mostrou que a abundância relativa dos onívoros e predadores foi significativamente maior em SE se comparada às outras duas regiões (Fig. 8).

Correlações entre as variáveis ambientais e as associações bênticas

A análise de correspondência canônica (CCA) realizada para a associação microfítobêntica mostrou que a região EV foi associada a areias mais finas, com maior porcentagem de sedimentos finos (silte + argila), teores de clorofila-*a* mais elevados e as diatomáceas *Biddulphia* sp. e *Skeletonema* sp.. A região EM, próxima da origem dos eixos, foi associada a teores mais elevados de CaCO₃, a diatomácea *Nitzschia* spp. e ao dinoflagelado *Prorocentrum* sp.. A região SE, foi associada a teores mais elevados de feopigmentos e MO, a menores concentrações de clorofila-*a* e a diatomácea *Auliscus* sp. (Fig. 9a).

A CCA realizado para os grupos meiofaunais mostrou que a região EV foi associada a areias mais finas com maior porcentagem de sedimentos finos, teores de clorofila-*a* mais elevados e aos táxons Kinorhyncha, Acari, Ostracoda e Oligochaeta. A região EM foi associada a maiores teores de carbonato e ao táxon Copépoda. Já a região SE foi associada a teores mais elevados de MO e feopigmentos e aos táxons Platyhelminthes e Gastrotricha (Fig. 9b).

A CCA realizado para a associação de nematoides mostrou que a região EV foi associada areias mais finas com maior porcentagem de sedimentos finos, teores de clorofila-*a* mais elevados e as espécies *T. longicaudata*, *M. longiseta*, *P. ponticus* e *Gomphonema* sp.. A região EM foi associada a teores mais elevados de CaCO₃ e as espécies *N. besnardi*, *Dichromadora* sp. e *Nannolaimoides* sp.. A região SE foi associada a teores mais elevados de MO e feopigmentos e as espécies *Theristus* sp., *Microlaimus* sp., *P. albigensis*, *V. glabra* e *S. parasitifera* (Fig. 9c).

As variáveis ambientais incluídas nos modelos explicaram de maneira significativa ($p < 0,05$) a variabilidade nas densidades dos táxons de microalgas, grupos meiofaunais e espécies de nematoides, respectivamente (ver anexos). Os dois primeiros eixos do CCA juntos explicaram, respectivamente, 85,65 %, 93 % e 81,7 % das relações entre os táxons e as variáveis ambientais. Além disso, a ANOVA indicou que a explicação dos eixos foi significativa ($F = 9,91$, $F = 9,20$ e F

= 19,78 e $p = 0,005$ para todos os casos) respectivamente, para os gêneros de microalgas, meiofauna e espécies de nematoides.

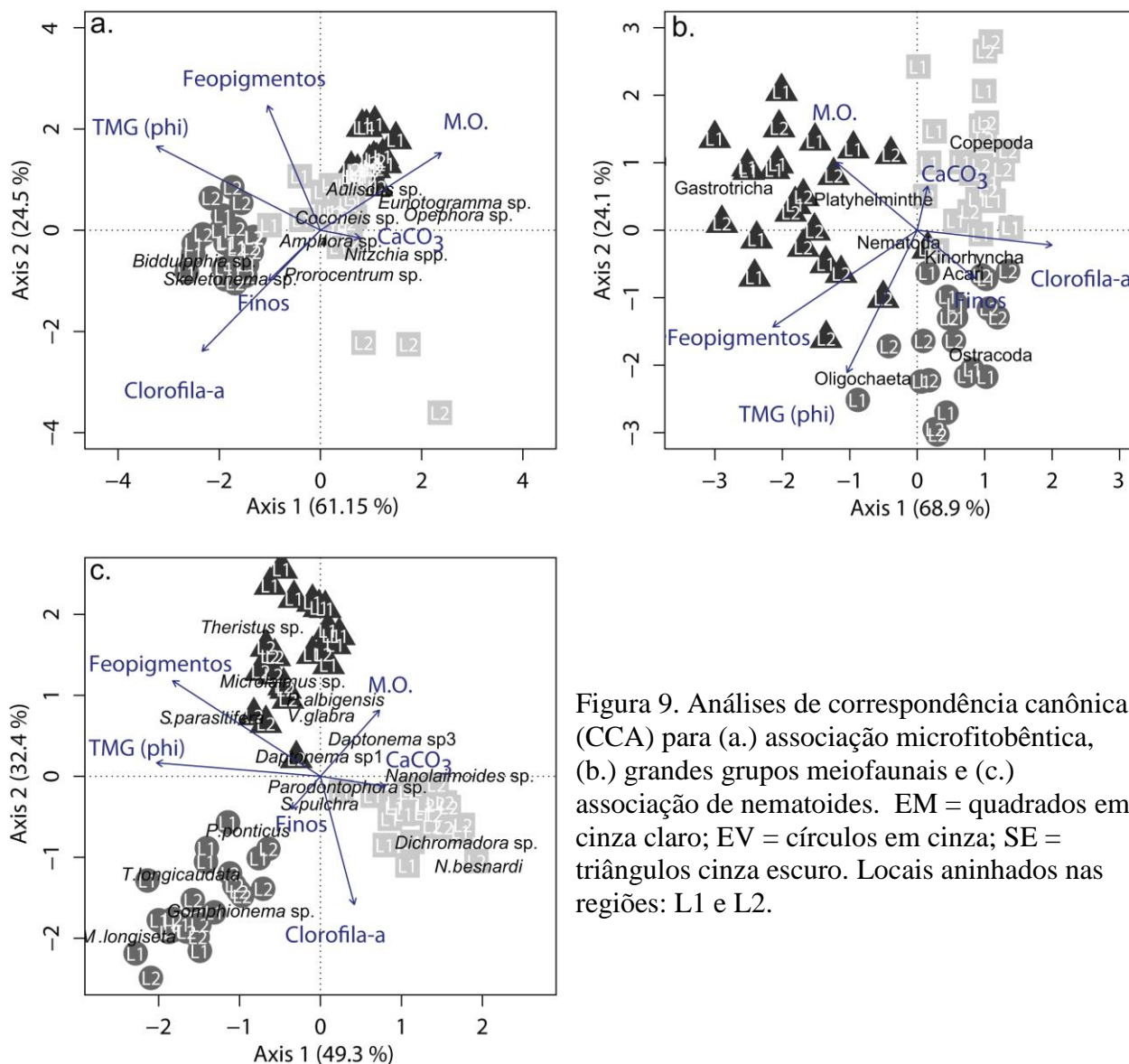


Figura 9. Análises de correspondência canônica (CCA) para (a.) associação microfítobêntica, (b.) grandes grupos meiofaunais e (c.) associação de nematoides. EM = quadrados em cinza claro; EV = círculos em cinza; SE = triângulos cinza escuro. Locais aninhados nas regiões: L1 e L2.

Discussão

Através da avaliação da magnitude dos efeitos podemos inferir que os dados obtidos corroboram em parte a hipótese (1) de que espécies-chave dentro do sistema bêntico, como *E. emarginata*, atuam na qualidade de engenheiros de ecossistemas, na medida em que a maior proporção da variabilidade total na estrutura das associações e na densidade meio- e microfitobêntica foi concentrada nas maiores escalas espaciais, referentes às regiões e locais aninhados em regiões. Contudo a maior proporção da variabilidade na riqueza de táxons dentro das associações microfitobêntica e de nematoides ficou concentrada principalmente nas menores escalas (metros e centímetros).

A maior proporção da variação no tamanho médio do grão ficou concentrada nas maiores escalas contempladas no estudo (quilômetros e centenas de metros). Observamos que a região EM é composta por sedimentos mais grossos, em sua maioria areias finas, se comparada às outras duas regiões compostas basicamente por areias muito finas. Isto contribui para a menor concentração de feopigmentos em EM em comparação com as outras regiões. Apesar disso, as regiões estudadas se mostraram relativamente homogêneas e as concentrações de CaCO_3 , sedimentos finos e MO variaram principalmente em pequenas escalas espaciais.

A baixa concentração de clorofila-*a* aliada a uma alta concentração de feopigmentos caracterizam uma maior disponibilidade de alimento refratário em SE, influenciando a estrutura e composição meiobêntica e favorecendo uma maior abundância relativa de nematoides comedores de depósito não-seletivos (1B), como é o caso de *P. albigensis*. As espécies pertencentes a este grupo se alimentam de detritos, bactérias, ciliados e diatomáceas. Além da disponibilidade do alimento, a capacidade de seleção por tamanho, forma ou hábito de vida (como diatomáceas

episômicas ou epipelágicas) pode ser importante para explicar os padrões de distribuição espacial e temporal do agrupamento [32].

A abundância relativa de onívoros e predadores (2B) foi significativamente maior em SE. As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total foram regiões (km) e resíduo (cm). Muitos nematoides classificados como onívoros e predadores através da morfologia bucal proposta por Wieser [63] na realidade podem possuir uma plasticidade trófica muito maior e se alimentar de carcaças, detritos e de forma indireta de vários outros itens alimentares e se comportam muito mais como predadores facultativos [32]. Assim, a maior disponibilidade de alimento na forma de detritos orgânicos e itens alimentares vivos em SE contribuí para as maiores densidades destes organismos registradas nessa região.

Já a grande contribuição das pequenas escalas espaciais para a variabilidade total nas densidades dos nematoides onívoros e predadores está associada às variações em pequena escala nos parâmetros texturais do sedimento, que condicionam o habitat intersticial. Alterações nas características sedimentares em pequena escala podem afetar a dinâmica predador-presa e a densidade populacional de nematoides onívoros e predadores [64].

Os padrões de riqueza dos táxons meio- e microfítobênticos variaram basicamente nas pequenas escalas (metros e centímetros). Estas variações em pequenas escalas são plausíveis e esperadas, já que nestas escalas se dão processos biológicos como reprodução *in situ* e a seleção de alimento e de microhabitats favoráveis [1-2]. Além disso, as variações em pequena escala nos parâmetros texturais do sedimento encontradas em nosso estudo influenciam estes processos estruturando os microhabitats.

Contudo, os efeitos bottom-up não são capazes de explicar por si só, de maneira satisfatória, os padrões de variação espacial das associações bênticas estudadas. Pudemos observar que efeitos top-down relacionados à ocorrência de *E. emarginata* atuam em sinergia com os

efeitos de estruturação bottom-up relacionados aos processos hidrodinâmicos e contribuem para as diferenças encontradas na estrutura e composição das associações bênticas.

Loher et al. [5,8], estudando os efeitos do equinoide *Echinocardium* spp. (bioturbador) e do bivalve suspensívoro *Atrina zelandica* (biodepositor) nas características biogeoquímicas e nas associações macrofaunais, chamaram a atenção para a importância da diversidade funcional de espécies-chave no sistema bêntico para a manutenção da diversidade macrofaunal. Da mesma forma, Austen e Widdicomb [7], Ólafsson [22,20,23] e Braeckman et al. [19] constataram a importância da conservação de espécies-chave para a manutenção da diversidade meiobêntica.

Estes efeitos de engenharia de ecossistema podem ser subdivididos em diretos e indiretos.

Engenharia de ecossistemas: efeitos diretos de *E. emarginata* sobre as associações bênticas

Os dados obtidos neste estudo corroboram a hipótese (2) de que se *E. emarginata* influencia diretamente os padrões de distribuição espacial e a estrutura das associações meio- e microfitobêntica através da perturbação física do substrato ou pressão de predação não-seletiva, então uma maior variabilidade nas associações meio- e microfitobênticas seria observada na região com indivíduos vivos de *E. emarginata* em comparação com as outras duas regiões.

Os padrões de variação espacial do microfitobentos e da meiofauna podem ser em parte influenciados por interações diretas com outros compartimentos, na medida em que organismos macrofaunais podem regular as suas densidades através da perturbação física do substrato ou por predação direta. Além disso, a meiofauna pode ser influenciada pela disponibilidade de alimento e consequentemente pela densidade e variação espacial do microfitobentos [15-65-34-19].

As escalas que mais contribuíram para a variabilidade total na densidade total de microalgas e de copépodes harpacticóides e nematoides foram as de quilômetros, metros e centímetros. Apesar das marcadas variações de densidade em pequenas escalas espaciais (metros e

centímetros), as maiores densidades de nematoides foram registradas em EM e SE e as menores em EV, principalmente no local 2. Da mesma forma, foi observada uma maior variabilidade na concentração de clorofila-*a* entre locais dentro de EV se comparada às outras duas regiões. O hábito gregário das bolachas-do-mar, aliado aos processos de alimentação e bioturbação, contribui para uma maior heterogeneidade ambiental na escala de centenas de metros dentro de EV, na medida em que cria um mosaico de locais com padrões de perturbação e recolonização distintos no tempo e no espaço. Estes resultados sugerem a existência de efeitos diretos dos processos de perturbação biogênica e/ou de predação não-seletiva de *E. emarginata* atuando como controle top-down sobre as associações microalgal e meiofaunal, como já mostrado por outros autores [7-21-22,23]. As variabilidades em pequena escala na densidade total e na riqueza das associações se mostraram igualmente importantes e podem ser uma resposta aos padrões de reprodução *in situ*, ao forrageio e a seleção de microhabitats favoráveis e a pressão de predação por parte dos nematoides onívoros e predadores [14-65-18].

Engenharia de ecossistemas: alterações ambientais mediadas por *E. emarginata* (efeitos indiretos)

Os resultados não corroboram a hipótese (3) de que se *E. emarginata* influencia indiretamente os padrões de distribuição espacial e a estrutura das associações através de alterações na complexidade estrutural do habitat, nas características biogeoquímicas do sedimento e na disponibilidade de alimento, então a proporção de células de diatomáceas cêntricas e maiores do que 20 µm e a abundância relativa dos nematoides comedores de depósito seletivos (1A) seriam maiores em EV onde os processos de difusão de nutrientes são intensificados devido a bioturbação, beneficiando a produção primária e bacteriana.

As concentrações mais elevadas de clorofila-*a* foram registradas em EV, entretanto em EV foram registradas baixas densidades de microalgas e nematoides. A composição das associações bênticas foi significativamente diferente em EV se comparada às outras duas áreas. A aparente incongruência nos resultados pode ser explicada pela dominância da diatomácea *Biddulphia* sp., de tamanho celular consideravelmente maior do que as demais e que, portanto, é capaz de sustentar maiores concentrações de clorofila-*a* em menos células. Apesar disso, a maior proporção na variabilidade total na estrutura de tamanho e forma da associação microfitobêntica ficou concentrada nas escalas de centenas e dezenas de metros. Esta grande variação concentrada nas escalas de locais e áreas foi registrada em EM e está relacionada às maiores densidades de *Nitzschia* spp. e outras diatomáceas penadas e menores que 20 µm. Dessa forma, os maiores teores de clorofila-*a* e a maior proporção de diatomáceas cêntricas maiores que 20 µm registradas em EV se devem apenas a variação espacial de *Biddulphia* sp. e não a uma mudança na estrutura de tamanho e forma da associação como um todo.

O potencial de bioturbação dos equinoides destrutura o filme de microalgas episêmicas penadas (<20 µm) ao mesmo tempo em que contribui para a remobilização e oxigenação do sedimento, bem como para a difusão dos nutrientes entre o compartimento bêntico e pelágico [5,8-3-6]. Dessa forma, os efeitos de bioturbação favorecem de maneira indireta a dominância de células cêntricas maiores (>20 µm), mais associadas à coluna d'água, como *Biddulphia* sp. em EV, fazendo com que esta biomassa fique indisponível para várias espécies meiofaunais.

O próprio comportamento alimentar de *E. emarginata* pode contribuir de forma indireta para os padrões de distribuição da meiofauna. As bolachas-do-mar da família Mellitidae em sua maioria se alimentam de partículas orgânicas e microeucariontes, que também servem de alimento para a meiofauna [27-28-29]. Ólafsson et al. [22,23] observaram uma redução drástica nas densidades de copépodes harpacticóides e de nematoides em experimentos com sedimentos

arenolodosos de sublitoral sobre influencia do bivalve *Macoma balthica* e atribuíram estas diferenças a efeitos indiretos como competição por alimento e desestruturação dos filmes microbianos. Da mesma forma, as densidades de nematoides foram relativamente menores e a variabilidade foi maior na região com presença de *E. emarginata* viva no presente estudo.

Os nematoides comedores de epistrato podem ser separados em dois grupos através do modo de alimentação: os que se alimentam fraturando as células e aqueles que as perfuram [29]. *P. ponticus*, uma das espécies mais abundantes em EV, pode se alimentar de microalgas tanto fraturando as células como as perfurando, e, assim, pode se beneficiar de uma maior densidade das grandes células de *Biddulphia* sp. em EV [32].

Além disso, a abundância relativa dos comedores de depósito seletivos (1A) foi significativamente maior em EV. Neste caso, não somente a maior escala espacial, de regiões ou quilômetros, contribuiu para variabilidade total, como também a menor escala, de resíduos ou centímetros. Além dos processos de bioturbação de *E. emarginata*, os metabólitos resultantes da excreção podem causar incrementos pontuais nas concentrações de nutrientes e na produção bacteriana [3-19]. Isto explica a variabilidade em pequena escala espacial e pode ser vantajoso para os comedores de depósito seletivos (1A), como *T. longicaudata*, que se alimentam diretamente de bactérias.

A região com esqueletos ou carapaças de *E. emarginata* (EM) apresentou uma concentração de pigmentos fotossintéticos menor se comparada a EV, mas foi a região onde se registraram as maiores densidades de microalgas (em sua maioria $< 20 \mu\text{m}$) e de copépodes. As escalas espaciais que mais contribuíram para a variabilidade total dos comedores de epistrato foram respectivamente resíduo, regiões e locais. Isto indica que processos que ocorrem tanto em pequenas escalas espaciais, tais como reprodução *in situ* e seleção ativa de alimento, quanto os que

ocorrem em escalas mais amplas são igualmente importantes para explicar os padrões de distribuição espacial do agrupamento.

A região EM é composta por sedimentos mais grossos se comparada às outras duas áreas. A fragmentação dos esqueletos calcários das bolachas-do-mar contribui para estas diferenças. Bancos formados por esqueletos e conchas calcárias de indivíduos mortos alteram a microtopografia do fundo e os padrões de circulação em pequenas escalas, aumentando a turbulência e alterando a complexidade estrutural do habitat [3-6]. Como visto na região EM, tais alterações no habitat podem favorecer grupos meiofaunais que possuem distribuição vertical mais superficial e que se favorecem da disponibilidade de alimento fresco disponível na região, como copépodes e os comedores de epistrato. As maiores densidades de copépodes em EM podem ser relacionadas diretamente às maiores densidades de microalgas na região, na medida em que estes organismos se alimentam preferencialmente de diatomáceas e normalmente possuem uma plasticidade trófica menor que a dos nematoides [66-67].

Além disso, a maior disponibilidade de células penadas menores que 20 μm em EM, como *Nitzschia* spp., pode beneficiar organismos meiofaunais que se alimentam preferencialmente fraturando as células, como *N. besnardi*. Cibic et al. [34] observaram uma forte relação entre a densidade dos táxons meiofaunais e de gêneros de microalga, na maioria penadas, como *Nitzschia*, *Navicula*, *Pinnularia*, *Diloneis*.

A abundância de copépodes e nematoides comedores de epistrato (2A) está comumente relacionada com a densidade e biomassa de microalgas e à disponibilidade de alimento fresco no ambiente [15,67-68-34], mas este parece não ser o único fator limitante para a distribuição destes animais. Azovsky et al. [69] observaram que as espécies de microalgas mais abundantes não são necessariamente as mais consumidas. Além disso, perceberam diferenças entre o conteúdo estomacal das espécies de copépodes analisadas, sugerindo uma possível partilha dos recursos.

Conclusões

A magnitude dos efeitos avaliada através dos componentes de variância fornece fortes indícios de que os efeitos top-down relacionados aos processos de engenharia de ecossistemas mediados por *E. emarginata* influenciam diretamente as associações através da perturbação biogênica e ou pressão de predação não-seletiva e indiretamente através de alterações na complexidade estrutural do habitat e nas características biogeoquímicas do substrato. Dessa forma, contribuí para a heterogeneidade ambiental, favorecendo a manutenção da biodiversidade bêntica em escalas de centenas de metros até km. Contudo, os padrões de riqueza das associações são influenciados principalmente pela heterogeneidade ambiental em pequenas escalas espaciais (centímetros até metros), que criam um mosaico de microhabitats mais ou menos favoráveis a determinadas espécies. Dessa forma, os processos que atuam em escalas espaciais mais amplas (dezenas de metros até quilômetros), e.g. hidrodinamismo e bancos monoespecíficos de organismos macrofaunais, contribuem para a estruturação de associações distintas que possuem padrões de riqueza semelhantes, em função das variações em pequena escala.

Apesar das correlações significativas encontradas, a abordagem descritiva não demonstra por si só a existência de uma relação direta de causa e efeito entre a variabilidade das associações e a presença de *E. emarginata*. A variabilidade espacial pode estar relacionada com outros fatores ambientais não contemplados no estudo. Além disto, a abordagem descritiva não permite discriminar se os presumidos efeitos diretos de *E. emarginata* sobre a estrutura das associações meiofaunais se devem à predação ou à perturbação física do substrato. Para o estabelecimento efetivo de relações de causalidade, experimentos manipulativos de campo e de laboratório devem ser realizados.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os amigos, funcionários e professores do Centro de Estudos do Mar (CEM/UFPR), e aos grupos do laboratório de Bentos e de Microalgas (CEM/UFPR) pelo apoio logístico e intelectual. Um agradecimento especial ao prof. Sergio Antonio Netto (Laboratório de Ciências Marinhas/Unisul). Este estudo recebeu suporte da Coordenadoria de Apoio à Pesquisa e Ensino Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq), que forneceram bolsas de estudo e subsídios para os autores.

Referências

1. Underwood AJ, Chapman MG (1996) Scales of spatial patterns of distribution of intertidal invertebrates. *Oecologia* 107:212-224.
2. Chapman MG, Tolhurst TJ, Murphy RJ, Underwood AJ (2010) Complex and inconsistent patterns of variation in benthos, micro-algae and sediment over multiple spatial scales. *Marine Ecology Progress Series* 398:33-47.
3. Reise K (2002) Sediment mediated species interactions in coastal waters. *Journal of Sea Research* 48:127-141.
4. Gallucci F, Netto SA (2004) Effects of the passage of cold fronts over a coastal site: an ecosystem approach. *Marine Ecology Progress Series* 281:79-92.
5. Lohrer AM, Thrush SF, Gibbs MM (2004) Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions. *Nature* 431:1092–1095.
6. Kristensen E, Penha-Lopes G, Delefosse M, Valdemarsen T, Quintana C, Banta G (2012) What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. *Marine Ecology Progress Series* 446:285–302.

7. Austen MC, Widdicombe S (1998) Experimental evidence of effects of the heart urchin *Brissopsis lyrifera* on associated subtidal meiobenthic nematode communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 222:219-238.
8. Lohrer AM, Rodil IF, Townsend M, Chiaroni LD, Hewitt JE, Thrush SF (2013) Biogenic habitat transitions influence facilitation in a marine soft-sediment ecosystem. *Ecology* 94(1):136-145.
9. Burkovsky IV, Azovsky AI, Mokievsky VO (1994) Scaling in benthos: from microflora to macrofauna. *Archive fur Hydrobiologie Supplement* 99:517-535.
10. Azovsky AI (2002) Size-dependent species-area relationships in benthos, or whether this world is more diverse for microbes? *Ecography* 25:273-282.
11. Warwick RM, Dashfield SL, Somerfield PJ (2006) The integral structure of a benthic infaunal assemblage. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 330:12-18.
12. Woodward G, Ebenman B, Emmerson M, Montoya JM, Olesen JM, Valido A, Warren PH (2005) Body size in ecological networks. *Trends in Ecology and Evolution* 20(7):402-409.
13. Giere O (2009). *Meiobenthology The Microscope Motile Fauna of Aquatic Sediments* 2nd edition. Springer-Verlag.
14. Blanchard GF (1990) Overlapping microscale dispersion patterns of meiofauna and microphytobenthos. *Marine Ecology Progress Series* 68:101-111
15. Pinckney J, Sandulli R (1990) Spatial autocorrelation analysis of meiofaunal and microalgal populations on a intertidal sandflat: scale linkage between consumers and resources. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 30:341-353.
16. Buffan-Dubau E, Carman KR (2000) Diel feeding behavior of meiofauna and their relationships with microalgal resources. *Limnology and Oceanography* 45:381-395.

17. Azovsky AI, Chertoprod ES, Saburova MA, Polikarpov IG (2004) Spatio-temporal variability of micro- and meiobenthic communities in a White Sea intertidal sandflat. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 60:663-671.
18. Gallucci F, Moens T, Fonseca G (2009) Small-scale spatial patterns of meiobenthos in the Arctic deep sea. *Marine Biodiversity* 39:9-25.
19. Braeckman U, Van Colen C, Soetaert K, Vincx M, Vanaverbeke J (2011) Contrasting macrobenthic activities differentially affect nematode density and diversity in a shallow subtidal marine sediment. *Marine Ecology Progress Series* 422:179-191.
20. Ólafsson E (2003) Do macrofauna structure meiofauna assemblages in marine soft-bottoms? A review of experimental studies. *Vie Milieu* 53:249–265.
21. Carlén A, Ólafsson E (2002) The effects of the gastropod *Terebralia palustris* on the infaunal communities in a tropical mud-flat in East Africa. *Wetlands Ecology and Management* 10:303–311.
22. Ólafsson E, Elmgren R, Papakosta O (1993). Effects of the deposit-feeding benthic bivalve *Macoma balthica* on meiobenthos. *Oecologia* 93:457-462.
23. Ólafsson E, Ullberg J, Arroyo NL (2005) The clam *Macoma balthica* prevents *in situ* growth of microalgal mats: implications for meiofaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 298:179-188.
24. Giberto DA, Bremec CS, Acha EM, Mianzan H (2004) Large-scale spatial patterns of benthic assemblages in the SW Atlantic: the Río de la Plata estuary and adjacent shelf waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61:1–13.
25. Telford M (1981) A hydrodynamic interpretation of sand dollar morphology. *Bulletin of Marine Science* 31:605–622.

26. Telford M, Mooi R, Eilers O (1985) A New Model of Podial Deposit Feeding in the Sand Dollar, *Mellita quinquiesperforata* (Leske): The Sieve Hypothesis Challenged. *Biological Bulletin* 169:431–448.
27. Findlay RH, White DC (1983) The effects of feeding by sand dollar *Mellita quinquiesperforata* (Leske) on the benthic microbial community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 72:25-41.
28. Telford M, Mooi R (1986) Resource partitioning by Sand Dollar in carbonate and siliceous sediments: evidence from podial and particle dimensions. *Biological Bulletin* 171:197-207.
29. Challener R, Miller M, Furbish D, McClintock J (2009) Evaluation of sand grain crushing in the sand dollar *Mellita tenuis* (Echinoidea: Echinodermata). *Aquatic Biology* 7:261–268.
30. Creed EL, Coull BC (1984) Sand dollar *Mellita quinquiesperforata* (Leske), and sea pansy, *Renilla reniformis* (Cuvier) effects on meiofaunal abundance. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 84:225-234.
31. Reidenauer JA (1989) Sand-dollar *Mellita quinquiesperforata* (Leske) burrow trails: sites of hapacticoid disturbance and nematode attraction. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 130:223-235.
32. Moens T, Vincx M (1997) Observations of the feeding ecology of estuarine nematodes. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom* 77:211-227.
33. Pinckney JL, Carman KR, Lumsden SE, Hymel SN (2003) Microalgal-meiofaunal trophic relationships in muddy intertidal estuarine sediments. *Aquatic Microbial Ecology* 31:99-108.
34. Cibic T, Blasutto O, Bettoso N (2009) Microalgal-meiofaunal interactions in a subtropical site of the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea, Italy): A three-year study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 370:144-154.

35. Underwood, GJC (1994) Seasonal and spatial variation in epipellic diatom assemblages in the Severn estuary. *Diatom Research* 9(2):451-472.
36. Fernandes LF, Brandini FP, Gutseit KS, Fonseca AL, Pellizari FM (1999) Benthic diatoms growing on glass slides in the Paranaguá Bay, Southern Brazil: Taxonomic structure and seasonal variation. *Insula* 28:53–100.
37. Underwood GJC, Paterson DM (1993) Seasonal changes in diatom biomass, sediment stability and biogenic stabilization in the Severn Estuary. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 73:871–887.
38. Franco MA, De Mesel I, Demba Diallo M, Van der Gucht K, Van Gansbeke D, Van Rijswijk P, Costa MJ, Vincx M, Vanaverbeke J (2007) Effect of phytoplankton bloom deposition on benthic bacterial communities in two contrasting sediments in the southern North Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 48:241–254.
39. Franco MA, Soetaert K, Van Oevelen D, Van Gansbeke D, Costa M, Vincx M, Vanaverbeke J (2008) Density, vertical distribution and trophic responses of metazoan meiobenthos to phytoplankton deposition in contrasting sediment types. *Marine Ecology Progress Series* 358:51–62.
40. Passarelli C, Hubas C, Nicolas Segui A, Grange J, Meziane T (2012) Surface adhesion of microphytobenthic biofilms is enhanced under *Hediste diversicolor* (O.F. Müller) trophic pressure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 438:52–60.
41. De Deckere EMG, Tolhurst T, De Brouwer JF (2001) Destabilization of Cohesive Intertidal Sediments by Infauna. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 53:665–669.
42. Lana PC, Marone E, Lopes RM, Machado EC (2001) The subtropical estuarine complexo of Paranaguá Bay, Brazil. In: Seeliger, U.; Kjerfve, B. (eds.). *Coastal marine ecosystems of Latin America*. Berlin. Springer, pp 131-145.

43. Noernberg MA, Lautert LFC, Araújo AD, Marone E, Angelotti R, Netto Jr. JPB, Krug LA (2006) Remote sensing and GIS integration for modelling the Paranaguá estuarine complex Brazil. SI 39(Proceedings of the 8th International Coastal Symposium), 1627 - 1631. Itajaí, SC, Brazil, ISSN0749-0208.
44. Somerfield PJ, Warwick RM (1996) Meiofauna in marine pollution monitoring programmes: a laboratory manual. MAFF Directorate of Fisheries Research Technical Series.
45. Platt HM, Warwick R (1983) M. Free-living marine nematodes. Part I: British enoplids. Synopses of the British fauna (new series) 28.
46. Platt HM, Warwick RM (1988) Free-living marine nematodes. Part II: British chromadorids. Synopses of the British fauna (new series) 38.
47. Warwick RM, Platt HM, Somerfield, PJ (1998) Free-living marine nematodes. Part III: monhysterids. Synopses of the British fauna (new series) 53.
48. Cupp EE (1943) Marine plankton diatoms of West coast of North America. (Ed.) California: Cambridge University Press 238 p.
49. Crosby LH, Wodd EJJ (1957). Studies on Australian New Zealand diatoms: Planktonic and allied species. Transactions of the Royal Society of New Zealand 86(4):483-530.
50. Tomas CR (1997) Identifying marine Phytoplankton. 2nd ed. Academic press: San Diego. 858p.
51. Round FE, Crawford RM, Mann, DG (2000) The diatoms: biology and morphology of the genera. 4th. Ed. New York: Cambridge University Press 747 p.
52. Tenenbaum DR (2004) Phytoplankton atlas of Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brasil. 1th ed. London: Glo ballast Monograph 134p.

53. Lehmkuhl EA (2009) Diatomáceas (Daitomeae) da Baía de Guaratuba, Estado do Paraná, Brasil. Dissertação de mestrado, setor de ciências biológicas, pós em botânica (Curitiba) 298p orientadora: Thelma A. Veiga Ludwing.
54. Strickland JHD, Parsons TR (1972) A practical handbook of seawater analysis (2nd ed). Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.
55. Lorenzen CJ (1967) Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrometric equations. *Limnology and Oceanography* 12:343-346.
56. Suguio K (1973) Introdução à Sedimentologia. USP, São Paulo.
57. Camargo MG (2006) SysGran: um sistema de código aberto para análises granulométricas do sedimento. *Revista Brasileira de Geociências* 36(2):371-378.
58. Sandrini-Neto L Camargo MG (2010) GAD (General ANOVA Design): an R package for ANOVA designs from the general principles. Available on CRAN.
59. Oksanen J, Blanchet GF, Kindt R, Legendre P, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Wagner H (2011) vegan: Community Ecology Package. R package version 1.17-7. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
60. Anderson MJ (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol* 26:32-46.
61. Anderson MJ (2005) PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance. Department of Statistics, University of Auckland.
62. Anderson MJ, Robinson J (2003) Generalized discriminant analysis based on distances. *Australian & New Zealand Journal of Statistics* 45:301-318.
63. Wieser W (1953) Die Beziehung zwischen Mundhöhlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. *Arkiv för Zoologi* 26:439-494.

64. 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* 304:167–178.
65. Saburova MA, Polikarpov IG, Burkovsky IV (1995) Spatial structure of an intertidal sandflat microphytobenthic community as related to different spatial scales. *Marine Ecology Progress Series* 129:229-239.
66. Sandulli R, Pinckney J (1999) Patch sizes and spatial patterns of meiobenthic copepods and benthic microalgae in sandy sediments: a microscale approach. *Journal of Sea Research* 41:179–187.
67. Troch M De, Grego M, Chepurnov V, Vincx M (2007) Food patch size, food concentration and grazing efficiency of the harpacticoid *Paramphiascella fulvofasciata* (Crustacea, Copepoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 343:210–216.
68. Montagna PA, Blanchard GF, Dinet A (1995) Effect of production and biomass of intertidal microphytobenthos on meiofaunal grazing rates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 185:149-165.
69. Azovsky AI, Saburova MA, Chertoprood ES, Polikarpov IG (2005) Selective feeding of littoral harpacticoids on diatom algae: hungry gourmands? *Marine Biology* 148:327-337.

Anexo 1. Tabela com resultado das ANOVAs para as variáveis incluídas nos modelos de correspondência canônica (CCA), e para a explicação dos eixos canônicos.

	gl	Microfitobentos		Meiobentos		Nematoides	
		F	p <	F	p <	F	p <
Clorofila-a	1	7,89	0,005	14,98	0,005	6,24	0,005
Feopigmentos	1	8,13	0,005	10,00	0,005	9,58	0,005
Tamanho médio do grão	1	8,74	0,005	4,28	0,010	5,82	0,005
CaCO ₃	1	0,56	0,775	2,54	0,030	1,36	0,230
MO	1	3,05	0,015	2,76	0,035	1,26	0,200
Finos	1	1,58	0,140	0,71	0,665	1,18	0,250
Resíduo	65	-	-	-	-	-	-
Eixos	6	4,99	0,005	5,88	0,005	4,24	0,005
Resíduo	65	-	-	-	-	-	-

Anexo 2. Tabela com densidade (média ± DP) e abundância relativa (%) dos gêneros de microalgas em cada região. *Encope* morta = EM, *Encope* viva = EV, sem *Encope* = SE.

Táxons	EM		EV		SE	
	cells.cm ⁻²	%	cells.cm ⁻²	%	cells.cm ⁻²	%
<i>Actinocyclus</i> sp.	101 ± 129	0,11	33 ± 53	0,14	61 ± 70	0,19
<i>Actinoptychus</i> sp.	544 ± 446	1,04	670 ± 312	2,91	431 ± 138	1,83
<i>Amphora</i> sp.	3575 ± 3363	3,89	1114 ± 900	4,82	386 ± 232	1,46
<i>Auliscus coelatus</i>	6348 ± 3748	11,29	231 ± 127	1,20	5550 ± 3096	20,53
<i>Biddulphia</i> sp.	1891 ± 1932	2,66	5949 ± 3192	26,24	403 ± 194	1,62
<i>Coconeis</i> spp.	9157 ± 8169	13,42	250 ± 164	1,12	3053 ± 1079	12,35
<i>Coscinodiscus</i> sp.	57 ± 55	0,07	98 ± 85	0,43	8 ± 22	0,03
<i>Cyclotella</i> sp.	1121 ± 543	2,16	945 ± 449	4,21	674 ± 274	2,67
<i>Diploneis</i> spp.	773 ± 636	1,00	262 ± 218	1,14	190 ± 160	0,74
<i>Eunotogramma</i> sp.	3492 ± 3530	3,75	15 ± 73	0,10	1485 ± 962	5,67
<i>Fragilaria</i> sp.	3391 ± 3163	3,89	700 ± 636	2,77	1088 ± 608	4,10
<i>Melosira</i> sp.	1788 ± 1557	2,73	1552 ± 973	6,76	701 ± 644	2,62
<i>Navicula</i> spp.	595 ± 496	1,20	348 ± 322	2,57	435 ± 278	1,56
<i>Nitzschia</i> spp.	8267 ± 4237	11,70	2553 ± 1539	12,03	4148 ± 2652	15,55
<i>Opephora</i> sp.	29821 ± 38595	25,71	0 ± 0	0,00	5280 ± 2625	19,77
<i>Paralia sulcata</i>	2213 ± 1929	3,10	2220 ± 1441	9,15	535 ± 345	1,99
<i>Plagiogramma</i> sp.	2001 ± 2592	2,38	41 ± 53	0,17	529 ± 502	2,01
<i>Pleurosigma</i> sp.	232 ± 76	0,39	177 ± 137	0,82	103 ± 86	0,36
<i>Prorocentrum</i> sp.	3565 ± 2280	5,82	282 ± 251	1,31	154 ± 87	0,60
<i>Psammodictyon</i> sp.	11 ± 25	0,01	0 ± 0	0,00	0 ± 0	0,00
<i>Raphoneis</i> sp.	314 ± 237	0,41	178 ± 132	0,79	277 ± 125	1,15
<i>Skeletonema costatum</i>	1244 ± 1879	1,49	4238 ± 4626	17,86	206 ± 312	0,68
<i>Stauriosira</i> sp.	100 ± 265	0,07	0 ± 0	0,00	0 ± 0	0,00
<i>Surirella</i> spp.	308 ± 158	0,48	279 ± 157	1,27	327 ± 159	1,27
<i>Terpsinoë</i> sp.	22 ± 28	0,04	70 ± 94	0,28	81 ± 76	0,41
<i>Thalassionema</i> sp.	26 ± 54	0,07	99 ± 303	0,57	17 ± 29	0,06
<i>Thalassiosira</i> sp.	248 ± 159	0,37	143 ± 84	0,62	120 ± 95	0,45
<i>Triceratium</i> sp.	549 ± 316	0,76	164 ± 119	0,72	84 ± 65	0,32

Anexo 3. Tabela com densidade (média \pm DP), abundância relativa (%) e grupos tróficos (GT, Wieser 1953) das espécies de nematoides em cada região. *Encope* morta = EM, *Encope* viva = EV, sem *Encope* = SE.

Táxons	GT	EM		EV		SE	
		ind.10 cm ⁻²	%	ind.10 cm ⁻²	%	ind.10 cm ⁻²	%
<i>Anoplostoma viviparum</i>	1A	3 \pm 6	0,20	4 \pm 13	0,73	1 \pm 2	0,03
<i>Axonolaimus</i> sp.	1B	3 \pm 10	0,21	1 \pm 4	0,14	0 \pm 0	0,00
<i>Amphimonhystera</i> sp.	1B	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	35 \pm 66	3,08
<i>Bathilaimus australis</i>	1B	14 \pm 18	0,90	9 \pm 18	1,57	20 \pm 44	1,80
<i>Campylaimus</i> sp.	1B	0 \pm 0	0,00	1 \pm 2	0,06	0 \pm 0	0,00
<i>Cyartonema</i> sp.	1A	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	1 \pm 4	0,07
<i>Cheironchus</i> sp.	2B	2 \pm 6	0,14	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00
<i>Chromadora</i> sp.	2A	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	2 \pm 7	0,16
<i>Chromadorina germanica</i>	2A	0 \pm 0	0,00	3 \pm 5	0,52	0 \pm 0	0,00
<i>Chromadorita</i> sp.	2A	2 \pm 5	0,10	1 \pm 4	0,14	1 \pm 2	0,06
<i>Comesoma</i> sp.	1B	3 \pm 8	0,20	1 \pm 2	0,08	16 \pm 21	1,41
<i>Catanema</i> sp.	2A	2 \pm 8	0,15	0 \pm 0	0,00	1 \pm 4	0,12
<i>Daptonema</i> sp.1	1B	38 \pm 33	2,46	10 \pm 15	1,83	49 \pm 40	4,37
<i>Daptonema</i> sp.2	1B	153 \pm 119	9,98	0 \pm 0	0,00	64 \pm 58	5,73
<i>Daptonema</i> sp.3	1B	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	18 \pm 28	1,62
<i>Dichromadora</i> sp.	2A	206 \pm 186	13,40	1 \pm 2	0,11	10 \pm 25	0,87
<i>Dasynemoides</i> sp.	2A	2 \pm 5	0,11	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00
<i>Eurystomina</i> sp.	2B	2 \pm 6	0,12	1 \pm 2	0,13	0 \pm 0	0,00
<i>Gomphonema</i> sp.	2A	20 \pm 19	1,33	68 \pm 90	12,45	4 \pm 8	0,35
<i>Halichoanolaimus</i> sp.	2B	13 \pm 20	0,82	8 \pm 9	1,48	3 \pm 8	0,23
<i>Haliplectus</i> sp.	1A	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	1 \pm 2	0,03
<i>Innocuonema</i> sp.	2A	8 \pm 10	0,55	5 \pm 8	1,00	4 \pm 7	0,30
<i>Marylinia</i> sp.	2A	1 \pm 4	0,06	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00
<i>Metachromadora chandleri</i>	2A	24 \pm 31	1,59	24 \pm 34	4,37	22 \pm 28	1,92
<i>Metalinhomoeus longiseta</i>	1B	1 \pm 4	0,05	46 \pm 55	8,39	2 \pm 9	0,20
<i>Metoncholaimus</i> sp.	2B	1 \pm 5	0,09	5 \pm 11	0,86	1 \pm 4	0,13
<i>Microlaimus</i> sp.	2A	33 \pm 36	2,16	11 \pm 13	1,98	173 \pm 147	15,39
<i>Nannolaimoides</i> sp.	2A	215 \pm 316	14,03	0 \pm 0	0,00	13 \pm 21	1,16
<i>Nannolaimus</i> sp.	1A	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	3 \pm 6	0,24
<i>Neochromadora bonita</i>	2A	2 \pm 6	0,15	1 \pm 4	0,18	5 \pm 9	0,41
<i>Nudora besnardi</i>	2A	340 \pm 274	22,15	4 \pm 7	0,70	0 \pm 0	0,00
<i>Oxystomina elongata</i>	1A	8 \pm 12	0,53	3 \pm 5	0,45	10 \pm 11	0,90
<i>Paracanthonchus</i> sp.	2A	33 \pm 40	2,13	5 \pm 9	0,86	11 \pm 14	0,97
<i>Paralinhomoeus lepturus</i>	1B	1 \pm 4	0,05	0 \pm 0	0,00	36 \pm 111	3,23
<i>Paramonhystera albigensis</i>	1B	53 \pm 49	3,49	7 \pm 11	1,24	188 \pm 120	16,79
<i>Paramonhystera riemanni</i>	1B	0 \pm 0	0,00	15 \pm 23	2,82	12 \pm 18	1,03
<i>Parodontophora paraganulifera</i>	1B	136 \pm 90	8,85	11 \pm 15	1,94	30 \pm 21	2,68
<i>Phanoderma</i> sp.	2A	1 \pm 5	0,06	0 \pm 0	0,00	2 \pm 5	0,19
<i>Pseudollemma</i> sp.	2A	0 \pm 0	0,00	1 \pm 3	0,22	0 \pm 0	0,00
<i>Pseudochromadora incubanz</i>	2A	17 \pm 20	1,12	13 \pm 21	2,42	3 \pm 6	0,26
<i>Pseudonchus</i> sp.	2B	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	1 \pm 4	0,11
<i>Pseudosteineria</i> sp.	1B	24 \pm 21	1,54	0 \pm 0	0,00	9 \pm 15	0,77
<i>Ptycholaimellus ponticus</i>	2A	30 \pm 28	1,94	147 \pm 112	26,86	84 \pm 115	7,52
<i>Sabatieria pulchra</i>	1B	39 \pm 48	2,54	25 \pm 23	4,59	45 \pm 43	4,01
<i>Scaptrella</i> sp.	2B	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00	1 \pm 2	0,03
<i>Sphaerolaimus</i> sp.	2B	1 \pm 2	0,03	0 \pm 0	0,00	0 \pm 0	0,00
<i>Spirinia parasitifera</i>	2A	28 \pm 49	1,81	26 \pm 30	4,75	86 \pm 64	7,68
<i>Synonchiella</i> sp.	2B	1 \pm 2	0,03	1 \pm 2	0,15	0 \pm 0	0,00
<i>Terschellingia longicaudata</i>	1A	17 \pm 21	1,10	78 \pm 40	14,24	10 \pm 12	0,85

Táxons	GT	EM		EV		SE	
		ind.10 cm ⁻²	%	ind.10 cm ⁻²	%	ind.10 cm ⁻²	%
<i>Theristus</i> sp.	1B	4 ± 17	0,23	6 ± 15	1,02	43 ± 42	3,81
<i>Trissonchulus</i> sp.	2B	2 ± 5	0,10	4 ± 8	0,66	13 ± 21	1,18
<i>Tripyloides</i> sp.	1B	19 ± 21	1,26	3 ± 6	0,50	13 ± 16	1,16
<i>Viscosia glabra</i>	2B	36 ± 21	2,34	4 ± 6	0,65	83 ± 57	7,37

Capítulo 2**Efeitos tróficos e de engenharia de ecossistemas da bolacha-da-praia *Encope emarginata* (Leske) (Echinodermata) sobre associações meio- e microfitobênticas de fundos estuarinos rasos**

Manuscrito formatado para a revista Journal of Experimental Marine Biology and Ecology
ISSN: 0022-0981 - Fator de impacto JCR: 1,875 - Qualis: A2 em Biodiversidade

Responses of benthic associations to engineering and trophic effects of the sand dollar *Encope emarginata* (Leske)

Marco C. Brustolin^{a,b,*}, Micheli C. Thomas^c, Luiz L. Mafra Jr.^a, Paulo da Cunha Lana^a

^aCentro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Avenida Beira Mar s/n, CEP 83255-976 PO Box 61, Pontal do Sul, Pontal do Paraná, Paraná, Brazil.

^bPós-graduação em Zoologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Rua Francisco H. dos Santos s/n, CEP 81531-980, Jardim das Américas, Curitiba, Paraná, Brazil.

^cPós-graduação em Ecologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Rua Francisco H. dos Santos s/n, CEP 81531-980, Jardim das Américas, Curitiba, Paraná, Brazil.

*Corresponding author: marcobrustolin@gmail.com

Abstract

Benthic macroinvertebrates, such as the sand dollar *Encope emarginata*, can modify food availability, biogeochemical regimes and structural complexity of substrate, by disturbing surface

sediments and affecting nutrient fluxes, in a process often called ecosystem engineering. We carried out a microcosm factorial experiment under lab conditions for 10 days to determine the effects of sand dollar feeding and engineering activities on structure of meio- and microphytobenthic associations. Four experimental treatments were compared: aquaria with dead *E. emarginata* (DE) build up with calcareous skeletons, aquaria with live *E. emarginata* (LE), aquaria with artificial biogenic disturbance (AD) and aquaria without live or dead sand dollars (WE). Total densities of microalgae were lower at LE and AD treatments, suggesting that bioturbation can affect microphytobenthic biofilm. The densities of the diatom *Auliscus* sp. (centric, >20 µm) were higher at LE. On the other hand, densities of *Nitzschia* spp. (penate, <20 µm) were higher at WE. The disturbance of epsamic >20 µm microalgae biofilm in addition with the increase of nutrient diffusion between sediment and water column benefit bigger diatoms, such as *Auliscus* sp.. Higher densities of *Nitzschia* spp. were observed at AD treatment compared with LE, suggesting that size selectivity of food items (>20 µm) by sand dollar may act synergistically with bioturbation process in structuring microphytobenthic association. Despite significant differences in the size structure of microphytobenthos, any differences were observed in the structure of meiobenthic association, as well, univariate measures of nematode associations such as density and richness were unaffected by the *E. emarginata* treatments. The absence of significant differences on meiobenthos was related to the short incubation period utilized in experiment. We conclude that top-down effects related to trophic and engineering processes mediated by *E. emarginata* influence the microphytobenthic association by biogenic disturbance and feeding (selective or non-selective), thus highlighting the importance of complex interactions among species in structuring benthic associations.

Keywords: Microphytobenthos, Meiofauna, bioturbation, Paranaguá Bay, Brazil.

1. Introdução

Espécies-chave da macrofauna podem influenciar a estrutura do microfitobentos e do meiobentos diretamente através de interações biológicas como predação e competição por alimento ou indiretamente através de engenharia de ecossistemas (Kirstensen et al., 2012; Ólafsson, 2003; Ólafsson et al., 1993, 2005). Independentemente de suas influências tróficas, engenheiros de ecossistema alteram o ambiente e a disponibilidade dos recursos para outras espécies, modificando e criando habitats (Jones et al., 1994). Os organismos macrofaunais, através dos processos de bioturbação, biodeposição ou pela própria presença dos organismos vivos ou mortos, desempenham um papel importante na estruturação do sistema bêntico, principalmente em locais de baixa energia, onde dominam os processos de difusão (Austen e Widdicomb, 1998; Braeckman et al., 2011; Carlén e Ólafsson, 2002; Mermillod-Blondin e Rosenberg, 2006; Ólafsson et al., 1993, 2005).

Em regiões costeiras, apesar da competição por recursos e predação macrofaunal afetarem significativamente a estrutura micro- e meiobêntica, a grande disponibilidade de alimento e a plasticidade trófica dos organismos sugerem que os efeitos de engenharia são tão ou mais importantes para manutenção da biodiversidade e estrutura das associações do que os efeitos intermediados troficamente (Austen e Widdicomb, 1998; Braeckman et al., 2010; Lohrer et al., 2008; Ólafsson et al., 1993, 2005). Bioturbadores alteram a disponibilidade de alimento e as características biogeoquímicas do sedimento como permeabilidade, oxigenação, difusão de nutrientes, produção bacteriana e remineralização da matéria orgânica (Braeckman et al., 2010, 2011; Kristensen et al., 2012; Lohrer et al., 2004, 2008, 2012; Mermillod-Blondin e Rosenberg, 2006). Além disso, podem alterar fisicamente o habitat, mudando a microtopografia do fundo e os

padrões de microcirculação, ou fornecendo abrigo contra predadores (Austen e Thrush, 2001; Hewitt et al., 2002; Reise, 2002).

Através destas alterações físicas e biogeoquímicas, os bioturbadores podem incrementar a produtividade primária bêntica. Por outro lado, a perturbação biogênica do substrato desestabiliza o filme microfitobêntico podendo causar alterações nos padrões de dominância dos táxons (de Deckere et al., 2001; Lohrer et al., 2004; Passarelli et al., 2012; Reise, 2002; Capítulo 1 desta dissertação). Apesar do aumento da produtividade primária ser relativamente bem documentado na literatura, informações sobre a influência dos processos de bioturbação na estrutura de associações microfitobênticas ainda são escassas (Alvarez et al. 2013; Braeckman et al., 2010; Lohrer et al., 2004; Mermillod-Blondin e Rosenberg, 2006; Passarelli et al., 2012; Capítulo 1 desta dissertação).

Os efeitos da bioturbação sobre as associações meiobênticas são variados e dependem do ambiente estudado, que pode ser dominado por processos biogeoquímicos e por difusão ou por processos físicos e advecção, além da biologia e ecologia da espécie bioturbadora (Ólafsson, 2003). Os nematoides possuem ampla distribuição e na maioria dos ambientes são os organismos meiofaunais mais abundantes e diversificados. Devido à grande variedade de estratégias alimentares, a estrutura da associação meiofaunal e de nematoides pode ser influenciada, de forma indireta, por alterações ambientais e no microfitobentos (Blanchard, 1990; Cíbic et al., 2009; Moens e Vincx, 1997; Ólafsson et al., 2005; Pinckney e Sandulli, 1990; Pinckney et al., 2003).

Picos de densidade populacional da espécie de bolacha-do-mar *Encope emarginata* são uma característica do sublitoral raso de regiões costeiras (Giberto et al., 2004). Estes equinodermos da família Mellitidae bioturbam o sedimento e se alimentam de partículas orgânicas e microeucariontes (Challener et al., 2009; Findlay e White, 1983; Telford e Mooi, 1986), recursos alimentares que são igualmente importantes para a meiofauna. Apesar de considerados

sedentários, podem se locomover através do sedimento a uma velocidade de 1 a 15 cm.h⁻¹, podendo bioturbar uma grande quantidade de sedimento (observações pessoais).

Os primeiros estudos abordando os efeitos de equinoides sobre o microfitobentos e a meiofauna mostraram tanto respostas positivas quanto negativas nas densidades dos táxons analisados (Creed e Coull 1984, Findlay e White 1983, Reidenauer 1989). Tais disparidades nos resultados encontrados podem ser consequência de diferenças metodológicas empregadas ou ainda de diferenças na composição meiofaunal, já que estes estudos não identificaram as espécies de nematoides em nível específico, além de terem sido executados em ambientes marinhos bastante distintos. Entretanto, mais recentemente, Austen e Widdicomb (1998) observaram diferenças interespecíficas e na estrutura funcional da associação meiofaunal e de nematoides como resposta à perturbação física do substrato e à alimentação não-seletiva do ouriço *Brissopsis lyrifera*.

Com o objetivo de identificar a influência de diferentes aspectos tróficos e de engenharia da bolacha-do-mar *E. emarginata* sobre a estrutura das associações microfitobêntica, meiobêntica e macrobêntica de regiões sublitorais estuarinas, o presente estudo testou as hipóteses (H1) de que:

(1) A presença da bolacha-do-mar influencia a estrutura das associações bênticas através de mudanças na microtopografia do substrato e nos padrões de circulação em microescala, favorecendo táxons com distribuição superficial ou epibêntica, como os copépodes e os nematoides comedores de epistrato.

(2) *E. emarginata* influencia a estrutura das associações bênticas através da desestabilização da camada superficial do sedimento e de alterações biogeoquímicas no substrato promovidas por bioturbação.

(3) As preferências alimentares da bolacha-do-mar influenciam a estrutura das associações bênticas através de mudanças na disponibilidade dos recursos, gerando padrões de competição aparente entre os táxons mais abundantes nas associações meio- e microfitobênticas.

2. Material e Métodos

2.1. Confeção do experimento

O sedimento utilizado para montagem dos microcosmos foi coletado no sublitoral raso do Baixio do Perigo, entre 0,5 e 1 m de profundidade, em 25°29'3.94"S/48°25'48.43"W, na Baía de Paranaguá, Brasil. Os microcosmos (aquários de vidro) foram confeccionados com 5 cm de profundidade de coluna sedimentar e 20 cm de coluna d'água. Para tanto, foram utilizados 21 kg de sedimento para cada unidade experimental (microcosmo com um tamanho de 50 x 60 x 30 cm). O sedimento utilizado para a confecção dos microcosmos foi levado até o laboratório e cuidadosamente homogeneizado, reduzindo a variabilidade inicial entre as amostras, mas alterando a estratificação natural da associação local. Os microcosmos foram mantidos sob temperatura controlada de 18 °C durante 3 dias antes do início do experimento e só foram manipulados após a decantação total do sedimento. O experimento foi realizado em um sistema fechado com água do local filtrada, com aeração, fotoperíodo de 12:12 horas (claro:escuro), temperatura de 18 °C e salinidade constante de 28, durante 10 dias. Foram realizadas trocas parciais de 70 % da água a cada 2 dias com o intuito de evitar o acúmulo de NH_x .

Foram utilizados indivíduos adultos de *E. emarginata* de tamanho similar (com 100 a 130 mm), coletados na Ilha das Cobras (25°28'28.51"S/48°25'56.28"W) e no Baixio do Perigo. A densidade utilizada nos tratamentos experimentais (2 ind.microcosmo⁻¹) foi baseada na densidade média estimada em campo (4 ind.m²).

2.2. Delineamento amostral

Foram estabelecidos quatro tratamentos experimentais, cada um com três réplicas: tratamento com espécimes de *E. emarginata* vivos (EV); tratamento com espécimes mortos (EM); tratamento sem a presença do equinoide (SE); e tratamento com perturbação artificial, simulando os efeitos de bioturbação da bolacha-do-mar (PA). A perturbação artificial foi realizada analisando visualmente o comportamento de movimentação diário de espécimes vivos em laboratório e simulando esta movimentação com um esqueleto calcário completo. Complementarmente, outras três amostras foram coletadas no mesmo dia em que foram coletadas as amostras utilizadas para o experimento. Essas amostras foram utilizadas como um controle (C) dos artefatos experimentais em microcosmo (Figura 1).

Após 10 dias, foram tomadas amostras de meiofauna e de microfitobentos em cada um dos doze microcosmos, com um amostrador de 2,5 cm Ø, e de macrofauna com um amostrador de 20 cm Ø, totalizando três réplicas de macrofauna, meiofauna e microfitobentos por tratamento experimental. Outras amostras de sedimento foram coletadas para a análise da concentração de pigmentos cloroplastídicos (2 g), para a análise de carbono total e nitrogênio total (2 g) e para análise granulométrica (60 g) com um amostrador de 5 cm Ø). As amostras biológicas para as estimativas de densidade e composição da meiofauna e macrofauna foram fixadas com formol 4 % e do microfitobentos com lugol 1 %. As amostras de sedimento destinadas às análises de pigmentos fotossintéticos e análises granulométricas foram armazenadas a -20 °C.

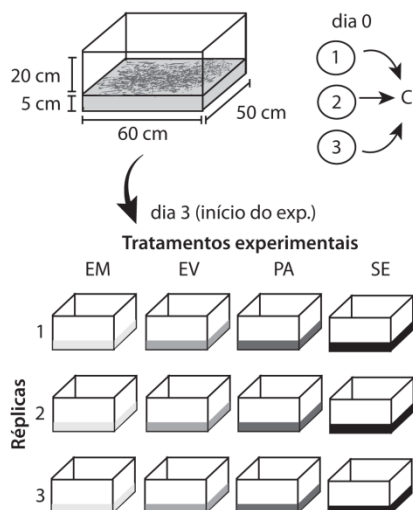


Figura 1. Desenho esquemático das unidades experimentais (réplicas) de cada tratamento experimental. Amostras provenientes do campo utilizadas como controle dos artefatos experimentais (C), *E. emarginata* morta (EM), *E. emarginata* viva (EV), perturbação biogênica artificial (PA), sem *E. emarginata* (SE).

2.3. Processamento amostral

As amostras para as análises de densidade e composição do microfítobentos foram homogeneizadas por agitação manual durante 45 s. Logo em seguida, uma alíquota de 70 ml de cada amostra foi disposta em um tubo de ensaio de 24 x 2 cm (altura x diâmetro). Depois de decorridos 3 min para que houvesse a decantação das partículas maiores de sedimento, amostras foram retiradas com pipeta Pasteur da camada superior do tubo de ensaio (a 5 cm da superfície) para contagem das células. Para a contagem das células $>20 \mu\text{m}$, 2,5 ml de amostra foram depositados diretamente em uma câmara de Utermöhl, com capacidade total de 3 ml. Para a contagem das células $<20 \mu\text{m}$, outros 2,0 ml de amostras foram retirados do tubo conforme descrito anteriormente e diluídos com a adição de 10 ml de água destilada. A amostra diluída foi então homogeneizada e dela foi coletado 1 ml para contagem em câmara de Utermöhl. As

microalgas foram contadas, identificadas e medidas, sob microscópio óptico invertido, ao menor nível taxonômico possível, utilizando os trabalhos de Cupp (1943), Crosby e Wood (1958), Lehmkuhl e Ludwing (2009), Round (2000), Tomas (1997) e Tenenbaum (2004). A razão entre as densidades de células microalgais grandes e pequenas ($<20/>20 \mu\text{m}$) foi calculada para avaliar mudanças na proporção entre de células penadas $<20 \mu\text{m}$ e cêntricas $>20 \mu\text{m}$ entre os tratamentos experimentais.

As amostras para análise da densidade e composição dos grupos meiofaunais e dos nematoides foram lavadas para remoção do formol 4 % através de uma peneira com malha de 63 μm . Após a lavagem, utilizamos o método de flotação com solução de sílica coloidal (Ludox TM 50) ajustada a uma gravidade específica de 1,15, para separação dos organismos por diferença de densidade (Sommerfield e Warwick 1996). Em cada amostra, todos os nematoides foram contados em uma placa de Dolffus sob microscópio estereoscópico, 120 organismos foram separados para a confecção de lâminas permanentes. Os nematoides foram identificados, sob o microscópio óptico, ao menor nível taxonômico possível utilizando as chaves de identificação de Platt and Warwick (1983 e 1988) e Warwick et al. (1998).

As amostras de macrofauna foram lavadas em peneira com malha de 0,5 mm e preservadas em álcool a 70%. Os organismos foram selecionados, com auxílio de estereomicroscópio, e identificados ao menor nível taxonômico possível.

Os pigmentos fotossintéticos foram extraídos das amostras de sedimento com 10 ml de acetona 100% (Strickland and Parsons, 1972). As concentrações de clorofila-*a* e feopigmentos foram estimadas através da equação de Lorenzen (1967). As amostras utilizadas para a determinação do C e N totais foram secas em estufa a 50 °C durante 12 h, destas, uma alíquota de 1 g de sedimento seco foi acidificada com 80 μl de HCL 1N e novamente secas em estufa a 50 °C durante 1 h. Após a acidificação a concentração de C e N totais foram determinadas pela combustão “on-line” da amostra por CF-IRMS em um analisador elementar Carlo Erba (CHN-

1110) acoplado a um espectrômetro de massas Delta Plus. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA/USP).

O processamento das amostras para as análises granulométricas da fração arenosa foi realizado segundo o método proposto por Suguio (1973) e o da fração fina (silte + argila, menores que 62 μm) pelo método de pipetagem de Carver (1971). Os parâmetros estatísticos para as análises granulométricas foram calculados com o auxílio do software SysGran 3.0 (Camargo, 2006).

2.4. *Processamento dos dados*

Primeiramente, para testar o efeito do artefato microcosmo na composição e densidade das associações realizamos uma análise de variância multivariada permutacional PERMANOVA fatorial (Anderson, 2001), baseada em uma matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis com dados não transformados, com o auxílio do software PERMANOVA 1.6 (Anderson, 2005) apenas entre as amostras coletadas e imediatamente fixadas (C) com aquelas retiradas do tratamento experimental sem *E. emarginata* (SE). Os efeitos do microcosmo nos padrões de riqueza, densidade total e densidade das espécies mais abundantes no estudo foram avaliados através do teste-t de Student no ambiente R. As análises subsequentes foram realizadas considerando apenas os tratamentos experimentais EV, EM, PA e SE.

Para testar a significância das diferenças nas variáveis ambientais entre os tratamentos, foram feitas análises de variância (ANOVA) uni-fatoriais em ambiente R, com o auxílio do pacote (GAD) General ANOVA Designs (Sandrini-Neto e Camargo, 2010), utilizando como fator fixo o tratamento experimental (EV, EM, PA e SE) e como variáveis dependentes os parâmetros texturais do sedimento, o teor de umidade e a razão C/N. A homogeneidade de variâncias foi examinada

através do teste C de Cochran e a normalidade dos dados através do teste de Shapiro. Sempre que necessário, os dados foram transformados para atender aos pressupostos.

Para testar a significância das diferenças na densidade e composição das associações, utilizamos métodos multivariados não paramétricos em ambiente R, com o auxílio do pacote *vegan* (Oksanen et al., 2011), definindo como fator o tratamento experimental (EM, EV, PA e SE) e como variáveis dependentes as associações microfitobêntica, meiobêntica e macrobêntica. Os padrões de distribuição espacial das associações foram visualizados utilizando escalonamento multidimensional não-métrico (n-MDS). As matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis foram baseadas em planilhas de densidade de espécies não transformadas.

Para testar a significância das diferenças entre os possíveis agrupamentos realizamos análises de variância multivariadas permutacionais PERMANOVA (Anderson, 2001) baseadas em matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis não transformadas com o auxílio do software PERMANOVA 1.6 (Anderson, 2005). A homogeneidade de dispersão multivariada foi avaliada através do teste PERMDISP (Anderson e Robinson, 2003). O SIMPER foi utilizado para identificar os táxons que mais contribuíram para as dissimilaridades entre tratamentos ao nível de corte de 75 %.

Definidas os táxons que mais contribuem para as diferenças, realizamos ANOVAs unifatoriais em ambiente R com o auxílio do pacote *GAD*, utilizando como fator fixo o tratamento experimental (EM, EV, PA e SE) e como variável dependente os táxons. A homogeneidade de variâncias foi examinada através do teste C de Cochran e a normalidade dos dados através do teste de Shapiro. Quando necessário, os dados biológicos foram transformados para atender aos pressupostos. Para discriminar as diferenças entre níveis de tratamento, utilizamos o teste post-hoc Student-Newman-Keuls (SNK).

3. Resultados

3.1. Efeitos do artefato experimental

Todos os espécimes de *E. emarginata* utilizados nos tratamentos se mantiveram vivos e em boas condições até o fim do experimento. Os dados satisfizeram os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias sem necessidade de transformação, com exceção da densidade de *Nitzschia* spp. (transformada para $\log(X+1)$) e das densidades total de nematoides e de *Microloaimus* sp. (transformados para raiz quarta).

A PERMANOVA uni-fatorial indicou diferenças significativas na composição e estrutura macrobêntica entre as amostras coletadas em campo (C) e o tratamento experimental sem *E. emarginata* (SE) após 10 d de incubação, mostrando que a macrofauna foi fortemente afetada pelos procedimentos de coleta e manutenção em laboratório (pseudo-F = 4,75 e $p(mc) = 0,03$). Para os demais casos univariados analisados, o teste-t de Student não indicou diferenças significativas entre as amostras coletadas em campo (C) e o tratamento experimental sem *E. emarginata* (SE) após 10 d de incubação. Desta forma, as análises multivariadas e univariadas subsequentes foram realizadas apenas entre os tratamentos experimentais.

3.2. Influências físicas e biogeoquímicas

Após 10 dias de incubação em laboratório, foram evidentes diferenças visuais na rugosidade do substrato e no biofilme microbiano entre os tratamentos (Figura 2). Em EV, os processos naturais de bioturbação e alimentação das bolachas-do-mar perturbaram a superfície do sedimento, diminuindo o biofilme microbiano e introduzindo uma maior heterogeneidade no

substrato. Em PA, o processo de perturbação artificial também desestruturou o biofilme microbiano.

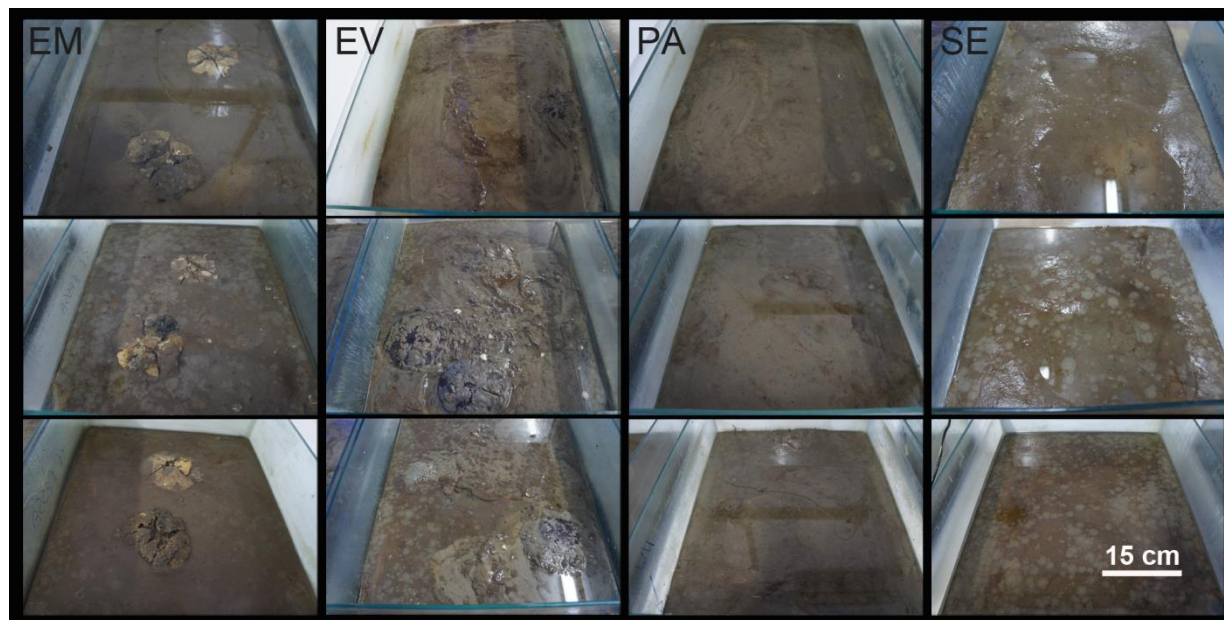


Figura 2. Unidades experimentais (réplicas) de cada tratamento experimental após 10 dias de incubação em laboratório. *E. emarginata* morta (EM), *E. emarginata* viva (EV), perturbação biogênica artificial (PA), sem *E. emarginata* (SE).

O tamanho médio do grão variou entre $2,58 \pm 0,003 \phi$ nas amostras coletadas em campo no início do experimento (C), e $2,66 \pm 0,01 \phi$ (média \pm erro padrão) em PA. O teor de lama (silte + argila + matéria orgânica) variou entre $4,97 \pm 0,41 \%$ e $5,84 \pm 1,17 \%$ nos tratamentos C e EV respectivamente. O teor de umidade variou entre $0,59 \pm 0,004 \%$ e $1,10 \pm 0,22 \%$ nos tratamentos C e EV respectivamente. A concentração de nitrogênio no sedimento foi menor em EV e PA e maior em SE e EM. A razão C/N foi menor em SE com $7,65 \pm 0,21$ e maior em EV com $8,70 \pm 1,36$ (Tabela 1). Apesar disso, nenhuma das variáveis ambientais analisadas diferiu significativamente entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 1. Variáveis ambientais em cada tratamento experimental (n=3, média ± erro padrão). (C) amostras provenientes do campo utilizadas como controle dos procedimentos, (EM) *E. emarginata*, (EV) *E.*

emarginata viva, (PA) perturbação biogênica artificial e (SE) sem *E. emarginata*.

	Tratamento experimental				
	C	EM	EV	PA	SE
Tamanho médio do grão (phi)	2,58 ± 0,003	2,63 ± 0,02	2,60 ± 0,03	2,66 ± 0,01	2,60 ± 0,01
Lama (%)	4,97 ± 0,41	5,26 ± 0,71	5,84 ± 1,17	6,03 ± 0,72	5,82 ± 1,07
Teor de umidade (%)	0,59 ± 0,004	0,84 ± 0,65	1,10 ± 0,22	1,00 ± 0,19	1,01 ± 0,25
Nitrogênio (%)	0,024 ± 0,006	0,025 ± 0,002	0,022 ± 0,003	0,021 ± 0,003	0,024 ± 0,002
Razão C/N	8,17 ± 1,11	8,08 ± 0,40	8,70 ± 1,36	8,15 ± 0,47	7,65 ± 0,21

Tabela 2. Resultados das análises de variância uni-fatoriais ANOVA, gl = graus de liberdade, MQ = média dos quadrados, n=3.

	Tratamento experimental			
	gl	MQ	F	p-valor
Tamanho médio do grão (phi)	3	0,002	3,75	0,095
Lama (%)	3	0,327	0,36	0,778
Teor de umidade (%)	3	0,033	0,23	0,872
Nitrogênio (%)	3	9,11 ^{e-06}	0,91	0,474
Razão C/N	3	0,005	0,96	0,454
N microfitobentos	3	1,26 ⁺⁸	16,08	0,001
S microfitobentos	3	3,22	1,61	0,261
Razão <20/>20 µm	3	0,038	7,27	0,011
<i>Auliscus</i> sp.	3	1,3 ⁺⁷	3,66	0,062
<i>Nitzschia</i> spp.	3	2,85	13,02	0,001
N copépodes	3	966,55	1,75	0,232
N nematoides	3	182,39	1,88	0,209
S nematoides	3	6,97	1,08	0,408
<i>Spirinia parasitifera</i>	3	8,01 ⁺⁴	1,94	0,201
<i>Microlaimus</i> sp.	3	78,26	2,06	0,183
<i>Viscosia glabra</i>	3	3,26 ⁺⁴	3,43	0,072
N macrobentos	3	1883,19	2,29	0,154
S macrobentos	3	14,08	2,77	0,110
Oligochaeta	3	374,78	0,71	0,570
<i>Bulla striata</i>	3	518,89	13,16	0,001
Syllidae	3	26,75	1,83	0,219

3.3. Influência de *Encope emarginata* nos compartimentos biológicos

3.3.1. Associação microfitobêntica

Foram identificadas microalgas pertencentes a 29 gêneros distintos. A associação microfítobêntica foi composta basicamente por diatomáceas, sendo os táxons *Auliscus* sp. ($30,91 \pm 8,81$ %), *Nitzschia* spp. ($17,4 \pm 12,51$ %), *Opephora* sp. ($7,32 \pm 3,12$ %), *Navicula* spp. ($7,24 \pm 2,09$ %), *Cyclotella* sp. ($4,33 \pm 1,16$ %) e *Biddulphia* sp. ($3,92 \pm 3,16$ %) os mais abundantes, correspondendo juntos a 71,1 % da densidade total de microalgas.

Em média (\pm EP), a densidade de microalgas nos microcosmos foi de 24753 ± 7835 células.cm⁻². A densidade total de células microfítobênticas foi significativamente menor nos tratamentos PA e EV ($F = 16,08$ e $p = 0,001$), porém a riqueza de táxons não diferiu significativamente (Tabela 2, Fig. 3).

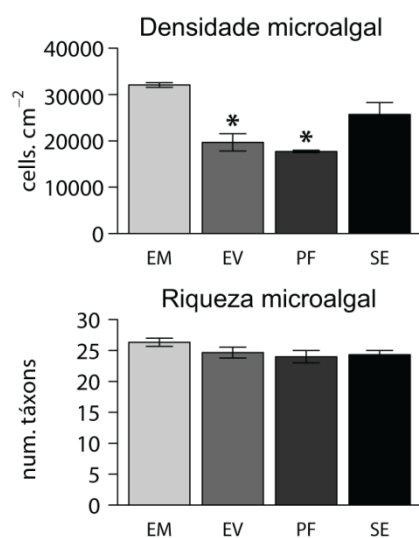


Figura 3. Densidade total e riqueza de microalgas em cada tratamento experimental (n=3, média \pm erro padrão). (EM) *E. emarginata*, (EV) *E. emarginata* viva, (PA) perturbação biogênica artificial e (SE) sem *E. emarginata*. Estrelas representam densidades significativamente menores no teste post-hoc Student-Newman-Keuls (SNK), $< 0,05 = *$.

A estrutura da associação microfitobêntica diferiu significativamente entre tratamentos (pseudo-F = 4,91 e p(mc) = 0,001) (Tabela 3). Através do MDS, pudemos observar que os pontos relacionados aos tratamentos EV e EM formaram agrupamentos distintos dos demais (Fig. 4a). As comparações *a posteriori* mostraram que EV diferiu significativamente de EM, que por sua vez diferiu significativamente de PA e SE (EV ≠ EM ≠ PA = SE, Tabela 4). Segundo o SIMPER, os táxons que mais contribuíram para as diferenças na estrutura da associação microfitobêntica foram *Nitzschia* spp. e *Auliscus* sp.

Tabela 3. Resultados das análises de variância permutacionais PERMANOVA uni-fatoriais para as associações microfitobêntica, meiobêntica, de nematoides e macrobêntica, gl= graus de liberdade, n=3.

	Tratamento experimental			
	gl	MQ	Pseudo-F	p(mc)
Microfitobentos	3	1119,9	4,91	0,001
Meiofauna	3	652,6	1,31	0,329
Nematoides	3	1349,7	1,11	0,396
Macrofauna	3	777,7	1,36	0,242

Tabela 4. Resultados das comparações *a posteriori* da análise de variância permutacional PERMANOVA uni-fatorial para a associação microfitobêntica.

	Tratamento experimental					
	EM		PA		SE	
	t	p(mc)	t	p(mc)	t	p(mc)
EV	2,540	0,023	2,194	0,032	2,043	0,05
EM	-	-	3,231	0,006	2,171	0,045
PA	-	-	-	-	1,620	0,135

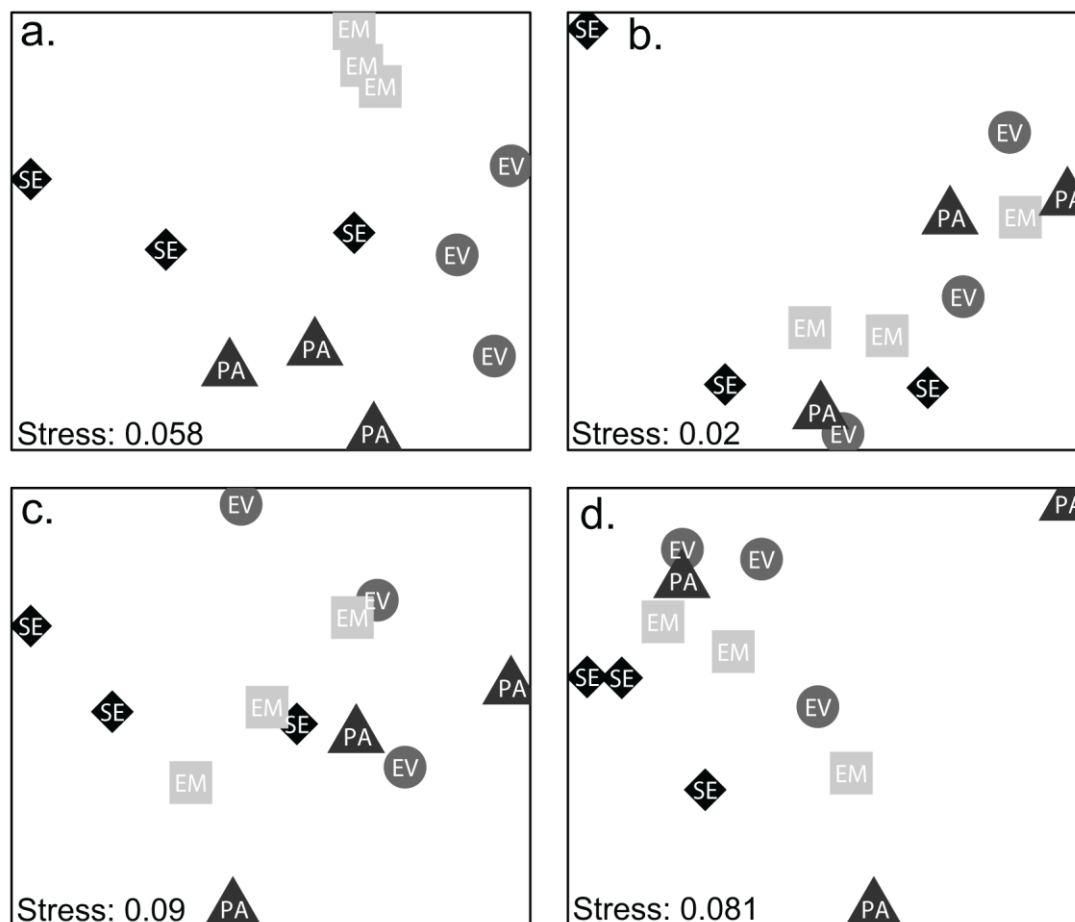


Figura 4. Escalonamentos multidimensionais não-métricos (nMDS) realizados a partir de matrizes de dissimilaridade de Bray-Curtis não transformadas baseados nas associações (a.) microfitobêntica, (b.) grandes grupos meiofaunais, (c.) de nematoides e (d.) macrobêntica. (EM) Quadrados em cinza claro, (EV) círculos em cinza, (PA) triângulos em cinza escuro, (SE) diamantes em preto.

A razão entre as densidades de células microalgais grandes e pequenas ($<20/>20 \mu\text{m}$) foi significativamente maior em SE ($F = 7,27$ e $p = 0,011$), demonstrando que a proporção de células penadas $<20 \mu\text{m}$ foi maior em SE ($1,12 \pm 0,56$); além disso, os menores valores da razão $<20/>20 \mu\text{m}$ foram observados em EV ($0,3 \pm 0,01$) (Tabela 2, Fig. 5).

As densidades de *Auliscus* sp. não diferiram significativamente entre os tratamentos, já as densidades de *Nitzschia* spp. foram significativamente menores em EV do que nos outros tratamentos ($F = 13,02$ e $p = 0,001$), com valores máximos registrados em SE (Tabela 2, Fig. 5).

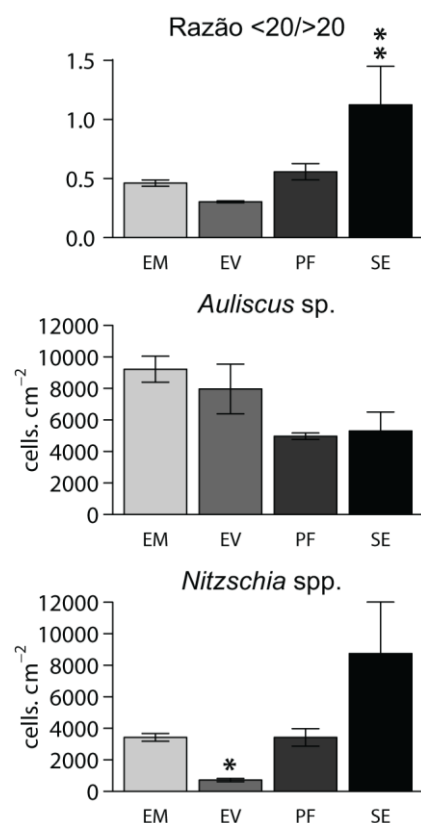


Figura 5. Densidade das espécies numericamente dominantes de microalgas em cada tratamento experimental ($n=3$, média \pm erro padrão). (EM) *E. emarginata*, (EV) *E. emarginata* viva, (PA) perturbação biogênica artificial e (SE) sem *E. emarginata*. Estrelas representam densidades significativamente menores no teste post-hoc Student-Newman-Keuls (SNK), $< 0,05 = *$, $< 0,01 = **$.

3.3.2. Associação meiobêntica

Foram identificados animais pertencentes a 9 grandes grupos meiofaunais. A associação meiobêntica foi composta basicamente por nematoides ($91,94 \pm 4,69\%$) e copépodes

harpacticóides ($2,29 \pm 2,99$ % da densidade total da associação, em média). Ostracodes, oligoquetos, poliquetos, platelmintos, quinorrincos e gastrotricos ocorreram de forma esporádica e em baixas densidades, representando apenas $6,07 \pm 3,81$ % da densidade total da associação, estimada em 1768 ± 1004 ind.10 cm⁻² (média \pm EP). As densidades de copépodes e nematoides e a riqueza de espécies de nematoides não diferiram significativamente entre tratamentos (Tabela 2). A densidade de copépodes foi baixa em todos os tratamentos experimentais quando comparada àquela do controle (C), já as maiores densidades de nematoides foram registradas em SE (Fig. 6). A estrutura da associação meiobêntica não diferiu significativamente entre tratamentos (pseudo-F = 1,31 e p(mc) = 0,329) (Tabela 3, Fig. 4b).

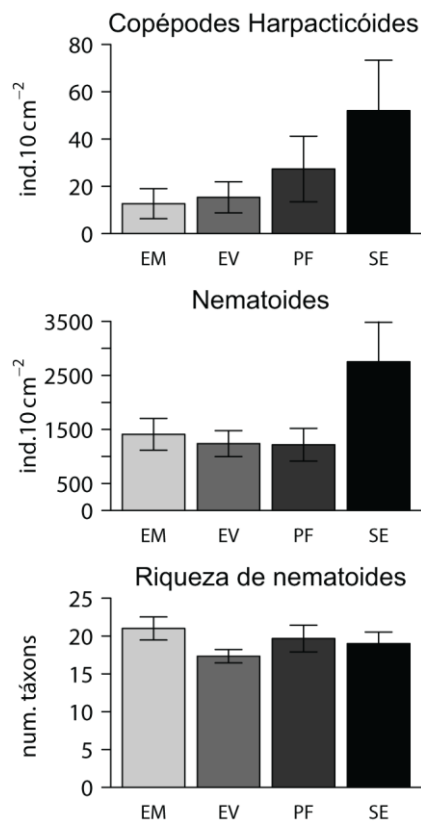


Figura 6. Densidade total dos táxons meiofaunais mais abundantes e riqueza de nematoides em cada tratamento experimental (n=3, média \pm erro padrão). (EM) *E. emarginata*, (EV) *E. emarginata* viva, (PA) perturbação biogênica artificial e (SE) sem *E. emarginata*.

3.3.3. Associação de nematoides

Foram identificados indivíduos pertencentes a 45 espécies ou morfotipos de nematoides. *Spirinia parasitifera* (23,99 \pm 9,51 %), *Viscosia glabra* (11,45 \pm 5,25 %), *Microlaimus* sp. (7,59 \pm 5,9 %), *Sabatieria pulchra* (6,44 \pm 5,01 %), *Metachromadora chandleri* (4,91 \pm 4,2 %) e *Parodontophora* sp. (3,68 \pm 2,89 %) juntos representaram 58 % da densidade total de nematoides, estimada em 1612 \pm 924 ind.10 cm⁻² (média \pm EP). As densidades das espécies numericamente dominantes de nematoides não diferiram significativamente entre tratamentos. Contudo, as variações na densidade de *V. glabra* foram marginalmente significativas (F = 3,43 e p = 0,072)

(Tabela 2). As maiores densidades das espécies analisadas foram registradas em SE, as menores de *Microloaimus* sp. e *V. glabra* em EV e PA e a de *S. parasitifera* em PA (Fig. 7). A estrutura da associação de nematoides também não diferiu significativamente entre tratamentos (pseudo-F = 1,11 e p(mc) = 0,396) (Tabela 3, Fig. 4c).

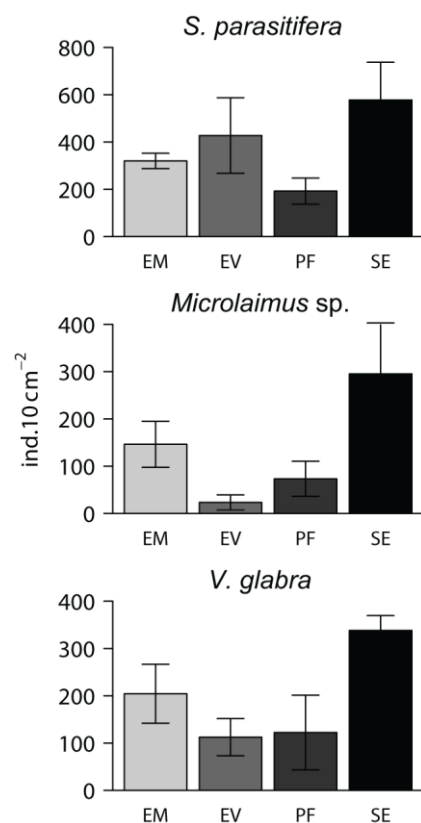


Figura 7. Densidade das espécies numericamente dominantes de nematoides em cada tratamento experimental (n=3, média \pm erro padrão). (EM) *E. emarginata*, (EV) *E. emarginata* viva, (PA) perturbação biogênica artificial e (SE) sem *E. emarginata*.

3.3.4. Associação macrobêntica

Foram identificados 43 táxons macrofaunais. Oligoquetos ($56,22 \pm 5,8$ %), *Bulla striata* ($7,29 \pm 2,99$ % e poliquetas sílideos ($6,61 \pm 3,28$ %), representam 70,12% da densidade total da

associação, estimada em 137 ± 48 ind.corer⁻¹ (média \pm EP). A estrutura da associação macrobêntica não diferiu significativamente entre tratamentos (pseudo-F = 1,36 e p(mc) = 0,242) (Tabela 3, Fig. 4d). Da mesma forma, a densidade total e a riqueza de táxons macrofaunais não diferiram significativamente entre tratamentos (Tabela 2). Tanto a densidade como a riqueza macrobêntica foram baixas em todos os tratamentos experimentais se comparadas àquelas obtidas no controle (C), tendo sido provavelmente bastante afetadas pelos métodos de coleta e manutenção em laboratório (Fig. 8).

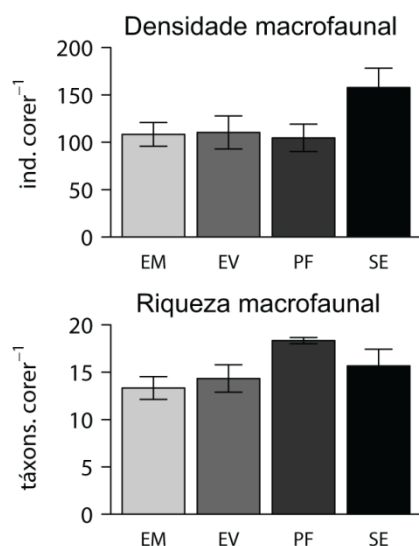


Figura 8. Densidade total e riqueza macrobêntica em cada tratamento experimental (n=3, média \pm erro padrão). (EM) *E. emarginata*, (EV) *E. emarginata* viva, (PA) perturbação biogênica artificial e (SE) sem *E. emarginata*.

As densidades dos táxons macrofaunais numericamente dominantes também foram mais baixas nos tratamentos experimentais do que no controle (C), provavelmente devido aos métodos de coleta e manutenção em laboratório (Fig. 9). As densidades de oligoquetos e silídeos não

diferiram significativamente entre tratamentos e a densidade de *B. striata* foi significativamente maior em SE (Tabela 2).

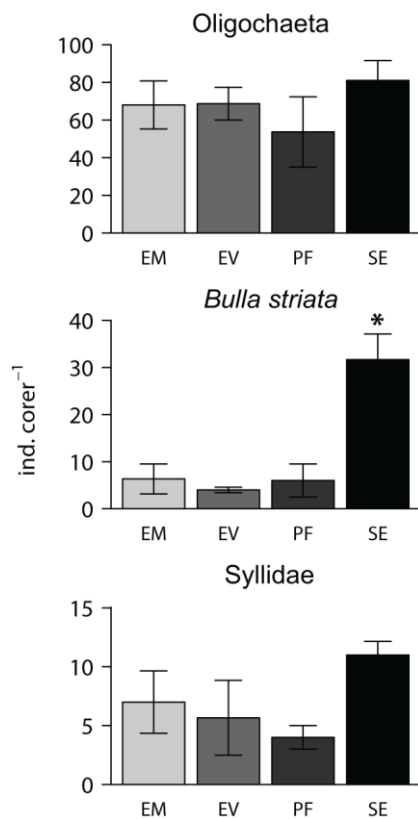


Figura 9. Densidade das espécies macrobênticas numericamente dominantes em cada tratamento experimental (n=3, média ± erro padrão). (EM) *E. emarginata* morta, (EV) *E. emarginata* viva, (PA) perturbação artificial e (SE) sem *E. emarginata*. Estrelas representam densidades significativamente maiores no teste post-hoc Student-Newman-Keuls (SNK), < 0,05 = *.

4. Discussão

Os resultados experimentais refutam a hipótese (1) de que a presença da bolacha-do-mar influencia a estrutura das associações bênticas através de mudanças na microtopografia do

substrato e nos padrões de circulação em microescala, o que favoreceria táxons com distribuição superficial ou epibêntica, como os copépodes e os nematoides comedores de epistrato.

Não foram observadas diferenças entre as associações expostas somente à presença de bolachas-do-mar mortas e aquelas submetidas aos demais tratamentos. A presença de carapaças completas e de restos calcários altera a microtopografia do substrato, mudando o hidrodinâmismo em microescala (Hewitt et al., 2002; Reise, 2002). No entanto, o experimento não captou respostas significativas dessa natureza, provavelmente em função do baixo regime de circulação e renovação dentro dos microcosmos. É possível também que a presença de estruturas calcárias altere primeiramente a macroinfauna que, por consequência, exerceria influência sobre as associações meio- e microfitobênticas. Estas variações na associação macrofaunal, entretanto, são fortemente dependentes dos processos de colonização e sucessão ecológica que não puderam ser captados pelo delineamento experimental restrito à 10 dias.

Por outro lado, no caso do microfitobentos não foram refutadas as hipóteses (2) de que *E. emarginata* influencia a estrutura das associações bênticas através da desestabilização da camada superficial do sedimento e de alterações biogeoquímicas no substrato resultantes do processo de bioturbação; e (3) de que as preferências alimentares da bolacha-do-mar influenciam a estrutura das associações bênticas através de mudanças na disponibilidade dos recursos, gerando padrões de competição aparente entre os táxons mais abundantes.

Os resultados experimentais indicaram que a desestabilização da camada superficial do sedimento afetou significativamente a estrutura multivariada da associação microfitobêntica. O processo de bioturbação influenciou negativamente a densidade total de microalgas como indicados pelos menores valores registrados nos tratamentos EV e PA. Da mesma forma, organismos infaunais comedores de depósito seletivos e não-seletivos, como ouriços e bivalves, são capazes de perturbar o sedimento e desestruturar o filme microbiano (Austen e Widdicombe,

1998; Braeckman et al., 2011; De Deckere et al., 2001; Lohrer et al., 2008, 2012; Ólafsson et al., 2005).

Diferenças na resposta dos táxons numericamente dominantes de diatomáceas e na razão (<20/>20 μm) sugerem, ainda, que os efeitos da bioturbação das bolachas-do-mar alteram o os padrões de dominância e de classe de tamanho, gerando padrões de competição aparente no microfitobentos. O tratamento experimental EV foi caracterizado por maiores densidades da diatomácea *Auliscus* sp. (cêntrica, >20 μm), enquanto SE foi caracterizado por maiores densidades de *Nitzschia* spp. (penada, <20 μm). Assim, a desestabilização das camadas superficiais do sedimento que afeta o filme de microalgas episêmicas <20 μm , aliada ao aumento na remineralização da matéria orgânica e na difusão de nutrientes entre o sedimento e a coluna d'água, favoreceram de maneira indireta as diatomáceas de tamanho maior e com hábito epibêntico ou mais associados à coluna d'água, como *Auliscus* (Cap. 1 desta dissertação). Embora não tenhamos observado diferenças significativas em nenhuma das variáveis físico-químicas analisadas, os teores de umidade mais elevados, as menores concentrações de nitrogênio total e os valores mais elevados na razão C/N foram registrados nos tratamentos EV e PA. Isto indica que alterações físicas e biogeoquímicas, como o aumento do espaço intersticial, da oxigenação, da difusão de nutrientes e da remineralização da matéria orgânica, derivadas do processo de bioturbação, podem ter influenciado os resultados. Apesar de alterações físicas e biogeoquímicas e seus efeitos nas associações bênticas serem comumente relacionados ao processo de bioturbação (Braeckman et al., 2011; de Deckere et al., 2001; Lohrer et al., 2004, 2008; Mermillod-Blondin e Rosenberg, 2006; Passarelli et al. 2012), poucos trabalhos observaram mudanças na estrutura da associação microfitobêntica (Alvarez et al., 2013) e nenhuma variação na estrutura de tamanho do microfitobentos havia sido reportada até o momento. Contudo, modelos numéricos desenvolvidos para o ambiente pelágico apontam para uma forte relação entre o tamanho e as necessidades

fisiológicas de células fitoplantônicas, demonstrando que células de menor tamanho estão mais associadas a ambientes oligotróficos, enquanto que em ambientes eutróficos existe uma predominância de classes de tamanho maiores (Irwin et al., 2006).

As maiores densidades de *Nitzschia* spp. em PA se comparadas à EV, nos dão indícios de que efeitos tróficos mediados por *E. emarginata*, como a capacidade de seleção por tamanho (células <20 µm) atuam em sinergia com os processos de bioturbação. As bolachas-do-mar da família Mellitidae, em sua maioria, podem ser consideradas como comedoras de depósito, alimentando-se de partículas orgânicas, bactérias e microeucariontes. Ainda assim a capacidade de seleção parece ser espécie-específica (Challener et al., 2009; Findlay e White, 1983; Ghiold, 1979; Gooddody, 1960; Telford e Mooi, 1986). O delineamento experimental aqui utilizado não permitiu discriminar se os padrões observados resultaram apenas do processo de bioturbação aliado ao forrageio não-seletivo, que geram padrões de competição aparente, ou se as preferências alimentares de *E. emarginata* também contribuíram para as diferenças encontradas. Experimentos testando a capacidade de seleção de *E. emarginata* devem ser posteriormente realizados para que se possa entender melhor o papel trófico que o equinoide desempenha no sistema bêntico.

A composição e estrutura da associação meiofaunal e os descritores univariados de riqueza e densidade de nematoides e copépodes não foram afetados pela bioturbação das bolachas-do-mar nem pelas menores densidades de microalgas. A perturbação biogênica mediada por espécies macrofaunais é extremamente variável, o que torna difícil categorizar seus efeitos sobre as associações (Ólafsson, 2003). Apesar disso, diversos estudos observaram que os efeitos indiretos de desestruturação do filme microalgal, aumento na oxigenação, difusão de nutrientes, produção bacteriana e remineralização da matéria orgânica podem afetar os padrões de distribuição, a composição e estrutura funcional das associações meióbênticas (Austen e Widdicombe, 1998; Braeckman et al., 2011; Ólafsson et al., 1993; Ólafsson, 2003, 2005).

Analisando os efeitos do equinoide *Mellita quinquesperforata*, Findlay e White (1983) observaram uma redução na densidade de foraminíferos e atribuíram esta resposta à predação seletiva sobre os microeucariontes aderidos à fração fina do sedimento. Em estudos com o mesmo equinoide, Creed e Coull (1984) registraram reduções drásticas na densidade de copépodes e nematoides, e Reidenauer (1989) reportou reduções na densidade de copépodes e foraminíferos, mas um aumento na densidade de nematoides, o que foi relacionado ao aumento no espaço intersticial e na disponibilidade de alimento sob a forma de muco e excretas. Tal variabilidade dos efeitos de bioturbação das bolachas-do-mar sobre as associações meiobênticas pode ser um reflexo de diferenças nas técnicas experimentais utilizadas ou ainda na própria composição e estrutura das associações estudadas, já que os nematoides não foram identificados em nível de gênero ou espécie.

No presente estudo, a densidade das espécies de nematoides numericamente dominantes não variou de forma significativa entre os tratamentos experimentais, provavelmente em função do curto tempo de incubação utilizado (10 d). Dessa forma, os efeitos agudos de mortalidade em função da perturbação física do substrato ocasionada por *E. emarginata* mostraram-se de pouca importância para a meiofauna. Apesar disso, a variação na densidade de *Viscosia glabra* entre tratamentos foi marginalmente significativa, as menores densidades da espécie foram registradas nos tratamentos EV e PA devido aos efeitos da desestabilização da camada superficial do sedimento, onde normalmente ocorrem as maiores densidades populacionais da espécie (Brustolin et al., 2013). Alterações nas características sedimentares em pequena escala podem afetar a dinâmica predador-presa e a densidade populacional de nematoides onívoros e predadores no ambiente intersticial (Gallucci et al., 2005; Brustolin et al., 2013).

Por outro lado *S. parasitifera*, que possui um padrão de distribuição vertical subsuperficial com as maiores densidades ocorrendo entre 1.0 e 2.0 cm de profundidade, sofre menos com o

processo de perturbação biogênica superficial e se favorece dos processos de oxigenação e difusão de nutrientes gerados pela bioturbação (Braeckman et al., 2011; Brustolin et al., 2013; Lohrer et al., 2004). Esta espécie comedora de epistrato se alimenta não só de diatomáceas como de ciliados e bactérias que se favorecem com o processo de bioturbação e com o input de muco e excretas, como o promovido por *E. emarginata* em EV. Os grupos tróficos definidos por Wieser (1953) fornecem um padrão simplificado sobre o comportamento alimentar dos nematoides e poucas observações sobre o comportamento individual das espécies foram realizadas até o momento (Austen e Widdicombe, 1998; Moens e Vincx, 1997). Contudo, sabe-se que nematoides, assim como copépodes harpacticóides, selecionam o alimento pelo tamanho dos itens em proporção ao aparato bucal (Azovsky et al., 2005; De Troch et al., 2006; Moens e Vincx, 1997). Além disso, os padrões de zonação vertical das espécies fornecem pistas importantes sobre a estratégia alimentar das espécies de nematoides (Steyaert et al., 2003).

5. Conclusões

Foi possível demonstrar experimentalmente que a bioturbação afeta a estrutura do microfitobentos, favorecendo espécies maiores. Esta alteração nos padrões de dominância de classes de tamanho no microfitobentos em resposta à bioturbação e às estratégias alimentares de um animal macrofaunal engenheiro de ecossistemas, ainda não havia sido registrada na literatura. Os efeitos top-down relacionados aos processos tróficos e de engenharia de ecossistemas mediados por *E. emarginata* influenciam a associação microfitobêntica por meio da perturbação biogênica e alimentação (seletiva ou não-seletiva), evidenciando a importância de interações complexas entre espécies na estruturação das associações bênticas. Estudos adicionais deverão considerar as

respostas das associações bêmicas a diferentes densidades de equinoides, a diferentes tempos de incubação e à capacidade de alimentação seletiva das bolachas.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os amigos, funcionários e professores do Centro de Estudos do Mar (CEM/UFPR), do Departamento de Zoologia (UFPR), aos grupos do laboratório de Bentos e do laboratório de Microalgas (CEM/UFPR) e ao prof. Sergio Antonio Netto (Unisul) pelo apoio logístico e intelectual. Este estudo recebeu suporte da Coordenadoria de Apoio à Pesquisa e Ensino Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil (CNPq), que forneceram bolsas de estudo e subsídios para os autores.

Referências

- Alvarez, M. F., Esquiús, K. S., Addino, M., Alberti, J., Iribarne, O., Botto, F. 2013. Cascading top-down effects on estuarine intertidal meiofaunal and algal assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 440:216–224.
- Anderson, M. J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol* 26:32-46.
- Anderson, M. J., Robinson, J. 2003. Generalized discriminant analysis based on distances. *Australian & New Zealand Journal of Statistics* 45:301–318.
- Anderson, M. J. 2005. PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance. Department of Statistics, University of Auckland.

- Austen, M. C., Widdicombe, S. 1998. Experimental evidence of effects of the heart urchin *Brissopsis lyrifera* on associated subtidal meiobenthic nematode communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 222:219-238.
- Austen, M., Thrush, S. F. 2001. Experimental evidence suggesting slow or weak response of nematode community structure to a large suspension-feeder. *Journal of Sea Research* 46:69–84.
- Azovsky, A. I., Saburova, M. A., Chertoprood, E. S., Polikarpov, I. G. 2005. Selective feeding of littoral harpacticoids on diatom algae: hungry gourmands? *Marine Biology* 148:327-337.
- Blanchard, G. F. 1990. Overlapping microscale dispersion patterns of meiofauna and microphytobenthos. *Marine Ecology Progress Series* 68:101-111
- Braeckman, U., Provoost, P., Gribsholt, B., Van Gansbeke, D., and others. 2010. Role of macrofauna functional traits and density in biogeochemical fluxes and bioturbation. *Mar Ecol Prog Ser* 399:173–186.
- Braeckman, U., Van Colen, C., Soetaert, K., Vincx, M., Vanaverbeke, J. 2011. Contrasting macrobenthic activities differentially affect nematode density and diversity in a shallow subtidal marine sediment. *Marine Ecology Progress Series* 422:179-191.
- Brustolin, M. C., Thomas, M. C., Lana, P. C. 2013. A functional and morphological approach to evaluate the vertical migration of estuarine intertidal nematodes during a tidal cycle. *Helgoland Marine Research* 67:83-96.
- Camargo, M. G. 2006. SysGran: um sistema de código aberto para análises granulométricas do sedimento. *Revista Brasileira de Geociências* 36(2):371-378.
- Carlén, A., Ólafsson, E. 2002. The effects of the gastropod *Terebralia palustris* on the infaunal communities in a tropical mud-flat in East Africa. *Wetlands Ecology and Management* 10:303–311.

- Challener, R., Miller, M., Furbish, D., McClintock, J. 2009. Evaluation of sand grain crushing in the sand dollar *Mellita tenuis* (Echinoidea: Echinodermata). *Aquatic Biology* 7:261–268.
- Cibic, T., Blasutto, O., Bettoso, N. 2009. Microalgal-meiofaunal interactions in a subtropical site of the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea, Italy): A three-year study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 370:144-154.
- Creed, E. L., Coull, B. C. 1984. Sand dollar *Mellita quinquiesperforata* (Leske), and sea pansy, *Renilla reniformis* (Cuvier) effects on meiofaunal abundance. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 84:225-234.
- Crosby, L. H., Wood, E. J. F. 1957. Studies on Australian New Zealand diatoms: Planktonic and allied species. *Transactions of the Royal Society of New Zealand*, v, 86, n.4, pp, 483-530.
- Cupp, E. E. 1943. *Marine plankton diatoms of West coast of North America.*(Ed.) California: Cambridge University Press, 238 p.
- De Deckere, E. M. G. T., Tolhurst, T., De Brouwer, J. F. 2001. Destabilization of Cohesive Intertidal Sediments by Infauna. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 53:665–669.
- De Troch, M., Chepurinov, V., Gheerardyn, H., Vanreusel, A., Ólafsson, E. 2006. Is diatom size selection by harpacticoid copepods related to grazer body size? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 332:1–11.
- Lehmkuhl, E. A. 2009. *Diatomáceas (Daitomeae) da Baía de Guaratuba, Estado do Paraná, Brasil.* Dissertação de mestrado, setor de ciências biológicas, pós em botânica (Curitiba) . 298f orientadora: Thelma A. Veiga Ludwing.
- Findlay, R. H., White, D. C. 1983. The effects of feeding by sand dollar *Mellita quinquiesperforata* (Leske) on the benthic microbial community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 72:25-41.

- 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* 304:167–178.
- Giberto, D. A., Bremec, C. S., Acha, E. M., Mianzan, H. 2004. Large-scale spatial patterns of benthic assemblages in the SW Atlantic: the Río de la Plata estuary and adjacent shelf waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61:1–13.
- Ghiold, J. 1979. Spine morphology and its significance in feeding and burrowing in the Sand Dollar, *Mellita quiquiesperforata* (Echinodermata: Echinoidea). *Bulletin of Marine Science* 29:481–490.
- Goodbody, I. 1960. The feeding mechanism in the sand dollar, *Mellita sexiesperforata* (Leske). *Biol. Bull* 119:80-86.
- Hewitt, J. E., Thrush, S. F., Legendre, P., Cummings, V. J., Norkko, A. 2002. Integrating heterogeneity across spatial scales : interactions between *Atrina zelandica* and benthic macrofauna. *Marine Ecology Progress Series* 239:115–128.
- Irwin, A. J., Finkel, Z. V., Schofield, O. M. E., Falkowski, P. G. 2006. Scaling-up from nutrient physiology to the size-structure of phytoplankton communities. *Journal of Plankton Research* 28(5):459-471.
- Jones, C. G., Lawton, J. H., Shachak, M. 1994. Organisms as Ecosystem Engineers. *Oikos* 69:373–386.
- Kristensen, E., Penha-Lopes, G., Delefosse, M., Valdemarsen, T., Quintana, C., Banta, G. 2012. What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. *Marine Ecology Progress Series* 446:285–302.
- Lohrer, A. M., Thrush, S. F., Gibbs, M. M. 2004. Bioturbators enhance ecosystem function through complex biogeochemical interactions. *Nature* 431:1092–1095.

- Lohrer, A. M., Chiaroni, L. D., Hewitt, J. E., Thrush, S. F. 2008. Biogenic disturbance determines invasion success in a subtidal soft-sediment system. *Ecology* 89:1299–307.
- Lohrer, A. M., Rodil, I. F., Townsend, M., Chiaroni, L. D., Hewitt, J. E., Thrush, S. F. 2013. Biogenic habitat transitions influence facilitation in a marine soft-sediment ecosystem. *Ecology* 94(1):136-145.
- Lorenzen, C. J. 1967. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrometric equations. *Limnology and Oceanography* 12:343-346.
- Mermillod-Blondin, F., Rosenberg, R. 2006. Ecosystem engineering: the impact of bioturbation on biogeochemical processes in marine and freshwater benthic habitats. *Aquatic Sciences* 68:434–442.
- Moens T., Vincx M. 1997. Observations of the feeding ecology of estuarine nematodes. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom* 77:211-227.
- Ólafsson, E., Elmgren, R., Papakosta, O. 1993. Effects of the deposit-feeding benthic bivalve *Macoma balthica* on meiobenthos. *Oecologia* 93:457-462.
- Ólafsson, E. 2003. Do macrofauna structure meiofauna assemblages in marine soft-bottoms? A review of experimental studies. *Vie Milieu* 53:249–265.
- Ólafsson, E., Ullberg, J., Arroyo, N. L. 2005. The clam *Macoma balthica* prevents in situ growth of microalgal mats: implications for meiofaunal assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 298:179-188.
- Oksanen, J., Blanchet, G. F., Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Wagner, H. 2011. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 1.17-7. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

- Passarelli, C., Hubas, C., Nicolas, S. A., Grange, J., Meziane, T. 2012. Surface adhesion of microphytobenthic biofilms is enhanced under *Hediste diversicolor* (O.F. Müller) trophic pressure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 438:52–60.
- Pinckney, J., Sandulli, R. 1990. Spatial autocorrelation analysis of meiofaunal and microalgal populations on a intertidal sandflat: scale linkage between consumers and resources. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 30:341-353.
- Pinckney, J. L., Carman, K. R., Lumsden, S. E., Hymel, S. N. 2003. Microalgal-meiofaunal trophic relationships in muddy intertidal estuarine sediments. *Aquatic Microbial Ecology* 31:99-108.
- Platt, H. M., Warwick, R. 1983. M. Free-living marine nematodes. Part I: British enoplids. *Synopses of the British fauna (new series)* 28.
- Platt, H. M., Warwick, R. M. 1988. Free-living marine nematodes. Part II: British chromadorids. *Synopses of the British fauna (new series)* 38.
- Reidenauer, J. A. 1989. Sand-dollar *Mellita quinquesperforata* (Leske) burrow trails: sites of hapacticoid disturbance and nematode attraction. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 130:223-235.
- Reise, K. 2002. Sediment mediated species interactions in coastal waters. *Journal of Sea Research* 48:127-141.
- Round, F. E., Crawford, R. M., Mann, D. G. 2000. The diatoms: biology and morphology of the genera. 4th. Ed. New York: Cambridge University Press, 747 p.
- Sandrini-Neto, L. Camargo, M. G. 2010. GAD (General ANOVA Design): an R package for ANOVA designs from the general principles. Available on CRAN.
- Somerfield, P. J., Warwick, R. M. 1996. Meiofauna in marine pollution monitoring programmes: a laboratory manual. MAFF Directorate of Fisheries Research Technical Series.

- Steyaert, M., Vanaverbeke, J., Vanreusel, A., Barranguet, C., Lucas, C., Vincx, M. 2003. The importance of fine-scale, vertical profiles in characterising nematode community structure. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 58:353–366.
- Strickland, J. H. D., Parsons, T. R. 1972. A practical handbook of seawater analysis (2nd ed). Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.
- Suguio, K. 1973. *Introdução à Sedimentologia*. USP, São Paulo.
- Telford, M., Mooi, R. 1986. Resource partitioning by Sand Dollar in carbonate and siliceous sediments: evidence from podial and particle dimensions. *Biological Bulletin* 171:197-207.
- Tenenbaum, D. R. 2004. *Phytoplankton atlas of Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brasil*. (1 ed.) London: Glo ballast Monograph ,134p.
- Tomas, C. R. 1997. *Identifying marine Phytoplankton*. 2th ed. Academic press: San Diego. 858p.
- Warwick, R. M., Platt, H. M., Somerfield, P. J. 1998. Free-living marine nematodes. Part III: monhysterids. *Synopses of the British fauna (new series)* 53.
- Wieser, W. 1953. Die Beziehung zwischen Mundhöhlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. *Arkiv för Zoologi* 26:439-494.

Considerações Finais

Na presente dissertação nos propusemos a elucidar os efeitos da bolacha-do-mar *E. emarginata* sobre a associação meiofaunal e microfitobêntica. Estudos descritivos são extremamente importantes para caracterizar e estruturar hipóteses preditivas de relevância que podem ser testadas em experimentos manipulativos em campo ou em laboratório (Underwood, 1997). Nesse sentido, a descrição dos padrões de variação espacial das associações contribuiu para a formulação das hipóteses a serem testadas no experimento em laboratório, em menor escala e excluindo a variação dos demais fatores ambientais.

Através da combinação destas distintas abordagens observamos que a resposta das associações bênticas aos efeitos da bolacha-do-mar *E. emarginata*, em certo grau, podem ser replicadas com sucesso em laboratório. Entretanto, a soma das partes não é igual ao todo e os efeitos bióticos mediados pela bolacha-do-mar que afetam o hidrodinâmismo, como por exemplo, alterações na microtopografia do substrato não puderam ser reproduzidos com fidedignidade. Dessa forma, estudos manipulativos em campo também são importantes, pois podem captar os efeitos do hidrodinâmismo local que dificilmente podem ser reproduzidos em laboratório.

Os efeitos de engenharia de ecossistema mediados pela bolacha-do-mar podem ser uma fonte importante de heterogeneidade ambiental contribuindo para a manutenção da biodiversidade bêntica, já as relações tróficas de *E. emarginata* com outros integrantes do compartimento bêntico não ficou clara através de nossos resultados e deve ser melhor estudada.

A importância dos efeitos indiretos em associações bênticas tem sido relatada com frequência na literatura (Reise, 2002; Ólafsson, 2003; Ólafsson et al., 2005; Meysman et al., 2006; Giere, 2009; Kirstensen et al., 2012), contudo, os resultados obtidos tem se mostrado muito variados, dificultando a definição da real importância dos processos tróficos e de engenharia de ecossistemas (Ólafsson, 2003; Giere, 2009). Dessa forma, mais estudos sobre o papel de espécies-chave dentro dos ecossistemas devem ser realizados para que possamos construir bases sólidas para os conceitos de engenharia de ecossistemas e de efeitos indiretos em redes complexas (Jones et al.,

1994; Ólafsson et al., 2003; Woodward et al., 2005; Giere, 2009; Braeckman et al., 2010).

Referências

BRAECKMAN, U.; PROVOOST, P.; GRIBSHOLT, B.; VAN GASBEKE, D.; e outros. Role of macrofauna functional traits and density in biogeochemical fluxes and bioturbation. **Marine Ecology Progress Series**, 399:173–186. 2010.

BRAECKMAN, U.; VAN COLEN, C.; SOETAERT, K.; VINCX, M.; VANAVERBEKE, J. Contrasting macrobenthic activities differentially affect nematode density and diversity in a shallow subtidal marine sediment. **Marine Ecology Progress Series**, 422:179-191. 2011.

GIERE, O. *Meiobenthology The Microscope Motile Fauna of Aquatic Sediments* 2nd edition. **Springer-Verlag**, 2009.

JONES, C. G.; LAWTON, J. H.; SHACHAK, M. Organisms as Ecosystem Engineers. **Oikos**, 69:373–386. 1994.

KRISTENSEN, E.; PENHA-LOPES, G.; DELEFOSSE, M.; VALDEMARSEN, T.; QUINTANA, C.; BANTA, G. What is bioturbation? The need for a precise definition for fauna in aquatic sciences. **Marine Ecology Progress Series**, 446:285–302. 2012.

MEYSMAN, F. J. R.; MIDELBURG, J. J.; HEIP, C. H. R. Bioturbation: a fresh look at Darwin's last idea. **Trends in ecology & evolution**, 21:688–95. 2006.

ÓLAFSSON, E. Do macrofauna structure meiofauna assemblages in marine soft-bottoms? A review of experimental studies. **Vie Milieu**, 53:249–265. 2003.

ÓLLAFSSON, E.; ULLBERG, J.; ARROYO, N. L. The clam *Macoma balthica* prevents in situ growth of microalgal mats: implications for meiofaunal assemblages. **Marine Ecology Progress Series**, 298:179-188. 2005.

REISE, K. Sediment mediated species interactions in coastal waters. **Journal of Sea Research**, 48:127-141. 2002.

UNDERWOOD, A. J.. *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. **Cambridge University Press**, 1997.

WOODWARD, G.; EBENMAN, B.; EMMERSON, M.; MONTOYA, J. M.; OLESEN, J. M.; VALIDO, A.; WARREN, P. H. Body size in ecological networks. **Trends in Ecology and Evolution**, 20(7):402-409. 2005.