

MICHELI CRISTINA THOMAS

**DISPERSÃO DE NEMATODA EM UM BAIXIO NÃO VEGETADO DA BAÍA DE
PARANAGUÁ (PARANÁ - BRASIL)**

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana

CURITIBA

2007

MICHELI CRISTINA THOMAS

**DISPERSÃO DE NEMATODA EM UM BAIXIO NÃO VEGETADO DA BAÍA DE
PARANAGUÁ (PARANÁ - BR)**

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana

CURITIBA

2007

AGRADECIMENTOS

Várias pessoas participaram na realização e finalização desse trabalho, as quais eu agradeço de coração. Um agradecimento especial vai as seguintes pessoas que estiveram presentes nos momentos mais difíceis e importantes desse trabalho:

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Lana, que me guiou nessa jornada científica e que nunca deixou de orientar, mostrar o melhor caminho a seguir, por mais difícil que fosse, e com muita paciência se esforçar para entender minha lógica nem sempre muito lógica. Prof. Dr. Sérgio Netto, “o cara” dos Nematoda, que me mostrou a beleza e o prazer de entender um pouco mais sobre a vida secreta desses pequenos invertebrados. A Prof. Dra. Rosana Rocha por aceitar ser banca da minha dissertação e contribuir com ótimas sugestões.

A todos do Laboratório de Bentos, principalmente os que acreditaram e que estiveram comigo até o final dos intermináveis pilotos: Maikon, sempre disposto a ajudar com ótimas idéias para o desenho amostral e que garantiu a diversão no campo, Fernando, nosso “Professor Pardal”, Daniel, que conhece minhas dificuldades e que ajudou muito nos momentos finais, Verônica, companheira fiel do laboratório, Leo Sandrini, pelas dicas metodológicas, Tice, Marco, Bruno, Lua, pelo auxílio no campo e Cinthya, meu exemplo de dedicação e minha amiga querida. Obrigada a todos!

Um agradecimento também para Aninha das Praias, Laura e a Marcela, meninas meigas que me tranqüilizaram e estiveram sempre presentes com boas energias, Clécio meu cineasta favorito, Marcelo, pelas tentativas de fazer a topografia até o último momento e a todos que se sentem felizes por mim!

Todos os funcionários e professores do CEM que tornaram possível esse trabalho através da infra-estrutura e auxílio nas coletas!

Aos meus amados pais, que, mesmo sem compreenderem direito a minha profissão, nunca, jamais, deixaram de me apoiar e acreditar. A eles, tenho a vida para agradecer...

Meu companheiro fiel, Flavinho, do sorriso mais lindo, que tanto me alegra e faz de um dia nublado o mais ensolarado de todos... ;-)

“Bom mesmo é ir a luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e vencer com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve e A VIDA é muito para ser insignificante”.

Charles Chaplin

RESUMO

Este trabalho avaliou a eficácia de corantes vitais para Nematoda, essenciais para o experimento de campo, que teve como objetivo a análise dos processos de dispersão dos Nematoda, tanto no sedimento como na coluna d'água, em um baio não vegetado de uma região estuarina subtropical (Baía de Paranaguá). Os corantes testados foram Azul de Bromotimol (0,2%), Azul de Metileno (0,05%), Azul de Toluidina (0,025%), Azul Tripiano (0,05%), Vermelho Neutro (0,01%) e Violeta de Metila (0,2%). Com três horas de aplicação, a eficiência de coloração do Azul de Metileno foi de 80 % e do Vermelho Neutro, de 100% para os dois tratamentos. Estabelecida a adequação do Vermelho Neutro como corante vital, foram empiricamente estimados a concentração e volume de corante necessário para corar os organismos no sedimento. Com eficácia de 60 % de organismos corados, a concentração de 0,1% e volume de 20 ml do Vermelho Neutro foram considerados ideais para corar Nematoda no sedimento sem alterar seu comportamento e sinais vitais, condições determinantes para a execução de experimentos. O experimento foi replicado em duas áreas de aproximadamente 3 por 3 m. Na porção central da área experimental foi enterrado um corer com 30 cm de diâmetro e 30 cm de altura e aplicado o corante Vermelho Neutro. A pluma vermelha do corante, após a maré enchente, foi estratificada em: estrato considerado próximo (estendendo-se até 60 cm do ponto corado), estrato médio (estendendo-se de 60 cm a 1,40 m) e estrato distante (estendendo-se de 1,40 a 1,80 m). Em cada estrato foram tomadas aleatoriamente 5 amostras para a análise da dispersão de Nematoda no sedimento. Para a análise da ressuspensão, redes com 10 cm de diâmetro de boca e 30 cm de comprimento, foram dispostas na coluna d'água, nos limites do estrato próximo com o médio e do estrato médio com o distante, a 5 cm (rede baixa) e 10 cm de altura (rede alta) do sedimento. As taxas de dispersão foram expressas pela relação entre o número de Nematoda corados recapturados e a densidade média no ambiente. Os dominantes primários foram *Comesa* e *Terschellingia longicaudata*. Os dominantes secundários foram *Microlaimus*, *Metachromadora*, *Sabatieria* e *Viscosia*. Dos 23 gêneros identificados, apenas 4 (*Terschellingia*, *Metachromadora*, *Sabatieria* e *Viscosia*) foram recapturados corados no sedimento e apenas *Sabatieria* não foi recapturado nas redes. A análise conjunta das taxas de dispersão no sedimento e nas redes evidenciou que correntes de maré com velocidade média de 9 cm/s foram suficientes para ressuspender principalmente os organismos mais abundantes na associação local de Nematoda, dispersando-os a distâncias maiores do que um metro no sentido da corrente durante um único evento de enchente. O presente estudo enfatizou a importância das características morfológicas e dos modos de vida dos Nematoda na determinação dos processos de dispersão passiva. A morfologia do corpo e as estratégias de alimentação e movimentação definem quais são os gêneros mais suscetíveis de ressuspensão por erosão e quais tendem a permanecer no substrato.

Palavras chaves: corantes vitais, Nematoda, Vermelho Neutro, dispersão, entrema

ABSTRACT

We evaluate herein the efficacy of vital stains for free-living Nematoda in experimental analysis of dispersion rates. This took place in the sediment and in the water column, in an unvegetated tidal flat of Paranaguá Bay (S Brazil). We also tested Bromothymol Blue (0.2%), Methylene Blue (0.5%), Toluidine Blue (0.25%), Trypane Blue (0.05%), Neutral Red (0.01%) and Methyl Violet (0.2) in the laboratory. After three hours of exposure, Methylene Blue had 80% efficiency and Neutral Red had 100% efficiency. The concentration of 0.1% in 20 ml was the most adequate to stain nematodes in the sediment, without altering their behaviour. This work is an Vital Neutral Red staining was applied to the sediment inside 30-cm wide 30 cm-high PVC corers located in the center of two 50-m apart replicate areas of 3 per 3 m. The ebb-tide formed red plume was stratified in near (up to 60 cm from the corers), middle (from 60 to 140 cm) and distant (from 140 to 180 cm) strata. Five sediment replicates were randomly taken in each strata and checked for stained nematodes. Small 10-cm wide 30 cm-long sampling nets were installed at 5 and 10 cm from the water-sediment interface, and at 60 and 140 cm from the stained corers. Dispersion rates were expressed as the number of stained captured nematodes in relation to average densities of nematodes at the stained corers sites. The local association was numerically dominated by the nematode genera Comesa, Terschellingia, Microlaimus, Metachromadora, Sabatieria and Viscosia. Stained individuals of only 4 (Terschellingia, Metachromadora, Sabatieria and Viscosia) of the 23 identified genera were recaptured in the sediment. Only Sabatieria was not recaptured in the nets. Tidal currents with average velocities of 9 cm/s were able to resuspend the numerically dominant nematode taxa, dispersing them to distances up to 180 cm from the stained corers during a single tidal event. The experimental approach stresses that, besides local hydrodynamics, the morphology and life styles of nematodes themselves are determinant of the dispersal processes, since they define which genera are prone to be resuspended and which ones tend to stay in the sediment during ebb- or flow-tides.

Key-words: vital stain, Nematoda, Neutral Red, dispersal, tidal flat

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.1 - Representação do microcosmo utilizado para teste do corante Vermelho Neutro in natura no sedimento. A. Sedimento exposto, simulando situação de baixa-mar. B. Sedimento exposto com o corer utilizado para aplicação do Vermelho Neutro. C. Aquário simulando situação de maré cheia e com o aerador. 27
- FIGURA 1.2 - Colorações assumidas por Nematoda expostos aos diferentes corantes vitais. 30
- FIGURA 1.3 - Nematoda corados por Vermelho Neutro nos testes *in situ* no microcosmo de laboratório. 33
- FIGURA 2.1 - Complexo estuarino de Paranaguá, com o setor sub-estuário da Cotinga, onde se encontra o baixio dos Papagaios, assinalado em vermelho, local de realização do experimento (Fonte: Noernberg *et. al.*, 2004). 49
- FIGURA 2.2 - Baixio dos Papagaios onde foi realizado o experimento com o croqui do desenho amostral do experimento de dispersão (Fonte da imagem: Laboratório de Geoprocessamento do Centro de Estudos do Mar). 53
- FIGURA 2.3 - Variação da maré no dia do experimento, com indicação da hora de início do experimento e da maré enchente. 58
- FIGURA 2.4 - Taxas de dispersão absoluta (média e erro padrão da densidade de organismos recapturados corados em 10 cm²) de Nematoda corados recapturados nos estratos (**próximo, médio e distante**) da pluma após um evento de maré enchente. 62
- FIGURA 2.5 - Taxas de dispersão absoluta (média da densidade e erro) para gêneros de Nematoda corados recapturados nos estratos (**próximo, médio e distante**) da pluma após um evento de maré enchente. 64
- FIGURA 2.6 - Taxas de dispersão relativa (média e erro padrão) de total de Nematoda corados recapturados nos três estratos da pluma de dispersão (**próximo, médio e distante**), após a maré enchente. 65
- FIGURA. 2.7 - Taxas de dispersão relativa (média e erro padrão) para gêneros de Nematoda nos três estratos da pluma de dispersão (**próximo, médio e distante**), após a maré enchente. 66

FIGURA 2.8 - Taxas de dispersão relativa (média e erro padrão) para grupos tróficos de Nematoda nos três estratos da pluma de dispersão (**próximo, médio e distante**; grupos tróficos: **2A**- microfitobentófagos; **2B**-predadores facultativos; **1B**- detritívoros **1A**-comedores de depósitos seletivos)..... 68

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1.1 - Concentrações iniciais e pós-diluição dos corantes utilizados para os testes com Nematoda nos dois tratamentos. 24
- TABELA 1.2 - Sumário dos testes experimentais com os corantes, indicando o número de Nematoda sobreviventes e corados, para cada tratamento e em cada tempo após a adição dos corantes, além da eficiência de cada corante testado (T0- momento da aplicação do corante; T1- 30 min.; T2- 60 min.; T3- 180 min.; A- Tratamento A e B- Tratamento B)..... 29
- TABELA 2.1 - Média granulométrica e grau de seleção do sedimento nas áreas experimentais I e II 58
- TABELA 2.2 - Medidas da variação da altura da maré e direção do fluxômetro, marcados a cada 5 minutos. 59
- TABELA 2.3 - Famílias, gêneros, grupos tróficos e densidades médias de Nematoda (por 5 cm²) nas áreas experimentais I e II (grupos tróficos: 2B- onívoros/predadores; 2A- microfitobentófagos; 1B- comedores de depósitos não seletivos e 1A-comedores de depósitos seletivos). 61
- TABELA 2.4 - Taxas de dispersão absoluta e relativa dos gêneros, grupos tróficos e Nematoda (por 10 cm²) nas redes posicionadas na coluna d'água (grupos tróficos: **2B**- predadores facultativos; **2A**- microfitobentófagos; **1B**- detritívoros e **1A**-comedores de depósitos seletivos).....57

PREFÁCIO

A dispersão dos organismos da meiofauna, principalmente os Nematoda, depende de uma série de fatores ecológicos, como bioturbação, presença de estruturas vegetais e hidrodinâmica local (PALMER, 1988; FLEEGER, 1995; ULLBERG, 2003). Por outro lado, dentro de uma perspectiva evolutiva, a capacidade de dispersão depende também da morfologia e da história de vida dos próprios animais.

Os habitats bênticos sempre foram tidos como locais de origem desses grupos, que vivem, em sua maioria, diretamente associados aos fundos marinhos (BOADEN, 1989). No entanto, suas atuais histórias de vida sugerem que tenham passado pelo habitat pelágico em algum momento da sua história evolutiva (WRAY, 1995). Segundo WESTHEIDE (1987), representantes intersticiais dos Annelida e Crustacea teriam tido origem a partir da progênese de organismos epibênticos da macrofauna, que apresentavam desenvolvimento indireto, com uma fase larval planctônica. Nematoda marinhos de vida livre também tiveram sua origem em habitats bênticos, mas sua história de vida atual não contemplou o aparecimento de larvas planctônicas. Neste sentido, a dispersão destes organismos se dá basicamente através de adultos ou juvenis com vida bêntica.

Os últimos ancestrais comuns dos protostômios/deuterostômios e Ecdysozoa/Lophotrocozoa podem ter tido desenvolvimento direto, como postulado por muitos autores (SALVINI-PLAWEN, 1978; BARNES, 1980; GRELL et al., 1980 e AX, 1987). Embriões fósseis do Neoproterozóico têm um tamanho muito reduzido, o que sugere desenvolvimento direto (XIAO et al., 1998). Visto que a fecundidade é necessariamente baixa em metazoários pequenos, a planctotrofia torna-se uma alternativa de desenvolvimento arriscada, e modos não-planctotróficos, especialmente o desenvolvimento direto, são favorecidos em pequenos organismos meiofaunais.

Neste contexto, o conhecimento do tipo de desenvolvimento dos organismos é essencial, pois a presença ou a ausência de estágios larvais podem determinar a capacidade e as formas de dispersão prevalentes. Os Nematoda marinhos de vida livre não apresentam estágio pelágico larval como meio de dispersão, observado na maioria das espécies de invertebrados macrobênticos (CHANDLER ; FLEEGER, 1983).

Por serem reconhecidamente maus nadadores (FEGLEY, 1985), a capacidade de dispersão dos Nematoda era considerada limitada (FLEEGER et al., 1984). No entanto, trabalhos mais recentes mostraram que estes organismos podem ser ressuspensos e dispersos na coluna d'água (PALMER, 1988; FLEEGER, 1995; ULLBERG, 2003), onde sua presença e abundância são controladas por sua morfologia e fisiologia. (WARWICK, 1971; TIETJEN, 1976; ULLBERG, 2003). Neste sentido, foi justamente o desenvolvimento de estratégias adaptativas, tanto morfológicas, fisiológicas e comportamentais, que permitiu aos adultos utilizar a coluna d'água como possível meio de dispersão, possibilitando a colonização de novas áreas.

A ressuspensão deve ser vista, portanto, como um mecanismo de dispersão responsável pela colonização de novos ambientes em áreas entremarés. A importância relativa de processos ativos e passivos parece depender da hidrodinâmica prevalente. Em ambientes mais turbulentos, densidades médias iniciais podem ser restabelecidas após um único ciclo de maré, sugerindo que os processos de dispersão em áreas entremarés são dominados pelo transporte passivo de Nematoda, com a composição de espécies na coluna d'água e no sedimento sendo muito similares (BELL; SHERMAN, 1980; COMMITO; TITA, 2002). Por outro lado, nos locais em que as correntes não são fortes o suficiente para ressuspender o sedimento, os movimentos ativos de Nematoda podem ser mais importantes, considerando que a composição de espécies em áreas recolonizadas tende a ser diferente das áreas originais (ALONGI et al., 1983; ÓLAFSSON; MOORE, 1992).

Apesar da existência de uma extensa literatura, há ainda lacunas no conhecimento dos processos de dispersão da meiofauna, principalmente dos Nematoda. Isso se deve em parte às dificuldades metodológicas para o estudo *in situ* de indivíduos tão pequenos. Neste sentido, há uma necessidade corrente de desenvolvimento de novas metodologias, acessíveis e mais confiáveis, para estudos de dispersão.

Com o objetivo de analisar os processos de dispersão dos Nematoda em um baio não vegetado de uma região estuarina subtropical, foi conduzido um experimento com marcação de Nematoda *in situ*, recapturados após um evento de maré enchente no próprio sedimento e coluna d' água. Para a marcação dos animais, foi necessário

desenvolver uma metodologia utilizando um corante vital capaz de atuar de forma eficaz tanto em campo como em laboratório.

O capítulo I desta dissertação teve como objetivo estabelecer uma metodologia confiável e consistente para a marcação de Nematoda vivos, testando uma série de corantes considerados vitais. Estabelecida a eficácia do melhor corante, foram estimados a concentração e o volume adequado para coloração dos animais *in natura*, em experimentos de microcosmos de laboratório.

O capítulo II desenvolveu uma abordagem experimental dos processos de dispersão de Nematoda em campo, na tentativa de responder uma série de questões inter-relacionadas:

- 1) A dispersão de Nematoda para locais distantes do ponto de origem depende mais da ressuspensão na coluna d'água ou de deslocamento infaunal horizontal, ou seja, no próprio sedimento?

- 2) Prevalendo a ressuspensão de Nematoda como principal vetor de distribuição, a capacidade de dispersão dos gêneros está relacionada com os comportamentos de alimentação e movimentação, condicionados pela morfologia do corpo (nadador ou não nadador, letárgico ou ativo)?

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONGI, D. M.; BOESH, D. F.; DIAZ, R. J. (1983). Colonization of meiobenthos in oil-contaminated subtidal sands in the lower Chesapeake Bay. **Mar Biol**, n. 72, p. 325-335.
- AX, P. (1987). The Phylogenetic System. London: Wiley.
- BARNES, R. D. (1980). Invertebrate Zoology. 4. ed. Saunders, Philadelphia: Ed. W. B.
- BELL, S. S.; SHERMAN, K. S. (1980). Tidal resuspension as a mechanism for meiofauna dispersion. **Mar. Ecol. Prog. Ser**, n. 3, p. 245-249.
- BOADEN, P. J. S. (1989). Meiofauna and the origins of the metazoa. **Zool. J. Linnean Soc.** n. 96, p. 217-227.
- CHANDLER, G. T.; FLEEGER, J. W. (1983). Meiofaunal colonization of azoic estuarine sediment in Louisiana: mechanisms of dispersal. **J. exp. mar. Biol**, n. 69, p.175-188.
- COMMITO, J. A., TITA, G. (2002). Differential dispersal rates in an intertidal meiofauna assemblage. **J. exp. mar. Biol**, n. 268, p. 237-256.
- FEGLEY, S. R. (1985). Experimental studies on the erosion of meiofauna from soft-substrates by currents and waves. **Diss Abstr Int Bsci Eng**, n. 46, p. 174.
- FLEEGER, J. W.; CHANDLER, G. T.; FITZHUGH, G. R.; PHILLIPS, F. E. (1984). Effects of tidal currents on meiofauna densities in vegetated salt marsh sediments. **Mar Ecol Prog Ser**, n. 19, p. 49-53.
- FLEEGER, J. W.; YUND, P. O.; SUN, B. (1995). Active and passive processes associated with intertidal settlement and post-settlement dispersal of suspended meiobenthic copepods. **J. Mar. Res**, n.53, p. 609-645.
- GRELL, K. G.; GRUNER, H. E.; KILIAN, E. F. EINFUHRUNG. (1980). In H. E. Gruner (ed.) Lehrbuch der Speziellen Zoologie. Jena: Fischer, n. 1, p. 15-156.

HALANYCH, K. M.; BACHELLER, J. D.; AGUINALDO, A. M. A.; LIVA, S. M.; HILLIS, D. M.; LAKE, J. A. (1995). Evidence from 18S ribosomal DNA that the Lophophorates are protostome animals. **Science**, n. 267, p. 1641-1643.

HARDY, A. C. (1953). Some problems of pelagic life. In: Marshall SM, Orr AP (eds) *Essays in marine biology*, Edinburgh: Oliver and Boyd, p. 101-121.

ÓLAFSSON, E.; MOORE, C. G. (1992). Effects of macroepifauna on developing nematodes and harpacticoid assemblages in a subtidal muddy habitat. **Mar Ecol Prog Ser**, n. 84, p. 161-171.

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

SALVINI-PLAWEN, L. von. (1978). On the origin and evolution of the lower Metazoa. **Z. Zool. Syst. Evolutionsforsch**, n. 16, p. 40-88.

TIETJEN, J. H. (1976). Distribution and species diversity of deep-sea nematodes off North Carolina. **Deep-Sea Res**, n. 23, p. 755-768.

ULLBERG, J.; ÓLAFSSON, E. (2003). Effects of biological disturbance by *Monoporeia affinis* (Amphipoda) on small-scale migration of marine nematodes in lowenergy soft sediments. **Marine Biology**, n. 143, p. 867-874.

WARWICK, R. M. (1971). Nematode associations in the Exe estuary. **J Mar Biol Assoc UK**, n. 51, p. 439-454.

WESTHEIDE, W. (1987). Progenesis as a principle in meiofauna evolution. **J Nat Hist.** n. 21, p. 843-54.

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

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

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: O USO DE CORANTES VITAIS COMO UMA FERRAMENTA PARA EXPERIMENTOS DE CAMPO E LABORATÓRIO ENVOLVENDO NEMATODA. 17	
INTRODUÇÃO	19
OBJETIVO GERAL.....	19
METODOLOGIA	21
TESTE DOS CORANTES VITAIS EM NEMATODA	21
TESTE DO CORANTE VITAL VERMELHO NEUTRO NO SEDIMENTO.....	22
RESULTADOS	28
TESTE DOS CORANTES VITAIS	28
TESTE DO CORANTE VERMELHO NEUTRO NO SEDIMENTO.....	31
DISCUSSÃO	34
TESTE DOS CORANTES VITAIS EM NEMATODA	34
TESTE DO CORANTE VITAL VERMELHO NEUTRO NO SEDIMENTO.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
CAPÍTULO II – PROCESSOS DE DISPERSÃO DE NEMATODA EM UM BAIXIO NÃO VEGETADO DA BAÍA DE PARANAGUÁ, PARANÁ.	42
INTRODUÇÃO	44
OBJETIVO GERAL.....	41
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
METODOLOGIA	48
ÁREA DE ESTUDO.....	48
PROCEDIMENTOS DE CAMPO	49
<i>Amostras para caracterização taxonômica e biológica da comunidade local de nematoda</i>	54
<i>Amostras do experimento de dispersão no sedimento</i>	55
<i>Amostras do experimento de dispersão na coluna d'água</i>	55
PROCESSAMENTO DOS DADOS	56
<i>Taxas de dispersão</i>	56
RESULTADOS	58
CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DA ÁREA EXPERIMENTAL E	
COMPORTAMENTO DA MARÉ	58
A ASSOCIAÇÃO LOCAL DE NEMATODA.....	59
TAXAS DE DISPERSÃO ABSOLUTA DE NEMATODA.....	62
TAXA DE DISPERSÃO ABSOLUTA DOS GÊNEROS DE NEMATODA.....	63
TAXAS DE DISPERSÃO RELATIVA DE NEMATODA.....	65
TAXA DE DISPERSÃO RELATIVA DOS GÊNEROS DE NEMATODA.....	66

TAXAS DE DISPERSÃO DOS DIFERENTES GRUPOS TRÓFICOS	67
DISCUSSÃO	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

CAPÍTULO I: O USO DE CORANTES VITAIS COMO UMA FERRAMENTA PARA EXPERIMENTOS DE CAMPO E LABORATÓRIO ENVOLVENDO NEMATODA

RESUMO

Este trabalho avaliou a eficácia de corantes vitais para Nematoda, essenciais para estudos de campo ou laboratório que exijam a observação de animais vivos. Os corantes testados foram Azul de Bromotimol (0,2%), Azul de Metileno (0,05%), Azul de Toluidina (0,025%), Azul Tripano (0,05%), Vermelho Neutro (0,01%) e Violeta de Metila (0,2%). Os animais foram separados em placas com 1 ml de água salgada e divididos em grupo controle, tratamento A com 0,5 ml e tratamento B com 1,0 ml do corante. Para avaliar os efeitos dos corantes, o comportamento dos Nematoda de cada tratamento foi comparado com aqueles do grupo controle. Observações sistemáticas da coloração e dos sinais vitais dos animais foram feitas em placas de Petri no momento da aplicação e 30, 60 e 180 minutos após a aplicação dos corantes. Os testes mostraram que Violeta de Metila, Azul de Toluidina, Azul Tripano e Azul de Bromotimol não se comportam como corantes vitais para Nematoda, em nenhuma das concentrações testadas, já que houve mortalidade total após uma hora de exposição. Com três horas de aplicação, a eficiência de coloração do Azul de Metileno foi de 80 % e do Vermelho Neutro, de 100% para os dois tratamentos. O Vermelho Neutro, que atua corando inclusões citoplasmáticas, sem dificultar a visualização das demais estruturas internas, mostrou-se particularmente adequado para a coloração de Nematoda de vida livre. Estabelecida a adequação do Vermelho Neutro como corante vital, foram empiricamente estimados a concentração e volume de corante necessários para corar os organismos no sedimento. Foram testadas concentrações iniciais de 0,05%, 0,075 % e 0,1% e volumes de 12 e 20 ml para um corer de 5 cm de diâmetro. A eficiência da concentração do corante Vermelho Neutro foi calculada pela relação percentual entre o número de Nematoda vivos e corados sobre o total de animais testados, para cada tratamento. Houve uma maior eficiência com o aumento da concentração e do volume do corante. Com eficácia de 60 % de organismos corados, a concentração de 0,1% e volume de 20 ml do Vermelho Neutro foram considerados ideais para corar Nematoda no sedimento sem alterar seu comportamento e sinais vitais, condições determinantes para a execução de experimentos com organismos vivos.

Palavras chaves: corantes vitais, Nematoda, Vermelho Neutro.

ABSTRACT

We evaluate herein the efficacy of vital stains for free-living Nematoda. Staining agents are essential for ecological studies in the field or laboratory when alive animals must be observed. We tested Bromothymol Blue (0.2%), Methylene Blue (0.5%), Toluidine Blue (0.25%), Trypane Blue (0.05%), Neutral Red (0.01%) and Methyl Violet (0.2%). Animals were separated into Petri dishes with 1 ml salt water, divided into a control group, and two treatments – one with 0.5 ml and one with 1.0 ml of each stain. To test the effects of the stain, behavior of the animals in the two treatments were compared to that of the control. Observations began immediately after addition of the stains and were repeated 30, 60 and 180 minutes thereafter. Methyl Violet, Toluidine Blue, Trypane Blue and Bromothymol Blue are not vital stains for Nematodes due to high mortality after one hour exposure. After three hours of exposure, Methylene Blue had 80% efficiency and Neutral Red had 100% efficiency, in both treatments. Neutral Red, that acts by staining cytoplasmic inclusions without interfering with other structures, proved to be particularly useful for the coloration of free-living nematodes. The ideal concentration and volumes of Neutral Red for staining alive animals in the sediment were empirically estimated. Initial concentrations of 0.05%, 0.075 % e 0.1% and volumes of 12 e 20 ml were tested in a 5-cm wide corer. Staining efficacy increased with higher solution concentrations and volumes. The concentration of 0.1% in 20 ml was the most adequate to stain nematodes in the sediment, without altering their behaviour.

Key-words: vital stain, Nematoda, Neutral Red,

INTRODUÇÃO

Devido ao seu pequeno tamanho e características de vida, animais da meiofauna, como Nematoda e Copepoda, são particularmente apropriados para bioensaios de laboratório (SOMERFIELD et al., 2005) ou experimentos de campo (AUSTEN ; SOMERFIELD, 1997 e SCHRATZBETJER et al., 2000).

Duas técnicas de marcação têm sido utilizadas para o estudo da biologia e comportamento destes pequenos organismos. De um lado, técnicas indiretas com o uso de marcadores radioativos (DE NIRO; EPSTEIN, 1978 e RAUI et al., 1983) ou fluorescentes (EPSTEINS; SHIARIS, 1992) foram aplicadas para estudos de alimentação de Nematoda e Protozoa, respectivamente. Um importante desenvolvimento neste contexto foi o uso de sedimentos corados com DTAF (Diclorotrianizilaminofluorecina), que marca a microbiota livre e aquela aderida aos grãos de sedimento (STARINK et al., 1994 e HAMELS et al., 2001). Através da visualização das partículas coradas no tubo digestivo dos Nematoda, essa metodologia propicia a real estimativa do tamanho de partícula consumida. Por outro lado, técnicas convencionais de coloração são aplicadas para facilitar o trabalho de extração e recuperação de organismos, geralmente após fixação. Por exemplo, após a fixação com formol a 4 %, os Nematoda ficam bem evidentes com o corante Rosa de Bengala, o que facilita sua extração do sedimento. O Rosa de Bengala tem a propriedade de corar o protoplasma, discriminando as espécies que estavam vivas no momento da coleta (WALTON, 1952).

Abordagens experimentais recentes têm procurado avaliar a capacidade de dispersão destes organismos, seja por mecanismos ativos ou passivos (ULLBERG, 2003). Neste contexto, corantes vitais seriam um pré-requisito para a marcação e posterior reconhecimento de comunidades meiofaunais ou de indivíduos isolados em experimentos de campo ou laboratório.

Os corantes vitais são introduzidos nos organismos e se acumulam em tecidos ou porções da célula viva, sem necessariamente exercer ação nociva, embora possam ser eventualmente tóxicos, dependendo das concentrações utilizadas. Para evitar possíveis danos aos organismos, corantes vitais costumam ser usados em soluções

muito diluídas, na faixa de 1:5.000 a 1:500.000 (HOWEY, 2000). Essas reações não são colorações propriamente ditas, pois o que ocorre é uma acumulação do corante em porções especiais da célula, em função da carga elétrica da molécula corante. Os corantes eletro-positivos são básicos e os eletro-negativos são ácidos, com os primeiros evidenciando estruturas eletro-negativas e os segundos, estruturas eletro-positivas (SANDERSON, 1994).

Corantes vitais têm sido tradicionalmente usados para estudos da biologia e comportamento de vários grupos de metazoários inferiores. Por exemplo, MAIA (1979) utilizou o Vermelho Neutro para corar protozoários e acompanhar os movimentos de pseudópodes e a ciclose. No entanto, são virtualmente inexistentes informações sobre corantes vitais apropriados para Nematoda, Copepoda e outros grupos meiofaunais.

O objetivo geral desse estudo foi estabelecer uma metodologia confiável e consistente para a marcação de Nematoda vivos, testando uma série de corantes considerados vitais. Definido o corante foram realizados experimentos de microcosmos, com três horas de duração (período de meia maré em um regime semi-diurno), que procuraram avaliar a concentração e volume de corante necessários para corar Nematoda no sedimento, sem alterações dos sinais vitais e principalmente dos movimentos de locomoção. Este é um pré-requisito essencial para quaisquer experimentos de campo ou laboratório que exijam a identificação e recuperação de organismos vivos, após sua marcação inicial.

METODOLOGIA

TESTE DOS CORANTES VITAIS EM NEMATODA

Os corantes testados foram Azul de Bromotimol, Azul de Metileno, Azul de Toluidina, Azul Tripano, Vermelho Neutro e Violeta de Metila. As concentrações iniciais utilizadas para cada corante foram determinadas a partir dos protocolos histológicos usuais envolvendo corantes vitais para outros organismos (BEHMER, 1976).

O Violeta de Metila (Violeta de Genciana) é um corante básico. É o ingrediente ativo na coloração de Gram, utilizada para a identificação de bactérias. É metacromático e pode ser utilizado para destacar o amido e substâncias similares. O Azul de Bromotimol, utilizado para fins histológicos, age como ácido fraco em solução e, portanto pode se apresentar na forma de ácido ou base, que aparecem respectivamente com a coloração amarela ou azul e verde em soluções neutras. O Azul de Metileno é um corante básico derivado da anilina. Cora os núcleos de azul e pode ser usado para realçar mucilagens, cartilagens e células de defesa. Outro corante básico derivado da anilina é o Azul de Toluidina. É também metacromático, evidenciando núcleos e grânulos de mastócitos (LLEWELLY, B., <http://stainsfile.info/StainsFile/index.html>). O corante básico Vermelho Neutro atua em células vivas, atravessando a membrana plasmática por endocitose de fase fluída, e sendo protonado nos lisossomas e endossomas que são ácidos, o que proporciona a coloração vermelha (CHU *et al.*, 2002). O Azul Tripano é usado comumente para distinguir células viáveis de não viáveis (LLEWELLY, B., <http://stainsfile.info/StainsFile/index.html>)

Os Nematoda utilizados nos testes foram coletados em setembro de 2005 na Gamboa Perequê (Pontal do Paraná, Paraná, Brasil) e mantidos vivos em água do próprio ambiente no Laboratório de Bentos do Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná. A metodologia utilizada para separação dos animais vivos foi a elutriação do sedimento com água salgada e posterior lavagem através de peneira de 63 μ . O material retido foi analisado sob lupa estereoscópica e os Nematoda capturados com auxílio de uma micropipeta.

Os animais foram distribuídos em placas com 1 ml de água salgada e divididos em grupo controle (sem aplicação de corante), tratamento A, com 0,5 ml de cada corante testado e tratamento B, com 1,0 ml do corante. A diluição decorrente da aplicação dos corantes em 1 ml de água salgada foi realizada utilizando a fórmula $C_1V_1 = C_2V_2$, onde C_1 , corresponde à concentração inicial do corante e V_1 ao volume inicial. Após a diluição nas placas, C_2 e V_2 representam a concentração e o volume finais (Tabela 1.1).

Foram utilizados cinco espécimes para cada tratamento. O baixo número de indivíduos foi devido à inexperiência inicial com o manuseio e manutenção de organismos vivos. Não foi possível identificá-los ou mesmo reconhecer eventuais morfotipos, pois as técnicas usuais de identificação são necessariamente agressivas e exigem a anestesia ou sacrifício dos animais.

Para avaliar os efeitos dos corantes, o comportamento dos Nematoda de cada tratamento foi comparado com aqueles do grupo controle. Os movimentos dos Nematoda são muito diversificados, alternando pulsos de atividade com períodos em que são mais lentos. Normalmente são propulsões ondulatórias, mas existem exceções como saltos, além de movimentos reptantes ou escavadores (HIGGINS, 1988). Observações sistemáticas da coloração e dos sinais vitais dos animais (padrões de movimentação e eventualmente alimentação) foram feitas em placas de Petri no momento da aplicação e 30, 60 e 180 minutos após a aplicação dos corantes.

A eficiência da concentração dos corantes testados foi calculada pela relação percentual entre o número de Nematoda vivos e corados sobre o total de animais testados, para cada tratamento.

TESTE DO CORANTE VITAL VERMELHO NEUTRO NO SEDIMENTO

Estabelecida a eficácia do corante vital, foram estimados a concentração e o volume adequados para coloração dos animais *in natura*, em experimentos de microcosmos de laboratório.

Os experimentos foram realizados no laboratório de Bentos, do Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná, durante os meses de outubro,

novembro e dezembro de 2005. Foram utilizadas amostras de sedimento, com as comunidades meiofaunais naturais, da Gamboa do Perequê, próxima ao Centro de Estudos do Mar. Os microcosmos foram mantidos em funcionamento durante 5 dias.

TABELA 1.1 - Concentrações iniciais e pós-diluição dos corantes utilizados para os testes com Nematoda nos dois tratamentos.

Corantes	Azul de Metileno		Azul de Toluidina		Azul Tripano		Vermelho Neutro		Violeta de Metil		Azul de Bromotimol	
	inicial	pós-diluição	inicial	pós-diluição	inicial	pós-diluição	inicial	pós-diluição	inicial	pós-diluição	inicial	pós-diluição
A (0,5 ml)	0,05%	0,016%	0,025 %	0,008%	0,05%	0,016%	0,01%	0,003%	0,2%	0,06%	0,2%	0,06%
B (1,0 ml)	0,05%	0,025%	0,025 %	0,0125%	0,05%	0,025%	0,01%	0,005%	0,2%	0,1%	0,2%	0,1%

Microcosmos são definidos como experimentos de pequeno porte caracterizado por um modelo simplificado do ecossistema onde as variáveis ambientais podem ser controladas (SCHRATZBERGER ; WARWICK, 1998).

Uma série de rotinas para montagem do experimento foi testada com a finalidade de minimizar as alterações das condições físico-químicas do ambiente e a estrutura original da comunidade meiofaunal.

Foram testados dois tamanhos de aquários, um maior, com 50 cm de comprimento, 20 cm de largura e 30 cm de altura, com capacidade de aproximadamente 30 litros e um menor com, 21 cm de comprimento, 12 cm de largura por 12 cm de altura e com volume de aproximadamente 2 litros. O tamanho do aquário deve ser apropriado para atender os objetivos propostos, porém aquários de tamanho pequeno são mais fáceis de controlar. Foi escolhido e utilizado para os experimentos o aquário de menor tamanho que apresentou melhor estabilização (Figura 1.1A)

Foi adotada uma metodologia específica de coleta de sedimento para o experimento para evitar que a camada superficial oxigenada não se misturasse com as camadas inferiores. Para a retirada do sedimento do campo foi utilizada uma placa de fórmica com as mesmas dimensões do aquário, enterrada paralelamente à superfície a 5 cm de profundidade. O sedimento delimitado pela placa foi cuidadosamente removido e colocado no fundo do aquário, para evitar alterações na estratificação vertical.

A água do aquário foi coletada no mesmo local, sem filtração. A oxigenação foi realizada com um aerador e mantida durante todo o experimento (Figura 1.1C).

As principais variáveis ambientais controladas foram a temperatura do sedimento e da água e o fotoperíodo, mantidos constantes durante todo o experimento. O microcosmo foi mantido com fotoperíodo de aproximadamente 12 horas. A temperatura do sedimento no campo, no dia de coleta, foi de 26 ° C e da água de 25 ° C. A temperatura foi diminuindo gradualmente a uma taxa de 1-2 ° C por dia até uma temperatura experimental fixa de 23 ° C para o sedimento e 22 ° C para a água. Temperaturas experimentais mais baixas que as temperaturas de campo são adequadas por retardarem a decomposição da matéria orgânica e eutrofização do microcosmo.

O microcosmo ficou 3 dias em repouso, sem qualquer manipulação, para que as partículas de sedimento ressuspensas na coluna d'água, durante o transporte, fossem assentadas. Os pré-requisitos para aceitar como estáveis as condições ambientais do aquário foram a temperatura constante, o fotoperíodo similar ao ambiente natural, condições de vida dos organismos (alimentação principalmente, já que não foi acrescentada nenhuma forma de alimento) e formação da camada oxigenada no sedimento.

Após a estabilização do microcosmo foi necessário analisar as condições de vida dos organismos presentes no sedimento, principalmente os meiofaunais. Foram coletadas amostras-controle, com um corer de 2,5 cm de diâmetro por 5 cm de altura, em dois estratos: um superior, até 3 cm e um inferior, abaixo de 3 cm da superfície. Para triagem e separação dos animais, a amostra foi elutriada com água salgada e passada por peneira de 63 μ . O material retido foi analisado sob lupa estereoscópica, para análise dos sinais vitais e padrões de movimentação.

Durante a realização dos testes com o corante, o sedimento permaneceu exposto, simulando uma situação de maré baixa (Figura 1.1A). Para isso foi utilizada a metodologia de vasos comunicantes com retirada e reposição da mesma água após a realização dos testes.

Foram testadas concentrações iniciais de Vermelho Neutro de 0,05 %, 0,075 % e 0,1%, aplicadas diretamente no sedimento contido em um corer de 5 cm de diâmetro e 5 cm de altura. Os volumes testados para o corante corresponderam a aproximadamente 20 % e 30% do volume da porção de sedimento isolado. Portanto para o corer de 5 cm de diâmetro e 5 cm de altura foram necessários aproximadamente 12 ml e 20 ml de corante, respectivamente (Figura 1.1B). O corante foi aplicado com uma seringa descartável aproximadamente até 3 cm de profundidade no sedimento.

Após 3 horas, o corer que isolava a porção do sedimento corado foi retirado e a água do aquário repostada, simulando uma maré enchente (Figura 1.1C). No ponto corado foi retirada uma amostra de 2,5 cm de diâmetro por 3 cm de altura, estratificada a cada 1 cm de espessura. As amostras foram analisadas em placa de Petri reticulada, sob lupa estereoscópica. Para avaliar a eficiência da coloração e a manutenção dos sinais vitais, os Nematoda corados foram separados com micropipeta e transferidos

para lâminas. Posteriormente esses organismos foram anestesiados com Mentol para a identificação ao nível de gênero.

A eficiência das concentrações do corante Vermelho Neutro foi calculada pela relação percentual entre o número de Nematoda vivos e corados sobre o total de animais observados.

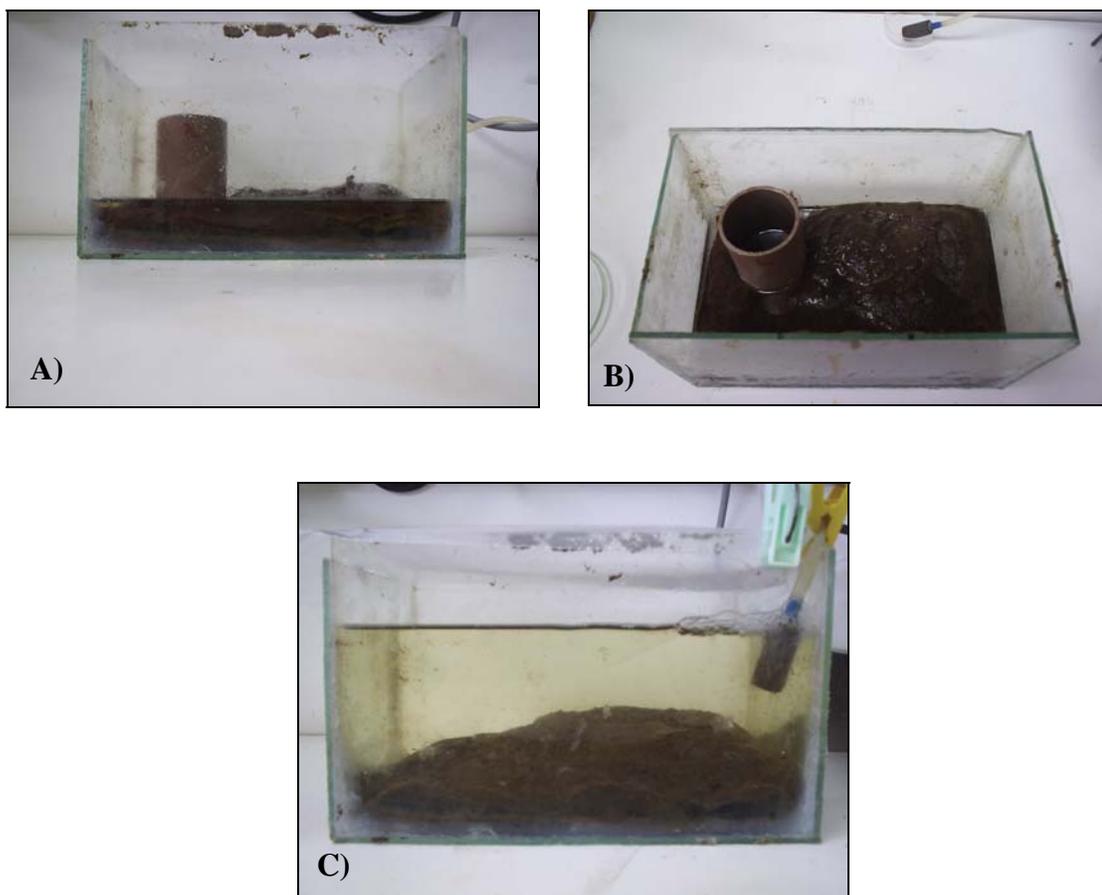


FIGURA 1.1 - Representação do microcosmo utilizado para teste do corante Vermelho Neutro *in natura* no sedimento. A. Sedimento exposto, simulando situação de baixa-mar. B. Sedimento exposto com o corer utilizado para aplicação do Vermelho Neutro. C. Aquário simulando situação de maré cheia e com o aerador.

RESULTADOS

TESTE DOS CORANTES VITAIS

Os experimentos evidenciaram que Violeta de Metila, Azul de Bromotimol e Azul de Toluidina não são corantes vitais para Nematoda, mesmo nas baixas concentrações utilizadas, já que houve mortalidade total após uma hora de exposição, em ambos os tratamentos (Tabela 1.2).

Apesar da inadequação como corante vital, pode-se observar nos Nematoda uma coloração roxa bem acentuada com a aplicação do corante Violeta de Metila, tanto no tratamento A (0,5 ml do corante) quanto no tratamento B (1,0 ml do corante) (Figura 1.2). A coloração foi bem evidente na cutícula, de forma mais acentuada nas regiões anterior e posterior do corpo e internamente no tubo digestivo.

O tratamento A com o corante Azul de Bromotimol conferiu aos Nematoda uma coloração esverdeada na parte interna do corpo, contornando a boca, dentes e região do esôfago e uma leve coloração verde na cutícula. A ação deste corante no tratamento B foi mais intensa corando inteiramente de verde o corpo dos animais e impossibilitando a visualização de quaisquer estruturas internas (Figura 1.2).

A ação do Azul de Toluidina ocorreu somente após a morte dos organismos. Foram vistas colorações azuis na cutícula e colorações vermelhas nas porções mais internas dos animais (Figura 1.2). Em apenas um dos Nematoda testados não foi encontrado indício de coloração.

O Azul Tripano não causou mortalidade, porém não corou os animais (Figura 1.2). Da mesma forma, nenhuma alteração nos sinais vitais dos animais foi constatada quando comparados com o grupo controle.

O Vermelho Neutro e o Azul de Metileno atuaram adequadamente como corantes vitais. Com três horas de aplicação, a eficiência de coloração do Azul de Metileno para o tratamento A foi de 80 % e para o tratamento B de 70 %. O Vermelho Neutro atingiu a eficiência de 100% para os dois tratamentos (Tabela 1.2).

A coloração azul no corpo dos Nematoda se deu após duas horas de exposição ao corante Azul de Metileno, sendo que para o tratamento B a coloração azul foi mais

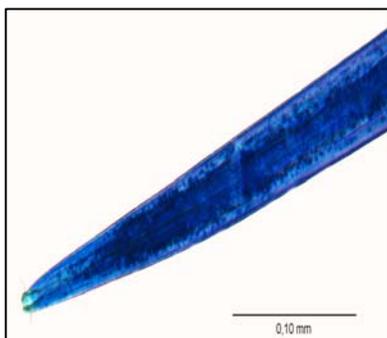
intensa, impossibilitando a visualização das estruturas internas (Figura 1.2). Pode-se observar a coloração azul ao longo de todo o corpo dos animais, com a cutícula aparecendo como a estrutura mais evidenciada pelo corante. O comportamento dos animais não apresentou alterações durante o teste, não diferindo do grupo controle.

No tratamento B do corante Vermelho Neutro, a coloração vermelha foi observada nas estruturas mais internas e na cutícula dos animais (Figura 1.2). No tratamento A, um dos animais testados não apresentou a coloração vermelha tão evidente como nos demais, com apenas alguns pequenos grânulos corados na porção mais interna e uma suave coloração no tubo digestivo. Os sinais vitais permaneceram inalterados durante todo o teste, com movimentações do corpo similar ao dos grupos controle.

TABELA 1.2 - Sumário dos testes experimentais com os corantes, indicando o número de Nematoda sobreviventes e corados, para cada tratamento (5 organismos em cada tratamento) e em cada tempo após a adição dos corantes, além da eficiência de cada corante testado (**T0**- momento da aplicação do corante; **T1**- 30 min.; **T2**- 60 min.; **T3**- 180 min.; **A**- Tratamento A: 0,5 ml do corante e **B**- Tratamento B: 1,0 ml do corante).

<i>Tempo/ Tratamento</i>	<i>Azul de Metileno</i>		<i>Azul de Toluidina</i>		<i>Azul Tripano</i>		<i>Vermelho Neutro</i>		<i>Violeta de Metila</i>		<i>Azul de Bromotimol</i>	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Tratamentos												
T0	5	5	4	4	5	5	5	5	2	3	1	2
T1	5	5	3	4	5	4	5	5	2	3	0	0
T2	5	5	0	0	5	4	5	5	2	0	0	0
T3	4	3	0	0	4	4	5	5	0	0	0	0
Totais vivos e corados	4	3	0	0	0	0	5	5	0	0	0	0
Eficiência (%)	80	70	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0

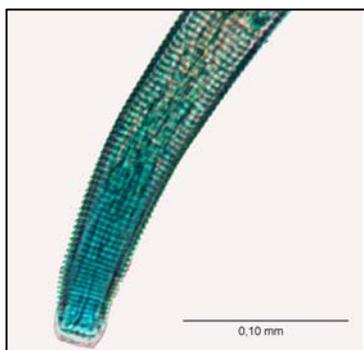
Azul de Metileno



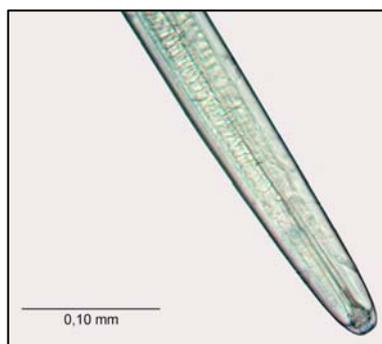
Azul de Toluidina



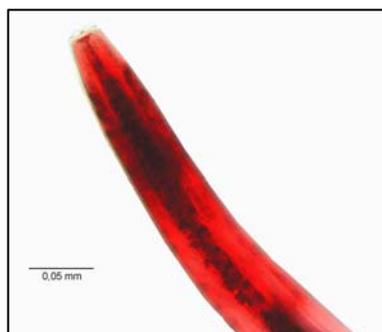
Azul de Bromotimol



Azul Tripano



Vermelho Neutro



Violeta de Metila

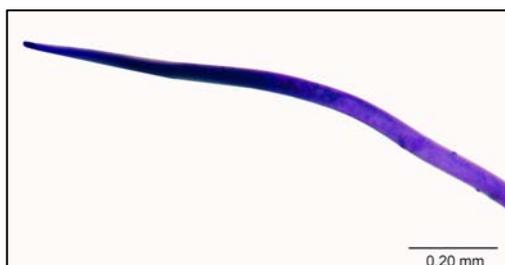


FIGURA 1.2 - Colorações assumidas por Nematoda expostos aos diferentes corantes vitais.

TESTE DO CORANTE VERMELHO NEUTRO NO SEDIMENTO

A estabilização e eficácia do microcosmo foram confirmadas pela significativa atividade biológica nas camadas superficiais do sedimento, com a presença de Nematoda, Copepoda, Ostracoda e outros táxons meiofaunais observados nas amostras controles. Esses organismos mantiveram-se em condições normais de vida após o período de estabilização e durante os testes com o corante.

Após os primeiros 5 dias de funcionamento do microcosmo foram observadas alterações nas características de turbidez e odor da água, como reflexo de processos de decomposição, mesmo com a temperatura se mantendo constante. Outro importante fator para a limitação da duração do microcosmo foi a diminuição do nível da água provavelmente devido aos efeitos da evaporação no microcosmo.

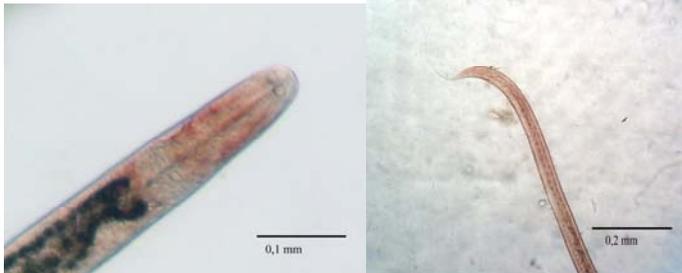
Observou-se que a concentração de 0,05 % e 12 ml de volume não foram suficientes para corar todo o sedimento contido no corer, o que fez com que apenas 4 dos 30 indivíduos da camada superior da amostra fossem marcados. Os organismos corados pertenciam ao gênero *Terschellingia*, com marcação vermelha na região posterior do corpo e ao gênero *Euristomina* com coloração vermelha cobrindo praticamente todo o corpo (Figura 1.3). Esses organismos não apresentaram alterações nos sinais vitais, principalmente na movimentação no sedimento.

Com o aumento da concentração e do volume do corante foi observada uma maior eficiência na ação do Vermelho Neutro. A concentração de 0,075% e 20 ml foi eficiente para corar 36% dos organismos da camada superior da amostra. Indivíduos dos gêneros *Microlaimus* e *Terschellingia* ficaram avermelhados em toda a extensão do corpo (Figura 1.3). Nessa concentração não foram observadas alterações nos sinais vitais e na movimentação dos organismos corados. Após 3 horas, foi observado que o corante saturou todo o sedimento, de forma com que todos os organismos com ele entrassem em contato.

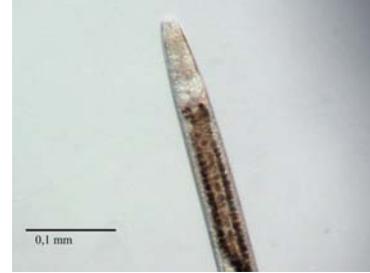
Na concentração de 0,1 % e volume de 20 ml, a eficiência foi de 60% para os organismos da camada superior da amostra. Da mesma forma, o volume de 20 ml saturou totalmente o sedimento, garantindo com que todos os organismos entrassem em contato com o corante. Representantes dos gêneros *Terschellingia* e

Metachromadora foram corados nas camadas superficiais do sedimento e não apresentaram alterações nos sinais vitais (Figura 1.3).

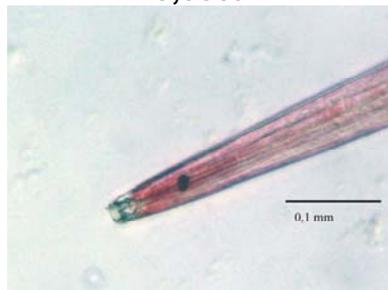
***Terschellingia* corada na concentração 0,05%**



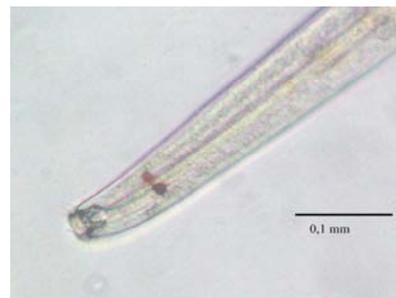
***Terschellingia* não corada**



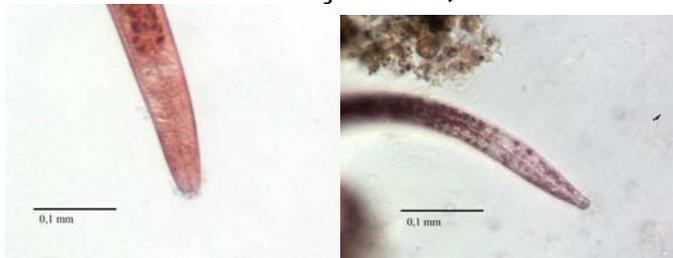
***Euristomina* corada na concentração de 0,05%**



***Euristomina* não corada**



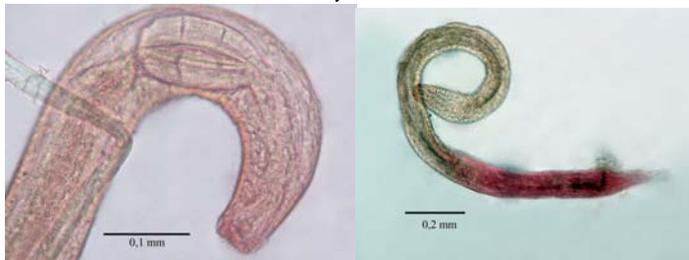
***Terschellingia* e *Microlaimus* corados na concentração de 0,075%**



***Terschellingia* não corada**



***Metachromadora* corada na concentração de 0,1%**



***Metachromadora* não corada**



FIGURA 1.3 - Nematoda corados por Vermelho Neutro nos testes *in situ* no microcosmo de laboratório.

DISCUSSÃO

TESTE DOS CORANTES VITAIS EM NEMATODA

A eficácia dos marcadores vitais testados em Nematoda marinhos de vida livre variou em função dos corantes e da concentração utilizada, como conseqüência óbvia das diferenças na composição química e na ação específica de cada um deles. Virtualmente todos os corantes vitais são eventualmente tóxicos para os organismos (HOWEY, 2000), dependendo da concentração utilizada. No entanto, Nematoda de vida livre mantiveram-se vivos e com comportamento de locomoção aparentemente inalterado três horas após a aplicação dos corantes Azul de Metileno e Vermelho Neutro em baixas concentrações.

Não foram realizados cortes histológicos dos organismos corados, o que tornaria possível a análise da especificidade dos corantes para as estruturas externas ou internas. No entanto, é possível fazer inferências sobre os efeitos observados a partir do conhecimento da ação química dos corantes sobre organismos, disponível na literatura pertinente.

O Violeta de Metila foi utilizado para corar ninhos de *Trypanosoma cruzi* vivos em tecidos (ALMEIDA, 1992). Nesse tipo de aplicação, o objetivo é identificar os ninhos que estavam vivos nos tecidos, sem necessariamente manter vivos os organismos. Mesmo em baixas concentrações, a ação do Violeta de Metila nos Nematoda parece ser sempre tóxica, comprometendo o metabolismo, com morte total dos organismos uma hora após a aplicação.

O Azul de Bromotimol tem sua aplicação mais usual como indicador de pH. Mostrou-se eficaz como corante como evidenciado pela coloração verde dos Nematoda, indício de que a natureza ácida ou básica do corante poderia atuar eletro-quimicamente sobre moléculas presentes na cutícula. A cutícula dos Nematoda é formada por camadas compostas basicamente por colágeno e outras proteínas modificadas e secretadas pela hipoderme (RIDDLE ; GEORGI, 1990). Porém, apesar de eficaz como marcador, o Azul de Bromotimol foi extremamente tóxico.

Apesar de eficaz como corante, a ação do Azul de Toluidina foi sempre letal para os organismos, mesmo quando utilizado em baixas concentrações. Segundo SANDERSON (1994), tais colorações pós-vitais ocorrem em geral pela ação de um corante vital sobre células ou tecido de um animal vivo através de uma reação em meio oxidante.

O Azul de Metileno tem sido utilizado como corante de células nervosas vivas (MAIA,1979). Nematoda são pseudocelomados cujos corpos podem ser vistos esquematicamente como dois tubos concêntricos separados pelo pseudoceloma. Um tubo consiste na cutícula, hipoderme, músculos e células nervosas e o outro é o trato digestivo (LEE, 1956). Os padrões de coloração observados sugerem que essas estruturas podem ter sido coradas pelo Azul de Metileno. A eficiência de 80 % atingida no tratamento A é relevante, uma vez que apenas um organismo morreu três horas após a aplicação do corante. Porém, no tratamento B, com eficiência de 70%, a ação do corante parece ser mais tóxica para os organismos. Nos organismos que permaneceram vivos, principalmente do tratamento I, não foram observadas alterações no comportamento e nos sinais vitais, acompanhados e comparados sistematicamente com os do grupo controle.

O Azul Tripano mesmo sendo considerado um corante vital, não se mostrou adequado nas concentrações testadas, pois embora não causasse mortalidade, não corou os animais. Esse corante não atua em células vivas ou tecidos com membranas celulares intactas. Por outro lado, células mortas apresentam uma distinta coloração azul sob microscopia (FRESHNEY, 1987).

O Vermelho Neutro é reconhecidamente um corante vital e tem sido utilizado para estudos de endocitose e do sistema vacuolar de fungos (CHU et al., 2002). Inclusões como celomócitos, que podem ter funções de secreção, absorção ou ambas, ocorrem na cavidade do corpo e na hipoderme dos Nematoda. LEE (1956) observou que celomócitos tendem a ser corados com o Vermelho Neutro. No tratamento A, foram observados alguns grânulos corados na porção mais interna do corpo de um dos organismos testados, provavelmente correspondendo a estas células. No tratamento B, com 100% de eficiência, foi corada toda a região subcuticular, incluindo as células da hipoderme. A cutícula é um componente fisiologicamente ativo provavelmente

sustentada e mantida pela hipoderme, por sua vez muito ativa durante processos de muda (BIRD ; BIRD, 1991). Esta coloração não comprometeu o metabolismo dos organismos, como constatado pelo comportamento inalterado dos Nematoda durante todo o teste, quando comparados aos grupos controles.

Em síntese, o Vermelho Neutro apresentou excelentes resultados para a marcação vital de Nematoda de vida livre e pode ser usado em bioensaios de laboratório, trabalhos experimentais de campo ou estudos do comportamento dos organismos. Apresenta ainda uma grande vantagem em relação aos outros marcadores vitais, por atuar rapidamente, mesmo em baixas concentrações, e não dificultar a visualização das estruturas internas. Apresentou resultados igualmente positivos para outros grupos permanentes ou temporários da meiofauna, como Copepoda e larvas de Polychaeta (obs. pess.). Apesar da sua adequação metodológica, este corante deve ser utilizado com cautela, especialmente no que se refere à disposição do material utilizado, pois há indícios de que tem propriedades carcinogênicas e mutagênicas (HOWEY, 2000).

TESTE DO CORANTE VITAL VERMELHO NEUTRO NO SEDIMENTO

Apesar das aparentes semelhanças, o ambiente natural e microcosmos de campo ou laboratório têm propriedades distintas por causa dos efeitos de escala, heterogeneidade espacial e composição das associações de organismos. Portanto, microcosmos só são modelos válidos para propriedades que sejam comuns na natureza e no laboratório (LEFFLER, 1980). O aquário utilizado mostrou-se ideal para atingir os objetivos propostos nesse trabalho, particularmente no que se refere à sua estabilidade e viabilidade. Após um dia de funcionamento, em temperaturas constantes, mais baixas do que a do local de coleta, já foi possível observar a estabilização das camadas do sedimento, principalmente da camada superficial mais oxidada. A movimentação constante da água, propiciada pela aeração, foi um importante fator para a estabilização, pois simulava de forma simples o fluxo das correntes no ambiente envolvidas na oxigenação.

Os organismos corados apresentaram sinais vitais e movimentação sem alterações aparentes quando comparados com os organismos não corados. A coloração não foi intensa como observado nos testes iniciais com o corante Vermelho Neutro direto nos organismos, porém foi considerada satisfatória como marcação vital. Durante os 20 dias de manutenção das amostras vivas para a triagem não foi observada a perda da coloração nos organismos.

Indivíduos dos gêneros *Metachromadora* e *Terschellingia* apresentam naturalmente uma coloração mais avermelhada na cutícula. Apesar disto, foi sempre possível, com observações sistemáticas, diferenciar a coloração natural daquela provocada pelo corante. Nos organismos do gênero *Euristomina*, que apresentam cutícula naturalmente incolor, a coloração do Vermelho Neutro foi bem marcante e facilmente diferenciada de um organismo não corado. De maneira geral, o corante intensificou a cor dos organismos que naturalmente apresentam coloração na cutícula e deixou bem marcados aqueles naturalmente incolores. Assim, o corante vital Vermelho Neutro foi considerado eficiente para corar *in situ* organismos de diferentes gêneros com diferentes características morfológicas, principalmente da estrutura da cutícula.

As densidades de organismos nas amostras antes e depois da aplicação do corante não foram sistematicamente controladas. Apesar disto, não foi observado nenhum Nematoda morto durante todos os testes realizados no microcosmo. Essa observação é importante para evidenciar mais uma vez a eficiência do microcosmo em manter os organismos vivos e a sua adequada resposta à presença do corante no sedimento.

A concentração de 0,05% já foi suficiente para conferir coloração vermelha aos Nematoda. No entanto, devido à diluição do corante na água intersticial, que obviamente diminui a sua concentração, a eficiência foi baixa (13%), e, portanto, considerada insatisfatória para a marcação dos animais.

A eficiência do corante aumentou consideravelmente com o aumento da concentração e volume. Esse resultado deve-se certamente à progressiva saturação do sedimento, com o corante preenchendo completamente os espaços intersticiais entrando em contato com todos os organismos presentes. Não foram realizados testes

com concentrações mais elevadas de corante, na medida em que a toxicidade vai aumentando progressivamente.

Com eficácia de 60 % de organismos corados, a concentração de 0,1% e volume de 20 ml do Vermelho Neutro foram considerados ideais para corar Nematoda no sedimento sem alterar seu comportamento e sinais vitais, condições determinantes para a execução de experimentos com organismos vivos.

Em geral, assume-se que métodos de marcação *in situ* não alteram o comportamento ou sinais vitais dos organismos, apesar da escassez de estudos deste tipo (CHAPMAN, 1986). Neste sentido, esta etapa de experimentos em laboratório foi importante para determinar a eficácia do corante Vermelho Neutro para marcação de Nematoda, protocolo essencial para o desenvolvimento de estudos de dispersão *in situ* no capítulo seguinte deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. A. (1992). Utilização de Violeta de Metila para corar o *Trypanosoma cruzi* em tecido. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n. 25, p. 139-140.

AUSTEN, M. C.; SOMERFIELD, P. J. (1997). A community level sediment bioassay applied to an estuarine heavy metal gradient. **Marine Environmental Research**, n. 43, p. 315-328.

BIRD, A. F.; BIRD, J. (1991). The Structure of Nematodes. San Diego: Academic Press. p. 316.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO A. G. F. (1976). Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Livraria Editora Ltda. p. 239.

CHAPMAN, M. G. (2000). Poor design of behavioural experiments gets poor results: examples from intertidal habitats. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 250, p. 77-95.

CHU, F. L. E.; VOLETY, A. K.; HALE, R. C.; HUANG, Y. Cellular responses and disease expression in oysters (*Crassostrea virginica*) exposed to suspended field - contaminated sediments. **Marine Environmental Research**, n. 53, p. 17-35. (2002).

DE NIRO, M. J.; EPSTEIN, S. S. (1978). Influence of diet on distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, n. 42, p. 495-506.

EPSTEIN, S. S.; SHIARIS, M. P. (1992). Rates of microbenthic and meiobenthic bacterivory in a temperate muddy tidal flat community. **Applied and Environmental Microbiology**, n. 58, p. 2426-2431.

FRESHNEY, R. (1987). Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, New York: Alan R. Liss. p. 117.

HAMELS, I.; MUYLAERT, K.; CASTELEYN, G.; VYVERMAN, W. (2001). Uncoupling of bacterial production and flagellate grazing in aquatic sediments: a case study from an intertidal flat. **Aquatic Microbial Ecology**, n. 25, p. 31-42.

HIGGINS, R. P.; Thiel, H. (1988). Introduction to the Study of Meiofauna. Washington: D.C. London. p. 488.

HOWEY, R. L. (2000). Vital staining for Protozoa and related temporary mounting techniques.

<http://www.microscopy.uk.org.uk/mag/indexmag.html?http://www.microscopyuk.org.uk/mag/artfeb00/rhvital.html>

LEE, D. L. (1956). The physiology of Nematodes. Edinburgh and London: Oliver e Boyd. p. 154,

LEFFLER, J.W. (1980). Microcosmology: theoretical applications of biological models. In Microcosms in Ecological Research. Washington: Symposium Series. p. 14-29.

LLEWELLY, B., <http://stainsfile.info/StainsFile/index.html>.

MAIA, V. (1979). Técnicas histológicas. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora. 246p.

RAUL, G. H.; MEARNS, A. J.; YOUNG, D. R.; OLSON, R. J.; SCHAFE, H. A.; KAPLAN, I. R. (1983). Animals $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ correlates with trophic level in pelagic food webs. **Ecology**, n. 64, p. 1314-1318.

RIDDLE, D. L.; GEORGI, L. L. (1990). Advances in research on *Caenorhabditis elegans*: Application to plant parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology** n. 28, p. 247-269.

SANDERSON, J. B. (1994). Biological microtechnique. Preston: BIOS Scientific Publishers Limited. p. 224.

SCHRATZBERGER, M.; WARWICK, R. M. (1998). Effects of physical disturbance on nematode communities in sand and mud: a microcosm experiment. **Mar. Biol.** n. 4, p. 643-650.

SCHRATZBERGER, M.; REES, H. L.; BOYD, S. E. (2000). Effects of simulated deposition of dredged material on structure of Nematode assemblages – the role of contamination. **Marine Biology**, n. 137, p. 613-622.

SOMERFIELD, P. J.; WARWICK, R. M.; MOENS, T. (2005). Meiofauna Techniques. In: Eleftheriou, A. and McIntyre, A., ed. *Methods for Study of Marine Benthos*, 3. ed. Blackwell Publishing. p. 229-245.

STARINK, M.; KRYLOVA, I. N.; BARGILISSEN, M. J.; BAK, R. P. M.; CAPPENBERG, T. E. (1994). Rates of benthic protozoan grazing on free and attached sediment bacteria measured with fluorescently stained sediment. **Applied and Environmental Microbiology**, n. 60, p. 2259-2264.

ULLBERG, J.; ÓLAFSSON, E. (2003). Effects of biological disturbance by *Monoporeia affinis* (Amphipoda) on small-scale migration of marine nematodes in low-energy soft sediments. **Marine Biology**, n. 143, p. 867-874.

WALTON, M. (1952). Techniques for recognition of living foraminifera. Contributions of Cushman Foundation for **Foraminifera Research**, n. 3, p. 56-60.

CAPÍTULO II – PROCESSOS DE DISPERSÃO DE NEMATODA EM UM BAIXIO NÃO VEGETADO DA BAÍA DE PARANAGUÁ, PARANÁ.

RESUMO

Este trabalho adotou abordagens experimentais de campo com o objetivo de analisar os processos de dispersão dos Nematoda, tanto no sedimento como na coluna d'água, em um baixio não vegetado de uma região estuarina subtropical (Baía de Paranaguá). O experimento foi replicado em duas áreas de aproximadamente 3 por 3 m, distantes 50 m uma da outra. Na porção central de cada área experimental foi enterrado um corer de PVC com 30 cm de diâmetro e 30 cm de altura, dentro do qual foi aplicado o corante vital Vermelho Neutro. A pluma vermelha do corante, após a maré enchente, foi estratificada em três seções: a) um estrato considerado **próximo** (estendendo-se até 60 cm do ponto corado), b) um estrato **médio** (estendendo-se de 60 cm a 1,40 m do ponto corado), e c) um estrato **distante** (estendendo-se de 1,40 a 1,80 m do ponto corado). Em cada estrato foram tomadas aleatoriamente 5 amostras para a análise da dispersão de Nematoda sobre o sedimento. Para a análise da dispersão por ressuspensão, pequenas redes com 10 cm de diâmetro de boca e 30 cm de comprimento, foram dispostas na coluna d'água, nos limites do estrato **próximo** com o **médio** e do estrato **médio** com o **distante**, a 5 cm (**rede baixa**) e 10 cm de altura (**rede alta**) da interface sedimento-água. As taxas de dispersão foram expressas pela relação entre o número de Nematoda corados recapturados e a densidade média de Nematoda. Os dominantes primários foram *Comesa* e *Terschellingia longicaudata*. Os dominantes secundários foram *Microlaimus*, *Metachromadora*, *Sabatieria* e *Viscosia*. Dos 23 gêneros identificados, apenas 4 (*Terschellingia*, *Metachromadora*, *Sabatieria* e *Viscosia*) foram recapturados corados no sedimento. Destes 4 gêneros, apenas *Sabatieria* não foi recapturado nas redes. A análise conjunta das taxas de dispersão no sedimento e nas redes evidenciou que correntes de maré com velocidade média de 9 cm/s, durante o experimento, foram suficientes para ressuspender principalmente os organismos mais abundantes na associação local de Nematoda, dispersando-os a distâncias maiores do que um metro no sentido da corrente durante um único evento de enchente. Além do papel desempenhado pela hidrodinâmica local, o presente estudo enfatizou a importância das características morfológicas e dos modos de vida dos Nematoda na determinação dos processos de dispersão passiva. A morfologia do corpo e as estratégias de alimentação e movimentação definem quais são os gêneros mais suscetíveis de ressuspensão por erosão e quais tendem a permanecer no substrato.

Palavras chaves: Nematoda, dispersão, entremarés

ABSTRACT

This work is an experimental analysis of dispersion rates of free-living nematodes, both in the sediment and in the water column, in an unvegetated tidal flat of Paranaguá Bay (S Brazil). Vital Neutral Red staining was applied to the sediment inside 30-cm wide 30 cm-high PVC corers located in the center of two 50-m apart replicate areas of 3 per 3 m. The ebb-tide formed red plume was stratified in *near* (up to 60 cm from the corers), *middle* (from 60 to 140 cm) and *distant* (from 140 to 180 cm) strata. Five sediment replicates were randomly taken in each strata and checked for stained nematodes. Small 10-cm wide 30 cm-long sampling nets were installed at 5 and 10 cm from the water-sediment interface, at 60 and 140 cm from the stained corers. Dispersion rates were expressed as the number of stained captured nematodes in relation to average densities of nematodes at the stained corers sites. The local association was numerically dominated by the nematode genera *Comesa*, *Terschellingia*, *Microlaimus*, *Metachromadora*, *Sabatieria* and *Viscosia*. Stained individuals of only 4 (*Terschellingia*, *Metachromadora*, *Sabatieria* and *Viscosia*) of the 23 identified genera were recaptured in the sediment. Only *Sabatieria* was not recaptured in the nets. Tidal currents with average velocities of 9 cm/s were able to resuspend the numerically dominant nematode taxa, dispersing them to distances up to 180 cm from the stained corers during a single tidal event. The experimental approach stresses that, besides local hydrodynamics, the morphology and life styles of nematodes themselves are determinant of the dispersal processes, since they define which genera are prone to be resuspended and which ones tend to stay in the sediment during ebb- or flow-tides.

Key-words: Nematoda, dispersal, tidal flat

INTRODUÇÃO

Os grupos meiofaunais são mais abundantes e diversificados nos centímetros superficiais do sedimento, em geral mais oxigenados e com maiores teores de matéria orgânica. Apesar de seu modo de vida predominantemente bêntico, são facilmente movidos ou ressuspensos pelas correntes de água devido ao seu pequeno tamanho e à sua preferência pelos estratos superficiais (MORRISEY et al., 1992 e ARMONIES, 2000). Muitas espécies de Nematoda, no entanto, não são encontradas apenas nas camadas superficiais, apresentando uma distribuição vertical relativamente profunda no sedimento (HENDELBERG ; JENSEN, 1993, STEYAERT, et al., 2001).

Experimentos de curto prazo que utilizaram armadilhas no sedimento mostraram que táxons de distribuição mais superficial, como os Copepoda Harpacticoida, podem ser mais ressuspensos, após um ciclo de maré, do que as espécies de Nematoda que podem migrar para as camadas mais profundas do sedimento (PALMER ; MOLLOY, 1986; KERN, 1990; COMMITO ; TITA, 2002).

As causas destas distribuições, principalmente no caso dos Nematoda, podem ser, portanto, relacionadas aos fatores físicos-químicos, como temperatura, disponibilidade de matéria orgânica, filtração de água intersticial, intensidade de luz, consolidação do sedimento e ação de correntes (STEYAERT, et al., 2001).

Os mecanismos de dispersão, por movimentos ativos horizontais no sedimento e/ou ativo e passivo pela coluna d'água por sua vez, podem estar relacionados a essa distribuição heterogênea nos diferentes estratos do sedimento, principalmente no nível inter-específico.

A dispersão por migração infaunal pode ocorrer tanto verticalmente quanto horizontalmente, estando em geral restrita a poucos milímetros ou centímetros no sedimento (SCHRATZBERGER et al., 2000a, 2000b), por causa da baixa mobilidade dos animais e pequeno tamanho do corpo. Um experimento em microcosmo, que simulou a deposição de diferentes tipos de sedimento, mostrou a capacidade de muitas espécies de Nematoda de migrar até a nova superfície do sedimento (SCHRATZBERGER, et al., 2000a, 2000b). Em outro estudo, os movimentos infaunais horizontais foram caracterizados como processos espécie-específicos em relação a

diferentes tipos de sedimento e relacionados à estabilização de uma comunidade de Nematoda após a simulação de defaunação em escala de centímetros (SCHRATZBERGER, et al., 2004).

Na coluna d'água, o transporte pode ocorrer tanto por erosão passiva junto com o sedimento, possivelmente correlacionado com a intensidade e velocidade das correntes do fundo, como pela entrada ativa na coluna d'água, especialmente no caso dos Copepoda (WALTERS, 1986; PALMER, 1988, KERN, 1990; CHANDRASEKARA ; FRID 1996). A dispersão de Nematoda na escala de metros foi relacionada primariamente aos processos de erosão passiva, durante um ciclo de maré, que acarretou a ressuspensão dos organismos para a coluna d'água (SHERMAN ; COULL, 1980; WARWICK ; GEE, 1984). Esses processos exercem uma forte influência no recrutamento da meiofauna e colonização de novos habitats (PALMER ; GUST, 1985; KERN, 1990).

A fauna mais comumente encontrada na coluna d'água é composta por bons nadadores, responsáveis primariamente pela dispersão ativa, como é o caso dos Copepoda e Turbellaria (HAGERMAN ; RIEGER, 1981; CHANDRASEKARA ; FRID 1996) ou organismos particularmente suscetíveis à suspensão passiva. Estes últimos geralmente residem próximo à superfície do sedimento ou apresentam morfologia ou características comportamentais que facilitam a ressuspensão com o sedimento quando o fluxo da água excede um determinado limiar (PALMER ; GUST, 1985).

Os Nematoda, que dominam com freqüência as camadas superficiais dos sedimentos de planícies de maré lodosos-arenosos não vegetados, se dispersam passivamente pela coluna d'água quando ressuspendidos por correntes (PALMER, 1988; FEGLEY, 1985 e SUN ; FLEEGER, 1993). Neste sentido, os Nematoda mais suscetíveis à dispersão passiva podem ser os microfitobentófagos, como *Ptycholaimellus ponticus*, que dependem primariamente das algas ou bactérias na superfície do sedimento (COMMITO ; TITA, 2002).

As características morfológicas e fisiológicas de Nematoda podem igualmente determinar sua presença e abundância na coluna d'água (WARWICK, 1971 e TIETJEN, 1976). Algumas adaptações morfológicas podem ser observadas em Nematoda que vivem em habitats expostos, tais como pequeno comprimento do corpo, anelações e

ornamentações na cutícula e espinhos que oferecem resistência para evitar a suspensão, além de uma cauda comprida e esguia (THISTLE ; SHERMAN, 1985). GERLACH (1948) descreveu a presença de secreções adesivas produzidas por glândulas, especialmente as caudais, que permitem que os organismos evitem a suspensão fixando-se aos grãos de sedimento. Estratégias comportamentais de Nematoda em ambientes expostos à ação de correntes e ondas podem ser também observadas. Para evitar a ressuspensão, esses organismos deslocam-se verticalmente, enterrando-se quando o fluxo de corrente aumenta ou alternativamente deixando o sedimento para serem transportados ativamente (CHANDRASEKARA ; FRID, 1996).

Entre os processos de dispersão de Nematoda, a ressuspensão talvez seja a melhor explicação para a rápida recolonização de áreas defaunadas em ambientes de alta energia como as planícies de marés areno-lodosas, onde os níveis de densidade iniciais podem ser alcançados após um ciclo de maré (ATILLA ; FLEEGER, 2000; ZHOU, 2001).

Em ambientes sublitorais, onde as correntes não são suficientemente fortes para ressuspender os Nematoda para a coluna d'água, o potencial de recolonização de sedimentos defaunados foi menor do que em ambientes entremarés (SHERMAN et al., 1983; ÒLAFSSON ; MOORE, 1990; VRISER, 1998). Três estudos mostraram que, as abundâncias iniciais das comunidades de Nematoda em ambientes sublitorais foram restabelecidas entre 8 e 18 meses (WIDBOM, 1983; ÒLAFSSON ; MOORE, 1990, 1992), o que indica que a migração horizontal ativa, nesses ambientes, é um importante mecanismo de dispersão (ULLBERG ; ÓLAFSSON, 2003).

A ressuspensão, portanto, pode ser um importante fator para a dispersão de táxons com baixa mobilidade (POWERS, 1998). Por exemplo, FEGLEY (1985) encontrou 10% do total da população de Nematoda ressuspensa e dispersada durante um ciclo de maré. Uma vez ressuspensos, os organismos podem ser transportados pela coluna d'água na velocidade da corrente e variar a altura conforme a distância percorrida (HARVEY ; VINCENT, 1977).

A despeito da ausência de larvas pelágicas na meiofauna, especialmente no caso de Nematoda, os processos de dispersão na coluna d'água podem exercer uma

importante influência no recrutamento e colonização de novas áreas (PALMER ; GUST, 1985) em curta escala de tempo e espaço.

Com o objetivo geral de analisar os processos de dispersão dos Nematoda, após um evento de maré enchente de sizígia, em um baixio não vegetado, de uma região estuarina subtropical, este trabalho adota abordagens experimentais de campo, procurando responder várias questões inter-relacionadas, acompanhadas por suas respectivas hipóteses de trabalho:

1) A dispersão de Nematoda para locais distantes do ponto de origem depende mais da ressuspensão na coluna d'água ou de deslocamento infaunal horizontal, ou seja, no próprio sedimento?

H: Se os gêneros de Nematoda corados recapturados no sedimento, a mais de 1,4 m dos locais em que foram originalmente corados não são iguais aos gêneros de Nematoda corados recapturados na coluna d'água, então a dispersão pode ser relacionada com movimentos de migração infaunal lateral.

2) Prevalendo a ressuspensão de Nematoda como principal vetor de distribuição, a capacidade de dispersão dos gêneros está relacionada com os comportamentos de alimentação e movimentação, condicionados pela morfologia do corpo (nadador ou não nadador; letárgico ou ativo)?

H₀: Se não há diferenças nas taxas de dispersão relativa dos gêneros de Nematoda e grupos tróficos nas redes e no sedimento, após assentamento, em função do ponto inicial de dispersão, então não há relação da composição das espécies ressuspendidas com a estrutura trófica e/ou morfologia do corpo (nadador ou não nadador; letárgico ou ativo).

METODOLOGIA

ÁREA DE ESTUDO

O Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá ($25^{\circ}30'S$ / $48^{\circ}25'W$) é um sistema estuarino semi-fechado, com uma área total de 612 km^2 , bordado por extensas planícies de marés colonizadas por manguezais e marismas. A Baía possui dois eixos principais, um de orientação leste-oeste, formado pela Baía de Paranaguá propriamente dita e de Antonina (260 km^2) e o segundo de orientação norte-sul, formado pelas Baías de Pinheiros e das Laranjeiras (200 km^2) (KNOPPERS et al., 1987).

O clima na região é subtropical úmido mesotérmico, com verões quentes (IPARDES, 1990, 1991) com uma precipitação média anual de $2\,500 \text{ mm}$ (máxima de $5\,300 \text{ mm}$) e umidade relativa do ar em torno de 85%. Há uma estação chuvosa, que se inicia no fim da primavera e continua por quase todo o verão, e uma mais seca que vai do fim do outono até o fim do inverno. A precipitação média durante a estação chuvosa é quase três vezes maior que durante a estação seca. Os ventos predominantes na região são nordeste, com uma velocidade média de 4 m/s , mas durante fortes tempestades de sudeste podem atingir até 25 m/s (LANA et al., 2000).

As marés locais, com amplitudes de sizígia em torno de 2 metros, são caracterizadas por desigualdades diurnas e padrões semidiurnos durante as máximas. A salinidade média da água varia de 12 a 29 no verão e de 20 a 34 no inverno. A temperatura média varia entre 23 e 30°C no verão e 18 e 25°C no inverno.

A estrutura e o funcionamento do sistema estuarino são influenciados por diferentes gradientes. Um gradiente ambiental de salinidade e energia, que define condições de água doce até condições marinhas ao longo dos eixos norte-sul e leste-oeste, divide a baía em quatro setores: euhalino, com uma salinidade perto de 30, polihalino, e oligo e meso-halino, com salinidades entre 0-15 (LANA et al., 2000).

O experimento foi realizado em um baixio não vegetado na Ilha dos Papagaios, setor euhalino da Baía de Paranaguá (Figura 2.1). NOERNBERG et al. (2004) classificaram a região como sub-estuário da Cotinga, com base em características hidrográficas e morfológicas (Figura 2.1). O sub-estuário é composto por muitos

meandros de rios com extensas planícies alagadas, o que pode ter propiciado a formação de um baixio não vegetado, principalmente pelo aporte de sedimentos provenientes dos fluxos de marés no sentido leste-oeste.

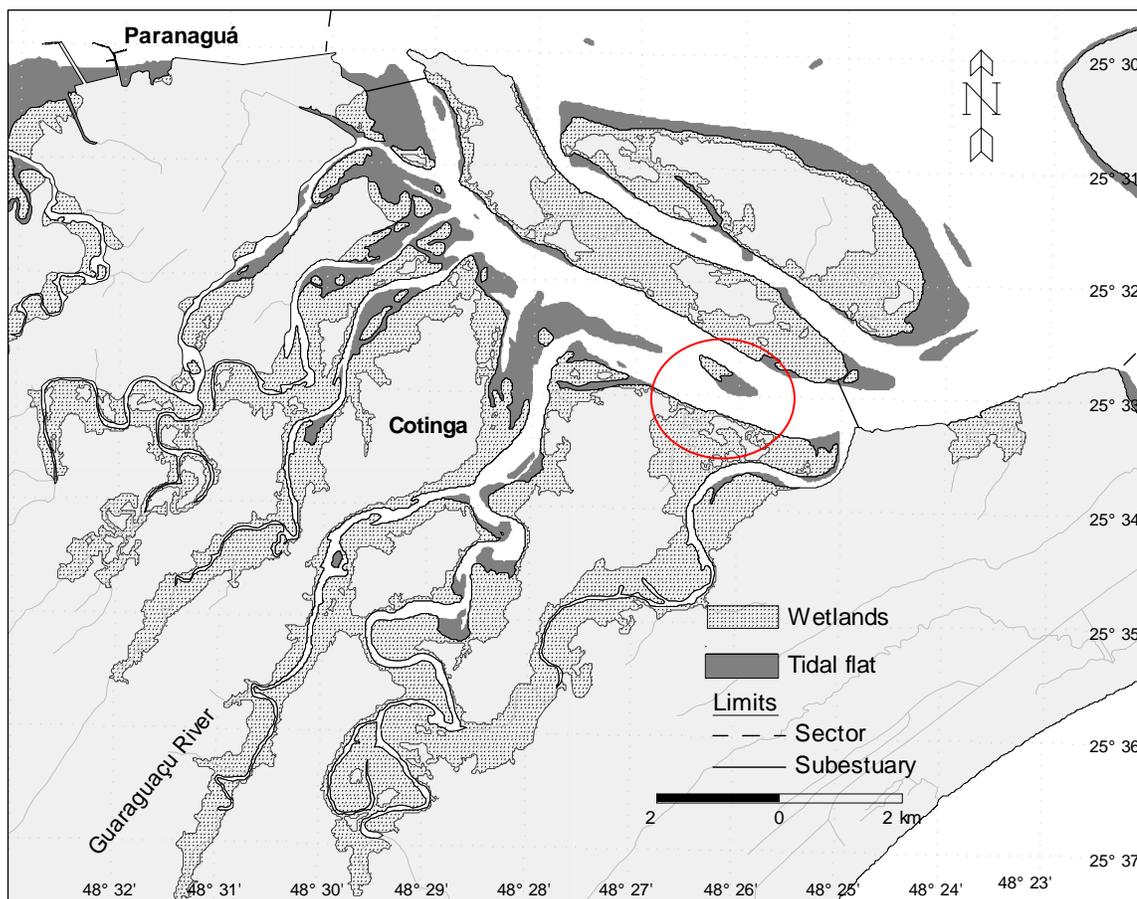


FIGURA 2.1 - Complexo estuarino de Paranaguá, com o setor sub-estuário da Cotinga, onde se encontra o baixio dos Papagaios, assinalado em vermelho, local de realização do experimento (Fonte: NOERNBERG et. al., 2004).

PROCEDIMENTOS DE CAMPO

As metodologias adotadas neste trabalho dependeram de testes-piloto, realizados durante o período de fevereiro a agosto de 2006, para definição da melhor área e das

rotinas amostrais e experimentais mais adequadas para o teste das hipóteses de trabalho. A partir dos resultados destes testes preliminares foram definidos o baixo e as áreas experimentais, que possuem como uma característica importante a prevalência de um fluxo de maré enchente unidirecional, essencial para a correta execução do experimento. Foram também definidas as escalas espaciais apropriadas para avaliar a dispersão de Nematoda em pequena escala espacial (< 1m) e o tamanho do corer necessário para corar os organismos de forma que pudessem ser recapturados no sedimento e coluna d'água.

O experimento definitivo foi executado em 23 de setembro de 2006, durante maré de sizígia, quando o baixo ficou totalmente exposto, o que proporcionou mais tempo para cumprimento de todas as rotinas amostrais até o recobrimento total pela maré enchente subsequente.

O experimento foi replicado em duas áreas de aproximadamente 3 por 3 m, distantes 50 m uma da outra. Análises de variância do número de táxons (S), número total de organismos (N) e diversidade de Shannon (H') foram aplicadas para avaliar a significância de diferenças entre estas áreas experimentais. Constatada a inexistência de diferenças significativas, as áreas foram tratadas como réplicas para as análises posteriores.

Na porção central de cada área experimental foi enterrado um corer de PVC com 30 cm de diâmetro e 30 cm de altura, para delimitar e isolar a área de sedimento a ser corado. No pico da maré baixa foram aplicados, com uma seringa, 120 ml do corante vital Vermelho Neutro, com concentração de 0,1%, no interior do corer. Nessa concentração são necessárias no mínimo 3 horas de exposição ao corante para a ação efetiva nos Nematoda, como estabelecido no Capítulo I. Momentos antes da chegada da primeira onda de maré, o corer foi retirado para que a água pudesse atuar livremente na porção de sedimento corada.

A pluma vermelha do corante que se formou sobre o sedimento foi delimitada com estacas de ferro e estratificada em três seções (distâncias menores e maiores que 1 metro): a) um estrato considerado **próximo**, estendendo-se até 60 cm do ponto corado; b) um estrato **médio**, estendendo-se de 60 cm a 1,40 m do ponto corado e c) um estrato **distante**, estendendo-se de 1,40 a 1,80 m do ponto corado (Figura 2.2).

Em cada um desses estratos foram tomadas aleatoriamente 5 amostras de sedimento, com 2,5 cm de diâmetro por 3 cm de altura, para análise da meiofauna. As amostras foram mantidas em água do local para análises posteriores.

Quatro redes para captura dos Nematoda corados foram dispostas na coluna d'água nos limites do estrato próximo com o médio (a 60 cm do ponto corado) e do estrato médio com o distante (a 1,40 m do ponto corado), a 5 cm (**rede baixa**) e 10 cm de altura (**rede alta**) da interface sedimento-água (Figura 2.2). Essas redes simularam mini-redes de fitoplâncton, com 10 cm de diâmetro de boca, 30 cm de comprimento, malha de 63 μ e com um copo coletor terminal que serviu como uma bóia elevando a rede na coluna d'água paralelamente ao fundo.

Após uma hora de encobrimento total pela maré enchente (com aproximadamente 20 cm de coluna d'água) as redes foram retiradas e lavadas com água do próprio ambiente, para extração dos organismos capturados. As amostras foram armazenadas em vidros devidamente etiquetados, mantidos em caixa térmica com gelo e levadas a laboratório climatizado para posterior triagem dos organismos vivos. Para evitar interferências ou artefatos experimentais, a caracterização taxonômica (composição genérica) e biológica (características de vida e grupos tróficos) da comunidade local, pré-requisito para o teste das hipóteses 3 e 4, foi realizada a partir de amostras coletadas, nas mesmas áreas, uma semana após o experimento. Em cada área experimental, foram tomadas 3 amostras aleatórias com 2,5 cm de diâmetro e 3 cm de altura, imediatamente fixadas em formol a 4%.

Para caracterização granulométrica dos fundos locais, foi coletada uma amostra superficial do sedimento, com amostrador de 2,5 cm de diâmetro e 3 cm de profundidade, em cada uma das duas áreas experimentais. As análises sedimentológicas foram realizadas pelo Laboratório de Geologia Marinha do Centro de Estudos do Mar (UFPR).

A velocidade e direção da maré foram medidas com um fluxômetro General Oceanics, modelo 2030R6, com um motor de alta resolução para aplicações em baixas velocidades de corrente. O fluxômetro foi suspenso em um tripé a 30 cm do sedimento. A cada 5 minutos foi medida a rotação da hélice, com leitura direta feita no contador do fluxômetro, a altura da coluna d'água, com régua de nível topográfico e a direção da

corrente, com GPS. Os dados foram planilhados e a velocidade calculada em função da velocidade nos gráficos do próprio manual do fabricante.

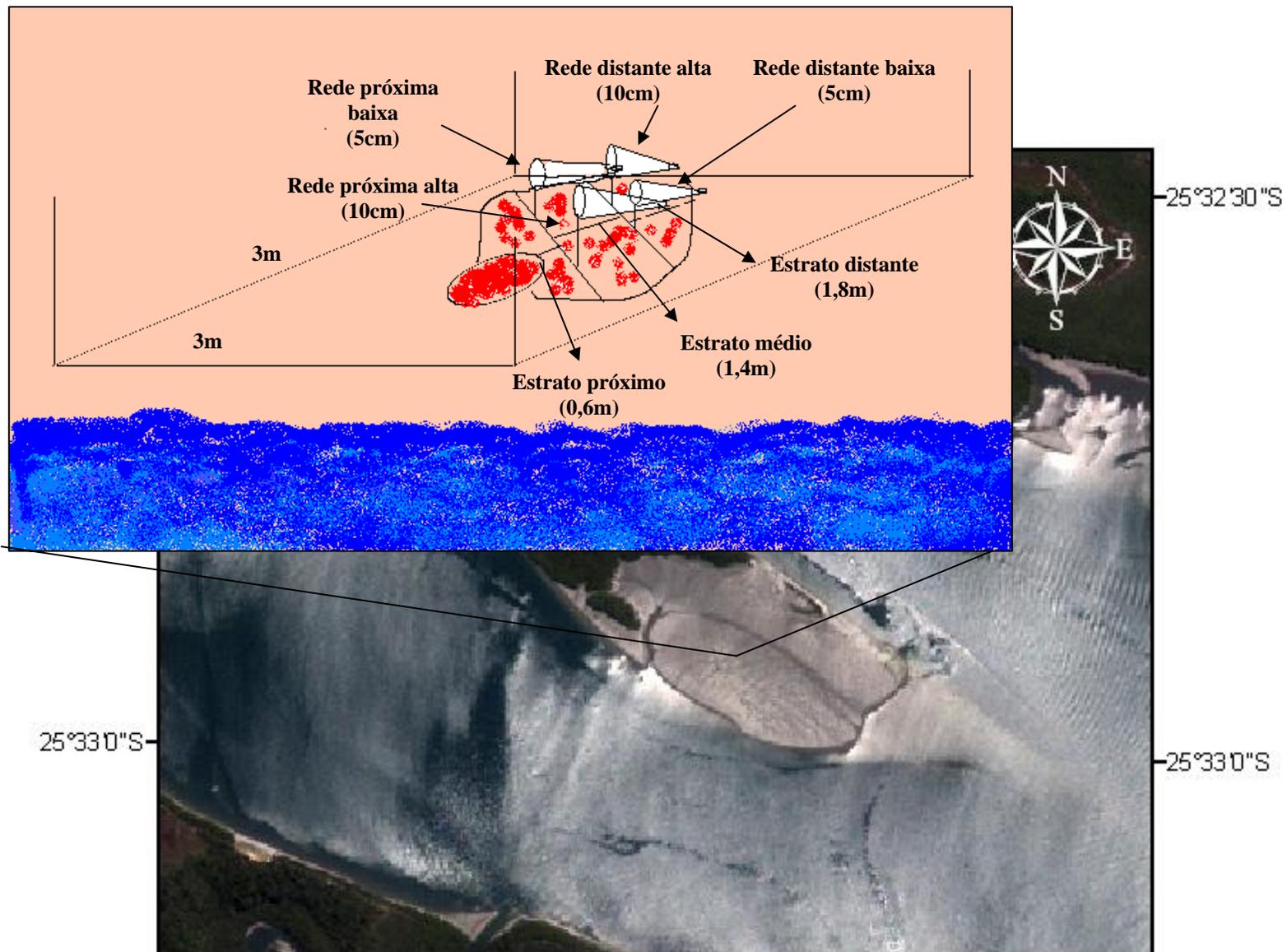


FIGURA 2.2 - Baixo dos Papagaios onde foi realizado o experimento com o croqui do desenho amostral do experimento de dispersão (Fonte da imagem: Laboratório de Geoprocessamento do Centro de Estudos do Mar)

Amostras para caracterização taxonômica e biológica da comunidade local de nematoda

As amostras da meiofauna foram processadas segundo o procedimento proposto por SOMERFIELD ; WARWICK (1996). Inicialmente, as amostras fixadas em formol a 4% foram lavadas em peneira com malha de 63 μ e o material retido flotado com utilização de sílica coloidal (Ludox TM 50) diluída à gravidade específica de 1.15 durante 40 minutos. O material sobrenadante foi retirado e novamente passado na peneira de 63 μ . Esse procedimento foi repetido 3 vezes com o sedimento decantado. O material sobrenadante final foi transferido para cubetas com uma solução de glicerol e posterior processo de evaporação em chapa elétrica durante 12 horas. Após esse processo, o resíduo (glicerina com organismos, detritos e grãos de sedimento) foi transferido para lâminas com bordas de parafina e recobertas com lamínula. As lâminas foram colocadas em uma chapa elétrica para derreter a parafina e fixar a lamínula. Os Nematoda presentes nas lâminas permanentes foram contados e identificados, sob microscópio estereoscópico, em nível de gênero (ou em nível de espécie, em um único caso), a partir da chave de identificação de PLATT ; WARWICK (1983, 1988) e WARWICK et al. (1998).

As características de vida dos organismos corados recapturados e dos mais abundantes na associação local de Nematoda, essenciais para testar a segunda hipótese, foram categorizadas segundo a chave pictórica de PLATT ; WARWICK (1983, 1988) e WARWICK et al. (1998) e observações pessoais. As formas do corpo, tamanho, presença e tamanho das setas sensoriais, forma da cauda e tipos de cutícula foram considerados para discriminação de gêneros e morfotipos. Essas características permitem relacionar a composição genérica dos Nematoda em suspensão com sua habilidade natatória ou sua tendência de permanecer na superfície do sedimento.

Os grupos tróficos foram classificados segundo WIESER, (1953), que relacionou os hábitos alimentares de Nematoda com a morfologia da cavidade bucal. Essa classificação discrimina os organismos entre dois grupos: sem armadura bucal (1A – comedores de depósito seletivos e 1B- detritívoros) e com armadura bucal (2A – microfitobentófagos e 2B – os predadores ou onívoros).

Amostras do experimento de dispersão no sedimento

As amostras do sedimento foram triadas com os organismos vivos para que não ocorresse a eventual remoção do corante pela ação das substâncias anestésicas ou fixadoras. Para isso, as amostras foram mantidas em ambiente com temperatura constante a 22-23°C e com fotoperíodo de aproximadamente 12 horas, durante o demorado processo de triagem visual. Os organismos sobreviveram em boas condições, evidenciadas por movimentação ativa e sinais vitais aparentemente normais, por até 20 dias. A triagem foi realizada sob microscópio estereoscópico em placa reticulada, com aproximadamente 30 ml de água do ambiente e sedimento.

Os Nematoda corados recapturados foram retirados com micropipeta e separados para posterior montagem das lâminas permanentes utilizando a técnica modificada de diafanização (DE GRISSE, 1969). Os organismos foram transferidos para cubetas com solução I (1 parte de glicerina para 99 partes de formalina) que permaneceram em um dessecador, com álcool 95%, durante 24 horas em estufa a 40°C. Durante esse processo, a formalina da solução I evaporou e foi automaticamente substituída pelo álcool presente no dessecador. As cubetas com os Nematoda foram então retiradas do dessecador e mantidas em estufa a 40°C, durante 12 horas, acrescentando-se a Solução II (5 partes de glicerina para 95 partes de álcool 95%) a cada 4 horas. No final do processo foi acrescentada a solução III (50 partes de glicerina para 50 partes de álcool) para montagem das lâminas permanentes. Os Nematoda das cubetas foram transferidos com uma alça para uma gota de glicerina em lâminas pré-preparadas com um anel de parafina (SOMERFIELD ; WARWICK, 1996) e recobertos por uma lamínula. As lâminas foram colocadas em uma chapa elétrica para derreter a parafina e fixar a lamínula. A identificação em nível de gênero foi feita sob microscopia ótica utilizando a chave pictórica de PLATT ; WARWICK (1983, 1988) e WARWICK et al. (1998).

Amostras do experimento de dispersão na coluna d'água

A triagem das amostras tomadas na coluna d'água foi realizada com os organismos vivos, em uma placa reticulada com aproximadamente 30 ml de água do local de coleta, sob microscópio estereoscópico. Os Nematoda corados recapturados nas redes foram retirados com auxílio de micropipeta, anestesiados com mentol e analisados sob

microscópio para verificação da coloração e identificação em nível de gênero. Neste caso não foi possível a montagem de lâminas permanentes, porque as amostras tomadas na coluna d'água se deterioraram mais rapidamente do que as amostras tomadas no sedimento.

PROCESSAMENTO DOS DADOS

Taxas de dispersão

O baixo número de réplicas (3 amostras por estrato e 2 redes para cada altura e distância) e baixa frequência de indivíduos corados recapturados tanto no sedimento quanto nas redes na coluna d'água não permitiram a aplicação de testes estatísticos. No entanto, os dados disponíveis foram suficientes e adequados para o teste das hipóteses de trabalho sobre os processos de dispersão de Nematoda, ainda que de forma qualitativa.

As áreas experimentais I e II foram tratadas como réplicas, utilizando-se a densidade média de organismos corados no sedimento e na coluna d'água para os cálculos das taxas de dispersão absoluta e relativa. Para o cálculo das taxas de dispersão relativa na coluna d'água, foi adotado um artifício metodológico. As densidades médias dos organismos corados recapturados nas redes próxima baixa, próxima alta, distante baixa e distante alta foram calculadas em função da área da boca das redes, posteriormente convertida para a mesma área das amostras de sedimento (transformados em 10 cm²).

As taxas de dispersão foram calculadas de acordo com COMMITO ; TITA (2002):

- Taxa de dispersão absoluta de organismos corados no sedimento = média da densidade de organismos corados recapturados nas amostras de sedimento durante uma maré enchente (estratos próximo, médio e distante);
- Taxa de dispersão relativa de organismos corados no sedimento = densidade média de organismos corados recapturados na amostra de sedimento / densidade média de organismos no ambiente

- Taxa de dispersão absoluta de organismos corados nas redes = média da densidade de organismos recapturados corados nas redes durante uma maré enchente (redes alta, baixa/ próxima, distante);

- Taxa de dispersão relativa de organismos corados nas redes = densidade média de organismos recapturados corados nas redes / densidade média de organismos no ambiente =

Todas as taxas foram calculadas separadamente para o total de Nematoda, para os gêneros e para os grupos tróficos.

As taxas de dispersão absoluta representam as médias das densidades do total de Nematoda gêneros e dos grupos tróficos presentes no sedimento que foram recapturados corados após um evento de maré enchente sem considerar a densidade nas associações locais. As taxas de dispersão relativa expressam a relação entre os indivíduos corados recapturados, tanto no sedimento quanto na coluna d'água, e a densidade de indivíduos presentes nas associações locais de Nematoda.

Ao considerar o pequeno tamanho dos Nematoda e a dificuldade na recaptura tanto no sedimento como na coluna d'água, as taxas foram consideradas satisfatórias ou informativas quando maiores do que zero, evitando-se qualquer categorização adicional. Portanto, a simples presença de um ou mais organismos corados, mesmo que em baixo número, foi utilizada para refutar as hipóteses nulas de trabalho.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DA ÁREA EXPERIMENTAL E COMPORTAMENTO DA MARÉ

As análises granulométricas foram realizadas de acordo com a metodologia de SUGUIO (1973) e os resultados analisados com o programa SYSGRAN (CAMARGO, no prelo).

Os sedimentos locais são predominantemente areias muito finas, classificadas como pobre a moderadamente selecionadas e praticamente desprovidas de silte (Tabela 2.1).

TABELA 2.1 - Valores do diâmetro médio e grau de seleção do sedimento nas áreas experimentais I e II

	Média	Classificação	Seleção	Classificação	% Cascalho	% Areia	% Silte	% Argila	CaCO ₃ (g)	Matéria Orgânica (g)
Área I	3,83	Areia muito fina	1,69	Pobrememente selecionado	1,88	83,34	2,11	12,67	4,69%	2,75%
Área II	3,69	Areia muito fina	0,87	Moderadamente selecionado	0,37	90,89	2,18	6,55	6,91%	3,75%

Teores de matéria orgânica e carbonato de cálcio foram ligeiramente mais baixos na área experimental I do que na área experimental II (Tabela 2.1).

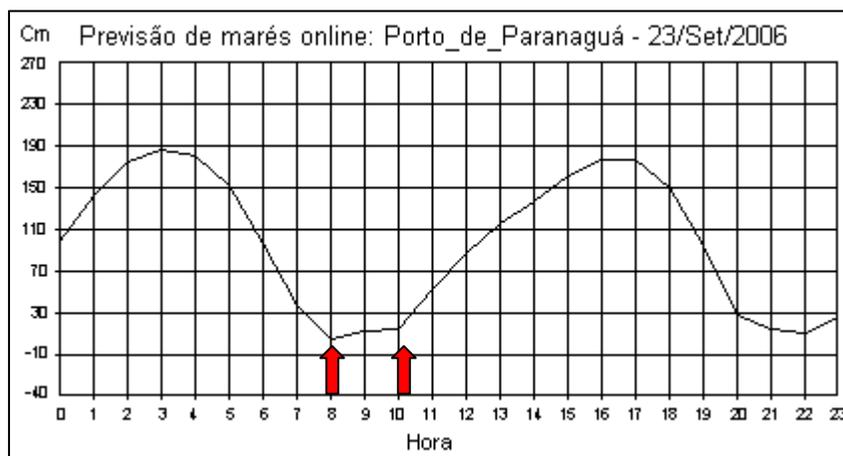


FIGURA 2.3 - Variação da maré no dia do experimento, com indicação da hora de início do experimento e da maré enchente.

A maré atingiu as áreas experimentais aproximadamente às 10 horas da manhã, com aumento regular e progressivo da altura (aproximadamente 20 cm em uma hora) e com correntes predominantemente de direção leste, com velocidade média de 9 cm/s, durante todo o experimento (Figura 2.3 e Tabela 2.2).

TABELA 2.2 - Medidas da variação da altura da maré e direção do fluxômetro, marcados a cada 5 minutos.

Hora	Variação da altura (cm)	Direção
12:43	0,33	L
12:53	0,38	L
12:58	0,41	L
13:03	0,44	L
13:08	0,47	L
13:13	0,5	L
13:18	0,52	L
13:23	0,55	L

ASSOCIAÇÃO LOCAL DE NEMATODA

Um único táxon, *Terschellingia longicaudata* DE MAN, 1907, foi formalmente identificado em nível de espécie, com os demais sendo mantidos no nível de gênero. Um total de 22 gêneros de Nematoda foi registrado nas áreas experimentais. Seis gêneros dominaram numericamente a associação local e estiveram presentes em todas as amostras analisadas (Tabela 2.3).

Os dominantes primários foram *Comesa* GERLACH, 1956 com 21,1% e *T. longicaudata* com 17% do total de Nematoda amostrados. Os dominantes secundários foram *Microlaimus* DE MAN, 1880, *Metachromadora* FILIPJEV, 1918, *Sabatieria* ROUVILLE, 1903 e *Viscosia* DE MAN, 1890 responsáveis em conjunto por 25% do total amostrado (Tabela 2.3).

Os Nematoda microfitobentófagos (grupo trófico 2A) foram os mais abundantes na associação local, correspondendo a 42% do total amostrado, seguido pelos onívoros/predadores (2B) com 21%. Os comedores de depósitos não seletivos (1B) e seletivos (1A) corresponderam, respectivamente, a 19% e 18% do total de Nematoda amostrados.

As densidades variaram entre 43 e 323 indivíduos nas áreas experimentais I e II. As densidades mais altas foram as da espécie *T. longicaudata*, na área I, e do gênero *Comesa*, na área II. Na área I, *Comesa* foi o segundo gênero mais abundante, seguido pelos gêneros *Microlaimus*, *Metachromadora*, *Viscosia* e *Sabatieria*. Na área II, a espécie *T. longicaudata* foi a segunda mais abundante, seguida dos gêneros *Sabatieria*, *Metachromadora*, *Microlaimus* e *Viscosia*, consecutivamente.

O número de espécies (S), a diversidade de Shannon (H') e a dominância relativa de grupos tróficos não variaram significativamente entre as áreas I e II ($p > 0,05$). Apenas a abundância de Nematoda variou significativamente entre as áreas experimentais ($p < 0,05$).

TABELA 2.3 - Famílias, gêneros, grupos tróficos e densidades médias de Nematoda (por 10 cm²) nas áreas experimentais I e II (grupos tróficos: 2B-onívoros/predadores; 2A- microfítobentófagos; 1B-detrítívoros e 1A-comedores de depósitos seletivos).

Famílias	Gêneros	Grupos tróficos	Área I	Área II
Anoplostomatidae	<i>Anoplostoma</i>	1B	4	8,6
Axonolaimidae	<i>Axonolaimus</i>	1B	62	23,3
	<i>Parodontophora</i>	1B	4,6	0
	<i>Bahtylaimus</i>	1B	4	0,6
Chromadoridae	<i>Prochromadora</i>	2A	10	2,6
	<i>Chromadorita</i>	2A	38	19,3
Chromadoroidea	<i>Dichromadora</i>	2A	99,3	48,6
Comesomatidae	<i>Sabatieria</i>		156,6	72,6
Cyatholaimidae	<i>Cyatholaimus</i>	2A	7,3	6,6
Desmodoridae	<i>Chromaspirina</i>	2B	16,6	16,6
	<i>Desmodora</i>	2A	88	31,3
	<i>Metachromadora</i>	2A	196,6	66,6
Ethmolaimidae	<i>Comesa</i>	2A	316	294
Linhomoeidae	<i>Terschellingia longicaudata</i>	1A	323,3	170,6
	<i>Terschellingia</i>	1A	8,6	3,3
Microlaimidae	<i>Microlaimus</i>	2A	209,3	54
Neotonchidae	<i>Gomphonema</i>	2B	32,6	24,6
Oncholaimidae	<i>Oncholaimus</i>	2B	9,3	5,3
	<i>Viscosia</i>	2B	174	43,3
Oxystominidae	<i>Halalaimus</i>	1A	0	0,6
Selachinematidae	<i>Halichoanolaimus</i>	2B	7,3	2,6
Xyalidae	<i>Daptonema</i>	1B	115,3	49,3
	<i>Theristus</i>	1B	31,3	26

TAXAS DE DISPERSÃO ABSOLUTA DE NEMATODA

A composição genérica de Nematoda corados e recapturados nas redes e no sedimento diferiu claramente da composição no ambiente natural. Dos 22 gêneros identificados, apenas 4 (*Terschellingia*, *Metachromadora*, *Sabatieria* e *Viscosia*), que estão no grupo dos mais abundantes nas associações locais, foram recapturados corados no sedimento. Destes 4 gêneros, apenas *Sabatieria* não foi recapturado nas redes.

A taxa de dispersão absoluta do total de Nematoda no sedimento (média de 10 réplicas) variou entre 6 indivíduos corados recapturados no estrato **próximo** a 2 no estrato **distante**. Embora a taxa de dispersão absoluta tenha diminuído em função da distância do ponto corado, o deslocamento de organismos para pontos relativamente distantes do ponto inicial pôde ser confirmado (Figura 2.4).

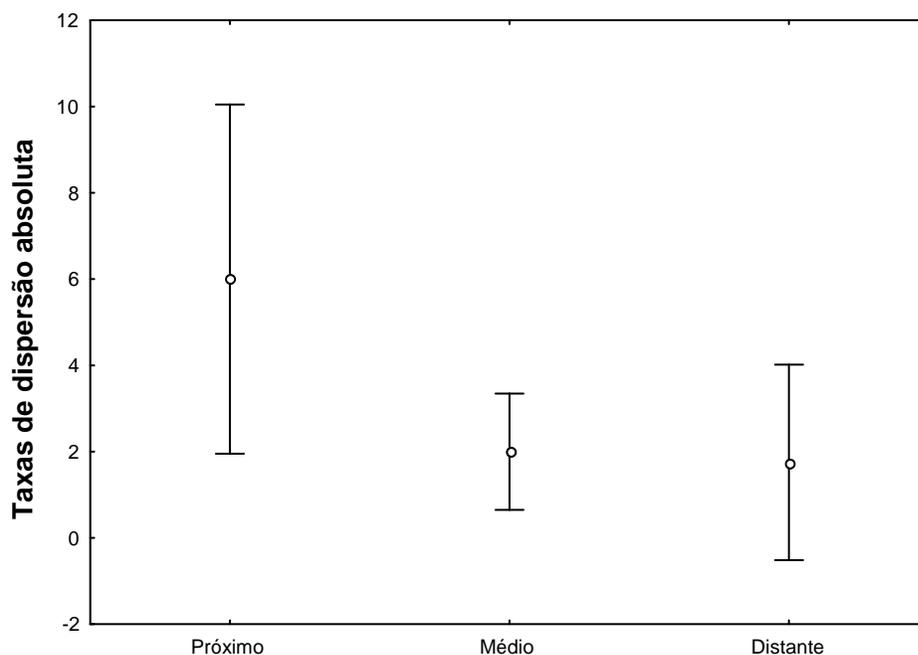


FIGURA 2.4 - Taxas de dispersão absoluta (média e erro padrão da densidade de organismos recapturados corados em 10 cm²) de Nematoda corados recapturados nos estratos (**próximo, médio e distante**) da pluma após um evento de maré enchente.

A taxa de dispersão absoluta do total de Nematoda na rede **baixa próxima** foi igual a 7 e nas redes **baixa** e **alta distante** de respectivamente 5 e 8 indivíduos corados recapturados. A taxa de dispersão absoluta foi menor na rede **alta próxima**, com apenas 1 indivíduo corado recapturado (Tabela 2.4).

TABELA 2.4 – Taxas de dispersão absoluta e relativa dos gêneros, grupos tróficos e Nematoda (por 10 cm²) nas redes posicionadas na coluna d'água (grupos tróficos: **2B**- predadores facultativos; **2A**- microfitobentófagos; **1B**- detritívoros e **1A**-comedores de depósitos seletivos).

Gêneros	Baixa Próxima		Alta Próxima	
	Taxa Absoluta	Taxa Relativa (%)	Taxa Absoluta	Taxa Relativa (%)
<i>Viscosia</i>	2	1,8	1	0,9
<i>Metachromadora</i>	3	2,3	0	0
<i>T. longicaudata</i>	2	0,8	0	0,8
2B	2	6,0	1	3,0
2A	3	3,2	0	0
1B	2	3,5	0	0
Nematoda	7	0,5	1	0,2
Gêneros	Baixa Distante		Alta Distante	
	Taxa Absoluta	Taxa Relativa (%)	Taxa Absoluta	Taxa Relativa (%)
<i>Viscosia</i>	1	0,9	2	1,8
<i>Metachromadora</i>	2	1,5	3	2,3
<i>T. longicaudata</i>	2	1,6	3	0,8
2B	1	3,0	2	6,0
2A	2	2,1	3	3,2
1A	2	2,4	3	3,5
Nematoda	5	0,5	8	0,5

TAXA DE DISPERSÃO ABSOLUTA DOS GÊNEROS DE NEMATODA

Houve diferenças na dispersão dos diferentes gêneros de Nematoda na escala espacial do experimento. Representantes de 4 gêneros foram recuperados corados a até 1,80 m do ponto inicial de dispersão, com destaque para *T. longicaudata*, com taxas de dispersão absoluta de 1 indivíduo corado recapturado (Figura 2.5). No estrato **médio** essa espécie apresentou taxa de dispersão absoluta igual a 1 e para o gênero

Metachromadora, essa taxa, foi de 0,8 indivíduos corados recapturados. As taxas de dispersão absoluta no estrato **próximo** foram mais elevadas para a espécie *T. longicaudata* (3 indivíduos recapturados corados). Nesse mesmo estrato a taxa de dispersão absoluta foi de 2,2 para o gênero *Metachromadora*. No estrato **distante** essa taxa foi de 0,2 indivíduos recapturados corados. Os gêneros *Viscosia* e *Sabatieria* apresentaram taxas de dispersão absolutas muito baixas nos três estratos, com respectivamente 0,2 e 0,4 indivíduos corados recapturados (Figura 2.5).

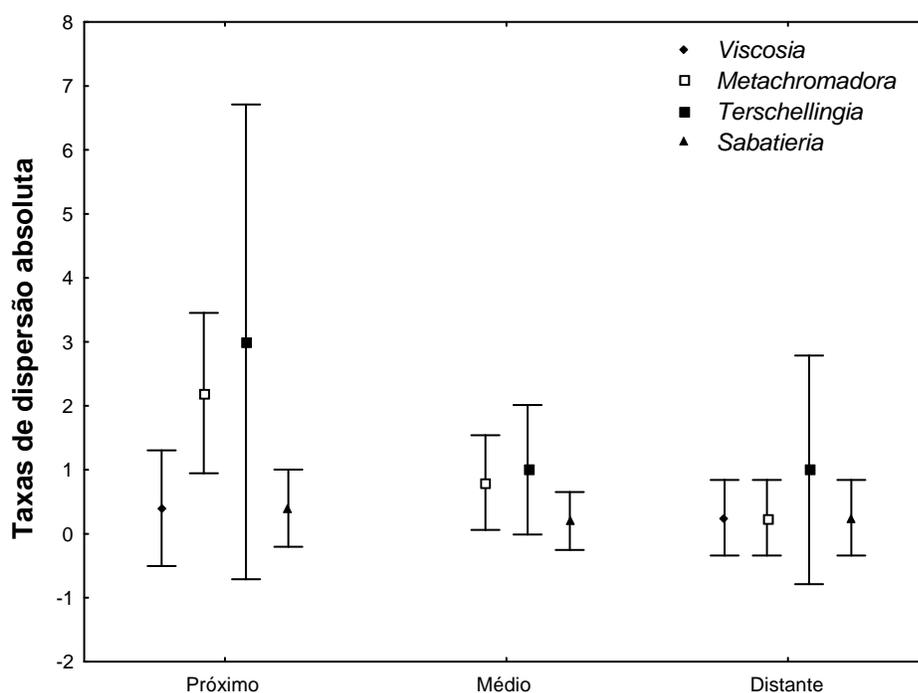


FIGURA 2.5 - Taxas de dispersão absoluta (média da densidade e erro) para gêneros de Nematoda corados recapturados nos estratos (**próximo, médio e distante**) da pluma após um evento de maré enchente.

As taxas de dispersão absoluta do gênero *Metachromadora* foram mais elevadas nas redes **baixa próxima e alta distante** (3 indivíduos corados recapturados). Na rede **baixa distante** a taxa de dispersão absoluta foi de 2 e na rede **baixa próxima** nenhum organismo corado foi recapturado. A maior taxa de dispersão absoluta de *T. longicaudata*, foi na rede **baixa distante**, com 3 indivíduos corados recapturados (Tabela 2.4). Nas demais redes 2 indivíduos de *T. longicaudata* corados foram

recapturados. As taxas de dispersão absoluta do gênero *Viscosia* foram semelhantes às de *Metachromadora*, porém com valores mais baixos (Tabela 2.4).

TAXAS DE DISPERSÃO RELATIVA DE NEMATODA

A recaptura dos organismos corados no sedimento indica um padrão na distribuição dos indivíduos ao longo da pluma de dispersão após uma maré enchente (Figura 2.6). A taxa de dispersão relativa, que expressa o número de indivíduos recapturados corados em 10 cm², em relação ao número de indivíduos presentes nas amostras da associação local de Nematoda (1500 organismos/ 10 cm²), foi de 0,28% e 0,24%, respectivamente, para o estrato **médio** e **distante** e de 0,84 % no estrato **próximo** (Figura 2.6).

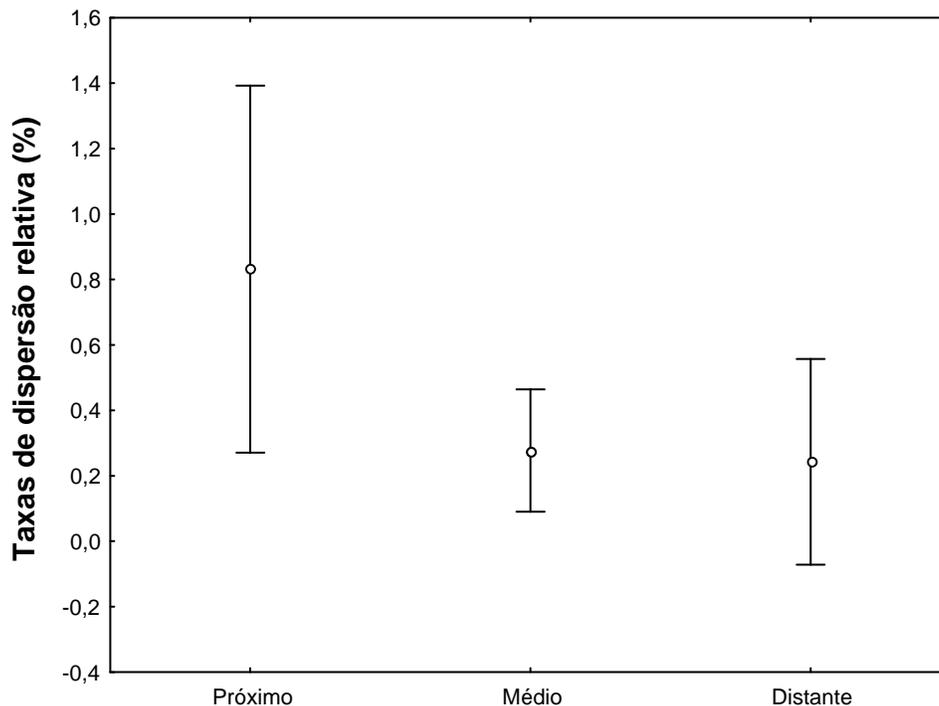


FIGURA 2.6 - Taxas de dispersão relativa (média e erro padrão) de total de Nematoda corados recapturados nos três estratos da pluma de dispersão (**próximo, médio e distante**), após a maré enchente.

As taxas de dispersão relativa nas redes foram similares (0,5%) nas redes **baixa próxima** (Rbp), **baixa distante** (Rbd) e **alta distante** (Rad). Na rede **alta próxima** (Rap) somente 0,2% do total de Nematoda das amostras da caracterização das associações local foram recapturados corados (Tabela 2.4).

TAXA DE DISPERSÃO RELATIVA DOS GÊNEROS DE NEMATODA

As taxas de dispersão relativa também variaram entre os diferentes gêneros de Nematoda em função da distância do ponto inicial de dispersão. A taxa de dispersão relativa da espécie *T. longicaudata* mais elevada, de 0,8%, foi registrada no estrato (Figura 2.7). As taxas de dispersão relativa do gênero *Metachromadora* foram mais altas nos estratos **próximo** e **médio**, decrescendo no estrato **distante** (Figura 2.7).

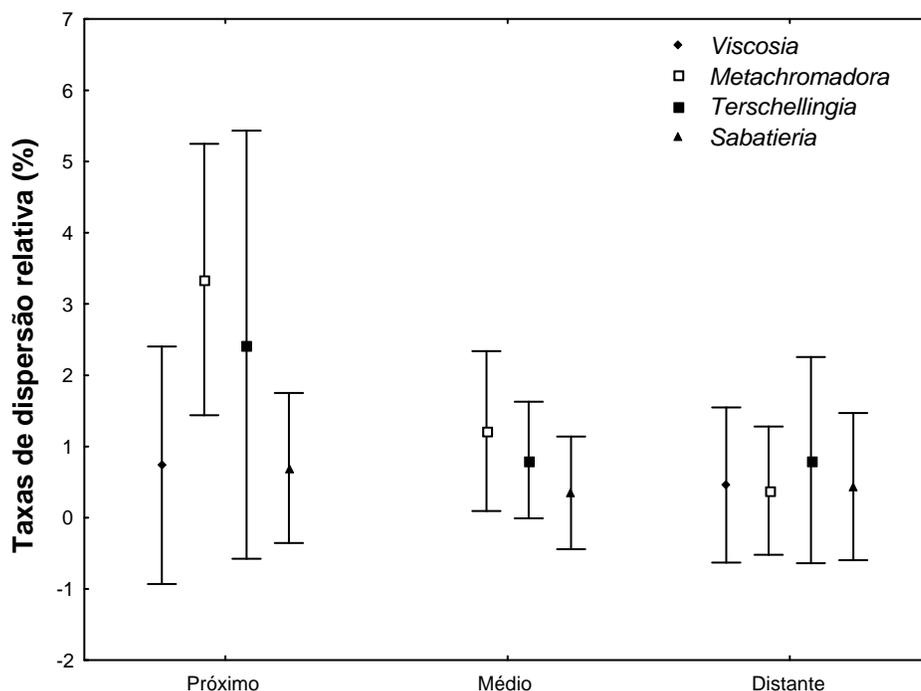


FIGURA. 2.7 - Taxas de dispersão relativa (média e erro padrão) para gêneros de Nematoda nos três estratos da pluma de dispersão (**próximo, médio e distante**), após a maré enchente.

Em comparação com os demais gêneros, organismos dos gêneros *Viscosia* e *Sabatieria* apresentaram baixas taxas de dispersão relativa tanto nos estratos **próximo** quanto no **médio** e **distante** (Figura. 2.7). No entanto, as taxas respectivamente de 0,46 % e 0,44 % no estrato **distante** mostram que representantes desses gêneros podem se dispersar por distâncias maiores que 1 m.

Houve diferenças evidentes na dispersão dos diferentes gêneros de Nematoda nas redes dispostas na coluna d'água (Tabela 2.4). Representantes da espécie *Terschellingia longicaudata* estiveram presentes tanto nas redes **baixa próxima** e **baixa distante** quanto nas redes **alta próxima** e **alta distante** com a taxa relativa de 0,8%. A maior taxa relativa, de 1,6%, foi registrada na rede **distante baixa** (Tabela 2.4).

Organismos do gênero *Metachromadora* apresentaram as mais elevadas taxas de dispersão nas redes **baixa próxima** e **alta distante** (respectivamente de 2,3% e 1,5%), quando comparados com os demais gêneros. Na rede **alta próxima** não foi encontrado nenhum representante desse gênero (Tabela 2.4).

As mais elevadas taxas de dispersão relativa do gênero *Viscosia* foram registradas nas redes **baixa próxima** e **alta distante** (1,8%). Nas redes **baixa distante** e **alta próxima** a taxa decresceu para 0,9% (Tabela 2.4).

TAXAS DE DISPERSÃO DOS DIFERENTES GRUPOS TRÓFICOS

Em comparação com os demais grupos tróficos, a taxa de dispersão relativa dos comedores de depósito seletivos (**1A**), representados pela espécie *Terschellingia longicaudata*, foi mais elevada no estrato **distante** do ponto inicial corado. A espécie foi registrada nos estratos **próximos** e **distantes** com taxas relativas de dispersão de 3,8% e 1,8%, respectivamente (Figura 2.8). Durante a triagem dos organismos vivos, foi verificado que esses indivíduos apresentaram movimentação ativa através de ondulações do corpo tanto no sedimento quanto na coluna d'água.

Houve um claro padrão na dispersão do microfitobentófagos (**2A**), representados pelo gênero *Metachromadora*, com taxa mais baixa registrada **distante** do ponto corado e a mais elevada no estrato **próximo** (Figura 2.8). Estes organismos apresentaram uma movimentação mais lenta do que a espécie *T. longicaudata* e o gênero *Viscosia*.

Quando simulada a ressuspensão do sedimento, o organismo apresentou dificuldade em se manter na coluna d'água, indo rapidamente para o fundo.

O gênero *Sabatieria*, representante do grupo trófico de detritívoros (**1B**), não foi encontrado nas redes. Foram registradas taxas de dispersão de 0,63 % no estrato **distante**, de 1,0% no estrato **próximo** e de 0,5% no **médio** (Figura 2.8). Organismos deste gênero movimentaram-se rapidamente no sedimento e não foram observados na coluna d'água.

Os predadores facultativos (**2B**), representado pelo gênero *Viscosia*, apresentaram taxas de dispersão relativa de 1,6% tanto no estrato **distante** como no estrato **próximo** ao ponto corado (Figura 2.8). Foi observada uma movimentação rápida, evidenciada por ondulações do corpo tanto no sedimento quanto na coluna d'água.

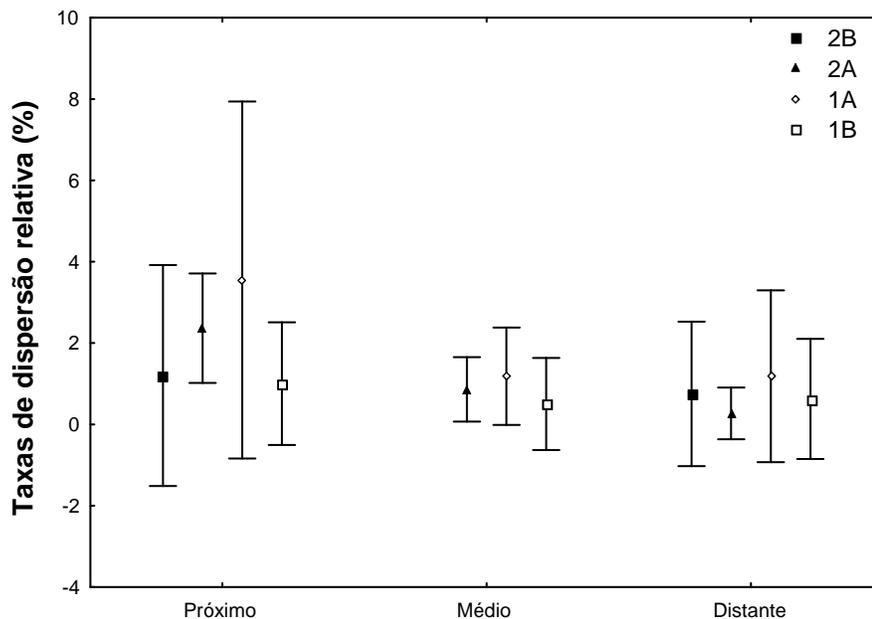


FIGURA 2.8 - Taxas de dispersão relativa (média e erro padrão) para grupos tróficos de Nematoda nos três estratos da pluma de dispersão (**próximo, médio e distante**; grupos tróficos: **2A**-microfitobentófagos; **2B**-predadores facultativos; **1B**- detritívoros **1A**-comedores de depósitos seletivos).

Na coluna d'água a maior taxa de dispersão relativa, de 6%, foi registrada para os predadores facultativos (**2B**) nas redes **baixa próxima** (Rbp) e **alta distante** (Rad). Na rede **baixa distante** (Rbd) a taxa decresceu, com apenas 3% dos animais corados sendo recapturados (Tabela 2.3). A taxa de dispersão relativa dos comedores de depósito seletivos (**1A**) foi mais elevada nas redes **baixa próxima** (Rbp) e **alta distante** (Rad), onde atingiu 3,5%. Na rede **baixa distante** a taxa de dispersão relativa foi de 2,4% e na rede **baixa próxima** não foi encontrado nenhum organismo corado.

A taxa de dispersão relativa dos microfitobentófagos (**2A**) seguiu o padrão do grupo trófico dos predadores facultativos. As redes **baixa próxima** (Rbp) e **alta distante** (Rad) apresentaram as maiores taxas. A taxa decresceu na rede **baixa distante** e nenhum organismo foi registrado na rede **alta próxima** (Tabela 2.4).

DISCUSSÃO

O experimento de dispersão de Nematoda, baseado na marcação *in situ* dos organismos e recaptura no sedimento e na coluna d'água após uma maré enchente, ressaltou a importância da ressuspensão como um mecanismo de dispersão em uma planície de maré não vegetada.

O aumento regular e progressivo da altura da maré observada durante o experimento é uma das características importante do sub-estuário da Cottinga, no setor próximo da desembocadura do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Neste sub-estuário a variação da maré é menor do que nos sub-estuários localizados na porção mais interna da baía. A maré não se apresenta em forma de funil, como característica dominante do estuário, e sua variação não ultrapassa 1,5 m, com velocidades máximas de 1,34 m/s nos canais principais de fluxo (MARONE et al., 1995; ANGULO, 1999). A velocidade média de correntes registrada durante o experimento foi, portanto, uma ordem de grandeza menor, caracterizando um fluxo residual sobre as planícies de maré locais.

Mesmo assim, estes fluxos residuais foram suficientes para o transporte de Nematoda, como claramente demonstrado pelos resultados experimentais. A análise conjunta das taxas de dispersão no sedimento e nas redes evidenciou que a força de corrente da maré de 9 cm/s, durante o experimento, foi suficiente para ressuspender principalmente os organismos mais abundantes na associação local de Nematoda, dispersando-os a distâncias maiores do que um metro no sentido da corrente durante um evento de enchente.

A dispersão passiva de Nematoda pode ocorrer através da ressuspensão dos próprios organismos ou aderidos aos grãos do sedimento e detritos, que se desprendem do fundo para a superfície e são transportados no sentido da corrente (FAUST; GULLEDGE, 1996). Tais aglomerados podem ser formados por grãos de areia presos a mucopolissacarídeos do filme microbiano (HICKS, 1988). Vários táxons como Nematoda, Copepoda, larvas de Crustacea e Ciliata, podem permanecer aderidos a estas estruturas, tanto no sedimento como na coluna d'água.. Um único aglomerado apresentou um potencial de dispersão de 17.6 m a 62.8 m/dia (FAUST; GULLEDGE,

1996). No presente estudo não foram observados organismos aderidos aos filmes microbianos. No entanto, esta é uma importante característica que deve ser explorada em estudos futuros de dispersão de Nematoda.

Dos 22 gêneros identificados, quatro (*Terschellingia*, *Metachromadora*, *Sabatieria* e *Viscosia*), que estão no grupo dos mais abundantes nas associações locais, foram recapturados corados no sedimento. Destes quatro gêneros, apenas *Sabatieria* não foi recapturado nas redes. Esse resultado foi suficiente para rejeitar a primeira hipótese de trabalho - a dispersão para locais distantes, após uma maré enchente, pôde ser de fato relacionada com a ressuspensão de Nematoda na coluna d'água. Além disso, a recaptura de Nematoda corados em pontos distantes da origem (mais de 1,4 metros) evidencia que esses organismos podem ser dispersos pela coluna d'água, por distâncias relativamente grandes, levando-se em conta as pequenas dimensões do corpo. Tais distâncias não seriam certamente atingidas por migração horizontal no sedimento durante um único evento de maré enchente.

Apesar de considerados pobres nadadores (PALMER, 1984; FEGLEY, 1985), os Nematoda são comumente encontrados nas amostras de plâncton em ambientes costeiros (GERLACH, 1977; HAGERMAN ; RIEGER, 1981; NAIR et al., 1984; GRAINGER et al., 1985) e na interface sedimento-água. No entanto, a abundância na coluna d'água é sempre baixa quando comparada com as altas abundâncias no sedimento (PALMER, 1984). As baixas densidades encontradas no presente estudo podem ser justificadas pela dificuldade de recaptura de organismos com dimensão tão pequena e pelo fato do experimento ter sido realizado durante um único evento de maré enchente. Apesar das baixas densidades encontradas, o experimento evidencia que de fato a ressuspensão na coluna d'água é um vetor significativo de dispersão e recolonização.

SHANDLER; FLEEGER (1983) avaliaram a importância relativa da ressuspensão na coluna d'água e dos movimentos infaunais horizontais no sedimento para o restabelecimento de uma comunidade meiofaunal estuarina após simulação de defaunação em pequena escala. Copepoda Harpacticoidea rapidamente recolonizaram os sedimentos por transporte em ressuspensão, enquanto os Nematoda atingiram apenas curtas distâncias, seja por ressuspensão ou movimento horizontal. Situações

semelhantes foram descritas por CHANDLER; FLEEGER (1983); SCHRATZBERGER et al., (2004), que mostraram que a migração infaunal horizontal dos Nematoda em curtas distâncias pode ser importante para a colonização de pequenas áreas defaunadas e para áreas adjacentes a grandes áreas defaunadas. Portanto, a rápida recolonização de grandes áreas defaunadas, sugere que os processos mediados na coluna d'água, que incluem erosão passiva e emergência ativa, predominam quando a dispersão ocorre por longas distâncias.

A recaptura de organismos corados nas redes dispostas em diferentes alturas pode indicar um padrão de dispersão após ressuspensão na coluna d'água. Foram encontrados indivíduos corados nas redes dispostas a 5 cm e a 10 cm de altura do sedimento após ressuspensão. No entanto, as taxas de dispersão relativa foram mais baixas na rede alta próxima do ponto corado do que nas demais redes, sugerindo que a maior parte dos organismos que ingressaram na coluna d'água só atingiram alturas maiores quando se distanciaram do local de origem, através de movimentos de natação na coluna d'água e/ou simplesmente carreamento pela corrente.

Muitos Nematoda apresentam a capacidade de anular o efeito da força gravitacional (ULLBERG; ÓLAFSSON, 2003), devido às ondulações no plano dorso-ventral, auxiliadas pela musculatura longitudinal e movimentos de serpenteamento (PALMER, 1988; JENSEN, 1981). Portanto, podem influenciar ativamente a sua posição vertical na coluna d'água após ressuspensão, controlando, ainda que parcialmente, o deslocamento horizontal e as velocidades de transporte durante a dispersão (SCHELTEMA; WILLIAMS, 1983, SHANKS, 1995; YOUNG, 1995). Isto só ocorre se as velocidades de corrente forem distintas nas direções vertical e horizontal (HARDY, 1953; HICKS, 1984). Como o deslocamento tende a ser menor no movimento vertical da água do que no movimento horizontal (PRITCHARD, 1952), velocidades verticais de 1-10 cm s^{-1} seriam adequadas para manutenção da profundidade pelos Nematoda (CRISP, 1981).

As taxas de dispersão dos diferentes gêneros diferiram claramente em função do ponto inicial de dispersão e podem ser relacionados às características morfológicas do corpo ou hábitos de alimentação que afetam a suscetibilidade de ressuspensão e capacidade de natação após ressuspensão.

O grupo trófico de organismos comedores de depósitos seletivos (**1A**), representado unicamente por *T. longicaudata*, foi recuperado nos três estratos da pluma de dispersão. *Terschellingia longicaudata* é dominante em sedimentos areno-lodosos (TIETJEN, 1980), onde a principal fonte de alimento é a matéria orgânica dissolvida (MOENS; VINCX, 1997). Espécies abundantes no sedimento como *Sabatieria pulchra*, *Terschellingia longicaudata* e *Odontophora setosa* foram encontradas nas camadas mais profundas do sedimento; portanto, dependendo da força da corrente, raramente são ressuspensas (ESKIN; PALMER, 1985).

Em contraste com aquelas que dominam sedimentos arenosos, a espécie *Terschellingia longicaudata* não apresenta adaptações como longas setas cefálicas e ornamentações na cutícula, que têm sido consideradas eficientes para o ancoramento de Nematoda em ambientes de alta energia (WARWICK, 1971; TIETJEN, 1976). Isto certamente pôde explicar a dispersão da espécie por eventos de ressuspensão do sedimento, após uma maré enchente. A espécie teve também a capacidade de permanecer na coluna d'água e atingir, através de movimentos ativos do corpo, distâncias superiores a um metro do ponto inicial corado. Esse resultado está de acordo com o modelo desenvolvido por CROFTON (1966), que relaciona o tamanho de corpo de fases livre-natantes, de Nematoda parasitas, com sua habilidade para nadar. Segundo este modelo, somente indivíduos pequenos têm a habilidade de nadar livremente com movimentos ondulatórios do corpo, já que a viscosidade da água pode impedir a movimentação de organismos maiores.

Muitas espécies de *Metachromadora* apresentam distribuição vertical, mas habitam principalmente as camadas superficiais do sedimento, onde encontram maior disponibilidade de alimento (PLATT, 1977; BLOME, 1983; COMMITO; TITA, 2002). O gênero *Metachromadora* é classificado como microfitobentófago (**2B**) por apresentar armadura na cavidade bucal e um bulbo esofágico (MOENS, T.; VINCX, M., 1997). Diatomáceas e outros microorganismos são importantes recursos alimentares, mas não são ingeridos inteiros. O material intracelular é retirado através da perfuração da parede celular com o dente dorsal e sucção pelo bulbo esofágico (NEHRING, 1992).

A maioria das espécies de Nematoda apresenta um padrão de distribuição agregado, em pequena escala espacial. No entanto, um claro padrão de distribuição

aleatória foi descrito para uma espécie do gênero *Metachromadora* (BLOME et al., 1999). Organismos que vivem nas camadas superficiais do sedimento, como os gêneros *Ptycholaimellus*, *Metachromadora* e *Chromadora*, são comumente coletados na coluna d'água e em sedimentos recém ressuspensos (BELL; SHERMAN, 1980, ESKIN; PALMER, 1985; COMMITO; TITA, 2002). Neste sentido, são mais suscetíveis à erosão e ao transporte do que os organismos encontrados nas camadas mais internas do sedimento (ESKIN; PALMER, 1985). Espécies de *Metachromadora* apresentaram a mais alta abundância na coluna d'água, distante a aproximadamente 0,5 Km do ponto de origem, e foram capazes de recolonizar uma área defaunada em apenas um ciclo de maré (BELL; SHERMAN, 1980; SHERMAN; COULL, 1980).

Organismos do gênero *Metachromadora* foram recapturados corados em distâncias maiores do que um metro, um padrão não explicado pela morfologia do corpo ou por sua capacidade de nadar ou permanecer na coluna d'água. Os indivíduos parecem ter sido simplesmente ressuspensos, por ocuparem a camada superficial do sedimento, e carregados pela corrente durante a maré enchente, sem movimentos de natação na coluna d'água. Esse resultado corrobora outros trabalhos que sugerem que a distribuição vertical superficial ou subsuperficial do gênero *Metachromadora*, a morfologia do corpo e seu comportamento letárgico aumentam a probabilidade de ressuspensão (BELL; SHERMAN, 1980; SHERMAN; COULL, 1980; ESKIN; PALMER, 1985).

De acordo com HEIP (1985), organismos do gênero *Viscosia* também vivem preferencialmente nas camadas superficiais do sedimento em condições normais do ambiente, mas apresentam a capacidade de migrar para as camadas mais profundas com a atividade de bioturbação por poliquetas (PINTO et al., 2006). O gênero *Viscosia* apresenta três dentes na cavidade bucal, sendo classificado como predador facultativo (**2B**) (WIESER, 1953). Organismos desse gênero têm a capacidade de permanecer na coluna d'água e atingir, possivelmente através de movimentos ativos do corpo, distâncias superiores a um metro durante um evento de maré. No caso, a pequena habilidade natatória, causada pelo tamanho do corpo em relação à viscosidade da água, pode ter sido superada pela alta frequência de ondulações do corpo, observadas durante o experimento. Portanto, características morfológicas e comportamentais

sugerem uma grande agilidade para se locomover tanto no sedimento quanto na coluna d'água, após ressuspensão.

Os organismos que vivem nas camadas superficiais do sedimento são normalmente expostos a eventos bióticos e abióticos, como a bioturbação pela ação da macrofauna, a ação de ondas e o fluxo de correntes. É de se esperar que as espécies de Nematoda que vivem preferencialmente nos estratos superficiais apresentem movimentação, tanto horizontal quanto vertical, mais ativa do que os gêneros que habitam as camadas mais profundas. Desse modo, os organismos mais abundantes na superfície respondem e reagem mais rapidamente a estes eventos de perturbação (ULLBERG; ÓLAFSSON, 2003).

Organismos do gênero *Sabatieria* (**1B**), que vivem nas camadas mais profundas do sedimento (SCHATZBERGER et al., 2000) alimentam-se de protozoários e diatomáceas, que são ingeridos inteiros e digeridos durante a passagem pelo intestino, como um importante recurso alimentar (NEHRING, 1992). Organismos desse gênero foram recapturados no estrato distante do ponto corado, mas não nas redes posicionadas na coluna d'água. Apresentaram, ainda, movimentos rápidos no sedimento, embora não tivessem sido registrados movimentos de natação na água.

De acordo com SCHATZBERGER et al. (2000), organismos do gênero *Sabatieria* não são muito ágeis, o que descarta a possibilidade de movimentação pelo sedimento, pelo menos na escala considerada, de um metro ou mais, durante um único evento de maré. Estes animais não apresentam características morfológicas adaptadas para deslocamento na coluna d'água ou para permanecer no sedimento, como sugerido por WARWICK (1971) e TIETJEN (1976). É possível, portanto, que o transporte destes organismos tenha se dado, de forma eventual ou acidental, próximo à interface sedimento-água, sem ressuspensão na coluna d'água.

Ao contrário do padrão observado para *Metachromadora*, que também pertence ao grupo trófico de microfítobentófagos e estão entre os táxons mais abundantes na associação local, os representantes dos gêneros *Comesa* e *Microlaimus* não foram recapturados nem nos estratos nem nas redes.

Deslocamentos verticais foram observados por RIEGER; OTT (1971) no Mar Adriático, com a distribuição vertical dos Nematoda variando após um ciclo de maré.

Organismos do gênero *Daptonema* migraram para cima durante a enchente e para baixo durante a vazante enquanto representantes do gênero *Microlaimus* apresentaram comportamento inverso. A capacidade de migração vertical ativa pode explicar os padrões observados para *Microlaimus* (2A) e *Comesa* (2A). Mesmo sendo dos mais abundantes na associação local, organismos destes gêneros não foram recapturados corados, sugerindo que evitaram, de alguma forma, as ações das correntes, provavelmente como resultado da sua capacidade de migração vertical. Esta capacidade está associada a características morfológicas, como corpo pequeno e um poro terminal possivelmente relacionado com as glândulas caudais, que permitiriam a permanência no sedimento após uma maré enchente.

Apesar da importância evidente da hidrodinâmica local, o presente estudo enfatizou a importância das características morfológicas e de vida dos organismos, como as estratégias de alimentação ou estrutura trófica dominante das associações, para os processos de dispersão após um evento de maré enchente. As características de vida e a morfologia externa, que afetam ou condicionam a capacidade de locomoção (nadador ou não nadador, letárgico ou ativo), definem em última análise, quais são os gêneros mais suscetíveis de ressuspensão por erosão e aqueles que tendem a permanecer no substrato.

A dispersão é um dos processos pelo qual podemos rastrear ou inferir a história de vida dos organismos, com conseqüências para as populações envolvidas. A dispersão afeta a dinâmica e persistência das populações, a distribuição e a abundância das espécies e conseqüentemente a estrutura das comunidades. Pode, ainda, determinar as taxas de variações genéticas entre populações e seus efeitos sobre processos como adaptação local, especiação e a evolução dos organismos (DIECKMANN; O'HARA; WEISSER, 1999). Estes complexos processos, essenciais para a compreensão da dispersão como um todo, serão objeto dos futuros estudos de doutorado da autora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROSE JR, W.G. . (1984). Influence of predatory polychaetes and epibenthic predators on the structure of a soft-sediment community in a Maine estuary. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 81, p. 115-145

ANGULO, R. J. (1999). Morphological characterization of the tidal deltas on the coast of the State of Paraná. *An. Acad. Bras. Ci.* n. 71, p. 935-959.

ANGULO, R. J.; MULLER, C. R. (1990). Preliminary characterization of some tidal flat ecosystems on the State of Paraná Coast, Brazil. In: *Simpósio de Ecossistemas da Costa sul e Sudeste Brasileira, Águas de Lindóia, Resumos expandidos.* São Paulo: ACIESP, n.2, p. 158-168.

ARMONIES, W. (1994). Drifting meio- and macrobenthic invertebrates on tidal flats in Koningshafen: a review. **Helgol. Meeresunters.** n. 48, p. 299-320.

BELL, S. S.; SHERMAN, K. S. (1980). Tidal resuspension as a mechanism for meiofauna dispersion. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** n. 3, p. 245-249.

BLOME, D.; SCHLEIER, K. H.; BERNEM, V. (1999). Analysis of the small-scale spatial patterns of free-living marine nematodes from tidal flats in the East Frisian Wadden Sea. **Mar Biol.** N. 133, p. 717-726.

BOESCH, D. F.; ROSENBERG, R. (1981). Response to stress in marine communities. In: Barrett, G. W., Rosenberg, R. (Ed.), *Stress effects on natural ecosystems.* New York: John Wiley and Sons, pp. 179-200.

CAMARGO, M. G. SYSGRAN : Um sistema de código aberto para análises granulométricas do sedimento. **Revista Brasileira de Geociências.** No prelo.

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

CHANDLER, T. G.; FLEEGER, J. W. (1983). Meiofaunal colonization of azoic estuarine sediment in Louisiana: mechanisms of dispersal. **J Exp Mar Biol Ecol.** n. 69; p. 175–188.

COMMITO, J. A., TITA, G. (2002). Differential dispersal rates in an intertidal meiofauna assemblage. **J. exp. mar. Biol.** n. 268, p. 237-256.

CRISP, D. J. (1981). Overview of research on marine invertebrate larvae, 1940-1980. In: Costlow JD, Tipper RC (eds) *Marine Biodeterioration: an Interdisciplinary Study: Proceedings of the symposium on marine biodeterioration*, E ; FN Spon Ltd., London, Uniformed Services University of Health Sciences, p 103-126.

CROFTON, H. D. (1966). *Nematodes*, Hutchinson University Library, London.

DECHO, A. W., FLEEGER, J. W. (1988). Microscale dispersion of meiobenthic copepods in response to food-resource patchiness. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 118, p. 229-243.

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

DIECKMANN, U.; O'HARA, B.; WEISSER, W. (1999). The evolutionary ecology of dispersal. **Trends in Ecology ; Evolution.** n. 14, p. 88–90.

ECKMAN, J. E. (1983). Hydrodynamics processes affecting benthic recruitment. **Limnol. Oceanogr.**n. 28, p. 241-257.

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

FAUST, M. A.; GULLEDGE, R. A. (1996). Associations of microalgae and meiofauna in floating detritus at a mangrove island, Twin Cays, Beliza. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 197, p. 159- 175.

FEGLEY, S. R. . (1985). Experimental studies on the erosion of meiofauna from soft-substrates by currents and waves. **Diss Abstr Int Bsci Eng**, n. 46, p. 174

GERLACH, S. A. (1977). Means of meiofauna dispersal. **Mikrofauna des Meeresbodens**, n. 61, p.89-103.

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

GRAINGER, E. H. MOHAMMED, A. A.; LOVRITY, J. E. (1985). The sea ice fauna of Frobisher Bay, Arctic Canada. **Arctic**. n. 38, p. 23-30.

HARDY, A. C. (1953). Some problems of pelagic life. In: Marshall SM, Orr AP (eds) *Essays in marine biology*, Oliver and Boyd, Edinburgh, p. 101-121.

HAGERMAN JR., G. M.; RIEGER, R. M. (1981). Dispersal of benthic meiofauna by wave and current action in Bogue Sound, North Carolina, USA. **Mar. Ecol.** n. 2, p. 245-270.

HEIP, C.; VINCX, M.; VRANKEN, G. (1985). The ecology of marine nematodes. **Oceanogr Mar Biol Annu Rev.** n. 23, p. 399–489.

HENDELBERG, M.; JENSEN, P. (1993). Vertical distribution of the nematode fauna in a coastal sediment influenced by seasonal hypoxia in the bottom water. **Ophelia**. N. 34, p. 83-94.

HICKS, G. R. F. (1984). Spatio-temporal dynamics of a meiobenthic copepod and the impact of predation-disturbance. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. n. 81, p. 47-72.

HICKS, G. R. F. (1988). Sediment rafting: a novel mechanism for the small-scale dispersal of intertidal estuarine meiofauna. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** n. 48, p. 69-80.

JENSEI, P. (1981). Phyto-chemical sensitivity and swimming behaviour of the free-living marine nematode *Chromadorita tenuis*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** n. 4, p. 203-206.

KERN, J. C.; TAGHON, G. L. (1986). Can passive recruitment explain harpacticoid copepod distributions in relation to epibenthic structure. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 101, p. 1-23.

KNOPPERS, B. A.; BRANDINI, F. P.; THAMM, C. A. (1987). Ecological studies in the bay of Paranaguá. Some physical and chemicals characteristics. **Neritica.** n. 2, p. 1-36.

LANA, P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. (2000). The subtropical estuarine complex of Paranaguá Bay, Brazil. Organizado por SEELIGER, MERICHI, LACERDA, L. D. de; KJERFVE, B. Coastal Marine ecosystems of Latin América. Berlim Heidelberg. p. 60-75.

NOENBERG, M. A.; LAUTERT, L. F.C.; ARAÚJO, A. D.; MARONE, E., ANGELOTTI, R., NETTO JR, J. P. B., KRUG, L. A. (2004). Remote sensing and GIS integration for modeling the Paranaguá Estuarine Complex-Brazil. **Journal of Coastal Research Brazil.** p 39-40.

MARONE, E. ; GUIMARÃES, M. R.; PRATA Jr, V. P.; KLINGENFUSS, M. S. CAMARGO, R. (1995). Caracterização física das condições oceanográficas, meteorológicas e costeiras das zonas estuarinas da Baía de Parabaguá, PR. VI Congresso Latinoamericano de Ciências del Mar, Argentina.

MOENS, T.; VINCX, M. (1997). Observations on the feeding ecology of estuarine nematodes. **J. mar. Biol. Ass. U. K.** n. 77, p. 211-227.

MORRISEY, D. J., HOWITT, L., UNDERWOOD, A. J., STARK, J. S. (1992). Spacial variation in soft-sediment benthos. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 164, p. 233-245.

NAIR, N. B.; KUMAR, K. K.; ARUNACHALAM, M.; ABDUL AZIS, P. K.; DHARMARAJ, K. (1984). Ecology of Indian estuaries: Studies on the zooplankton ecology of Kadinamkulam Backwater. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences. Animal Sciences.** n. 93, p. 573-584.

NEHRING, S. (1992). Die Vegetarier unter den freilebenden Nematoden. **Die Aufwuchsfresser Mikrokosmos**. n. 81, p. 260-266.

PALMER, M. A; BRANDT, R. R. (1981). Tidal variation in sediment densities of marine benthic copepods. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** n. 4, p. 207-212.

PALMER, M. A. (1984). Invertebrate drift: behavioural experiments with intertidal meiobenthos. **Marine Behaviour and Physiology**. N. 10, p. 235-253.

PALMER, M. A; GUST, G. (1985). Dispersal of meiofauna in a turbulent tidal creeks. **Journal of Marine Research**. n. 43, p. 179-210.

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

PINTO, T. K.. AUSTEN, M. C. e BEMVENUTI C.F. (2006). Effects of macroinfauna sediment disturbance on nematode vertical distribution. **J. Mar. Biol.** Printed in the United Kingdom. n 86, p. 227-233.

PLATT, H. M.; WARWICK, R. M. (1983). Free-living Marine Nematodes (Part I British Enoplids) Synopses of the British Fauna (New series) n. 28.

PLATT, H. M.; WARWICK, R. M. (1988). Free-living Marine Nematodes (Part II British Chromadorids) Synopses of the British Fauna (New series) n. 38.

PRITCHARD, D. W. (1952). The physical structure, circulation, and mixing in a coastal plain estuary. Technical Report / Chesapeake Bay Institute, The Johns Hopkins University Technical Report III:1-56.

REINECK, H. E.; SINGH, I. B. (1973). Depositional sedimentary environments. Berlin: Springer-Verlag, p. 439.

RIEGER, R.; OTT, J. (1971). Gezeitenbedingte Wanderungen von Turbellarien und Nematoden eines nordadriatischen Sandstrande.-- **Vie Milieu**. n. 1, p. 425-447.

SHERMAN, K. M.; COULL, B. C. (1980). Density-influenced active dispersal of harpacticoid copepods. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 114, p. 49-71.

SHELTEMA, R. S.; WILLIAMS, I. P. (1983). Long-distance dispersal of planktonic larvae and the biogeography and evolution of some Polynesian and Western Pacific molluscs. **Bulletin of Marine Science**, n. 33, p. 545-565.

SCHRATZBERGER, M; WARWICK, R. M. (1999). Differential effects of various types of disturbances on the structure of nematode assemblages: an experimental approach. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** n. 181, p. 227-236.

SCHRATZBERGER, M; REES, H. L.; BOYD, S. E. (2000). Effects of simulated deposition of dredge material on structure of nematode assemblages – the role of contamination. **Mar. Biol.** N. 136, p. 519-530.

SCHRATZBERGER, M.; WHOMERSLEY, P.; WARR, K.; BOLAM, S. G.; REES, H. L. (2004). Colonisation of various types of sediment by estuarine nematodes via lateral infaunal migration: laboratory study. **Marine Biology** n.145, p.69–78.

SERVICE, S. K.; BELL, S. B. (1987). Density-influenced active dispersal of harpacticoid copepods. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 114, p. 49-62.

SHANKS, A. L. (1995). Mechanisms of cross-shelf dispersal of larval invertebrates and fish. In: McEdward L (ed) *Ecology of marine invertebrates larvae*, CRC Press, Boca Raton, FL. P. 323-367.

SIBERT, J. R. (1981). Intertidal hyperbenthic populations in the Nanaimo Estuary. **Mar. Biol.** n. 64, p. 259-265.

SOMERFIELD, P. J.; WARWICK, R. M. (1996). *Meiofauna in Marine Pollution Monitoring Programmes: a laboratory Manual*. MAFF Directorate of Fisheries Research Technical Series. p. 71.

SUN, B.; FLEEGER, J. W.; CARNEY, R. S. (1993). Sediment microtopography and the small-scale spatial distribution of meiofauna. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** n. 167, p. 73-90.

SUGUIO, K. (1973). Introdução a sedimentologia, Ed. Edgard Blücher LTDA, p.317.

TIETJEN, J. H. (1976). Distribution and species diversity of deep-sea nematodes off North Carolina. **Deep-Sea Res**, n. 23, p. 755-768.

TIETJEN, J. H. . (1980). Microbial-meiofaunal interrelationships: a review. **Microbiology**. n.110, p. 335–338

THISTLE, D.; SHERMAN, K. M. (1985). The nematode fauna of a deep-sea site exposed to strong near-bottom currents. **Deep-Sea Res**. n. 32, p. 1077-1088.

THISTLE, D., LEVIN, L. A. (1998). The effect of experimentally increased near-bottom flow on metazoan meiofauna at a deep-sea site, with comparison data on macrofauna. **Deep-Sea Res**. n. 45, p. 625-638.

ULLBERG, J.; ÓLAFSSON, E. (2003). Effects of biological disturbance by *Monoporeia affinis* (Amphipoda) on small-scale migration of marine nematodes in lowenergy soft sediments. **Marine Biology**, n. 143, p. 867-874.

ULLBERG, J.; ÓLAFSSON, E. (2003). Free-living marine nematodes actively choose habitat when descending from water column. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** n. 260, p. 141-149.

WALLACE, H. R.; DONCASTER, C. C. (1964). A comparative study of the movement of some microphagous, plant-parasitic and animal-parasitic nematodes. **Parasitology**.n. 54, p.313-326.

WARWICK, R. M. . (1971). Nematodes associations in the Exe estuary. **J. Mar Biol Assoc UK**. n. 51, p. 439-454.

YOUNG, C. M. (1995). Behaviour and locomotion during the dispersal phase of larval life. In: McEdwards L (ed) Ecology of marine invertebrate larvae, CRC press, Boca Raton, p 249-277.

WARWICK, R. M., PLATT, H. M.; SOMERFIELD, P. J. (1998). Free-living Marine Nematodes (Part III Monhysterids) Synopses of the British Fauna (New series) n. 53.

WIESER, W. (1953). Die Beziehung zwischen Mundhohlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. **Ark. Zool.** n. 4, p. 439-484.