# ESTRUTURA TRÓFICA DE NEMATOIDES EM FITOTELMATA DE Canistropsis billbergioides E Nidularium procerum (Bromeliaceae) NA FLORESTA ATLÂNTICA: VARIABILIDADE TEMPORAL E EM FUNÇÃO DA ARQUITETURA DA PLANTA

**RENATA RODRIGUES ROBAINA** 

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

AGOSTO – 2015

# ESTRUTURA TRÓFICA DE NEMATOIDES EM *FITOTELMATA* DE Canistropsis billbergioides E Nidularium procerum (Bromeliaceae) NA FLORESTA ATLÂNTICA: VARIABILIDADE TEMPORAL E EM FUNÇÃO DA ARQUITETURA DA PLANTA

### **RENATA RODRIGUES ROBAINA**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Ricardo Moreira de Souza Co-orientador: Vicente Martins Gomes

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ AGOSTO - 2015

# FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 197/2015

# Robaina, Renata Rodrigues

Estrutura trófica de nematoides em *fitotelmata de Canistropsis* billbergioides e Nidularium procerum (Bromeliaceae) na floresta atlântica: variabilidade temporal e em função da arquitetura da planta / Renata Rodrigues Robaina. – 2015.

68 f. : il.

Orientador: Ricardo Moreira de Souza.

Tese (Doutorado - Produção Vegetal) — Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2015.

Bibliografia: f. 41 – 51.

 Nematoides 2. Fitotelmata de bromélia 3. Floresta atlântica 4. Estrutura trófica I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD-632.6257

# ESTRUTURA TRÓFICA DE NEMATOIDES EM *FITOTELMATA* DE *Canistropsis*billbergioides E Nidularium procerum (Bromeliaceae) NA FLORESTA ATLÂNTICA: VARIABILIDADE TEMPORAL E EM FUNÇÃO DA ARQUITETURA DA PLANTA

### **RENATA RODRIGUES ROBAINA**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal

Aprovada em
Comissão examinadora:
Prof. Sérgio Antonio Netto (Ph.D. Ciências Biológicas) - UNISUL
Prof <sup>a</sup> . Elvira Maria Régis Pedrosa (Ph.D. Fitopatologia) - UFRPE
Vicente Martins Gomes (D.Sc. Produção Vegetal)- UENF
Prof. Ricardo Moreira de Souza (Ph.D. Fitopatologia) - UENF Orientador

# **DEDICO**

A Deus;

Ao meu querido esposo Leandro;

Aos meus pais Jairo e Dilma;

Ao meu irmão Rodrigo.

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo amparo ao longo de toda minha vida;

Ao meu esposo, pelo apoio e pela compreensão;

Ao aluno de Iniciação Científica João Pedro Gonçalves, pela participação na execução dos experimentos;

À minha família, pelo apoio, pela confiança e pela compreensão ao longo destes anos:

Ao meu orientador, Ricardo pela confiança, pelo incentivo, pela orientação e pela formação;

Aos integrantes do laboratório de Nematologia;

Aos amigos Denise, Letícia, Anália, Vicente, Vicente Mussi, Alexandre e João Pedro:

A Ralf Belletti Guzzo e Eleonora Sardinha Aguiar, proprietários do sítio São Julião, pela atenção e autorização para trabalhar no sítio;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela bolsa de doutorado e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e ao Laboratório de Entomologia e Fitopatologia, pela oportunidade de realização deste curso.

Muito obrigada.

# SUMÁRIO

	RESUMO	Х					
	ABSTRACT	XII					
1	INTRODUÇÃO	1					
2.	HIPÓTESES						
3.	OBJETIVOS						
4.	REVISÃO DE LITERATURA						
4.1	Floresta atlântica						
4.2	Biodiversidade						
4.3	Características gerais das bromélias						
4.4	Fitotelmata de bromélias						
4.5	Ecologia dos fitotelmata						
4.6	Faunas estudadas em <i>fitotelmata</i>						
4.7	Nematoides como bioindicadores						
5	MATERIAL E MÉTODOS						
5.1	Área de estudo						
5.2	Validação da metodologia amostral						
5.3	Otimização do processamento das amostras	18					
5.4	Estrutura trófica de nematoides: variabilidade						
	temporal e em função da arquitetura da planta	18					
5.5	Análise dos dados	20					
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21					

6.1	Validação da amostragem						
6.2	Otimização do processamento das amostras						
6.3	Estrutura trófica de nematoides: variabilidade						
	temporal e em função da arquitetura da planta						
7	RESUMO E CONCLUSÕES						
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS						

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Abundância cumulativa por grupo trófico de nematoide recuperada de <i>fitotelmata</i> de <i>Canistropsis billbergioides</i> e de <i>Nidularium procerum</i> , em função do número de lavagens e peneiramentos empregados (T1 a T7), em duas épocas de amostragem24
<b>Tabela 2.</b> Ordens, gêneros e grupos tróficos de nematoides encontrados em <i>fitotelmata</i> de <i>Canistropsis bilbergioides</i> e de <i>Nidularum procerum</i> , em área de mata atlântica em Campos dos Goytacazes (RJ), Brasil
<b>Tabela 3.</b> Teste estatístico não paramétrico para a abundância total de nematoides e a abundância por grupo trófico associadas aos diferentes níveis arquitetônicos das bromélias (N) e diferentes épocas de coleta (E), em <i>fitotelmata</i> de <i>Canistropsis billbergioides</i>
<b>Tabela 4.</b> Teste estatístico não paramétrico para a abundância total de nematoides e a abundância por grupo trófico associadas aos diferentes níveis arquitetônicos das bromélias (N) e diferentes épocas de coleta (E), em <i>fitotelmata</i> de <i>Nidularium procerum</i>
<b>Tabela 5.</b> Teste estatístico não paramétrico para a massa seca de matéria orgânica obtida de coletores (C) instalados próximos às bromélias C. bilbergioides e N. procerum, em oito épocas de coleta (E)

# LISTA DE FIGURAS

rigura 1. Localização do Parque Estadual do Desengano (em verde), com os municípios adjacentes (circundados em preto) e rios (em vermelho), no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Fonte: Instituto Estadual do Ambiente – INEA – RJ
<b>Figura 2.</b> Precipitações pluviométricas acumuladas mensais e temperaturas médias mensais de 2012 a 2014, em Campos dos Goytacazes (RJ), Brasil. Círculos indicam as épocas de coleta realizadas nos <i>fitotelmata</i> de <i>C. billbergoides</i> e asteriscos indicam as épocas de <i>N. procerum.</i>
Figure 3- Bromélia <i>Nidularium procerum</i> , com indicação das axilas das folhas nos níveis arquitetônicos superior, mediano e basal amostrados para obtenção da nematofauna
Figura 4. Coletor de serrapilheira instalado na área amostral, confeccionado em um aro metálico acoplado a um cone coletor de pano
<b>Figura 5</b> . Abundância total cumulativa de nematoides recuperados da cisterna de <i>Canistropsis billbergioides</i> , em fevereiro e setembro de 2012 (A e C, respectivamente) e de <i>Nidularium procerum</i> , em abril e outubro de 2012 (B e D, respectivamente), em função do número de lavagens e peneiramentos empregados (T1 a T7). Valores são médias de oito bromélias para cada espécie, em cada época de amostragem22
<b>Figura 6</b> . Número cumulativo de gêneros de nematoides recuperados da cisterna de <i>Canistropsis billbergioides</i> , em fevereiro e setembro de 2012 (A e C, respectivamente) e de <i>Nidularium procerum</i> , em abril e outubro de 2012 (B e D, respectivamente), em função do número de lavagens e peneiramentos empregados (T1 a T7). Valores são médias de oito

bromélias para cada espécie, em cada época de amostragem23
<b>Figura 7.</b> Número de juvenis infectivos (JIs) de <i>Hetehohabiditis</i> sp. recuperados de amostras com 200 espécimens processadas por flutuação, centrifugação e peneiramento em função de diferentes quantidades de caolim acrescentados aos tubos da centrÍfuga. Valores são médias de 6 repetições (tubos de centrífuga) por tratamento26
<b>Figura 8.</b> Comparação de médias de abundância total de nematoides entre os níveis arquitetônicos de <i>Canistropsis billbergioides</i> (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni * < 0,05, ** < 0,01. A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta
<b>Figura 9.</b> Comparação de médias de abundância por grupo trófico entre os níveis arquitetônicos de <i>Canistropsis billbergioides</i> (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni * < 0,05, ** < 0,01. A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta
<b>Figura 10.</b> Comparação de médias de abundância total de nematoides entre os níveis arquitetônicos de <i>Nidularium procerum</i> (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni * < 0,05, ** < 0,01. A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta
<b>Figura 11.</b> Comparação de médias de abundância por grupo trófico entre os níveis arquitetônicos de <i>Nidularium procerum</i> (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni * < 0,05, ** < 0,01. A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta34
<b>Figura 12</b> . Comparação de médias de massa seca de matéria orgânica (g) obtida dos coletores instalados próximos às bromélias <i>C. bilbergioides</i> (em azul) e <i>N. procerum</i> (em vermelho), em diferentes épocas de coleta (E1 a E8). Valores são médias de oito coletores por época de amostragem, para cada espécie de bromélia35
<b>Figura 13.</b> Análise de correlação de Spearman entre as variáveis grupos tróficos e massa seca de serrapilheira, para a espécie <i>Canistropsis bilbergioides</i>

Figura	14.	Análise	de co	rrela	ıção de Spearr	nan er	ntre	e as variá	veis grupos
róficos	е	massa	seca	de	serrapilheira,	para	а	espécie	Nidularium
oroceru	m.								37

#### **RESUMO**

ROBAINA, Renata Rodrigues, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Agosto 2015. **ESTRUTURA** TRÓFICA DE **NEMATOIDES FITOTELMATA** DE Canistropsis billbergioides Ε Nidularium (Bromeliaceae) NA FLORESTA ATLÂNTICA: VARIABILIDADE TEMPORAL E EM FUNÇÃO DA ARQUITETURA DA PLANTA. Ricardo Moreira de Souza.

Os fitotelmata de bromélias são ambientes amplamente estudados do ponto de vista ecológico na sua interação com a macrofauna, podendo também desempenhar papel importante no armazenamento de água, beneficiando a fauna não residente. Devido a essas singularidades e relativa facilidade de manipulação experimental, fitotelmata têm sido amplamente estudados quanto à sua biodiversidade e como microcosmos para teste de hipóteses ecológicas. Contudo, poucos estudos são abordados na sua interação com a microfauna e microrganismos. Portanto, este trabalho teve como objetivos desenvolver uma metodologia não destrutiva para a coleta e o processamento de amostras de nematoides associados a fitotelmata de bromélias e caracterizar a estrutura trófica da nematofauna associada a fitotelmata de duas espécies de bromélias da Floresta Atlântica (F.A). Os estudos foram conduzidos utilizando duas espécies de bromélias (Canistropsis billbergioides e Nidularium procerum) encontradas em fragmentos da Floresta Atlântica no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Para validação da amostragem foram realizadas sete lavagens do fitotelmata. As coletas foram realizadas em 2012, nos meses de fevereiro e setembro para C. billbergioides e abril e outubro para N. procerum. Em cada época, foram amostradas oito bromélias. O método de amostragem básico (tratamento 1 - T1) foi a coleta da água retida no

fitotelma com auxílio de uma pipeta automática. A água foi armazenada em um frasco. T2 consistiu de uma lavagem do mesmo fitotelma e armazenamento da amostra em outro frasco. T3 a T7 consistiram de re-lavagens e sucções sucessivas, em um total de sete amostras para cada uma das oito bromélias amostradas. Definida a metodologia de amostragem, realizou-se a avaliação da estrutura trófica de nematoides em fitotelmata em diferentes épocas. Foram definidas oito épocas de amostragem (E1 a E8) ao longo das estações dos anos para cada espécie de bromélia. Empregando-se a metodologia de coleta definida anteriormente, foram amostradas oito bromélias em cada época. Em cada bromélia, foram coletadas amostras em três níveis arquitetônicos: nas axilas das folhas, nos níveis basal, mediano e superior da planta. Pelos resultados obtidos pela abundância, número acumulativo de gêneros e grupos tróficos, cinco lavagens permitiram uma taxa de recuperação de nematoides significativa. Os gêneros de nematoides que mais se destacaram nos fitotelmata de ambas as espécies de bromélias foram: Helicotylenchus, Criconema entre os fitoparasitas. Os gêneros Tylocephalus e Zullinus entre os bacteriófagos, e Actinca e os Dorylaimus entre os predadores. Houve uma maior abundância de nematoides no fitotelmata N. procerum em comparação a C. billbergioides, sendo a arquitetura da planta um possível fator para essa abundância. Não foi constatada uma correlação significativa entre o aporte de serrapilheira e as espécies de bromélias C. billbergioides e N. procerum. Observouse uma distinção entre as espécies de bromélias, sugerindo que os microcosmos entre as espécies são distintos. Em relação aos níveis do fitotelmata, ocorreu uma diferença limnológica e micro-climática marcante entre os níveis arquitetônicos das plantas que determinam diferenças significativas na nematofauna residente. Variações macro-climáticas ao longo das estações do ano também afetaram a nematofauna do fitotelmata.

#### **ABSTRACT**

ROBAINA, Renata Rodrigues, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. August, 2015. Nematode trophic structure in *phytotelmata* of *Canistropsis bilbergioides* and *Nidularium procerum* (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest: variability related to seasons and plant architecture. Advisor: Ricardo Moreira de Souza

The bromeliad phytotelmata are environments widely studied in the ecological point of view in its interaction with the macrofauna and can also play an important role in water storage, benefiting the non-resident fauna. Because of these singularities and relative ease of experimental manipulation, phytotelmata have been widely studied for its biodiversity and as microcosms for ecological hypotheses test. However, few studies are addressed in their interaction with the microfauna and microorganisms. Therefore, this study aimed to develop a non-destructive methodology for collecting and processing samples of nematodes associated with phytotelmata bromeliads and characterize the trophic structure of nematofauna associated with phytotelmata of two species of bromeliads Atlantic Forest (F.A). The studies were conducted using two species of bromeliads (Canistropsis billbergioides and Nidularium procerum) found in fragments of Atlantic Forest in the state of Rio de Janeiro, Brazil. For verification sampling were carried out seven phytotelmata washes. Samples were collected in 2012, in February and September for C. billbergioides and April and October to *N. procerum*. In every age, were sampled eight bromeliads. The basic sampling method (treatment 1 - T1) was retained in the water collection phytotelmata with the help of an automatic pipette. The water was stored in a flask. T2 consisted of a washing in the same sample storage *phytotelmata* and in another flask. T3 and T7 consisted of successive washes and re-suctions a total of seven samples for each of the eight sampled bromeliads. Set the sampling methodology, there was the

evaluation of trophic nematodes structure in phytotelmata at different epochs. Eight sampling dates have been set (E1 to E8) throughout the seasons of the year for each type of bromeliad. Employing the sampling methodology previously defined eight bromeliads were sampled each season. In each bromeliad, samples were collected in three architectural levels: in the leaf axils in the basal levels, middle and top of the plant. The results obtained by the abundance, cumulative number of genera and trophic groups of five washes nematodes led to a significant recovery rate. The nematode genera that stood out in phytotelmata of both species of bromeliads were Helicotylenchus, Criconema between plant parasites. The Tylocephalus and Zullinus genres among bacteriophages, and Actinca and Dorylaimus between predators. There was a greater abundance of nematodes in phytotelmata N. procerum compared to C. billbergioides, and plant architecture a possible factor for this abundance. It found no significant correlation between litter intake and species of bromeliads C. billbergioides and N. procerum. There was a distinction between species of bromeliads, suggesting that the microcosm between species is distinct. Regarding phytotelmata levels, there was a difference limnological and microclimate between striking architectural levels of the plants that determine significant differences in resident nematofauna. Macroclimatic variations over the seasons also affected nematofauna and the *phytotelmata*.

# 1. INTRODUÇÃO

O bioma Floresta Atlântica (F.A.) é um dos mais ameaçados por distúrbios antrópicos do planeta (Myers *et al.* 2000). Atualmente sua dimensão está reduzida a cerca de 12% da dimensão estimada para o século XVI (Scarano, 2014). Não obstante haja diversas iniciativas governamentais e privadas para a preservação e recuperação da F.A., raros são os estudos abordando as respostas da microbiota a distúrbios antrópicos e à regeneração de matas degradadas. Faltam também investigações sobre o potencial de uso da microbiota como bioindicadores na F.A.

O termo *fitotelma* (phyton= planta, telma= poça) designa um pequeno corpo de água retido em estrutura vegetal viva ou morta. *Fitotelmata* são colonizados por micro-, meso- e macro-organismos, especialistas ou generalistas em relação a este habitat, que apresentam diferentes níveis de relação com o *fitotelma* para sua reprodução, sobrevivência e disseminação. *Fitotelmata* também desempenham papel importante no armazenamento de água, beneficiando a fauna não residente (Kitching, 2000). Devido a essas singularidades e relativa facilidade de manipulação experimental, *fitotelmata* têm sido estudados quanto à sua biodiversidade e como microcosmos para teste de hipóteses ecológicas (Kitching, 2001). Os *fitotelmata* mais estudados são aqueles associados a plantas carnívoras, bambus e bromélias (Bromeliaceae).

Bromélias ocorrem nas mais variadas condições de altitude, temperatura e umidade, e apresentam hábitos terrestres, epífitas, rupícolas e saxícolas (Benzing, 2000). Dependendo da arquitetura da planta, esta pode formar uma cisterna (fitotelma) que armazena até 30 litros de água, com matéria orgânica e a biota associada (Martinelli *et al.* 2008). Conforme a arquitetura da bromélia, a água pode ficar concentrada em uma estrutura tubular formada pelo arranjo quase vertical das folhas ou ficar dispersa nas axilas de todas as folhas.

A maior parte da fauna que habita os *fitotelmata* de bromélias é especialista deste ambiente, principalmente lavras de dípteros e coleópteros (Sicsú, 2011). São encontrados também aracnídeos, colêmbolos, isópodos, quilópodes, formigas, ácaros, moluscos e nematoides (Ulissêa *et al.* 2007). Não obstante os muitos inventários já realizados em diferentes tipos de fitotelmata, são poucos os relatos de nematoides os quais, em geral, são pobremente identificados.

Estudos abordando nematoides em ecossistemas naturais têm revelado a influência desses invertebrados nas taxas de mineralização da matéria orgânica, através da interferência das formas bacteriófagas e micófagas sobre os decompositores primários. Nematoides contribuem também de forma notável no ciclo do nitrogênio (Neher, 2010). Em ambientes naturais antropomizados, nematoides são utilizados como indicadores de poluição e outros distúrbios em solo e ecossistemas de água doce e marinhos, com vantagens em relação ao monitoramento físico-químico ou de outros invertebrados (Wilson e Kakouli-Duarte, 2009).

Portanto, considerando-se a abundância e diversidade do filo Nematoda e sua sensibilidade a variações ambientais, acredita-se que a nematofauna tem potencial como bioindicadora na F.A. Mais especificamente, hipotetiza-se que a nematofauna associada à *fitotelmata* de bromélias é um subgrupo interessante para tais estudos, porque i) bromélias são o segundo grupo botânico mais diverso da F.A. e o mais abundante (Goffredi *et al.* 2011), ii) há indicações de que bromélias são sensíveis a distúrbios antrópicos (Hoeltgebaum, 2003) e iii) cada bromélia constitui um microcosmo, o que define o espaço amostral. O objetivo geral desta tese foi caracterizar a nematofauna associada à *fitotelmata* de bromélias em área preservada de F.A., como um passo inicial para se testar a hipótese acima.

Para a caracterização da biota associada a *fitotelmata* de bromélias, é frequente retirar-se a planta do local e destacar-se todas as suas folhas em

laboratório, coletando-se os organismos presentes na cisterna e bainhas das folhas. Entretanto, em áreas de preservação a legislação ambiental pode não permitir a retirada de bromélias, como no Parque Estadual do Desengano, local escolhido para este estudo. Portanto, preliminarmente procedeu-se à otimização da metodologia de coleta da nematofauna porque i) há dificuldade de retirada total da água do interior das cisternas, cujo volume pode ser pequeno durante a estação seca, ii) há pouco espaço disponível entre as bainhas das folhas para inserção de equipamentos de sucção, e iii) com frequência há entupimento destes equipamentos pela grande quantidade de matéria orgânica depositada na cisterna.

Em conclusão, esta tese teve como objetivo desenvolver uma metodologia não destrutiva para a coleta e o processamento de amostras de nematoides associados à *fitotelmata* de bromélias e caracterizar a estrutura trófica da nematofauna associados a *fitotelmata* de duas espécies de bromélias da F.A. Esta caracterização enfatizou a variabilidade temporal em função de variáveis climáticas e a variabilidade em função da arquitetura das plantas.

# 2. HIPÓTESES

**Hipótese 1:** Ocorrem variações na estrutura trófica de nematoides em *fitotelmata* de bromélias ao longo das estações do ano, em resposta a variações climáticas.

**Hipótese 2**: Há diferenças na estrutura trófica de nematoides em *fitotelmata* de bromélias em função dos níveis arquitetônicos das plantas, e entre distintas espécies de bromélias.

**Hipótese 3:** Há predominância dos grupos tróficos bacteriófago e micófago nos *fitotelmata* de bromélias.

### 3. OBJETIVOS

# 3.1. Objetivo Geral

Caracterizar a nematofauna associada aos *fitotelmata* de *Canistropsis billbergioides* e *Nidularium procerum* (Bromeliaceae) em área de Floresta Atlântica no Rio de Janeiro.

# 3.2. Objetivos Específicos

Desenvolver uma metodologia não destrutiva para a coleta e o processamento de amostras de nematoides associados a *fitotelmata* de bromélias da Floresta Atlântica.

Caracterizar a estrutura trófica da nematofauna associada a *fitotelmata* de ambas as espécies de bromélias, examinando variações em função de variáveis climáticas e em função da arquitetura das plantas.

# 4. REVISÃO DE LITERATURA

# 4.1. FLORESTA ATLÂNTICA

A F.A. é um dos biomas de maior biodiversidade do planeta, sendo considerado um dos principais "hotspot" para estudos científicos e esforços de conservação (Galindo e Câmara, 2005; Stehmann *et al.* 2009). Os impactos causados por diferentes ciclos de produção econômica (garimpo, agricultura, pecuária, indústria e turismo) e pela urbanização foram os principais responsáveis pela diminuição da sua área.

Além de sua importância como repositório de variabilidade genética em inúmeros grupos taxonômicos, a F.A. presta inúmeros serviços ambientais à sociedade brasileira, provendo áreas de turismo e lazer e servindo como fonte de: a) matéria-prima para a indústria farmacêutica, b) sustento de diversas comunidades tradicionais, e c) equilíbrio do clima e das bacias hidrográficas que abastecem cerca de 70% da população brasileira. A F.A. também colabora com a agricultura, provendo polinizadores de culturas agrícolas em abundância e reduzindo a incidência de pragas e doenças (Maia, 2005).

A F.A. apresenta um conjunto de ecossistemas com processos ecológicos interligados. As formações do bioma são as florestas Ombrófila Densa, Ombrófila

Mista (Mata de Araucárias), Estacional Semidecidual e Estacional Decidual e os ecossistemas associados, como manguezais, restingas, brejos interioranos, campos de altitudes, ilhas costeiras e oceânicas (Suhogusoff, 2006).

A conservação da F.A. enfrenta grandes desafios. O bioma apresenta altos índices de biodiversidade e de endemismo, mas encontra-se em situação crítica de alteração de seus ecossistemas naturais. Seus domínios abrigam 70% da população brasileira e concentram as maiores cidades e os grandes pólos industriais do Brasil. As áreas de F.A. ainda hoje bem preservadas estão localizadas basicamente em escarpas muito íngremes ou em altitudes elevadas, onde a prática agrícola ou madeireira se torna inviável, além de outras poucas áreas de preservação ambiental (Ministério do Meio Ambiente, 2010).

#### 4.2. BIODIVERSIDADE

Os termos biodiversidade ou diversidade biológica vêm do grego *bios*, que significa vida. Assim, biodiversidade é a diversidade de seres vivos do planeta. Desde 1986, estes termos vêm tendo largo uso por biólogos, ambientalistas, líderes políticos e cidadãos de todo o mundo. Este uso coincidiu com o aumento da preocupação com a extinção de espécies observada nas últimas décadas do século XX (Collin, 1997).

A importância da biodiversidade relaciona-se aos seus serviços ambientais, como a ciclagem de nutrientes e regulação do clima, manutenção da estrutura e das funções ecológicas dos solos e corpos de água, e produção de matéria-prima para a agricultura e pecuária (Wilson, 1994). O grande valor da biodiversidade justifica investimentos visando à sua conservação, sobretudo em razão do seu potencial para a biotecnologia, especialmente na engenharia genética, e para a geração de novas culturas alimentícias e industriais. Portanto, a biodiversidade também traz benefícios econômicos, o que representa mais um incentivo à sua conservação (Solbrig, 1996).

A biodiversidade é afetada indiretamente quando se utilizam combustíveis fósseis e lenha como fonte de energia, quando se alteram cursos de rios ao se construir represas para geração de energia ou para o abastecimento de água, com a introdução de espécies exóticas, acidentalmente ou intencional, as quais reduzem a biodiversidade, e quando destroem barreiras naturais e fragmentos de

florestais que são habitats específicos de certas plantas e animais (Rosique e Barbieri, 1992).

Outro fator que afeta a diversidade das espécies é a geração cada vez maior de produtos químicos tóxicos, como de metais pesados (principalmente mercúrio, cádmio e cobre) e compostos orgânicos. Vários poluentes acumulam-se no solo e nos corpos de água, enquanto que alguns, como metano e clorofluorcarbono, vão para a atmosfera.

## 4.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS BROMÉLIAS

A família Bromeliacea é diversificada, compreendendo cerca de 3.172 espécies distribuídas em 44 gêneros (Luther, 2008). Todos estes gêneros e 1.207 espécies ocorrem no Brasil. Destas, 1.030 espécies são endêmicas (Forzza *et al.* 2014). Essas espécies são encontradas nas mais variadas condições de altitude, temperatura e umidade, apresentando hábitos terrestres, epífitas, rupícolas e saxícolas. No estado do Rio de Janeiro, a F.A. é o local de maior ocorrência de bromélias, onde apresenta maior diversidade genérica e maior nível de endemismo específico. Na F.A. já foram registrados 31 gêneros, 803 espécies e 150 taxas infraespecíficos, sendo 653 destas espécies endêmicas (Martinelli *et al.* 2008).

As bromélias são muito importantes em florestas pela contribuição ao ciclo de nutrientes, pela sua produção primária e pela armazenagem de água. Muitas espécies de bromélias possuem folhas fortemente entrelaçadas, formando tanques que propiciam acúmulo de água e detritos orgânicos, criando microcosmos aquáticos naturais, os chamados *fitotelmata* (Jabiol *et al.* 2009). Esses ambientes fornecem micro-habitat favorável ao desenvolvimento de inúmeros organismos, incluindo protistas, invertebrados e vertebrados (Ambruster *et al.* 2002). Além de sua importância na dinâmica ambiental, as bromélias têm sido muito usadas em floricultura e paisagismo por sua riqueza em exemplares de rara beleza e diversidade de cores (Matteo *et al.* 2002). Em função da grande procura pelas bromélias de valor ornamental, o extrativismo tem se intensificado nos últimos anos, o que vem causando o declínio das populações naturais de algumas espécies.

Economicamente, somente o abacaxi [Ananas comosus (L.) Merril] destaca-se, sendo a única espécie cultivada extensivamente como fonte de alimento. Além de ser uma fruta popular, o abacaxi contém bromelina, uma enzima que os protege do ataque por larvas de insetos, a qual apresenta grande valor comercial e cujo uso se encontra em ascensão devido à sua aplicabilidade na indústria farmacêutica pela sua atividade anti-helmíntica, anti-inflamatória e anticancerígena. Na indústria alimentícia, a bromélia é utilizada como amaciante de carnes vermelhas, hidrolizante de complexos proteína-taninos na produção de cerveja, pães, leite de soja e ovos desidratados (Bezerra, 1997).

# 4.4 FITOTELMATA DE BROMÉLIAS

As bromélias formadoras de tanque (cisternas) formam micro-habitat denominado de *fitotelma* (plural, *fitotelmata*), palavras que têm origem do grego 'phyton' (planta) e 'telm' (poça), ou seja, pequenos corpos de água retidos em estruturas vegetais (Lanzarini, 2010). Esses servem como habitat para uma fauna de invertebrados terrestres e aquáticos diversificada, onde as formas imaturas são predominantes (Maguire, 1971). Segundo Hadel (1989), o termo *fitotelmata* foi criado por Varga (1928) e reutilizado por Maguire (1971), conceituado como pequenos poços de água (micro habitats aquáticos) armazenados em uma estrutura vegetal terrestre, sendo as bromélias um dos melhores exemplos deste tipo de ambiente (Maguire, 1971; Laessle, 1961). Os *phytotelmata* acumulam detritos orgânicos, formando um micro "ambiente limnológico isolado" para inúmeras espécies de animais e plantas, os quais vivem em um tipo de relação simbiótica, onde a comunidade associada fornece nutrientes para essas plantas (Por *et al.*, 1992).

Os fitotelmata das bromélias-tanque são notadamente abundantes e diversos em regiões de florestas tropicais úmidas, devido à alta pluviosidade dessas regiões. A capacidade de acumular água está relacionada à forma de cone invertido e com a disposição espiralada das folhas (Rocha et al. 2004), resultado de um processo evolutivo que possibilitou a estas espécies adaptarem—se e sobreviverem em habitats com as mais variadas condições ambientais (Zotz e Thomas 1999). De acordo com Vidal (2009), as comunidades encontradas em fitotelmata são modelos de estudo largamente usados em trabalhos que

investigam os fatores que regulam a estrutura de comunidades, por serem simples, pequenos e de manipulação experimental relativamente fácil.

Estudos realizados por Frank (1983) registraram 470 espécies de organismos aquáticos em *fitotelmata* de bromélias, incluindo animais vertebrados (anfíbios). Desde então, vários trabalhos têm sido realizados em diversos países, como Colômbia, Costa Rica, Porto Rico, Panamá, Trinidad e Tobago, Brasil e Estados Unidos, com o intuito de inventariar a fauna de *fitotelmata*. O número de organismos relatados vem aumentado com novos taxa sendo registrados (Sepka, 2008).

Segundo Siscú (2011), a maior parte da fauna que habita o *fitotelmata* é específica desse ambiente, formada principalmente por larvas de dípteros, coleópteros. São encontrados outros grupos de organismos, tais como algas, bactérias, ortópteros, nematoides, baratas, oligoquetas, crustáceos, hirudíneos, fungos, miriápodes, aracnídeos, colêmbolos, ácaros, isópteros, moluscos, formigas e diversas formas imaturas de insetos aquáticos.

### 4.5. ECOLOGIA DOS FITOTELMATA

As bromélias-tanque são integrantes importantes para os ecossistemas em que estão inseridas, principalmente naqueles onde há pouca água livre disponível, tais como as restingas (Rocha et al. 2004). Os fitotelmata são, portanto, um habitat que contém distintas comunidades aquáticas e armazenam serrapilheira, invertebrados imaturos e mortos, fornecendo um habitat aquático para as espécies (Carrias et al. 2001). Desse modo, a presença de bromélias-tanque nas florestas favorece a diversificação das interações com espécies vegetais e animais. Essa complexidade ecológica estabelece também uma variedade de compartimentos e gradientes para comunidades de animais (Richardson, 1999). Dentre os usos possíveis, listam-se forrageamento, abrigo para reprodução, refúgio contra predadores e reservatórios de água para animais em épocas de seca (Romero, 2010).

Segundo Zotz e Thomas (1999), a importância das bromélias-tanque como fonte de água e de umidade pode ser mais bem compreendida se fatores como a capacidade de retenção de água, a geometria e o tamanho da roseta, forem levados em consideração. A água efetivamente encontrada no interior do

vaso de bromélias-tanque, em qualquer momento, é basicamente função de dois elementos: I) da arquitetura da planta, que determina a eficiência na capacidade de reserva e afeta a taxa de evaporação da água retida e, II) do clima local, que determina a quantidade de chuva, a taxa de insolação e a taxa de evaporação (Rocha *et al.* 2004). Dessa forma, apesar da roseta da bromélia possuir uma capacidade máxima de armazenamento de água em seu interior (volume máximo armazenável), este é afetado pelas condições climáticas, sofrendo uma redução para o volume efetivamente existente.

As variações inter e intraespecíficas na estrutura e na arquitetura das bromélias-tanques podem resultar em diferenças no volume de água armazenado. Desta forma, é de ser esperar que o volume máximo de água varie entre espécies em um mesmo habitat e entre populações de uma determinada espécie em diferentes habitats (Cogliatti *et al.* 2001).

#### 4.6 FAUNAS ESTUDADAS EM FITOTELMATA

Segundo Gering e Crist (2002), uma das principais abordagens da Ecologia é o estudo dos processos locais e regionais e a estruturação das comunidades. Esses processos locais são as interações interespecíficas.

Existem vários trabalhos que abordam faunas que vivem em interação com as bromélias-tanque; entre estas, associações entre aranhas e brómelias são muito comuns, podendo até ocorrer interações mutualísticas entre estes organismos (Romero *et al.* 2008). A predação é outra relação bem estudada, pois é capaz de exercer efeitos contrastantes na comunidade. Os predadores podem extinguir algumas espécies de presas, modificando a composição local das comunidades (Vidal, 2009).

Segundo Frank e Lounibos (2009), as ninfas de libélulas (Odonata: Zygotera) são predadoras aquáticas generalistas. A sua dieta inclui larvas de dípteros que vivem em abundância nos *fitotelmata* (Frank e Lounibos 2009). De acordo com Fincke *et al.* (1999), os indivíduos de Odonata recém-eclodidos se alimentam de microinverteberados e, em poucas semanas, se alimentam de larvas de mosquitos, girinos, larvas de moscas e besouros. Assim, as ninfas de Zygoptera podem usar diversos recursos como alimento. No entanto, a pressão de predação pode estar igualmente distribuída entre as presas. Dessa maneira,

nenhuma das espécies de presas teria maior probabilidade de extinção (Vidal, 2009).

Entre as relações de animais estudados nos fitotelmata, existe um grupo de invertebrado pouco estudado: os nematoides. Trabalhos que citam os nematoides, mesmo que de forma muito superficial, são poucos (Zullini, 1977, Mestre et al. 2001; Armbruster et al. 2002). Mestre et al. (2001), ao amostrar 36 bromélias da espécie *Vriesea inflata*, sendo cinco terrestres e cinco epífitas, no Estado do Paraná, verificaram apenas a Classe Adenophorea associada à *V. inflata* terrestre. Contudo, este trabalho utilizou peneiras de abertura de 1 mm, a qual não é adequada para uma amostragem da comunidade de nematoides. Quisado (2013) identificou em *fitotelmata* de *Nepenthes* spp. os gêneros *Molgolaimus*, *Actinonema*, *Dominicactinolaimus*, *Paractinolaimus*, *Tylocephalus*, *Plectus*, *Anaplectus*, *Tripylella*, *Pelodera* e um táxon da família Dorylaimidae. Em *fitotelmata* de troncos de árvores foram identificadas 29 espécies de nematoides bacteriófagos, micófagos e predadores, sendo as espécies mais comuns *Plectus cirratus*, *P. accuminatus* e *Aphelenchoides parietinus* (Ptatscheck e Traunspurger, 2014).

Bert *et al.* (2003) registraram a descoberta de uma nova espécie de nematoide *Baujardia mirabilis*, encontrados em vários *fitotelmata de Nepenthes mirabilis*, na Tailândia. Sota *et al.* (1998), estudando a estrutura de comunidades em *fitotelmata* de *Nepenthes alata* em Sumatra Ocidental, registraram a ocorrência de espécies de nematoides, sendo esses não identificados.

Portanto, novos estudos são necessários para ampliar o conhecimento da fauna de nematoides associados à Bromeliaceae na F.A., e a importância sobre a diversidade e estrutura das comunidades e populações da microfauna na F.A.

#### 4.7 NEMATOIDES COMO BIOINDICADORES

Os nematoides constituem um diverso grupo de invertebrados, abundantes como parasitas ou na forma de vida livre no solo, em ambientes aquáticos ou marinhos. Existem mais de 28.000 espécies descritas, representando somente uma pequena porção dentro do Filo Nematoda. Cerca de 26% dos gêneros descritos habitam o solo sob diferentes grupos funcionais: bacterívoros, fungívoros, onívoros,

predadores ou fitoparasitas. A umidade do solo e outros fatores ambientais afetam diretamente a sobrevivência dos nematoides (Cares e Huang, 2008).

Os nematoides apresentam grande potencial para utilização como indicadores da biodiversidade e para se avaliar o impacto de mudanças no uso do solo (Santana e Bahia Filho, 1998). Isto se deve, primeiramente, porque estes organismos têm uma cutícula permeável, o que lhes permite responder a poluentes. Em segundo lugar, alguns nematoides resistentes têm fases que lhes permitem sobreviver, em dormência, durante condições ambientais desfavoráveis para o desenvolvimento. No entanto, alguns *taxa*, tais como Dorylaimidae, não têm fases de resistência, o que os torna mais sensíveis às alterações ambientais (Neher, 2010).

Assim, esta sensibilidade, juntamente com outras características, faz dos nematoides bons candidatos a bioindicadores da qualidade de um ecossistema, pois possuem atributos importantes de alguns bioindicadores: abundância em praticamente todos os ambientes, diversidade de estratégias da vida, variedade trófica, curto ciclo de vida e procedimentos de amostragem relativamente bem definidos. Por estas razões, muitos pesquisadores têm procurado desenvolver relações entre a estrutura da comunidade de nematoides e sucessão de ecossistemas naturais ou distúrbio ambiental (Kimenju *et al.* 2009).

Muitos poluentes são introduzidos no ambiente aquático, alguns dos quais se acumulam nos sedimentos. Nestes ambientes são poucos os estudos com invertebrados da meiofauna (nematoides, rotíferos, oligoquetas), raramente examinados em ecossistema de água doce. A grande diversidade da meiofauna e a dificuldade para identificação taxonômica são, provavelmente, as razões por terem sido menos estudados.

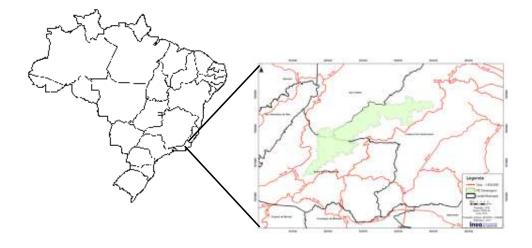
Para uma avaliação global do risco ambiental em sedimentos de água doce, microfauna, meio fauna e macrofauna bentônica, são necessários mais estudos de águas poluídas. Entre os organismos da meiofauna, os nematoides são o grupo dominante na maioria dos lagos e rios (Anderson, 1992). Os nematoides também têm várias características que são vantajosas para estudos toxicológicos. Os nematoides compreendem moradores intersticiais e escavadores, que representam diferentes níveis tróficos, com espécies que se alimentam de bactérias, algas, fungos e plantas superiores, além de onívoros e espécies predadoras (Yeates *et al.* 1993). Os nematoides desempenham um importante papel nas teias alimentares bentônicas por causa da sua elevada

abundância, diversidade e tipos de alimentação como, por exemplo: bactérias, protozoários e fungos (Giere, 2009).

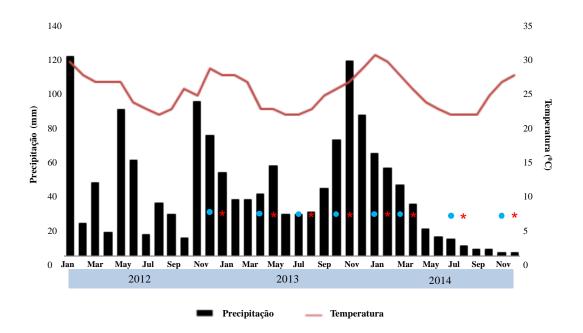
# 5. MATERIAL E MÉTODOS

# 5.1. Área de estudo

O estudo foi realizado na fazenda São Julião (21°48'336" de latitude sul e 41°38'317" de longitude oeste), no entorno do Parque Estadual do Desengano, Campos dos Goytacazes, Brasil (Fig. 1). A vegetação é do tipo floresta ombrófila densa submontana, e o clima quente e úmido é do tipo Af (Köppen). Em 2012 os dados das precipitações pluviométricas acumuladas mensais e temperaturas médias mensais foram coletados de estação meteorológica do INMET, localizada cerca de 15 Km em linha do local das coletas reta (http://www.inmet.gov.br/portal). Em 2013 e 2014 a coleta de dados foi local, através de pluviógrafo e sensor de temperatura Watchdog® acoplado a um datalogger (Fig. 2).



**Figura 1**. Localização do Parque Estadual do Desengano (em verde), com os municípios adjacentes (circundados em preto) e rios (em vermelho), no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Fonte: Instituto Estadual do Ambiente – INEA – RJ.



**Figura 2.** Precipitações pluviométricas acumuladas mensais e temperaturas médias mensais de 2012 a 2014, em Campos dos Goytacazes (RJ), Brasil. Círculos indicam as épocas de coleta realizadas nos *fitotelmata* de *C. billbergoides* e asteriscos indicam as épocas de *N. procerum*.

# 5.2. Validação da Metodologia Amostral

Foram selecionadas duas espécies de bromélias, *Canistropsis billbergioides* (Schult.f.) Leme e *Nidularium procerum* Lindm, de ampla ocorrência, de hábito rupestre e formadoras de *fitotemata*. Estas bromélias são abundantes na área de estudo e formam vários grupos de indivíduos ("moitas") separados de outras espécies. As moitas selecionadas estavam localizadas ao longo de 300 metros de um curso d'água.

As coletas foram realizadas em 2012, nos meses de fevereiro e setembro para *C. billbergioides* e abril e outubro para *N. procerum*.

Coletou-se água dos *fitotelmata* de bromélias, sendo oito bromélias por espécie, com sete tratamentos por planta. O método de amostragem básico (tratamento 1 - T1) foi a coleta da água retida no *fitotelma* (todas as axilas das folhas) com auxílio de uma pipeta automática acoplada a uma ponteira de 25 cm. A amostra foi passada em peneiras acopladas de aberturas de 0,250 mm e 0,025 mm, e o material retido na malha de 0,025 mm foi recolhido e acondicionado em recipientes plásticos de 50 ml, devidamente etiquetados. O tratamento T2 consistiu de uma lavagem do mesmo *fitotelma* com cerca de 100 mL de água, aplicada sob pressão com uma pisseta, com o intuito de ressulpender a matéria orgânica e a biota do *fitotelma*. A seguir, a água foi coletada, peneirada e armazenada como descrito acima. Os tratamentos T3 a T7 consistiram de relavagens e sucções sucessivas, em um total de sete amostras para cada uma das oito bromélias amostradas, utilizando-se a mesma metodologia descrita anteriormente. A água de lavagem das bromélias era tratada e livre de nematoides, sendo carregada em pulverizadores costais até o local da coleta.

As 56 amostras foram individualmente processadas por peneiramento (utilizando-se a malha de 0,025 mm de abertura) e centrifugação, a 760,24 G por 3 min e 190,06 G por 2 minutos. Após o processamento, cada amostra resultante foi observada individualmente (todo o volume), utilizando-se lâmina de Peters ao microscópio estereoscópico. Avaliou-se a abundância total cumulativa de nematoides, e número cumulativo de gêneros e a abundância cumulativa por grupo trófico, de T1 a T7.

Para a distinção dos gêneros foram empregadas chaves taxonômicas de apoio: Jairajpuri e Ahmad (1992), Hunt (1993), Siddiqi (2000), De Ley *et al.* 

(2003), Abebe e Traunspurger (2006) e Geraert (2008). Com base na morfologia das regiões esofageana e bucal adotou-se a nomenclatura dos grupos tróficos de Yeates *et al.* (1993) e Moens *et al.* (2008): micófago, bacteriófago, predador, fitoparasito e ingestores de eucariotos unicelulares.

# 5.3. Otimização do processamento das amostras

Cerca de 2 L de água coletada de *fitotelmata* de bromélias imperial [*Alcantarea imperialis* (Carrie) Harms] foram passados em peneiras de abertura de 0,250 mm, coletados e acondicionados em um balde. A seguir, várias alíquotas de 5 mL foram vertidas em placa de Petri e observadas ao microscópio óptico invertido, para confirmação da ausência de nematoides. A seguir, foram preparadas 48 amostras de 30 mL em tubos de centrífuga, às quais foram adicionados 200 juvenis infectantes (JIs) de *Heterorhabditis* sp (Nematoda: *Heterorhabditidae*) por amostra. Às amostras foram adicionadas diferentes quantidades (tratamentos) de caolim, com seis repetições (tubos) por tratamento: 0,03, 0,06, 0,12, 0,25, 0,5, 1,0 ou 2,0 g. Amostras sem adição de caolim serviram como controle. As amostras foram processadas conforme descrito acima. Para a contagem dos JIs recuperados, as amostras foram observadas individualmente, em sua totalidade, em lâmina de Peters ao microscópio estereoscópico.

# 5.4. Estrutura trófica de nematoides: variabilidade temporal e em função da arquitetura da planta

Foram definidas oito épocas de amostragem (E1 a E8) ao longo das estações dos anos para cada espécie de bromélia: *C. billbergioides* foi amostrada em dezembro de 2012, abril, julho e outubro de 2013, janeiro, março, julho e novembro de 2014. *N. procerum* foi amostrada em janeiro, maio, agosto e novembro de 2013, fevereiro, abril, agosto e dezembro de 2014.

Empregando-se a metodologia de coleta definida no item acima (5.2) foram amostradas oito bromélias em cada época de coleta. Após a amostragem, as bromélias eram etiquetadas, evitando-se assim a reamostragem até o término dos estudos. Em cada bromélia, foram coletadas amostras em três níveis arquitetônicos: nas axilas das folhas nos níveis basal, mediano e superior da

planta (Fig. 3), mantendo-se sempre esta ordem de coleta para não ocorrer transbordamento da amostra entre os níveis.

Utilizando-se a metodologia de processamento das amostras definida no item acima (5.3), as 24 amostras coletadas em cada época foram processadas separadamente. Para a contagem e identificação dos nematoides, todo o volume das amostras resultantes foi observado em placas de Petri em microscópio invertido. Foram computadas a abundância total de nematoides e a abundância por grupo trófico.



**Figura 3-** Bromélia *Nidularium procerum*, com indicação das axilas das folhas nos níveis arquitetônicos superior, mediano e basal amostrados para obtenção da nematofauna.

Devido à impossibilidade de retirada das bromélias do Parque Estadual do Desengano, o aporte de serrapilheira nos *fitotelmata* foi estimado instalando-se coletores (Fig.4) confeccionados com um aro metálico (0,2 m² de área) acoplado a um cone coletor de pano de 1 m de profundidade. Dezesseis coletores foram posicionados na área amostral a 1,6-1,8 metros de altura, próximos às bromélias. A cada época de amostragem, todo o material orgânico coletado foi recolhido, seco em estufa por 72 horas a 45°C, pesado e expresso como massa seca de matéria orgânica (MSMO), em gramas.



**Figura 4**- Coletor de serrapilheira instalado na área amostral, confeccionado com um aro metálico acoplado a um cone coletor de pano.

#### 5.5. Análise dos Dados

Os dados para validação da metodologia de amostragem e processamento das amostras foram submetidos à análise de regressão utilizandose o programa R (<a href="http://www.r-project.org">http://www.r-project.org</a>). Os dados relativos à estrutura trófica de nematoides em função de variáveis climáticas e da arquitetura das plantas foram analisados pelo programa R (<a href="http://www.r-project.org">http://www.r-project.org</a>). A análise de variância não paramétrica (Anova-type statistic) e as diferenças entre os níveis arquitetônicos das bromélias foram analisadas pela barra de erro calculado pelo boostrap em 95% de probabilidade (10.000 reamostragens) e pelo teste de Bonferroni.

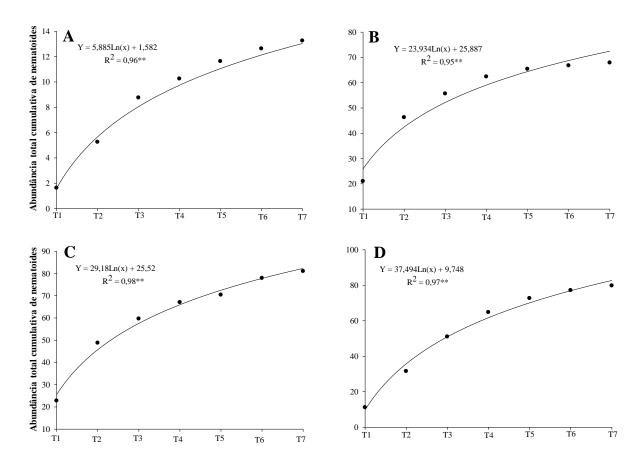
## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. Validação da amostragem

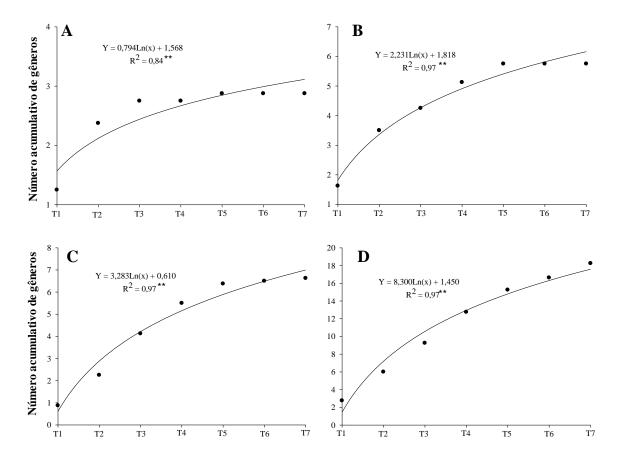
A Fig. 5 mostra, para ambas as espécies de bromélias e ambas as épocas de amostragem, que a simples sucção da água contida no *fitotelma* (T1) recuperou apenas uma pequena parte da nematofauna. Provavelmente, a maior parte dos nematoides vive em meio às partículas de matéria orgânica de pequenas dimensões depositadas no pequeno espaço existente na axila das folhas. A abundância total cumulativa de nematoides recuperados aumentou consideravelmente com sucessivas lavagens do *fitotelma* com água aplicada sobre pressão (T2 a T7), a qual ressuspendeu a matéria orgânica e a nematofauna, permitindo a sua sucção. A maior recuperação da microbiota de *fitotelmata* de bromélias através de lavagens e sucções já fora sugerida como método não destrutivo por Jocque *et al.* (2010).

As curvas de recuperação da nematofauna apresentam uma tendência ao nivelamento entre T5 e T7, em particular para *N. procerum*, independente das diferenças na abundância de nematoides entre as espécies de bromélias e entre as épocas de amostragem. Isto sugere que uma saturação do método de amostragem possivelmente ocorreria a partir de nove ou 10 lavagens e sucções sucessivas.

No que se refere ao número cumulativo de gêneros recuperados (Fig. 6), observou-se uma saturação do método de amostragem no T5, com exceção da amostragem feita em *N. procerum* em outubro de 2012. As curvas de acumulação mostraram-se similares independentes das diferenças de riqueza entre as espécies de bromélias e entre as épocas de amostragem. No que se refere à abundância cumulativa por grupo trófico (Tabela 1), houve saturação do método de amostragem em T5 para quase todas as curvas. Coletivamente, esses resultados levaram os autores a adotar T5 como o método padrão para o presente estudo.



**Figura 5**. Abundância total cumulativa de nematoides recuperados da cisterna de *Canistropsis billbergioides*, em fevereiro e setembro de 2012 (A e C, respectivamente) e de *Nidularium procerum*, em abril e outubro de 2012 (B e D, respectivamente), em função do número de lavagens e peneiramentos empregados (T1 a T7). Valores são médias de oito bromélias para cada espécie, em cada época de amostragem.



**Figura 6**. Número cumulativo de gêneros de nematoides recuperados da cisterna de *Canistropsis billbergioides*, em fevereiro e setembro de 2012 (A e C, respectivamente) e de *Nidularium procerum*, em abril e outubro de 2012 (B e D, respectivamente), em função do número de lavagens e peneiramentos empregados (T1 a T7). Valores são médias de oito bromélias para cada espécie, em cada época de amostragem.

#### 6.2. Otimização do processamento das amostras

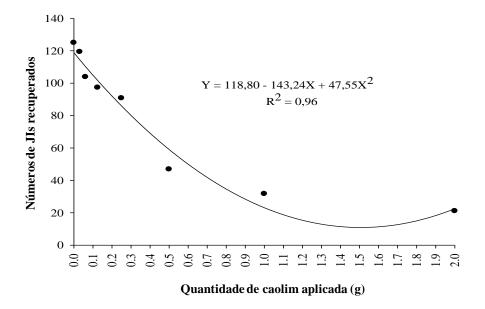
O processamento sem adição de caolim aos tubos de centrífuga apresentou cerca de 60% de eficiência na recuperação dos JIs de *Heterorhabditis* sp. (Fig. 7). Não obstante tenha-se observado uma relação direta entre as doses de caolim aplicadas aos tubos da centrífuga e o clareamento das amostras pósprocessamento, houve uma perda crescente na recuperação dos JIs. Portanto, para o presente estudo, optou-se por não acrescentar caolim às amostras em processamento.

**Tabela 1.** Abundância cumulativa por grupo trófico de nematoide recuperada de *fitotelmata* de *Canistropsis billbergioides* e de *Nidularium procerum*, em função do número de lavagens e peneiramentos empregados (T1 a T7), em duas épocas de amostragem.

Grupos				Lavagens				Eq.	$\mathbb{R}^2$
Tróficos	T1	T2	Т3	T4	T5	Т6	T7		K
Canistropsis billbergioid	des – Fevereiro	0/2012						2,12	
Bacteriófagos	0,88	1,75	2,00	2,13	2,13	2,13	2,13	$y = \frac{2712}{1 + exp^{(x-1,18)/0,54)}}$	0,99
Predadores	0,38	3,25	6,63	8,13	10,13	10,38	10,38	$y = \frac{10,37}{1 + exp^{(x-2,68)/0,76)}}$	0,99
Canistropsis billbergioid	des – Setembro	0/2012							
Bacteriófagos	2,38	3,63	6,38	7,88	8,50	9,00	9,75	$y = \frac{9,61}{1 + exp^{(x-2,38)/1,13)}}$	0,98
Predadores	0,75	1,38	3,50	4,88	5,25	5,63	5,63	$y = \frac{5,62}{1 + exp^{(x-2,10)/0,76)}}$	0,99
Ingestores	0,13	0,50	0,63	0,88	0,88	0,88	1,00	$y = \frac{0.93}{1 + exp^{(x-2,16)/0,83)}}$	0,96
Micófagos	0,25	1,25	1,63	1,88	2,25	2,25	2,25	$y = \frac{2,23}{1 + exp^{(x-2,10)/0,79)}}$	0,96

Nidularium procerum –	Abril/2012								
Bacteriófagos	16,50	33,13	39,63	44,88	47,25	48,13	48,63	$y = \frac{48,01}{1 + exp^{(x-1,47)/0,86)}}$	0,99
Predadores	0,38	1,63	1,88	2,50	2,50	2,63	2,63	$y = \frac{2,58}{1 + exp^{(x-1,92)/0,71}}$	0,96
Ingestores	0,63	0,75	1,25	1,25	1,25	1,50	1,50	$y = \frac{1,51}{1 + exp^{(x-1,60)/1,43}}$	0,92
Micófagos	3,25	10,25	13,88	14,38	15,38	15,63	16,25	$y = \frac{15,46}{1 + exp^{(x-1,68)/0,55}}$	0,99
Nidularium procerum –	Outubro/2012								
Bacteriófagos	4.00	10.88	16.75	19.38	21.38	23.00	23.25	$y = \frac{22,86}{1 + exp^{(x-2,18)/0,89)}}$	0,99
Predadores	3.13	5.50	11.25	15.00	19.50	20.00	21.25	$y = \frac{21,61}{1 + exp^{(x-3,01)/1,05)}}$	0,99
Ingestores	1.00	2.50	4.38	5.50	5.88	6.88	7.00	$y = \frac{6,93}{1 + exp^{(x-2,60)/1,20)}}$	0,98
Micófagos	1.50	7.00	9.38	11.25	11.75	11.88	12.25	$y = \frac{11,84}{1 + exp^{(x-1,93)/0,62)}}$	0,98

<sup>\*</sup> Valores são médias de oito bromélias para cada espécie, em cada época de amostragem. \*\* ingestor= ingestores de eucariotos unicelulares.



**Figura 7.** Número de juvenis infectivos (JIs) de *Hetehohabiditis* sp. recuperados de amostras com 200 espécimens processadas por flutuação, centrifugação e peneiramento em função de diferentes quantidades de caolim acrescentados aos tubos da centrífuga. Valores são médias de 6 repetições (tubos de centrífuga) por tratamento.

# 6.3. Estrutura trófica de nematoides: variabilidade temporal e em função da arquitetura da planta

Vinte e oito gêneros e dois taxa não identificados foram observados nos *fitotelmata* de bromélias. Dentre os gêneros identificados, 10 são bacteriófagos, oito são parasitas de plantas, cinco são predadores, três são micófagos e dois são predadores ou ingestores de eucariotos unicelulares (Tabela 2). *Helicotylenchus, Criconema* e *Criconemoides* foram os mais abundantes entre os fitoparasitas. Os bacteriófagos mais abundantes foram *Tylocephalus* e *Zullinus*, e os predadores foram *Actinca* e *Dorylaimus*. É interessante observar que Hodda *et al.* (2006) e Quisado (2013) relataram esses gêneros em *fitotelmata* de *Nepenthes* spp. e de bromélias.

A abundância total variou de 5 a 35 espécimens em *C. billbergioides* e de 2 a 50 em *N. procerum*. Alguns espécimens fitoparasitas foram encontrados ocasionalmente, sendo considerada contaminação oriunda do solo raso sobre as pedras por respingos de chuva. Em uma bromélia encontrou-se muitos espécimens

de *Heterorhabditis baujardi* Phan, Subbotin, Nguyen e Moens, provavelmente devido à morte no *fitotelma* de um inseto infectado.

**Tabela 2.** Ordens, gêneros e grupos tróficos de nematoides encontrados em *fitotelmata* de *Canistropsis bilbergioides* e de *Nidularum procerum*, em área de mata atlântica em Campos dos Goytacazes (RJ), Brasil

Ordem	Gênero	Grupo Trófico
Rhabditida	Criconema Criconemoides Helicotylenchus Hemicycliophora Northocriconemoides Rotylenchus Tylenchus Xiphinema	Fitoparasitas
	Aphelenchus Aphelenchoides Paraphelenchus	Micófagos
Rhabditida	Acrobeles Bunonema Cephalobus Macrolaimus Mesorhabditis Odontopharynx Rabditis Tylocephalus Wilsonema Zullinus	Bacteriófagos
Dorylaimida	Actinca Dorylaimus Dorylaimoides Eudorylaimus Laimydorus Outros não identificados	Predadores
Mononchida	Mononchus	Predadores
Enoplida Araeolaimida	Anoplostoma Não identificado	Ingestores de eucariotos unicelulares Bacteriófagos
Monhysterida	Não identificado	Ingestores de eucariotos unicelulares

A análise não paramétrica revelou que, nos *fitotelmata* de *C. billbergioides*, houve diferenças significativas para as fontes de variação nível arquitetônico das axilas das folhas (superior, mediano e basal) e época de coleta (E1 a E8), para a abundância total de nematoides e a abundância por grupo trófico, exceto para os ingestores de eucariotos unicelulares em relação aos níveis (Tabela 3).

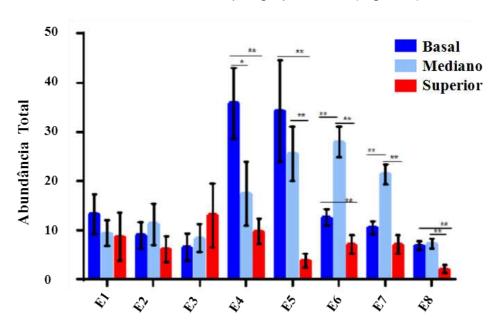
**Tabela 3.** Teste estatístico não paramétrico para a abundância total de nematoides e a abundância por grupo trófico associados aos diferentes níveis arquitetônicos das bromélias (N) e diferentes épocas de coleta (E), em *fitotelmata* de *Canistropsis billbergioides*.

Efeito	ANOVA-type statistic (ATS)				
	Statistic	GL	p-value		
Abundância total					
Níveis (N)	15,21	1,93	<0,001		
Épocas (E)	7,76	4,06	<0,001		
NxE	2,68	6,74	0,009		
Bacteriófago					
Níveis (N)	13,29	1,93	<0,001		
Épocas (E)	8,83	4,62	<0,001		
NxE	1,86	7,26	0,068		
Micófago					
Níveis (N)	9,83	1,85	<0,001		
Épocas (E)	12,36	4,73	<0,001		
NxE	2,20	7,46	0,027		
Ingestor de eucariotos					
Níveis (N)	3,40	1,99	0,053		
Épocas (E)	4,12	3,33	0,004		
NxE	1,77	5,58	0,107		
Predador					
Níveis (N)	3,94	1,94	0,020		
Épocas (E)	5,12	3,65	<0,001		
NxE	1,83	6,44	0,083		

A significância para os níveis arquitetônicos sugere que há diferenças limnológicas e / ou micro-climáticas entre os níveis arquitetônicos que determinam diferenças na nematofauna residente. Sensores que foram inseridos na axila das

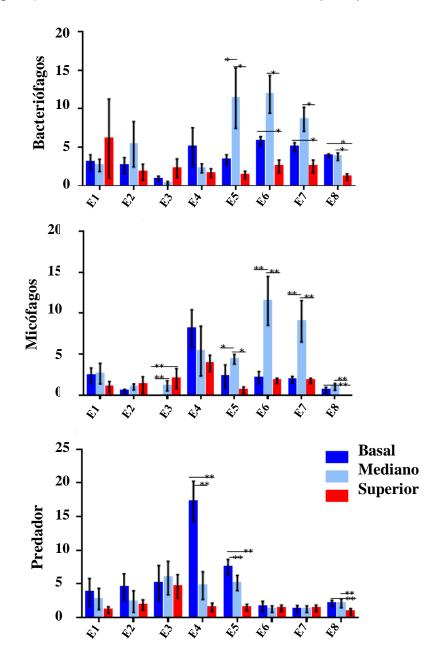
folhas nos três níveis arquitetônicos para monitoramento constante da água (temperatura, pH e concentração de O<sub>2</sub>), falharam em coletar dados em várias ocasiões devido à pouca água presente nos *fitotelmata* durante a prolongada seca que afetou a região em 2014.

Sabe-se, entretanto, que a arquitetura das bromélias determina aspectos físicos dos *fitotelmata*, como a forma tubular *vs* arranjo disperso nas axilas das folhas. Nas bromélias com *fitotelma* disperso, a dimensão das folhas e seu ângulo de inserção no caule, nos diferentes níveis arquitetônicos da planta, determinam o volume de água retido, a relação superfície / volume e o nível de incidência solar (em bromélias a céu aberto). Tais variações podem resultar em diferenças no pH, na temperatura, na concentração de O<sub>2</sub> e nos nutrientes dissolvidos na água (Kitching, 2000; Paradise, 2000; Melnychuk e Srivastava, 2002). Tais variações podem afetar a estrutura das comunidades dos *fitotelmata* (e.g. Montero *et al.* 2010; Torreias *et al.* 2010). O presente estudo sugere que, no *fitotelma* de *C. billbergioides*, os níveis arquitetônicos mediano e basal são mais favoráveis à nematofauna, pois quando ocorreram diferenças significativas entre os níveis esses apresentaram os maiores valores médios de abundância total e por grupo trófico (Fig. 8, 9).



**Figura 8.** Comparação de médias de abundância total de nematoides entre os níveis arquitetônicos de *Canistropsis billbergioides* (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni \* < 0,05, \*\* < 0,01.

A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta.



**Figura 9.** Comparação de médias de abundância por grupo trófico entre os níveis arquitetônicos de *Canistropsis billbergioides* (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni \* < 0,05, \*\* < 0,01. A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta.

A significância para as épocas de coleta sugere que fatores sazonais influenciaram a nematofauna. As temperaturas médias mensais flutuaram de maneira típica para a região, com valores mais elevados de setembro a março (primavera e verão) e mais reduzidos de abril a agosto (outono e inverno) (Fig. 2). Por outro lado, a pluviosidade foi atípica e irregular de 2012 a 2014, com prolongada seca neste último.

É interessante notar que as maiores médias de abundância total foram observadas nas épocas E4 a E6, associadas a pluviosidades (Figs. 2 e 8). Na E7 a abundância total e a pluviosidade mostraram uma tendência de queda, assemelhando-se às épocas E1 a E3 e E8. Nas épocas E4 a E7 houve também mais distinções significativas entre os níveis arquitetônicos das bromélias em relação à abundância total. Para a abundância de bacteriófagos, o mesmo ocorreu no período E5 a E7 (Fig. 9). Tendência semelhante foi relatada por Sodré et al. (2010), que observaram maior abundância de Chironomidae (Insecta: Diptera) em épocas de maior pluviosidade e volume de água nos fitotelmata das bromélias Neoregelia concentrica (Vellozo) L.B. Smith e Aechmae nudicaulis (L.) Grisebach. É plausível supor que períodos de chuvas menos intensos resultem em menor quantidade de água depositada nos fitotelmata, com reflexos na sua biota, pois a copa das árvores retém boa parte das chuvas antes que haja gotejamento para os extratos inferiores da floresta (Perreira et al. 2007). De fato, no presente trabalho, o volume de água retido nos fitotelmata das bromélias era mínimo em algumas das épocas de coleta de menor pluviosidade. As épocas E2 e E3 corresponderam a seis meses de temperaturas médias menores, o que pode ter colaborado para a menor abundância total de nematoides.

Naturalmente, outras variáveis macro- e micro-climáticas com variação sazonal podem ter contribuído para a estrutura da nematofauna dos *fitotemata*, como a temperatura da água no *fitotelma* e a incidência e intensidade de ventos, que podem afetar o aporte de matéria orgânica nos *fitotelmata*. A interferência direta e indireta de diversos fatores sazonais já foi relatada para fitonematoides (e.g. Blakely *et al.* 2002) e nematoides de "vida-livre" no solo (e.g., Schmid Araya e Schmid, 2000), em ambientes aquáticos de água doce (e.g, Eyualem-Abebe *et al.* 2006) e marinhos (e.g., Eyualem-Abebe, 2004; Venekey *et al.* 2014). Em relação à interação

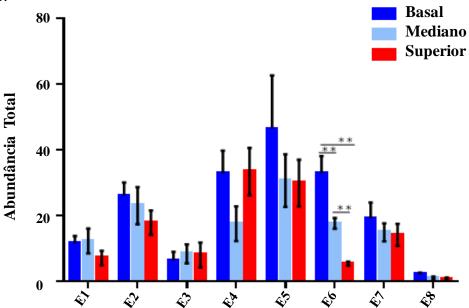
níveis arquitetônicos x épocas de coleta, houve significância apenas para as variáveis abundâncias totais e abundância do grupo trófico micófago.

Para os *fitotelmata* de *N. procerum*, houve diferenças significativas para a fonte de variação época de amostragem para todas as variáveis (Tabela 4). Para os níveis arquitetônicos, houve diferenças significativas para a abundância total e a abundância dos grupos tróficos bacteriófago e predador. Não houve diferenças significativas para a interação níveis arquitetônicos x épocas de coleta.

**Tabela 4.** Teste estatístico não paramétrico para a abundância total de nematoides e a abundância por grupo trófico associadas aos diferentes níveis arquitetônicos das bromélias (N) e às diferentes épocas de coleta (E), em *fitotelmata* de *Nidularium procerum*.

Efeito	ANOVA-type statistic (ATS)				
	Statistic	GL	p-value		
Abundância total					
Níveis (N)	5,75	1,92	0,004		
Épocas (E)	11,25	3,73	<0,001		
NxE	1,95	5,91	0,071		
Bacteriófago					
Níveis (N)	6,20	1,92	0,002		
Épocas (E)	18,21	4,36	<0,001		
NxE	0,96	6,41	0,451		
Micófago					
Níveis (N)	1,12	1,75	0,320		
Épocas (E)	8,13	4,09	<0,001		
NxE	0,97	5,72	0,442		
Ingestor de eucariotos					
Níveis (N)	1,79	1,89	0,169		
Épocas (E)	7,47	3,37	<0,001		
NxE	1,52	5,59	0,173		
Predador					
Níveis (N)	6,85	1,98	0,001		
Épocas (E)	9,90	4,00	<0,001		
N×E	1,82	6,45	0,084		

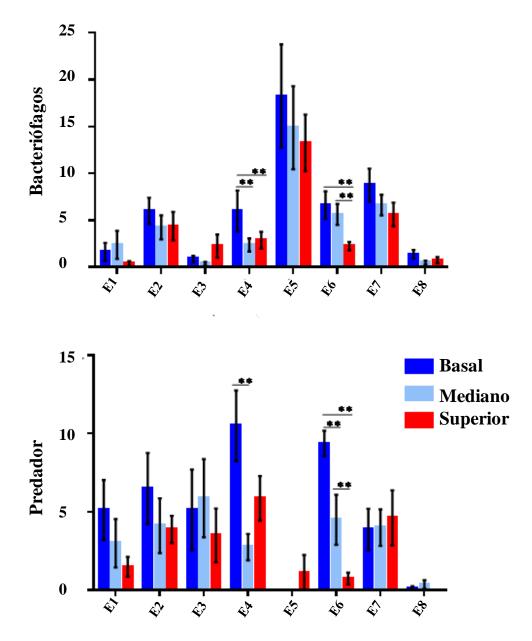
As épocas com maior abundância total de nematoides nos *fitotelmata* de *N. procerum* (E4 a E6) (Fig. 10) foram as mesmas observadas em *C. billbergioides*. No entanto, houve menos distinções significativas entre os níveis arquitetônicos das plantas em *N. procerum*. A mesma tendência ocorreu para a abundância de bacteriófagos, micófagos e predadores (Fig. 11). É possível que a arquitetura de *N. procerum*, com ângulos de inserção das folhas maiores – *fitotelmata* "mais aberto" - resulte em menores distinções entre os níveis arquitetônicos quanto às características físico-químicas da água, resultando em uma nematofauna mais uniforme.



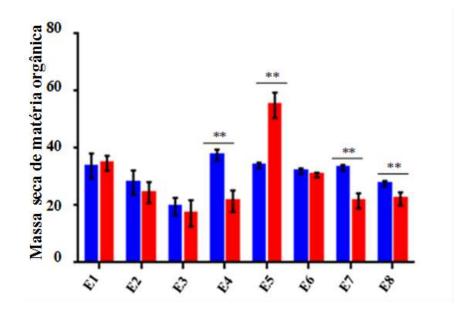
**Figura 10.** Comparação de médias de abundância total de nematoides entre os níveis arquitetônicos de *Nidularium procerum* (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni \* < 0,05, \*\* < 0,01. A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta.

A análise não paramétrica revelou que houve diferenças significativas na MSMO obtida dos coletores posicionados próximos às plantas, para as fontes de variação espécie de bromélia e épocas de coleta e sua interação (Tabela 5; Fig. 12). A significância para a fonte de variação espécie de bromélia é contraintuitiva, porque o dossel sobre as bromélias era uniforme e os coletores eram todos idênticos. Esta uniformidade do dossel foi confirmada por análise não-paramétrica comparando-se a

MSMO obtida nos coletores posicionados nas oito diferentes moitas de bromélias, a qual não detectou diferenças significativas, para ambas as espécies. A significância para a fonte de variação épocas de coleta provavelmente deve-se a variações sazonais na incidência e intensidade dos ventos, bem como no nível de senescência foliar do dossel arbóreo.



**Figura 11.** Comparação de médias de abundância por grupo trófico entre os níveis arquitetônicos de *Nidularium procerum* (basal, mediano e superior) em diferentes épocas de coletas (E1 a E8). Pelo teste de Bonferroni \* < 0,05, \*\* < 0,01. A barra vertical indica intervalo de confiança de 95% via bootstrap (10.000 reamostragens). Valores são médias de oito bromélias por época de coleta.



**Figura 12**. Comparação de médias de massa seca de matéria orgânica (g) obtida dos coletores instalados próximos às bromélias *C. bilbergioides* (em azul) e *N. procerum* (em vermelho), em diferentes épocas de coleta (E1 a E8). Valores são médias de oito coletores por época de amostragem, para cada espécie de bromélia.

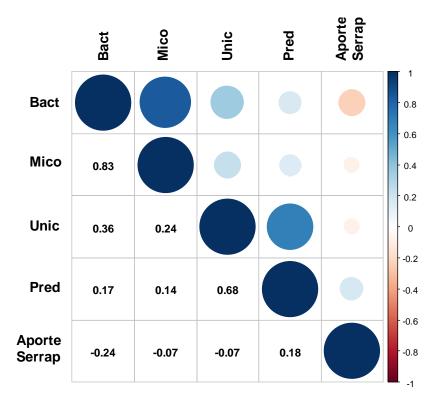
**Tabela 5.** Teste estatístico não paramétrico para a massa seca de matéria orgânica obtida de coletores (C) instalados próximos às bromélias *C. bilbergioides* e *N. procerum*, em oito épocas de coleta (E).

Efeito	,	ANOVA-type statistic (A	ATS)
Lieito	Statistic	Df	p-value
С	4,81	1,00	<0,028
E	12,05	2,83	<0,001
CxE	4,99	2,83	<0,002

Entretanto, uma análise de correlação de Spearman não detectou correlação entre a MSMO e a abundância total de nematoides ou a abundância por grupo trófico, em ambas as espécies de bromélia (resultados não mostrados). Este resultado é contraintuitivo, pois Brouard et al. (2012) observaram influência do aporte de matéria orgânica na diversidade funcional da biota em *fitotelmata* de diferentes espécies de bromélias, e Ristau et al. (2012; 2013) observaram alterações na diversidade, estrutura trófica e biomassa da nematofauna à medida que *fitotelmata* artificiais foram nutricionalmente enriquecidos. A aplicação de diferentes quantidades de restos de folhas em *fitotelmata* artificiais também mostrou uma

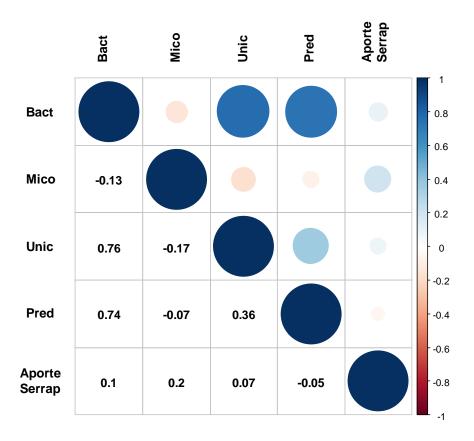
relação direta com a abundância total e do grupo trófico bacteriófago e com a diversidade da nematofauna (Ptatscheck e Traunspurger, 2014). Possivelmente, em bromélias crescidas na F.A., a relação entre o aporte de matéria orgânica e a estrutura trófica de nematoides é intermediada por diversos fatores não monitorados neste estudo.

Uma análise de correlação de Spearman realizada sem se considerar as variações sazonais (fator época de amostragem) revelou, entretanto, para *C. bilbergioides*, uma ausência de correlação entre o aporte de serrapilheira e a abundância dos grupos tróficos (Fig. 13). Houve uma correlação positiva entre os diferentes grupos tróficos, com valores variáveis. Aparentemente, as vias de decomposição da matéria orgânica em *C. bilbergioides* contemplam a ação de bactérias e fungos decompositores, cuja abundância favorece a população de predadores (Bongers & Ferris, 1999).



**Figura 13.** Análise de correlação de Spearman entre as variáveis grupos tróficos e a massa seca de serrapilheira obtida dos coletores, para a espécie *Canistropsis bilbergioides*.

Para *N. procerum*, o aporte de serrapilheira nos coletores não se correlacionou com os grupos tróficos (Fig. 14) e as correlações entre os grupos tróficos foram distintas das observadas em *C. bilbergioides*. Isto reforça os indícios de distinções limnológicas e micro-ambientais entre essas espécies de bromélias, que determinam distinções na estrutura trófica de sua nematofauna.



**Figura 14.** Análise de correlação de Spearman entre as variáveis grupos tróficos e a massa seca de serrapilheira obtida dos coletores, para a espécie *Nidularium procerum*.

Aparentemente, este é o primeiro estudo abordando aspectos ecológicos da nematofauna associada a *fitotelmata* naturais. Além de estabelecer parâmetros metodológicos para a amostragem quantitativa da nematofauna associada a *fitotelmata* de bromélias, coletou-se dados em uma área nativa de F.A. ao longo de 24 meses, um prazo mais longo e representativo do que normalmente praticado em estudos da biota de *fitotelmata*.

A opção pela análise completa das amostras eliminou os erros inerentes à análise de alíquotas, como a sub-representação de gêneros e grupos tróficos de

menor abundância. Por outro lado, isto impediu a identificação precisa da nematofauna aos níveis genérico e específico devido à abundância de espécimens, especialmente nos estádios juvenis.

O monitoramento da abundância total e por grupo trófico revelou distinções significativas na nematofauna em relação aos diferentes níveis arquitetônicos do fitotelma das bromélias estudadas, com uma tendência à maior abundância nos níveis basal e intermediário. Sabe-se que a matéria orgânica depositada nas bromélias é progressivamente fragmentada até servir de fonte energética a fungos e bactérias nas axilas inferiores das plantas. Portanto, nematoides micófagos, bacteriófagos, ingestores de eucariotos unicelulares — como algas, que são abundantes em bromélias a pleno sol — e possivelmente omnívoros têm maior disponibilidade alimentar nas axilas inferiores das plantas. Os resultados deste estudo sugerem que a água presente nas axilas inferiores das bromélias estudadas não apresenta pH e teores de oxigênio restrititos à nematofauna.

Este estudo revelou também uma sazonalidade significativa da nematofauna de ambas as espécies de bromélias, relacionada à pluviosidade e às temperaturas médias. Este resultado é interessante quando se tem em mente a relativa estabilidade micro-climática no interior da floresta ombrófila densa submontana na área de amostragem, cuja altitude é de cerca de 100 metros acima do mar e a amplitude térmica é relativamente pequena. Possivelmente, a sazonalidade climática atuou primariamente sobre o nível trófico basal – algas, fungos e bactérias – atuando sobre a nematofauna de forma indireta.

Bromélias são um dos grupos botânicos mais abundantes do bioma F.A, mantendo interações importantes com diversos grupos funcionais da biota. A F.A presta diversos serviços ecossistêmicos à sociedade brasileira e é repositório de imensa biodiversidade endêmica (Myers *et al.* 2000). Nos últimos anos tem-se revelado o papel funcional de nematoides na mineralização da matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes – em especial nitrogênio – bem como o seu potencial como bioindicador de distúrbios antrópicos. Portanto, o estudo da nematofauna associada a *fitotelmata* de bromélias na F.A e em outros biomas e ecossistemas parece ser uma área de grandes perspectivas para estudos ecológicos básicos e aplicados, a despeito da complexidade dos fatores ambientais envolvidos.

### 7. RESUMO E CONCLUSÕES

A Floresta Atlântica é um dos biomas de maior biodiversidade do planeta. Neste bioma vários estudos abordaram os *fitotelmata* (ambientes aquáticos criados pela retenção de chuva e detritos) associados a Bromeliaceae. No entanto, inexistem estudos abordando nematoides, não obstante a sua importância na regulação da estrutura de comunidades de decompositores e na ciclagem de nutrientes. Pelos resultados obtidos pela abundância, pelo número acumulativo de gêneros e grupos tróficos, cinco lavagens permitiram uma taxa de recuperação de nematoides significativa. Os gêneros de nematoides que mais se destacaram nos *fitotelmata* de ambas as espécies de bromélias foram: *Helicotylenchus, Criconema* e *Criconemoides* entre os fitoparasitas, *Tylocephalus* e *Zullinus* entre os bacteriófagos, e *Actinca* e os *Dorylaimus* entre os predadores.

Para avaliação da estrutura da nematofauna ocorreu uma maior abundância dos nematoides no *fitotelma N. procerum* em comparação a *C. billbergioides*, sendo a arquitetura da planta um possível fator para essa abundância.

Não foi constatada uma correlação significativa entre o aporte de serrapilheira e os grupos tróficos de nematoides nos *fitotelmata* das bromélias *C. billbergioides e N. procerum*.

Em relação aos níveis do *fitotelma*, ocorreu uma diferença limnológica e micro-climática marcantes entre os níveis arquitetônicos das plantas que determinam diferenças significativas na nematofauna residente. Variações macro-climáticas ao longo das estações do ano também afetaram a nematofauna do *fitotelma*.

### 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abebe, E. e Traunspurger W (2006). Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy. CABI, Wallingford, 752 p.

Anderson, R.C (1992). Nematode Parasites of Vertebrates, CAB International, Cambridge University Press, London, 578p.

Armbruster, P., Hutchinson, R.A., Cotgreave, P (2002). Factors influencing community structure in a South American tank blomeliad fauna. Oikos (96): 225-234p.

Benzing, D.H (2000). Bromeliaceae: profile of an adaptative radiation. Cambridge University Press, Cambridge.

Bert, W., De Ley I., Van Driessche, R., Segers H e De Ley P (2003). Baujardia mirabilis gen.n.,sp.n. from pitcher plants and its phylogenetic position within Panagrolaimidae (Nematoda:Rhabditida) Nematology 5 (3): 405-420p.

Bezerra, F.C., Paiva, W. O. (1997) Agronegócios de Flores no Estado do Ceará: Situação Atual e Perspectivas, Embrapa Agroindústria Tropical.

Blakely, R.J., Wells, R.E., Weaver, C.S and Johnson, S.Y. (2002). Location, structure and seismicity of the Seatte faultzone, Washington; Evidence from

aeromagnetic anomalies, geologic mapping and seismic- reflection. Geological Society of America Bulletin(114): 169-177p.

Brouard, O., Céréghino, R., Corbara, B., Leroy, C., Pelozuelo. L., Dejean, A e Carrias J-F. (2012). Understorey environments influence functional diversity in tank-bromeliad ecosystems. Freshwater Biology, (57): 815-823p.

Cares, J. E., Huang, S.P (2008). Comunidades de nematoides de solo sob diferentes sistemas na Amazônia e Cerrados Brasileiros. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSAARD, L. Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Editora UFLA, 409-444p.

Carrias, J. F., Cussac, M. E., Corbara, B. (2001. A preliminary study of freshwater protozoa in tank bromeliads. Journal of Tropical Ecology (17): 611-617p.

Cogliatti, C. L., Freitas, A.F.N., Rocha, C.F.D., Van-Sluys, M. (2001). Variação na estrutura e na composição de Bromeliaceae em cinco zonas de restinga do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Macaé, RJ. Revista Brasileira de Botânica (24): 1-9p.

Collin, R. (1997). Ontogenetic changes in subtle skeletal asymmetries during development of the sand dollar Dendraster excentricus. Evolution 51: 999-1005p.

De Ley, P., Mundo-Ocampo, M. e De Ley, I.T. (2003). Identification of freeliving nematodes (Secernentea). University of California Riverside University Extension, Riverside, 129p.

Eyalem-Abebe, Traunspurger, W. and Michiels, C.I. (2006). Dynamics of freshwater nematodes: Abundance, Biomass and Diversity. Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy (4):77-94p.

Eyalem-Abebe, Grizzle, R.E., Hope, D. and Thomas, W.K. (2004). Nematoide diversity in the Gulf of Maine, USA, and a Web- accessible relational database. Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom (84):1159-1167p.

Fincke, A.M. (1999). Organization of predator assemblages in Neotropical tree holes: effects of abiotic factors and priority. Ecological Entomology, (24):13-23p.

Forzza, R.C., Costa, A., Siqueira Filho, J.A., Martinelli, G., Monteiro, R.F., Santos-Silva, F., Saraiva, D.P. e Paixão-Souza, B. (2014). Bromeliaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. http://floradobrasil.jbrj.gov. br/ accesso em 25 de maio de 2015.

Frank, J.H., Lounibos, L.P. (2009). Insects and allies associated with bromeliads: a review. Terrestrial Arthropod Review, (1):125-153p.

Frank, J.H. (1983). Bromeliad fitotelmata and their biota, especially mosquitos.. In: Frank, H., Lounibos, P. L. (eds.), Fitotelmata: terrestrial plants as hosts of aquatic insects communities. New Jersey, Plexus Publishing Inc 101-128p.

Galindo, L. C e Câmara, I. G (2005). Status do hotspot Mata Atlântica: uma síntese. In: Mata Atlântica; biodversidade, ameaças e perspectivas. Galindo-Leal, C. & Câmara, I. G. Eds. Belo Horizonte; Centro de Ciências Aplicadas e Biodversidade, 471p.

Geraert, E. (2008). The Tylenchidae of the world – identification of the family Tylenchidae (Nematoda). Academia Press, Gent, 540p.

Gering, J.C., Crist, T.O. (2002). The alpha–beta–regional relationship: providing new insights into local–regional patterns of species richness and scale dependence of diversity components. Ecology Letters, (5):433-444p.

Giere, O. (2009). Meiobenthology. The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.

Goffredi, S.K., Kantor, A.H., Woodside, W.T. (2011). Aquatic microbial habitats within a neotropical rainforest: bromeliads and pH-associated trends in bacterial diversity and composition. Microbial Ecology (61): 529-542p.

Hadel, V. F. (1989). A fauna associada aos fitotelmata bromelícolas da Estação Ecológica da Juréia – Itatins (SP). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 128p.

Hodda, M., Ocaña, A and Traunspurger, W. (2006). Nematodes from extreme freshwater habitats. *In.* Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy (eds. E. Abebe, W. Traunspurger e I. Andrassy). CABI, Wallingford, 179-210p.

Hoeltgebaum, M.P. (2003). Composição florística e distribuição espacial de bromélias epifíticas em diferentes estádios sucessionais da floresta ombrófila densa – Parque Botânico do Morro Baú – Ilhota/SC. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal)-Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis 138p.

Hunt, D.J. (1993). Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae: their systematics and bionomics. CABI, Wallingford, 352p.

Jabiol, J., Corbara, B., Dejean, A., Céréghino, R. (2009). Structure of aquatic insect communities in tank-bromeliads in a East-Amazonian rainforest in French Guiana. Forest Ecology and Management (257): 351-360p.

Jairaipuri, S.M and Ahmad, W. (1992). Dorylaimida Free-Living, Predaceous and Plant-Parasitic Nematodes. Brill Academic Pub 458 p.

Jenkins, W.R. (1964). A rapid centrifugal-flotation technique for extracting nematodes from soil. Plant Disease Report, Plant Disease Report. 48,692p.

Jocque, M., Kernahan, A., Nobes, A., Willians, C and Field, R. (2010). How effective are non-destructive sampling methods to assess aquatic invertebrate diversity in bromeliads? Hydrobiologia (649): 293-300p.

Kimenju, J.W., Karanja, N.K., Mutua, G.K., Rimberia, B.M., Wachira, P.M. (2009). Nematode community structure as influenced by land use and intensity of cultivation. Tropical and subtropical agroecossystems, 353-360p.

Kitching, R. L. (2001). Food webs in fitotelmata: Bottom-up and top-down explanations for community structure. Annual Reviews Entomology, 729-760p.

Kitching, R.L. (2000). Food Webs and Container Habitats: The Natural History and Ecology of *Fitotelmata*. Cambridge University Press, New York. 431p.

Laessle, A.M. (1961). A micro-limnological study of Jamaican bromeliads. Ecology (4): 499-517p.

Lanzarini, C. N. (2010). Fauna associada a *Nidularium innocentii Lem*. (bromeliaceae) em um remanescente de floresta ombrófila densa das terras baixas no Extremo Sul de Santa Catarina. Trabalho de conclusão graduação em Ciências Biológicas, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma.

Luther, D., Hilty, J., Weiss. J., Cornwall, C., Wipf, M., and Ballard, G (2008). Assessing the impact of local habitat variables and landscape context on riparian birds in agricultural, urbanized, and native landscapes. Biodiversity and Conservation, 17 (8): 1923-35p.

Maguire, B. Jr. (1971). Phytotelmata: Biota and community structure determination in plant-held water. An. Rev. Ecol. Syst., Palo Alto, 439-464p.

Maia, M.P. (2005). Políticas ambientais e a conservação da biodiversidade no Brasil. In.: Mata Atlântica e Biodiversidade (Franke, C.R., Rocha, P.L.B., Klein, W., Gomes, S.L eds). Editora da UFBA, 379-407p.

Martinelli, G., Vieira, C.M., Gonzalez, M., Leitman, P., Piratininga, A., Costa, A.F., Forzza, R.C. (2008). Bromeliaceae da mata atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. Rodriguésia 209-258p.

Matteo, B.C. (2002). Biodiversidade e ecofisiologia de fungos micorrízicos arbusculares em associação com bromélias. Dissertação (Mestrado em Recursos Vegetais) –Piracicaba– Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo – ESALQ, 80p.

Melnychuk, M.C., Srivastava, D.S. (2002). Abundance and vertical distribution of a bromeliad-dwelling zygopteran larva, Mecistogaster modesta, in a Costa Rican rainforest (Odonata: Pseudostigmatidae). International Journal of Odonatology, (1): 81-97p.

Mestre, L.A.M., Aranha, J.M.R., Esper, M.L.P. (2001). Macroinvertebrate fauna associated to the bromeliad *Vrieseainflata* of the atlantic forest (Paraná State, Southern Brazil). Brazilian Archives of Biology and Technology, (44): 89-94p.

Ministério do Meio Ambiente. (2010). Biodiversidade brasileira. Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira. Ministério do Meio Ambiente/Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Brasília.

Moens T, Traunspurger W, Bergtold M. (2006). Feeding ecology of free-living benthic nematodes. In: Eyualem-Abebe, Traunspurger W, Andrássy I (eds). Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy. CABI, Wallingford, 105-129p.

Montero, G., Feruglio, C., Barberis, I.M. (2010). The fitotelmata and foliage macrofauna assemblages of a bromeliad species in different habitats and seasons. Insect Conservation and Diversity (3): 92-102p.

Myers, N., Mittenmeier, R.A., Mittenmeier, C.G., Fonseca, G.A.B., Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature (403): 853-858p.

Neher, D.A. (2010). Ecology of plant and free-living nematodes in natural and agricultural soil. Annual Review of Phytopathology (48): 371-394p.

Paradise, C.J. (2000). Effects of Ph and resourses on a processing chain interaction in simulated treeholes. Journal of Animal Ecology, (69): 651-658p.

Perreira, D.L.V., Neiss, U.G., Ferreira, R.L.M. (2007). Distribuição de *Paravelia recens* (Drake e Harris, 1935) (Hemíptera, Heteroptera, Veliidae) em *Guzmania brasiliensis* Ule, 1907(Bromeliaceae) na Reserva Florestal Adolpho Duche, Amanonas, Brasil. Acta Amazonica, Manaus, (37): 147-150p.

Por, F.D. (1992). Sooretama the atlantic rain forest of Brazil. SPB Academic Publishing, 130p.

Ptatscheck, C and Traunspurger, W. (2014). The meiofauna of artificial water-filled tree holes: colonization and bottom-up effects. Aquatic Ecology (48): 285-295p.

Quisado, S.J. (2013). Nematode diversity of fitotelmata of Nepenthes spp. in Mount Hamiguitan Range Wildlife Sanctuary, Philippines. Tese de Mestrado. Ghent University 74p.

Ristau, K., Faupel, M and Traunspurger, W. (2013). Effects of nutrient enrichment on the trophic structure and species composition of freshwater nematodes – a microcosm study. Freshwater

Ristau, K., Faupel, M. and Traunspurger, W. (2012). The effects of nutrient enrichment on a freshwater meiofaunal assemblage. Freshwater Biology, (57): 824-834p.

Rocha, C.F.D., Cogliatti-Carvalho, L., Nunes-Freitas, A.F., Rocha-Pessôa, T.C., Dias, A.S., Ariani, C.V., Morgado, L.N. (2004). Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação de Bromeliaceae. Vidália 52-72p.

Romero, G.Q., Nomura, F., Gonçalves, A.Z., Dias, N.Y.N., Mercier, H., Conforto, E.C., Rossa-Feres, D.C. (2010). Nitrogen fluxes from treefrogs to tank epiphytic bromeliads: an isotopic and physiological approach. Oecologia 941-949p.

Romero. G. Q., Vasconcelos-Neto, J., Trivelin, P. C. O. (2008). Spatial variation in the strength of mutualism between a jumping spider and a terrestrial bromeliad: Evidence from the stable isotope 15N. - Acta oecologica 380–386p.

Rosique, J and Barbieri, E. (1992). Ecologia – Preservar para viver. Introdução à Educação Ambiental. São Paulo: Cidade Nova.

Santana, D.F.,Bahia Filho., A.F.C. (1998). Soil quality and agricultural sustainability in the Brazilian Cerrado. In: World Congress of Soil Science, Montpellier, França.

Scarano, F.R. (2014). Mata Atlântica – Uma História do Futuro. Edições de Janeiro e Conservação Internacional – Brasil, 272 pp.

Schmid-Araya, J.M., Hildrew, A.G., Robertson, A., Schmid, P.E and Winterbottom. (2002). The importance of meiofauna in food webs: Evidence from an acid stream. Ecology (83): 1271-1285p.

Sicsu, P.; S. Ximenez; T.H.C.S. Evangelista e S. Koffler (2011). Relação entre repelência hídrica foliar e inclinação das folhas de plantas de subbosque. Em: Livro do curso de campo "Ecologia da Mata Atlântica" (G. Machado; P.I.K.L. Prado & A.M.Z. Martini, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Sepka, E. R. (2008). Estudo de macroinvertebrados associados a bromeliaceae em uma área de mata atlântica no estado do Paraná, Brasil, com

ênfase na família Syrphidae (Diptera). Dissertação de mestrado, Programa de Pósgraduação em Entomologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 70p.

Siddiqi, M.R. (2000). Tylenchida: parasites of plants and insects. CABI, Wallingford, 864p.

Sodre, V.M., Rocha, O., Messias, M.C. (2010). Chironomid larvae inhabiting bromeliad fitotelmata in a fragment of the Atlantic Rainforest in Rio de Janeiro State. Braz. J. Biol. Online (70): 587-592p.

Sota, T., Mogi, M and Kato, K (1998). Local and regional-scale food web structure in *Nepenthes alata* pitchers. Biotropica, (30): 82-91p.

Stehmann JR, Forzza RC, Salino A, Sobral M, da Costa DP, Kamino LHY (2009). Plantas da Floresta Atlântica. Rio de Janeiro Botanical Garden.

Suhogusoff, Valentin Georgevich (2006). Epífitas vasculares do Parque Estadual da Ilha Anchieta (PEIA), Ubatuba, SP, Brasil: composição florística, fitossociologia e aspectos de ecofisiologia. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica. São Paulo.

Torreias, S.R.S., Ferreira, K.R.R., Spacek, G.R., Hamada, N. (2010). Mosquitoes (Diptera, Culicidae) inhabiting foliar tanks of Guzmania brasiliensis Ule (Bromeliaceae) in central Amazonia, Brazil. Revista Brasileira de Entomologia. São Paulo (45): 618-628p.

Ulissêa, M.A., Lopes B.C., Zillikens, A., Steiner, J (2007). Formigas associadas a Nidularium innocentii e Aechmea lindenii (Bromeliaceae) em Mata Atlântica no sul do Brasil. Biológico 69: 19-324p.

Varga, L., (1928). Ein interessanter Biotop der Biocönose von Wasser organismen. Biol. zentralblatt, (48): 143-162p.

Venekey, V., Gheller, P.F., Maria, T.F., Brustolin, M.C., Kandratavicious, N., Vieira, D.C., Brito, S., Souz, a G.S., Fonseca G (2014). The state of the art of Xyalidae (Nematoda, Monhysterida) with reference to the Brazilian records.

Vidal, M.M (2009). A presença de predadores influencia a relação espécieárea em comunidades de tanques da bromélia Aechmea nudicaulis? Em: Livro do curso de campo "Ecologia da Mata Atlântica" (G. Machado., P.I.K.L. Prado, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.

Wilson, E. (1994). Diversidade da Vida. São Paulo: Ed. Companhia das Letras, 447 p. A situação atual da diversidade biológica. In: Wilson, E. (Editor) e Peter, F. M. (Subeditor). Biodiversidade. São Paulo. Nova Fronteira 3-35p.

Wilson, M.J., Kakouli-Duarte, T. (2009). Nematodes as environmental indicators. Oxforshire, CABI Publishing, 326p.

Yeates, G.W., Bongers, T., Goede, R.G.M. de, Frenckman, D.W., Georgieva, S.S (1993) Feeding habits in soil nematode families and genera - an outline for soil ecologists. Journal of Nematology, (25): 315-331p.

Zotz, G., Thomas, V. (1999) How much water is in the tank? Model calculations for two epiphytic bromeliads. Annals of Botany (83): 183-192p.

Zullini, A. (1977) Some freshwater nematodes of Southern México and Guatemala. In: Subterranean Fauna of Mexico – Part III, Quaderno n. 171. – Rome, Accademia Nazionale dei Lincei, 75-85p.