

**NEMATOIDES ASSOCIADOS A FITOTELMA DE BROMÉLIAS NO
ECOSSISTEMA DE RESTINGA: FATORES QUE AFETAM A ESTRUTURA DAS
COMUNIDADES**

ALEXANDRE MACEDO ALMEIDA

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

JUNHO 2017

**NEMATOIDES ASSOCIADOS A FITOTELMA DE BROMÉLIAS NO
ECOSSISTEMA DE RESTINGA: FATORES QUE AFETAM A ESTRUTURA DAS
COMUNIDADES**

ALEXANDRE MACEDO ALMEIDA

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

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ
JUNHO 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

A447

Almeida, Alexandre Macedo.

NEMATOIDES ASSOCIADOS A FITOTELMA DE BROMÉLIAS NO ECOSISTEMA DE RESTINGA : FATORES QUE AFETAM A ESTRUTURA DAS COMUNIDADES / Alexandre Macedo Almeida. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2018.

100 f.

Bibliografia: 67 - 100.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2018.
Orientador: Ricardo Moreira de Souza.

1. mata atlântica. 2. restinga. 3. nematofauna. 4. bromélias. 5. phytotelmata. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

**NEMATOIDES ASSOCIADOS A FITOTELMA DE BROMÉLIAS NO
ECOSSISTEMA DE RESTINGA: FATORES QUE AFETAM A ESTRUTURA DAS
COMUNIDADES**

ALEXANDRE MACEDO ALMEIDA

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: 30 de junho de 2017.

Comissão examinadora:

Prof. Vicente Martins Gomes (D.Sc. Produção Vegetal) - IFF

Prof. Claudia de Melo Dolinski (Ph.D. Fitopatologia) - UENF

Vicente Mussi-Dias (D.Sc. Produção Vegetal) - UENF

Prof. Ricardo Moreira de Souza (Ph.D. Fitopatologia) - UENF

Orientador

DEDICATÓRIA

A DEUS,

Que me deu força, determinação e perseverança para prosseguir com meus trabalhos e ideais de maneira cada vez melhor;

AOS MEUS AVÓS,

Maternos, Joventino Alves e Julia Alves e paternos, Antônio Teotino Almeida e Etelvina Gomes Almeida, pelos ensinamentos e carinho durante a minha infância;

AOS MEUS PAIS,

Antônio de Tino e Maria José Macedo Almeida, que me deram apoio, ensinamentos, confiança e, principalmente, amor para que eu pudesse realizar feitos como este;

ÀS MINHAS IRMÃS,

Thais e Mariana, pela amizade, carinho e união;

A TODOS OS VERDADEIROS AMIGOS,

Aos que estão presentes no dia a dia e aos que, apesar da distância ou falta de contato contínuo não estão por perto, mas sempre seremos amigos, independente de tempo ou distância.

“Não é preciso ter olhos abertos para ver o sol, nem é preciso ter ouvidos afiados para ouvir o trovão. Para ser vitorioso você precisa ver o que não está visível.”

Sun Tzu

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade no desenvolvimento e crescimento profissional e pela bolsa financeira disponibilizada;

Ao meu orientador, Prof. PhD Ricardo Moreira de Souza, pela amizade e orientação durante mais esta etapa de minha vida;

Aos demais Professores do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia, Prof^a. Claudia Dolinski, Prof. Richard Samuels, Prof. Gilberto Albuquerque, Prof^a. Magali Hoffmann, Prof. Silvaldo Silveira, Prof^a. Ana Maria Bailez e Prof. Omar Bailez, pelo apoio ao meu desenvolvimento profissional;

Aos funcionários e colegas de trabalho do LEF Vicente Mussi-Dias, Rita Silva, Denise Moreira, Arli de Fatima, Gilberto Miranda e Francisco Silva, pela amizade e companheirismo;

Aos demais professores da Produção Vegetal, pelos ensinamentos;

Aos amigos do Laboratório de Nematologia Renata Robaina, Leticia Gonçalves, Joao Pedro Gonçalves, Livia Mayerhofer, Vicente Gomes, Bruna da Silva e todos os outros que passaram pelo laboratório, pelo apoio, amizade e considerações durante os trabalhos;

Aos amigos e companheiros dos demais setores do LEF, pela amizade e companheirismo;

SUMÁRIO

	RESUMO -----	VIII
	ABSTRACT -----	X
1	INTRODUÇÃO -----	1
2	REVISÃO DE LITERATURA -----	5
2.1	Floresta Atlântica -----	5
2.2	Ecosistema Restinga -----	6
2.2.1	Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba -----	7
2.3	Características Gerais das Bromélias -----	9
2.4	Fitotelmata de Bromélias -----	10
2.5	Ecologia dos Fitotelmata -----	11
2.6	Faunas Estudadas em Fitotelmata -----	12
2.7	Nematoides -----	14
2.7.1	Nematoides como Bioindicadores -----	14
3	TRABALHOS -----	16
	ARTIGO 1- Nematodes associated with phytotelmata of <i>Neoregelia</i> <i>cruenta</i> and <i>Aechmea nudicaulis</i> (Bromeliaceae): sampling optimization and changes associated with flowering	16

	ARTIGO 2- Estrutura trófica de nematoides associados a <i>fitotelma</i> de <i>Neoregelia cruenta</i> (Bromeliaceae): composição dos níveis tróficos e gêneros sentinelas em função dos dados macro e microclimáticos e físico-química da suspensão aquosa do <i>fitotelma</i>	41
4	CONCLUSÕES -----	66
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	67

RESUMO

A Mata Atlântica é um dos biomas de maior biodiversidade do planeta, e um dos mais afetados pela ação antrópica. A restinga apresenta um conjunto das comunidades vegetais, fisionomicamente distintas, sob influência marinha e flúvio-marinha. Estudo da diversidade e quantificação da nematofauna existente nas comunidades de bromélias tem grande importância para a compreensão da dinâmica ecológica e sua correlação com os distúrbios antrópicos. Apesar da importância dos nematoides na cadeia alimentar e ciclagem de nutrientes em diferentes ecossistemas naturais, os dados sobre nematoides associados a fitotelmata são escassos. O experimento foi conduzido no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, localizado entre os municípios de Quissamã, Carapebus e Macaé no estado do Rio de Janeiro. Foram selecionadas duas espécies de bromélias tanque (*Neoregelia cruenta* e *Aechmea nudicaulis*), com e sem floração de ocorrência ao longo de todo o parque sendo amostradas em duas épocas: verão e inverno. Em cada época, foram amostradas oito bromélias de cada espécie. O método de amostragem básico (tratamento 1 - T1) foi a coleta de toda a água retida no fitotelma com auxílio de uma pipeta automática. A água foi passada em peneiras de 60 e 500 mesh, e guardada em frascos plásticos. T2 consistiu de três lavagens do mesmo fitotelma com cerca de 200 mL de água, aplicada sob pressão com um pulverizador costal, seguida da coleta da água com a pipeta e peneiramento. T3 e T4 consistiram de três relavagens e peneiramentos sucessivos, T5 consistiu da retirada da planta e posterior processamento

destrutivo para extração dos nematoides. Foram avaliados nematoides micófagos, bacteriófagos e predadores e abundância. Foi realizada análise de variância ANOVA e teste de Tukey para a recuperação da nematofauna em função das pipetagens e avaliação da nematofauna entre as espécies em estádios fenológicos distintos. Recolher a bromélia e destruí-la em laboratório foi superior ao repetido, pipetagens do fitotelma. *N. cruenta* apresentaram uma fauna de nematoide mais abundante do que *A. nudicaulis*, particularmente quando em floração. O distúrbio antrópico (DA) é uma grande ameaça para os ecossistemas da floresta tropical, principalmente através da extração de madeira não gerenciada, desmatamento e fragmentação. Os impactos da biodiversidade e do funcionamento do ecossistema podem ser expressos através de indicadores de macrofauna e flora. A AD perdeu ou degradou cerca de 88% da área original de 1,3 milhão de km² da Mata Atlântica. Neste estudo, os níveis distintos de DA entre as áreas 1-3 não apresentaram relação significativa com as variáveis físico-químicas da água do fitotelma. Embora houvesse diferenças significativas entre as áreas nas contagens médias de micófagos, predadores, *Zullinius*, *Tylocephalus* e *Dorylaimus*, nenhum padrão claro emergiu em relação ao nível de DA. As bromélias mantiveram abundância semelhante de nematoides e de alimentadores bacterianos, enquanto as áreas mais antropizadas apresentaram maior número de micófagos. A abundância de *Zullinius* e *Tylocephalus* ao longo das áreas não coincidiu com o seu correspondente grupo trófico - bacteriófagos. Claramente, mais estudos são necessários para preencher esta expectativa, particularmente em relação à nematofauna, que não respondeu ao distúrbio antrópico neste estudo.

PALAVRAS-CHAVE: restinga, mata atlântica, nematofauna, bromélias, habitat characteristics, *phytotelma*, *phytotelmata*.

ABSTRACT

The Atlantic Forest is one of the most biodiverse biomes on the planet, and one of the most affected by anthropic action. The restinga presents a group of vegetation communities, physiognomically distinct, under marine and fluvial-marine influence. A study of the diversity and quantification of nematofauna in bromeliad communities is of great importance for the understanding of ecological dynamics and its correlation with anthropic disturbances. Despite the importance of nematodes in the food chain and nutrient cycling in different natural ecosystems, data on nematodes associated with phytotelmata are scarce. The experiment was conducted in the Restinga National Park of Jurubatiba, located between the municipalities of Quissamã, Carapebus and Macaé in the state of Rio de Janeiro. Two species of tank bromeliads (*Neoregelia cruenta* and *Aechmea nudicaulis*) were selected, with and without flowering occurrence throughout the park being sampled in two seasons: summer and winter. Eight bromeliads of each species were sampled in each season. The basic sampling method (treatment 1 - T1) was the collection of all the water retained in the phytotelma with the aid of an automatic pipette. The water was passed in 60 and 500 mesh sieves, and stored in plastic bottles. T2 consisted of three washings of the same plantlet with about 200 mL of water, applied under pressure with a costal spray, followed by collection of the water with the pipette and sieving. T3 and T4 consisted of three re-washes and successive sieves, T5 consisted of the removal of the plant and subsequent destructive processing for nematoid extraction. Mycophagous nematodes,

bacteriophages and predators and abundance were evaluated. ANOVA variance analysis and Tukey's test were performed for the nematofauna recovery as a function of the pipetting and evaluation of nematofauna among species at different phenological stages. Collecting the bromeliad and destroying it in the laboratory was superior to repeated pipetting of the phytotema. *N. cruenta* had a more abundant nematode fauna than *A. nudicaulis*, particularly when flowering. Anthropogenic Disturbance (AD) is a major threat to rainforest ecosystems, primarily through unmanaged wood harvesting, deforestation and fragmentation. The impacts of AD on biodiversity and ecosystem functioning can be expressed through macrofauna and flora indicators. AD has lost or degraded about 88% of the Atlantic Forest original area of 1.3 million km². In this study, the distinct levels of AD among the areas 1-3 showed no significant relation with the physico-chemical variables of the phytotema's water. Although there were significant differences among the areas in mean counts of hyphal feeders, carnivores, Zullinius, Tylocephalus and Dorylaimus, no clear pattern emerged relative to the level of AD. The bromeliads sustained similar abundance of nematodes and of bacterial feeders, while the most anthropized areas had greater number of hyphal feeders. The abundance of Zullinius and Tylocephalus across the areas did not match their correspondent trophic group – bacterial feeders. Clearly more studies are necessary to fulfill this expectation, particularly regarding nematofauna, which did not respond to Anthropogenic disturbance in this study.

KEYWORDS: restinga, Atlantic forest, tank-forming bromeliads, phytotema

1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica (= Floresta Atlântica, F.A.) é um dos biomas de maior biodiversidade do planeta, sendo considerada um “*hot spot*” para estudos científicos e esforços para conservação (Myers *et al.*, 2000). Além de sua importância como repositório de uma imensa variabilidade genética em inúmeros grupos taxonômicos, a F.A. presta inúmeros “serviços” à sociedade brasileira, no turismo e lazer, como fonte de matéria-prima para a indústria farmacêutica, para o sustento de diversas comunidades tradicionais, para o equilíbrio do clima e das bacias hidrográficas, que abastecem cerca de 70% da população brasileira, e para a Agricultura, colaborando para a abundância de polinizadores de culturas agrícolas e a redução da incidência de pragas e doenças (Maia, 2005).

O ecossistema restinga apresenta um conjunto de comunidades vegetais, fisionomicamente distintas, sob influência marinha e flúvio-marinha. Dada a

fragilidade desse ecossistema, a vegetação exerce papel fundamental para a estabilização de dunas e mangues, bem como o estabelecimento da fauna. Estudos da diversidade e quantificação da nematofauna existente nas comunidades de bromélias têm grande importância para a compreensão da dinâmica ecológica e sua correlação com os distúrbios antrópicos. Segundo ROCHA et al. (2003), as restingas costeiras são as áreas com menor acúmulo de informações científicas sobre sua biodiversidade, bem como sobre seu grau de conservação.

Apesar desta importância que só foi plenamente reconhecida pelo conjunto da sociedade nos últimos anos, a F.A. é um dos biomas mais ameaçados pela ação antrópica. De fato, desde o início da colonização portuguesa, a F.A. perdeu cerca de 88% de sua cobertura original. O resultado dessa concentração pode ser evidenciado, por exemplo, pelo fato de a F.A. estar reduzida a 12% de sua cobertura original e figura entre os 25 hotspots mundiais, as regiões mais ricas e ameaçadas do planeta. Só no Estado do Rio de Janeiro, o desmatamento estendeu-se por 170 mil hectares no período de 1985 a 1995 (Anônimo, 2000). Como destacado por Bensusan (2002) (cit. por Maia, 2005), a extensa perda deste bioma resulta na necessidade de substituição de seus “serviços” e mitigação das consequências, com incontáveis prejuízos para a agricultura, cultura, saúde, manejo de cidades, etc.

As políticas públicas para preservação da F.A. precisam ser complementadas e aperfeiçoadas por estudos em diversas áreas das Ciências. Tais estudos devem inventariar a biodiversidade, conhecer os processos bióticos e abióticos típicos desse bioma e entender os efeitos do desmatamento. Quanto ao inventário da biodiversidade, se por um lado há um relativo conhecimento das espécies e do nível de endemismo de mamíferos, aves, peixes e plantas (Guedes *et al.*, 2005), há imenso desconhecimento desses parâmetros para micro e mesofauna e microrganismos (vírus, bactérias, fungos, etc). Como exemplo deste desconhecimento, um estudo multidisciplinar promovido pelo Ministério do Meio Ambiente sobre a F.A. não cita a biodiversidade de microrganismos, e é lacônico no que se refere aos invertebrados, baseando-se apenas no pouco que se conhece sobre formigas, opiliões, aranhas e borboletas (Anônimo, 2000). Dentre os invertebrados, Lewinsohn & Prado (2004) (cit. por Maia, 2005) destacam que

nematoides (Filo Nematoda) estão entre os grupos “importantes, mas pouco inventariados” da F.A.

Em contraste com a F.A., para outros biomas já está bem caracterizada a importância dos nematoides bacteriófagos, micófagos e predadores na ciclagem de nutrientes, no ciclo do carbono e, principalmente, no ciclo do nitrogênio (Niles & Freckman, 1998; Baldwin *et al.*, 2000; Neher, 2010). Tal importância pode ser facilmente presumida pelas estimativas de que, dentre os metazoários, o Filo Nematoda é o primeiro em abundância (número de indivíduos) em toda a Terra, e o segundo em número de espécies (perdendo apenas para Insecta) (Freckman & Baldwin, 1990; Baldwin *et al.*, 2000). *Per se*, tais dados sugerem a importância dos nematoides no funcionamento dos ecossistemas terrestres e aquáticos em todo o planeta.

Devido à complexidade dos biomas tropicais, ecologistas em todo o mundo têm adotado a estratégia de estudar *microcosmos*, com o intuito de testar hipóteses e formular teorias aplicáveis a todo o bioma. Um dos tipos de microcosmos mais estudados são os *fitotelmata*, ambientes formados pela acumulação de água em tocos de madeira, ou associados a plantas, no qual se desenvolve uma grande diversidade de algas, fungos, artrópodes, aracnídeos e anfíbios (Benzing, 1990). Fitotelmata têm sido estudados em seus aspectos físico-químicos e de estrutura de comunidades, com maior ênfase em insetos (Frank, 2008). Nas florestas tropicais, incluindo-se a F.A., destacam-se os estudos de fitotelmata de bromélias (Bromeliaceae), cujas folhas formam cisternas (tanques) que coletam água da chuva e detritos orgânicos (por exemplo, Araújo *et al.*, 2007; Jabiol *et al.*, 2009; Romero *et al.*, 2010; Montero *et al.*, 2010; Gonçalves *et al.*, 2011).

Além do papel ecológico do seu *fitotelma*, a família Bromeliaceae é, *per se*, um grupo importantíssimo na F.A., sendo o segundo em biodiversidade (perdendo apenas para Bignoniaceae) e extremamente abundante em número de indivíduos. De fato, calcula-se que a densidade de bromélias adultas varie de 1000 a 100.000/hectare (ha) de floresta neotropical (Goffredi *et al.*, 2011). Em específico, calculou-se que uma floresta tropical na Colômbia abrigava em média 175 mil plantas/ha, as quais guardavam em suas cisternas cerca de 50 mil litros d'água/ha (Sugden & Robins, 1979; Fish, 1983, cit. por Richardson, 1999).

Não obstante haja um corpo razoável de estudos abordando insetos, aranhas e anfíbios associados a *fitotelmata* de Bromeliaceae, poucos estudos abordando a microfauna e micro-organismos (Goffredi *et al.*, 2011, Robaina *et al.*, 2015, Chaves *et al.*, 2016).

Estudos abordando nematoides em ecossistemas naturais têm revelado a influência desses invertebrados nas taxas de mineralização da matéria orgânica, através da interferência das formas bacteriófagos e micófagos sobre os decompositores primários. Nematoides contribuem também de forma notável no ciclo do nitrogênio (Neher, 2010). Em ambientes naturais antropizados, 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).

Nematoides têm sido intensamente estudados como organismos modelo em ecossistemas naturais, como *taxa* sentinelas para o monitoramento de poluição e distúrbios em solo, água doce, estuários e oceanos, com vantagens em relação ao monitoramento físico-químico ou de outros invertebrados (e.g., Höss *et al.*, 2006; Ekschmitt & Korthals, 2006; Wilson & Kakouli-Duarte, 2009).

A proposta deste projeto de pesquisa é, portanto, ampliar o conhecimento da fauna de nematoides associados a Bromeliácea na Restinga de Jurubatiba, com os seguintes objetivos específicos: **i)** otimizar o processo de coleta da suspensão do fitotelmata para se determinar o método mais viável se destrutivo ou não para recuperação da nematofauna; **ii)** Identificação dos grupos tróficos de nematoides nas duas espécies de bromélias tanque mais abundantes (*Neoregelia cruenta* e *Aechmea nudicaulis*) em seus estádios fenológicos florido e sem flor; **iii)** investigar se variações no nível de desmatamento (distúrbio) da restinga afetam a estrutura da comunidade dos nematoides; **iv)** correlacionar variáveis climáticas e época do ano com a comunidade de nematoides.

Destaca-se que os objetivos **ii**, **iii** e **iv** poderão fornecer padrões que permitam o monitoramento de níveis de preservação, distúrbio e recuperação da Restinga através do monitoramento de componentes da microfauna, o que seria um grande avanço para a Ecologia e as Ciências Ambientais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. FLORESTA ATLÂNTICA

A F.A. brasileira é um dos biomas de maior biodiversidade do planeta, sendo considerado um dos principais “hot spot” para estudos científicos e esforços de conservação (Myers et al., 2000). A F.A. apresenta um complexo de ecossistemas de grande importância, e abriga uma parcela significativa da diversidade biológica do Brasil e do mundo. Com alto nível de riqueza e endemismo, associados à destruição sofrida no passado, a F.A. é um dos 34 “hot spot” de biodiversidade mundial (Mittermeier et al., 2004).

Além de sua importância como repositório de variabilidade genética em inúmeros grupos taxonômicos, a F.A. presta inúmeros “serviços” à sociedade brasileira, no turismo e lazer, como fonte de matéria-prima para a indústria farmacêutica, para o sustento de diversas comunidades tradicionais, para o equilíbrio do clima e das bacias hidrográficas que abastecem cerca de 70% da população brasileira, e para a agricultura, colaborando para a abundância de

polinizadores de culturas agrícolas e a redução da incidência de pragas e doenças (Maia, 2005).

Pela extensão territorial, 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 (Unicamp, 1992).

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 polos industriais do Brasil (Ministério do Meio Ambiente, 2002).

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 (Moreno et al., 2003).

2.2. ECOSSISTEMA RESTINGA

A restinga é uma planície arenosa costeira, de origem marinha, incluindo a praia, cordões arenosos, depressões entre-cordões, dunas e margem de lagunas, com vegetação adaptada às condições ambientais. A cobertura vegetal nas restingas pode ser encontrada em praias e dunas, sobre cordões arenosos, e associadas a depressões, sendo consideradas comunidades edáficas, por dependerem mais da natureza do substrato que do clima. Na restinga os estágios sucessionais diferem das formações ombrófilas e estacionais, ocorrendo notadamente de forma mais lenta, em função do substrato que não favorece o estabelecimento inicial da vegetação, principalmente por dessecação e ausência de nutrientes, segundo a Resolução CONAMA 07/96.

O corte da vegetação ocasiona uma reposição lenta, geralmente de porte e diversidade menores, onde algumas espécies passam a predominar. Os diferentes tipos de vegetação ocorrentes nas restingas brasileiras variam desde formações herbáceas, passando por formações arbustivas, abertas ou fechadas, chegando a florestas, cujo dossel varia em altura, geralmente não ultrapassando os 20m. São em geral caracterizadas por comunidades com pouca riqueza, quando comparada a outras comunidades vegetais, sendo protegidas por lei devido à sua fragilidade. Quanto mais protegido da influência do mar, maior é o porte da vegetação.

De acordo com a Resolução 303 CONAMA, “Restinga é um depósito arenoso paralelo à linha da costa, de forma geralmente alongada, produzido por processo de sedimentação, onde se encontram diferentes comunidades que recebem influência marinha, também consideradas comunidades edáficas por dependerem mais da natureza do substrato do que do clima.

Segundo ROCHA et al. (2003), as restingas costeiras são as áreas com menor acúmulo de informações científicas sobre sua biodiversidade, bem como sobre seu grau de conservação. Apesar disso, a Restinga de Jurubatiba é uma das únicas sobre as quais se tem informações científicas. No entanto, a maior parte desses conhecimentos ainda trata dos aspectos de geomorfologia, de vegetação e de limnologia.

As restingas de maior importância no estado do Rio de Janeiro são o Parque Nacional da restinga de Jurubatiba, Reserva Ecológica da Juatinga, Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Caruara, Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba.

2.2.1 PARQUE NACIONAL DA RESTINGA DE JURUBATIBA

O Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PARNA Restinga de Jurubatiba) é uma unidade de conservação federal, que tem como objetivo conservar e preservar, para fins científicos, educacionais, paisagísticos e recreativos, o seu belo, rico e ameaçado patrimônio natural.

Criado em 29 de abril de 1998 e com 14.922,39 hectares, 44 Km de costa e 18 lagoas costeiras, o PARNA Restinga de Jurubatiba localiza-se ao longo do litoral nordeste do Estado do Rio de Janeiro, englobando áreas dos municípios de Macaé, Carapebus e Quissamã, e representando o trecho de restinga melhor conservado de toda a costa fluminense.

De valor ecológico ímpar, o PARNA Restinga de Jurubatiba protege suas restingas e lagoas costeiras, que são delicados ecossistemas, associados ao Bioma Mata Atlântica, onde sobrevivem diversas espécies da fauna e flora brasileiras, sendo muitas dessas ameaçadas de extinção.

Uma das unidades de conservação brasileiras mais estudadas e objeto de pesquisadores de várias instituições de pesquisa, o Parque investe no turismo ecológico como importante ferramenta de educação ambiental, possibilitando que pessoas do Brasil e do exterior, ao se divertirem, possam conhecer e aprender a respeitar um dos mais ameaçados ecossistemas do nosso país.

2.3. CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS BROMÉLIAS

A família Bromeliácea é diversificada, contempla, atualmente, cerca de 3400 espécies distribuídas em 58 gêneros (Givnish et al., 2011), sendo a maioria restrita às regiões neotropical, tropicais e subtropicais das Américas, havendo apenas uma espécie (*Pitcairnia feliciana* (A. Chev) Harms e Mildbr, de ocorrência na região de Guiné, na África (Porembski e Barthlott, 1999, Jacques-Felix 2000).

Atualmente, segundo o Grupo de Filogenia de Angiospermas (APG III, 2009), Bromeliaceae, juntamente com outras 16 famílias, pertencem à Ordem Poales. Essas espécies são encontradas nas mais variadas condições de altitude, temperatura e umidade, apresentando hábitos terrestres, epífitas,

rupícolas (Benzing, 2000). No RJ, a F.A. é o local de maior ocorrência de bromélias, onde apresenta maior diversidade genética e maior nível de endemismo específico (Fontoura et al., 1991). Na F.A. brasileira foram registrados 31 gêneros, 803 espécies e 150 taxas infraespecíficos, sendo 653 destas espécies endêmicas da F.A. (Martinelli et al., 2008).

As bromélias são muito importantes em florestas pela contribuição no ciclo de nutrientes, aumentando a biomassa vegetal (produção primária) e armazenagem de água (Stadmuller, 1987). Muitas das espécies de bromélias possuem folhas fortemente entrelaçadas, formando tanques que propiciam o acúmulo de água e detritos orgânicos, criando microcosmos aquáticos naturais, os chamados *fitotelmata* (Benzin, 1980; Rocha et al., 2004; Jabiol et al., 2009). Logo, esses ambientes fornecem micro-habitat favorável ao desenvolvimento de inúmeros organismos, incluindo protistas, invertebrados e vertebrados (Armbruster 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 de seus ambientes naturais tem se intensificado nos últimos anos, o que vem causando o declínio das populações naturais de algumas espécies.

Segundo Paula e Silva, (2004), algumas espécies são utilizadas para diversos fins alimentícios e industriais tais como **i)** comestíveis [*Ananas comosus*, *A. bracteatus* (ananás) e *Bromelia antiacantha* (banana do mato)]; **ii)** produção de fibras [carauá (*A. erectifolius*), fornecendo fibras para cordas, artesanato, indústria têxtil e de carros, e macambira ou caroá (*Neoglaziovia variegata*), fornecendo fibras para fins diversos]; **iii)** medicinal [abacaxi (supurativo e infecções de garganta, laringe e pulmões), *B. antiacantha* (xarope expectorante) e *Tillandsia usneoides* (antirreumática e anti-hemorragica)]; **iv)** ornamentais (*B. antiacantha*, *B. balansae*, *Guzmania* sp, *Tillandsia* sp, *Vriesia* sp, *Aechmea nudicaulis*, *Neoregelia cruenta*) e **v)** como cerca viva (*B. antiacantha*, *B. balansae* e *A. bracteatus*), onde se destaca o abacaxi, *Ananas comosus* (L.) Merrill, como o único representante desta família cultivado

extensivamente como fonte de alimento. O abacaxi tornou-se muito popular principalmente pelo seu sabor e aroma marcantes. Seus frutos contêm 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).

2.4 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). Estes servem como nicho 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), pois acumulam detritos orgânicos na parte central formando um ‘microambiente 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 (Fish, 1983). 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 (Benzing 1980; Zotz e Thomas 1999). De acordo com Maguire (1971), as comunidades de *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 fácil manipulação.

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 aumentando com nova taxa sendo registrada (Sepka, 2008).

Segundo Greeney (2001), a maior parte da fauna que habita o *fitotelmata* é específica desse ambiente e pertence à Classe Insecta, com mais de 70 Famílias distribuídas em 11 Ordens já descritas, sendo Diptera a mais abundante. São encontrados outros grupos de organismos, tais como algas, bactérias, ortópteros, platelmintos, insecta, nematoides, baratas, oligoquetas, crustáceos, hirudíneos, fungos, miriápodes, aracnídeos, pseudoescorpiões, escorpiões, ácaros, isópteros, moluscos, e diversas formas imaturas de insetos aquáticos (Kitching, 2001; Mestre *et al.*, 2001; Teixeira *et al.*, 2002; Frank *et al.*, 2004, Chaves *et al.*, 2016).

2.5 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 (Picado 1913; Lopez 1997; Rocha *et al.*, 2000; 2004). Os *fitotelmata* são, portanto, um habitat que contém distintas comunidades aquáticas, e armazenam serrapilheiras, 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 (Cogliatti et al., 2001). 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, 2005b).

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 (Zotz e Thomas 1999; 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 (Cogliatti et al., 2001).

As variações inter e intraespecíficas na estrutura e na arquitetura das bromélias-tanques podem resultar em diferenças no volume de água armazenado (Richardson 1999). Assim, é de se 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).

2.6 FAUNAS ESTUDADAS EM FITOTELMATA

Segundo Gering e Crist (2002), na Ecologia uma das principais abordagens é o estudo da importância dos processos locais e regionais na

estruturação das comunidades. Esses processos locais são as interações interespecíficas (Huston, 1999).

Existem vários trabalhos que abordam faunas que vivem em interação com as bromélias-tanque; entre estas, associações entre aranhas e brómélias são muito comuns (Barth et al., 1988; Dias e Brescovit, 2004; Romero, 2005b, 2006), podendo até ocorrer interações mutualísticas entre estes organismos (Romero et al., 2006, 2008b). A predação é outra relação bem estudada, pois é capaz de exercer efeitos contrastantes na comunidade. Os predadores podem extinguir algumas espécies de presas reduzindo a riqueza de espécies e podendo modificar a composição local das comunidades (Vidal, 2009).

Segundo Frank e Lounibos (2009), as ninfas de libélulas (Odonata: Zygoptera) são predadoras aquáticas generalistas (Heckman, 2008). A sua dieta inclui larvas de dípteros que vivem em abundância nos *fitotelmata* (Frank e Lounibos 2009). De acordo com Fincke et al. (1997), os indivíduos de Odonata recém-eclodidos se alimentam de microinverteberados, e em poucas semanas, se alimentam de larvas de mosquitos e moscas (Díptera), girinos (Anura) e besouros (Coleóptera). Com isso, 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 (Meyl, 1957; Zullini, 1977; Mestre et al., 2001; Armbruster et al., 2002; Robaina, 2015). Mestre et al. (2001), ao amostrar 36 bromélias (*Vriesea inflata*), sendo cinco terrestres e cinco epífitas, no Estado do Paraná, verificaram apenas a Classe Adenophorea associada a *Vriesea inflata* terrestre. Contudo, este trabalho utilizou peneiras de abertura de 1 mm, a qual não é adequada para uma amostragem da comunidade de nematoides. Armbruster et al. (2002) avaliaram 209 bromélias epífitas no Equador, nas quais verificaram 7 morfoespécies (24 espécimens), de grupo trófico de nematoide não relatado.

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

2.7 NEMATOIDES

2.7.1 NEMATOIDES COMO BIOINDICADORES

Os nematoides constituem um diverso grupo dos 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: bacteriófagos, micófagos, onívoros, predadores e fitoparasitas. A umidade do solo e outros fatores ambientais afetam diretamente a sobrevivência dos nematoides (Blakely *et al.*, 2002).

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 porque estes organismos têm uma cutícula permeável, o que lhes permite responder com uma gama de reações a poluentes e que coincidirá com a capacidade de restauração do solo. Em segundo lugar, alguns nematoides resistentes têm fases que lhes permitem sobreviver inativos 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 (Porazinska et al., 1999). Por estas razões, muitos pesquisadores têm procurado desenvolver relações entre a estrutura da comunidade de nematoides e sucessão de ecossistemas naturais ou distúrbio ambiental (Mattos, 2002; 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 serem menos estudados.

Para uma avaliação global do risco ambiental de sedimentos de água doce, microfauna, meiofauna e macrofauna bentônica, são necessários para estudos de águas poluídas. Entre os organismos de 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: bacteriófagos, onívoros e micófagos (Giere, 2009).

4- TRABALHOS

ARTIGO 01

Nematode trophic structure in the phytotelmata of *Neoregelia cruenta* and *Aechmea nudicaulis* (Bromeliaceae) related to microenvironmental and climate variables

Alexandre M. Almeida, Ricardo M. Souza

Nematology Research Group, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
Campos dos Goytacazes, 28015-602, Brazil

Correspondence to: Ricardo M Souza (ricmsouza@censanet.com.br)

Abstract. In many bromeliad species the arrangement of the leaves creates a tank in which fallen water and organic debris create a freshwater ecosystem – a phytotelma. Of the abundant biota known to inhabit phytotelmata, nematodes are arguably the least studied group. In this study, we quantified predator, hyphal and bacterial feeder nematodes inhabiting phytotelmata of the bromeliads *Neoregelia cruenta* and *Aechmea nudicaulis*. The former species harbors a larger nematode population, particularly when its inflorescence remains submersed in the tank, likely promoting the residing biota. Monitoring of *N. cruenta* phytotelmata for 24 months revealed a fairly stable nematode population, which did not respond to seasonal variations in rainfall and temperature. Nematode trophic groups also showed limited response to several physico-chemical characteristics of the water retained in the tank. In contrast, nematode abundance – total and all trophic groups – correlated positively with the amount of organic debris fallen in the phytotelma. A large biomass of plant debris-decomposing fungi likely supported a substantial population of hyphal-feeder nematodes in the phytotelma, in contrast to other freshwater ecosystems such as lakes and rivers, in which bacterial feeder nematodes are by far predominant.

1 Introduction

Bromeliads (Bromeliaceae) are abundant in neotropical rain forests. Some estimates reach values above 100 thousand individuals/hectare (Sugden & Robins, 1979; Goffredi et al., 2011). In some bromeliads the arrangement of the leaves creates a tank or phytotelma – a reservoir of fallen rain and organic debris. Bromeliad phytotelmata play a central role for many micro- to macro-fauna species by providing shelter, breeding grounds, food and water (Kitching, 2000; Benzing, 2000). In return, the microorganisms and metazoans associated with the phytotelma provide nutrients to the plant (Leroy et al., 2015).

Free-living nematodes are increasingly recognized as important participants in the ecology of different ecosystems. Soil bacteriophagous and mycophagous nematodes increase the rate of organic matter mineralization by feeding on primary decomposers; nematodes also contribute to nitrogen cycling on their own (Neher, 2010). Marine nematodes seem to be important to connect primary producers, decomposers and macroscopic consumers, while in lentic and lotic freshwater ecosystems, nematodes seem to respond mainly to the input of organic matter, and secondarily to the microorganisms on which they feed (Majdi &

Traunspurger, 2015). Although phytotelmata are important and extremely abundant freshwater ecosystems in neotropical rain forests (Kitching, 2001), the ecological role played by phytotelma-associated nematodes remains to be verified.

So far just a handful of studies have focused on phytotelma-associated nematodes, and most are taxonomic in nature, with description of some species (Menzel, 1922; Benick, 1924, Varga, 1928 and Thienemann, 1934 cited by Kitching, 2000; Meyl, 1957; Goss et al., 1964; Krügel, 1993; Zullini et al., 2002; Bert et al., 2003; Holovachov et al., 2004; Zullini, 1977 and Jacobs, 1984 cited by Hodda et al., 2006; Quisado, 2013; Kolicka et al., 2016; Zotz and Traunspurger, 2016). The first ecological studies of the fauna of nematodes (nematofauna) in phytotelmata were performed in artificial receptacles (Ristau et al., 2012, 2013; Ptatscheck & Traunspurger, 2014). Changes were reported in the nematode diversity, trophic structure and biomass in relation to the nutritional enrichment of the liquid contained in the receptacles.

The only study conducted under natural conditions characterized the nematode trophic structure associated with the bromeliads *Canistropsis billbergioides* and *Nidularium procerum* in a rainy, mountainous forest of the Atlantic Forest (AF) biome in Brazil (Robaina et al., 2015). The authors reported variability of several parameters according to the bromeliad species, plant architecture and seasonal climate variables.

The AF is one of the world's most diverse and anthropized biomes (Myers et al., 2000). Indeed, its pre-Colombian dimension of 1.3 million Km² has been reduced by about 88% (Scarano, 2014). This biome comprises distinct ecosystems that differ in rain and temperature regimes, phytophysiognomy, soil type and topography (Franke et al., 2005). The most disparate ecosystems are the mountainous forests and restingas. Forests present high rainfall (1600–2500 mm.year⁻¹) and a canopy that provides plentiful shade and falling litter for the understory. Restingas are formed by beaches, dunes and lagoons along the Atlantic coast, in which herbaceous and shrubby species predominate (Rocha et al., 2007). In these seaside environments, the predominant abiotic factors are shortage of fresh water, high salinity, strong insolation, high temperature and strong winds. Abiotic factors determine which bromeliad species predominate and may alter the plants' phenotype, such as foliage color and overall architecture (Benzing, 2000). It is plausible that abiotic factors also alter phytotelma-associated nematofauna.

Hence, to better understand the ecology of bromeliad-associated nematofauna, this work aimed to: **i**) characterize the nematode trophic structure in bromeliads endemic to a

restinga ecosystem; **ii**) assess whether changes in the trophic structure correlate with climate variables and physico–chemical properties of the water retained in the phytotelma, and **iii**) compare the restinga’s nematofauna with that of a mountainous forest (Robaina et al., 2015).

2 Material and Methods

2.1 Sampling area

Samples were collected in a preserved area of the Restinga de Jurubatiba National Park (RJNP) (coordinates 22°11’07.0”S; 41°25’45.4”W) (Fig. 1). This region’s climate is AW by the Köppen classification, with average annual temperature of 23° C and yearly rainfall from 1000 to 1350 mm.

2.2 Assessment of sampling methods

A preliminary assessment was performed to determine the most efficient method (M1 through M5) to recover nematodes from the phytotelmata. These methods were evaluated in two bromeliad species with wide distribution in the RJNP: *Neoregelia cruenta* (R. Graham) L. B. Smith and *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb. These species have markedly different architectures: *N. cruenta* forms a broad and shallow tank, with an inflorescence that remains submerged in the retained water, while *A. nudicaulis* forms a narrow tubular tank from which the inflorescence projects (Fig. 2). Both species are terrestrial and are found partially shaded by short trees and shrubs. The bromeliads were sampled in two phenological stages – mature plants with or without inflorescence. Sampling was carried out on a single day, in February and September 2013, summer and winter, respectively.

On each sampling date, eight plants of each bromeliad species with inflorescences and eight plants without them were submitted to M1 through M5. Method M1 consisted of suction of the phytotelma water with an automatic pipette connected to a thin rubber hose. For each bromeliad, the water collected was passed through precision sieves (60 and 500 mesh) and the resulting suspension was placed in a plastic flask. For M2 the same phytotelma was washed with 200 ml of tap water applied under pressure by a back mounted sprayer to suspend the organic matter and nematodes retained in the small space between leaf axils. The water was

collected by pipetting and placed in a flask. This procedure was repeated twice, and the three volumes obtained were pooled and passed through precision sieves. The resulting suspension was stored in a flask. Methods M3 and M4 consisted of consecutive repeats of the procedure described above. Method M5 involved removing the same bromeliad from the soil and taking it to the laboratory in a plastic bag. The plant was entirely defoliated and the material was washed in tap water, collecting all the water in a 5 liter bucket. The suspension was passed through sieves and stored in a flask.

The 160 samples were individually submitted to extraction of nematodes by the method of Coolen and D'Herde (1972), with modification – without previous grinding in a blender – with centrifugation at 760.24 G for 3 minutes and 190.06 G for 2 minutes. The resulting nematode suspensions were entirely examined in Peter's slides under an inverted microscope. The total abundance of nematodes and the abundance per trophic group were computed. The trophic group nomenclature was that of Moens et al. (2006), based on the morphology of the esophageal and mouth regions: plant, hyphal or bacterial feeders, unicellular eukaryote feeders, and carnivores. Three nematode genera – abundant and unmistakably identifiable under the inverted microscope – were also counted: the carnivore *Dorylaimus* sp and the bacterial feeders *Tylocephalus* sp. and *Zulinius* sp.

2.3 Nematode trophic structure as related to climate variables and water physico–chemical variables

The preliminary assessment of sampling methods showed that M5 recovered significantly more nematodes and that *N. cruenta* with inflorescence supports a more abundant nematofauna (see Sect. 3). These were used in this study.

To characterize *N. cruenta*–associated nematofauna, samplings were carried out every three months from June 2014 through March 2016. On each sampling date, the phytotelma water was suctioned from eight bromeliads and subjected to the following measurements: volume (ml); temperature ($^{\circ}$ C); pH; dissolved oxygen (DO_2 , in mg.L^{-1}); dissolved solids (DS, in mg.L^{-1}); and electrical conductivity (EC, in mS.cm^{-1}). These were measured with an Icel Manaus[®] meter (model PH–1500) with appropriate sensors. A 10 ml aliquot was collected in an unused penicillin flask and used for measurement of dissolved organic carbon (DOC, in mg.L^{-1}) and nitrogen (N, mg.L^{-1}) using a Shimadzu meter (model TOC–Vcph). Macroscopic

organic debris (OD) fallen into the phytotelma was collected in a paper bag, dried for 24 h in an oven at 80 °C and expressed in grams.

Each bromeliad was then removed from the soil and submitted to M5, with care to add the water initially sucked from the phytotelma for the physico–chemical measurements. Nematode extraction and counting were performed as described before.

A WatchDog[®] weather station was used from May 2014 through April 2016 to monitor the following parameters: rainfall (incidence and accumulated monthly volume, in mm); mean monthly air temperature (in °C); and mean monthly temperature (in °C) of the water retained in a specimen of *N. cruenta*. For this measurement, a temperature sensor was kept continuously in the phytotelma and the temperature was recorded at 60 minute intervals.

All the original data are available at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7011311>.

2.4 Data analysis

To assess the efficacy of M1 through M5 for *N. cruenta* and *A. nudicaulis*, the nematode counts obtained on the two sampling dates were pooled and tested for homogeneity of variances (Cochran and Bartlett tests) and for normality of errors (Lilliefors test), at 5% probability (Ribeiro, 2001). Since the assumptions were satisfied, ANOVA was conducted and the methods' mean values for nematode recovery were compared through the Tukey test at 5% probability.

To identify the phenological stage at which nematodes are more abundant, only the nematode counts obtained using the best sampling method (M5) were considered. Data from the two sampling dates were pooled and tested for homogeneity of variances and normality of errors. Since the data did not satisfy the requirements they were transformed to $\sqrt{x} + 1$. The transformed data satisfied the requirements, and they were submitted to ANOVA and comparison of the means by the Tukey test, at 5% probability.

Regression analyses of nematode counts related to climate and water physico–chemical variables were conducted using the R Studio[®] program (version 3.2.3).

3 Results and Discussion

Method M5 was significantly more efficient to recover nematodes, both from *N. cruenta* and *A. nudicaulis* (Fig. 3). The low efficiency of M1 through M4 certainly is due to the difficulty of suspending the nematodes that dwell deep in the bromeliad leaf axils. Sampling by pipetting has been the method of choice in many taxonomic and ecological studies in bromeliad phytotelma, sometimes because of regulations against collection of entire plants in preserved areas. The results of this study clearly indicate that pipetting is not a suitable method to recover organisms that dwell in the bromeliad leaf axils.

Of the two bromeliad species, *N. cruenta* appears to have a phytotelma more propitious to nematodes, as indicated by the greater total abundance (Table 1). *Neoregelia cruenta* has a broad, shallow tank, which is exposed to sunlight, in contrast to the narrow, tubular tank of *A. nudicaulis*. This distinction explains differences in pH, dissolved oxygen and temperature of the water retained in the tank of these species (Guimarães–Souza et al. 2006). Tank shape, volume and physico–chemical characteristics of the water have been shown to correlate with differences in the diversity and structure of communities of algae, bacteria, micro– and macroinvertebrates that inhabit phytotelmata (Goffredi et al., 2011; Marino et al., 2011, 2013; Carrias et al., 2012, 2014; Louca et al., 2017).

With respect to phenological stage, *N. cruenta* with inflorescence stood out in total abundance of nematodes and bacterial feeders (Table 1). Sugars and other compounds released by the inflorescence in the water retained in the tank may promote all the phytotelma's biota, particularly bacteria and bacterial feeder nematodes.

The typical seasonal rainfall did not occur, particularly in the unusually dry summer of 2016 (Fig. 4). In this long drought, the *N. cruenta* tanks always retained water (Table 2), probably because breeze from the nearby ocean provided moisture that condensed every night as dew. This and the year-round conducive air and water temperatures supported a fairly stable nematode population throughout the study (Table 3). Nematode abundance – total and per trophic groups – presented no correlation with climate variables (data not shown). This is in contrast with the nematofauna associated with bromeliads in the mountainous forest. Robaina et al. (2015) reported that nematode abundance – total and per trophic group – correlated positively with rainfall and air temperature in *C. billbergioides* and *N. procerum*. The amount of canopy litter in collectors positioned close to the bromeliads also fluctuated

seasonally, probably because of changes in the incidence and intensity of winds and the senescence of tree leaves.

The major processes related to nutrient and energy cycles in phytotelmata are organic inflow patterns, nutrient-cycling processes within the habitat, and the nitrogenous wastes of the in-fauna (Kitching, 2001). Autotrophic microorganisms may contribute energy and nutrients in full-sun bromeliads (Leroy et al., 2015). Collectively these processes determine microenvironmental conditions to which communities of algae, bacteria and invertebrate micro- to macrofauna respond (Montero et al., 2010; Goffredi et al., 2011; Marino et al., 2011, 2013; Brouard et al., 2012; Kratina et al., 2017).

In this study, nematode abundance – total, per trophic group, and of the carnivore *Dorylaimus* – correlated positively with the amount of organic debris fallen into the phytotelma (Fig. 5). Nematode abundance is known to be correlated with organic input in rivers and lakes, in which bacterial feeders are largely predominant (Madji & Transpurger, 2015). In contrast, in the bromeliads, hyphal feeders were nearly as abundant as bacterial feeders (Table 3). This is probably in response to greater fungal biomass, because fungi are the main decomposers of plant litter (Osono, 2007). Impounded plant litter is the main carbon source in bromeliad phytotelmata (Benzing, 2000). As expected, carnivore nematodes were less abundant. Unicellular eukaryote feeders were found only occasionally and plant feeders were not found.

In phytotelmata, the amount and nature of the impounded plant debris are key drivers of the microbial community. Decomposition processes and microenvironmental dynamics determine the physico-chemical characteristics of the phytotelma water. For instance, in a seminal study, Laessle (1961) noticed that the water's DO₂ and dissolved carbon dioxide were affected by the nature and amount of fallen debris, and daily exposure to sunlight determined day/night fluctuations. How specific communities respond to microenvironmental conditions is not well understood, but recent studies have reported how water's chemical properties impact bacterial, archaeal and arthropod communities (Goffredi et al., 2011; Gossner et al., 2016; Louca et al., 2016; 2017).

In the present study the only significant correlations between nematode abundance and water parameters were of hyphal feeders and the bacterial feeder *Tylocephalus* with DO₂; and of the bacterial feeder *Zulinius* sp. with DOC and DS (Fig. 6). These scarce correlations may stem from the arsenal that free-living nematodes use to adapt to sudden and gradual

environmental changes (Perry & Wright, 1998; Eyualet–Abebe et al., 2006). The considerable variation in the physico–chemical variables during the 24 month period of the study may have also contributed to the scarce correlations. Possibly a more productive approach to study this aspect would be to empirically manipulate some variables and assess changes in nematode abundance, trophic groups or genera.

This study showed that over 60% of the nematodes inhabiting bromeliad phytotelma dwell deep in the leaf axils, certainly associated with fungi, bacteria and organic particulate matter. Sampling by pipetting seems not to be a reliable method for nematodes and other micro- and meiofaunal groups. As previously reported by Robaina et al. (2015), this study showed that each bromeliad species harbors nematofauna with a particular trophic structure. Plant architecture, the exposure of the phytotelma to sunlight/shade and the presence (or not) of a submersed inflorescence seem to impact the resident nematofauna. The 24 month monitoring of *N. cruenta* phytotelmata revealed that despite the restinga's harsh environmental conditions, nematodes remained unresponsive to climate variables because they are protected deep to the leaf axils. Also, the nematode trophic structure responded little to variations in physico–chemical characteristics of the tank water despite some extreme values observed in variables such as N, pH and DO₂. The suite of singularities in phytotelma–associated nematodes includes a 0.8 proportion between hyphal feeder and bacterial feeder forms. To the best of our knowledge, this is the first report of such high proportion in freshwater ecosystems and the first evidence that the nature of the impounded carbon source – in this case, plant litter – can affect the nematode trophic structure.

Data availability. Raw data are available at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7011311> (Almeida & Souza, 2018).

Author contributions. RMS conceived the idea. RMS and AMA designed the study. AMA collected and analysed all data. RMS and AMA wrote and revised the manuscript.

Competing interests. The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements. The authors are indebted to Vicente M. Gomes and Renata R. Robaina for helping with samplings.

References

- Almeida, A. M. and Souza, R.M.: Web Ecology, available at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7011311>, 2018
- Benzing, D. H.: Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge, 2000.
- Bert, W., De Ley, I., Van Driessche, R., Segers, H. and De Ley P.: *Baujardia mirabilis* gen. n., sp.n. from pitcher plants and its phylogenetic position within Panagrolaimidae (Nematoda:Rhabditida). *Nematology*, 5, 405–420, doi: 10.1163/156854103769224395, 2003.
- Brouard, O., Céréguino, R., Corbara, B., Leroy, C., Pelozuelo, L., Dejean, A. and Carrias, J–F.: Understorey environments influence functional diversity in tank–bromeliad ecosystems. *Freshwater Biol*, 57, 815–823, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2012.02749.x>, 2012.
- Franke, C. R., Rocha, P. L. B., Klein, W. and Gomes, S. L.: *Mata Atlântica e Biodiversidade*. Editora da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.
- Carrias, J–F., Brouard, O., Leroy, C., Céréghino, R., Pélozuelo, L., Dejean, A. and Corbara, B.: An ant–plant mutualism induces shifts in the protist community structure of a tank–bromeliad. *Basic Appl Ecol*, 13, 698–705, <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.10.002>, 2012.
- Carrias, R. C., Céréghino, R., Brouard, L. P., Pélozuelo, L., Dejean, A., Couté, A., Corbara, B. and Leroy, C.: Two coexisting tank bromeliads host distinct algal communities on a tropical inselberg. *Plant Biol*, 16, 997–1004, <https://doi.org/10.1111/plb.12139>, 2014.
- Coolen, W. A. and D’Herde, C. J.: A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Nematology and Entomology Research Station, Ghent, 1972.

- Eyualem–Abebe, Traunspurger, W. and Andrásy, I.: Freshwater nematodes: ecology and taxonomy. CABI Publishing, Wallingford, 2006.
- Goffredi, S. K., Kantor, A. H. and Woodside, W. T.: Aquatic microbial habitats within a neotropical rainforest: bromeliads and pH–associated trends in bacterial diversity and composition. *Microbial Ecol*, 61, 529–542, doi: 10.1007/s00248–010–9781–8, 2011.
- Goss, R. C., Whitlock, L. S., Westrick, J. P.: Isolation and ecological observations of *Panagrodontus* sp. (Nematoda: Cephalobidae) in pitcher plants (*Sarracenia sledgei*). *P Helm Soc Wash*, 31, 19–20, 1964
- Gossner, M. M., Lade, P., Rohland, A., Sichert, N., Kahl, T., Bauhus, J., Weisser, W. W. and Petermann, J. S.: Effects of management on aquatic tree–hole communities in temperate forests are mediated by detritus amount and water chemistry. *J Anim Ecol*, 85, 213–226, <https://doi.org/10.1111/1365–2656.12437>, 2016.
- Guimarães–Souza, B. A., Mendes, G. B., Bento, L., Marotta, H., Santoro, A. L., Esteves, F. A., Pinho, L., Farjalla, V. F. and Enrich–Prast, A.: Limnological parameters in the water accumulated in tropical bromeliads. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 18: 47–53, 2006.
- Hodda, M., Ocaña, A. and Traunspurger, W. 2006.: Nematodes from extreme freshwater habitats, in: Freshwater nematodes: ecology and taxonomy, edited by: Eyualem–Abebe, Traunspurger, W. and Andrásy, I., CABI Publishing, Wallingford, 2006.
- Holovachov, O., Boström, S. and Campo, M.: Description of three known and two new species of the genus *Tylocephalus* Crossman, 1933 with a revised taxonomy of the genus and key to species of the subfamily Wilsonematinae (Plectida). *Russ J Nematol*, 12, 115–130, 2004.
- Kitching, R. L.: Food webs and container habitats – The natural history and ecology of phytotelmata. Cambridge University Press, Cambridge, 2000.

- Kitching, R. L.: Food webs in phytotelmata: “bottom–up” and “top–down” explanations for community structure. *Annu Rev Entomol*, 46, 729–760, <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.46.1.729>, 2001.
- Kolicka, M., Gwiazdowicz, D. J., Hupalo, K., Jablonska, A., Kotwicki, L., Kornobis, F., Lamentowicz, M., Magowski, W., Marcisz, K., Pronin, M., Reczuga, M. K., Olszanowski, Z. and Zawierucha, K.: Hidden invertebrate diversity – phytotelmata in Bromeliaceae from palm houses and florist wholesalers (Poland). *Biologia*, 71, 194–203, <https://doi.org/10.1515/biolog-2016-0026>, 2016.
- Kratina, P., Petermann, J. S., Marino, N. A. C., MacDonald, A. A. M. and Srivastava, D. S.: Environmental control of the microfaunal community structure in tropical bromeliads. *Ecol Evol*, 7, 1627–1634, <https://doi.org/10.1002/ece3.2797>, 2017.
- Krügel, P.: Biologie und Ökologie der Bromelienfauna von *Guzmania weberbaueri* im amazonischen Peru, in: *Biosystematics and Ecology Series*, number 2, edited by: Morawetz, W., Austrian Academy of Sciences Press, Wien, 1993.
- Laessle, A. M.: A micro–limnological study of Jamaican bromeliads. *Ecology* 42, 499–517, 1961.
- Leroy, C., Carrias, J–F., Céréghino, R. and Corbara, B.: The contribution of microorganisms and metazoans to mineral nutrition in bromeliads. *Journal of Plant Ecology*, 9, 241–255, <https://doi.org/10.1093/jpe/rtv052>, 2015.
- Louca, L., Jacques, S. M. S., Pires, A. P. F., Leal, J. S., Srivastava, D. S., Parfrey, L. W., Farjalla, V. F. and Doebeli, M.: High taxonomic variability despite stable functional structure across microbial communities. *Nature Ecology & Evolution* 1, 0015, <http://doi.org/10.1038/s41559-016-0015>, 2016.

- Louca, L., Jacques, S. M. S., Pires, A. P. F., Leal, J. S., Gonzalez, A. L., Doebeli, M. and Farjalla, V. F.: Functional structure of the bromeliad tank microbiome is strongly shaped by local geochemical condition. *Environ Microbiol*, 19, 3132–3151, <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13788>, 2017.
- Majdi, N. and Traunspurger, W.: Free-living nematodes in the freshwater food web: a review. *Journal of Nematology*, 47, 28–44, MCID:PMC4388577, 2015.
- Marino, N. A. C., Guariento, R. D., Dib, V., Azevedo, F.D. and Farjalla, V. F.: Habitat size determine algae biomass in tank-bromeliads. *Hydrobiologia*, 678, 191–199, doi 10.1007/s10750-011-0848-4, 2011.
- Marino, N. A. C., Srivastava, D. S. and Farjalla, V. F.: Aquatic macroinvertebrate community composition in tank-bromeliads is determined by bromeliad species and its constrained characteristics. *Insect Conserv Diver*, 6, 372–380, <https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2012.00224.x>, 2013.
- Menzel, R.: Beiträge zur kenntnis der mikrofauna von Niederländisch-Ost-Indien. *Treubia*, 3, 116–126, 1922.
- Meyl, A. H.: Two new freeliving nematodes, found in the rain-water reserve of *Quesnelia arvensis* (Vell.) Mez. (Bromeliaceae) from Brazil. *P Helm Soc Wash*, 24, 62–66, 1957.
- Moens, T., Traunspurger, W. and Bergtold, M.: Feeding ecology of free-living benthic nematodes, in: *Freshwater nematodes: ecology and taxonomy*, edited by: Eyualem-Abebe, Traunspurger, W. and Andrassy, I., CABI Publishing, Wallingford, 2006.
- Montero, G., Feruglio, C. and Barberis, I. M.: The phytotelmata and foliage macrofauna assemblages of a bromeliad species in different habitats and seasons. *Insect Conserv Diver*, 3, 92–102, <https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2009.00077.x>, 2010.

- Myers, N., Mittenmeier, R. A., Mittenmeier, C. G., Fonseca, G. A. B. and Kent, J.: Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858, 2000.
- Neher, D. A.: Ecology of plant and free-living nematodes in natural and agricultural soil. *Annu Rev Phytopathol*, 48, 371–394, <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114439>, 2010.
- Osono, T.: Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecol Res*, 22, 955–974, <https://doi.org/10.1007/s11284-007-0390-z>, 2007.
- Perry, R. N. and Wright, D. J.: The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, 1998.
- Ptatscheck, C. and Traunspurger, W.: The meiofauna of artificial water-filled tree holes: colonization and bottom-up effects. *Aquat Ecol*, 48, 285–295, <https://doi.org/10.1007/s10452-014-9483-2>, 2014.
- Quisado, J. S.: Nematode diversity of phytotelmata of *Nepenthes* spp. in Mount Hamiguitan Range Wildlife Sanctuary, Philippines. Ghent University, Ghent, 2013.
- Ribeiro Jr, J. I.: Análises estatísticas no SAEG (Sistema para análises estatísticas). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.
- Ristau, K., Faupel, M. and Traunspurger, W.: The effects of nutrient enrichment on a freshwater meiofaunal assemblage. *Freshwater Biol*, 57, 824–834, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2012.02750.x>, 2012.
- Ristau, K., Faupel, M. and Traunspurger, W.: Effects of nutrient enrichment on the trophic structure and species composition of freshwater nematodes – a microcosm study. *Freshwr Sci*, 32, 155–168, doi: 10.1899/11-104.1, 2013.

- Robaina, R. R., Souza, R. M., Gomes, V. M., Cardoso, D. O. and Almeida, A. M.: Nematode trophic structure in phytotelmata of *Canistropsis billbergioides* and *Nidularium procerum* (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest – variability in relation to climate variables and plant architecture. *Nematoda*, 2:e162015, <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.01615>, 2015.
- Rocha, C. F. D., Bergallo, H. G., Van Sluys, M., Alves, M. A. S. and Jamel, C. E.: The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: Habitat loss and risk of disappearance. *Braz J Biol*, 67, 263–273, <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842007000200011>, 2007.
- Rocha, C. F. D., Vrcibradic, D., Kiefer, M. C., Menezes, V. A., Fontes, A. F., Hatano, F. H., Galdino, C. A. B., Bergallo, H. G. and Van Sluys, M.: Species composition, richness and nestedness of lizard assemblages from restinga habitats along the Brazilian coast. *Braz J Biol*, 74, 349–354, <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.18712>, 2014.
- Scarano, F. R.: *Mata atlântica – Uma história do futuro*. Edições de Janeiro and Conservation International – Brasil, Rio de Janeiro, 2014.
- Sugden, A. M. and Robins, R. J.: Aspects of the ecology of vascular epiphytes in Colombian cloud forests, I. The distribution of the epiphytic flora. *Biotropica*, 11, 173–188, doi: 10.2307/2388037, 1979.
- Zotz, G. and Traunspurger, W.: What's in the tank? Nematodes and other major components of the meiofauna of bromeliad phytotelms in lowland Panama. *BMC Ecol*, 16:9 doi 10.1186/s12898-016-0069-9, 2016.
- Zullini, A., Loof, P. A. A. and Bongers, T.: Free-living nematodes from nature reserves in Costa Rica. 2. Mononchina. *Nematology*, 1–23, <https://doi.org/10.1163/156854102760082168>, 2002.

Table 1. Nematode abundance (total and per trophic groups) recovered from phytotelmata of mature *N. cruenta* and *A. nudicaulis* in two phenological stages, in the RJNP.

Species/phenological stage	Abundance			
	Total	Hyphal feeders	Carnivores	Bacterial feeders
<i>N. cruenta</i> with inflorescence	194.6*a	48.8a	103.7a	42.1a
<i>N. cruenta</i> without inflorescence	139.6b	22.3ab	102.1a	15.2b
<i>A. nudicaulis</i> with inflorescence	40.7c	9.7b	29.8b	1.2b
<i>A. nudicaulis</i> without inflorescence	49.9c	10.2ab	36b	3.7b

* Values are means of eight plants sampled on two dates, for a total of 16 samples. Values followed by the same letter in the columns do not differ by the Tukey test at 5%.

Table 2. Descriptive statistics of physico–chemical variables of the water retained in phytotelmata of *N. cruenta* in the RJNP.

Statistics	Variables								
	RW*	OD	DOC	N	Temp	pH	DO ₂	DS	EC
	(ml)	(g)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(° C)		(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mS.cm ⁻¹)
Mean	222.45**	13.67	97.41	4.24	22.14	5.62	5.67	80.03	0.11
(min–max)	(37–910)	(1–51)	(15.87–574)	(0.14– 12.78)	(20–29)	(3.49– 8.1)	(3.2–8)	(8–247)	(0.01– 0.37)
SD	157.84	10.36	108.54	2.89	2.59	0.70	1	56.56	0.08
CV %	70.95	75.79	111.43	68.16	11.71	12.45	17.63	70.67	72.72

* RW: Retained water; OD: Organic debris; DOC: Dissolved organic carbon; N: Nitrogen; Temp: Temperature; pH: Hydrogen potential; DO₂: Dissolved oxygen; DS: Dissolved solids; EC: Electrical conductivity; SD: Standard deviation; CV%: Coefficient of variation.

** Values are derived from eight phytotelmata sampled every three months from June 2014 through March 2016, for a total of 64 samples

Table 3. Descriptive statistics of nematode abundance (total, per trophic group and of selected genera) recovered from phytotelmata of *N. cruenta* in the RJNP.

Statistics	Abundance						
	Total	Hyphal feeders	Bacterial feeders	<i>Zulinius</i>	<i>Tylocephalus</i>	Carnivores	<i>Dorylaimus</i>
Mean	67.41*	20.22	25.26	6.61	2.16	19.85	9.44
(min–max)	(7–992)	(0–968)	(1–504)	(0–156)	(0–25)	(2–300)	(0–241)
SD	107.89	77.59	51.72	17.43	3.84	32.37	21.65
CV%	1.6	3.84	2.05	2.64	1.78	1.63	2.29

* Values are derived from eight phytotelmata sampled every three months from June 2014 through March 2016, for a total of 64 samples

Figure 1. Location of the RJNP (red point) in the state of Rio de Janeiro (square). Map adapted from Rocha et al. (2014).

Figure 2. Bromeliads sampled in the RJNP. a) *Neoregelia cruenta*; b) *Aechmea nudicaulis*

Figure 3. Monthly accumulated rainfall and monthly mean of temperatures (air and of the water retained in the bromeliad phytotelma), in the RJNP.

Figure 4. Comparative efficacy of different sampling methods (M1 to M5) to recover nematodes from bromeliad phytotelmata of *A. nudicaulis* (left graphs) and *N. cruenta* (right). Different letters indicate different means (original counts) by the Tukey test at 5%. Percentage values are shown relative to M5.

Figure 5. Regression analysis between nematode abundance (total, per trophic group and of *Dorylaimus* sp.) and the amount of organic debris (OD) recovered from phytotelmata of *N. cruenta* in the RJNP.

Figure 6. Regression analysis between nematode abundance (*Zulinius* sp., *Tylocephalus* sp. and hyphal feeders) and physico-chemical variables of the water retained in the phytotelmata of *N. cruenta* in the RJNP. DS: Dissolved solids; DOC: Dissolved organic carbon; DO₂: Dissolved oxygen.

FIGURE 1

FIGURE 2

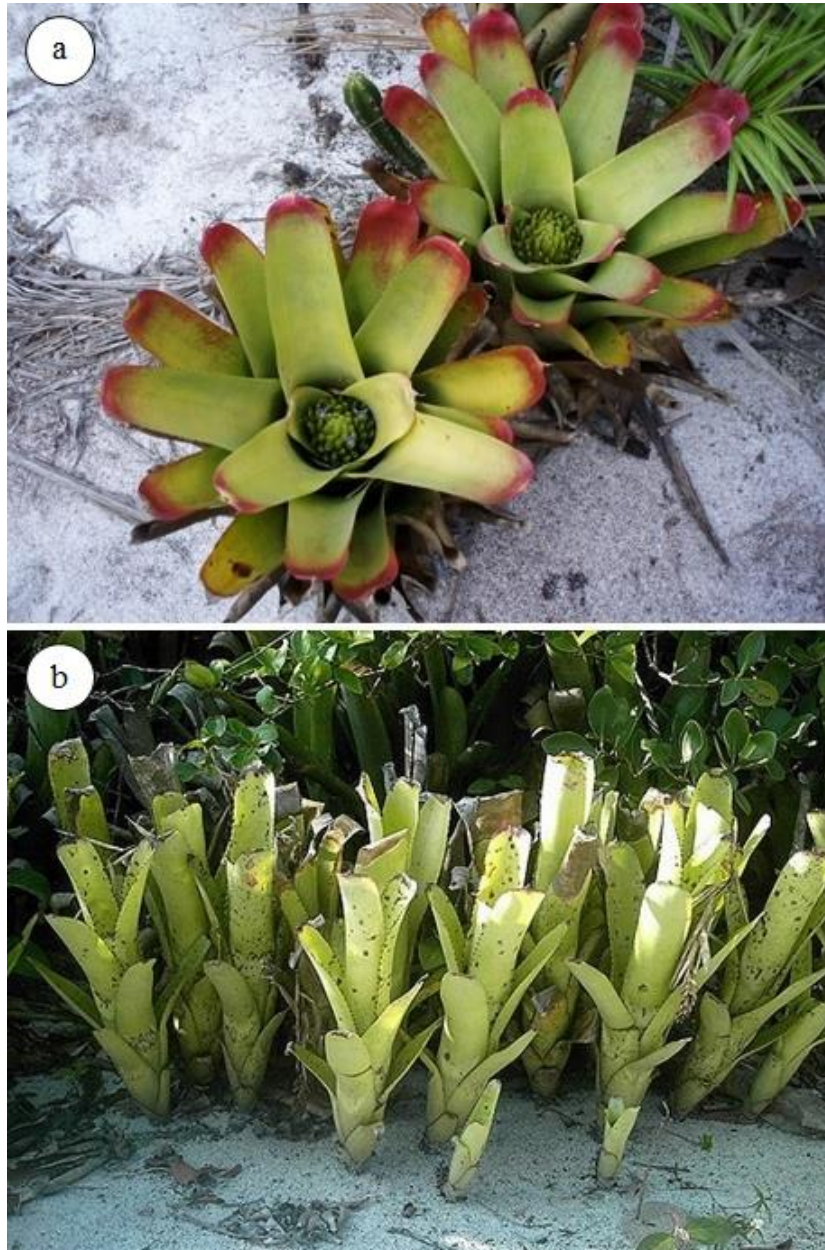


FIGURE 3

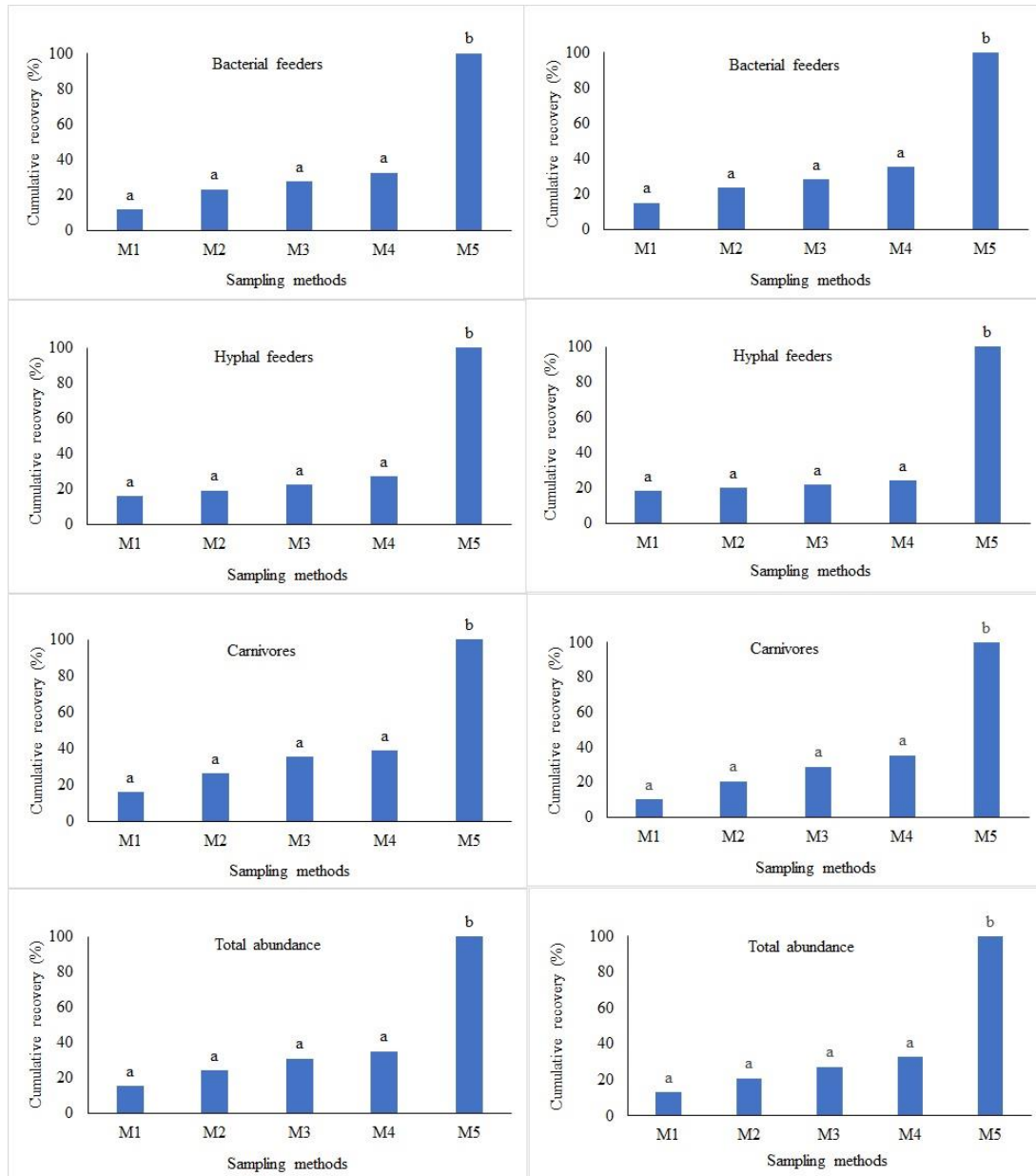


FIGURE 4

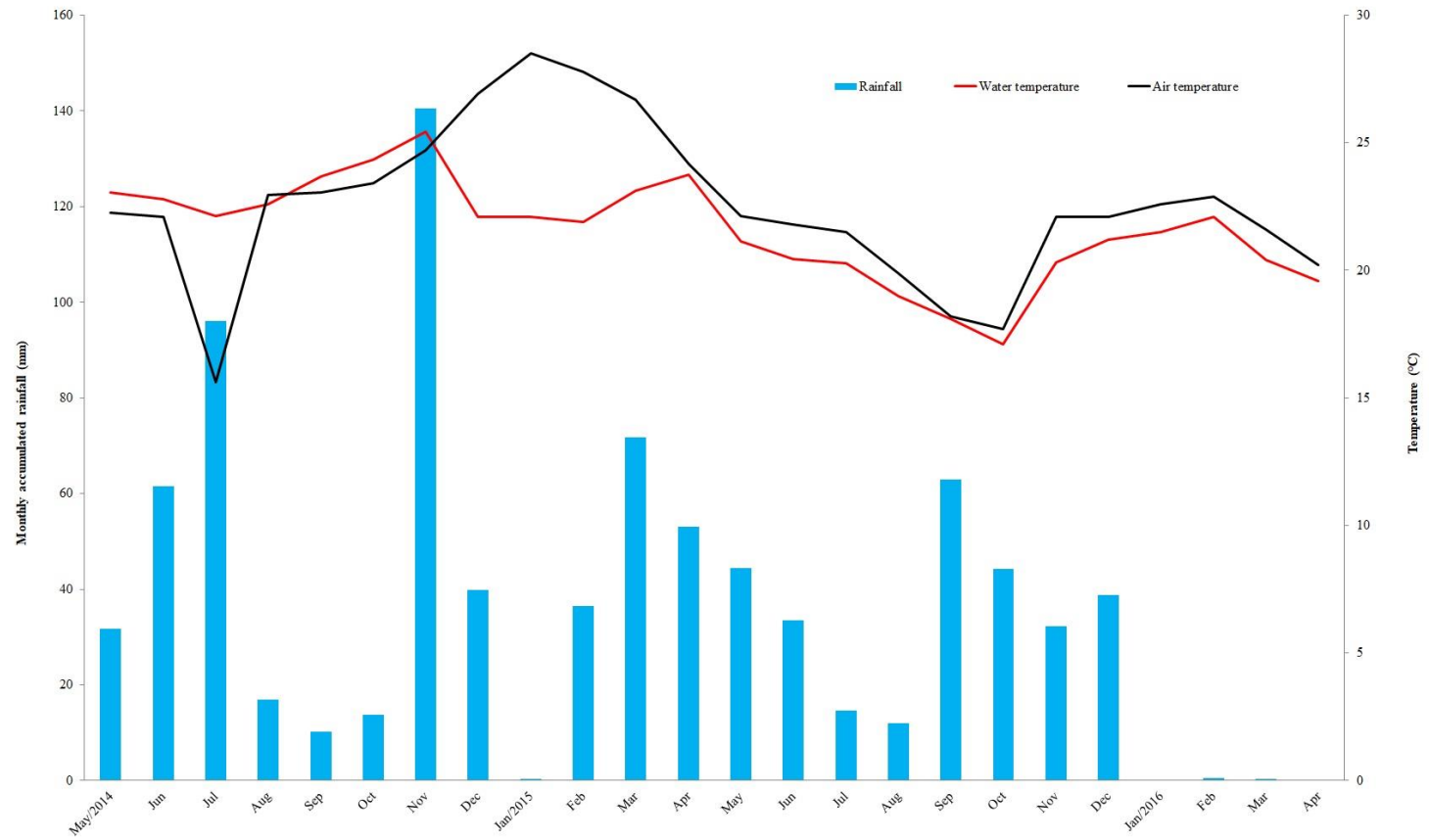


FIGURE 5

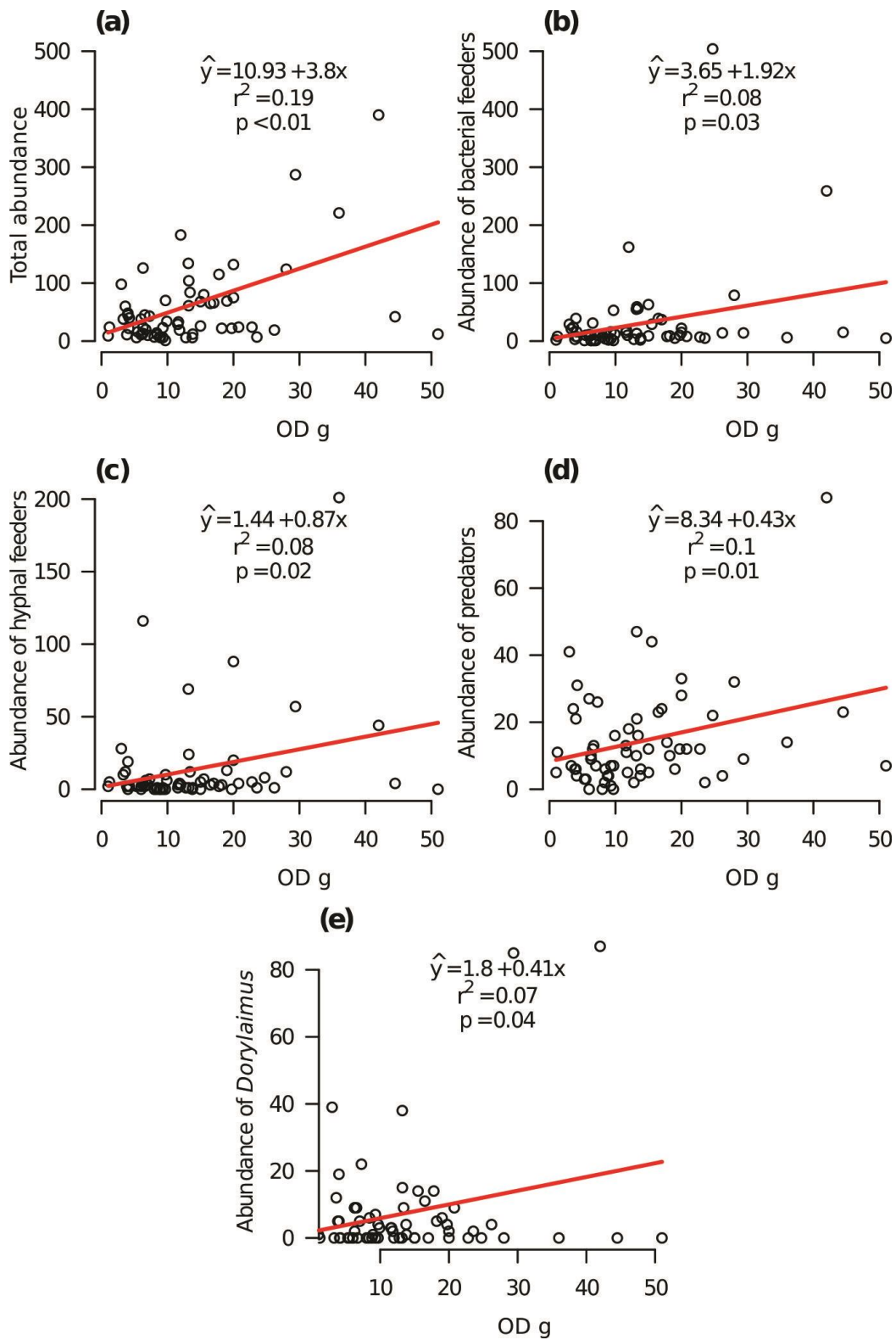
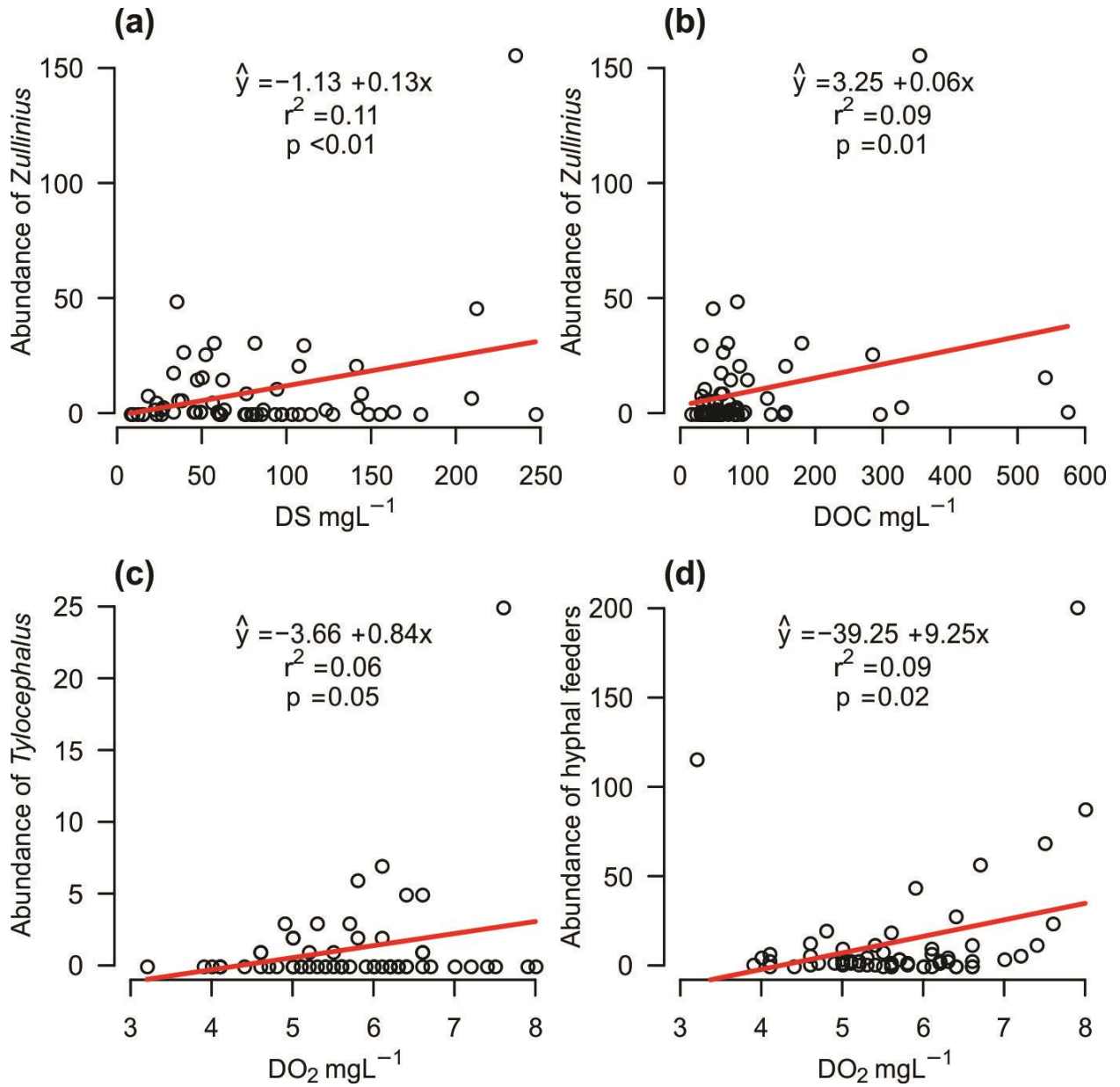


FIGURE 6



ARTIGO 02**Nematodes associated with bromeliad phytotelma: response to ecosystem anthropic disturbance**

Alexandre Macedo Almeida¹, Ricardo Moreira Souza¹ & Janeo Eustáquio Almeida Filho²

¹Grupo de Pesquisa em Nematologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes (RJ), 28015-602, Brazil

²Bayer do Brasil. Av. Fernando Osório, 2158, Pelotas (RS), 96065-000, Brazil

Corresponding author: ricmsouza@censanet.com.br

ABSTRACT

Anthropic disturbance (AD) is a major threat to rainforest ecosystems, primarily through unmanaged wood harvesting, deforestation and fragmentation. The impacts of AD on biodiversity and ecosystem functioning can be expressed through macrofauna and flora indicators. AD has lost or degraded about 88% of the Atlantic Forest original area of 1.3 million km². In this study, the distinct levels of AD among the areas 1-3 showed no significant relation with the physico-chemical variables of the phytotelma's water. Although there were significant differences among the areas in mean counts of hyphal feeders, carnivores, zullinius, tylocephalus and dorylaimus, no clear pattern emerged relative to the level of AD. The bromeliads sustained similar abundance of nematodes and of bacterial feeders, while the most anthropized areas had greater number of hyphal feeders. The abundance of zullinius and tylocephalus across the areas did not match their correspondent trophic group – bacterial feeders. Clearly more studies are necessary to fulfill this expectation, particularly regarding nematofauna, which did not respond to anthropic disturbance in this study.

KEYWORDS: anthropogenic disturbance; atlantic forest; Brazil; nematode trophic structure; phytotelmata; tank-forming bromeliad

INTRODUCTION

Anthropic disturbance (ad) is a major threat to rainforest ecosystems, primarily through unmanaged wood harvesting, deforestation and fragmentation. The impacts of AD to biodiversity and ecosystem functioning can be expressed through macrofauna and flora indicators (Verchot, 2010). Nonetheless, microorganisms, micro- and mesofauna have also been assessed as bioindicators of AD and post-AD restoration. Most studies have focused on (1) soil communities, to assess soil “health” under different usage systems or following specific stress factors, such as mining operations and ionizing radiation (e.g., Mummey et al., 2002; Postma-Blauw et al., 2012; Shah et al., 2013; Sun et al., 2017); (2) response of benthic community in aquatic environments (for a review see Balsamo et al., 2012); and (3) ecotoxicology assessments (see Fränze, 2006).

Nematodes, the most abundant metazoans on Earth, had their advantage as bioindicators highlighted (Yeates, 2003; Höss et al., 2006; Wilson & Kakouli-Duarte, 2009; Hägerbäumer et al., 2015). In terrestrial ecosystems, nearly all responses of nematodes to AD have been sought in the soil environment despite indication that, at least in tropical biomes, nematodes are probably more abundant and diverse aboveground (Porazinska et al., 2010). Aboveground environments that harbor understudied nematode communities include the forest canopy, vertebrate hosts and phytotelmata (sing. phytotelma) - water bodies captured in tree holes, axil of leaves, “carnivorous” plants and tank-forming bromeliads.

Bromeliad phytotelmata are important to sustain the biodiversity and ecosystem functioning in rainforests (Benzing, 2000; Kitching, 2000). Tank-forming bromeliads may reach densities above 150 thousand individuals/hectare, and collectively they hold

tens of thousands liters of water (Sudgen & Robins, 1979). Bromeliad phytotelmata serve as germination grounds for seeds of several plant species; as drinking fountain for visiting fauna; and they are colonized by micro- to macroorganisms with different levels of interaction with this ecosystem for their survival and reproduction. The resident autotrophic and heterotrophic microbiota contribute to bromeliad's mineral nutrition and to the forest's energy and nutrient cycles (Leroy et al., 2015).

Free-living nematodes are known to inhabit phytotelma since the 1920's, and yet ecologists have entirely disregarded them. Recently Robaina et al. (2015) investigated the trophic structure of the fauna of nematodes (nematofauna) associated with the phytotelma of the bromeliads *Canistropsis billbergioides* (Schult.f.) Leme and *Nidularium procerum* Lindm. Thirty nematode genera belonging to all trophic groups were found. The authors reported variability of several parameters of the nematofauna according to the bromeliad species, plant architecture and climate variables. This suggests that free-living nematodes may be important players in the ecology of bromeliad phytotelma as they are important in other freshwater environments (Eyuaalem-Abebe et al., 2006). Conversely, AD that affects the ecosystem, the bromeliads and the phytotelma's micro-environmental conditions might impact the nematofauna.

Hence, this work aimed to assess whether long-term AD affects (1) the physico-chemical characteristics of the water retained in the phytotelma and (2) the residing nematofauna. To address this matter we turned to areas of Atlantic Forest (AF) which were similar except by the degree of AD. In these areas we compared some parameters of the nematofauna during eight seasons (2-yr period).

The importance of the biome chosen for this study cannot be overstated. The AF is one of the world's main centers of biodiversity, particularly of mammals, reptiles, amphibians, fish, birds and plants (Myers et al., 2000; Scarano, 2002). Anthropogenic

disturbance has lost or degraded about 88% of the AF original area of 1.3 million km² (Scarano, 2014).

METHODS

This study was conducted in the Restinga de Jurubatiba National Park (RJNP) (<http://www.icmbio.gov.br/parnajurubatiba/>), in the State of Rio de Janeiro, Brazil. The park protects a large area of *restinga*, an ecosystem that encompasses beaches, dunes, lagoons and areas subject to periodic flooding in which herbaceous and shrubby species predominate. The region's climate is AW by the Köppen classification, with average annual temperature of 23° C and yearly rainfall from 1000 to 1350 mm.

The RJNP presents areas which had been impacted by human activities before the park's creation. Hence, areas 1 through 3 were selected according to their level of disturbance (Table 1). Area 1 (22°11'09.3''S; 41°25'50.8''W) suffered removal of vegetation and impact from a nearby coconut cultivation. Now and then cattle transpasses the park's limit and graze in the area (Figure 1A, B). Area 2 (22°10'34.7''S; 41°24'42.0''W) is located 4 Km away from area 1 and it suffered less impact. Occasional cattle grazing occurs during dry season only (Figure 1C, D). Area 3 (22°09'54.1" S 41°24'03.1" W) is located 5 Km away from area 2 and presents no disturbance except for occasional transit of the park's surveillance vehicles along narrow trails (Figure 1 E, F).

Samplings were performed in the terrestrial bromeliad *Neoregelia cruenta* (R. Graham) L. B. Smith, which thrives abundantly in the RJNP. Only mature plants with inflorescence were sampled because this phenological stage supports a more abundant nematofauna (unpublished results).

In the areas 1, 2 and 3 samplings were carried out once every season, from June 2014 through March 2016. To characterize the seasons, rainfall (incidence and accumulated monthly volume, in mm) and mean monthly air temperature (in °C) were locally monitored from May 2014 through April 2016 using a WatchDog® weather station.

To assess whether AD would affect the physico-chemical characteristics of the water retained in the bromeliad tank in the areas 1-3, on each sampling date the phytotelma water was suctioned from eight bromeliads and subjected to the following measurements: volume (ml); temperature (°C); pH; dissolved oxygen (DO₂, in mg.L⁻¹); dissolved solids (DS, in mg.L⁻¹); and electrical conductivity (EC, in mS.cm⁻¹). These were measured with an Icel Manaus® meter (model PH-1500) with appropriate sensors. A 10 ml aliquot was collected in an unused penicillin flask and used for measurement of dissolved organic carbon (DOC, in mg.L⁻¹) and nitrogen (N, mg.L⁻¹) using a Shimadzu meter (model TOC-Vcph). Macroscopic organic debris (OD) fallen into the phytotelma was collected in a paper bag, dried for 24 h in an oven at 80 °C and expressed in grams.

For nematode sampling, at each sampling date, eight bromeliads were chosen along a random path in each area, for a total of 24 samples. The plants were removed from the soil and placed in plastic bags, with care to return the water initially sucked from the phytotelma for the physico-chemical measurements. For nematode extraction, each plant was individually defoliated and washed in tap water, collecting all the water in a 5 liter bucket. The water was passed through 60 and 500 mesh sieves. The resulting suspension was submitted to the method of Coolen and D'Herde (1972), with modification – without previous grinding in a blender – with centrifugation at 760.24 G for 3 minutes and 190.06 G for 2 minutes.

For nematode counting the 24 samples were entirely examined in Peter's slides under an inverted microscope. The total abundance of nematodes and the abundance per trophic group were computed. The trophic group nomenclature was that of Moens et al. (2006), based on the morphology of the esophageal and mouth regions: plant, hyphal or bacterial feeders, unicellular eukaryote feeders, and carnivores. Three nematode genera – abundant and unmistakably identifiable under the inverted microscope – were also counted: the carnivore *Dorylaimus* sp and the bacterial feeders *Tylocephalus* sp. and *Zulinius* sp.

Nematode counts - total and per trophic groups – were tested for homogeneity of variances (Cochran and Bartlett tests) and for normality of errors (Lilliefors test), at 5% probability (Ribeiro 2001). Since the assumptions were satisfied, an ANOVA was conducted and the area's mean nematode counts – *per* season or area, and pooled from all samplings - were compared through the Tukey test at 5% probability using the Program R Studio, version 3.2.3.

RESULTS

Table 2 shows an ANOVA of nematode counts in bromeliad phytotelma for the parameters sampling date and area, and their interaction. Table 3 shows a comparison of mean nematode counts among the areas with different levels of AD (data pooled from all seasons). In Table 4 the comparison of nematode counts are decomposed for each season and sampling area.

DISCUSSION

Although there were significant differences among the areas in mean counts of hyphal feeders, carnivores, *Zullinius*, *Tylocephalus* and *Dorylaimus*, no clear pattern emerged relative to the level of AD (Table 3). Most nematodes associated with bromeliad phytotelma dwell deep into the plant's leaf axils (Robaina *et al.*, 2015). In this study nematodes were apparently shielded from AD. In unprotected *restinga* areas subjected to a higher level of AD than observed in the RJNP, there is a decrease in bromeliad species diversity and richness (Rocha *et al.*, 2004; 2007) which might affect the nematofauna.

Our understanding of phytotelma's nematofauna does not allow us to explain some patterns observed among areas 1-3. The bromeliads sustained similar abundance of nematodes and of bacterial feeders, while the most anthropized areas had greater number of hyphal feeders. The abundance of *Zullinius* and *Tylocephalus* across the areas did not match their correspondent trophic group – bacterial feeders.

When the comparison among areas was decomposed in the eight seasons of the study, some mean nematode counts were significantly different, but without consistency between the years 2014 and 2015. Therefore, no clear pattern emerged relative to the level of AD for any specific season.

Several interrelated biotic and abiotic factors influence the fauna and flora in bromeliad phytotelma (Benzing, 2000; Kitching, 2000). Anthropogenic disturbance may affect all major ecological processes in this ecosystem - inflow patterns of organic debris; production of nitrogenous wastes of the in-fauna; and nutrient-cycling processes (Kitching 2001). Logging may increase sun-exposure and skew energy and nutrient cycles towards autotrophic processes (Leroy *et al.* 2015). Collectively, all these

processes determine physico-chemical characteristics of the water retained in the tank, to which communities of algae, bacteria and invertebrate micro- to macrofauna respond (Montero et al. 2010; Goffredi et al. 2011; Marino et al. 2011, 2013; Brouard et al. 2012; Kratina et al. 2017).

In this study, the distinct levels of AD among the areas 1-3 showed no significant relation with the physico-chemical variables of the phytotelma's water (Table 5). This corroborates the unresponsiveness of the nematofauna to AD.

Collectively, several studies have brought an inconsistent trend relating AD to communities of microorganisms as well as micro to macrofauna inhabiting the phytotelma. No correlation was observed between forest clearing and edge effect and several parameters of invertebrates (mostly macrofauna) (Wilches-Álvarez et al., 2012; Paula Júnior et al., 2017). Goffredi et al. (2011) presented minor evidences that AD may affect phytotelma's bacterial community.

On the other hand, forest clearing has been shown to interfere with invertebrate communities in *phytotemata* of tree-holes (Khazan et al., 2015), and deforestation was positively correlated with abundance of macro-invertebrates, particularly mosquitoes (Yanoviak et al., 2006). An increase in forest use decreased the inflow of organic debris and altered the phytotelma's water physico-chemical characteristics, leading to loss of abundance and diversity of invertebrates (Gossner et al, 2016).

Studies conducted in different locations not affected by AD have revealed that three related abiotic factors - canopy openness, sun exposure and volume of water retained in the bromeliad tank – are important drivers of changes in micro- to mesofauna communities (Brouard et al., 2012; Dezerald et al., 2013; Kratina et al., 2016; Leroy et al., 2017).

Through unmanaged wood harvesting and fragmentation, bromeliads may suffer from reduced deposition of canopy litter in the phytotelma, excessive winds and drought, all of which may affect the invertebrate community living in phytotelmata, with presumed negative effect on the plant's nutrition. Indeed, a long-term study conducted by Richardson et al. (2018) indicated that human-driven or natural (e.g. hurricane) clearing of a forest may reduce diversity, biomass and change community structure of invertebrates in bromeliad phytotelmata, altering the rate of litter decay and nutrient cycling patterns in the forest. Richardson et al. (2018) suggested that phytotelma's fauna could be a bioindicator of AD. Clearly more studies are necessary to fulfill this expectation, particularly regarding nematofauna, which did not respond to AD in this study.

ACKNOWLEDGMENTS

VICENTE GOMES MARTINS, RENATA RODRIGUES ROBAINA and LETICIA GONÇALVES FERREIRA for help in project development.

LITERATURE CITED

Balsamo M, Semprucci, F, Frontalini F, Coccioni R. 2012. Meiofauna as a tool for marine ecosystem biomonitoring. In: Cruzado A (ed.). Marine Ecosystems. InTech, Rijeka, p. 77-104

- Benzing DH. 2000. Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge, 710 pp.
- Brouard O, Céréghino R, Corbara B, et al. 2012. Understory environments influence functional diversity in tank-bromeliad ecosystems, *Freshwater Biology*, vol. 57 (pg. 815-823)
- Coolen, W.A., D'Herde, C.J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from Plant tissue. Ghent, State Nematology and Entomology Research Station. 77 pp.
- Dézerald O., Leroy C., Corbara B., Carrias J.-F., Pélozuelo L., Dejean A. *et al.* 2013. Food-web structure in relation to environmental gradients and predator-prey ratios in tank-bromeliad ecosystems. *PLoS ONE*, **8**, e71735
- Eyualem-Abebe, Andrásy I, Traunspurger W. 2006. Freshwater nematodes - ecology and taxonomy. CABI Publishing, Wallingford, 752 p.
- Fränzle O. 2006. Complex bioindication and environmental stress assesement. *Ecological Indicators*, 6: 114-136
- 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: 529-542

Gossner MM, Lade P., Rohland A, Sichert N, Kahl T, Bauhus J, Weisser WW & Petermann JS. 2016. Effects of management on aquatic tree-hole communities in temperate forests are mediated by detritus amount and water chemistry. *Journal of Animal Ecology*, 85: 213–226

Hägerbäumer A, Hoss S, Heininger P, Traunspurger W. 2015. Experimental studies with nematodes in ecotoxicology: an overview. *Journal of Nematology*, 47:11–27

Hing S. 2012. A survey of endoparasites in endangered Bornean elephants *Elephas maximus borneensis* in continuous and fragmented habitat. [dissertation]. Imperial College London, London, United Kingdom, 57 pp.

Höss S, Traunspurger W, Zullini A. 2006. Freshwater nematodes in environmental science. In: Abebe E, Traunspurger W, Andrassy I (eds.). *Freshwater Nematodes: ecology and taxonomy*. CABI, Wallingford, p. 144-162

Khazan, E. S., E. G. Bright, and J. E. Beyer. 2015. Land management impacts on tree hole invertebrate communities in a Neotropical rainforest. *Journal of Insect Conservation*.

Kitching RL. 2000. *Food webs and container habitats – The natural history and ecology of phytotelmata*. Cambridge University Press, Cambridge, 431 p.

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

Kratina, P., Petermann, J. S., Marino, N. A. C., MacDonald, A. A. M., & Srivastava, D. S. (2017). Environmental control of the microfaunal community structure in tropical bromeliads. *Ecology and Evolution*, **7**, 1627–1634. <https://doi-org.ez81.periodicos.capes.gov.br/10.1002/ece3.2797>

Leroy C, Carrias J-F, Céréghino R, Corbara B. 2015. The contribution of microorganisms and metazoans to mineral nutrition in bromeliads. *Journal of Plant Ecology*, 9: 241-255

Leroy, C., Petitclerc, F., Orivel, J., Corbara, B., Carrias, J.F., Dejean, A. & Céréghino, R. 2017. The influence of light, substrate and seed origin on the germination and establishment of an ant-garden bromeliad. *Plant Biology* **19**: 70–78

Marino N.A.C., Guariento R.D., Dib V., Azevedo F.D., Farjalla V.F.. (2011) Habitat size determine algae biomass in tank-bromeliads. *Hydrobiologia*, 678: 191-199

Marino N.A.C., Srivastava D.S., Farjalla V.F. (2013) Aquatic macroinvertebrate community composition in tank-bromeliads is determined by bromeliad species and its constrained characteristics. *Insect Conservation and Diversity*, 6: 372–380

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

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

Mummey DL, Stahla PD, Buyerb JS. 2002. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation. *Applied Soil Ecology*, 21: 251–259

Myers N, Mittenmeier RA, Mittenmeier CG, Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858

Paula Júnior AT, Rosa BFJV, Alves RG & Divino AC. 2017. Aquatic invertebrates associated with bromeliads in Atlantic Forest fragments. *Biota Neotropica* 17(1): e20160188

Porazinska, DL, Giblin-Davis RM, Esquivel A, Powers TO, Sung W, Thomas, WK. 2010. Ecometagenetics confirms high tropical rainforest nematode diversity. *Molecular Ecology*, 19: 5521–5530

Postma-Blauw MB, de Goede RGM, Bloem J, Faber JH, Brussaard L. 2012. Agricultural intensification and de-intensification differentially affect taxonomic diversity of predatory mites, earthworms, enchytraeids, nematodes and bacteria. *Applied Soil Ecology*, 57: 39-49

Ribeiro Jr, J.I. (2001) Análises estatísticas no SAEG (Sistema para análises estatísticas). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 301 p.

Richardson B, Richardson M, González G. 2018. Responses of two litter-based invertebrate communities to changes in canopy cover in a forest subject to hurricanes. *Forests*, 9, 309; doi:10.3390/f9060309

Robaina R.R., Souza R.M., Gomes V.M.; Cardoso D.O., Almeida A.M. (2015) Nematode trophic structure in phytotelmata of *Canistropsis billbergioides* and *Nidularium procerum* (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest - variability in relation to climate variables and plant architecture. *Nematoda*, 2:e162015

Rocha CFD, Bergallo HG, Van Sluys M, Alves MAS, Jamel CE. 2007. The remnants of restinga habitats in the Brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: Habitat loss and risk of disappearance. *Brazilian Journal of Biology*, 67: 263-273

Rocha CFD, Nunes-Freitas AF, Carvalho LC, Rocha-Pessôa TC. 2004. Habitat disturbance in the Brazilian coastal sand dune vegetation and related richness and diversity of bromeliad species. *Vidalia*, 2: 49-55

Scarano FR. 2002. Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian atlantic rainforest. *Annals of Botany*, 90: 517-524

Scarano FR. 2014. *Mata atlântica – Uma história do futuro*. Edições de Janeiro and Conservation International - Brasil, Rio de Janeiro, 272 pp.

Shah V, Shah S, Mackey H, Kambhampati M, Collins D, Dowd SE, Colichio R, McDonnell KT, Green T. 2013. Microbial community in the soil determines the forest

recovery post-exposure to gamma irradiation. *Environmental Science and Technology*, 47: 11396–11402

Sugden AM, Robins RJ. 1979. Aspects of the ecology of vascular epiphytes in Colombian cloud forests, I. The distribution of the epiphytic flora. *Biotropica*, 11: 173-188

Sun S, Li S, Avera BN, Strahm BD, Badgley BD. 2017. Soil bacterial and fungal communities show distinct recovery patterns during forest ecosystem restoration. *Applied and Environmental Microbiology*, 183: e00966-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00966-17>

Verchot LV. 2010. Impacts of forest conversion to agriculture on microbial communities and microbial function. In: Dion P (ed.). *Soil Biology and Agriculture in the Tropics*. Springer-Verlag, Berlin, p. 45-63

Wilches-Álvarez W., Botero Á.M.F. & Cortés P.F. 2012. Macroinvertebrates associated with *Guzmania mitis* L.B. Sm. (Bromeliaceae) in two fragments of oak grove. *Colombia Forestal* 16 (1): 5–20

Wilson M, Kakouli-Duarte T. 2009. *Nematodes as environmental indicators*. CABI, Wallingford, UK, 352 pp.

Yanoviak SP, Paredes JER, Lounibos LP, Weaver SC. 2006. Deforestation alters phytotelmata habitat availability and mosquito production in the peruvian Amazon. *Ecological Applications*, 16: 1854–1864

Yeates GW. 2003. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects.

Biology and Fertility of Soils, 37: 199–210

Table 1. Description and intensity of anthropic disturbances in three areas of the Restinga de Jurubatiba National Park, Brazil^a

Description	Intensity		
	Area 1	Area 2	Area 3
Removal of vegetation due to road construction	1 ^b	1	0
Removal of vegetation for the establishment of commercial trailers	1	0	0
Removal of vegetation of gardening/landscaping interest	2	1	0
Removal of vegetation for establishment of coconut plantation	2	0	0
Damage to vegetation due to people's trampling	2	2	0
Littering on vegetation	2	1	0
Traffic of vehicles in the area, even if occasional	2	1	1
Establishment of housing	2	0	0
Sand removal for building purposes	2	1	0
Sum	16	7	1

^a Adapted from Rocha *et al.* (2004)

^b 0: non existent; 1: low intensity; 2: high intensity

Table 2. ANOVA of abundance of nematodes in bromeliad phytotelma in areas with different levels of anthropic disturbance, in the Restinga de Jurubatiba National Park, Brazil						
Sources of variation	Statistical parameters	Season	Area	Sampling date x area	Error	R ²
Bacterial feeders	MSE ^a	363.31	123.25	393.52	94.71	0.47
	p-value	*** ^b	ns ^c	***	--	--
Hyphal feeders	MSE	162.88	261.71	62.82	24.54	0.58
	p-value	***	***	**	--	--
Carnivores	MSE	570.72	771.41	469.71	96.3	0.55
	p-value	***	***	***	--	--
Total abundance	MSE	3877.7	293.7	1266.1	558	0.57
	p-value	***	ns	**	--	--
Zullinius	MSE	66.21	6.24	45.92	8.4	0.58
	p-value	***	ns	***	--	--
Tylocephalus	MSE	72.82	108.84	128.88	0.79	0.74

	p-value	***	***	***	--	--
<i>Dorylaimus</i>	MSE	166.95	165.4	57.32	31.48	0.53
	p-value	***	**	*	--	--

^a MSE: mean squared error

^b Confidence levels: * 5%; ** 1%; *** 0,1%

^c ns: non-significant

Table 3. Mean abundance of nematodes in bromeliad phytotelma in areas with different levels of anthropic disturbance, in the Restinga de Jurubatiba National Park, Brazil

Trophic group/Genera	Area 1^a	Area 2	Area 3
Bacterial feeders	13.86a	11.68a	13.51a
Hyphal feeders	22.04a	18.53a	5.39b
Carnivores	11.84b	18.59a	11.97b
Total abundance	41.82a	40.18a	38.44a
<i>Tylocephalus</i>	1.46a	1.3a	0.43b
<i>Zullinius</i>	19.84b	21.67ab	36.11a
<i>Dorylaimus</i>	4.39b	7.42a	4.13b

^a Level of anthropic disturbance among areas: 1 > 2 > 3

Values are mean of 64 bromeliads. Values followed by the same letter in the lines do not differ by the Tukey test at 5%.

Table 4. Mean abundance of nematodes in bromeliad phytotelma from seasonal samplings in areas with different levels of anthropic disturbance, in the Restinga de Jurubatiba National Park, Brazil

Season/ year	Area	BF ^a	HF	C	Total abundance	<i>Tylocephalus</i>	<i>Zullinius</i>	<i>Dorylaimus</i>
Summer/ 2014	1 ^b	14.71a	22.04a	17.03b	82.1ab	0.28a	5.61a	0.11a
	2	9.93a	18.53a	56.6a	92.68a	0.07a	0.64b	0.24a
	3	8.88a	5.39b	21.08b	54.2b	0.27a	1.87ab	0.36a
Fall/ 2014	1	23.89a	5.78a	8.86a	31.58b	0.65a	3.14b	7.44a
	2	96.96a	9.59a	14.58a	44.47ab	0.09a	5.04b	11.72a
	3	143.94a	4.04a	11.51a	64.88a	0.11a	14.19a	9.12a
Winter/ 2014	1	15.93a	7.22a	14.76a	47.97a	1.15b	1.54b	5.39a
	2	29.25a	5.84a	7.17a	40.15a	5.65a	0.11a	3.41a
	3	37.87a	4.16a	9.08a	22.95a	0.49b	4.76b	4.92a
Spring/ 2014	1	22.41a	11.84ab	9.91a	40.85a	1.25a	1.36a	6.24a
	2	7.61b	7.14a	9.24a	34.53a	0.99a	1.56a	8.6a
	3	8.85b	3b	6.81a	25.1a	1.71a	0.98a	5.68a
Summer/ 2015	1	12.77a	4.54a	8.44a	24.01a	0.66a	1.49a	1.71a
	2	6.94a	1.46a	6.74a	12.92a	0.48a	1.18a	3.46a
	3	7.32a	0.56a	6.32a	11.28a	0.44a	1.72a	1.83a
Fall/ 2015	1	24.86a	9.11a	15.98a	53.91a	6.41a	5.54a	8.49a
	2	11.87b	5.89a	16.05a	35.38a	0.78b	1.37b	9.52a
	3	29.69a	2.74a	12.28a	48.9a	0.09b	2.52ab	7.21a
Winter/ 2015	1	8.48a	6.45a	7.55b	28.67a	1.21a	0.56a	0.17b

2015	2	7.72a	4.33a	28.14a	41.68a	1.38a	0.82a	1.51a
	3	7.45a	5.28a	10.49b	24.51a	0.34a	0.5a	0.02b
Spring/ 2015	1	9.26b	3.3a	12.17a	25.41ab	0.58a	0.31b	5.52a
	2	10.43b	2.28a	10.16a	19.63b	0.9a	1.93ab	7.29a
	3	27.67a	4.61a	18.17a	55.67a	0.92a	7.19a	4.67a

^a BF: Bacterial feeders; HF: hyphal feeders; C: carnivores

^b Level of anthropic disturbance among areas: 1 > 2 > 3

Values are mean of eight bromeliads *per* sampling date and area. For each sampling date, values followed by the same letter in the columns do not differ by the Tukey test at 5%.

Table 5. Descriptive statistics of physico-chemical variables of the water retained in phytotelmata of *N. cruenta*, in areas with different levels of anthropic disturbance, in the Restinga de Jurubatiba National Park, Brazil

Variables	Areas											
	1				2				3			
	Mean	Min	Max	SD	Mean	Min	Max	SD	Mean	Min	Max	SD
Temp (°C)	21.91	20	26	2.10	22.14	20	26	2.30	21.14	20	29	2.59
DO2 (mg.L ⁻¹)	5.49	2.70	8	1.16	5.64	3.70	7.40	0.86	5.67	3.20	8	1
DS (mg.L-1)	64.05	12	381	55.08	69.81	9	284	54.24	80.03	8	247	56.56
EC (mS.cm ⁻¹)	0.09	0.02	0.581	0.08	0.10	0.013	0.42	0.08	0.11	0.01	0.37	0.08
pH	6.14	4.11	8.24	0.80	5.80	4.50	6.82	0.57	5.62	3.49	8.10	0.67
RW (ml)	270.66	25	845	171.17	271.05	20	740	177.11	222.45	37	910	157.85
OD (g)	13.44	0.30	55.77	12.27	13.49	1	61.40	12.38	13.67	1	51	10.36
DOC (mg.L-1)	62.27	13.19	210.72	42.77	78.70	14.88	468.30	64.81	97.41	15.86	574	108.53
N (mg.L-1)	4.11	0.13	17.39	2.96	4.36	0.14	10.75	2.73	4.24	0.14	12.78	2.89

Values are mean of eight bromeliads *per* sampling date and area.

4 RESUMO E CONCLUSÕES

O distúrbio antrópico (DA) é uma grande ameaça para os ecossistemas da floresta tropical, principalmente através da extração de madeira não gerenciada, desmatamento e fragmentação. Os impactos da biodiversidade e do funcionamento do ecossistema podem ser expressos através de indicadores de macrofauna e flora. O DA degradou cerca de 88% da área original de 1,3 milhão de km² da Mata Atlântica. Neste estudo, estabeleceu-se como padrão para estudos sobre a nematofauna associada a bromélias de restinga a amostragem de *N. cruenta* no estágio fenológico de floração, empregando-se o método de amostragem M5 - coleta da planta inteira e seu desfolhamento completo em laboratório. Por sustentar uma nematofauna mais abundante. Os níveis distintos de DA entre as áreas 1-3 não apresentaram relação significativa com as variáveis físico-químicas da água do fitotelma. Embora houvesse diferenças significativas entre as áreas nas contagens médias de micófagos, predadores, *Zullinius*, *Tylocephalus* e *Dorylaimus*, nenhum padrão claro emergiu em relação ao nível de DA. As bromélias mantiveram abundância semelhante de nematóides e de alimentadores bacterianos, enquanto as áreas mais antropizadas apresentaram maior número de micófagos. A abundância de *Zullinius* e *Tylocephalus* ao longo das áreas não coincidiu com o seu correspondente grupo trófico - bacteriofagos. Claramente, mais estudos são necessários para preencher essa expectativa, particularmente em relação à nematofauna, que não respondeu ao distúrbio antrópico neste estudo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida A.M., Souza R.M., Gomes V.M. (2017) Nematodes associated with phytotelmata of *Neoregelia cruenta* and *Aechmea nudicaulis* (Bromeliaceae): sampling optimization and changes associated with flowering. NEMATODA. No prelo.

Almeida, A. M. and Souza, R.M.: Web Ecology, available at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.7011311>, 2018

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

Anônimo (2000) Avaliação de ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da mata atlântica e campos sulinos. Ministério do Meio-Ambiente, Conservation International do Brasil, Fundação SOS Mata Atlântica, Fundação

Biodiversitas, Instituto de Pesquisas Ecológicas e Instituto Estadual de Florestas, 40 p.

APG III. (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 161, n. 2, p. 105-121

Araújo, D.S.D. de & Henriques, R.P.B. (1984) Análise florística das restingas do Estado do Rio de Janeiro. Pp. 159-194. In: L. D. Lacerda; D. S. D. Araújo; R. Cerqueira; B. Turcq (Eds.) *Restingas: Origem, Estrutura e Processos*. CEUFF, Niterói

Araújo, D.S.D. de & Maciel, N.C. (1998) Restingas fluminenses: biodiversidade e preservação. *Boletim FBCN* 25: 27-51

Araújo, D.S.D. de & Peixoto, A.L. (1975) Renovação da comunidade vegetal de restinga após uma queimada. Pp. 1-18. In: *Anais do XXVI Congresso Nacional de Botânica*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro

Araújo, D.S.D. de; Scarano, F.R.; Sá, C.F. de; Kurtz, B.C.; Zaluar, H.L.T.; Montezuma, R.C.M. & Oliveira, R.C. de. (1998) Comunidades Vegetais do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. Pp. 39-62. In: F. A. Esteves (Ed.) *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé, RJ*. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Araújo, V.A., Melo, S.K., Araújo, A.P.A., Gomes, M.L.M. & Carneiro, M.A.A. (2007). Relationship between invertebrate fauna and bromeliad size. *Brazilian Journal of Biology* 67: 611-617

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

Assumpção, J. & Nascimento, M.T. (1998) Fitofisionomia de uma restinga no extremo norte do litoral fluminense: um novo elemento no mosaico Pp. 158-164. In: Anais do IV Simpósio de Ecossistemas Brasileiros. ACIESP, vol. 3, São Paulo

Baldwin, J.G., Nadler, S.A. & Freckman, D.W. (2000). Nematodes - pervading the earth and linking all life. In. Nature and Human Society - The Quest for a Sustainable World. (P.H. Raven, ed.). Washington, National Academy Press, p. 176-191

Balsamo M, Semprucci, F, Frontalini F, Coccioni R. 2012. Meiofauna as a tool for marine ecosystem biomonitoring. In: Cruzado A (ed.). Marine Ecosystems. InTech, Rijeka, p. 77-104

Barth, F. G., Seyfarth, E. A., Bleckmann, H., Schüch, W. (1988) Spider of genus *Cupiennius* Simon 1891 (Araneae, Ctenidae) Range distribution, dwelling plants and climatic characteristics of the habitats. *Oecologia* (77): 187-193p.

Benzing D.H. (2000) Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge, 710 pp.

Benzing, D.H. (1980) The biology of bromeliads. California, Mad River Press

Benzing, D.H. (1990) Vascular epiphytes—General Biology and Related Biota. Cambridge, Cambridge University Press

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

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 Seattle 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, et al. (2012) Understory environments influence functional diversity in tank-bromeliad ecosystems, Freshwater Biology, vol. 57 (pg. 815-823)

Carrias J-F, Brouard O, Leroy C, Céréghino R, Pélozuelo L, Dejean A, Corbara B. (2012) An ant-plant mutualism induces shifts in the protist community structure of a tank-bromeliad. Basic and Applied Ecology, 13: 698-705

Carrias R.C., Céréghino R, Brouard LP, Pélozuelo L, Dejean A, Couté A, Corbara B, Leroy C. (2014) Two coexisting tank bromeliads host distinct algal communities on a tropical inselberg. Plant Biology, 16: 997–1004

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.

Chaves L.S.M., Sá I.L.R., Bergamaschi D.P., Sallum M.A.M. (2016) *Kerteszia* Theobald (Diptera: Culicidae) mosquitoes and bromeliads: A landscape ecology approach regarding two species in the Atlantic rainforest. Acta Tropica vol:164 pg:303 -313

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: 999-1005.

Coolen, W.A., D'Herde, C.J. (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from Plant tissue. Ghent, State Nematology and Entomology Research Station. 77 pp.

Dantas, T.B. & Rocha, P.L.B. (2005) Corredores ecológicos – uma tentativa de reverter ou minimizar a fragmentação florestal e seus processos associados: o caso do corredor central da mata atlântica. In.: Mata Atlântica e Biodiversidade (C.R.Franke, P.L.B. Rocha, W. Klein & S.L. Gomes, eds). Editora da UFBA, p. 165-189

Dézerald O., Leroy C., Corbara B., Carrias J.-F., Pélozuelo L., Dejean A. *et al.* 2013. Food-web structure in relation to environmental gradients and predator-prey ratios in tank-bromeliad ecosystems. *PLoS ONE*, **8**, e71735

Dias, S.C., Brescovit, A.D. (2004) Microhabitat selection and co-ocurrence of *Pachistopelma rufonigrum* Pocock (Araneae, Theraphosidae) and *Nothoctenus fuxico* sp. Nov. (Araneae, Ctenidae) in bromeliads from Serra de Itabaiana, Sergipe, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* (21): 789-796p.

Ekschmitt, K. & Korthals, G.W. (2006). Nematodes as sentinels of heavy metals and organic toxicants in the soil. *Journal of Nematology* 38: 13-19.

Eyualem-Abebe, Andrassy I, Traunspurger W. (2006) Freshwater nematodes - ecology and taxonomy. CABI Publishing, Wallingford, 752 p.

Fincke, O.M., Yanoviak, S. P., Hanschu, R.D. (1997) Predation by odonates depresses mosquito abundance in water-filled tree holes in Panama. *Oecologia* 112 (2): 244-253 p.

Fontoura, T., Costa, A., Wendt, T. (1991) Preliminary checklist of the Bromeliaceae of Rio de Janeiro State, Brazil. *Selbyana* (12): 5-45 p.

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.

Frank, J.H. (2008). Phytotelmata. In. Encyclopedia of Entomology. Dordrecht, Springer.

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

Frank, J.H., Sreenivasan, S., Benschhoff, P.J., Deyrup, M.A., Edwards, G.B., Halbert, S.E., Thomas, A.B., Lowman, M.D., Mockford, E.L., Scheffrahn, R.H., Steck, G.J., Thomas, M.C., Walker, T. J., Welbourn, W. C. (2004) Invertebrate animals extracted from native *Tillandsia* (Bromeliales:Bromeliaceae) in Sarasota County, Florida. *Florida Entomologist* (87) 176-185p.

Franke, C. R., Rocha, P. L. B., Klein, W. and Gomes, S. L.: (2005) *Mata Atlântica e Biodiversidade*. Editora da Universidade Federal da Bahia, Salvador

Fränzle O. (2006) Complex bioindication and environmental stress assesment. *Ecological Indicators*, 6: 114-136

Freckman, D.W. & Baldwin, J.G. (1990). Nematoda. In. *Soil Biology Guide*, John Wiley & Sons, Inc., p. 155-200

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

Givnish, T.J. et al. (2011) Phylogeny, adaptative, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an Eighth-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, v. 98, n.5, p.1-24

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: 529-542

Gonçalves, A.Z., Mercier, H., Mazzafera, P. & Romero, G.Q. (2011). Spider-fed bromeliads: seasonal and interspecific variation in plant performance. *Annals of Botany* 107: 1047-1055

Goss R.C., Whitlock LS, Westrick J.P. (1964) Isolation and ecological observations of *Panagrodontus* sp. (Nematoda: Cephalobidae) in pitcher plants (*Sarracenia sledgei*). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 31: 19-20

Gossner MM, Lade P., Rohland A, Sichert N, Kahl T, Bauhus J, Weisser WW & Petermann JS. (2016) Effects of management on aquatic tree-hole communities in temperate forests are mediated by detritus amount and water chemistry. *Journal of Animal Ecology*, 85: 213–226

Greeney, H.F. (2001) The insects of plant-held waters: a review and bibliography. *Journal of Tropical Ecology*, (17): 241-260p.

Guedes, M.L.S., Batista, M.A., Ramalho, M., Freitas, H.M.B. & Silva, E.M. (2005). In.: *Mata Atlântica e Biodiversidade* (C.R. Franke, P.L.B. Rocha, W. Klein & S.L. Gomes, eds). Editora da UFBA, p. 39-92

Guimarães-Souza B.A., Mendes G.B., Bento L, Marotta H., Santoro A.L., Esteves F.A., Pinho L., Farjalla V.F., Enrich-Prast A. (2006) Limnological parameters in the water accumulated in tropical bromeliads. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 18: 47-53

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.

Hägerbäumer A, Hoss S, Heininger P, Traunspurger W. (2015) Experimental studies with nematodes in ecotoxicology: an overview. *Journal of Nematology*, 47:11–27

Hay, J.D.; Henriques, R.P.B. & Lima, D.M. (1981) Quantitative comparisons of dune and foredune vegetation in restinga ecosystems in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, v.41, n. 3. pp. 655-662

Heckman, C.W. (2008) South American aquatic insects: Odonata-Zygoptera. Springer, Washington.

Henriques, R.P.B.; Araújo, D.S.D. de & Hay, J. D. (1986) Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Botânica* 9: 173-189

Henriques, R.P.B.; Meirelles, M.L. & Hay, J.D. (1984) Ordenação e distribuição de espécies das comunidades vegetais na praia da restinga de Barra de Maricá, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Botânica* 7: 27-36

Hing S. 2012. A survey of endoparasites in endangered Bornean elephants *Elephas maximus borneensis* in continuous and fragmented habitat. [dissertation]. Imperial College London, London, United Kingdom, 57 pp.

Hodda M, Ocaña A, Traunspurger W. (2006) Nematodes from extreme freshwater habitats. In: Eyuaem-Abebe, Traunspurger W, Andrassy I (eds.) *Freshwater nematodes: ecology and taxonomy*. CABI, Wallingford, p. 179-210

Holovachov O, Boström S, Campo M. (2004) Description of three known and two new species of the genus *Tylocephalus* Crossman, 1933 with a revised taxonomy of the genus and key to species of the subfamily Wilsonematinae (Plectida). *Russian Journal of Nematology*, 12: 115-130

Höss, S., Traunspurger, W. & Zullini, A. (2006). Freshwater nematodes in environmental science. In. Freshwater nematodes - Ecology and Taxonomy. Oxfordshire, CABI Publishing, p. 144-162

Huston, M.A. (1999) Local processes and regional patterns: appropriate scales for understanding variation in the diversity of plants and animals. *Oikos*, (86):393-401

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: 351-360

Jacques- Félix, H. (2000) The Discovery of a bromeliad in África: *Pitcairnia feliciana*, *Selbyana* (21):118-124

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

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.

Khazan, E. S., E. G. Bright, and J. E. Beyer. 2015. Land management impacts on tree hole invertebrate communities in a Neotropical rainforest. *Journal of Insect Conservation*

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 agroecosystems*, 353-360

Kitching R.L. (2000) Food webs and container habitats – The natural history and ecology of phytotelmata. Cambridge University Press, Cambridge, 431 p.

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

Kolicka, M., Gwiazdowicz, D. J., Hupalo, K., Jablonska, A., Kotwicki, L., Kornobis, F., Lamentowicz, M., Magowski, W., Marcisz, K., Pronin, M., Reczuga, M. K., Olszanowski, Z. and Zawierucha, K.: (2016) Hidden invertebrate diversity – phytotelmata in Bromeliaceae from palm houses and florist wholesalers (Poland). *Biologia*, 71, 194–203, <https://doi.org/10.1515/biolog-2016-0026>

Kratina, P., Petermann, J. S., Marino, N. A. C., MacDonald, A. A. M., & Srivastava, D. S. (2017). Environmental control of the microfaunal community structure in tropical bromeliads. *Ecology and Evolution*, 7, 1627–1634. <https://doi-org.ez81.periodicos.capes.gov.br/10.1002/ece3.2797>

Krügel, P.: (1993) Biologie und Ökologie der Bromelienfauna von *Guzmania weberbaueri* im amazonischen Peru, in: Biosystematics and Ecology Series, number 2, edited by: Morawetz, W., Austrian Academy of Sciences Press, Wien

Lacerda, L.D. & Hay, J.D. (1982) Habitat of *Neoregelia cruenta* (Bromeliaceae) in coastal sand dunes of Maricá, Brazil. *Revista de Biologia Tropical* 30(2): 171-173.

Lacerda, L.D.; Araujo, D.S.D. & Maciel, N.C. (1993) Dry coastal ecosystems of the tropical Brazilian coast. In: Van der Maarel, E. (ed.) *Dry Coastal Ecosystems: Africa, America, Asia and Oceania*. Amsterdam, Elsevier. (Ecosystems of the World 2B). p. 477 – 493

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

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.

Law, B.S. & Dickman, C.R. (1998) The use of habitat mosaics by terrestrial vertebrate fauna: implications for conservation and management. *Biod. and Cons.* 7:323-333

Leroy C, Carrias J-F, Céréghino R, Corbara B. 2015. The contribution of microorganisms and metazoans to mineral nutrition in bromeliads. *Journal of Plant Ecology*, 9: 241-255

Leroy, C., Petitclerc, F., Orivel, J., Corbara, B., Carrias, J.F., Dejean, A. & Céréghino, R. (2017) The influence of light, substrate and seed origin on the germination and establishment of an ant-garden bromeliad. *Plant Biology* **19**: 70–78

Lewinsohn, T.M and Prado, P.I. (2005). How many species are there in Brazil? *Conservation Biology* 19 (3): 619-624p.

Lopez, L.C.S. (1997) Comunidades aquáticas em tanques de bromélias: zonação e sucessão. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro

Louca, L., Jacques, S. M. S., Pires, A. P. F., Leal, J. S., Gonzalez, A. L., Doebeli, M. and Farjalla, V. F.: (2017) Functional structure of the bromeliad tank microbiome is strongly shaped by local geochemical condition. *Environ Microbiol*, 19, 3132–3151, <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13788>

Louca, L., Jacques, S. M. S., Pires, A. P. F., Leal, J. S., Srivastava, D, S., Parfrey, L. W., Farjalla, V. F. and Doebeli, M.: (2016) High taxonomic variability despite stable functional structure across microbial communities. *Nature Ecology & Evolution* 1, 0015, <http://doi.10.1038/s41559-016-0015>

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

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

Majdi, N. and Traunspurger, W.: Free-living nematodes in the freshwater food web: a review. *Journal of Nematology*, 47, 28–44, MCID:PMC4388577, 2015

Marino N.A.C., Guariento R.D., Dib V., Azevedo F.D., Farjalla V.F.. (2011) Habitat size determine algae biomass in tank-bromeliads. *Hydrobiologia*, 678: 191-199

Marino N.A.C., Srivastava D.S., Farjalla V.F. (2013) Aquatic macroinvertebrate community composition in tank-bromeliads is determined by bromeliad species and its constrained characteristics. *Insect Conservation and Diversity*, 6: 372–380

Martinelli, G. (2006) Manejo de populações e comunidades vegetais: um estudo de caso na conservação de Bromeliaceae. In *Biologia da conservação: essências* (Rocha, C.F.D., Bergallo, H.G., Sluys Van., Alves, M.A.S. orgs). Editora Rima, São Carlos, 479-503p.

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* 59: 209-258

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.

Mattos, J. K. A. (2002) Nematoides do solo como indicadores da interferência humana nos sistemas naturais: aspectos gerais e alguns resultados obtidos no Brasil. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 373-390

Menezes, L.F.T. de & Araújo, D.S.D de. (1999) Estrutura de duas formações vegetais do cordão externo da Restinga de Marambaia, RJ. *Acta Botanica Brasilica* 13(2): 223-235

Menzel, R.: Beiträge zur Kenntnis der Mikrofauna von Niederländisch-Ost-Indien. *Treubia*, 3, 116–126, 1922

Merwin, M.C.; Rentmeester, S.A. & Nadkarni, N.M. (2003) The influence of host tree species on the distribution of epiphytic bromeliads in experimental monospecific plantations, La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 35(1): 37-47

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

Meyl, A.H. (1957) Two new free-living nematodes, found in the rain-water reserve of *Quesnelia arvensis* (Vell.) Mez. (Bromeliaceae) from Brazil. *Proceedings of the Helminthological Soc. Washington*, (24): 62-66p.

Ministério do Meio Ambiente. (2002) 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

Mittermeier, R. A., Gil, P. R., Hoffmann, M., Pilgrim, J. B. T., Mittermeier, C. G., Lamoreux, J., Fonseca, G. A. B. (2004) Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered ecoregions. CEMEX, Mexico City, Mexico, 433

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

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

Moreno, C., Fischer, F. M., Menna-Barreto, L. (2003) Aplicações da Cronobiologia. Em: N. Marques; L. Menna-Barreto. (Org.). *Cronobiologia: princípios e aplicações*. São Paulo: Edusp. 321-336

Mummey DL, Stahla PD, Buyer JS. (2002) Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation. *Applied Soil Ecology*, 21: 251–259

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

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

Niles, R.K. & Freckman, D.W. (1998). From the ground up: nematode ecology in bioassessment and ecosystem health. In: *Plant and Nematode Interactions* (K.R. Barker & G.A. Pederson, eds). Washington, American Society of Agronomy-Crop Science Society of America-Soil Science Society of America, p. 65-85

Oliveira A.A., Vicentini A., Chave J., Castanho C.D.T., Davies S.J., Martini A.M.Z., Lima R.A.F., Ribeiro R.R., Iribar A., Souza V.C. (2014) Habitat specialization and phylogenetic structure of tree species in a coastal Brazilian white-sand forest. *Journal of Plant Ecology* 7: 134-144. doi: 10.1093/jpe/rtt073

Osono, T.: (2007) Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecol Res*, 22, 955–974, <https://doi.org/10.1007/s11284-007-0390-z>

Paula Júnior AT, Rosa BFJV, Alves RG & Divino AC. (2017) Aquatic invertebrates associated with bromeliads in Atlantic Forest fragments. *Biota Neotropica* 17(1): e20160188

Paula, C.C. & Silva, H.M.P. (2004). *Cultivo prático de bromélias*, 3ª edição. Editora UFV, 106 pp.

Perry, R. N. and Wright, D. J.: (1998) *The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes*. CABI Publishing, Wallingford

Picado, C. (1913) Les broméliacées épiphytes considérées comme milieu biologique. *Bulletin Scientifi que France et Belgique* (5): 215-360 p.

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

Porazinska, D.L., Duncanb, L.W., Mcsorleyc, R., Grahamb, J.H. (1999). Nematode communities as indicators of status and processes of a soil ecosystem influenced by agricultural management practices. *Applied Soil Ecology*, 69-86

Porazinska, DL, Giblin-Davis RM, Esquivel A, Powers TO, Sung W, Thomas, WK. (2010) Ecometagenetics confirms high tropical rainforest nematode diversity. *Molecular Ecology*, 19: 5521–5530

Porembski S., Barthlott, W (1999). *Pitcairnia feliciana*: the only indigenous African bromeliad. *Harv Paper Bot* 175-184

Postma-Blauw MB, de Goede RGM, Bloem J, Faber JH, Brussaard L. (2012) Agricultural intensification and de-intensification differentially affect taxonomic diversity of predatory mites, earthworms, enchytraeids, nematodes and bacteria. *Applied Soil Ecology*, 57: 39-49

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

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

R Core Team. (2017). R: A Language and Environment for Statistical Computing. Available at <http://www.r-project.org/>.

Resolução Conama nº 303, de 20 de março de 2002 - Dispõe sobre parâmetros, definições e limites de Áreas de Preservação Permanente.

Resolução CONAMA nº 7, de 23 de Julho de 1996 - Parâmetro básico para análise dos estágios de sucessão de vegetação de restinga para o Estado de São Paulo.

Ribeiro Jr, J.I.. (2001) Análises estatísticas no SAEG (Sistema para análises estatísticas). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 301 p.

Richardson B, Richardson M, González G. (2018). Responses of two litter-based invertebrate communities to changes in canopy cover in a forest subject to hurricanes. *Forests*, 9, 309; doi:10.3390/f9060309

Richardson, B.A. (1999). The bromeliad microcosm and the assessment of faunal diversity in a neotropical forest. *Biotropica* 31: 321-336.

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

Ristau K., Faupel M., Traunspurger W. (2013) Effects of nutrient enrichment on the trophic structure and species composition of freshwater nematodes - a microcosm study. *Freshwater Science*, 32: 155–168

Rizzini, C.M.; Pereira, C.; Occhioni, E.M.L. & Agarez, F.V. (1990) Considerações sobre a ocorrência de Cactaceae na APA de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 4(2): 171-182

Robaina R.R., Souza R.M., Gomes V.M.; Cardoso D.O., Almeida A.M. (2015) Nematode trophic structure in phytotelmata of *Canistropsis billbergioides* and *Nidularium procerum* (Bromeliaceae) in the Atlantic Forest - variability in relation to climate variables and plant architecture. *Nematoda*, 2:e162015

Rocha C.F.D., Bergallo H.G., Alves MAS, Van Sluys M. (2003) A biodiversidade nos grandes remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro e nas restingas da Mata Atlântica. RiMa Editora, São Carlos, 134 pp.

Rocha C.F.D., Bergallo H.G., Van Sluys M, Alves M.A.S., Jamel CE. (2007) The remnants of restinga habitats in the brazilian Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil: Habitat loss and risk of disappearance. *Brazilian Journal of Biology*, 67: 263-273

Rocha C.F.D., Vrcibradic D., Kiefer M.C., Menezes V.A., Fontes A.F., Hatano F.H., Galdino C.A.B., Bergallo H.G., Van Sluys M. (2014) Species composition, richness and nestedness of lizard assemblages from restinga habitats along the brazilian coast. *Brazilian Journal of Biology*, 74: 349-354

Rocha CFD, Nunes-Freitas AF, Carvalho LC, Rocha-Pessôa TC. 2004. Habitat disturbance in the Brazilian coastal sand dune vegetation and related richness and diversity of bromeliad species. *Vidalia*, 2: 49-55

Rocha, C.F.D., Cogliatti-Carvalho, L., Almeida, D.R., Freitas, A.F.N. (2000) Bromeliads: Biodiversity amplifiers. *Journal of Bromeliad Society* 81-83p.

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* 52-72

Rocha, C.F.D., Cogliatti-Carvalho.L., Almeida, D.R., Freitas, A.F.N. (1997) Bromélias: ampliadoras da biodiversidade. *Bromélia* (4):7-10p.

Rocha, R.B. (2005). Evolução e perspectivas dos usos da terra na mata atlântica. In.: *Mata Atlântica e Biodiversidade* (C.R.Franke, P.L.B. Rocha, W. Klein & S.L. Gomes, eds). Editora da UFBA, p. 223-241

Romero, G.Q., Mazzafera, P., Vasconcellos-Neto, J., Trivelin, P.C.O. (2006) Bromeliad-living spiders improve host plant nutrition and growth.- *Ecology* 803-808

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* 941-949

Romero, G.Q., Vasconcellos-Neto, J.(2005b) Population dynamics, age structure and sex ratio of the bromeliad-dwelling jumping spider, *Psecas chapoda* (Salticidae). *Journal of Natural History* (39): 153-163p.

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

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

Sá, C.F.C. de (1996) Regeneração em área de floresta de restinga na Reserva Ecológica Estadual de Jacarepiá, Saquarema-RJ: Estrato herbáceo. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 34(1): 177-192

Sá, C.F.C. de. (1992) A vegetação de restinga de Ipitangas, Reserva Ecológica Estadual de Jacarepiá, Saquarema (RJ): fisionomia e listagem das angiospermas. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 31: 87-102

Sampaio D, Souza VC, Oliveira AA, Paulasouza J, Rodrigues RR. (2005) Árvores de restinga: guia ilustrado para identificação das espécies da Ilha 47 do Cardoso. Editora Neotrópica, São Paulo, 280 pp.

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. (2002) Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* 90: 517-524.

Scarano FR. 2014. Mata atlântica – Uma história do futuro. Edições de Janeiro and Conservation International - Brasil, Rio de Janeiro, 272 pp.

Schessl, M., Krause, L., Piechowski, D., Gottsberger, G (2005). A fragmentação da mata atlântica em Pernambuco e suas consequências biológico-reprodutivas. In.: *Mata Atlântica e Biodiversidade* (C.R.Franke, P.L.B. Rocha, W. Klein & S.L. Gomes, eds). Editora da UFBA, p. 143-164

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 Pós-graduação em Entomologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba 70 p.

Shah V, Shah S, Mackey H, Kambhampati M, Collins D, Dowd SE, Colichio R, McDonnell KT, Green T. (2013) Microbial community in the soil determines the forest recovery post-exposure to gamma irradiation. *Environmental Science and Technology*, 47: 11396–11402

Signor, P.W. (1990). The geological history of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, (21): 509-539 p.

Solbrig, O.T. (1996) The origin and function of biodiversity. *Annual Environment Editions*, 216-224.

Stadmuller, T. (1987) *Cloud Forests in the humid tropics: a bibliographic review*. The United Nations University; Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Ensenanza, Tokyo; Turrialba

Stein A., Gerstner K., Kreft H. (2014) Environmental heterogeneity as a universal driver of species richness across taxa, biomes and spatial scales. *Ecology Letters* 17: 866-880. doi: 10.1111/ele.12277

Sugden AM, Robins RJ. 1979. Aspects of the ecology of vascular epiphytes in Colombian cloud forests, I. The distribution of the epiphytic flora. *Biotropica*, 11: 173-188

Sun S, Li S, Avera BN, Strahm BD, Badgley BD. 2017. Soil bacterial and fungal communities show distinct recovery patterns during forest ecosystem restoration. *Applied and Environmental Microbiology*, 183: e00966-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00966-17>

Teixeira, R. L., Schineider, J. A. P., Almeida, G. I. (2002) The occurrence of Amphibians in Bromeliads from a Southerastern Brazilian Restinga Habitat, with special reference to *Aparasphenodon bruno*i (Anura, Hylidae). *Brazilian Journal of Biology* 263-268

Ule, E. (1967) A vegetação de Cabo Frio. *Boletim Geográfico* 200: 21-32.

Unicamp. (1992) *Consórcio Mata Atlântica. Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. Plano de Ação*. São Paulo,(1):101 p.

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

Verchot LV. 2010. Impacts of forest conversion to agriculture on microbial communities and microbial function. In: Dion P (ed.). Soil Biology and Agriculture in the Tropics. Springer-Verlag, Berlim, p. 45-63

Vidal, M.M. (2009) A presença de predadores influencia a relação espécie-área 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

Wilches-Álvarez W., Botero Á.M.F. & Cortés P.F. 2012. Macroinvertebrates associated with *Guzmania mitis* L.B. Sm. (Bromeliaceae) in two fragments of oak grove. Colombia Forestal 16 (1): 5–20

Wilson M, Kakouli-Duarte T. 2009. Nematodes as environmental indicators. CABI, Wallingford, UK, 352 pp.

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 3-35

Wilson, M.J. & Kakouli-Duarte, T. (2009). Nematodes as environmental indicators. Oxfordshire, CABI Publishing, 326 pp.

Yanoviak SP, Paredes JER, Lounibos LP, Weaver SC. 2006. Deforestation alters phytotelmata habitat availability and mosquito production in the peruvian Amazon. Ecological Applications, 16: 1854–1864

Yeates GW. 2003. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. Biology and Fertility of Soils, 37: 199–210

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: 315-331

Zotz, G. and Traunspurger, W. (2016) What's in the tank? Nematodes and other major components of the meiofauna of bromeliad phytotelms in lowland Panama. *BMC Ecol*, 16:9 doi 10.1186/s12898-016-0069-9

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

Zullini A, Loof PAA, Bongers T. (2002). Free-living nematodes from nature reserves in Costa Rica. 2. Mononchina. *Nematology*: 1-23

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, 75-85