



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCEG
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE – CES
UNIDADE ACADÊMICA DE EDUCAÇÃO – UAE

RENATO ALEX GONÇALVES

**ANÁLISE COMPARATIVA DE METODOLOGIAS PARA EXTRAÇÃO DA
MEIOFAUNA DE ÁGUA DOCE.**

Cuité-PB

2015

RENATO ALEX GONÇALVES

**ANÁLISE COMPARATIVA DE METODOLOGIAS PARA EXTRAÇÃO DA
MEIOFAUNA DE ÁGUA DOCE.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas do Centro de Educação e Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. FRANCISCO JOSÉ VICTOR DE CASTRO

COORIENTADORA: Dra. MARIA CRISTINA DA SILVA

Cuité-PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

G635a Gonçalves, Renato Alex.

Análise comparativa de metodologias para extração da meiofauna de água doce. / Renato Alex Gonçalves. – Cuité: CES, 2015.

41 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Enfermagem) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientador: Dr. Francisco José Victor de Castro.
Coorientador: Dr^a. Maria Cristina da Silva.

1. Águas continentais. 2. Meiofauna - água doce. 3. Microorganismo. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 556.1

RENATO ALEX GONÇALVES

**ANÁLISE COMPARATIVA DE METODOLOGIAS PARA EXTRAÇÃO DA
MAIOFAUNA DE ÁGUA DOCE.**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Centro de Educação e Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Cuité como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Aprovado em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

(Orientador): Prof. Dr. Francisco José Victor de Castro
CES/UFCG

Prof. Msc.: Luiz Sodré Neto
CES/UFCG

Profº. Msc.: Edivaldo Lima Gomes Junior
UFRPE

“Dedico este trabalho á minha querida família, em especial meus pais Dezinho e Maria, pela dedicação, amor e compreensão em todos os momentos.”

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força encontrada em cada momento dessa jornada e em todos os momentos de minha vida. E por ter me proporcionado força, saúde, coragem e determinação para enfrentar todos os obstáculos encontrados ao longo dessa temporada e alcançar este objetivo.

Aos meus Amigos Espirituais e meu Anjo da Guarda, pelo apoio espiritual, fornecendo-me força, persistência e confiança nesta caminhada.

Ao meu orientador, professor Dr. Francisco José Victor de Castro, que com muita paciência, atenção e tranquilidade, dedicou do seu valioso tempo e confiança para me orientar neste trabalho. Muito obrigado pela oportunidade e aprendizado.

A minha coorientadora, Dra. Maria Cristina da Silva. Obrigado pelo apoio, carinho e paciência e por estar sempre ao meu lado me ajudando e me incentivando.

Aos meus colegas de laboratório Edclebeson, Amanda, Jéssica, e Sérgio pelos conhecimentos compartilhados, pela paciência e por estarem sempre disponíveis para ajudar.

A minha família, especialmente aos meus queridos pais, pela vida, pelo apoio, incentivo, dedicação, carinho, amor e por acreditarem em mim. Vocês foram fundamentais para a realização dessa conquista.

Aos meus amados avós Manoel Aprígio (in memorian) e Benedita Gomes (in memorian), que sempre me inspiraram a nunca perder a fé.

Ao meu irmão Jean Gonçalves por servir de inspiração, minha cunhada Cláudia Reis e aos meus sobrinhos Jorge Manoel e Lucas Reis por todo amor e carinho.

As minhas amigas Bruna e Alciene Carolino, por seus entusiasmos, companheirismos, sempre querendo meu crescimento e me servindo de base com suas palavras amigas me dando forças e coragem para eu não desistir.

A minha professora Maria Franco pela amizade construída, sua paciência, por seu apoio e equilíbrio em todas as horas.

Aos colegas de turma: Angélica, Maísa, Jamily, Joedson, Francineide, Ana Paula, Aline, Anchieta, Simone, Ysladjane e Adeilma, por tudo que vivemos juntos e por terem cruzado o meu caminho.

Em fim, a todos que contribuíram para que eu pudesse subir mais esse degrau e que de alguma forma me ajudaram muito, com experiência, conselhos e principalmente com amizade.

Muito obrigado!

“O grande rio tem seu trajeto, antes do mar imenso. Copiando-lhe a expressão, a alma percorre igualmente caminhos variados e etapas diversas, também recebe afluentes de conhecimentos, aqui e ali, avoluma-se em expressão e purifica-se em qualidades, ante de encontrar o Oceano Eterno da Sabedoria”.

*Mensagem de André Luiz
(Francisco Cândido Xavier – Nosso Lar)*

RESUMO

GONÇALVES, Renato Alex. **Análise comparativa de metodologias para extração da meiofauna de água doce.** Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, PB.

Este trabalho discute vários métodos empregados em laboratório para extração e estudo da meiofauna, mais precisamente os organismos de ambiente continental (água doce) tendo em vista, que diversas metodologias são normalmente transmitidas de orientador para aluno nos confins do próprio laboratório, informalmente e via oral. No entanto, a literatura cita diferentes tipos de métodos especificamente para ambientes marinho. Sendo assim, para este trabalho foram adaptadas algumas metodologias para extração de animais de água doce, tais como: Método da Peneira (adaptado), Método de Elutriação, Método de Flotação em solução de Sacarose e Método de Flotação em Solução de Magnésio, com intuito de extrair a maior quantidade de organismos possíveis. Foram coletadas 15 amostras sedimentares em um único ponto no açude do Jacaré, localizado as margens da BR-104, no município de Remígio - PB no Curimataú Ocidental do estado, a 157 km da capital João Pessoa-PB. A coleta foi realizada em outubro de 2014. Espera-se que estas análises sirvam de base e eleve o número de futuros trabalhos e grupos de pesquisas em ambientes de água doce. Tendo em vista, que a literatura científica é muito carente em trabalhos nas regiões onde o efeito da ausência das chuvas constitui um forte entrave sócio-econômico e até mesmo, de subsistência da população.

Palavras-chave: águas continentais, métodos, microrganismos.

ABSTRACT

Gonçalves, Renato Alex. **Comparative analysis of methods for extraction of freshwater meiofauna**. Work Completion of course (Degree in Biological Sciences) - Federal University of Campina Grande, Cuité, PB.

This paper discusses various methods used in the laboratory for extraction and study of meiofauna, more precisely the continental meiofaunal organisms (freshwater), given that different methodologies are usually transmitted advisor to student in the laboratory itself ends, informally and orally. However, the literature cites different methods specifically for marine environments. Therefore, for this work were adapted some methodologies for freshwater animal's extraction such as: Screening Method (adapted), Elutriation method, Flotation Method in Sucrose solution and Flotation Method Magnesium Solution, aiming to extract the greatest possible number of organisms. We collected 15 sedimentary samples at a single point in the dam Alligator, located the margins of BR-104, in the municipality of San Remigio - PB in the state of West Curimataú, 157 km from the city João Pessoa, PB. Data collection was conducted in October 2014. It is expected that these analyzes as a basis and raise the number of future work and research groups in freshwater environments. Considering that the scientific literature is very lacking in work in the regions where the effect of the absence of rain is a strong socio-economic burden and even subsistence of the population.

Keywords: mainland water, methods, microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Açude do Jacaré - PB, mostrando o local onde foram realizadas as coletas.	28
Figura 2: Tubo de PVC para extração dos sedimentos.	29
Figura 3: Coleta dos sedimentos.	29
Figura 4: Montagem da metodologia de Whitehead para extração da meiofauna. A - Água na bandeja; B - Lenço de papel absorvente sobre a peneira; C - Sedimento sobre o papel e a peneira; D - Espera da migração da meiofauna.	30
Figura 5: Água da bandeja coletada.	31
Figura 6: Sedimentos em peneira 0,044 mm.	31
Figura 7: Triagem da meiofauna.	31
Figura 8: Processo da Elutriação Manual proposta por Elmgren. A – Elutriação manual; B – Material sendo recolhido em béquer de 100 ml; C – Material em placa de <i>Dolffus</i>	32
Figura 9: Montagem da Metodologia de Solução em Flotação de Sacarose. A – Solução de Sacarose sendo preparada; B – Analisando a densidade da formula; C – Composto recolhido e descansado na solução de sacarose; D – Sobrenadante passando por peneira e o restante do material sendo recolhido.	33
Figura 10: Montagem da Metodologia Flotação em Solução de Cloreto de Magnésio. A – Atingindo a densidade da solução; B – decantação do sedimento; C – Material contido em placa de <i>Dolffus</i> ; D – Contagem da amostra.	34
Figura 112: Densidade da meiofauna das amostras descartadas do açude do Jacaré – PB.	37
Figura 123: Densidade da meiofauna das amostras retornáveis do açude do Jacaré – PB.	38
Figura 134: Análise de Ordenação multidimensional (MDS) considerando a população meiofaunística do açude do Jacaré - PB e as metodologias estudadas.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Índices Ecológicos (Shannon H'; Pielou J'; Margalef d; Simpson Y) para os grupos da meiofauna no açude do Jacaré – PB, nos métodos estudados, sendo PD: Peneira descartável; ED: Elutriação descartável; SD: Sacarose descartável; MD: Magnésio descartável; PR: Peneira retornável; ER: Elutriação retornável; SR: Sacarose retornável; MR: Magnésio retornável.....	38
Tabela 2: Resultado da análise SIMPER com os principais grupos da meiofauna que contribuíram com suas dissimilaridades para o açude do Jacaré – PB.....	39

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	21
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	22
2.1	Meiofauna	22
2.2	Técnicas utilizadas para extração da meiofauna	23
2.3	Limnologia.....	25
3.	OBJETIVO GERAL	27
3.1	OBJETIVOS ESPECIFICOS	27
4.	HIPÓTESE.....	27
5.	METODOLOGIA	28
5.1	Coleta de campo.....	28
5.2	Procedimentos em laboratório e técnicas aplicadas.....	29
A.	Método da Peneira	30
B.	Método de Elutrição Manual proposto por Elmgren.	32
C.	Método Flotação em Solução de Sacarose.	32
D.	Método Flotação em Solução de Cloreto de Magnésio.	33
6.	RESULTADOS	37
6.1	Dados Ecológicos	37
6.2	Análises Estatísticas.....	38
7.	DISCUSSÃO	41
8.	CONCLUSÃO	43
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
	REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

A meiofauna é descrita como um grupo de organismos bentônicos, ou seja, animais microscópicos que vivem associados ao sedimento marinho ou continental. A comunidade meiofaunística abrange cerca de 30 filos de metazoários, onde mais de 10 são exclusivos de águas continentais (RAFAELLI e HAWKINS, 1996). Um dos principais táxons representantes da meiofauna é o filo Nematoda que apresenta características que facilitam o estudo da comunidade como adaptação aos mais variados ambientes, alta diversidade e abundância de espécies, ciclo de vida curto além de serem bioindicadores de condições ambientais (COULL, 1999).

Um dos desafios encontrados em laboratórios nematológicos é organizar o conhecimento sobre métodos empregados para análise e extração de organismos presentes em amostras sedimentares. As informações esparsas dificultam o diagnóstico mais preciso sobre comunidades estudadas com esses métodos (KIHARA, 2009).

Estudos vêm sendo realizados, a fim de transmitir conhecimentos sobre métodos e técnicas empregadas para extração da meiofauna. Na literatura detalhamentos sobre técnicas de extração de amostras de meiofauna foram descritas por Baermann (1917), Jenkins (1964), Young (1954), Elmgren (1976), e Coolen e D'Herde (1972). Essas metodologias não são empregadas diretamente a animais de água doce, embora possam ser utilizadas em tais ambientes.

Ambientes aquáticos continentais são pouco conhecidos em relação a sua biodiversidade. Os organismos mais conhecidos nesses ambientes são os maiores que, geralmente, apresentam algum interesse econômico (BARBOSA et al., 2009). Os animais com dimensões reduzidas, como os pertencentes à meiofauna, são pouco estudados devido a dificuldades encontradas em seu manejo como a necessidade de equipamentos ópticos, além da falta de profissionais especializados que consigam abranger em suas pesquisas todos os ambientes aquáticos continentais e suas comunidades residentes (BARBOSA et al., 2009).

Portanto, este trabalho teve como objetivo determinar os métodos de extração da meiofauna em água doce a fim de estabelecer a metodologia que apresente resultados mais precisos e assim poder desenvolver uma análise comparativa entre estas. Nesse sentido, as estratégias de amostragem e os métodos de análises a serem empregados, devem ser criteriosamente definidos para se obter resultados robustos.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Meiofauna

Dos mais de 30 filos de metazoários conhecidos atualmente, pelo menos 20 possuem representantes meiofaunais e mais de 10 são exclusivos desse ambiente. A meiofauna, geralmente, é composta por um grande número de táxons, principalmente Nematoda, Copepoda, Oligochaeta, Turbellaria, Gastrotricha, Kinorhyncha e Tardigrada (RAFAELLI e HAWKINS, 1996).

Destacam-se também os táxons Ostracoda, Turbellaria, Gastropoda, Oligochaeta, Polychaeta, Copepoda e Ácaro (BARNES, 2005). Os organismos meiofaunais podem habitar ambientes marinhos, desde regiões entremarés até oceanos profundos, e de água doce, desde pequenos reservatórios até grandes rios. (COULL, 1988; DE LEY et al., 2006). Além disso, ocorrem em uma grande variedade de habitats e em todos os tipos de sedimentos, cerca de um milhão de indivíduos de 1 milímetro podem viver em 1 m² de sedimento. (GERLACH, 1971; WARWICK e PLATT, 1974; LAMBSHEAD, 2002).

A meiofauna facilita a biomineralização da matéria orgânica aumentando a regeneração de nutrientes, servem de alimento para uma grande variedade de níveis tróficos superiores e apresenta grande sensibilidade às ações antrópicas, podendo ser utilizada como indicadora de poluição (COULL, 1999). Efetivamente além de desempenhar um papel importante no fluxo de energia dos sistemas bentônicos, serve de alimento para a própria meiofauna, para macrobentos e peixes (COULL, 1988).

Dentre os organismos mais abundantes da meiofauna, o filo Nematoda destaca-se como os invertebrados de maior riqueza de espécies e maior abundância (HEIP et al., 1982; HEIP et al., 1985). A organização dos Nematoda é variada e complexa, tanto para aqueles compreendidos no grupo de vida livre que apresentam ampla distribuição horizontal e vertical na escala global, distribuindo-se desde a região costeira até grandes profundidades oceânicas e em todas as latitudes, quanto para os parasitas, e geralmente estão relacionados com os mecanismos de alimentação e habitat (LEE, 2001). Além disso, sabe-se que ocorrem em uma grande variedade de habitats – algumas vezes extremos – incluindo o biofilme microbiano em substratos consolidados (ATILA et al, 2003; GENEVOIS et al., 2006).

Medeiros (1998) relata que há aproximadamente 20.000 espécies de Nematoda conhecidas na literatura científica, sendo 13.000 os de vida livre no solo, oceanos ou águas continentais. A autora estima ainda que existe um número de ordem de um milhão de espécies desconhecidas.

Estudos com a meiofauna estão concentrados em ambientes de praias arenosas, como por exemplo, aos estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina, podendo ser citado os estudos de Medeiros (1984), Esteves et al. (1998), Bezerra et al. (1996, 1997), Wandenness et al. (1997), Netto et al. (1999), Nogueira e Skowronski (2001) e Pinto e Santos (2006). Ocorrem também registros para às margens continentais, sendo vários estudos de cunho geral em sedimentos costeiros (CARVALHO et al., 1992; FONSÊCA-GENEVOIS e CARVALHO, 1992; FONSÊCA-GENEVOIS, 1992; FONSÊCA-GENEVOIS et al., 1992; SILVA, 1997; TEIXEIRA, 1991; MARANHÃO e FONSÊCA-GENEVOIS, 1991, 1992, 1993; FONSÊCA-GENEVOIS e MARANHÃO, 1996, VENEKEY, 2007). Atualmente, alguns trabalhos estão sendo produzidos em nível específico, principalmente com os grupos Nematoda (CASTRO et al., 2006; GUILHERME et al., 2009; BOTELHO et al., 2007; 2009; SILVA et al., 2009; CAVALCANTI et al., 2009; VENEKEY et al., 2010; MOURA et al., 2014; NERES et al., 2010; 2014; MARIA et al., 2013), Copepoda (SARMENTO e SANTOS, 2012) e Tardigrada (DA ROCHA et al., 2013).

2.2 Técnicas utilizadas para extração da meiofauna

Na literatura podemos encontrar vários métodos empregados em laboratório para extração e estudo da meiofauna, podendo ser citados: os Métodos de Funil de Baermann (BAERMANN, 1917), Método de Incubação de Young (YOUNG, 1954), Método de Flotação em Solução de Sacarose (JENKINS, 1964), Método de Flotação em Solução de Cloreto de Magnésio (JENKINS, 1964), Método da Peneira (WHITEHEAD, 1965), Método Coolen e D'Herde (COOLEN e D'HERDE, 1972), Método de Elutriação Manual (ELMGREN, 1976) e Método da Fucsina Ácida (BYRD et al., 1983).

- Método da Peneira por Whitehead (1965): neste método utiliza uma bandeja onde se coloca, no fundo, uma tela de nylon ou peneira e recobre-se com papel toalha umedecido. O material a ser analisado é colocado por cima deste conjunto. Acrescenta-se na bandeja água destilada oxigenada a 2% suficiente para cobrir o material de extração. Após 24 horas, a tela, com o material vegetal, é removida para outra bandeja e a água da bandeja anterior passada por uma peneira com uma abertura de malha de 0,044 mm. O material retido é recuperado em um béquer e colocado em uma placa de *Dolffus* para observação e triagem em microscópio estereoscópico.
- Métodos de Flotação em Solução de Sacarose de Jenkins, (1964): a amostra é homogeneizada em um béquer de 100 ml contendo água, deixando-se decantar por 20 segundos em seguida verte-se o líquido sobre uma peneira de malha (0,044 mm de abertura). O material vertido na peneira deve ser retido em um béquer de 100 ml, com um auxílio de uma piseta com água e sequentemente transferidos para uma solução de sacarose (preparada misturando 454 g de açúcar e água até completar 1 L).
- Método de Flotação em Solução de Cloreto de Magnésio de Jenkins (1964): é semelhante ao método de flotação de sacarose onde a amostra é homogeneizada em um béquer de 100 ml contendo água, deixando-se decantar por 20 segundos e logo após verte-se o líquido sobre uma peneira de malha (0,044 mm de abertura). O material vertido após essa peneira deve ser retido em um béquer de 100 ml, com um auxílio de uma piseta com água e logo depois de transferido para uma solução de Cloreto de Magnésio (preparada por uma solução que atinge uma densidade de 1,39). Esta solução é misturada ao sedimento e centrifugada manualmente para homogeneização que passa por processo de decantação e após 20 minutos o sobrenadante é vertido sobre peneira geológica para extração da meiofauna.
- Método de Elutriação Manual, (ELMGREN, 1976): o sedimento é depositado dentro de um béquer de 1 litro contendo água doce filtrada onde em seguida é realizado a elutriação manual para que os organismos de menor densidade que o sedimento flutuem. Dessa forma os organismos sobrenadantes são vertidos em uma peneira geológica com abertura de malha 0,044 mm. A nematofauna é então triada com o auxílio da placa de *Dolffus* e de um estereomicroscópio.

Contudo, nenhum destes métodos é empregado diretamente na extração de animais de água doce, sendo este o principal objetivo do presente estudo.

2.3 Limnologia

A princípio a Limnologia era voltada para pesquisas de lagos, posteriormente se tornou uma ciência organizada, já no fim do século XX. No momento atual gera informações sobre lagoas costeiras, rios, represas, áreas pantanosas, lagos e regiões estuarinas (TUNDISI e TUNDISI, 2008). No início era classificada como “Oceanografia dos lagos” (FOREL, 1892), posteriormente como “Ecologia aquática” (LIND, 1979) e “Ecologia das águas não marinhas” (MARGALEF, 1983). Os trabalhos primordiais de Stephen Forbes (1887 apud Esteves, 1998) descrevendo o lago como um microcosmo e de François Alphonse Forel (1901), sobre o lago Léman impulsionaram as pesquisas desta área no final do século XIX.

No Brasil, os primeiros relatos sobre os ambientes aquáticos continentais remontam a época colonial, em que os conquistadores espanhóis e portugueses atravessavam o oceano atlântico, em que Francisco Orellana teria feito às primeiras observações da fauna e flora dos lagos e rios, na região amazônica, durante uma expedição conhecida como “Eldorado”. (ANTHONY SMITH, 1994).

Posteriormente naturalistas como Alexander von Humboldt (1799-1804), Carl Friederich von Martius e Johann Baptist von Spix (1817-1820) investigaram e descreveram a fauna e flora na região.

Em 1833, Martius, Eschweiler e Nees ab Esenbeck foram os precursores em pesquisas no estado do Rio de Janeiro, enriquecidas por descrições posteriores realizadas por Nordstedt (1877), Wille (1884) e Borge (1899) (TUNDISI, 1995). Contudo, Oswaldo Cruz foi quem codificou a Limnologia brasileira e posteriormente, Spandl (1926), Wright (1927, 1935, 1937), Lowndes (1934) estudando os lagos naturais e represas para desenvolver e aperfeiçoar a pesca e piscicultura no país ampliando o conhecimento desta ciência. Em 1971 pesquisas desenvolvidas ao longo da bacia hidrográfica na região da unidade hidrelétrica Carlos Botelho, integraram os estudos já desenvolvidos (TUNDISI, 1995). Ultimamente a Limnologia está estabilizada como ciência, respondendo e buscando soluções às problemáticas da sociedade, ampliando o conhecimento da ecologia, proteção, dinâmica e conservação dos ecossistemas aquáticos (TUNDISI e TUNDISI, 2008).

Desta forma, o presente trabalho almeja discutir e analisar vários métodos empregados em laboratório para extração e estudo da meiofauna. Mais precisamente os organismos meiofaunais de águas doce (continental). Tendo em vista que diversas metodologias são normalmente transmitidas de orientador para aluno nos confins do próprio laboratório, informalmente e via oral. São escassos – infelizmente – os trabalhos publicados sobre os

diversos métodos de extração e outros aspectos do estudo desses animais. Assim sendo, as técnicas tendem a se diferenciar entre laboratórios acarretando falta de padronização e dificuldade em comparar os dados.

3. OBJETIVO GERAL

Analisar a metodologia mais eficaz, utilizada na extração de táxons da comunidade meiofauna continental (água doce).

3.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Descrever as metodologias utilizadas na extração da meiofauna.
- Comparar, por meio de dados estatísticos, as metodologias empregadas e sua funcionalidade para o estudo da meiofauna dulcícola.
- Apresentar o método mais eficaz para extração da meiofauna em água doce.

4. HIPÓTESE

As metodologias aplicadas para extração da Meiofauna em água doce apresentam a mesma eficiência, sendo assim qualquer técnica é válida para o estudo desses organismos.

5. METODOLOGIA

5.1 Coleta de campo

Foram coletadas 15 amostras sedimentares em um único ponto no açude do Jacaré (Figura 1) que está localizado as margens da BR-104, no município de Remígio – PB para o município de Barra de Santa Rosa – PB no Curimataú Ocidental do estado, a 157 km da capital João Pessoa – PB. A coleta foi realizada no dia 22 de outubro de 2014.

Figura 1: Açude do Jacaré - PB, mostrando o local onde foram realizadas as coletas.



Fonte: Renato Alex

Para extração da meiofauna, utilizou-se de um tubo de PVC de 15,89 cm² de área interna (Figura 2), o qual foi inserido na areia, a uma profundidade de 5 cm, com a finalidade de retirar o sedimento (Figura 3). O material extraído foi fixado em formol 10% e armazenado em potes plásticos identificados para transporte.

Figura 2: Tubo de PVC para extração dos sedimentos.



Fonte: Renato Alex

Figura 3: Coleta dos sedimentos.



Fonte: Renato Alex

5.2 Procedimentos em laboratório e técnicas aplicadas

As amostras sedimentares coletadas foram encaminhadas ao LABMEIO (Laboratório de Meiofauna) da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Centro de Educação e Saúde – CES, para extração da meiofauna, utilizando as metodologias que são mostradas a seguir:

A. Método da Peneira

Baseia-se na movimentação dos Nematoda, devido à ação da gravidade (Whitehead, 1965) neste método utiliza uma bandeja onde se coloca, no fundo, uma tela de nylon ou peneira e recobre-se com papel toalha umedecido. O material a ser analisado é colocado por cima deste conjunto. Acrescenta-se na bandeja água destilada oxigenada a 2% suficiente para cobrir o material de extração. (Figura 4).

Figura 4: Montagem da metodologia de Whitehead para extração da meiofauna. A - Água na bandeja; B - Lenço de papel absorvente sobre a peneira; C - Sedimento sobre o papel e a peneira; D - Espera da migração da meiofauna.



Fonte: Renato Alex

Após 24 horas, a tela, com o material, é removida para outra bandeja e a água da bandeja anterior é passada por peneira com abertura de malha de 0,044 mm onde são retidos os animais da meiofauna que migraram da peneira com papel absorvente. (Figura 5) Por fim recolheu-se a suspensão presa na malha em um béquer com ajuda de uma piseta (Figura 6) e com ajuda de um microscópio e a utilização de uma placa de *Dolffus*, os animais foram contados e identificados em nível de grande grupo. (Figura 7).

Figura 5: Água da bandeja coletada.



Fonte: Renato Alex

Figura 6: Sedimentos em peneira 0,044 mm.



Fonte: Renato Alex

Figura 7: Triagem da meiofauna.



Fonte: Renato Alex

B. Método de Elutriação Manual proposto por Elmgren.

As amostras biológicas foram separadas do sedimento por elutriação manual com auxílio de um béquer de 100 ml, segundo a metodologia descrita por Elmgren, 1976. O material sobrenadante foi vertido em uma peneira geológica com abertura de malha de diâmetro 0,044 mm. A nematofauna foi triada com o auxílio da placa de *Dolffus* e do estereomicroscópio. (Figura 8).

Figura 8: Processo da Elutriação Manual proposta por Elmgren. A – Elutriação manual; B – Material sendo recolhido em béquer de 100 ml; C – Material em placa de *Dolffus*.



Fonte: Renato Alex

C. Método Flotação em Solução de Sacarose.

Segundo a metodologia proposta por Jenkins, 1964. A amostra coletada de sedimento é homogeneizada em um recipiente com 1 litro de água, diluindo-a. Deixa-se decantar por 20 segundos e verte-se o líquido sobrenadante sobre uma peneira de malha de 0,044 mm de abertura. Em seguida o material retido da peneira deve ser recolhido em um béquer de 100 ml, com o auxílio de uma piseta com água.

Prepara-se uma solução de sacarose (preparada misturando 454 g de açúcar mais água até que se complete 1 L de solução) e mistura-se ao sedimento recolhido na peneira, centrifuga-se manualmente por 1 minuto para todo o composto calibrar e deixa decantar por 20 minutos. Passa-se então o sobrenadante mais uma vez pela peneira e o material é recolhido mais uma vez em um béquer de 100 ml. Esse processo de centrifugação, decantação e recolhimento do sobrenadante para posterior triagem é repetido cinco vezes. (Figura 9).

Figura 9: Montagem da Metodologia de Solução em Flotação de Sacarose. A – Solução de Sacarose sendo preparada; B – Analisando a densidade da formula; C – Composto recolhido e descansado na solução de sacarose; D – Sobrenadante passando por peneira e o restante do material sendo recolhido.



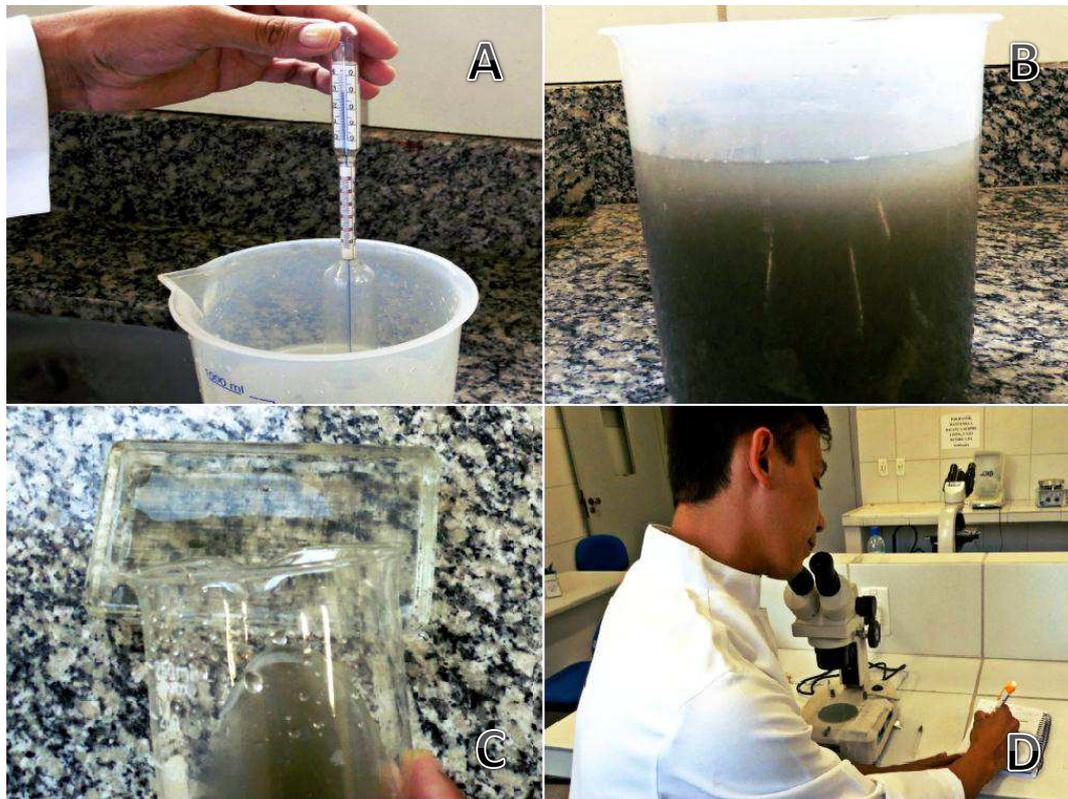
Fonte: Renato Alex

D. Método Flotação em Solução de Cloreto de Magnésio.

A metodologia da flotação em solução de cloreto de Magnésio segue o mesmo raciocínio da flotação em solução de sacarose, sendo outra adaptação proposta por Jenkins, 1964. Onde o aumento da densidade do líquido faz com que a meiofauna seja separada do sedimento.

É preparada uma solução de Cloreto de Magnésio que atinge uma densidade de $1,39 \text{ g/cm}^3$ que é misturada ao sedimento e centrifugada manualmente para homogeneização da mistura que passa por processo de decantação e após 20 minutos o sobrenadante é vertido sobre peneira geológica para extração da meiofauna. Esse processo repete-se 5 vezes e o material retido na peneira é então contado e identificado com o auxílio de um estereomicroscópio. (Figura 10).

Figura 10: Montagem da Metodologia Flotação em Solução de Cloreto de Magnésio. A – Atingindo a densidade da solução; B – decantação do sedimento; C – Material contido em placa de Dolffus; D – Contagem da amostra.



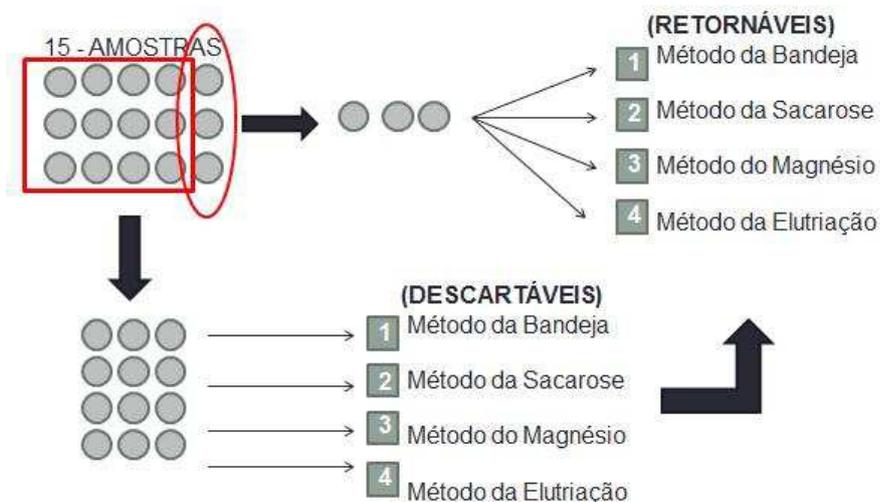
Fonte: Renato Alex

5.3 Fluxograma de como foi separado as amostras.

Baseado nesses métodos utilizaram-se 15 amostras, onde 3 réplicas ou unidades amostrais foram retiradas para serem aplicadas nas 4 metodologias (Peneira, Elutriação, Sacarose e Magnésio). À medida que o trio de replicas ia sendo aplicadas a cada metodologia, assim que se tinha o resultado do número de indivíduos da amostra, a mesma retornava para os potes, para que em seguida fossem utilizadas novamente nas próximas amostras e assim sucessivamente, com os outros métodos. Aqui chamadas de Amostras Retornáveis.

Com as outras 12 amostras restantes, foram separadas quatro trios (replicas), e a cada trio empregava-se para uma metodologia, após obter os resultados a amostra era então descartada. Aqui chamadas de Amostras Descartadas. (Figura 11).

Figura 11: Fluxograma da distribuição das amostras para extração dos sedimentos.



Fonte: Renato Alex

5.4 Programas e Análises Estatísticas

Com a finalidade de verificar alterações espaço-temporais na estrutura das comunidades de meiofauna e avaliar respostas a variações antrópicas nos parâmetros ambientais representadas pela entrada dos efluentes urbanos, são apresentados valores de abundância, composição e frequência de ocorrência das espécies e aplicadas análises univariadas e multivariadas.

Dentre as análises univariadas foram calculados índices ecológicos, tais como: índice de diversidade de Shannon (H'), de equitatividade de Pielou (J'). Para o cálculo destes índices será utilizada a rotina DIVERSE, através do pacote estatístico PRIMER[®] (Plymouth Routine in Marine Ecology Research) v 6.

Análises multivariadas do tipo MDS (análise de escalonamento multidimensional) e ANOSIM 2-way crossed, são aplicadas aos dados de número de indivíduos registrados nas amostras. O MDS é uma análise de ordenação que fornece padrões de distribuição gráfica às amostras, baseados nas suas dissimilaridades. O ANOSIM testa diferenças significativas entre amostras (Clarke & Warwick 1994). Um nível de significância de $p < 0,05$ será utilizado em todos os testes. As análises foram realizadas utilizando-se um arranjo de diferentes transformações para adequar as características da comunidade: sem transformação, sensível a mudanças na abundância de espécies dominantes; raiz quadrada detecta efeitos na comunidade

independente da influência de espécies dominantes ou raras; raiz quarta, sensível a mudanças na abundância de espécies com baixos valores de abundância e espécies raras; dados de presença/ausência das espécies nas amostras.

O índice de similaridade de Bray-Curtis é utilizado pra construir a matriz de similaridade utilizada nas análises. Através da análise de BIO-ENV, é possível verificar quais dos parâmetros ambientais observados apresentam a melhor relação com a estrutura da comunidade. Esta análise utiliza matrizes de dados abióticos, construídas através de distâncias euclidianas, para encontrar a matriz que melhor se correlacione com a matriz de dados biológicos. O coeficiente de correlação utilizado é o de Spearman (Clarke & Gorley 2001). Todas as análises acima são realizadas através do programa PRIMER[®] v 5.2.4.

6. RESULTADOS

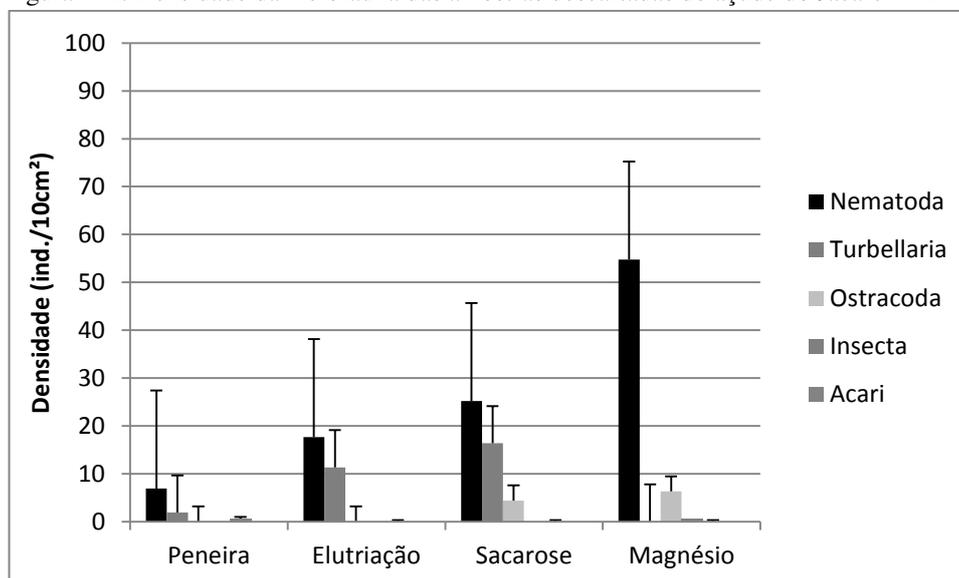
6.1 Dados Ecológicos

Do total das 15 amostras, 3 passaram pelas 4 metodologias aqui empregadas (Método da Peneira, Método da Elutriação, Método da Flotação em Solução Sacarose e Método da Flotação em Solução de Cloreto de Magnésio – aqui chamado Retornável). O restante foi dividido em 4 grupos, envolvendo cada trio em que era aplicada cada metodologia aqui estudada (chamado Descartável).

No total, foram encontrados 649 indivíduos da meiofauna, sendo que destes a maior quantidade foi de Nematoda (486), seguido de Turbellaria (126), Ostracoda (31), Acari (4), Insecta (1) e Oligochaeta (1).

Os organismos que se destacaram apresentando maiores densidades nas amostras analisadas para uma única metodologia foram Nematoda (54,75 ind./ 10 cm²) utilizando a metodologia do Cloreto de Magnésio. (Figura 12).

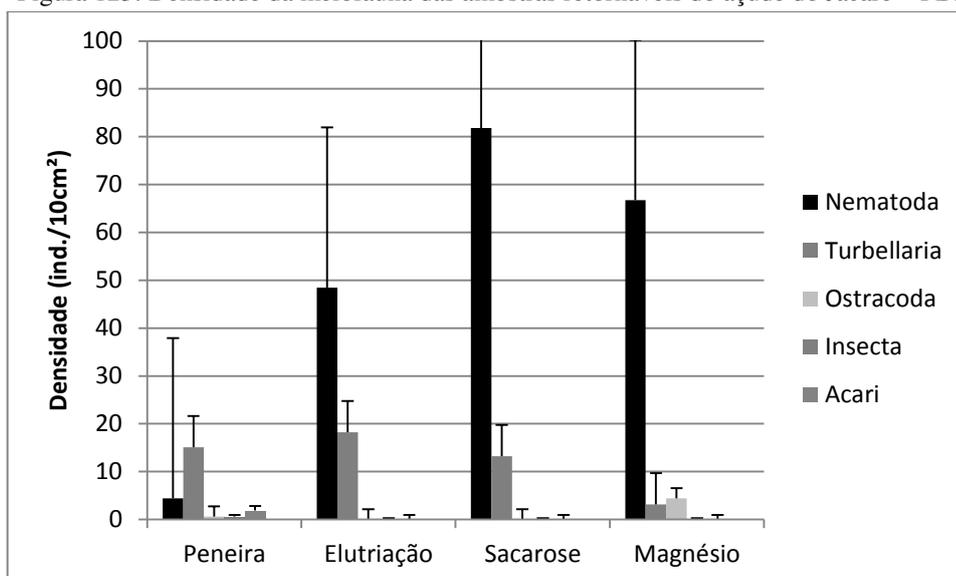
Figura 112: Densidade da meiofauna das amostras descartadas do açude do Jacaré – PB



Fonte: elaborado pelo autor.

Para os sedimentos dos potes retornáveis os organismos que se destacaram com maior densidade foram os Nematoda (81,81 ind./ 10 cm²) utilizando a metodologia da Sacarose. (Figura 13).

Figura 123: Densidade da meiofauna das amostras retornáveis do açude do Jacaré – PB.



Fonte: elaborado pelo autor.

6.2 Análises Estatísticas

Os valores apresentados para os índices de diversidade (Shannon H' ; Pielou J' ; Margalef d ; Simpson Y) foram baixos, porém o valor mais alto (d : 0,9961) foi detectado para o método da Peneira Retornável, no qual os nematódeos migram para a água através do filtro. (Tabela 1).

Tabela 1: Índices Ecológicos (Shannon H' ; Pielou J' ; Margalef d ; Simpson Y) para os grupos da meiofauna no açude do Jacaré – PB, nos métodos estudados, sendo PD: Peneira descartável; ED: Elutriação descartável; SD: Sacarose descartável; MD: Magnésio descartável; PR: Peneira retornável; ER: Elutriação retornável; SR: Sacarose retornável; MR: Magnésio retornável.

Método	d	J'	H'	Y
PD	0,37	0,30	0,33	0,24
ED	0,64	0,81	0,78	0,51
SD	0,53	0,85	0,80	0,52
MD	0,28	0,45	0,31	2,24
PR	0,99	0,77	0,84	0,58
ER	0,34	0,88	0,61	0,45
SR	0,40	0,66	0,50	0,35
MR	0,46	0,41	0,38	0,20

Fonte: elaborado pelo autor.

De acordo com a análise de similaridades testada com o ANOSIM, a estrutura da comunidade meiofaunística apresentou-se entre as metodologias utilizadas no presente estudo diferentes estatisticamente. (Global R: 0,362; nível de significância 0,1%).

Nematoda e Turbellaria foram os grupos que mais contribuíram para as dissimilaridades nas metodologias aplicadas com a peneira e a sacarose. Já para a elutriação e o magnésio, os grupos foram Nematoda e Ostracoda. Contudo, em todos os casos estes grupos mostraram uma relação inversa quando comparados peneira vs sacarose e elutriação vs magnésio. (Tabela 2).

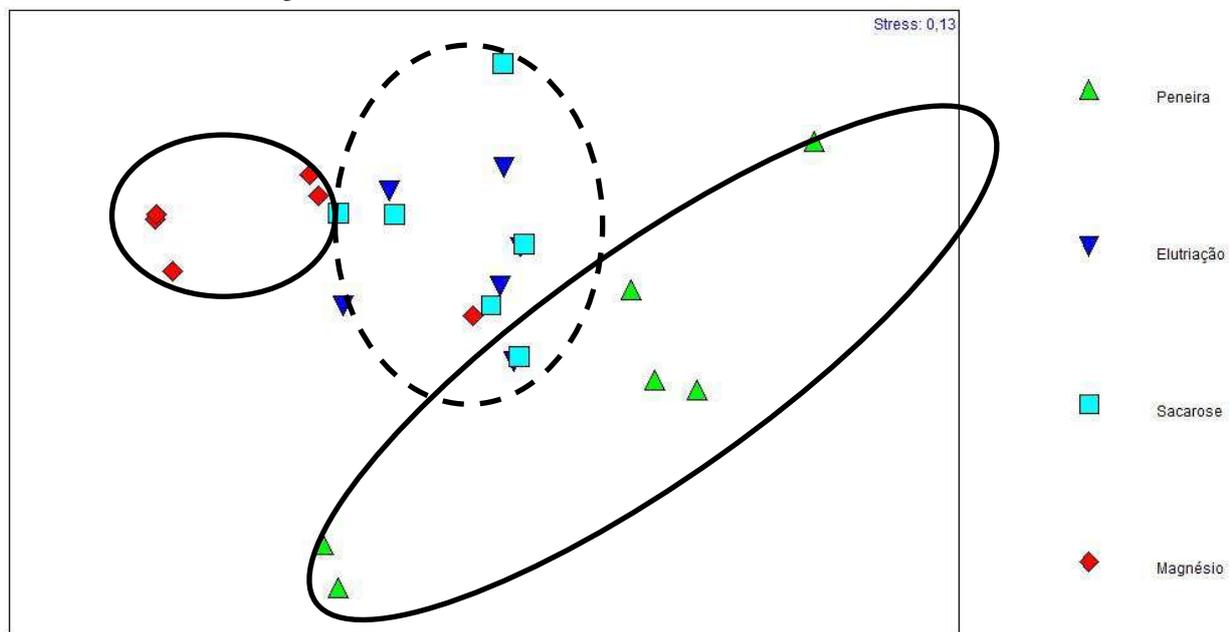
Tabela 2: Resultado da análise SIMPER com os principais grupos da meiofauna que contribuíram com suas dissimilaridades para o açude do Jacaré – PB.

Grupos	Metodologias	Contribuição Individual (%)	Contribuição acumulativa (%)
Turbellaria	Peneira	33,15	33,15
Nematoda		27,88	61,03
 			
Nematoda	Sacarose	29,85	29,85
Turbellaria		29,15	59,00
Acari		20,17	79,17
 			
Ostracoda	Elutriação	36,64	36,64
Nematoda		32,94	69,58
 			
Nematoda	Magnésio	33,77	33,77
Ostracoda		27,58	61,35

Fonte: elaborado pelo autor.

Na análise feita com os grupos meiofaunísticos e as metodologias foi possível observar três grupos: um com a população que foi separada pelo magnésio, outro da peneira e um terceiro que agrupa os organismos oriundos da elutriação, sacarose e também magnésio. (Figura 14).

Figura 14: Análise de Ordenação multidimensional (MDS) considerando a população meiofaunística do açude do Jacaré - PB e as metodologias estudadas.



Fonte: elaborado pelo autor.

7. DISCUSSÃO

A meiofauna de água doce ainda é pouco explorada, constando raros trabalhos em grandes grupos (REISS E SCHMID-ARAYA, 2008; VICENTE, 2008; PIRES ET AL., 2009). Contudo, existem estudos para alguns táxons em particular, tais como Nematoda (CHACHAR, 1997; FLACH, 2009); Ostracoda (PEREIRA ET AL., 2009).

No total, foram encontrados 649 indivíduos da meiofauna, sendo registrado Nematoda, Turbellaria, Ostracoda, Acari, Insecta e Oligochaeta para o açude do Jacaré. Lembrando que o ambiente estudado é um açude, vale ressaltar que esta é uma denominação brasileira para reservatórios em geral (BOUVY ET AL., 2000). O mesmo autor completa que muitos destes reservatórios são usados para diversas propostas, tais como consumo humano, irrigação, pesca e pecuária. O número de indivíduos aqui encontrados foi baixo, quando comparados com outros estudos (MICHIELS E TRAUNSPURGER, 2005) e semelhante a Pires et al., (2009) em um estudo de um córrego em Minas Gerais. Porém, muito semelhantes quando comparado com outros estudos desenvolvidos na região por essa mesma equipe utilizando apenas elutrição manual, onde em um período chuvoso foram encontrados 8 táxons no período de chuva e 6 no período de estiagem, (JOVINO, 2013).

Foi observado que as metodologias mais eficientes foram do Cloreto de Magnésio para as amostras descartadas e da Sacarose para as amostras retornáveis. A eficácia do uso da solução de sacarose foi comprovada por Esteves e Da Silva (1998). Apesar da Elutrição não apresentar um resultado eficaz, outros estudos encontraram números expressivos (DANOVARO ET AL., 2004; ARMENTEROS ET AL., 2008). As técnicas que envolvem o uso de Cloreto de Magnésio e Sacarose também são recomendadas por Hodda e Eyualem-Abebe (2006).

O método da peneira é bastante usado em nematódeos terrestres e de água doce (WHITEHEAD, 1965). Mesmo sendo um método de extração de animais de água doce, os resultados aqui obtidos foram considerados baixos. Segundo Armenteros et al., (2002), métodos que demandam uma intensa manipulação das amostras, podem causar uma fonte inerente de erros e desta forma resultar em perda de organismos. No entanto, os mesmos autores explicam que o tipo de sedimento é um fator determinante para saber qual método deve ser aplicado para a extração dos organismos.

Os valores apresentados para os índices foram baixos, porém o valor mais alto (d: 0,9961) foi detectado para o método da Peneira Retornável, no qual os nematódeos migram para a água através do filtro. Valores inferiores a 2 são considerados como áreas de baixa diversidade, em geral, resultado de efeitos antropogênicos (ELEFTHERIOU, 2013). A área de estudo está

inserida numa região caracterizada como o polígono das secas, em que apresenta um regime pluviométrico marcado por extrema irregularidade de chuvas (BELTRÃO ET AL., 2005), talvez esse comportamento meteorológico influencie o comportamento da meiofauna, fato que precisa ser melhor estudado, pois no semiárido nordestino poucos ou quase nenhum trabalho ecológico com esses organismos foi realizado, sendo o de conhecimento apenas o de Santos, (2011), que observou o processo de colonização de placas em ambientes lóticos, porém ainda não publicados.

Nematoda e Turbellaria foram os grupos que mais contribuíram para as dissimilaridades nas metodologias aplicadas com a peneira e a sacarose. Já para a elutriação e o magnésio, os grupos foram Nematoda e Ostracoda. Nematoda é o grupo mais abundante da meiofauna (HEIP ET AL., 1985; MOENS E VINCX, 1997; DANOVARO ET AL., 2000; GALÉRON ET AL., 2001). De acordo com Heip et al. (1985), esses metazoários parasitas ou de vida livre apresentam um complexo hábito alimentar, fator este que influencia no sucesso ecológico e na conquista de diversos ecossistemas.

Na análise feita com os grupos meiofaunísticos e as metodologias foi possível observar três grupos: um com a população que foi separada pelo magnésio, outro da peneira e um terceiro que agrupa os organismos oriundos da elutriação, sacarose e também magnésio. Isto é explicado pela dominância dos grupos que contribuíram com as maiores dissimilaridades, que foram Nematoda e Turbellaria.

Um dos pontos mais importantes do presente estudo é ausência total de trabalhos que testem metodologias já consagradas para ambientes de água doce. A literatura é carente de estudos de meiofauna em ambientes dulcícolas e mais ainda em regiões em que o efeito da ausência das chuvas constitui um forte entrave sócio-econômico e até mesmo, de subsistência da população. Este estudo vem como fonte preliminar para trabalhos futuros, pois vê-se a necessidade de uma melhor investigação do açude do Jacaré e de outros mananciais da região empregando melhores técnicas já descritas na literatura, mesmo que seja para um melhor aperfeiçoamento delas.

8. CONCLUSÃO

- A hipótese sugerida para o trabalho foi rejeitada, pois há diferenças em eficiências nas metodologias empregadas;
- Quanto ao método mais eficaz, se desconsiderarmos a biologia dos organismos encontrados e levar em consideração apenas a densidade da comunidade, o método de flotação pela sacarose é o mais eficiente;
- Se considerarmos as particularidades biológicas de cada táxon, e levando em consideração as maiores abundâncias: Nematoda foi mais eficiente à flotação por Sacarose e Turbelária foi mais eficiente a elutriação.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho é de extrema relevância para os grupos de pesquisa que estão iniciando atividades com meiofauna dulcícola, assim como o nosso, pois além de ter poucos trabalhos nessa área, nenhum até o momento testou a eficiência dos métodos.

Outro ponto importante a destacar é a geografia do local amostrado, pois como foi destacado que a granulometria é um fator primordial para a eficiência do método, o semiárido nordeste é uma região ímpar em termos geológicos, com sedimentos extremamente arenosos com grandes espaços entre os grãos e com um regime físico bastante severo, levando a fauna e flora a comportamentos diferentes dos de outras regiões do mundo. Essa particularidade eleva ainda mais o valor experimental desse trabalho, pois, o que foi observado nesta análise, pode ser uma referência para todos os outros trabalhos que seguirão a partir dessa publicação.

REFERÊNCIAS

- ARMENTEROS, M., Pérez-García, J. A., Pérez-Ângulo, A., Willians, J. P. **Efficiency of Extraction of Meiofauna from Sandy and Muddy Marine Sediments.** *Rev. Invest. Mar.* 29 (2): 113-118, 2008.
- ATILLA, N., Wetzel, M.A., Fleegeer, J.W. **Abundance nad colonization potential of artificial hard substrate-associated meiofauna.** *Journal of Experimental Marine Biology and Ecolog.*,287: 273–287. 2003.
- BAERMANN, G. **Eine einfache Methode Zur Auffindung von Ankvlostomum (Nematoden) Larven in Erdproben.** *Tijdschr. Ned. – Indie* 57: 131-137. 1917
- BARBOSA, P. M. M.; MACHADO, C. de F.; BARBOSA, F. A. R.; et al. Diversidade de organismos aquáticos. In: DRUMMOND, G. M.; MARTINS C. S.; GRECO, M. B.; VIEIRA, F. (Eds.). **Biota Minas: diagnóstico do conhecimento sobre a biodiversidade no Estado de Minas Gerais – subsídio ao Programa Biota Minas.** Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, p 81-122. 2009.
- BARNES, R. D.; RUPPERT, E. E.; FOX, R. S. **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva.** 7. ed. São Paulo: Roca, 2005.
- BEZERRA, T. N. C.; Fonsêca-Genevois, V. e Genevois, B. Distribuição horizontal e vertical da meiofauna em uma região tropical intermareal (Istmo de Olinda-Pernambuco-Brasil). *Trabalhos Oceanográficos da UFPE* 24:249-262. 1996.
- BEZERRA, T. N. C; Genevois, B. & Fonseca-Genevois, V. **Influência da granulometria na distribuição e adaptação da meiofauna na praia arenosa do Istmo de Olinda-PE.** *Oecologia Brasiliensis* 3: 107-116. 1997.
- BOTELHO, A. P. et al. Four new specdies of Sabatieria Rouville, 1903 (Nematoda, Comesomatidae) from the Continental Slope of Atlantic Southeast, v. 402, n. *Zootaxa* , p. 39-57, 2007.
- BOTELHO, A. P. et al. Four new species of Sabatieria Rouville, 1903 (Nematoda, Comesomatidae) from the Continental Slope of Atlantic Southeast. In: **SPRINGE Marine Biology.** v. 402. *Zootaxa.* p. 39-57. 2007.
- BOTELHO, A. P. et al. Four new species of Sabatieria Rouville, 1903 (Nematoda, Comesomatidae) from the Continental Slope of Atlantic Southeast. *Zootaxa*, 1402. p. 39-57. 2007.
- BOUVY, M., Falcão, D., Marinho, M., Pagano, M., Moura, A. Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. *AQUATIC MICROBIAL ECOLOGY.* Vol. 23: 13–27, 2000.
- BYRD, Jr., D.W.; KIRPATRICK, J. & BARKER, K.R. **An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes.** *Journal of Nematology* 15: 142-143. 1983.
- CARVALHO, *et. al.* **Heterogeneidade espaço-temporal da meiofauna da baía de Tamandaré – PE- Brasil.** *Biológica Brasília, Recife*, v.4, n. 1 e 2, p. 43-56. 1992.
- CASTRO, F. J. V. Variação temporal da meiofauna e da nematofauna em uma área mediolitorânea da Bacia do Pina (Pernambuco, Brasil), p. 111. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, 2006.

- CAVALCANTI, M. F.; SILVA, M. C.; FONSECA-GENEVOIS, V. *Spirodesma magdae* nov. gen. nov. sp. (Nematoda: Desmodoridae) from the Brazilian deep sea (Campos Basin, Rio de Janeiro, Brazil), v. 2086. *Zootaxa*, p. 109-118, 2009.
- COOLEN, W.A. & D'HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. State Agricultural Research Centre – GHENT, Belgium, p. 77. 1972.
- COULL, B.C. **Ecology of the marine meiofauna**. Washington: Smithsonian Institution Press., p. 14-17. 1988.
- COULL BC, G. O. The history of meiofaunal research. In: DC **Introduction to the study of meiofauna**. Washington: Smithsonian Institution Press, p. 14-17. 1988.
- COULL, B. C. Role of meiofauna in estuarine soft-bottom habitats. **Aust. J. Ecol**, p. 24:327-343, 1999.
- ELEFTHERIOU. **Methods for the study of marine benthos**. Anastasios Eleftherious, 2013.
- ELMEGREN, R. **Bal ti c benthos communi ti es and the rol e of meiofauna**. Contr. Askö Lab. Univ. of Stockholm, Sweden, n 14, p. 1-31, 1976.
- ESTEVEZ, A. M.; BLOISE, C. & NOGUEIRA, C. S. R. **Varição espaço temporal da meiofauna, ao longo de um período quinzenal, em um ponto fixo da Praia Vermelha, Rio de Janeiro**. Publicação ACISP 104 (4): 179-193. 1998.
- ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2ª edição. Rio de Janeiro (RJ). Editora Interciência. 1998.
- FONSECA-GENEVOIS, V.; CARVALHO, I.; MARANHÃO, G. M. B.; LUCENA, W. **Dados quantitativos sobre populações de Copepoda meiofaunística de ambientes recifais de Tamandaré**. Resumos. Sociedade Nordestina de Zoologia, 1992.
- FONSECA-GENEVOIS, V.; CARVALHO, I.; MARANHÃO, G. M. B.; LUCENA, W. **Meiofauna parolítica/talassica do complexo de Tamandaré, litoral sul de Pernambuco**. In: XIX Congresso Brasileiro de Zoologia e XII Congresso Latino-americano de Zoologia, Belém, Resumos. 1992.
- FONSECA-GENEVOIS, V.; **Ecologiedesméo-et-mixofaunes d'une vasi're de l'estuari de la Lori: corrélationsaveclemilieusedimentaire et seseauxinterstitielles**. 366f. Tese (Doutorado) Universidade de Nantes, França. 1987.
- FONSECA-GENEVOIS, V.; JUNQUEIRA AYRES, C. **Resultados preliminares sobre a meiofauna como vetor de impacto ambiental. Baía de Tamandaré (Litoral sul de Pernambuco)**. In: IX Encontro de Zoologia do Nordeste. Resumos. Recife. 1992.
- FONSECA-GENEVOIS, V.; MARANHÃO, G. M. B. **Composição meiofaunística, parâmetros físicos e sedimentológicos de beach rock , Pernambuco – Brasil**. In: IX Semana Nacional de Oceanografia, Arraial do Cabo. Resumos. 1996.
- GERLACH SA, SCHRAGE M. **Life cycles in marine meiobenthos**. Experiments at various temperatures with *Monhysteradisjuncta* and *Theristuspertenuis* (Nematoda). *Mar. Biol.* 9, 274-280. 1971.
- GERLACH, S. A. **Development of marine taxonomy**. Veroffentlichungen, Institut fur Meeresforschung, Bremerhaven v. 18, p 249-255, 1980.
- GIERE, O. **Meiobenthology: The microscopic fauna in aquatic sediments**. Springer-Verlag, Berlin, p. 328. 1993.

- GUILHERME, B. C.; SILVA, M. C.; ESTEVES, A. M. Description of a new species of Epacanthion (Thoracostomopsidae, Nematoda) from Brazil and a modified key for species identification, v. 2096. Zootaxa, p. 99–108, 2009.
- HEIP, C. . Vincx. M. . Smoll. N. . Vranken. G. The systematics and ecology of free-living marine nematodes. Helminthological Abstracts, series B, Plant Nematology. Cap. 1, p. 24. 1982.
- HEIP, C.; Vincx, M.; Vranken, G. The ecology of marine nematodes. **Oceanography and Marine Biology: An Annual Review** , v. 23. P. 399-489. 1985.
- HEIP, C.; Vincx, M.; Vranken, G. The ecology of marine nematodes. Oceanography and Marine Biology. **An Annual Review**. V. 23. P. 399-489. 1985.
- HODDA, M. . Techniques for Processing Freshwater Nematodes. In: Freshwater Nematode Ecology and Taxonomy. London. UK: CABI Publishing. P. 752. 2006.
- JENKINS, W.R. **A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil**. Plant Disease Report 48:692. 1964.
- LAMBSHEAD, P. J. D.; SCHALK, P. Overview of marine invertebrate biodiversity. L. S. **Encyclopaedia of biodiversity**. San Diego, CA: Academic Press, v. 1. P. 543–559. 2001.
- LAMBSHEAD, P. J. D.; SCHALK, P. **Overview of marine invertebrate biodiversity**. San Diego, CA: Academic Press, v. 1. P. 543–559. 2002.
- LEE, H.J., GERDES, D., VANHOVE, S., VINCX, M. **Meiofauna response to iceberg disturbance on the Antarctic continental shelf at Kapp Norvegia (Weddell Sea)**. Polar Biology 24, 926–933. 2001.
- MARANHÃO, G. M. B. **Composição meiofaunística, parâmetros físicos e sedimentológicos de beach rock , Pernambuco – Brasil**. IX Semana Nacional de Oceanografia (Resumos). Arraial do Cabo. 1996.
- MARANHÃO, G. M. B.; FONSÊCA-GENEVOIS, V. **Copepoda Cyclopoidea da região infralitorânea da baía de Tamandaré: densidade e distribuição sazonal em ambientes recifais**. Resumos: V Congresso Nordestino de Ecologia, 1993.
- MARANHÃO, G. M. B.; FONSÊCA-GENEVOIS, V. **Meiofauna de ambientes recifais (Tamandaré – PE)**. Resumos: II Simpósio sobre Oceanografia. São Paulo. 1991.
- MARANHÃO, G. M. B.; FONSÊCA-GENEVOIS, V. **Meiofauna parálisa – Talássica do Complexo Tamandaré, litoral sul de Pernambuco**. Resumos: XIX Congresso Brasileiro de Zoologia e XII Congresso Latino-Americano de Zoologia. Belém. 1992.
- MARE, M. F.A. **study of a marine benthic community with special reference to the microorganisms**. Journal of the Marine Biological Association of the U.K, 25, 517-544, 1942.
- MARGALEF, R. Limnologia, Barcelona (ESP). Editora Omega, 1983.
- MARGALEF, R. **Limnologia**. Editora Omega. Barcelona (ESP). 1983.
- MARIA, F. T. Paiva, P. Vanreusel, A. Esteves, A. M. **The relationship between sandy beach nematodes and environmental characteristics in two Brazilian sandy beaches (Guanabara Bay, Rio de Janeiro)**. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 85 (1), p. 257-270. 2013.
- MEDEIROS, L. R. de A. **Meiofauna da região entremarés do litoral norte do estado de São Paulo**. Ciência e Cultura 36 (Supl): 9-30. 1984.
- MEDEIROS, L. R. de A. **Nematofauna de Praia Arenosa da Ilha Anchieta, São Paulo: 1. Estrutura trófica**. Anais do IV Simpósio Brasileiro de Ecossistemas, Águas deLindóia, v 2, p. 166-178, 1998.

- MOURA, J. R. . S. M. C. . E. A. M. **Four new species of Desmodora (Nematoda) from the deep south-east Atlantic, and a case of intersexuality in Desmodoridae.** Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, p. 85 – 104. 2014.
- NERES, P. F. et al. Morphological and molecular taxonomy of a new Daptonema (Nematoda, Xyalidae) with comments on the systematics of some related taxa, v. 158, p. 1-15, 2010.
- NOGUEIRA, C. R. & Skowronski, R. S. P. **Hydrodynamic influence on meiofauna distribution on two Sandy beaches in Rio de Janeiro.** Tropical Oceanography 29 (2): 161-174. 2001.
- PINTO, T. K. O. & Santos, P. J. **Meiofauna Community structure variability in a Brazilian tropical Sandy beach.** Atlântica. 28(2): 117-127. 2006.
- PLATT, H. M.; WARWICK, R. **The significance of free-living nematodes to the littoral ecosystem.** In: Price, J.H., Irvine, D.E.G., Farmhan, W.F. (eds). **The shore environment, v. 2. Ecosystems.** Academic Press. London, p. 729-759. 1980.
- RAFAELLI, D. e HAWKINS, S. 1996. **Intertidal ecology.** London, Chapman & Hall. 356p.
- REISS, J. A. A. . M. S. Existing in plenty: abundance, biomass and diversity of ciliates and meiofauna in small streams. **Freshwater Biology**, London, U.K, v. 53, p. 652-668, 2008.
- SARMENTO, V. C. . S. P. J. P. Species of Harpacticoida (Crustacea, Copepoda) from the phytal os Porto de Galinhas Coral reefs, northeastern Brazil., v. 8, n. Check List (São Paulo. Online), p. 936-939, 2012.
- SILVA, G. S. **Prospecção do meiobentos mediolitorâneo da baía de Tamandaré, litoral sul de Pernambuco, com especial ênfase aos Acari.** Recife, p.110. Dissertação (Mestrado). Mestrado em Oceanografia Biológica da UFPE. 1997.
- SILVA, G. S. **Prospecção do meiobentos mediolitorâneo da baía de Tamandaré, litoral sul de Pernambuco, com especial ênfase aos Acari.** Mestrado em Oceanografia Biológica da UFPE. RECIFE, p. 110. 1997.
- SILVA, M. C. . C. F. J. V. . C. M. . F. . F.-G. V. Spirinia lara sp. n. and Spirinia sophia sp. n. (Nematoda, Desmodoridae) from the Brazilian continental margin (Campos Basin, Rio de Janeiro), n. Zootaxa 2081, p. 31-45, 2009.
- SMITH, A. **Os conquistadores do Amazonas:** quatro séculos de exploração e aventura no maior rio do mundo, São Paulo: Best Seller, 1994, p. 36. Rio de Janeiro: Biblioteca do Exército Editora, 1958.
- TEIXEIRA, A. L. **Aspectos da caracterização ambiental da Coroa do Avião (Itamaracá-PE).** 1991, 113f. Monografia (Graduação) Curso de Ciências Biológica UFRN. Natal.
- TENORE, K.R. et al. **Effect of meiofauna in incorporation of aged eelgrass, Zostera Marina, detritus by the polychaete Nephtys incisa.** J. Fish Res. Bd. Can., v. 34, p.563-567, 1977.
- TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada.** FUNEP, Jaboticabal, SP, p. 372. 1993.
- TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. K. **Limnologia.** Editora Oficina de textos. 2008.
- VEENEKEY V., DA FONSECA-GENEVOIS, V. G. DA ROCHA, C. M. e Santos, P. J. P. Distribuição Espaço-temporal da Meiofauna em Sargassum Polyceratium Montagne (Fuciales, Sargassaceae) de um Costão Rochoso do Nordeste do Brasil. Atlântica, Recife - PE, volume: 31 (1). Atlântica, p. 53-67, 2008.
- VEENEKEY, V.; FONSÊCA-GENEVOIS, V. G.; SANTOS, P. J. P. Biodiversity of free-living marine of the coast of Brazil: a review. Zootaxa, v. 2568, p. 39-66, 2010.

- WANDENESS, A. W.; Esteves, A. M.; Subrinho, S. J. R. P. & Nogueira, C. S. R. **Meiofauna da zona entremarés da praia dos Anjos, Arraial do Cabo, RJ.** Oecologia Brasiliensis. 3:93-106. 1997.
- WARWICK, R. M., PRICE, R. **Ecological and metabolic studies on free living nematodes from an estuarine mud-flat.** Estuaries Coastal Mar. Sci., v. 9, p. 257-271, Oct. 1979.
- WASHINGTON, D. C.: **Introduction to the study of meiofauna.** Smithsonian Institution Press, p. 18-38. 1988.
- WHITEHEAD, A. G. A. H. J. R. **A comparison of some quantitative of methods - vermiform nematode from soil.** Annals of Applied Biology, v. 55, p. 25-38. 1965.
- YOUNG, T.W. **A incubation method for collecting migratory endoparasitic nematodes.** Plant Disease Report 38: 794-795. 1957.
- SANTOS, E. de A. R. **Sucessão Ecológica meiofaunística no Manancial Olho D'água da bica em Cuité – PB.** 2011.
- CLARKE, K. R., WARWICK, R. M. **Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation.** Plymouth, Natural Environmental Research Council. 144p. 1994.
- JOVINO, G., O. **Avaliação da qualidade ambiental do açude Boqueirão do Cais (Cuité - PB), através de indicadores biológicos.** Cuité – PB. 2013.