



Comunidades de nemátodes associadas à interface entre sistemas agrícolas e naturais na Bacia do Cávado

João Sousa

UMinho | 2020



Universidade do Minho
Escola de Ciências

João Nuno Fernandes de Sousa

Comunidades de nemátodes associadas à interface entre sistemas agrícolas e naturais na Bacia do Cávado

janeiro de 2020



Universidade do Minho

Escola de Ciências

João Nuno Fernandes de Sousa

Comunidades de nemátodes associadas à interface entre sistemas agrícolas e naturais na Bacia do Cávado

Dissertação de Mestrado

Mestrado em Ecologia

Trabalho efetuado sob a orientação de
Doutora Sofia dos Santos da Rocha Costa

Professora Doutora Maria Cláudia Gonçalves Cunha
Pascoal

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações

CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Agradecimentos

Este trabalho teve o suporte do projeto CLIMALERT (ERA4CS 0004/2016) co-financiado pela JPI-CLIMATE, pela comissão EU e pela Fundação para a Ciência e Tecnologia.

À minha orientadora Doutora Sofia Santos Rocha Costa por toda a preciosa contribuição durante todo o processo de elaboração da tese. Pela motivação, simpatia e ajuda imprescindível no desenvolvimento do meu pensamento crítico e científico, foi um pilar fundamental nesta fase da minha formação académica.

Igualmente agradeço à minha co-orientadora a Doutora Maria Cláudia Gonçalves Cunha Pascoal pelo apoio, auxílio, conselhos e esclarecimentos dados ao longo da elaboração da tese.

À Doutora Maria Teresa Almeida pela enorme ajuda tanto no trabalho de campo como laboratorial, por toda a disponibilidade e grande amabilidade.

Ao resto da equipa da Nematologia, à Doutora Ana Martins e à Doutora Clara Vieira dos Santos pelos debates e troca de ideias nas reuniões de grupo assim como pela sua ajuda sempre que necessário.

Também aproveito para agradecer à Doutora Helena Adão do Departamento de Biologia da Universidade de Évora pela ajuda fundamental na definição de vários protocolos da parte laboratorial.

Aos colegas de equipa do projeto CLIMALERT, o Doutor Giorgio Pace e à Ilisa Antunes por toda a ajuda no trabalho de campo e fornecimento de dados laboratoriais.

Aos atenciosos trabalhadores do Departamento de Biologia, o Amaro Rodrigues, a Cristina Ribeiro, o Luís Correia entre outros pela assistência ao longo deste ano.

Um enorme obrigado à minha namorada, Samantha Costa, por estar sempre presente para me apoiar e incentivar, e também a todos os meus amigos assim como colegas de laboratório, especialmente o Rui Carvalho pela amizade, ajuda e parceria ao longo de todo o mestrado.

Para finalizar, palavras não expressam o quanto tenho de agradecer, à minha querida Mãe, aos meus avós, e restantes familiares por terem feito tudo para ter a melhor educação possível, por me ajudarem, ampararem e serem a minha inspiração e o meu porto de abrigo desde sempre.

A todos, o meu sincero e sentido obrigado!

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho acadêmico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

“Comunidades de nemátodes associadas à interface entre sistemas agrícolas e naturais na Bacia do Cávado”

Resumo

Os nemátodes são o grupo animal com maior abundância e diversidade funcional, sendo correntemente usados como bioindicadores de processos do solo e de sistemas aquáticos. Neste estudo iremos usar as comunidades de nemátodes e respectivas características tróficas e metabólicas para fazer uma caracterização integral do gradiente terra-rio em distintos habitats avaliando o impacto provocado pelas atividades humanas decorrentes da agricultura e pastorícia. A bacia do rio Cávado, inserida num GIAHS (“*Globally Important Agricultural Heritage Systems*”), foi a área de estudo escolhida. Foram selecionados 5 locais de estudos, cada um com três pontos de amostragem: a montante, com impacto humano proveniente da agricultura ou pastorícia e a jusante. Em cada ponto, foram colhidas amostras compostas de solo da zona interior e da zona ripária, e ainda do sedimento do rio.

Os nemátodes bacterívoros foram o grupo trófico mais representado nos vários habitats. As análises às comunidades revelaram uma menor diversidade e abundância nas comunidades de nemátodes de água doce comparativamente com as do solo, assim como a existência de algumas relações influentes com os fatores abióticos (p. ex. presença de matéria orgânica e valor do pH). Os perfis faunísticos e as pegadas metabólicas forneceram informação sobre a perturbação nas cadeias alimentares (superior em zonas de influência humana), atividade dos grupos tróficos de nemátodes e a as vias de decomposição dominantes, sendo estas quase todas bacterianas. Apesar de aparentes diferenças nas comunidades de nemátodes das zonas interiores entre os pontos com impactos e as zonas a montante, não houve consistência na recuperação a jusante. Verificaram-se diferenças taxonómicas e espaciais entre as comunidades de nemátodes de rio e as de solo, provocadas possivelmente pelos diferentes impactos humanos e fatores abióticos distintos a que estão sujeitas. Neste estudo não conseguimos demonstrar que os atributos físico-químicos assim como as comunidades de nemátodes dos sistemas de água doce dependiam de processos realizados nas zonas interiores, o que poderá ser devido à estabilidade da zona ripária nos diferentes pontos de amostragem, e que sugere o seu papel de tampão entre o sistema terra-rio.

Palavras-chave: bioindicadores, contínuo rio-terra, zona interior, zona ripária, resiliência a impactos, fatores abióticos

“Nematode communities associated with the interface between agricultural and natural systems in the Cávado Basin”

Abstract

Nematodes are the animal group with the greatest abundance and functional diversity, and are currently used as bioindicators of key processes in soils and aquatic systems. In this study, we used analyses of the nematode communities and their trophic and metabolic characteristics to make an integral characterization of the land-river gradient in different habitats, assessing the impact caused by human activities resulting from agriculture and pastoralism. The Cávado river basin, inserted in a GIAHS (“*Globally Important Agricultural Heritage Systems*”), was the chosen area for this study. Five study sites were selected, each with three sampling points: upstream, with human impact from agriculture or pastoralism and downstream. At each point, samples were collected of soil from the interior and riparian zones, as well as river sediment.

Bacterivorous nematodes were the most represented trophic group in the various habitats. Community analyses revealed less diversity and abundance in freshwater nematode communities compared to those in the soil, as well as the existence of some influential relationships with abiotic factors (eg presence of organic matter and pH value). Faunal profiles and metabolic footprints provided information about the disturbance in the food chains (higher in areas of human influence), the activity of nematode trophic groups and the dominant decomposition pathways, almost all of which are bacterial. Despite apparent differences in the nematode communities in the interior zones between the impact points and the upstream areas, there was no consistency in downstream recovery. There were taxonomic and spatial differences between nematode communities in the river soil, possibly caused by different human impacts and different abiotic factors to which they are subjected. In this study we were unable to demonstrate that the physical-chemical attributes as well as the nematode communities of freshwater systems depended on processes carried out in the interior areas, which may be due to the stability of the riparian zone at the different sampling points, and which suggests its role as a buffer between the land and river system.

Key words: abiotic factors, bioindicators, impact resilience, interior zone, riparian zone, river-land continuum

Índice

Resumo.....	vi
Abstract.....	vii
Lista de figuras	x
Lista de tabelas.....	xii
1. Introdução.....	13
1.1. Ecologia dos sistemas de água doce	13
1.2. Ecologia do solo	14
1.3. Os Nemátodes como bioindicadores de qualidade ecológica.....	16
1.3.1. Nemátodes em sistemas de água doce.....	18
1.3.2. Nemátodes em sistemas de solo	19
1.4. Zona Ripária	20
1.5. Objetivos	22
2. Materiais e Métodos.....	23
2.1. Descrição da área de estudo - Bacia do Cávado	23
2.1.1. Seleção dos pontos de amostragem.....	23
2.1.2. Caracterização das áreas amostradas.....	28
2.1.2.1. Habitat fluvial e parâmetros físico-químicos do rio	28
2.1.2.2. Habitat ripário e interior e parâmetros físico-químicos do solo	28
2.2. Amostragem e processamento de amostras	29
2.2.1. Extração de nemátodes do sedimento do rio	30
2.2.2. Extração de nemátodes do solo	31
2.3. Identificação e contagem dos nemátodes.....	32
2.3.1. Análise da abundância de famílias de nemátodes	32
2.3.2. Escala multidimensional não métrica	32
2.3.3. Análise de Correspondência Canónica	33
2.3.4. Índices ecológicos das comunidades de nemátodes.....	33

2.3.5. Pegadas metabólicas dos nemátodes	34
3. Resultados.....	35
3.1. Habitat fluvial e parâmetros físico-químicos do rio	35
3.2. Habitat ripário e interior e parâmetros físico-químicos do solo	37
3.3. Análise das comunidades de nemátodes.....	40
3.3.1. Abundância de famílias de nemátodes.....	40
3.3.2. Influência do habitat nas Comunidades de nemátodes.....	42
3.3.3. Influência de fatores abióticos na comunidade de nemátodes.....	42
3.3.4. Análise dos perfis faunísticos.....	48
3.3.5. Pegadas metabólicas de nemátodes.....	53
4. Discussão.....	58
5. Referências Bibliográficas	68
Sites consultados:.....	78
6. Anexos	80

Lista de figuras

Figura 1 – Funcionamento da interação entre o Índice de Enriquecimento e o Índice de Estrutura, com a presença das guilds informativas da qualidade da rede trófica e dos seus grupos funcionais (adaptado de Ferris et al. 2001).....	18
Figura 2 – Distribuição dos locais de estudo. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)	24
Figura 3 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo CAV1. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)	25
Figura 4 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo CAV2. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)	25
Figura 5 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo RAB1. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)	26
Figura 6 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo RAB2. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)	26
Figura 7 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo CABR1. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018).....	27
Figura 8 – Esquema representativo do processo de extração de nemátodes das amostras de sedimento de rio por centrifugação	31
Figura 9 – Número de nemátodes identificados de cada família e respetivo grupo trófico habitat na totalidade dos pontos de amostragem, CAV1, CAV2, RAB1, RAB2 e CABR1 (por um volume de amostra de 30ml no sedimento de rio e 100ml nos solos).....	41
Figura 10 – Análise escala multidimensional não métrica das comunidades de nemátodes por abundância de famílias nas amostras, evidenciando-se os agrupamentos por zona amostrada (azul – rio, verde – zona ripária, amarelo – zona interior)	42
Figura 11 – Análise de correspondência canónica entre os fatores abióticos e os índices ecológicos das comunidades de nemátodes no sedimento de rio (eixo 1, eigenvalue = 0,0618, p = 0,74; eixo 2, eigenvalue = 0,0569, p = 0,117); A – relação da abundância das famílias de nemátodes com os fatores abióticos; B – relação dos locais e pontos de amostragem com os habitats da zona interior e os fatores abióticos (agr – agrícola; lam- lameiro; lp – lameito/pastorícia; nat – natural; past – pastorícia; sn – semi-natural)	45
Figura 12 – Análise de correspondência canónica entre os fatores abióticos e os índices ecológicos das comunidades de nemátodes na zona ripária (eixo 1, eigenvalue = 0,0747, p < 0,001; eixo 3, eigenvalue = 0,00524, p = 0,04); A – relação da abundância das famílias de nemátodes com os fatores abióticos; B – relação entre os locais e pontos de amostragem com os habitats da zona interior e os fatores abióticos (agr – agrícola; lam- lameiro; lp – lameito/pastorícia; nat – natural; past – pastorícia; sn – semi-natural).....	46

Figura 13 – Análise de correspondência canônica entre os fatores abióticos e os índices ecológicos das comunidades de nemátodes na zona interior (eixo 1, eigenvalue = 0,0804, p < 0,01; eixo 2, eigenvalue = 0,0159, p = 0,559); A – relação da abundância das famílias de nemátodes com os fatores abióticos; B – relação dos locais e pontos de amostragem com os habitats da zona interior e os fatores abióticos (agr – agrícola; lam- lameiro; lp – lameito/pastorícia; nat – natural; past – pastorícia; sn – semi-natural)	47
Figura 14 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local CAV1, nos pontos de amostragem CAV1 A, CAV1 B e CAV1 C.....	50
Figura 15 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local CAV2, nos pontos de amostragem CAV2 A, CAV2 B e CAV2 C.....	50
Figura 16 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local RAB1, nos pontos de amostragem RAB1 A, RAB1 B e RAB1 C.....	51
Figura 17 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local RAB2, nos pontos de amostragem RAB2 A, RAB2 B e RAB2 C.....	51
Figura 18 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do ponto CABR1, nos pontos de amostragem CABR1 A, CABR1 B e CABR1 C.....	52
Figura 19 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos CAV1 A, CAV1 B e CAV1 C.....	55
Figura 20 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos CAV2 A, CAV2 B e CAV2 C.....	55
Figura 21 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos RAB1 A, RAB1 B e RAB1 C.....	56
Figura 22 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos RAB2 A, RAB2 B e RAB2 C.....	56
Figura 23 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos CABR1 A, CABR1 B e CABR1 C.....	57

Lista de tabelas

- Tabela 1** – Tipos de uso de solo nos pontos de amostragem A, B e C nos vários locais de estudo ao longo dos Rios Cávado (CAV), Rabagão (RAB) e Cabril (CABR)27
- Tabela 2** – Valores de pH, temperatura, condutividade, oxigénio dissolvido, concentração de fosfatos e nitritos e do habitat fluvial nos pontos de amostragem nomeadamente a montante (A), em ponto com potencial impacto decorrentes da atividade agrícola ou pecuária (B) e a jusante (C) no rio Cávado (CAV1 e CAV2), no rio Rabagão (RAB1, RAB2) e no rio Cabril (CABR1)36
- Tabela 3** – Valores da extensão mínima e máxima das zonas ripárias nos pontos de amostragem a montante (A), em zona com potencial impacto decorrentes da atividade agrícola ou pecuária (B) e jusante (C) no rio Cávado (CAV1 e CAV2), rio Rabagão (RAB1, RAB2) e rio Cabril (CABR1).....38
- Tabela 4** – Valores de pH, humidade relativa, matéria orgânica, QBR e IHI na zona ripária e interior nomeadamente a montante (A), em ponto com potencial impacto decorrentes da atividade agrícola ou pecuária (B) e a jusante (C) no rio Cávado (CAV1 e CAV2), no rio Rabagão (RAB1, RAB2) e no rio Cabril (CABR1).....39

1. Introdução

Este tema de tese insere-se em algumas vertentes do projeto CLIMALERT (ERA4CS/00044/2016) que visa desenvolver ferramentas para promover a manutenção da sustentabilidade dos sistemas agrícolas e dos ecossistemas aquáticos. Nas recentes décadas tem-se presenciado a um crescimento da debilidade de distintos territórios europeus no que se refere aos impactos provocados por fenómenos hidrometeorológicos, tendo estes originado grandes danos na produção e distribuição de alimentos, nos ativos de subsistência, assim como na saúde humana. Apesar do desenvolvimento e evolução da investigação na área dos serviços do clima que consente, cada vez mais, antecipar os impactos das intervenções humanas e assim poder aplicar estes conhecimentos em atividades como a agricultura, não há ainda as plataformas suficientes para disponibilizar de modo eficaz esta informação aos seus usuários.

Embora tenham sido realizados vários estudos sobre a biodiversidade e os processos ecológicos em sistemas de água doce, sistemas naturais e agrícolas ou em zonas ripárias, a maioria dos estudos tem-se focado em cada um dos sistemas de forma individual. Contudo, é necessário realizar investigação que envolva um apanhado integral destes sistemas como um só ecossistema e não só o estudo isolado de cada um dos seus constituintes, com a caracterização terra-água e as suas envolventes de forma a compreender melhor os fenómenos de interação entre as várias zonas e assim restaurar, preservar e rentabilizar o património natural que nos envolve.

1.1. Ecologia dos sistemas de água doce

Os sistemas de água doce apresentam-se como zonas de abundante biodiversidade. Geograficamente, os ecossistemas de água doce ocupam somente 0,8% da superfície do planeta mas há estudos que sugerem que são o habitat de 100.000 espécies, no mínimo, hospedando até 10% da totalidade de espécies descritas (Dudgeon et al. 2006; Strayer & Dudgeon, 2010).

Os ecossistemas estão, cada vez mais, sujeitos a vários tipos de pressões originadas pelo aumento substancial da população humana aliado aos fenómenos de globalização. Destes eventos está a resultar o incremento insustentável do consumo de recursos naturais que leva à deterioração dos sistemas naturais, particularmente os de água doce, podendo futuramente conduzir a um colapso nos ciclos de nutrientes, devido ao excessivo consumo de energia e à maior formação de biomassa (Vitousek et al. 1997; Hu, 2017; Trommer et al. 2019), danificando

irremediavelmente os serviços de ecossistemas a nível global (Rockström et al. 2009; Steffen et al. 2015).

Uma vasta porção de ecossistemas de água doce, devido a graves fragmentações nas suas redes assim como nos processos estruturais, perdeu uma quantidade superior de espécies e habitats comparativamente a ecossistemas terrestres ou marinhos e continuam a encarar riscos crescentes com a exposição à poluição, a introdução e fixação de espécies invasoras ou a instabilidade climática (Revenga et al. 2005; Abell et al. 2008; Sullivan et al. 2019). Mesmo os ecossistemas de água doce em zonas de transição, como o caso das planícies de inundação (várzeas), estão a sofrer de vários distúrbios ecológicos tornando-os num dos tipos de ecossistemas mais ameaçados na atualidade (Arantes, 2017), sendo principalmente afetados pelas alterações na cobertura do solo (Smokorowski & Pratt, 2007). Estas alterações são fomentadas, por exemplo, tanto por práticas intensivas de pastorícia como de agricultura e conduzem a perdas de biodiversidade e redução da produtividade e da fertilidade biológica (Tockner et al. 2008; Davidson, 2014).

Devido às condições ímpares dos sistemas de água doce como, por exemplo, as diferenças das características biológicas, físicas e químicas entre montante e jusante preconizada na teoria do rio contínuo (Vannote et al. 1980), a existência de redes fluviais que convergem entre si e a presença de fatores aquáticos singulares como a temperatura, o pH, a condutividade e oxigénio dissolvido, tornam estes sistemas bastante distintos dos ecossistemas terrestres.

1.2. Ecologia do solo

O ambiente do solo contém, possivelmente, a comunidade biológica existente no planeta que apresenta uma maior complexidade funcional. As mais de 170.000 espécies edáficas descritas (Wall & Moore, 1999) apresentam uma extraordinária diversidade taxonómica e funcional, colaborando ativamente para um grande número de processos vitais que regulam e mantêm preservada a sustentabilidade dos ecossistemas (Bardgett & van der Putten, 2014).

Nos sistemas naturais, ao nível das redes tróficas, o fluxo e a transferências de energia e de matéria revelam-se intimamente conectados com as atividades das comunidades bióticas, demonstrando a complexidade das interações entre a biota do solo (Moore et al., 1993; Wardle et al. 1998; Wardle et al. 2004).

Se ocorrer o desaparecimento total ou parcial de um grupo trófico, toda a organização e estabilidade das redes tróficas poderá ser posta em causa (Didham et al. 1998; Säterberg et al. 2013), uma vez que cada grupo tem a sua função específica nos ciclos biogeoquímicos, assim como na rede energética da comunidade, levando à ocorrência de um défice de eficiência nos processos do ecossistema (de Ruiter et al. 1998). Por este motivo, a preservação da biodiversidade edáfica é de grande importância.

No entanto, algumas atividades realizadas pelas comunidades de organismos presentes no solo podem acarretar impactos negativos na produtividade dos sistemas de solo. As sequelas envolvem reduções acentuadas na produção primária que restringem a eficiência dos agroecossistemas assim como os efeitos resultantes da atividade de organismos edáficos que levam a transtornos na estrutura do solo ou a quebras nas interações complexas nas redes tróficas, acabando por produzir serviços de ecossistemas nocivos para a produtividade dos terrenos (Barrios, 2007).

A fertilidade e o rendimento dos agroecossistemas também são afetados por diversas atividades antropogénicas de uso exacerbado não sustentável do solo que originam a perda da riqueza e diminuem a eficácia das funções confinadas à biota do solo (Köhl et al. 2014; Apiah et al. 2014), com efeitos negativos para os processos ecológicos afetando de forma severa os serviços de ecossistemas suportados por esses processos (de Vries et al. 2013).

É urgente a obtenção de novos dados assim como o aperfeiçoar do conhecimento sobre as comunidades de seres vivos edáficos. Os invertebrados assumem uma posição de importância nestas comunidades pois contribuem ativamente nos processos de interações no solo como também na manutenção dos serviços de ecossistemas. Os solos são sistemas auto-organizados com dinâmicas complexas (Perry, 1995), logo as distintas tarefas que os invertebrados realizam têm impactos ao longo de toda a rede trófica (Lavelle et al. 2006). Alguns estudos fundamentam que a diversidade de funções executadas pelos invertebrados assinalam a sua possível eficácia como indicadores das características e qualidade dos sistemas de solo (Blair et al. 1997; Althoff & Thien, 2005; Baretta et al. 2011), sendo estes indispensáveis para maximizar de forma sustentável o rendimento dos serviços que provêm dos agroecossistemas.

Dentro do vastíssimo grupo dos invertebrados edáficos encontram-se os nemátodes que, por possuírem um conjunto de características ímpares, como a sua ampla presença nos solos e a elevada sensibilidade aos distúrbios nos ecossistemas, serão ideais para serem utilizados como bioindicadores do estado dos ecossistemas.

1.3. Os Nemátodes como bioindicadores de qualidade ecológica

Os nemátodes são os animais edáficos com maior abundância, distribuição e mais elevada diversidade funcional a nível global (van den Hoogen et al. 2019). Segundo alguns autores, estima-se que o número de espécies pertencentes ao filo Nematoda possa variar entre 25-40 mil até cerca de 10 milhões de espécies (Boag & Yeates, 2006; Zhang, 2013; Schafer, 2016); os nemátodes executam funções fundamentais nos vários ecossistemas, quer sejam naturais ou agrícolas, e são aplicados como bioindicadores para a perceção e interpretação de distúrbios ambientais (Bongers, 1990; Ferris et al. 2001; Yeates, 2003; Schratzberger et al. 2006), sendo a análise e estudo das suas comunidades um dos requisitos principais para compreender e deduzir sobre os processos e a qualidade biológica do solo.

Os nemátodes concretizam ações de grande importância para a manutenção dos serviços de ecossistemas ao participarem em atividades tão distintas como o fornecimento de alimento, a purificação da água e do ar ou até o controle de pragas e doenças das plantas, como por exemplo, ao regularem a abundância de insetos (Viglierchio, 1991). Relativamente às redes tróficas do solo, os nemátodes contribuem para a mineralização de matéria orgânica em nutrientes minerais que poderão ser assimilados pelas plantas contribuindo, indiretamente, para o seu crescimento e desenvolvimento, assim como para o aumento produtividade das culturas agrícolas (Ferris et al. 1998, 2004). Uma maior diversidade funcional de nemátodes sustenta uma manutenção mais eficaz das características biológicas intrínsecas do solo (Sarathchandra et al. 2001); a degradação dos solos pode ainda desencadear alterações nas propriedades e levar à redução da qualidade da água acarretando graves consequências ecológicas (Yeates et al. 2009).

Em ecossistemas naturais, os nemátodes do solo interagem com as plantas, influenciando a distribuição e diversidade das espécies florísticas (De Deyn & Van der Putten, 2005). No entanto, a diversidade da comunidade de plantas não poderá somente ser inferida a partir da presença e atividade dos vários grupos tróficos de nemátodes (Kardol et al., 2005; Sánchez-Moreno et al., 2008). Os nemátodes apresentam características particulares, exibindo potencial para a sua utilização como bioindicadores tanto em solos como em sedimentos aquáticos; mostram aptidão para habitar a totalidade de ambientes que forneçam uma fonte de carbono orgânico, em todos os tipos de solo, sob todas as conjunturas climáticas e em habitats que podem ser praticamente inalterados até aos excessivamente poluídos (Bongers & Ferris, 1999).

No solo, os nemátodes ocupam lugares essenciais nas relações tróficas, pois no seu conjunto conseguem alimentar-se da maioria dos organismos edáficos mas também servem de

alimento para um vasto número de seres vivos. A sua atividade, particularmente a dos nemátodes envolvidos em processos de decomposição, correlaciona-se com o ciclo do azoto e do carbono, participando em processos de extrema importância para a ecologia dos solos; os nemátodes podem ser agrupados em distintos grupos tróficos de acordo com os seus hábitos alimentares, qualificando-se distintamente como “OM” (omnívoros), “BF” (bacterívoros), “FF” (fungívoros), “PF” (herbívoros) ou “PPN” (fitoparasitas) e “PR” (predadores) (Yeates et al., 1993; Kimenju et al. 2009). Para além da classificação em grupos tróficos, os nemátodes podem ainda ser classificados tendo em conta a sua capacidade de colonização ou de persistência/resiliência. As famílias de nemátodes podem ser dispostas segundo uma classificação denominada de “colonizador-persistente” (cp); com valores entre 1 (correspondente às famílias que assumem uma rápida colonização dos vários recursos disponíveis) até 5 (que perduram sobretudo em habitats sem perturbações) (Bongers, 1990; Bongers & Ferris, 1999). A estrutura da comunidade com assento na análise de ‘*guilds*’ que reúnem a informação do grupo trófico com a estratégia colonizador-persistente é elucidativa das condições existentes no solo (Bongers & Ferris, 1999; Neher, 2001).

Índices provenientes da análise dos perfis faunísticos das comunidades de nemátodes concedem informação sobre os níveis de perturbação do solo e condição das cadeias alimentares. Comunidades de nemátodes em que predominam organismos oportunistas de enriquecimento (como bacterívoros cp1, e bacterívoros e fungívoros cp2) são associadas a solos com elevados níveis de nutrientes livres, e não sequestrados nos organismos vivos e matéria orgânica. Uma forte componente de espécies pertencentes a níveis tróficos superiores (omnívoros ou predadores) e com uma estratégia de persistência (cp4 ou cp5), denota uma comunidade de nemátodes associada a solos com elevada estrutura ou complexidade da rede trófica. As trajetórias de estrutura e enriquecimento expõem a condição da rede trófica do solo através do Índice de Enriquecimento (Enrichment Index, EI) e do Índice de Estrutura (Structure Index, SI) (Ferris et al. 2001; Neher et al. 2004) (Figura 1).

Os estudos das comunidades de nemátodes de água doce ainda são escassos e tem sido enfatizado que vale a pena reforçar a investigação nestes sistemas (Höss et al. 2006; Ristau et al. 2015). Recentemente, o papel e a ecologia dos nemátodes em ecossistemas marinhos e de estuários têm sido bastante estudados existindo um enorme potencial de informação e conhecimento que é possível atingir.

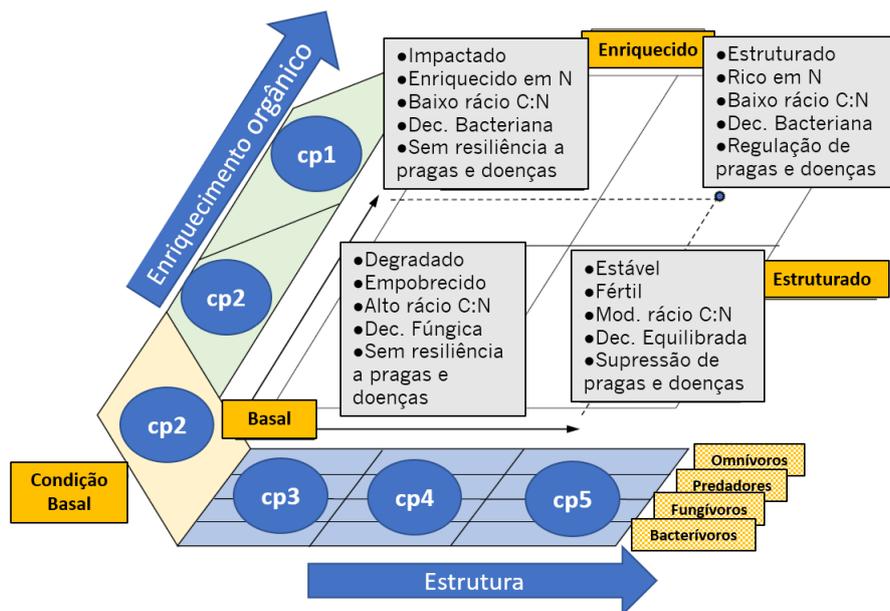


Figura 1 – Funcionamento da interação entre o Índice de Enriquecimento e o Índice de Estrutura, com a presença das *guilds* informativas da qualidade da rede trófica e dos seus grupos funcionais (adaptado de Ferris et al. 2001)

1.3.1. Nemátodes em sistemas de água doce

Os nemátodes de água doce ainda carecem de informação em comparação com as mais estudadas comunidades de nemátodes marinhos e terrestres; das cerca de 27 mil espécies de nemátodes descritas menos de 200 são concernentes a indivíduos pertencentes a ecossistemas de água doce. A ordem Dorylaimida é a mais representada neste tipo de habitat abrangendo mais de metade dos nemátodes de água doce identificados (Abebe et al. 2007).

O primeiro livro com algum volume de informação sobre nemátodes de água doce surgiu na década de 1950, “Soil and Freshwater Nematodes” (Goodey, 1951). Nas décadas finais do século XX a utilização de nemátodes em sistemas de água doce começou a ser mais recorrente e incidiu em processos como a avaliação da qualidade da água (Zullini, 1976), uma vez que o perfil faunístico dos nemátodes do sedimento destes sistemas reflete as condições ambientais, podendo ser utilizados como bioindicador de alterações nos ecossistemas (Geetanjali et al. 2002).

Informação relevante sobre a atividade das comunidades de nemátodes em sistemas aquáticos (de água doce) e a sua relação com o impacto humano é ainda escassa. No entanto, têm vindo a ser realçado os atributos peculiares das comunidades de nemátodes de lagos que se conseguem manifestar aquando da existência de fenómenos de expansão desfavorável das comunidades de plantas aquáticas (Ristau et al. 2015). Noutro estudo efetuado, foi testada a

capacidade de os nemátodes de água doce servirem como bioindicador para avaliar como as zonas ribeirinhas reagem aos impactos provocados pelas atividades humanas, onde se concluiu que estas comunidades podiam ser utilizadas na monitorização de zonas bentónicas em observações a longo prazo (Semprucci et al. 2015). Também foi investigado a utilização de nemátodes de água doce para a investigação de redes tróficas, onde foi calculado o consumo diário de quatro espécies de nemátodes por uma espécie de peixe-gato (*Corydoras aeneus* Gill, 1858), ocorrendo um consumo de nemátodes significativo; tendo os autores concluído que existe evidência de um canal trófico expressivo entre invertebrados bentónicos, como os nemátodes e pequenos peixes que se alimentam dos organismos bentónicos, como *C. aeneus* (Madji et al. 2018). Foram ainda examinados os efeitos da assiduidade de distintos metais em habitats de água doce, onde através da observação da diversidade taxonómica e abundância (ou biomassa) das comunidades de nemátodes surge a hipótese de estes poderem ser bastante vantajosos em estudos ambientais de avaliação de risco ecotoxicológico (Haegerbaeumer et al. 2018).

1.3.2. Nemátodes em sistemas de solo

No que toca a ecossistemas agrícolas, historicamente a investigação incidiu essencialmente sobre nemátodes fitoparasitas com efeitos nefastos nas plantas (Ferris et al. 2001) que sempre mereceram interesse pelas quebras que originam na produção agrícola. Os nemátodes fitoparasitas são agentes causadores de doenças a muitas espécies de plantas superiores, através de danos provocados nas raízes (na maior parte das ocorrências), caule e outros órgãos. Apesar disto, as ações dos nemátodes parasitas foram descuradas durante décadas, sendo as pragas de insetos (percevejos, lagartas, entre outros) apontadas como o principal problema das colheitas agrícolas. As doenças motivadas pelos nemátodes exigem um controlo minucioso, por isso é vital conferir a maior estabilidade possível aos agroecossistemas para travar a sua proliferação, ao evitar práticas como a monocultura e ao apostar na rotação de culturas resistentes para tentar minorar as perdas de produtividade (Singh et al. 2015).

Apesar de algumas espécies de nemátodes causarem danos nos agroecossistemas, a maioria dos nemátodes tem um contributo benéfico nestes sistemas. Os nemátodes bacterívoros e fungívoros estimulam os processos de decomposição assim como os ciclos de nutrientes, ao passo que os omnívoros e os predadores fornecem pontos de regulação significativos. Os nemátodes, no seu todo, servem de sustento alimentar a organismos que atuam em níveis tróficos superiores, sendo que os organismos que se sustentam de nemátodes podem aumentar as suas

populações em nemátodes de vida livre, conservando a sua atividade e posteriormente dispor dos nemátodes fitoparasitas quando as suas populações aumentem. A atuação dos nemátodes de vida livre é seriamente relevante para a manutenção dos ciclos de nutrientes e outros processos dos solos a nível global (Schratzberger et al. 2019).

Exemplos, mais específicos, de ações benéficas compreendem os nemátodes entomopatogénicos (pertencentes à ordem Rhabditida, Fuga et al. 2012) que infetam os insetos hospedeiros que estão presentes no solo, atuando como agentes de controlo biológico de pragas de insetos em sistemas agrícolas (Disi et al. 2019) ou a existência de relações de mutualismo entre nemátodes e bactérias que através da produção de antibióticos auxiliam na prevenção e tratamento de doenças de várias espécies florísticas (Askary and Abd-Elgawad, 2017).

As comunidades de nemátodes são sensíveis às práticas agrícolas e podem ser usadas como bioindicadores da qualidade dos sistemas agrícolas e silvícolas (Mondino et al. 2009). Este pressuposto foi verificado através do estudo de vários grupos tróficos de nemátodes do solo em plantações de espécies não autóctones (empregues para reflorestação), onde se registou a abundância total de nemátodes ou a eficácia no sequestro de carbono contribuindo com informação de apoio à decisão para o ordenamento do território e garantir a sustentabilidade das capacidades ecológicas do solo (Zhao et al. 2017) ou no estudo das estruturas das comunidades de nemátodes e dos seus respetivos índices em terrenos de viticultura, para se conhecer as diferenças entre o cultivo da vinha de forma tradicional ou de forma biológica (Coll et al. 2012).

1.4. Zona Ripária

As zonas ripárias (também denominadas de ribeirinhas) são o elo fundamental entre os sistemas aquáticos e terrestres ao longo dos cursos de água. Apesar de, na maior parte dos casos, as zonas ripárias exibirem uma extensão estreita, estas têm um papel ecológico essencial, pois contribuem de forma ativa para o aumento dos habitats e da biodiversidade nos terrenos envolventes, conservam a fertilidade do solo, sublimam as impurezas da água, mas também têm relevância económica e cultural ao dar abrigo a eventos desportivos e de lazer (González et al. 2017).

Para além de possuírem características singulares, os terrenos ribeirinhos são um local de ocorrência de diversos processos naturais. Atividades de cariz hidrológico como processos de infiltração, armazenamento e redistribuição de água desencadeiam-se ao nível ripário (Gumiero et

al. 2011; Hoffman et al. 2012; Hodson et al. 2014). A dimensão biológica e física das zonas ripárias reflete-se, essencialmente, no fluxo e ciclo de nutrientes; o seu envolvimento é bastante benéfico, como se comprova em zonas de lameiros restauradas que promovem a eliminação dos poluentes provenientes das atividades agrícolas (O'Geen et al. 2010; Hodson et al. 2014). As zonas ripárias são bases essenciais tanto para a conservação da biodiversidade como também para preservação ou restauro dos terrenos envolventes (Bengtsson et al., 2003; Gonzalez et al., 2009; Richardson et al., 2007). As particularidades superficiais dos relevos fluviais (ex: declive do terreno) têm influência direta no tipo de flora que se estabelece na zona ribeirinha (Hupp & Bornette, 2003), levando assim à origem de habitats com grande diversidade de texturas de solo e atributos físicos.

Mais recentemente, a possível aptidão que as zonas ripárias poderão ter de se comportarem como “zonas tampão” (*buffers*) está a ser reconhecida; através da sua capacidade de retenção e filtração de sedimentos, nutrientes, pesticidas, herbicidas e outros compostos potencialmente tóxicos que provêm de terrenos agrícolas adjacentes, concedem proteção ao sistema rio-terra no seu todo. Esta capacidade já foi verificada em alguns estudos que comprovam a dinâmica positiva das zonas ripárias na redução de cargas excessivas de nutrientes (como azoto e fósforo) assim como no melhoramento das condições dos cursos de água superficiais através da retenção de várias substâncias nocivas derivadas das práticas agrícolas (Anbumozhi et al. 2005; Mayer et al. 2007).

Ainda assim, e apesar da demonstração da importância destas zonas por motivos ecológicos e sociais, e da já extensa literatura científica investigando medidas para sua conservação, a gestão atual destas zonas ripárias está aquém do seu potencial ecológico.

Relativamente às comunidades de nemátodes presentes nesta zona, estas alimentam-se e assimilam os nutrientes provenientes de diferentes origens; tendo isto em conta, escrutinar os processos e funções metabólicas dos vários grupos tróficos de nemátodes permite a obtenção de dados sobre a condição da organização ecológica, assim como da abundância de recursos existentes nas redes alimentares do solo (Ferris, 2010; Sánchez-Moreno et al., 2011). Os índices funcionais deduzidos a partir abundância relativa e diversidade taxonómica de nemátodes são utilizados para estimar o grau de estrutura e de enriquecimento das cadeias alimentares, assim como compreender o destaque das vias de decomposição desempenhadas por fungos e bactérias (Ferris et al., 2001).

1.5. Objetivos

Os objetivos gerais deste trabalho visam comparar a biodiversidade e os processos dos ecossistemas terrestres, ripícolas e de água doce adjacentes em áreas representativas da Bacia do Rio Cávado, utilizando as comunidades de nemátodes como bioindicadores das atividades antropogénicas. Mais especificamente, pretende-se:

- i) caracterizar e comparar as redes tróficas e a pegada metabólica das comunidades de nemátodes do solo, de áreas ripícolas e do sedimento da margem do rio em áreas adjacentes;
- ii) avaliar o impacto provocado pelas atividades humanas com particular enfoque na agricultura e na pastorícia;
- iii) integrar os conhecimentos adquiridos com a informação relevante obtida pela equipa do Projeto CLIMALERT, que inclui ainda o uso do solo, a monitorização do ecossistema aquático e dos dados do clima.

Em termos de resultados esperados, seria expectável:

- i) que a zona ripária atuasse como um tampão no gradiente terra-rio, reduzindo os impactos do uso do solo nas comunidades de nemátodes do ecossistema de água doce;
- ii) que a agricultura e as pastagens provocassem distúrbio com impacto nas comunidades de nematodes dos solos e dos rios;
- iii) encontrar diferenças entre as comunidades de nemátodes terrestres (em zonas impactadas *versus* não impactadas) e as presentes no sedimento do rio, uma vez que o fluxo do rio pode contribuir mais facilmente para a colonização por espécies vindas de montante ou devido à influência das condições abióticas provenientes não só das margens mas também de montante.

2. Materiais e Métodos

2.1. Descrição da área de estudo - Bacia do Cávado

O rio Cávado tem a sua nascente na Serra do Larouco a uma altitude de cerca de 1520 m. Ao longo de 135 km de extensão atravessa dez concelhos, iniciando o seu percurso em Montalegre e desaguando perto de Esposende.

Relativamente aos seus limites geográficos a bacia hidrográfica do rio Cávado tem uma área aproximada de 1600 km² e é circunscrita, a norte, pelos rio Lima e rio Neiva, a este e sul é limitada pelo rio Ave e rio Douro (Infopédia, 2019). A bacia hidrográfica do rio Cávado para além de apresentar um rendimento hidroelétrico destacado ostenta uma amplitude de armazenamento de recursos hídricos com valores que equivalem a aproximadamente a 1/3 do total efetivo em Portugal (Appelberg, 2017).

É importante referir que esta área geográfica se insere na zona agrícola de Barroso. Por possuir elevada diversidade agrícola, ecossistemas de grande robustez e manutenção de tradições culturais seculares, esta insere-se num “*Globally Important Agricultural Heritage Systems*” (GIAHS). Por serem zonas de distinta importância a vários níveis e por serem cada vez mais escassas a nível mundial, a preservação e conservação dos “GIAHS” é indispensável e urgente, com vista a não perder património cultural e natural muitas vezes com milhares de anos de história (FAO, 2019). A pastorícia e a agricultura são o suporte da economia local onde ainda se praticam regimes quase ancestrais comunitários; há uma particular incidência na presença do gado bovino, sendo a raça barrosã um dos ex-libris desta região (Baptista, 2006). Quanto à agricultura existem alguns terrenos extensos para a produção de milho e vinha, sendo o resto ocupado para a colheita de frutos e legumes no geral.

2.1.1. Seleção dos pontos de amostragem

Após a análise detalhada de inúmeras imagens capturadas via satélite que possibilitaram uma primeira abordagem à informação relativa ao uso do solo (ex: área agrícola, de pastorícia, entre outras) e com recurso a ferramentas de SIG (Sistemas de Informação Geográfica) interpretaram-se vários dados para fazer uma pré-seleção das áreas de amostragem que combinassem áreas agrícolas, ripícolas e margem do rio sujeitas a diferentes pressões; com recurso ao programa QGIS (versão 3.10.1, QGIS Development Team 2019), auxiliado por *layers*

disponíveis pelo projeto *Copernicus* (mais especificamente na divisão do CORINE land cover) (Copernicus, 2018) (Figura A1) e por mapas do Google e do Bing foram escolhidos um conjunto de 14 locais ao longo de 2/3 km na bacia do Rio Cávado na zona de Montalegre.

De forma a validar os locais de amostragem, fez-se uma deslocação para observação *in situ*. Com o decorrer do reconhecimento efetivo dos locais no terreno verificou-se que muita informação presente nas *layers* (dados recolhidos em 2012) já estavam desatualizadas pelo que houve necessidade de fazer ajustes e redefinir novos pontos para futura recolha de amostras. Após este trabalho de reconhecimento no terreno e de pesquisa bibliográfica, decidiu-se a localização dos locais de amostragem (Figura 2). Foram selecionados e validados 5 locais de amostragem; em cada local foram selecionados três pontos de amostragem: a montante (A), a jusante (C) e sob pressão de uso da terra por agricultura/pastorícia (B). As distâncias entre os pontos foram decididas caso a caso, dependendo das condições e propriedades do terreno em estudo. Assim, os locais de estudo e pontos de amostragem foram distribuídos entre as zonas de Montalegre, ao longo do rio Cávado (CAV1 e CAV2) (Figuras 3 e 4), e seus afluentes Rio Rabagão (RAB1 e RAB2) (Figuras 5 e 6) e Rio Cabril (CABR1) (Figura 7) com a existência de zonas de distintos tipos/ usos de solo (Tabela 1). Para cada ponto de amostragem, foram colhidas amostras compostas separadamente do sedimento do rio, da zona ripária e da zona terrestre interior.



Figura 2 – Distribuição dos locais de estudo. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)



Figura 3 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo CAV1. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)



Figura 4 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo CAV2. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)



Figura 5 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo RAB1. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)



Figura 6 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo RAB2. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)



Figura 7 – Distribuição dos pontos de amostragem A, B e C no local de estudo CABR1. Imagem aérea obtida de Bing Maps (2018)

Tabela 1 – Tipos de uso de solo nos pontos de amostragem A, B e C nos vários locais de estudo ao longo dos Rios Cávado (CAV), Rabagão (RAB) e Cabril (CABR)

Local	Ponto	Uso de solo
CAV1	A	Natural
	B	Lameiro
	C	Lameiro/Pastorícia
CAV2	A	Natural
	B	Pastorícia
	C	Lameiro/Pastorícia
RAB1	A	Natural
	B	Lameiro/Pastorícia
	C	Agrícola
RAB2	A	Natural
	B	Lameiro/Pastorícia
	C	Lameiro
CABR1	A	Natural
	B	Agrícola
	C	Semi-Natural

2.1.2. Caracterização das áreas amostradas

2.1.2.1. Habitat fluvial e parâmetros físico-químicos do rio

Foi determinado o índice de habitat fluvial (IHF) que é uma métrica que avalia a diversidade de habitats e que depende da hidrologia e do tipo substrato existente (Pardo et al. 2002).

Os parâmetros físico-químicos da água do rio foram recolhidos durante a campanha pelos membros da equipa Projeto CLIMALERT, nomeadamente o Dr. Giorgio Pace e a colega Ilisa Antunes. Os valores da temperatura, pH, condutividade e, oxigénio dissolvido foram medidos *in situ* com uma sonda multiparamétrica (Multiline F/set 3 no. 400327, WTW, Weilheim, Alemanha). A quantificação da concentração de fosfatos e nitritos na água foi feita no laboratório por métodos espectrofotométricos (HACH DR/2000, Hach Company, Loveland, EUA) seguindo os procedimentos indicados pelo fornecedor.

2.1.2.2. Habitat ripário e interior e parâmetros físico-químicos do solo

O Índice de Qualidade de Habitats Ripários (QBR) visa avaliar a qualidade do bosque ribeirinho (Munné et al. 2003) e foi determinado pelo Dr. Giorgio Pace.

Para obter uma qualificação das restantes zonas interiores que permitisse uma diferenciação dos vários usos do solo (Tabela 1), foi desenhado um Índice de Habitat Interior (IHI). À zona interior de cada ponto de amostragem foi atribuída uma classificação entre 1 e 6, que denota impacto humano decrescente: “1” representa terrenos agrícolas, “2” terrenos de pastorícia, “3” terrenos de lameiro/pastorícia, “4” terrenos lameiros, “5” zonas seminaturais e “6” zonas naturais.

A extensão da zona ripária em cada ponto de amostragem foi verificada *in situ* através da medição com uma fita métrica.

Foram identificadas as espécies florísticas (possíveis) na zona ripária e interior em cada ponto de amostragem através de métodos de observação direta, utilização de plataformas de identificação taxonómica *online* com o material fotográfico recolhido nos locais de amostragem (“*PlantNet Project*”, 2019) e também com recurso a pesquisa bibliográfica (ICNF – “Espécies Arbóreas Indígenas em Portugal Continental”).

Foi determinado o pH, a humidade relativa e a matéria orgânica dos solos dos diversos pontos de amostragem através de uma adaptação de vários protocolos existentes às condições específicas das amostras em análise.

Para análise do pH, colocou-se uma porção de solo das amostras (ver ponto seguinte) em caixas de Petri destapadas à temperatura ambiente para que desidratassem. Após 48 horas foram recolhidos 10g de solo de cada amostra e colocados em copos juntamente com 20ml de água destilada. Durante uma hora agitaram-se as amostras algumas vezes e para finalizar, os valores de pH do solo foram medidas com uma sonda de pH (SERAS, 2002).

Para determinação da humidade relativa do solo, foram feitos moldes/suportes em papel de alumínio onde foram colados 30g de solo. Colocaram-se então estes conjuntos numa estufa a 80°C durante 48 horas para a eliminar toda a água nas amostras. Depois de retirar as amostras da estufa, estas foram pesadas numa balança de precisão para determinar a percentagem de humidade relativa presente em cada amostra através da diferença de peso de solo húmido e seco (O'Kelly, 2004; Kramarenko et al. 2016).

Relativamente ao teor de matéria orgânica, as amostras de solo secas provenientes da determinação de humidade relativa foram incineradas numa mufla a 500°C durante um período de 4 horas. As amostras após serem retiradas da mufla foram colocadas num exsiccador (para evitar reidratação) e então pesadas para determinar, pela diferença de peso de solo seco e incinerado, a percentagem de matéria orgânica (Kristensen and Anderson, 1987).

2.2. Amostragem e processamento de amostras

A amostragem decorreu entre dezembro de 2018 e janeiro de 2019. Para cada zona procedeu-se a uma colheita aleatória de amostras numa área representativa, que foram combinadas em amostras compostas.

Para a colheita de sedimento de rio inseriu-se um tubo de 50ml diretamente no sedimento (até uma profundidade de 2.5 a 3 cm) recolhendo-se este material, se necessário com a ajuda de uma colher. Este processo foi repetido duas ou três vezes numa área de cerca de 1 m² de forma a encher completamente o tubo de sedimento. Foram escolhidos locais junto à margem e onde a corrente fosse lenta (Hodda, 2006).

Na zona ripária e da zona interior colheu-se solo com uma pá de jardinagem (atingido uma profundidade de 10 a 12 cm); foram coletadas seis amostras afastadas entre si, sendo o solo

combinado num balde, atingindo-se uma amostra composta com cerca de 1 kg; a amostra foi misturada cuidadosamente e transferida para um saco de plástico. As amostras foram transportadas no escuro e refrigeradas para o laboratório, sendo conservadas numa câmara frigorífica a 4°C até ao seu processamento.

2.2.1. Extração de nemátodes do sedimento do rio

As amostras de sedimento do rio foram processadas no dia da colheita para fixação dos nemátodes. Adicionou-se a cada amostra 4 ml de uma solução de Formalina tamponizada concentrada a 4% (para 1L de solução: 100 ml formaldeído, 900 ml de água destilada, 4 g de NaH_2PO_4 e 6,5 g de NaHPO_4 , (Avó et al. 2017) agitou-se bem e aplicou-se parafilme nos tubos, guardando-os depois no frigorífico. A extração de nemátodes deste tipo de sedimento molhado que combina partículas finas (limos e argilas) com areia grossa do leito do rio foi realizada por processos de decantação, crivagem e centrifugação. Não havendo um protocolo padronizado para este tipo de amostra, foi necessário adaptar alguns protocolos já existentes (Southey, 1986; EPPO, 2013; Avó et al. 2017), sendo desenhado e otimizado um procedimento para a extração dos nemátodes com a colaboração da Professora Helena Adão do Departamento de Biologia da Universidade de Évora.

Começou-se então com a decantação e crivagem das amostras; depositou-se numa proveta de 1000 ml toda a amostra de cada ponto, adicionou-se água até aos 1000 ml, colocou-se parafilme e inverteu-se e agitou-se a proveta para colocar o material em suspensão. Ao devolver a proveta à posição inicial, o material de maior granulometria deposita rapidamente, sendo o material em suspensão recolhido para um crivo de 20 μm . Este procedimento repetiu-se entre 4 a 6 vezes, dependendo das características do sedimento, até se obter uma suspensão limpa. O conteúdo presente no crivo combinando todas as crivagens foi retirado, com auxílio de um esguicho, e colocado num tubo de 50 ml de capacidade.

Numa primeira fase, ainda pré-centrifugação, foram pesados os tubos, perfazendo seguidamente o peso de todos os tubos até um mesmo valor, com adição de suficiente volume de água, para manter o equilíbrio do rotor da centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5804 R).

Realizou-se então a primeira centrifugação a 1800 g a 20°C durante 10 minutos (estas características vão-se manter para todas as centrifugações realizadas em seguida); finalizada a primeira centrifugação retirou-se toda a água dos tubos e adicionou-se uma solução de Ludox a

60% até cerca dos 15 ml; voltaram-se a pesar os tubos e para ajustar os pesos recorreu-se à adição da solução de Ludox. Os tubos foram agitados/invertidos entre todas as centrifugações. Após a segunda centrifugação, foi recolhida a fase superior para tubos limpos, adicionando-se novamente a solução de Ludox aos tubos de amostra e repetindo-se todo o processo mais três vezes (cinco centrifugações no total). As fases sobrenadantes foram sendo combinadas, sendo no final passadas através de um crivo de 20 µm e bem lavadas com água para retirar o Ludox e restos de sedimento que ainda pudessem conter (Figura 8). Finalizados todos os procedimentos as amostras foram guardadas no frigorífico e observadas logo que possível.

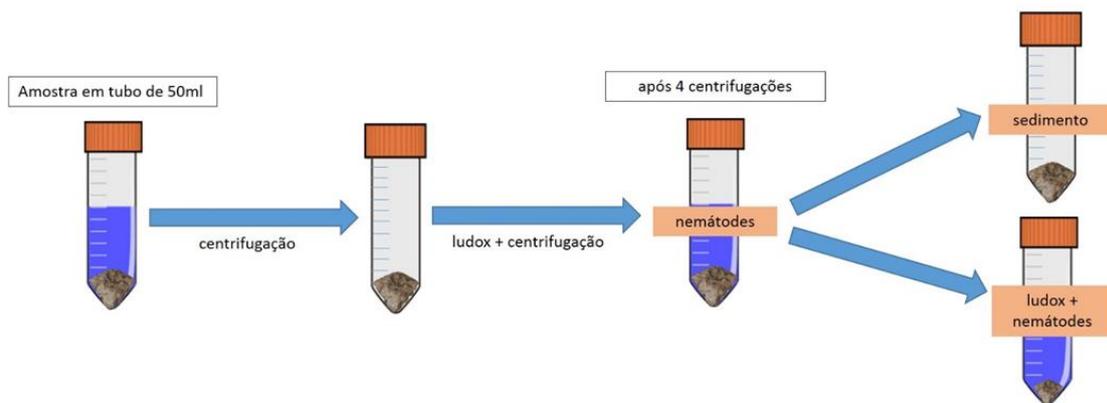


Figura 8 – Esquema representativo do processo de extração de nemátodes das amostras de sedimento de rio por centrifugação

2.2.2. Extração de nemátodes do solo

Para extrair os nemátodes presentes nas amostras de solo provenientes da zona ripária e zona interior recorreu-se ao método do tabuleiro (Whitehead & Hemming, 1965), para facultar a extração de uma grande diversidade de nemátodes móveis do solo (Coyne et al. 2007). Este processo divide-se em duas partes distintas e começou com a colocação de uma rede dentro de um tabuleiro sobre a qual foi colocado um papel tissue de fina espessura para que os nemátodes consigam ultrapassar o papel e se depositem na água. Em seguida foi colocado 100 ml de solo em cima do papel e depois encheu-se lentamente o tabuleiro com água para inundar o solo. Para finalizar a primeira fase cobriu-se o tabuleiro para evitar a perdas de água por evaporação.

Cerca de 72 horas depois, realizou-se a segunda parte do processo que consistiu na remoção do sistema rede-papel-solo e na recolha da suspensão de nemátodes para um tubo de

50 ml. Para recolher os nemátodes passou-se a suspensão por um crivo de 20 µm e coletaram-se as suspensões de organismos para tubos, que ficaram a repousar no frigorífico até à sua observação.

2.3. Identificação e contagem dos nemátodes

A observação dos nemátodes foi feita ao microscópio invertido (Olympus M 021) com recurso a ampliações entre as 50-200x.

A identificação taxonómica dos nemátodes foi realizada para os primeiros 150 nemátodes de cada amostra até à família com auxílio da chave dicotómica de Ferris (2011) e de Goodey (1951), encontrando-se assim as proporções das várias famílias na amostra. Os restantes nemátodes presentes foram apenas contabilizados para cálculo da abundância estimada de cada família.

2.3.1. Análise da abundância de famílias de nemátodes

Foi utilizado o *software* R (versão 3.6.2, R Development Core Team, 2019), por via do ambiente do desenvolvimento integrado, Rstudio (versão 1.2.5033).

Utilizaram-se as bibliotecas “*ggplot2*” (Wichkam, 2016), “*cowplot*” (Wilke, 2019), “*mvabund*” (Wang et al. 2019), “*agricolae*” (Mendiburu, 2019), “*drc*” (Ritz et al. 2015) e “*aplyr*” (Wichkam et al. 2019), sendo feitos vários gráficos que apresentam o número de nemátodes em função das suas famílias presentes em cada tipo de substrato (solo ou sedimento do rio), por local e por ponto, por rio e na totalidade dos pontos.

2.3.2. Escala multidimensional não métrica

A ordenação da comunidade de nemátodes foi feita através de uma análise de escala multidimensional não métrica (nMDS - *non-metric Multidimensional Scaling*) com a finalidade mostrar a (dis)similaridade entre as comunidades biológicas das amostras (Buttigieg & Ramette, 2014). Esta análise foi realizada no *software* PAST (Hammer et al. 2001), usando uma matriz de dissimilaridade com base no índice de Bray-Curtis.

2.3.3. Análise de Correspondência Canônica

Foi realizada uma Análise de Correspondência Canônica (CCA - *Canonical Correspondence Analysis*) para determinar a influência dos fatores abióticos na distribuição das comunidades biológicas (ter Braak 1986; ter Braak & Verdonschot, 1995). Foram realizadas CCAs para o sedimento de rio, zona ripária e zona interior, sendo relacionados os fatores abióticos com a abundância das famílias de nemátodes presentes em cada amostra.

Devido a existência de muitos valores “0” e também para uma melhor análise dos resultados, os dados foram transformados. Todos os que consistiam de contagens, como a abundância das famílias de nemátodes, foi-lhes adicionada a função $\log_{10}(x+1)$; os que eram representados por via percentual, como o Índice de Estrutura e Índice de Enriquecimento, foram transformados segundo a função $\text{asin}(\text{sqrt}(x/100))$. Variáveis como o pH não sofreram alterações uma vez que os seus valores já derivam de uma transformação da concentração de íões H⁺.

2.3.4. Índices ecológicos das comunidades de nemátodes

Recorreu-se ao *software* online NINJA (Nematode INdicator Joint Analysis) (Sieriebriennikov et al. 2014) para a obtenção dos índices ecológicos e pegadas metabólicas, recorrendo à atribuição de grupos funcionais (grupos tróficos e estratégia colonizador-persistente) e a valores de biomassa tabelados para as diferentes famílias de nemátodes. Foi assim obtido o Índice de Enriquecimento (EI) e o Índice de Estrutura (SI). O Índice de Enriquecimento é calculado segundo a fórmula,

$$EI = 100 \times \frac{e}{e + b}$$

sendo que “e” corresponde à abundância de nemátodes BF cp 1 e FF cp 2 que indicam enriquecimento e “b” diz respeito à abundância de nemátodes de condição basal, isto é, nemátodes de vida livre do grupo cp 2. O Índice de Estrutura é calculado através da fórmula,

$$SI = 100 \times \frac{s}{s + b}$$

em que “b” representa o mesmo que no EI e “s” representa a abundância de todos os nemátodes dos grupos cp 3-5, indicadores de estrutura (Ferris et al. 2001; Neher et al. 2004).

Para realizar a visualização dos dados foi utilizado o programa R (com o auxílio do Microsoft Excel), construindo perfis faunísticos que combinam a representação gráfica do EI e do SI.

2.3.5. Pegadas metabólicas dos nemátodes

A partir do *software* NINJA foram obtidos os valores das pegadas metabólicas de enriquecimento, estrutura e de cada um dos grupos tróficos de nemátodes. As pegadas metabólicas expandem a informação dos índices ecológicos e da abundância dos grupos funcionais de nemátodes, ao incluir a sua biomassa e taxas biológicas. Encontra-se assim, mais do que uma proporção ou quantificação, uma estimativa da sua atividade metabólica, com impacto direto nas funções que desempenham. As pegadas metabólicas são calculadas através da fórmula genérica,

$$F = \sum (N_t(0.1(W_t/ m_t) + 0.273(W_t^{0.75})))$$

onde “ N_t ” representa o número de indivíduos em consideração, “ W_t ” diz respeito à biomassa contida nos organismos e “ m_t ” revela a classificação “cp” pertencente a cada grupo (Ferris, 2010).

Com recurso ao Microsoft Excel foram executados gráficos em radar que combinam numa visão geral as pegadas metabólicas de diferentes grupos da comunidades de nemátodes presentes em todos os pontos de amostragem.

3. Resultados

3.1. Habitat fluvial e parâmetros físico-químicos do rio

Os dados referentes aos valores do pH, temperatura, condutividade, oxigénio dissolvido, presença de fosfatos, nitritos e do Índice de Habitat Fluvial dos vários locais observados são apresentados na Tabela 2.

O Índice de Habitat Fluvial, que varia entre 0 e 100, avalia a diversidade de habitats fluviais nos vários pontos de amostragem, sendo o valor mais alto obtido em CAV2 A com 70 contrastando com RAB2 B com 39. Com exceção do local de amostragem CABR1, o valor do IHF foi menor na zona de impacto.

No que toca aos valores de pH, os locais de amostragem do Rio Rabagão apresentam valores mais ácidos, sendo que o valor mínimo registado foi de 5.9 no rio adjacente à zona agrícola do ponto de amostragem RAB1 C enquanto que os valores mais altos foram assinalados no Rio Cávado, atingindo o seu máximo em CAV2 B com 7,23. O local de amostragem no Rio Cabril apresentou os valores intermédios de pH.

As temperaturas da água foi mais baixas foram assinaladas nos locais de estudo ao longo do rio Cávado (mínima de 7,2°C) enquanto que os valores máximos foram registados em CABR1, sendo a temperatura máxima de 9,4°C atingida no rio adjacente à zona agrícola do ponto de amostragem CABR1 B. Os valores de condutividade elétrica, muito próximos nos vários pontos de amostragem dentro de cada local de estudo, foram mais baixos no local CABR1 e mais elevados no local RAB1. Nestes dois locais foram detetados os valores mais altos e mais baixos de oxigénio dissolvido, respetivamente.

A presença máxima de fosfatos e nitritos foi detetada no rio adjacente à zona natural do ponto de amostragem CABR1 A, com 0,11 e 0,0990ppm, respetivamente. Não foram detetados fosfatos ou nitritos em vários locais.

Tabela 2 – Valores de pH, temperatura, condutividade, oxigênio dissolvido, concentração de fosfatos e nitritos e do habitat fluvial nos pontos de amostragem nomeadamente a montante (A), em ponto com potencial impacto decorrentes da atividade agrícola ou pecuária (B) e a jusante (C) no rio Cávado (CAV1 e CAV2), no rio Rabagão (RAB1, RAB2) e no rio Cabril (CABR1)

Local	Ponto	pH	Temperatura (°C)	Condutividade [(Ωm)-1]	OD (ppm)	PO4 (ppm)	NO2 (ppm)	IHF
CAV1	A	6,61	7,3	35	10,61	0,06	0,0330	54
	B	6,77	7,2	35	10,60	-	-	47
	C	6,67	7,2	35	10,40	0,04	0,0132	62
CAV2	A	6,95	7,3	29	10,16	0,04	0,0297	70
	B	7,23	7,2	29	10,47	0,06	0,0297	49
	C	6,85	7,2	29	10,21	-	-	55
RAB1	A	6,20	8,3	37	7,80	-	-	46
	B	6,13	7,9	38	8,98	0	0,0264	44
	C	5,90	7,7	38	9,50	-	-	57
RAB2	A	6,60	8,4	25	10,62	0,01	0,0264	62
	B	6,48	8,8	23	10,15	0,01	0,0297	39
	C	6,50	8,6	23	10,45	0,02	0,0297	53
CABR1	A	6,71	9,2	21	11,50	0,11	0,0990	57
	B	7,17	9,4	21	11,30	0,02	0,0363	68
	C	6,91	8,9	22	11,74	0,04	0,0330	68

3.2. Habitat ripário e interior e parâmetros físico-químicos do solo

Na Tabela 3, são apresentados os valores das extensões mínimas e máximas da zona ripária dos vários pontos de amostragem, que apresentam uma grande variação, entre 0 e 24 metros. As espécies florísticas identificadas em todas as zonas ripárias e interiores são apresentadas na Tabela A1. A presença de gramíneas e plantas arbustivas é comum a praticamente todos os pontos, sendo de realçar que não foram avistadas espécies exóticas ou invasoras comuns em Portugal continental como o Eucalipto (*Eucalyptus globulus*) ou a Mimosa (*Acacia dealbata*).

No Índice de Qualidade de Habitats Ripários os pontos com menores valores são CAV2 B, RAB2 B e RAB2 C com 15 pontos e no vértice oposto encontra-se o ponto CAV2 A que apresenta o valor superior assim como o máximo, 100 pontos.

Os dados referentes aos valores do pH, humidade relativa, presença de matéria orgânica, Índice de Qualidade de Bosques Ripários e Índice de Habitat Interior são apresentados na Tabela 4.

Quanto aos valores de pH na zona ripária o ponto onde se registou o valor mínimo registado foi em CAV1 A com 4,51 e o máximo em foi detetado em no ponto RAB1 C com 5,92. Nas zonas interiores os pontos CAV1 A e RAB1 A, ambos terrenos naturais, apresentaram o valor mais baixo e mais alto com 3,96 e 5,94, respetivamente.

A humidade relativa nas zonas ripárias atingiu o seu valor mais baixo no ponto CABR1 C com 10,66% enquanto que em RAB1 A, com 54,62%, encontra-se o ponto com o maior superior. Nas zonas interiores, a zona agrícola do ponto CABR1 B é a que possui um menor quantidade de humidade com 9,17% e o ponto natural RAB1 A é o que exhibe maior valor, com 47,36%.

No que toca à matéria orgânica nas zonas ripárias o ponto RAB1 A é o que expõe menor valor com 11,14% e inversamente encontra-se o ponto CAV2 C, com o valor superior de humidade na zona ripária, 33,57%. Nas zonas interiores o ponto de terreno natural RAB2 A, com 7,23%, é o que assume o valor mais baixo enquanto que o ponto RAB1 C, zona agrícola, é onde se verifica valores superiores de matéria orgânica no solo com 32,02%.

Para o Índice de Habitat Interior o valor mínimo, 1, foi atribuído às zonas agrícolas presentes nos pontos RAB1 C e CABR1 B e o valor superior, 6, diz respeito às zonas naturais encontradas nos pontos CAV1 A, CAV2 A, RAB1 A, RAB2 A e CABR1 A.

Tabela 3 – Valores da extensão mínima e máxima das zonas ripárias nos pontos de amostragem a montante (A), em zona com potencial impacto decorrentes da atividade agrícola ou pecuária (B) e jusante (C) no rio Cávado (CAV1 e CAV2), rio Rabagão (RAB1, RAB2) e rio Cabril (CABR1)

Local	Ponto	Extensão mínima (m)	Extensão máxima (m)
CAV1	A	-	5
	B	10	24
	C	-	1
CAV2	A	1	4
	B	-	1
	C	-	24
RAB1	A	-	4
	B	-	5,5
	C	2	4,5
RAB2	A	0,5	2
	B	9	10
	C	0,5	1
CABR1	A	-	4
	B	-	1
	C	-	3

Tabela 4 – Valores de pH, humidade relativa, matéria orgânica, QBR e IHI na zona ripária e interior nomeadamente a montante (A), em ponto com potencial impacto decorrentes da atividade agrícola ou pecuária (B) e a jusante (C) no rio Cávado (CAV1 e CAV2), no rio Rabagão (RAB1, RAB2) e no rio Cabril (CABR1)

Local	Ponto	pH		Humidade relativa (%)		Matéria Orgânica (%)		QBR	IHI
		Zona Ripária	Zona Interior	Zona Ripária	Zona Interior	Zona Ripária	Zona Interior		
CAV1	A	4,51	3,96	32,75	25,76	29,47	14,11	65	6
	B	4,59	4,07	17,46	37,76	29,58	14,94	45	4
	C	4,52	4,02	25,75	35,66	19,51	13,25	60	3
CAV2	A	5,80	5,89	18,42	26,74	29,51	22,64	100	6
	B	5,82	5,82	32,59	30,84	18,46	16,85	15	2
	C	5,77	5,86	20,55	22,78	33,57	23,33	45	3
RAB1	A	5,91	5,94	54,62	47,36	11,14	15,43	85	6
	B	5,89	5,90	26,07	37,65	14,52	12,44	35	3
	C	5,92	5,92	34,75	36,18	16,28	32,02	55	1
RAB2	A	5,46	5,72	25,14	34,42	11,62	7,26	45	6
	B	5,50	5,77	14,81	17,98	26,56	25,59	15	3
	C	5,51	5,79	27,78	46,44	14,12	12,99	15	4
CABR1	A	5,81	5,91	10,71	21,06	21,85	17,52	85	6
	B	5,83	5,90	12,87	9,17	27,73	31,44	30	1
	C	5,87	5,88	10,66	10,21	26,00	25,96	20	5

3.3. Análise das comunidades de nemátodes

Das comunidades de nemátodes presentes no total nos 5 locais de estudo (rio Cávado (CAV1 e CAV2), rio Rabagão (RAB1, RAB2) e rio Cabril (CABR1) cada uma com três pontos de amostragem (A, B, C), foram ao todo contabilizados 10514 nemátodes, identificando-se 4838 indivíduos pertencentes a 17 famílias. Dentro destas, encontram-se 9 famílias de nemátodes bacterívoros (Alaimidae, Bastianiidae, Bunonematidae, Cephalobidae, Diplogasteridae, Monhysteridae, Plectidae, Pristomatolaimidae e Rhabditidae), uma de nemátodes fungívoros (Aphelenchidae), quatro de nemátodes herbívoros/parasitas de plantas (Criconematidae, Longidoridae, Trichodoridae e Tylenchidae), duas de nemátodes omnívoros (Aporcelaimidae e Thornenematidae) e uma de nemátodes predadores (Mononchidae).

3.3.1. Abundância de famílias de nemátodes

Considerando o conjunto total dos pontos de amostragem, as famílias de nemátodes bacterívoros foram as mais prevalentes, estando as famílias Alaimidae, Bastianiidae, Cephalobidae, Monhysteridae, Pristomatolaimidae, Rhabditidae assim como a família de nemátodes omnívoros Thornenematidae, representadas em todos os 8 tipos de habitats, registrando-se a Alaimidae como a família mais abundante. A família de nemátodes bacterívoros Plectidae foi encontrada num menor número de habitats, apenas em 3 dos 8 existentes, todavia foi a família Bunonematidae, também de nemátodes bacterívoros, a menos abundante (Figura 9).

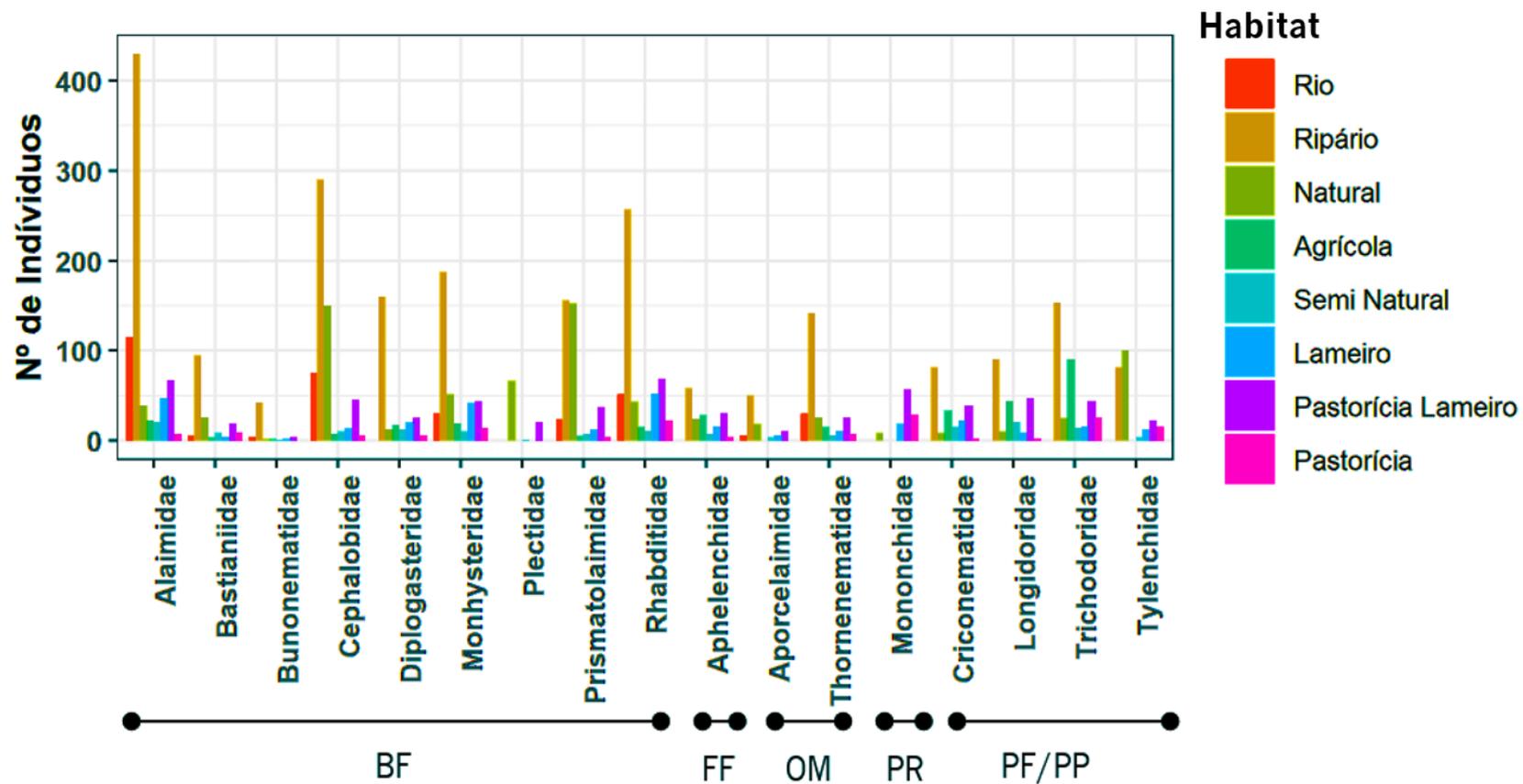


Figura 9 – Número de nemátodos identificados de cada família e respetivo grupo trófico habitat na totalidade dos pontos de amostragem, CAV1, CAV2, RAB1, RAB2 e CABR1 (por um volume de amostra de 30ml no sedimento de rio e 100ml nos solos)

3.3.2. Influência do habitat nas Comunidades de nemátodes

O resultado proveniente da nMDS revelou a existência de diferenças significativas entre as comunidades de nemátodos do sistema de rio e dos sistemas de solo (ripário ou interior), como se pode observar através das agrupações de pontos nas elipses (Figura 10). Assim, considerou-se haver diferenças marcadas na estrutura das comunidades de nemátodos entre as zonas amostradas, pelo que foram realizadas análises de correspondência canónica (CCA) separadamente para cada uma das zonas (rio, ripária ou interior) e assim podermos discriminar os fatores abióticos que melhor explicaram a distribuição das comunidades em cada uma das zonas amostradas (secção seguinte).

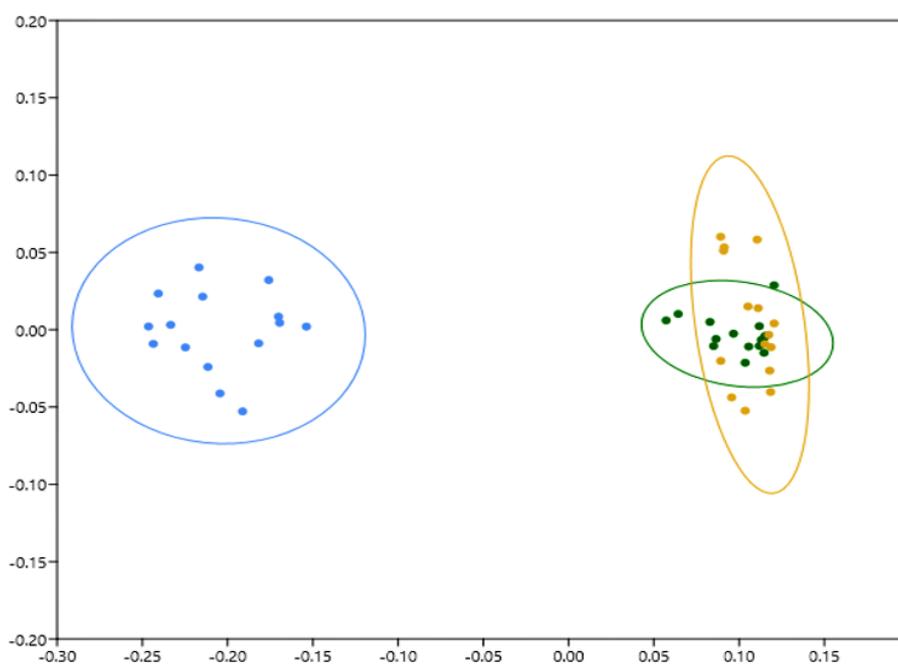


Figura 10 – Análise escala multidimensional não métrica das comunidades de nemátodos por abundância de famílias nas amostras, evidenciando-se os agrupamentos por zona amostrada (azul – rio, verde – zona ripária, amarelo – zona interior)

3.3.3. Influência de fatores abióticos na comunidade de nemátodes

Na CCA relacionando os fatores abióticos aquáticos e de habitat fluvial com a abundância das famílias de nemátodos coletadas no sedimento de rio não foram encontradas associações significativas (Figura 11). O primeiro eixo, representando cerca de 33% da variância, divide dois grandes grupos de nemátodos: i) as famílias dos nemátodos bacterívoros oportunistas de

enriquecimento Bunonematidae e Rhabditidae (ambos cp1), bem como os Monhysteridae (cp2) que tendencialmente se associam a maiores valores de condutividade; e ii) as famílias de nemátodes omnívoros Thornenematidae e Aporcelaimidae, ambas de nemátodes persistentes cp5, provavelmente associados a condições de maior temperatura e pH da água (Fig. 11 A). A família mais abundante, Alaimidae, de nemátodes bacterívoros, cp4, localiza-se perto da intersecção dos eixos, logo, provavelmente, não foi afetada especificamente por nenhum dos fatores abióticos analisados. O eixo 2, explicando 30 % da variância, faz transparecer uma relação entre a distribuição dos nemátodes bacterívoros Pristomatidae e Bunonematidae com os níveis de nutrientes na água e inversamente com o Índice de Habitat Fluvial (IHF). De facto, as associações descritas não são significativas; a composição das comunidades de nemátodes poderá estar relacionada com outros fatores, tais como os rios de origem, que também aparecem divididos na CCA (Fig. 11 B).

A CCA relacionando o Índice de Qualidade de Habitats Ripários (QBR) e os fatores abióticos de solo com as famílias de nemátodes recolhidas na zona ripária é apresentada na Figura 12. O eixo 1, explicando 85% da variância divide nemátodes fungívoros Aphelenchidae e nemátodes parasitas de plantas Tylenchidae (ambos cp 2) e ainda os nemátodes bacterívoros Diplogasteridae (cp 1), que se associam com pH do solo mais elevado, das famílias de nemátodes omnívoros Aporcelaimidae e Thornenematidae (ambos cp 5), bem como os nemátodes bacterívoros menos numerosos Bunonematidae, que se associam a um valor de QBR mais elevado; as restantes famílias de nemátodes parasitas de plantas não parecem associar-se a nenhum dos vetores da análise ($p < 0.05$). O eixo 2, explicando cerca de 8% da variância, não apresentou associações significativas, pelo que é apresentado o eixo 3, apesar de explicar apenas 6% da variância apresenta associações com valores significativos, e divide as famílias de nemátodes associadas a um maior teor de matéria orgânica daquelas que se associam a um pH mais elevado e maior humidade do solo (Fig. 12 A). Poderá ainda ser relatada uma tendência para uma maior percentagem de matéria orgânica e complexidade do habitat (QBR) em zonas ripárias onde a zona interior é natural ou de lameiro/pastorícia, sendo o inverso verificado para zonas agrícolas (Fig. 12 B).

Na Figura 13 é apresentada a CCA relacionando os fatores abióticos de solo e o índice de habitat interior com a abundância das famílias de nemátodes das zonas interiores dos pontos de amostragem. O eixo 1, explicando 75,7% da variância, divide os efeitos do conteúdo do solo em matéria orgânica dos efeitos das variáveis ambientais humidade relativa e Índice Habitat

Interior (IHI) na comunidade de nemátodes ($p < 0.05$). Assim, parece haver uma associação dos nemátodes fungívoros Aphelenchidae e dos nemátodes parasitas de plantas Cricematidae, Longidoridae e Trichodoridae a um conteúdo mais elevado de matéria orgânica do solo (Fig. 13 A), que poderá ser relacionado sobretudo com uso agrícola mas também todos os restantes usos do solo, com a exceção dos habitats naturais (Fig. 13 B). Para este último tipo de habitat, os vetores de humidade e de IHI revelam associações entre um maior teor de água no solo e um menor impacto humano nas várias famílias de nemátodes, que incluem os nemátodes bacterívoros Bastianiidae, Cephalobidae, Plectidae e Pristomatidae, bem como os nemátodes omnívoros Aporcelaimidae. A abundância dos nemátodes predadores da família Mononchidae estarão relacionados com pH mais elevado do solo, um vetor associado ao eixo 2, que explica, não significativamente, cerca de 15% da variação.

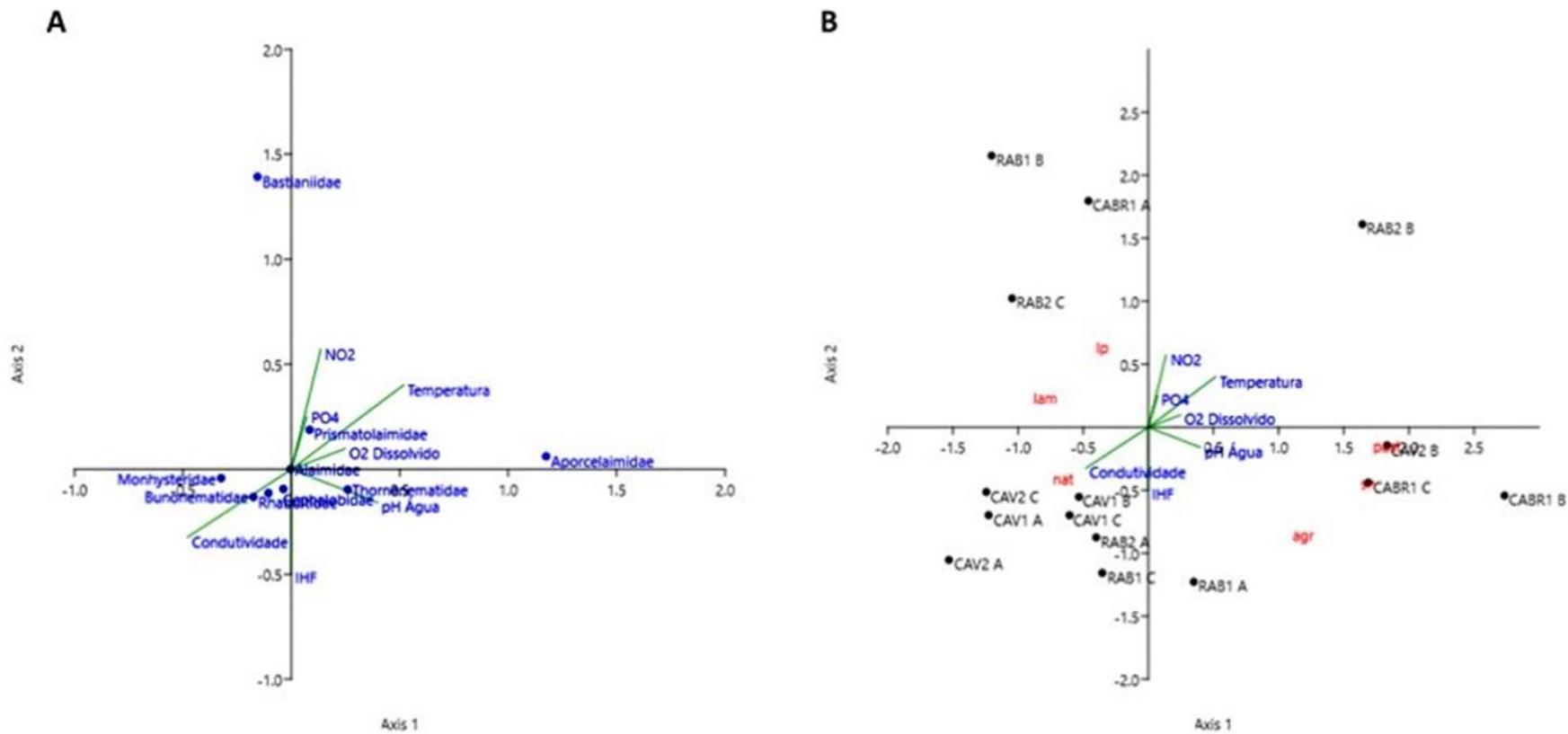


Figura 11 – Análise de correspondência canônica entre os fatores abióticos e os índices ecológicos das comunidades de nemátodes no sedimento de rio (eixo 1, eigenvalue = 0,0618, $p = 0,74$; eixo 2, eigenvalue = 0,0569, $p = 0,117$); A – relação da abundância das famílias de nemátodes com os fatores abióticos; B – relação dos locais e pontos de amostragem com os habitats da zona interior e os fatores abióticos (agr – agrícola; lam- lameiro; lp – lameito/pastorícia; nat – natural; past – pastorícia; sn – semi-natural)

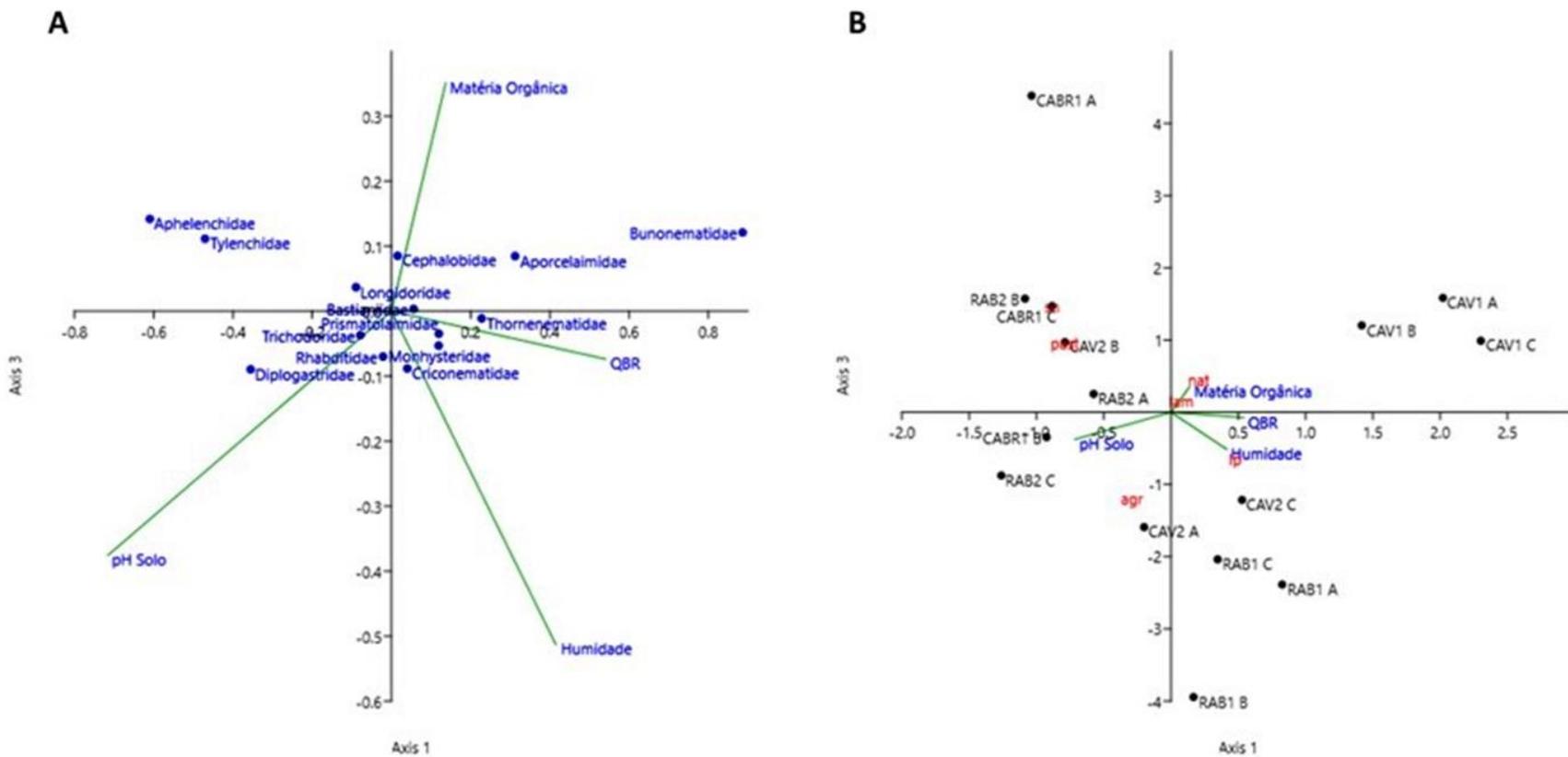


Figura 12 – Análise de correspondência canônica entre os fatores abióticos e os índices ecológicos das comunidades de nemátodes na zona ripária (eixo 1, eigenvalue = 0,0747, $p < 0,001$; eixo 3, eigenvalue = 0,00524, $p = 0,04$); A – relação da abundância das famílias de nemátodes com os fatores abióticos; B – relação entre os locais e pontos de amostragem com os habitats da zona interior e os fatores abióticos (agr – agrícola; lam- lameiro; lp – lameito/pastorícia; nat – natural; past – pastorícia; sn – semi-natural)

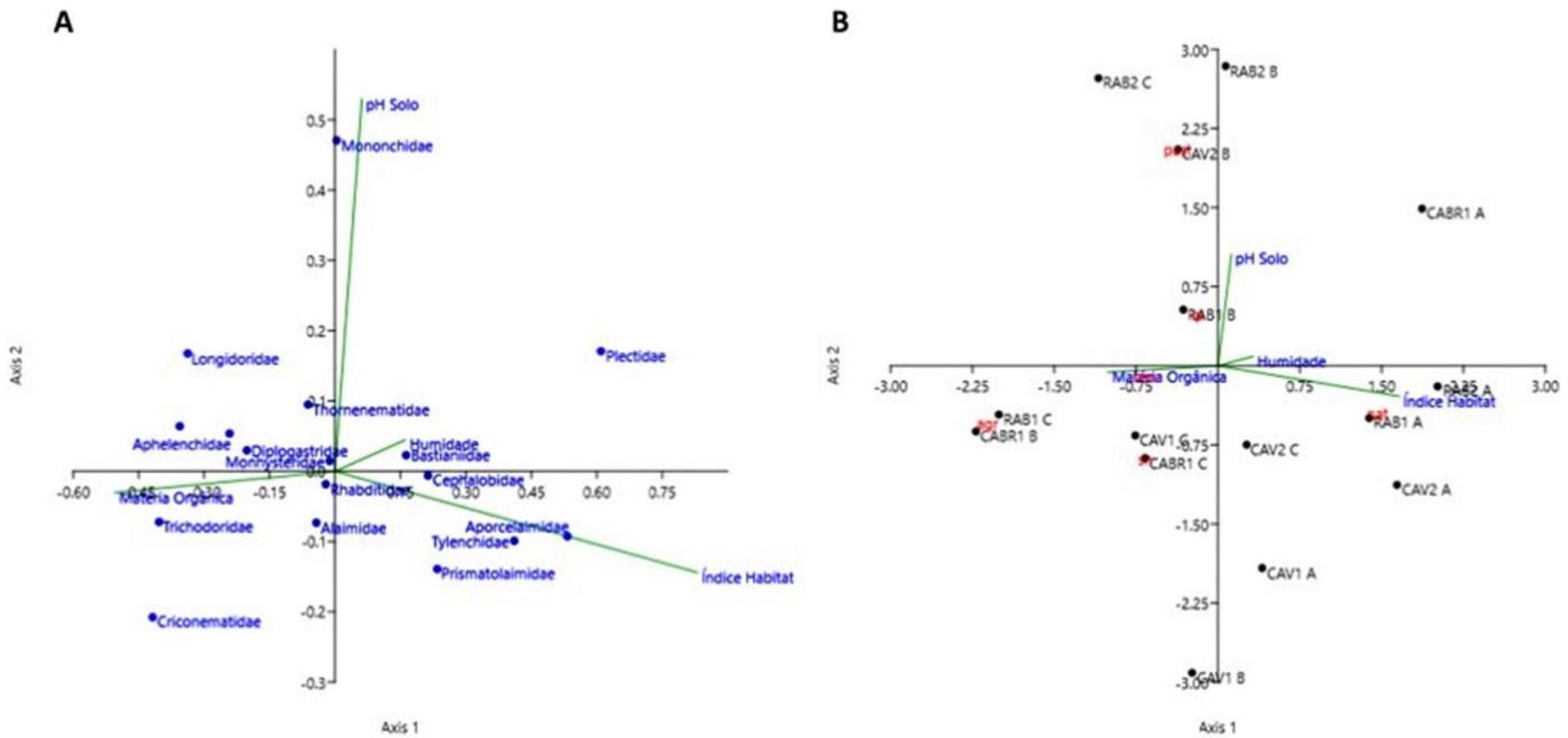


Figura 13 – Análise de correspondência canônica entre os fatores abióticos e os índices ecológicos das comunidades de nemátodes na zona interior (eixo 1, eigenvalue = 0,0804, $p < 0,01$; eixo 2, eigenvalue = 0,0159, $p = 0,559$); A – relação da abundância das famílias de nemátodes com os fatores abióticos; B – relação dos locais e pontos de amostragem com os habitats da zona interior e os fatores abióticos (agr – agrícola; lam- lameiro; lp – lameito/pastorícia; nat – natural; past – pastorícia; sn – semi-natural)

3.3.4. Análise dos perfis faunísticos

A interpretação dos perfis faunísticos foi feita considerando a gradação entre o sistema terrestre e o sistema de água doce, isto é, analisando a trajetória zona interior-zona ripária-rio. No local CAV1 (Figura 14) verificámos pouca variação do ponto definido pelos valores de EI e SI, do solo da zona ripária, que se mantém praticamente inalterado nos três pontos, A, B e C, ou seja, a montante, a jusante e na zona de impacto humano (neste local de estudo, um lameiro), sendo importante referir que a zona interior no ponto C é um terreno lameiro/pastorícia. A zona interior foi a que apresentou as maiores flutuações nos seus perfis faunísticos, mas ainda assim todas as amostragens se situavam no 2º quadrante destes perfis. A montante do impacto verificou-se um aumento da complexidade da rede trófica (SI) e do enriquecimento em nutrientes (EI) da zona natural interior para a zona ripária, que não se refletiu no sedimento do rio (Fig. 14, CAV1 A). O lameiro foi onde as comunidades de nemátodes revelaram um maior enriquecimento em nutrientes, que se foi reduzindo na progressão terra-rio (Fig. 14, CAV1 B). Este mesmo padrão foi mantido a jusante do impacto, sendo de realçar que, em CAV1 C, a zona em que a rede trófica do solo apresentava maior estrutura era a zona ripária (Fig. 14 CAV1 C).

Em CAV2 (Figura 15) pode-se observar, novamente, a maior estabilidade da zona ripária comparativamente com o sedimento de rio e a zona interior, uma vez que esta mantém os valores de enriquecimento e estrutura quase sem alterações ao longo dos três pontos A, B e C. O sedimento de rio e a zona interior apresentavam variações entre os pontos amostrados. A montante do impacto os valores dos índices de EI e SI do sedimento de rio localizam-no no 2º quadrante e a zona interior, representada por um terreno natural, enquadra-se no 3º quadrante (Fig. 15, CAV2 A). Na zona de impacto verificou-se um aumento do enriquecimento em nutrientes no terreno de pastorícia pertencente à zona interior e uma diminuição destes valores no sedimento de rio (Fig. 15, CAV2 B); já a jusante do impacto observa-se a situação inversa onde o sedimento de rio teve um aumento no seu teor em nutrientes e a zona interior, lameiro/pastorícia, exibe uma diminuição do seu enriquecimento assim como da complexidade da sua rede trófica (Fig. 15, CAV2 C).

No local RAB1 (Figura 16) os nemátodes presentes conservam os valores dos índices de enriquecimento e a estrutura na zona ripária assim como no sedimento de rio ao longo dos pontos de amostragem, A, B e C. Neste local de estudo, a zona interior, terreno natural, a comunidade de nemátodes está associada ao 2º quadrante do perfil faunístico, em transição para o 3º quadrante (Fig. 16, RAB1 A). Na trajetória para o ponto RAB1 B, a zona interior representada por

um terreno lameiro/pastorícia aumentou os seus valores de nutrientes e de complexidade (Fig. 16, RAB1 B), mantendo-se praticamente inalterados no terreno agrícola em RAB1 C (Fig. 16, RAB1 C).

Em RAB2 (Figura 17) as zonas ripárias continuam estáveis, apesar da existência de uma ligeira oscilação entre os três pontos de amostragem A, B e C em comparação a estabilidade desta zona nos pontos dos locais anteriores. No ponto RAB2 A, a jusante da zona de impacto humano, a comunidade de nemátodes da zona interior de terreno natural apresenta-se no 3º quadrante, com boa complexidade da rede trófica enquanto que o sedimento de rio exhibe maior quantidade de nutrientes (Fig. 17, RAB2 A). Na zona de impacto humano, associado a um terreno lameiro/pastorícia, tanto na zona interior como no sedimento de rio houve um aumento dos valores dos índices de enriquecimento e estrutura situando-se todos no 2º quadrante (Fig. 17, RAB2 B). Já a jusante da zona de impacto, no ponto RAB2 C, apesar de os perfis faunísticos do sedimento de rio e a zona interior, neste caso um terreno lameiro, continuarem no 2º quadrante, as comunidades de nemátodes indicam uma recuperação do impacto devido à redução do enriquecimento em nutrientes (Fig. 17, RAB2 C).

No local CABR1 (Figura 18) encontra-se uma maior entropia entre zonas (sedimento de rio, zona ripária e zona interior) e entre pontos de amostragem (A, B e C) em comparação com os locais anteriores. Apesar destas variações, a zona ripária assume-se, igualmente, como a mais estável. A jusante da zona de impacto, tanto no sedimento de rio como na zona interior natural, os pontos do perfil faunístico situam-se no 3º quadrante (Fig. 18, CABR1 A). Na zona de impacto humano, corresponde a um campo agrícola, ocorre um aumento significativo dos valores de enriquecimento de nutrientes e da estrutura da rede trófica tanto no sedimento de rio como na zona interior (Fig. 18, CABR1 B). A jusante, a zona interior, que é representada por um terreno semi-natural, continua a apresentar altos valores de nutrientes enquanto o sedimento de rio baixou os níveis destes voltando a situar-se no 3º quadrante (Fig. 18, CABR1 C).

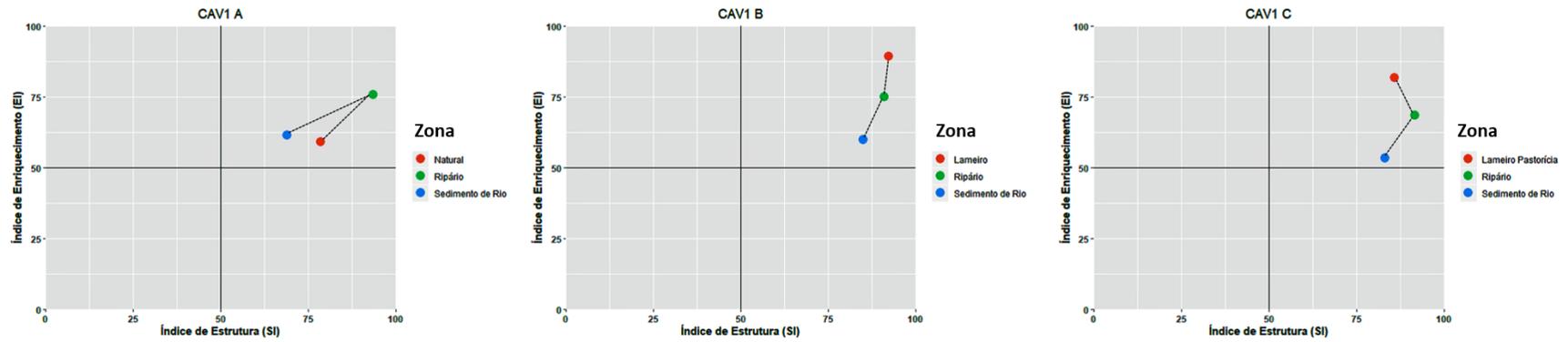


Figura 14 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local CAV1, nos pontos de amostragem CAV1 A, CAV1 B e CAV1 C

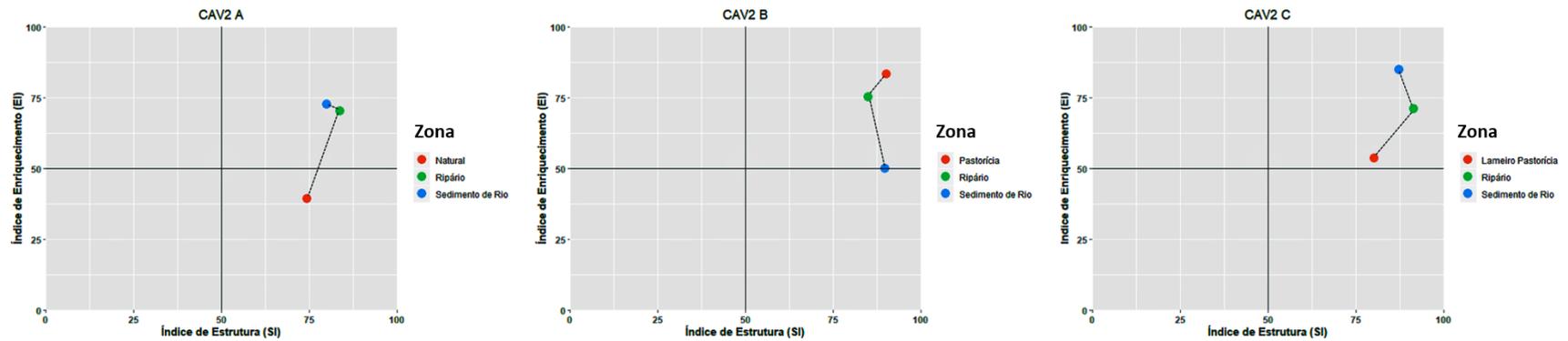


Figura 15 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local CAV2, nos pontos de amostragem CAV2 A, CAV2 B e CAV2 C

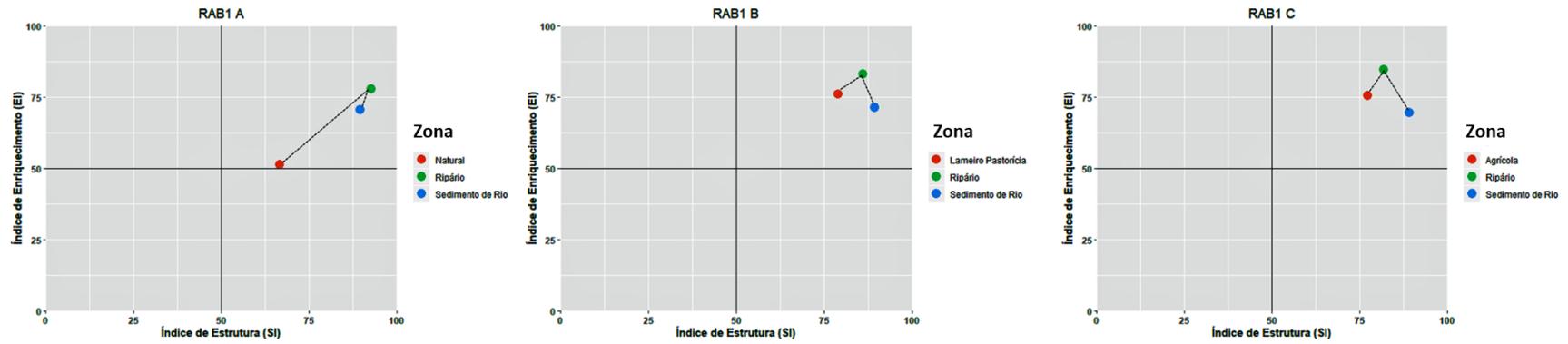


Figura 16 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local RAB1, nos pontos de amostragem RAB1 A, RAB1 B e RAB1 C

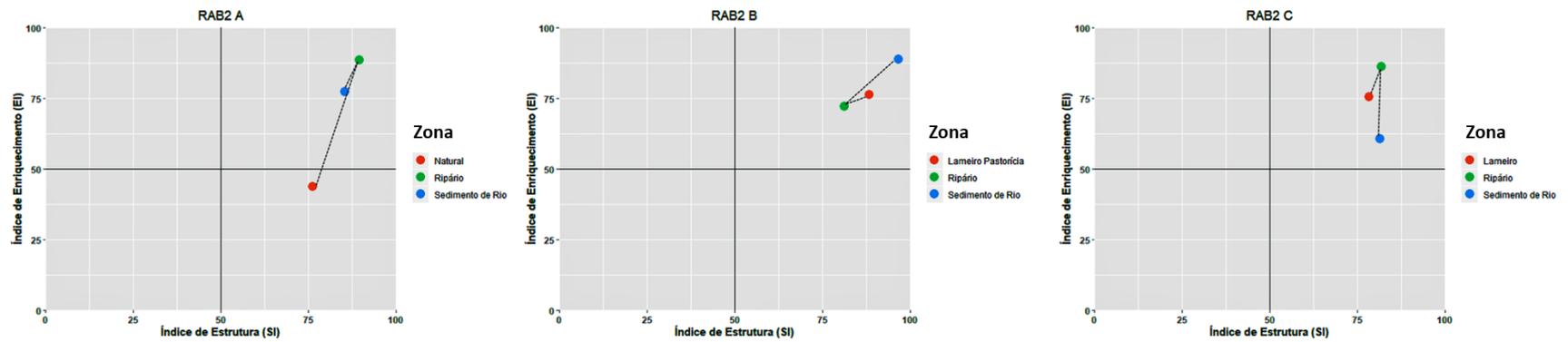


Figura 17 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do local RAB2, nos pontos de amostragem RAB2 A, RAB2 B e RAB2 C

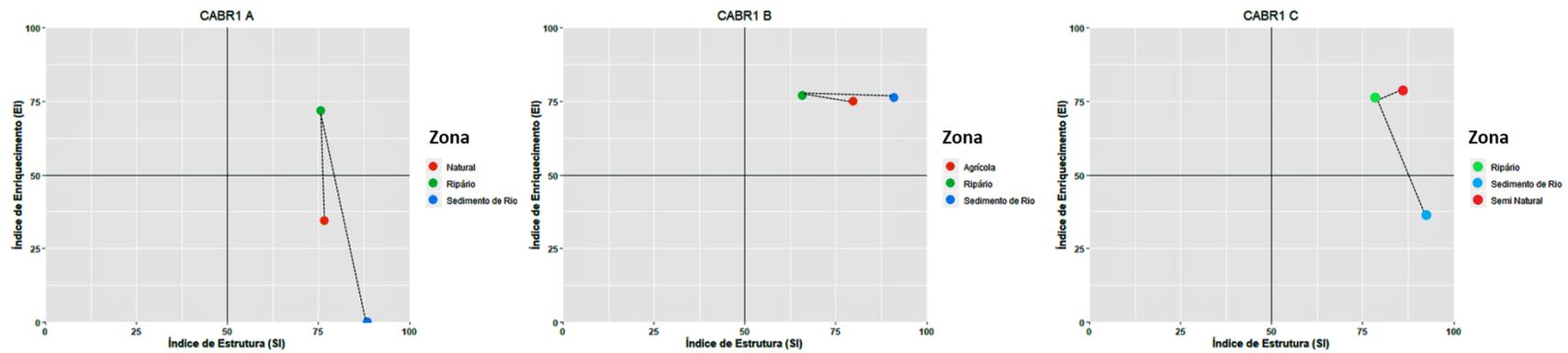


Figura 18 – Perfis faunísticos das zonas de recolha de amostras do ponto CABR1, nos pontos de amostragem CABR1 A, CABR1 B e CABR1 C

3.3.5. Pegadas metabólicas de nemátodes

No local CAV1, o sedimento de rio e a zona ripária mantém um padrão estável ao longo dos pontos de amostragem (CAV1 A e CAV1 B; no ponto CAV1 C), sendo que o sedimento de rio apresenta valores de enriquecimento superiores nos três pontos, com predominância quase total para a atividade de nemátodes bacterívoros. Nos pontos B e C há uma maior pegada metabólica de omnívoros, que poderá indicar uma maior complexidade da rede trófica nestes pontos do que no ponto A. A zona ripária mantém quase semelhantes os seus valores de estrutura e enriquecimento ao longo dos três pontos de amostragem (com valores de estrutura ligeiramente mais elevados), com nutrientes distribuídos sobretudo entre nemátodes bacterívoros e omnívoros e com vias de decomposição bacterianas. As zonas interiores são as que apresentam maior variação entre si, alternando os valores de enriquecimento e estrutura, com mais nutrientes distribuídos para nemátodes bacterívoros e nemátodes omnívoros nos habitats natural e lameiro e por nemátodes bacterívoros e parasitas de plantas no habitat de lameiro pastorícia, com maior utilização de vias de decomposição bacteriana (Figura 19).

Em CAV2, a zona ripária é a única que mantém a estabilidade dos padrões das pegadas metabólicas ao longo dos três pontos de amostragem. Com valores de enriquecimento e estrutura particularmente iguais em CAV2 A e CAV2 B e CAV2 C, nutrientes distribuídos essencialmente por nemátodes por nemátodes bacterívoros e omnívoros e vias de decomposição maioritariamente bacterianas. O sedimento de rio apresenta maior enriquecimento e atividade de nemátodes bacterívoros em CAV2 A e CAV2 C, sendo que em CAV2 B apresenta maior estrutura e atividade superior de nemátodes omnívoros. Quanto às zonas interiores, mais uma vez, são as que exibem maiores diferenças entre si, ainda que se apresentem nos três pontos com uma maior tendência estrutural. Os nutrientes estão distribuídos por grupos tróficos de nemátodes bacterívoros, omnívoros, parasitas de plantas e predadores, com vias de decomposição de matéria orgânica principalmente bacterianas (Figura 20).

No local RAB1, é no sedimento de rio que se encontra uma maior concordância dos valores das pegadas metabólicas entre os três pontos de amostragem, mantendo-se os valores de enriquecimento constantes, havendo apenas uma ligeira diminuição pegada estrutural no ponto RAB1 B. Os nutrientes estão distribuídos maioritariamente por nemátodes bacterívoros e as vias de decomposição são, conseqüentemente, bacterianas. Nas zonas ripárias verificam-se algumas flutuações entre os valores de enriquecimento e estrutura, assim como nos grupos tróficos com mais atividade, alternando entre bacterívoros e parasitas de plantas. Nas zonas interiores destaca-

se em RAB1 A a ausência total de atividade de nemátodes omnívoros, sendo esta dominada por nemátodes bacterívoros, mas mantendo, no entanto, os nutrientes sequestrados em nemátodes com estratégias persistentes. Em RAB1 B os nutrientes distribuem-se por nemátodes bacterívoros e parasitas de plantas de forma equivalente e em RAB1 C há dominância na atividade de nemátodes parasitas de plantas. Ao longo dos três pontos de amostragem há uma ligeira predominância para os habitats da zona interior se encontram mais enriquecidos, principalmente no habitat de lameiro pastorícia e no habitat agrícola, o que indica maior volatilidade dos nutrientes nestes nemátodes de ciclos de vida curtos e rápidos (Figura 21).

O local RAB2, volta a ser a que demonstra mais estabilidade entre os padrões das pegadas metabólicas entre os três pontos de amostragem, apresentando-se com valores de enriquecimento ligeiramente superiores que os de estrutura, com maior atividade de nemátodes bacterívoros, seguido de nemátodes parasitas de plantas e vias bacterianas de decomposição de matéria orgânica. O sedimento de rio encontra-se associado aos valores de enriquecimento uma maior atividade de nemátodes bacterívoros, e em RAB2 B com um aumento da atividade de nemátodes omnívoros pelo que a complexidade da rede trófica aumentou. Nas zonas interiores, o habitat de lameiro/pastorícia em RAB2 B e o habitat lameiro em RAB2 C tem praticamente a mesma pegada metabólica, verificando-se apenas uma ligeira redução de nutrientes presentes no grupo tróficos de nemátodes omnívoros e predadores no habitat de lameiro/pastorícia; na RAB2 A, no habitat natural, já se observa mais estrutura do que enriquecimento e maior atividade de nemátodes bacterívoros e omnívoros (Figura 22).

No local CABR1 era onde existia a maior variação nas pegadas metabólicas, verificando-se várias diferenças entre os pontos de amostragem. No sedimento de rio houve uma alternância da predominância das atividades de enriquecimento e de estrutura assim como uma maior atividade de nemátodes bacterívoros e omnívoros. A zona ripária em CABR1 B e CABR1 C apresenta-se semelhante mas, em CABR1 A, a quase total ausência de nemátodes omnívoros confirma-se como uma diferença relevante. No que toca às zonas interiores é de destacar a forte influência de nemátodes parasitas de plantas no habitat agrícola em CABR1 B que decresce um pouco em CABR1 C no habitat semi-natural. Em CABR1 C havia uma estrutura superior relacionada com o um maior número de nemátodes omnívoros. Ao longo de local, mais uma vez, as vias de decomposição bacterianas dominavam (Figura 23).

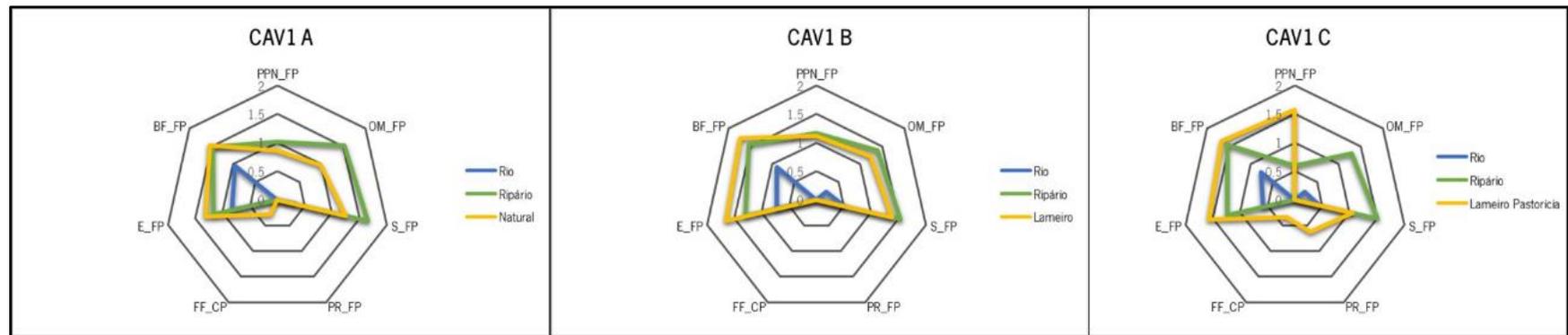


Figura 19 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos CAV1 A, CAV1 B e CAV1 C

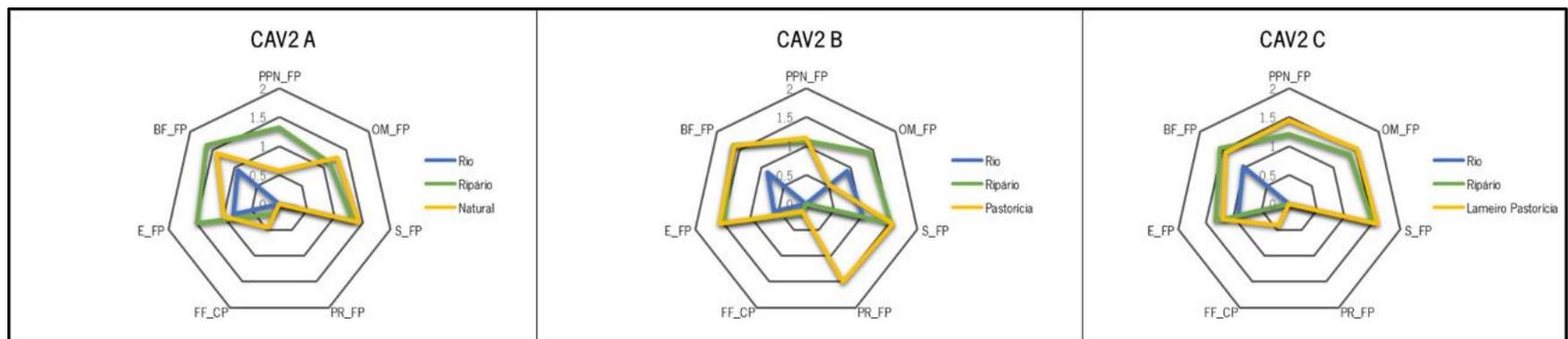


Figura 20 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos CAV2 A, CAV2 B e CAV2 C

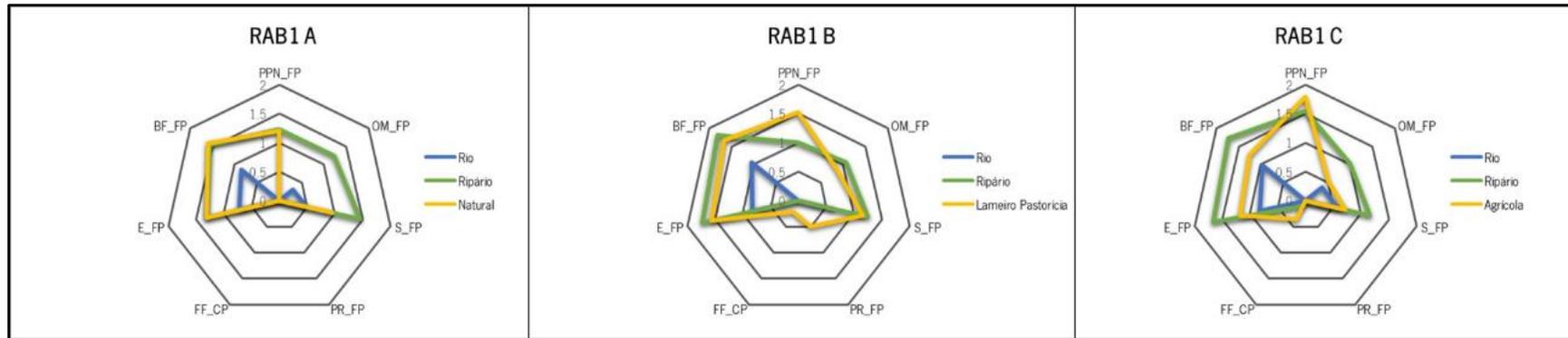


Figura 21 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos RAB1 A, RAB1 B e RAB1 C

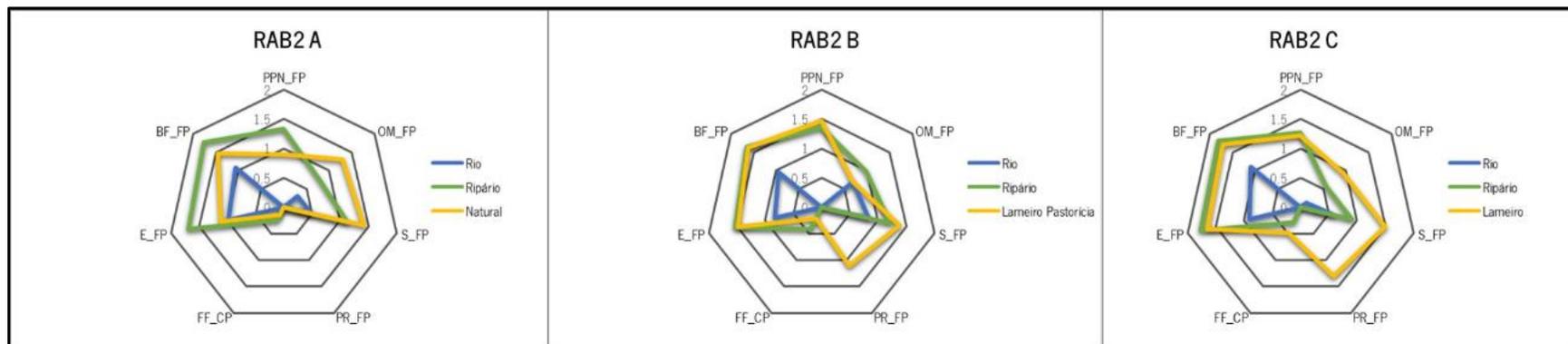


Figura 22 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos RAB2 A, RAB2 B e RAB2 C

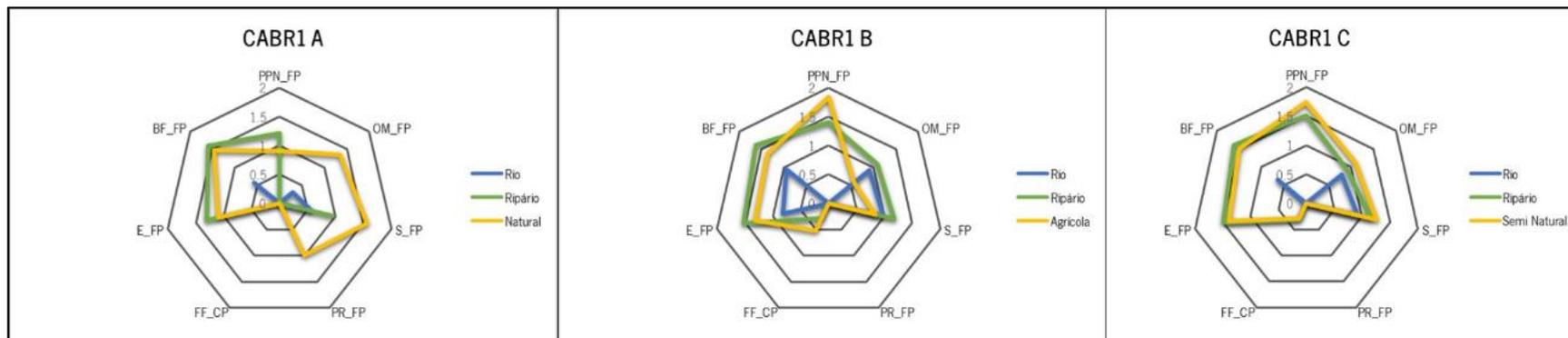


Figura 23 – Pegadas metabólicas dos diferentes grupos tróficos de nemátodes (BF – bacterívoros; PPN – parasitas de plantas; OM – omnívoros; PR – predadores; FF - fungívoros), de estrutura e de enriquecimento nos pontos CABR1 A, CABR1 B e CABR1 C

4. Discussão

Neste trabalho utilizámos nemátodes como bioindicadores ecológicos e conseguimos verificar que as comunidades de nemátodes respondiam à influência agrícola, da pastorícia ou lameiro ao longo de um gradiente terra-rio. As respostas da comunidade de nemátodes traduziram-se em alterações na sua composição taxonómica que se repercutiram na estrutura dos seus grupos tróficos e na atividade das suas pegadas metabólicas.

Nos habitats de solo com influência agrícola foram identificadas famílias de nemátodes parasitas de plantas, Criconematidae, Longidoridae, Trichodoridae e Tylenchidae, encontradas com relativa frequência nestes habitats (Palomares-Rius et al. 2015). Neste trabalho, os habitats agrícolas exibiam cultura de nabo (*Brassica rapa* L.) e de milho (*Zea mays* L.), e curiosamente a associação da família Trichodoridae a estas culturas já foi documentada em Portugal continental (Abrantes et al. 1978; Almeida & Santos, 1997). As características de colonização-persistência (cp) das famílias encontradas variam entre cp2 e cp5, sendo que Tylenchidae (cp2) é uma rápida colonizadora e consegue tolerar condições adversas enquanto que Longidoridae (cp5) e Trichodoridae (cp4) são sensíveis a distúrbios ambientais e provocam vários danos nas culturas agrícolas (Neher et al. 2005 e Sikora & Fernández, 2005). Apesar de ser em número reduzido comparativamente a outros grupos tróficos, a maior abundância em nemátodes fungívoros foi detetada nos habitats agrícolas, sendo estes pertencentes à família Aphelenchidae (cp2). Usualmente, nos habitats agrícolas costuma haver atividade tanto de vias de decomposição bacterianas como fúngicas, mas a atividade relativa destes dois processos que decorrem concomitantemente é variável (Ruess, 2003; Ruess & Ferris, 2004).

Nos habitats terrestres em zonas de pastorícia e de lameiro-pastorícia identificou-se a presença de nemátodes predadores, sendo esta a principal diferença para com os habitats agrícolas no que diz respeito aos grupos tróficos. A família Mononchidae, que pode sobressair tanto em sistemas de solo como aquáticos (Ahmad & Jairajpuri, 2010) foi a única reconhecida em todo o trabalho. Os nemátodes Mononchidae são predadores generalistas (Ahmad & Jairajpuri, 2010) e no que toca à capacidade de colonização-persistência os nemátodes predadores tem comumente cp elevado, neste caso concreto Mononchidae é cp4, com longo ciclo de vida e mostrando-se sensível a distúrbios ambientais (Ferris et al. 2001); uma vez que estes se apresentam num nível trófico superior, fazem a união dos vários canais energéticos e conferem

estabilidade ao sistema (de Ruiten et al., 1995; Moore & Hunt, 1988). Nestes habitats, as vias de decomposição tendem a ser bacterianas (Ruess, 2003). O facto de estarem presentes famílias cp4 sugere que há grande complexidade dentro do grupo trófico ligado ao canal bacteriano, provavelmente devido a diferentes fontes de matéria orgânica, mas não implica concomitante aumento da complexidade ao nível da rede trófica (Moore & Hunt, 1988).

Nos habitats de solo em zonas naturais, uma das primeiras observações a assinalar é a ubiquidade de famílias de nemátodes bacterívoros, destacando-se as famílias Alaimidae, Cephalobidae e Rhabditidae, todas com grande distribuição ecológica. Cephalobidae (cp2) é uma família de nemátodes basais que devido às suas características físicas e comportamentais consegue adaptar-se a vários tipos de habitats (Liang et al. 2005), inclusive habitats com distúrbios (Ferris et al. 2001). A família Rhabditidae (cp1) oportunista de enriquecimento também tem grande distribuição ecológica, sendo identificada em planícies fluviais (Zhang & Zheng, 2016) ou em habitats naturais e de floresta (Tomar & Ahmad, 2009) assim como a presença da família Alaimidae (cp4) de nemátodes persistentes que foi documentada em diversas zonas do planeta, incluindo zonas costeiras florestais (Kitagami et al. 2016), ou até na Antártida (Nielsen et al. 2011). Tendo isto em conta, denota-se uma heterogeneidade dos nemátodes bacterívoros no que toca às suas capacidades de adaptação e colonização de vários habitats (estratégia colonizador-persistente) que aliada a uma ampla distribuição geográfica (Trape et al. 2016), será assim uma possível explicação para a sua abundância nas zonas de amostragem. Neste estudo, relativamente aos habitats naturais, seria de esperar a maior presença de nemátodes bacterívoros com um valor mais elevado no espetro colonizador-persistente, uma vez que conferem uma maior complexidade destes habitats; a distribuição das comunidades de nemátodes observada no habitat natural, na sua maioria coincide com os trabalhos de Neher et al. (2005) (onde avaliou a associação de diferentes grupos taxonómicos de nemátodes a vários tipos de habitats terrestres), principalmente na presença de nemátodes bacterívoros cp3 (Prismatolaimidae) e cp4 (Alaimidae) em habitats com menos distúrbios. Por serem habitats onde não há interferência humana têm tendência a ter rede tróficas estruturadas e complexas e vias de decomposição maioritariamente fúngicas (Ferris et al. 2001; Ruess et al. 2003) o que não se confirmou no nosso estudo. Verificou-se uma maior presença de nemátodes bacterívoros alguns basais (Cephalobidae), outros com características persistentes (Alaimidae, cp4) e outros bacterívoros oportunistas (Rhabditidae, cp1) o que poderá levar à maior utilização de vias de decomposição bacterianas; A possível existência de vários *inputs* orgânicos de distintas proveniências e de fácil decomposição poderá ser uma explicação para a

maior ação das vias de decomposição bacterianas, aliado ao facto de que diferentes vias de entrada de matéria orgânica podem causar um aumento da atividade de nemátodes fazendo com que estes se distribuam de forma a aumentar o fluxo de nutrientes (Lambshhead et al. 1995).

Os resultados permitiram verificar a existência de diferenças na abundância, na diversidade e na composição das comunidades de nemátodes presentes nos sistemas de solo (zonas interiores e zonas ripárias) que se agrupam entre si, mas se distinguem dos sistemas de água doce. As comunidades de nemátodes de solo estão sob influência de fatores abióticos comuns, como o pH do solo, valores da presença de humidade e de matéria orgânica, (p. ex. Bongers, 2006) e que vão influenciar a regulação do metabolismo dos nemátodes, afetando a composição e a abundância das comunidades (Barberchek & Duncan, 2004). A resposta a fatores abióticos pode induzir à ocorrência, nas comunidades de nemátodes, de fenómenos de aclimatização (p. ex., aclimatização térmica, de Croll & Sukhdeo, 1981) ou orientação da rede trófica segundo gradientes preferenciais (e.g. altitude Transpurger et al. 2017).

A variação na abundância de famílias de nemátodes foi afetada de modo oposto pelo aumento de matéria orgânica no solo e pela percentagem de humidade relativa e o Índice de Habitat Interior. Os maiores valores de matéria orgânica foram registados nos habitats agrícolas, onde se verifica a profusão de nemátodes parasitas de plantas em zonas agrícolas que, por vezes, podem levar à redução da qualidade da matéria orgânica (Kimenju et al. 2009). Nos habitats naturais, a humidade relativa e o Índice de Habitat Interior parecem indicar que maior teor de água no solo (relacionado com a porosidade e a densidade, Vereecken et al. 1989) está associado a zonas de menor impacto humano (possivelmente habitats com menor compactação do solo), por isso, é de esperar que famílias de nemátodes omnívoros persistentes, como Aporcelaimidae (cp5), aumentem a sua presença nestes habitats com menores distúrbios ambientais. Tendo em conta o uso sazonal do solo, verificando-se no inverno, por exemplo, uma maior estabulação do gado (FAO, 2018), é provável que nesta altura do ano se verifiquem menores distúrbios.

Os habitats de pastorícia e de lameiro pastorícia, assim como os habitats agrícolas (de baixa intensidade produtiva) encontravam-se enriquecidos (com maiores valores de azoto) e apresentavam redes tróficas em estado de amadurecimento revelando a presença de algum impacto antropogénico, o que era esperado. Estes habitats estão inseridos no sistema de património agrícola das Terras do Barroso, sendo zonas estas onde o impacto humano será mais reduzido devido a manutenção de práticas rurais seculares, (quase) sem recurso a fatores de produção sintéticos ou processos intensivos de exploração do solo (FAO, 2019). Ainda assim são

os habitats que demonstram maiores impactos dentro da totalidade das zonas de amostragem. Os habitats naturais, usualmente, apresentam ausência de distúrbios e redes tróficas bem estruturadas, o que se verificou em três dos 5 habitats naturais deste estudo, sendo que os dois que diferem exibem apenas um ligeiro aumento no valor de enriquecimento; no entanto, mesmo os habitats naturais mais enriquecidos têm menores valores de enriquecimento comparativamente com os sistemas adjacentes que sofreram maior impacto humano. Como esperado, os habitats naturais são os que apresentam menos impactos, exibindo maior complexidade e quase ausência de perturbação causada por atividade humana.

Através da análise das pegadas metabólicas das zonas interiores, verificou-se a tendência de existência de distúrbios nos habitats agrícolas. O enriquecimento era dominante, a distribuição de nutrientes estava associada a nemátodes parasitas de plantas e as vias de decomposição bacterianas indicavam nos habitats agrícolas a existência de maiores distúrbios. Nos habitats de pastorícia e de lameiro pastorícia, os valores de estrutura e de enriquecimento vão alternando a dominância da sua atividade em que associado a maior estrutura da rede trófica está uma atividade superior de nemátodes omnívoros e/ou predadores e aliado a um maior enriquecimento está o aumento da disponibilidade de nutrientes para nemátodes bacterívoros. As principais flutuações nos padrões devem-se, provavelmente, à maior ou menor utilização do habitat como zona de pastorícia (menor atividade nos meses frios, FAO, 2018) afetando a disponibilidade em matéria orgânica e, conseqüentemente, em nutrientes. No nosso trabalho, os habitats naturais apresentavam-se, quase sempre, mais estruturados do que enriquecidos (mas sem diferenças muito acentuadas entre si), com atividade assídua de nemátodes omnívoros como de bacterívoros e vias de decomposição bacterianas. As zonas interiores como um todo apresentavam-se no geral mais enriquecidas do que estruturadas (ainda assim com elevados valores de estrutura), com tendência a existir maior atividade de nemátodes bacterívoros e parasitas de plantas e com vias de decomposição bacterianas.

Como as zonas ripárias pertencem aos sistemas de solos, assume-se que as suas comunidades de nemátodes irão estar sob a influência dos mesmos fatores abióticos que foram analisados para as zonas interiores mas, possivelmente, sob valores diferentes. A zona ripária deverá atuar como um tampão no gradiente terra-rio, reduzindo os impactos do uso da terra nas comunidades de nemátodes sedimentares do rio. Nas zonas ripárias, a presença de famílias de nemátodes bacterívoros é mais abundante do que nas zonas interiores, existindo estudos que apontam a sua forte presença em, por exemplo, habitats ripários restaurados (Ettema et al. 1999; Briar et

al. 2012). Destacam-se, também, duas famílias de nemátodes omnívoros, Aporcelaimidae (cp5) e Thornenematidae (cp5) que devido à sua capacidade colonizador-persistente vão conferir complexidade e, conseqüentemente, aumentar a estrutura da rede trófica. A Thornenematidae destacou-se pela presença em todas as zonas de amostragem, estando associada sobretudo a ecossistemas terrestres sem distúrbios (Vinciguerra, 2006). Em termos de comparação com as zonas interiores, as principais diferenças encontram-se na maior incidência de nemátodes omnívoros (ambos cp5) nas zonas ripárias, o que confere uma maior complexidade e estrutura às redes tróficas.

Ainda na zona ripária observámos que as famílias de nemátodes bacterívoros Diplogasteridae (cp1), de nemátodes fungívoros Aphelenchidae (cp2) e de nemátodes parasitas de plantas Tylenchidae (cp2) estavam associadas a zonas onde se encontravam os valores mais altos de pH do solo. Famílias que se apresentam como cp1 ou cp2 têm sido associadas a vias de decomposição bacteriana, cuja atividade tende a aumentar com o aumento do pH e diminuição da matéria orgânica de solo (Rousk et al. 2009). No nosso estudo, as famílias de nemátodes omnívoros Aporcelaimidae e Thornenematidae (ambas cp5), assim como a Bunonematidae (cp1) de nemátodes bacterívoros e com uma representação quantitativa muito escassa, tendem a habitar zonas com melhor qualidade de bosque ribeirinho. Como estas zonas ripárias apresentam estabilidade, a associação com nemátodes de cp5 característicos de habitats estáveis (Bongers & Ferris, 1999) era esperada. Contudo, a associação com a família Bunonematidae que é cp1, associada a grandes níveis de enriquecimento da rede trófica, contrasta com as condições de estabilidade do habitat, podendo então se tratar de um caso de ocupação “acidental” de habitat ou outros fatores não estudados justificarem a sua presença nesses habitats. As restantes famílias de nemátodes parasitas de plantas não parecem estar significativamente associadas aos fatores abióticos medidos, provavelmente por serem tão dependentes das comunidades de plantas que acabam por responder, particularmente, à identidade das plantas e se estas são boas ou más hospedeiras (De Deyn et al. 2004; Sohlenius et al. 2011) ou por dependerem de fatores abióticos não avaliados neste estudo, como por exemplo a temperatura, a precipitação, aeração (Norton & Niblack, 1991). As famílias de nemátodes associadas a um maior teor de matéria orgânica são diferentes das famílias associadas ao pH mais elevado e com maior humidade do solo, uma vez que a matéria orgânica tem tendência a descer o pH (McCauley et al. 2017) devido à presença de ácidos húmicos e fúlvicos sendo que a matéria orgânica estável (húmus) também opera como uma “esponja” de nutrientes adsorvidos e de humidade (Piccolo, 1996). De realçar ainda, a

possível existência de uma tendência para haver uma maior percentagem de matéria orgânica e complexidade do habitat (QBR) em zonas ripárias onde a zona interior é um habitat natural ou de lameiro pastorícia, sendo o oposto encontrado para habitats agrícolas. A matéria orgânica é essencial para o desenvolvimento das culturas agrícolas e utilizada nos processos tradicionais de adubação orgânica (Fernandes, 2016), mas, no nosso trabalho, apesar de os habitats agrícolas apresentarem os maiores valores de matéria orgânica das zonas interiores estes habitats são de reduzidas dimensões. Uma possível explicação para a associação dos habitats ripários aos habitats de lameiros pastorícia é a ação da complexa rede de raízes das comunidades de plantas que neles habitam que adicionam matéria orgânica ao solo e como os habitats de lameiro eram mais extensos do que os habitats agrícolas, a matéria orgânica poderia ter mais facilidade em circular entre estes (Schultz et al. 1997).

Os perfis faunísticos obtidos revelam uma estabilidade da zona ripária ao longo de todos os pontos de amostragem. Enquanto que as zonas interiores foram alternando os seus valores de estrutura e enriquecimento ao longo de cada ponto, os valores dos índices das zonas ripárias mantiveram a sua relação enriquecimento-estrutura praticamente inalterada. Neste estudo, as zonas ripárias apresentavam predominância da estrutura em relação ao enriquecimento (com mais nutrientes sequestrados em redes tróficas complexas ou pelo menos em nemátodes com um ciclo de vida mais longo do que associados à volatilidade dos grupos de enriquecimento) e exibiam atividade de nemátodes bacterívoros e omnívoros. É sugerido, então, que as vias de decomposição sejam predominantemente bacterianas, associadas a nemátodes bacterívoros persistentes assim como a uma boa representação de nemátodes omnívoros (Aporcelaimidae e Thornenematidae). Como os omnívoros são em geral maiores do que os bacterívoros e têm um metabolismo mais baixo (Bongers & Bongers, 1998; Ferris, 2010), a análise da pegada metabólica refletiu a diferente contribuição dos dois grupos para a estrutura da rede trófica. De realçar que quase não há biomassa de fungívoros e, como fora indiciado, a estrutura não é só ditada pelos omnívoros, mas também pelos cp elevados de alguns bacterívoros.

Pela sua capacidade de remoção de nutrientes em excesso provenientes das atividades humanas (Mander et al. 1997; Hefting et al. 2003; Groh et al. 2018) assim como pela estabilidade funcional que as espécies florísticas oferecem na regulação biogeoquímica e estabilização dos solos e gradientes (Long, 2015; Buchanan et al. 2020), verifica-se assim uma forte possibilidade para a confirmação da atuação da zona ripária como zona tampão entre os sistemas água-terra. Comparativamente com as pegadas metabólicas das zonas interiores, a zona ripária revela um

sistema mais robusto e complexo. As comunidades de nemátodes de água doce apresentam variações relativamente às comunidades de nemátodes dos sistemas de solo.

As amostras recolhidas nos sedimentos de rio revelaram uma abundância em nemátodes menor do que a encontrada nos outros substratos. Alguns estudos também encontraram uma comunidade de nemátodes menos diversa e com menor de indivíduos em sedimentos de rio (Heyns, 1976; Bongers, 1999). Contudo não descartamos a hipótese de que na avaliação da comunidade de nemátodes do sedimento de rio não fosse representativa deste habitat. Teria sido desejável a identificação e quantificação de pelo menos 100 nemátodes para uma avaliação da comunidade (Yeates & Bongers, 1999), o que implicaria a recolha de um volume de amostra de sedimento de rio bastante superior ao efetuado neste estudo. Outros estudos empregando nemátodes como bioindicadores em sedimento de rio (Heininger et al. 2007) reportam uma densidade de entre 100 e 1000 nemátodes por 100 ml de sedimento em rios na Alemanha, pelo que a abundância total de nemátodes nas amostras de sedimento de rio colhidas no nosso trabalho foi em geral baixa, traduzindo-se numa baixa diversidade comparativamente com as zonas interiores e ripárias. Verifica-se assim, uma grande disparidade de informações obtidas em vários estudos que utilizaram métodos diferentes de amostragem e extração de nemátodes (Hodda & Abebe, 2006).

No sedimento de rio, as famílias de nemátodes bacterívoros foram, igualmente, as mais profusas, sendo este um resultado esperado, uma vez que famílias como Monhysteridae (cp2) e Plectidae (cp2) são as mais referenciadas entre os sistemas de água doce mundialmente (Abebe et al. 2007), provavelmente devido às capacidades conferidas por serem nemátodes basais. Foram também detetadas duas famílias de nemátodes omnívoros, Aporcelaimidae (cp5) e Thornenematidae (cp5) sendo que a Thornenematidae se destacou pela sua superior abundância.

Comparativamente às zonas interiores e ripárias, os resultados permitiram verificar a existência de diferenças na abundância, na diversidade e na composição nas comunidades de nemátodes presentes nos sistemas de água doce e que estas são afetadas por fatores abióticos como o pH e temperatura da água, a condutividade, o caudal e a velocidade da corrente (p. ex. Barbuto & Zullini, 2005; Transpurger et al. 2006; Teiwes et al. 2007). Muitos destes fatores tem uma influência sazonal (Graf, 1992) e o facto de não terem ocorrido amostragens em estações do ano distintas poderá levar a uma visão parcial do sistema.

Não foram encontradas associações significativas nos habitats fluviais entre as famílias de nemátodes do rio e os parâmetros abióticos medidos e que são os geralmente empregues na

avaliação da qualidade físico-química da água. Algumas possíveis explicações para este facto poderão envolver a diferença entre a zona de colheita das comunidades de nemátodes (na zona bentónica da margem) e a zona de medição dos fatores ambientais (na zona lótica) ou ainda a falta de adaptações de determinados grupos aos fatores ambientais (p. ex., a capacidade de se agarrarem ao substrato, Hodda & Abebe, 2006). No entanto, há uma ligeira tendência para as famílias de nemátodes bacterívoros Bunonematidae (cp1), Rhabditidae (cp1) e Monhysteridae (cp2) se agregarem, provavelmente, em zonas de maior condutividade. Nos estudos de Ocaña (1991) foi sugerida esta interação para algumas espécies da família Monhysteridae. Já as famílias de nemátodes omnívoros Thornenematidae e Aporcelaimidae, ambas cp5, estão possivelmente associadas a maiores valores de temperatura e pH da água. Existe, também, uma propensão para as famílias de nemátodes bacterívoros Prismatolaimidae e Bunonematidae ampliarem a sua presença com o aumento dos níveis de nutrientes na água, tal como verificado por Gaudes et al. (2013), sendo esta relação inversamente proporcional com o Índice de Habitat Fluvial. Contudo, devemos salvaguardar o facto de as amostras examinadas não conterem um número representativo de nemátodes (Yeates & Bongers, 1999) para apresentar dados com maior robustez ecológica aliado também ao pressuposto de que as comunidades de nemátodes poderão ser influenciadas por outros fatores abióticos que não foram medidos neste estudo.

Verifica-se uma alternância entre os valores dos índices de enriquecimento e de estrutura, mas com tendência a apresentarem-se mais estruturados. Os nemátodes de água doce, no geral, podem estar associados a redes tróficas que podem ser provenientes de terrenos de pastoreio, com maior presença de bactérias ou a cadeias de decomposição onde a matéria orgânica é a maior fonte de alimento (Petersen & Luxton, 1982; Moens et al. 2006). O sedimento de rio não revelou grandes diferenças nas atividades das suas comunidades de nemátodes e índices associados uma vez que dos vários grupos tróficos existentes, só estão representados bacterívoros e omnívoros, sendo a comunidade de difícil análise, e talvez por isso não se consigam encontrar padrões mais bem definidos. Apesar do rio ser, em geral, mais pobre em biomassa de nemátodes, ainda assim conseguiu-se inferir uma atividade mais realçada de nemátodes bacterívoros, predominância de vias de decomposição bacterianas e um nível de estrutura superior ao enriquecimento, consequência, principalmente, da presença de omnívoros cp5 e de bacterívoros persistentes cp4.

Quanto à potencialidade de recuperação das zonas de amostragem a jusante do impacto humano, a maioria destes perfis faunísticos dá a entender que por vezes não se verifica uma

recuperação significativa da zona interior depois do impacto. Por vezes a recuperação ecológica de uma determinada zona pode não se concretizar totalmente se a zona a montante desta se encontrar muito impactada, por isso efeitos confusos podem-se verificar (Parkyn et al. 2003). Pelos resultados obtidos nas zonas de estudo, não se consegue entender o quão as comunidades de nemátodes assim como os ecossistemas de rio dependem das características existentes na zona interior.

Ainda de destacar que neste estudo conseguiu-se reconhecer 28 espécies botânicas, um valor significativo que corresponde a cerca de 0,85% das espécies florísticas descritas em Portugal continental (Geraldes, 2010). Uma maior biodiversidade vegetal reforça as condições estruturais e o funcionamento dos ecossistemas (Tilman et al. 1997). Além disso, não foram detetadas nos locais de estudo espécies exóticas ou invasoras, que não estavam inventariadas para a zona do Barroso (ICNF, 2016). Assim, estes ecossistemas poderão ser considerados em geral como de baixo impacto antropogénico. A recolha de amostras decorreu durante o inverno, logo é muito provável que se a amostragem ocorresse, por exemplo, no verão poder-se-iam ter verificado outros resultados principalmente devido as diferenças climáticas sazonais que têm influência nas comunidades de nemátodes (Vervoort et al. 2012) como em diversos fatores abióticos como o (possível) menor volume no caudal dos rios e a conseqüente redução de erosão da zona ripária, como também em fatores biológicos apresentando-se em diferentes fases do seu ciclo de vida algumas das espécies florísticas.

De realçar que os trabalhos efetuados até hoje só se dedicaram ao estudo de um habitat e não de um ecossistema tão heterogéneo. No nosso estudo, foi avaliada a biodiversidade de nemátodes ao longo de um gradiente terra-rio o que nos permitiu obter informação sobre as interações ecológicas e como estas relações acabam por influenciar a estabilidade e os processos de ecossistemas nos sistemas aquáticos e terrestres.

Conclusões:

Nenhum dos pontos de amostragem se revelou fortemente alterado, não havendo indícios de esgotamento de nutrientes ou de instabilidade da rede trófica. No entanto, as zonas agrícolas e de pastorícia aparentaram, em geral, sofrer maiores distúrbios do que as zonas naturais. Neste estudo, foram detetadas diferenças entre as comunidades de solo e as de água doce, mas não conseguimos demonstrar que os atributos dos sistemas de água doce dependiam das

características das zonas interiores. A estabilidade ecológica encontrada nas zonas ripárias poderá ter atuado para mitigar potenciais impactos do uso do solo adjacente nas comunidades biológicas do rio.

No futuro seria interessante complementar a informação obtida neste trabalho com a recolha de amostras em distintas estações do ano para avaliar possíveis diferenças sazonais na diversidade e abundância das comunidades de nemátodes assim como na sua relação com os vários fatores abióticos ou ainda comparar os resultados obtidos com locais onde o impacto antropogénico seja mais acentuado para evidenciar os padrões de resposta sugeridos neste trabalho.

5. Referências Bibliográficas

- Abdi, H.** and Williams, L.J. (2010) Principal componente analysis. Wiley Online Library: Interdisciplinary reviews, computational statistics, Volume 2, Issue 4, p. 387-515.
- Abebe, E.,** Decraemer, W. and De Ley, P. (2007) Global diversity of nematodes (Nematoda) in freshwater. Freshwater Animal Diversity Assessment. Developments in Hydrobiology, Volume 198, p. 67-78.
- Abell, R.,** Thieme, M.L., Revenga, C., Bryer, M., Kottelat, M., Bogutskaya, N., Coad, B., Mandrak, N., Balderas, S.C., Bussing, W., Stiassny, M.L.J., Skelton, P., Allen, G.R., Unmack, P., Naseka, A., Ng, R., Sindorf, N., Robertson, J., Armijo, E., Higgins, J.V., Heibel, T.J., Wikramanayake, E., Olson, D., López, H.L., Reis, R.E., Lundberg, J.G., Pérez, M.H.S. and Petry, P. (2008) Freshwater Ecoregions of the World: A New Map of Biogeographic Units for Freshwater Biodiversity Conservation. BioScience, Volume 58, p. 403-414.
- Abrantes, I.M.D.O.,** Morais, M.M.N. and Santos, M.S.N.D.A. (1978) Nemátodos e plantas hospedeiras identificadas em Coimbra, Portugal durante 1972-1977. Ciênc. Biol., 4, p. 23-44.
- Ahmad, W.** and Jairajpuri, M.S. (2010) Mononchida: The Predaceous Nematodes. Nematology Monographs & Perspectives, Volume 7, p. 7-14.
- Almeida, M.T.M.** and Santos M.S.N.D.A. (1997) Trichodorid Nematodes in Portugal. An Introduction to virus vector nematodes and their associated viroses, p. 443-465.
- Althoff, P.S.** and Thien, S.J. (2005) Impact of M1A1 main battle tank disturbance on soil quality, invertebrates, and vegetation characteristics. Journal of Terramechanics, Volume 42, Issues 3–4, p. 159-176.
- Anbumozhi, V.,** Radhakrishnanb, J. and Yamajic, E. (2005) Impact of riparian buffer zones on water quality and associated management considerations. Ecological Engineering, Volume 24, Issue 5, 30, p. 517-523.
- Apiah, D.O.,** Osman, B. and Bofo, J. (2014) Land Use and Misuse; Human Appropriation of Land Ecosystems Services in Ghana. International Journal of Ecosystem, 4(1), p. 24-33.
- Aranes, C.C.** (2017) Fish diversity, biomass and trophic dynamics in relation to landscape gradients in the floodplain of the Amazon River.
- Askary, T.H.** and Abd-Elgawad, M.M.M. (2017) Beneficial Nematodes in Agroecosystems: A Global Perspective. Biocontrol Agents: Entomopathogenic and Slug Parasitic Nematodes.
- Avó, A.P.,** Daniell, T.J., Neilson R., Oliveira S., Branco, J. and Adão H. (2017) DNA Barcoding and Morphological Identification of Benthic Nematodes Assemblages of Estuarine Intertidal Sediments: Advances in Molecular Tools for Biodiversity Assessment. Frontiers in Marine Science, Volume 4, Article 66.
- Baptista, J. D.** (2006) O Pastoreio. Montalegre, p. 71-76.
- Barbercheck, M.E.** and Duncan, L. (2004) Abiotic Factors. Nematode Behavior, p. 309-312.
- Barbuto, M.** and Zullini, A. (2005) The nematode community of two Italian rivers (Taro and Ticino). BRILL. Volume 7, Issue 5, p. 667-675.
- Bardgett, R.D.** and van der Putten, W.H. (2014) Belowground biodiversity and ecosystem functioning. Nature, Volume 515, p. 505–511.

- Baretta**, D., Santos, J., Segat, J.C., Geremia, E.V., Filho, L.C.I.O. and Alves, M.V. (2011) Fauna Edáfica e Qualidade do Solo. *Tópicos Ci. Solo*, 7, p. 119-170.
- Barrios**, E. (2007) Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological Economics*, 64, p. 269-285.
- Bengtsson**, J., Angelstam, P., Elmqvist, T., Emanuelsson, U., Folke, C., Ihse, M., Moberg, F. and Nystrom, M. (2003). Reserves, resilience and dynamic landscapes. *Ambio*, 32, p. 389-396.
- Blair**, J.M., Bohlen, P.J. and Freckman, D.W. (1997) Soil Invertebrates as Indicators of Soil Quality. *Methods for Assessing Soil Quality*, Volume 49.
- Blaxter**, M.L. (1998) *Caenorhabditis elegans* is a nematode. *Science*, 282, p. 2041-2046.
- Bloemers**, G.F., Hodda, M., Lamshead, P.J.D., Lawton, J.H. and Wanless, F.R. (1997) The effects of forest disturbance on diversity of tropical soil nematodes. *Oecologia*, 111, p. 575-582.
- Boag**, B. and Yeates, G.W. (2006) Female size shows similar trends in all clades of the Phylum Nematoda. *Nematology*, 8, p. 111–127.
- Bongers**, T. (1990) The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*, 83, p. 14-19.
- Bongers**, T. (1999) The maturity index, the evolution of nematode life history traits, adaptive radiation and c-scaling. *Plant and Soil*, 212, p. 13–22.
- Bongers**, T. (2006) Nematode Indicators of Organic Enrichment. *Journal of nematology*, 38, p. 3-12.
- Bongers**, T. and Bongers, M. (1998) Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*, p. 239-251.
- Bongers**, T. and Ferris, H. (1999) Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*, Volume 14, Issue 6, p. 224-228.
- Buchanan**, S.W., Baskerville, M., Oelbermann, M., Gordon, A.M., Thevathasen, N.V. and Isaac, M.E. (2020) Plant Diversity and Agroecosystem Function in Riparian Agroforests: Providing Ecosystem Services and Land-Use Transition. *Sustainability* 2020, 12(2), p. 568.
- Buttigieg**, P.L. and Ramette, A. (2014) A Guide to Statistical Analysis in Microbial Ecology: a community-focused, living review of multivariate data analyses. *FEMS Microbiol Ecol*. Volume 90, p. 543–550.
- Coll**, P., Le Cadre, E., and Villenave, C. (2012) How are nematode communities affected during a conversion from conventional to organic farming in southern French vineyards?. *Nematology*. Volume 14, p. 665-676.
- Coyne**, D.L., Nicol, J.M. and Claudius-Cole, B. (2007) Extracção de nemátodes. *Nematologia prática: Um guia de campo e de laboratório*. SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA).
- Croll**, N.A. and Sukhdeo, M.V.K. (1981) Hierarquies in Nematode Beahvior. *Plant Parasitic Nematodes*, Volume 3, p. 227-250.
- Davidson**, N.C. (2014) How much wetland has the world lost? Long-term and recent trends in global wetland area. *Marine and Freshwater Research*, 65, p. 934–941.

- De Deyn**, G.B., Raaijmakers, C.E., Van Ruijven, J., Berendse, F. and Van der Putten, W. (2004) Plant species identity and diversity effects on different trophic levels of nematodes in the soil food web. *OIKOS – Synthesising Ecology*, Volume 106, Issue 3, p. 576-586.
- De Deyn**, G.B. and van der Putten, W.H. (2005) Linking above- and belowground biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 20, p. 625–633.
- De Ruiter**, P.C., Neutel, A-M. and Moore, J.C. (1998) Biodiversity in soil ecosystems: the role of energy flow and community stability. *Applied Soil Ecology*, 10, p. 217-228.
- De Vries**, F.T., Thébault, E., Liiri, M., Birkhofer, K., Tsiafouli, M.A., Bjørnlund, L., Jørgensen, H.B., Brady, M.V., Christensen, S., de Ruiter, P.C., d’Hertefeldt, T., Frouz, J., Hedlund, K., Hemerik, L., Hol, W.H.G., Hotes, S., Mortimer, S.R., Setälä, H., Sgardelis, S.P., Utenesy, K., van der Putten, W.H., Wolters, V. and Bardgett, R.D. (2013) Soil food web properties explain ecosystem services across European land use systems. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.
- Didham**, R.K., Lawton, J.H., Hammond, P.M. and Eggleton, P. (1998) Trophic structure stability and extinction dynamics of beetles (Coleoptera) in tropical forest fragments. *The Royal Society*, Volume 353, Issue 1367.
- Disi**, J.O., Mohammad, H.K., Lawrence, K., Kloepper J. and Fadamiro, H. (2019) A soil bacterium can shape belowground interactions between maize, herbivores and entomopathogenic nematodes. *Plant Soil*, 437, p. 83.
- Dudgeon**, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z-I., Knowler, D.J., Lévêque, C., Naiman, R.J., Prieur-Richard, A-H., Soto, D., Stiassny, M.L.J. and Sullivan, C.A. (2006) Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, 81, p. 163-182.
- EPPO** – European and Mediterranean Plant Protection Organization (2013) PM 7/119 (1) Nematode extraction. *EPPO Bulletin*, 43, p. 471-495.
- Ettema**, C.H., Lowrance, R. and Coleman, D.C. (1999) Riparian soil response to surface nitrogen input: the indicator potential of free-living soil nematode populations. *Soil Biology and Biochemistry* 31, p. 1625-1638.
- FAO** – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2018) Barroso Agro-Sylvo-Pastoral System. Potential GIAHS/FAO site.
- Fernandes**, R. (2016) A matéria orgânica do solo. INIAV - Dossier Técnico: A Vida Rural.
- Ferris**, H. (2010) Form and function: Metabolic footprints of nematodes in the soil food web. *European Journal of Soil Biology*, 46, p. 97-104.
- Ferris**, H., Bongers, T. and de Goede, R.G.M. (2001) A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*, 18, p. 13–29.
- Ferris**, H., Venette, R.C. and Scow, K.M. (2004) Soil management to enhance bacterivore and fungivore nematode populations and their nitrogen mineralization function. *Applied Soil Ecology*, 24, p. 19–35.
- Ferris**, H., Venette, R.C., van der Meulen, H.R. and Lau, S.S. (1998) Nitrogen mineralization by bacterial-feeding nematodes: verification and measurement. *Plant and Soil*, 203, p. 159–171.
- Fuga**, C.A.G., Fernandes, R.H. and Lopes, E.A. (2012) Nematoides entomopatogênicos. *REVISTA TRÓPICA: Ciências Agrárias e Biológicas*, v.6, n.3.

- Gaudes, A.**, Muñoz, I. and Moens, T. (2013) Bottom-up effects on freshwater bacterivorous nematode populations: a microcosm approach. *Hydrobiologia*, Volume 707, Issue 1, p. 159–172.
- Geetanjali**, Malhotra, S.K., Ansari, Z.A. and Chatterji, A. (2002) Role of nematodes as bioindicators in marine and freshwater habitats. *Current Science*, vol.82(5), p. 505-507.
- Gonzalez, A.**, Mouquet, N. and Loreau, M. (2009) Managed ecosystems: biodiversity and ecosystem functions in landscapes modified by human use. S. Naeem, D. Bunker, A. Hector, M. Loreau, C. Perrings (Eds.), *Biodiversity and Human Impacts*, Oxford University Press, Oxford, UK (2009), p. 134-146.
- González, E.**, Felipe-Lucia, M.R., Bourgeois, B., Boz, B., Nilsson, C., Palmer, G. and Sher, A.A. (2017) Integrative conservation of riparian zones. *Biological Conservation*, Volume 211, p. 20-29.
- Goodey, T.** (1951) *Soil and Freshwater Nematodes*. Methuen, London.
- Graf, G.** (1992) Benthic-pelagic coupling: a benthic view. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 30, p. 149-190.
- Groh, T.A.**, Davis, M.P., Isenhardt, T.M., Jaynes, D.B. and Parkin, T.B. (2018) In Situ Denitrification in Saturated Riparian Buffers. *Journal of Environmental Quality Abstract - Special Section: Riparian Buffer Management*, Volume 48, No. 2, p. 376-384.
- Gumiero, B.**, Boz, B., Cornelio, P. and Casella, S. (2011) Shallow groundwater and denitrification in a newly afforested, subirrigated riparian buffer. *Journal of Applied Ecology*, 48, p. 1135-1144.
- Haegerbaeumer, A.**, Höss, S., Heininger, P. and Traunspurger, W. (2018) Response of nematode communities to metals and PAHs in freshwater microcosms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 148, p. 244-253.
- Hairston Jr.**, N.G. and Hairston Sr., N.G. (1993) Cause-effect relationships in energy flow, trophic structure, and interspecific interactions. *Am. Nat.*, 142, p. 379-411.
- Hammer, Ø.**, Harper, D.A.T., and Ryan, P.D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), p. 9.
- Hefting, M.M.**, Bobbink, R. and de Caluwe, H. (2003) Nitrous Oxide Emission and Denitrification in Chronically Nitrate-Loaded Riparian Buffer Zones. *Journal of Environmental Quality Abstract - Atmospheric Pollutants and Trace Gases*, Volume 32, No. 4, p. 1194-1203.
- Heininger, P.**, Höss, S., Claus, E., Pelzer, J. and Traunspurger, W. (2007) Nematode communities in contaminated river sediments. *Environmental Pollution*, Volume 146, Issue 1, p. 64-76.
- Heyns, J.** (1976) Preliminary results of a survey of fresh-water nematodes in South Africa. *J. Limnol. Soc. S. Afr.*, 2, p. 43–45.
- Hodda, M.** (2006) Nematodes in Lotic Systems. *Freshwater Nematodes in Environmental Science. Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*. p. 183-230.
- Hodda, M.** and Abebe, E. (2006) Techniques for Processing Freshwater Nematodes *Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*. p. 31-45.
- Hodson, A.K.**, Ferris, H., Hollander, A.D. and Jackson, L.E. (2014) Nematode food webs associated with native perennial plant species and soil nutrient pools in California riparian oak woodlands. *Geoderma*, p.182-191.

- Hoffmann**, C.C., Heiberg, L., Audet, J., Schonfeldt, B., Fuglsang, A., Kronvang, B., Ovesen, N.B., Kjaergaard, C., Hansen, H.C.B. and Jensen, H.S., (2012) Low phosphorus release but high nitrogen removal in two restored riparian wetlands inundated with agricultural drainage water. *Ecological Engineering*, 46, 75-87.
- Höss**, S., Traunspurger, W. and Zullini, A. (2006) *Freshwater Nematodes in Environmental Science. Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*. p.164-198.
- Hu**, J. (2017) Human Alteration of the Nitrogen Cycle and Its Impact on the Environment. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 17.
- Hupp**, C.R. and Bornette, G. (2003) Vegetation as a tool in the interpretation of fluvial geomorphic processes and landforms in humid temperate areas. *Tools in Fluvial Geomorphology*, p. 269-288.
- ICNF** - Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I.P. (2016) *Espécies Arbóreas Indígenas em Portugal Continental*.
- Kardol**, P., Bezemer, T.M., van der Wal, A. and Van der Putten, W.H. (2005) Successional trajectories of soil nematode and plant communities in a chronosequence of ex-arable lands. *Biological Conservation*, 126, p. 317–327.
- Kimenju**, J.W., Karanja, N.K., Mutua, G.K., Rimberia, B.M. and Wachira, P.M. (2009) Nematode community structure as influenced by land use and intensity of cultivation. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, p. 353–360.
- Kitagami**, Y., Torii, M. and Matsuda, Y. (2016) Characterizations of community and trophic structures of soil nematodes in a coastal Japanese black pine forest. *Nematological Research*, Volume 46, p. 71-78.
- Köhl**, L., Oehl, F. and van der Heijden, M.G.A. (2014) Agricultural practices indirectly influence plant productivity and ecosystem services through effects on soil biota. *Ecological Applications – Ecological Society of America*, Volume 24, Issue 7, p. 1842-1853.
- Kramarenko**, V.V., Nikitenkov, A.N., Matveenkov, I.A., Molokov, V.Y. and Vasilenko, Y.S. (2016) Determination of water content in clay and organic soil using microwave oven. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 43.
- Kristensen**, E. and Anderson, F.O. (1987). Determination of organic carbon in marine sediments: a comparison of two CHN-analyser methods. *J. Exp. Mar. Biol. Eco.*, 109, p. 15-23.
- Lambshead**, P.J.D., Ferrero, T.J. and Wolf, G.A. (1995) Comparison of the Vertical Distribution of Nematodes from Two Contrasting Abyssal Sites in the Northeast Atlantic Subject to Different Seasonal Inputs of Phytodetritus. *Hydrobiology*, Volume 80, Issue 2, p. 327-331.
- Lavelle**, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P. and Rossi, J.P. (2006) Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, 42, p. 3-15.
- Liang**, W., Zhang, X., Li, Q., Jiang, Y., Ou, W. and Neher, D. (2005) Vertical Distribution of Bacterivorous Nematodes under Different Land Uses. *Journal of Nematology*, 37(3), p. 254–258.
- Long**, L.A.M. (2015) Impacts of riparian buffer vegetation on soil quality physical parameters, 20-23 years after initial riparian buffer establishment. *Graduate Theses and Dissertations*. 14609.
- Losi**, V., Ferrero, T.J., Moreno, M., Gaozza, L., Rovere, A., Firpo, M., Marques, J.C. and Albertelli, G. (2013) The use of nematodes in assessing ecological conditions in shallow waters surrounding a Mediterranean

harbour facility. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 130, p. 209-221.

- Madji, N., Weber, S. and Traunspurger, W. (2018)** The early catfish catches the worm: predation of *Corydoras aeneus* (Siluriformes, Callichthyidae) on freshwater nematodes. *Int. J. Limn.*, p. 54, 29.
- Mander, Ü., Kuusemets, V., Lõhmus, K. and Mauting, T. (1997)** Efficiency and dimensioning of riparian bufferzones in agricultural catchments. *Ecological Engineering*, Volume 8, Issue 4, p. 299-324.
- Mayer, P.M., Reynolds, S.K., McCutchen, M.D. and Canfield, T.J. (2007)** Meta-Analysis of Nitrogen Removal in Riparian Buffers. *Journal of Environmental Quality Abstract - Reviews and Analyses*, Vol. 36, No. 4, p. 1172-1180.
- McCaulley, A., Jones, C. and Olson-Rutz, K. (2017)** Soil pH and Organic Matter. Nutrient management module no. 8, p. 1-16.
- McCulloch, C.E. and Neuhaus, J.M. (2014)** Generalized Linear Mixed Models. Wiley StatsRef: Statistics Reference Online.
- Mekete, T., Dababat A., Sekora N., Akyazi F. and Abebe E. (comps). (2012)** Identification key for agriculturally important plant-parasitic nematodes Prepared for the International Nematode Diagnosis and Identification Course 2012 - A manual for nematology. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Mendiburu, d.F. (2019)** agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.3-1.
- Moens, T., Traunspurger, W. and Bergtold, M. (2006)** Feeding Ecology of Free-living Benthic Nematodes. *Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*, p. 125-143.
- Mondino, E.A., Tavares, O.C.H., Ebeling, A.G., Figueira, A.F., Quintero, E.I. and Berbara, R.L.L. (2009)** Evaluation of nematodes communities in organic agricultural system. *Maringá*, v. 31, n. 3, p. 509-515.
- Moore, J.C. and Hunt, H.W. (1988)** Resource compartmentation and the stability of real ecosystems. *Nature*, Volume 333.
- Moore, J.C., de Ruiter, P.C., Hunt, H.W., Coleman, D.C. and Freckman, D.W. (1996)** Microcosms and soil ecology: critical linkages between field studies and modelling food webs. *Ecology*, 77, p. 694-705.
- Munné, A., Prat, N., Sola, C., Bonda, N. and Rieradeval, M. (2003).** A simple field method for assessing the ecological quality of riparian habitat in Rivers and streams: QBR index.
- Neher, D.A. (2001)** Role of Nematodes in Soil Health and Their Use as Indicators. *J Nematol.*, 33, p. 161–168.
- Neher, D.A, Bongers, T. and Ferris, H. (2004)** Computation of Nematode community indices. Society of Nematologists.
- Nielsen, U.N., Wall, D.H., Adams, B.J. and Virginia, R.A. (2011)** Antarctic nematode communities: observed and predicted responses to climate change. *Polar Biol*, 34, p. 1701–1711.
- Norton, D.C. and Niblack, T.L. (1991)** Biology and Ecology of Nematodes. *Manual of Agricultural Nematology*, p. 47-60.
- Ocaña, A. (1991)** Relationship between nematode species and the physico-chemical characteristics of spring waters. 1. Conductivity. *Nematologia Mediterranea*, 19, p. 19–24.

- O'Geen**, A.T., Budd, R., Gan, J., Maynard, J.J., Parikh, S.J. and Dahlgren, R.A. (2010). Mitigating nonpoint source pollution in agriculture with constructed and restored wetlands. D.L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy*, vol. 108, p. 1-76.
- O'Kelly**, B.C. (2004) Accurate Determination of Moisture Content of Organic Soils Using the Oven Drying Method. *Drying Technology*, Vol. 22, p. 1767-1776.
- Palomares-Rius**, J.E., Castillo, P., Montes-Borrego, M., Navas-Cortés, J.A. and Landa, B.B. (2015) Soil Properties and Olive Cultivar Determine the Structure and Diversity of Plant-Parasitic Nematode Communities Infesting Olive Orchards Soils in Southern Spain. *PLoS One*, 10(1).
- Pardo**, I., Álvarez, M., Casas, J.J., Moreno, J.L., Vivas, S., Bonada, N., Alba-Tercedor, J., Jáime, P., Moyá, G., Prat, N., Robles, S., Suárez, M.L., Toro, M. and Vidal-Abarca, M.R. (2002). El hábitat de los ríos mediterráneos. Diseño de un índice de diversidad de hábitat. *Limnetica*, 21, p. 115-133.
- Parkin**, S.M., Davies-Colley, R.J., Halliday, N.J., Costley, K.J. and Croker, G.F. (2003) Planted Riparian Buffer Zones in New Zealand: Do They Live Up to Expectations? *Restoration Ecology*, Volume 11, Issue 4, p. 436-447.
- Pavinato**, P.S. and Rosolem, C.A. (2008) Disponibilidade de nutrientes no solo - decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. *R. Bras. Ci. Solo*, 32, p. 911-920.
- Perry**, D.A. (1995) Self-organization systems across scales. *Trends in Ecology & Evolution*, 10, p. 241-244.
- Petersen**, H. and Luxton, M. (1982) A comparative analysis of soil fauna populations and their roles in decomposition processes. *Oikos*, 39, p. 287-388.
- Piccolo**, A. (1996) Chapter 5 - Humus and Soil Conservation. *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*, p. 225-264.
- Revenga**, C., Campbell, I., Abell, R., de Villiers, P. and Bryer, M. (2005) Prospects for monitoring freshwater ecosystems towards the 2010 targets. *The Royal Society B*, p. 397-413.
- Richardson**, D.M., Holmes, P.M., Esler, K.J., Galatowitsch, S.M., Stromberg, J.C., Kirkman, S.P., Pysek, P. and Hobbs, R.J. (2007) Riparian vegetation: degradation, alien plant invasions, and restoration prospects. *Diversity and Distributions*, 13 (1), p. 126-139.
- Ristau**, K., Spann, N. and Traunspurger, W. (2015) Species and trait compositions of freshwater nematodes as indicative descriptors of lake eutrophication. *Ecological Indicators*, Volume 53, p. 196-205.
- Ritz**, C., Baty, F., Streibig, J. C., Gerhard, D. (2015) Dose-Response Analysis Using R *PLOS ONE*, 10(12), e0146021.
- Rockström**, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, A., Chapin III, F.S., Lambin, E.F., Lenton, T.M., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H.J., Nykvist, B., de Wit, C.A., Hughes, T., van der Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P.K., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M., Karlberg, L., Corell, R.W., Fabry, V.J., Hansen, J., Walker, B., Liverman, D., Richardson, K., Crutzen, P. and Foley, J.A. (2009) A safe operating space for humanity. *Nature*, volume 461, p. 472-475.
- Rouse**, J.W., Haas R.H., Schell J.A. and Deering D.W. (1974) Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. *Third Earth Resources Technology Satellite-1 Symposium*.
- Rousk**, J., Brookes, P.C. and Bååth, E. (2009) Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *American Society for Microbiology*

- Ruess, L.** (2003) Nematode soil faunal analysis of decomposition pathways in different ecosystems. *Nematology*, Volume 5: Issue 2, p. 179–181.
- Ruess, L.** and Ferris, H. (2004) Decomposition pathways and successional changes. *Nematology Monographs & Perspectives*, Volume 2, p. 547-556.
- Sánchez-Moreno, S.**, Smukler, S., Ferris, H., O'Green, A.T. and Jackson, L.E. (2008) Nematode diversity, food web condition, and chemical and physical properties in different soil habitats of an organic farm. *Biology and Fertility of Soils*, 44, p. 727–744.
- Sarathchandra, S.U.**, Ghani, A., Yeates, G.W., Burch, G. and Cox, N.R. (2001) Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. *Soil Biology & Biochemistry* 33, p. 953-964.
- Säterberg, T.**, Sellman, S. and Ebenman, B. (2013) High frequency of functional extinctions in ecological networks. *Nature*, 499, p. 468–470.
- Schafer, W.** (2016) Nematode nervous systems. *Curr Biol.*, 24;26(20), p. 955-959.
- Schratzberger, M.**, Bolam, S., Whomersley, P. and Warr, K. (2006) Differential response of nematode colonist communities to the intertidal placement of dredged material. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 334, p. 244–255.
- Schratzberger, M.**, Holterman, M., van Oevelen, D. and Helder, J. (2019) A Worm's World: Ecological Flexibility Pays Off for Free-Living Nematodes in Sediments and Soils. *BioScience*, Volume 69, Issue 11, p. 867–876.
- Schultz, R.C.**, Kuehl, A., Coletti, J.P., Wray, P.H. and Isenhardt, T.M. (1997) *Riparian Buffer Systems*. Agriculture and Environment Extension Publications. 219.
- Semprucci, F.**, Frontalini, F., Sbrocca, C., Armynot du Châtelet, E., Bout-Roumazielles, V., Coccioni, R., and Balsamo, M. (2015) Meiobenthos and free-living nematodes as tools for biomonitoring environments affected by riverine impact. *Environmental Monitoring and Assessment*, p. 187-251.
- SERAS** – Scientific Engineering Response and Analytical Services (2002) Soil pH Determination. Standard Operating Procedures, p. 1-6.
- Sieriebriennikov, B.**, Ferris, H. and de Goede, R.G.M. (2014) NINJA: An automated calculation system for nematode-based biological monitoring. *European Journal of Soil Biology*, Volume 61, March–April, Pages p. 90-93.
- Sikora, R.A.** and Fernández, E. (2005) Nematode Parasit of Vegetables. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, p. 362-372.
- Singh, S.**, Singh, B., Singh and Singh, A.P. (2015) Nematodes: A Threat to Sustainability of Agriculture. *Agriculture and Climate Change - Adapting Crops to Increased Uncertainty (AGRI 2015)*.
- Smol, N.** and Coomans, A. (2006) Order Enoplida. *Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*, p. 245-312.
- Smokorowski, K.** and Pratt, T. (2007) Effect of a change in physical structure and cover on fish and fish habitat in freshwater ecosystems-a review and meta-analysis. *Environmental Reviews*, 15, p. 15–41.
- Sohlenius, B.**, Boström, S. and Viketoft, M. (2011) Effects of plant species and plant diversity on soil nematodes - A field experiment on grassland run for seven years. *Nematology*, 13, p. 115-131.

- Southey**, J.F. (1986) Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.
- Steffen**, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs, R., Carpenter, S.R., de Vries, W., de Wit, C.A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B. and Sörlin, S. (2015) Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science*, Volume 347, Issue 6223.
- Strayer**, D.L. and Dudgeon, D. (2010) Freshwater biodiversity conservation: recent progress and future challenges. *Freshwater Science*, Volume 29, Number 1.
- Sullivan**, S.M.P., Manning, D.W.P., St. Jaques, J.-M., Moncayo-Estrada, R. (2019) Chapter 9 - Multiple Stressors in North America: Perspectives for the New World. *Multiple Stressors in River Ecosystems. Status, Impacts and Prospects for the Future*, p. 157-178.
- Teiwes**, M., Bergtold, M. and Traunspurger, W. (2007) Factors Influencing the Vertical Distribution of Nematodes in Sediments. *Factors Influencing the Vertical Distribution of Nematodes in Sediments*, *Journal of Freshwater Ecology*, 22:3, p. 429-439.
- Ter Braak**, C.J.F. (1986) Canonical Correspondence Analysis: A New Eigenvector Technique for Multivariate Direct Gradient Analysis. *Ecological Society Of America* Volume 67, Issue 5, p. 1167-1179.
- Ter Braak**, C.J.F. and Verdonschot, P.F.M. (1995) Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology. *Aquatic Sciences*, Volume 57, Issue 3, p. 255–289.
- Tilman**, D., Lehman, C.L. and Thomson, K.T. (1997) Plant diversity and ecosystem productivity: Theoretical considerations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Volume 94, p. 1857–1861.
- Tockner**, K. and Stanford, J.A. (2002) Riverine flood plains: present state and future trends. *Environmental Conservation*, 29, p. 308–330.
- Tomar**, V.V.S. and Ahmad, W. (2009) Food web diagnostics and functional diversity of soil inhabiting nematodes in a natural woodland. *Helminthologia*, 46, 3, p. 183–189.
- Traunspurger**, W., Michielis, I.C. and Abebe, E. (2006) Composition and Distribution of Free-living Freshwater Nematodes: Global and Local Perspectives. *Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*, p. 80-96.
- Traunspurger**, W., Reiff, N., Krashevska, V., Madji, N. and Scheu, S. (2017) Diversity and distribution of soil micro-invertebrates across an altitudinal gradient in a tropical montane rainforest of Ecuador, with focus on free-living nematodes. *Pedobiologia*, Volume 62, p. 28-35.
- Trape**, J., Bonkowski, M., Plassard, C., Villenave, C. and Blanchart, E. (2016) Ecological importance of soil bacterivores for ecosystem functions. *Plant and Soil*, Volume 398, p. 1–24.
- Trett**, M.W., Urbano, B.C., Forster, S.J. and Trett, S.P. (2009) Commercial Aspects of the Use of Nematodes as Bioindicators. *Nematodes as Environmental Indicators*.
- Trommer**, G., Lorenz, P., Lentz, A., Fink, P. and Stibor, H. (2019) Nitrogen enrichment leads to changing fatty acid composition of phytoplankton and negatively affects zooplankton in a natural lake community. *Scientific Reports*, volume 9, Article number: 16805.
- Van den Hoogen**, J., Geisen, S., Routh, D., Ferris, H., Traunspurger, W., Wardle, D.A., de Goede, R.G.M., Adams, B.J., Ahmad, W., Andriuzzi, W.S., Bardgett, R.D., Bonkowski, M., Campos-Herrera, R., Cares, J.E., Caruso, T., Caixeta, L.d.B., Chen, X., Costa, S.R., Creamer, R., Castro, J.M.C., Dam, M., Djigal, D., Escuer, M., Griffiths, B.S., Gutiérrez, C., Hohberg, K., Kalinkina, D., Kardol, P., Kergunteuil, A., Korthals, G., Krashevska, V., Kudrin, A.A., Li, Q., Liang, W., Magilton, M., Marais, M., Martin, J.A.R., Matveeva, E.,

Mayad, E.H., Mulder, C., Mullin, P., Neilson, R., Nguyen, T.A.D., Nielsen, U.N., Okada, H., Ruis, J.E.P., Pan, K., Peneva, V., Pellisier, L., da Silva, J.C.P., Pitteloud, C., Powers, T.O., Powers, K., Quist, C.W., Rasmann, S., Sánchez-Moreno, S., Scheu, S., Setälä, H., Sushchuk, A., Tiunov, A.V., Trap, J., van der Putten, W., Vertergård, M., Villenave, C., Waeyenberge, L., Wall, D.H., Wilschut, R., Wright, D.G., Yang, J.-I. and Crowther, T.W. (2019) Soil nematode abundance and functional group composition at a global scale. *Nature*, Volume 572, p. 194–198.

Vannote, R.L., Minshall, G.W., Cummins, K.W., Sedell, J.R. and Cushing, C.E. (1980). The river continuum concept. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37, p. 130-137.

Vereecken, H., Maes, J., Feyen, J. and Darius, P. (1989) Estimating the soil moisture retention characteristic from texture, bulk density, and carbon content. *Soil Science*, 6, p. 389-403.

Vervoort, M.T.W., Vonl, J.A., Mooijman, P.J.W., van den Elsen, S.J.J., van Megen, H.H.B., Veenhuizen, P., Landeweert, R., Bakker, J., Mulder, C. and Helder, J. (2012) SSU Ribosomal DNA-Based Monitoring of Nematode Assemblages Reveals Distinct Seasonal Fluctuations within Evolutionary Heterogeneous Feeding Guilds. *PLoS One*, 7(10).

Viglierchio, D.R. (1991) *The World of Nematodes* David R. Viglierchio, Davis, California.

Vinciguerra, M.T. (2006) Dorylaimida Part II: Superfamily Dorylaimoidea. *Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*, p. 392-467.

Vitousek, P.M., Aber, J.D., Howarth, R.W., Likens, G.E., Matson, P.A., Schindler, D.W., Schlesinger, W.H. and Tilman, D.G. (1997) Human Alteration of the Global Nitrogen Cycle: Sources and Consequences. *Ecological Applications – Ecological Society of America*, volume 7.

Wall, D.H. and Moore, J.C. (1999) Interactions Underground: Soil biodiversity, mutualism, and ecosystem processes. *BioScience*, Volume 49, Issue 2, p. 109–117.

Wang, Y., Naumann, U., Eddelbuettel, D., Wilshire, J. and Warton, D. (2019). *mva*: Statistical Methods for Analysing Multivariate Abundance Data. R package version 4.0.1.

Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H. and Wall, D.H. (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304, p. 1629-1633.

Wardle, D.A., Verhoef, H.A. and Clarholm, M. (1998) Soil Biota and Global Change: Trophic relationships in the soil microfood-web: predicting the responses to a changing global environment. *Global Change Biology*, 4, p. 713–727.

Whitehead, A.G. and Hemming, J.R. (1965) A Comparison of Some Quantitative Methods Extracting Small Vermiform Nematodes from the Soil. *Annals of Applied Biology*, 55, p. 25-38.

Wickham, H. (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York,

Wickham, H., François, R., Henry, L. and Müller, K. (2019). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. R package version 0.8.3.

Wilke, C.O. (2019) *cowplot: Streamlined Plot Theme and Plot Annotations for 'ggplot2'*. R package version 1.0.0.

Xu, K., Du, Y., Lei, Y. and Dai, R. (2010) A practical method of Ludox density gradient centrifugation combined with protargol staining for extracting and estimating ciliates in marine sediments. *Eur J Protistol*, Nov;46(4), p. 263-270.

- Yeates, G.W.** (2003) Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biology and Fertility of Soils*, 37, p. 199–210.
- Yeates, G.W.** and Hughes, K.A. (1990) Effect of three tillages regimes on plant and soil nematodes in an oats/maize rotation. *Pedobiologia*, Volume 34, No.6, p. 379-387.
- Yeates, G.W., Bongers, T., De Goede, R.G.M., Freckman, S.S.** and Georgieva (1993) Feeding habits in soil nematode families and genera – an outline for soil ecologists. *J. Nematol.*, 25, p. 315-331.
- Yeates, G.W., Ferris, H., Moens, T.** and Van der Putter, W.H. (2009) *The Role of Nematodes in Ecosystems. Nematodes as environmental indicators.*
- Zhang, Z.-Q.** (2013) Animal Biodiversity: An Outline of Higher-level Classification and Survey of Taxonomic Richness (Addenda 2013). *Zootaxa*, 3703, p. 1–82.
- Zhang, J.H.** and Zheng, G.Q. (2016) Estrutura da comunidade de nematóides do solo na rizosfera de *Lycium barbarum*. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 27 (5), p. 1647-1656.
- Zhao, C., Sun, F., Yu, C., Zhu, L., Li, Y., Zhou, Z., Yang, G., Wang, W.** and Miao, R. (2017) Soil Nematode Trophic Groups in Four Different Plantations in Southern China: Implications for Restoration. *Pol. J. Environ. Stud.* Vol. 27, No. 2, p. 1-8.
- Zullini, A.** (1976) Nematodes as Indicators of River Pollution. *Nematol. Medit.*, 4, p. 13–15.

Sites consultados:

- Appelberg, R. (2017) Apontamentos, Pontes Antigas de Portugal. Consultado em 18/03/2019, disponível em: <https://apontamentos.wordpress.com/grid-page/bacia-do-rio-cavado/>
- CLIMALERT (2016) JPI Climate. Consultado em 04/06/2018, disponível em: <http://www.jpi-climate.eu/nl/25223440-CLIMALERT.html>
- Copernicus - The European Earth Observation Programme (2018) Consultado em 05/06/2018, disponível em: <http://copernicus.eu/>
- Copernicus - The European Earth Observation Programme (2018) Consultado em 16/11/2018, disponível em: <https://land.copernicus.eu/pan-european/corine-land-cover>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019) GIAHS – Globally Important Agricultural Heritage Systems. Consultado em 19/09/2019, disponível em: <http://www.fao.org/giahs/en/>
- Geraldes, H. (2010) Botânicos apresentam lista com as 4000 espécies de plantas de Portugal. Público. Consultado em 18/11/2019, disponível em: <https://www.publico.pt/2010/10/17/ciencia/noticia/botnicos-apresentam-lista-com-as-4000-especies-de-plantas-de-portugal-1461420>
- Graesch, J. (2012) Benefit From Beneficial Nematodes. *Greenhouse Power*. Consultado em 04/06/2018, disponível em: <http://www.greenhousegrower.com/production/insect-control/benefit-from-beneficial-nematodes/>

Nematodes in agriculture (2013) Multiguard Project. Consultado em 02/06/2018, disponível em: <http://www.multiguardprotect.com/nematode-information/nematodes-agriculture/>

O que são os SIG? O Poder dos Mapas (2017) Esri Portugal. Consultado em 04/06/2018, disponível em: <http://www.esriportugal.pt/O-que-sao-os-SIG->

QGIS Development Team (2019). QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. Consultado em 07/09/2018, disponível em: <http://qgis.osgeo.org>

R Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Consultado em 02/09/2018, disponível em: <http://www.R-project.org/>.

Rio Cávado in Artigos de apoio Infopédia [em linha]. Porto: Porto Editora, (2003-2018). Consultado em 03/06/2018, disponível em: [http://www.infopedia.pt/apoio/artigos/\\$rio-cav](http://www.infopedia.pt/apoio/artigos/$rio-cav)

6. Anexos

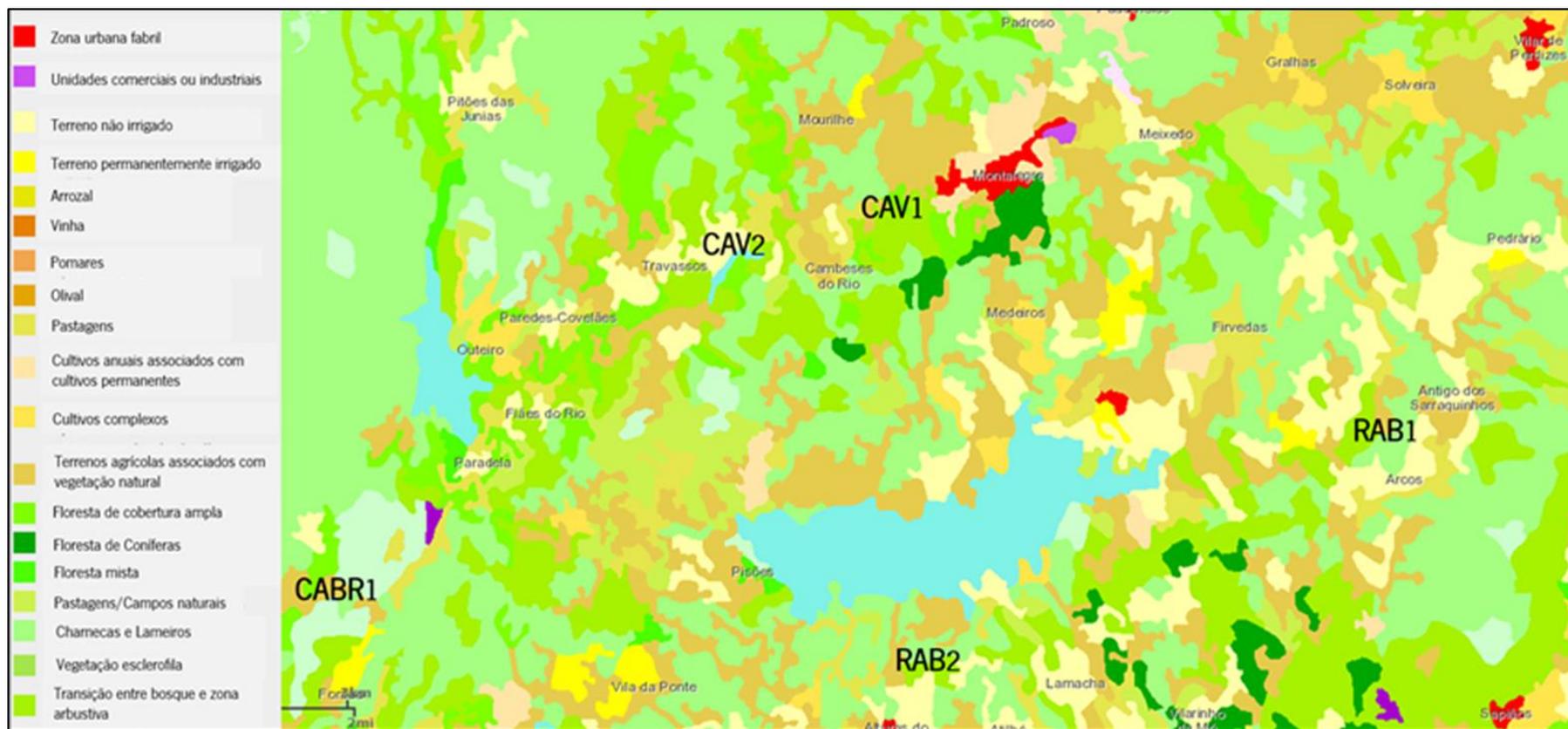


Figura A1 – Mapa das *layers* territoriais na zona envolvente do concelho de Montalegre

