

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-Graduação em Ciências Biológicas
Mestrado em Comportamento e Biologia Animal

Haroldo Lobo dos Santos Nascimento

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DE *Limnodrilus hoffmeisteri* CLAPAREDE, 1862 E
Branchiura sowerbyi BEDDARD, 1892 (OLIGOCHAETA: TUBIFICIDAE)**

Juiz de Fora
2009

Haroldo Lobo dos Santos Nascimento

**ASPECTOS REPRODUTIVOS DE *Limnodrilus hoffmeisteri* CLAPAREDE, 1862 E
Branchiura sowerbyi BEDDARD, 1892 (OLIGOCHAETA: TUBIFICIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, área de concentração: Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Roberto da Gama Alves

Juiz de Fora
2009

Nascimento, Haroldo Lobo dos Santos.

Aspectos reprodutivos de *Limnodrilus hoffmeisteri* CLAPAREDE, 1862 e *Branchiura sowerbyi* BEDDARD, 1892 (Oligochaeta: Tubificidae) / Haroldo Lobo dos Santos Nascimento. – 2009.

58 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal)—
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2009.

1. Microbiologia - Oligoquetos. 2. Poluição da água. I. Título.

CDU 576.8

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus **pais**, pelo exemplo de dedicação e luta, e por depositarem em mim total confiança e apoio para me dedicar aos estudos.

À **Anna Cláudia**, pela paciência, amor e carinho nas horas boas e ruins.

Aos meus irmãos, **Ricardo e Felipe**, por todos os excelentes momentos vividos.

A toda minha **família** pelo apoio e incentivo para conclusão do mestrado.

Ao grande amigo/irmão **Bruno** pela compreensão, lealdade e amizade.

Aos amigos **Fabírcia Valle** e **Lucas Soares** pela convivência musical que de alguma forma me ajudaram a encarar com mais leveza todo esse processo.

A meu orientador e amigo **Roberto da Gama Alves**, por todas as conversas esclarecedoras sobre os experimentos e sobre a vida, por iluminar o caminho da ciência e suas descobertas.

A todos **integrantes do Laboratório de Invertebrados Bentônicos (L.I.B.)** pela convivência diária de laboratório.

Aos meus **colegas de classe** pelos excelentes dois anos de convivência, em especial aos amigos **Leonardo, Renato, Mateus, Adalgisa, Beatriz, Vívian** e “agregados”, por proporcionarem grandes momentos, pelos sofrimentos e alegrias vividas juntos, e por trazer alegria e descontração durante as difíceis e desgastantes jornadas de laboratório.

Ao professor **Érick Daemon**, pelo apoio logístico e convivência do dia-a-dia da pós-graduação. Ao professor **Fábio Prezoto** pelas oportunidades, à professora **Juliane Lopes**, pelo auxílio nas análises estatísticas, à professora **Stephane D’Ávila** pelas conversas esclarecedoras e apoio com várias referências. E a todos os demais **professores do Departamento de Zoologia** da UFJF, pelos ensinamentos, pois sem eles não seria possível a conclusão deste estudo.

Agradeço também à **Marlú** e **Andreia** pelos auxílios com a parte burocrática.

Agradeço a **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)** pela bolsa de estudo a mim concedida.

Enfim, agradeço a todos que me apoiaram e que de alguma forma colaboraram para a execução deste trabalho. Obrigado!

RESUMO

Os representantes da classe Oligochaeta são de grande importância para os ecossistemas dulciaquícolas, pois além de participarem do processo de mineralização da matéria orgânica, fazem a mistura do sedimento, transportando substâncias profundas para a superfície e tornando-as disponíveis a biota. Dentre os oligoquetas que habitam ambientes límnicos, destaca-se a família Tubificidae, na qual diversas espécies representativas são amplamente estudadas como indicadoras de ambientes poluídos (por exemplo, *Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri* e *Branchiura sowerbyi*). A biologia dessas espécies tem sido objeto de pesquisas em diversos países, porém no Brasil, apesar dos relatos de ocorrência, há uma carência considerável de trabalhos sobre este assunto. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo estudar os atributos biológicos de *L. hoffmeisteri* e *B. sowerbyi*, oriundos de ambientes aquáticos brasileiros. Para tanto, foram realizados dois experimentos com *L. hoffmeisteri*: o primeiro para avaliar a influência da temperatura na reprodução e o segundo a influência da biomassa corporal na produção de casulos. Além destes, duas populações, de 30 organismos cada, cultivadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e em duas frações granulométricas de areia, foram observadas durante um período de 25 semanas, contadas a partir da eclosão do jovem, para verificar o tempo de maturação sexual, crescimento e reprodução da espécie. Já para *B. sowerbyi*, uma observação de 52 semanas foi realizada para uma população de 30 indivíduos mantida a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, tendo como objetivos verificar também a taxa de crescimento, tempo de maturação sexual e taxa de reprodução. A partir dos resultados, verificou-se que a temperatura tem influência na reprodução de *L. hoffmeisteri*, com maior produção de casulos a temperaturas mais elevadas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$). Para alguns autores esse fato pode ser utilizado como um parâmetro para indicar poluição térmica em regiões temperadas. Além da temperatura, a biomassa corporal também teve influência na produção de ovos, sendo esta diretamente proporcional ao peso corporal do organismo. Com as observações realizadas durante as 25 semanas, foi possível determinar (valores para areia fina e média respectivamente): tempo de eclosão (8 a 12 dias, para os dois substratos testados), taxa média de crescimento diário ($2,14 \pm 0,75$ e $2,04 \pm 0,42\%$), tempo de maturação sexual ($7,17 \pm 2,93$ e $9,00 \pm 2,00$ semanas) e número de casulos produzidos por adulto por dia ($0,37 \pm 0,22$ e $0,23 \pm 0,24$ casulos) de *L. hoffmeisteri*. De acordo com os resultados, não foi possível afirmar que a espécie se desenvolva melhor em areia de granulometria fina ou média. Já a espécie *B. sowerbyi*, apresenta dois ciclos anuais de reprodução, sendo o primeiro mais expressivo que o segundo

em relação ao número de casulos, visto que a postura foi constante durante o primeiro ciclo e inconstante no segundo. Os resultados do presente estudo revelaram aspectos sobre os atributos biológicos de duas espécies de tubificídeos (*L. hoffmeisteri* e *B. sowerbyi*), ainda pouco estudadas no país, os quais podem ser incorporados em futuros estudos ecológicos.

Palavras-chave: *Branchiura*. *Limnodrilus*. Reprodução. Tubificidae.

ABSTRACT

The organisms of the Oligochaeta Class are very important for the aquatic ecosystems, because they both participated in the organic matter mineralization and mixed the sediment, transporting substances deep into the surface, making them available to the biota. Among the limnic oligochaetes, stands the family Tubificidae, in which several species are widely recognized as indicators of organic pollution in aquatic environments (eg. *Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri* and *Branchiura sowerbyi*). The biology of these species has been researched in many countries, but in Brazil, despite the reports of occurrence, there is a lack of studies on their biologies. Thus, the present work aimed to gather information about biological attributes of *L. hoffmeisteri* and *B. sowerbyi* from Brazilian aquatic environments. To this end, two experiments involving *L. hoffmeisteri* were conducted, the first for assess the influence of the temperature on the reproduction and the second the influence of the biomass body on the production of cocoons. In spite of these experiments, two 30-individual populations, cultured in two granulometric fractions of sand and kept at $25 \pm 1^\circ\text{C}$, were observed, during 25 weeks for verify the time spent for reach the maturity, growth and reproduction rate, for the two types of substrate. For *B. sowerbyi*, a 52-week observation was made for a 30-individual population, aiming to verify the same objectives describes for the other species. From the results, verified that the temperature has great influence on the reproduction of *L. hoffmeisteri*, a great production of cocoons was recorded at high temperatures. For some authors, this fact could be used as a parameter to indicate thermal pollution in temperate regions. Besides the temperature, biomass body also had an influence on eggs production, which is directly proportional to the weight of the organisms. From the observations during the 25 weeks, it was possible to determine (for fine sand and medium sand, respectively): hatching time (8 to 12 days, for both sediments), the mean specific daily growth rate (2.14 ± 0.75 e $2.04 \pm 0.42\%$), maturation time (7.17 ± 2.93 e 9.00 ± 2.00 weeks) and the mean number of cocoons laid per adult per day (0.37 ± 0.22 e 0.23 ± 0.24 cocoons) for of *L. hoffmeisteri*. According the results, it isn't possible to affirm that this species develops better in one of the substrates types tested. *B. sowerbyi*, according the results of the 52 weeks of observation, shown two annuals reproductive cycles, the first been more expressive, in the number of cocoons, than the second, since the posture of cocoons was constant during all the first cycle and inconstant during the second one. The results of the present work revealed important aspects of the biological attributes of two tubificids species

(*L. hoffmeisteri* and *B. sowerbyi*), little studied in Brazil, that should be incorporated into futures ecologies researches.

Keywords: *Branchiura*. *Limnodrilus*. Reproduction. Tubificidae.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Fotografia 1	Casulo de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Oligochaeta, Tubificidae) (barra = 1 mm).....	20
Fotografia 2	Casulos de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Oligochaeta, Tubificidae), um envolto com areia (superior) e outro após a retirada dessa areia (inferior)	25
Gráfico 1	Número total de casulos (coluna preta) e de ovos (coluna branca) produzidos por <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> cultivados a 15, 20 e 25 ± 1°C	20
Gráfico 2	Número de casulos e número de ovos postos por <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> nos tratamentos A (peso médio inicial 6,63 ± 1,28 mg) e B (peso médio inicial 12,44 ± 3,99 mg).....	25
Gráfico 3	Regressão linear simples entre o peso médio de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Oligochaeta, Tubificidae) e o número de ovos por casulo produzidos a 15 ± 1°C (p < 0,05).....	26
Gráfico 4	Tempo entre a postura do casulo e eclosão dos jovens de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Oligochaeta, Tubificidae) cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) e areia fina (0,057 – 0,250 mm) à 25 ± 1°C	31
Gráfico 5	Peso médio (± desvio padrão) de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Oligochaeta, Tubificidae) cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a 25 ± 1°C	32
Gráfico 6	Número médio de casulos por adulto por semana de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Oligochaeta, Tubificidae), cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a 25 ± 1°C	33
Gráfico 7	Média semanal de ovos por casulo de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Oligochaeta, Tubificidae), cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a 25 ± 1°C	33
Gráfico 8	Tempo entre a postura do casulo e eclosão dos jovens de <i>Branchiura sowerbyi</i> cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) à 25 ± 1°C	39
Gráfico 9	Peso médio de <i>Branchiura sowerbyi</i> (Oligochaeta, Tubificidae)	

	cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$	40
Gráfico 10	Número de casulos por adulto e média de ovos por casulo semanal de <i>Branchiura sowerbyi</i> cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores médios (\pm desvio padrão) de ovos·casulo ⁻¹ , casulos·adulto·dia ⁻¹ e jovens·adulto ⁻¹ , e número total de jovens de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> mantidos a 15, 20 e 25 \pm 1°C.....	20
Tabela 2	Peso médio úmido (inicial e final), e taxa média de crescimento diário de <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> , mantidos a 15 \pm 1°C por 21 dias	24
Tabela 3	Número médio de ovos por casulo (\pm desvio padrão) e de casulos por adulto por dia (\pm desvio padrão) e taxa média de crescimento diário [antes da primeira postura (Gw% _(AP)) e após as 25 semana (Gw% _(G))] (\pm desvio padrão), observados para <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a 25 \pm 1°C durante 175 dias	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	11
1.1 <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i>	13
1.2 <i>Branchiura sowerbyi</i>	14
1.3 Importância do Estudo.....	16
2 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA REPRODUÇÃO DE <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> CLAPAREDE, 1862 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE)	18
2.1 Materiais e Métodos	19
2.2 Resultados.....	19
2.3 Discussão.....	21
3 RELAÇÃO ENTRE BIOMASSA E POSTURA DE <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> CLAPAREDE, 1862 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE)	22
3.1 Materiais e Métodos	23
3.2 Resultados.....	24
3.3 Discussão.....	26
4 ASPECTOS REPRODUTIVOS DE <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> CLAPAREDE, 1862 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE), CULTIVADOS EM DOIS SUBSTRATOS ARENOSOS	29
4.1 Materiais e Métodos	29
4.2 Resultados.....	31
4.3 Discussão.....	33
5 CICLO REPRODUTIVO DE <i>Branchiura sowerbyi</i> BEDDARD, 1892 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE), CULTIVADO SOB CONDIÇÕES LABORATORIAIS	36
5.1 Materiais e Métodos	37
5.2 Resultados.....	38
5.3 Discussão.....	40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	43

REFERÊNCIAS	44
ANEXOS	51

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A Classe Oligochaeta possui representantes nos ambientes terrestre, marinho e água doce. Os oligoquetas desempenham duplo papel na cadeia trófica, pois participam do processo de mineralização da matéria orgânica não assimilável (KIKUCHI e KURIHARA, 1982), e servem de alimento para outros animais como, por exemplo, peixes (KOSIOREK, 1974) e insetos aquáticos (LODEN, 1974), sendo que alguns grupos são predadores de outros invertebrados. Os oligoquetas também participam do processo de bioturbação do sedimento, transportando substâncias profundas para a superfície, tornando-as disponíveis a biota aquática (DAVIS, 1974), além de, através da excreção de amônia, aumentar a concentração de nitrogênio no ambiente (LOTESTE e MARCHESE, 1994).

Os oligoquetas são organismos hermafroditas, possuem gônadas distintas e vários órgãos reprodutivos limitam-se a alguns segmentos corporais genitais. Na maioria dos grupos aquáticos existe um segmento ovariano seguido por um segmento testicular, e estes estão, freqüentemente, situados na região do clitelo, que é uma estrutura reprodutiva característica de oligoquetas que se encontram na fase reprodutiva. A fecundação é cruzada, quando ocorre troca mútua de espermatozoides (RUPPERT e BARNES, 1996).

Poucos dias após a cópula, secreta-se um casulo para deposição dos ovos, formado por uma substância resistente, semelhante à quitina, secretada pelo clitelo. Depois de formado, o casulo desliza para frente sobre a extremidade anterior, à medida que o organismo desloca-se para trás. Os ovos são depositados no interior do casulo pelos gonóporos femininos durante o seu deslocamento. Após liberados, as extremidades do casulo se contraem e se selam. Os oligoquetas jovens emergem do casulo em tempo que pode variar de alguns dias a meses, dependendo da espécie e das condições ambientais (RUPPERT e BARNES, 1996).

Além da reprodução sexuada, descrita acima, comum a todos os oligoquetas, a reprodução assexuada para algumas espécies da família Naididae é mais frequentemente observada (LOCHHEAD e LEARNER, 1983; JUGET et al., 1989; MARTIN et al., 2008). Este tipo de reprodução se dá por divisão do organismo em dois ou mais novos indivíduos, seguido por regeneração (paratomia). Não raramente, forma-se uma nova zona de fissão antes mesmo de ocorrer a divisão do indivíduo antigo. Essas divisões “retardadas” produzem cadeias de indivíduos também chamados de zoóides, processo denominado arquitomia (RUPPERT e BARNES, 1996; MARTIN et al., 2008).

Dentre os oligoquetas que habitam ambientes límnicos destaca-se a família Tubificidae, na qual diversas espécies representantes são amplamente estudadas como

indicadoras de ambientes poluídos, como é o caso das espécies cosmopolitas *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) e *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 e da espécie tropical *Branchiura sowerbyi* Beddard, 1892, que são comumente encontradas em substratos de ambientes aquáticos enriquecidos organicamente (PENNAK, 1978).

A capacidade do sedimento em acumular compostos faz deste compartimento um dos mais importantes na avaliação do nível de contaminação desses ambientes (ESTEVES, 1988), sendo que o grau de contaminação do substrato e da água é comumente avaliado através da análise da concentração de compostos químicos; entretanto, esta análise não revela a biodisponibilidade e nem os seus efeitos negativos sobre a biota aquática. Nesse enfoque, estudos têm sido realizados para se desenvolver técnicas que utilizem atributos biológicos, que complementem a avaliação química (REYNOLDS, 1994). Casellato et al. (1992) ressaltam que para se utilizar uma espécie em estudos de ecotoxicologia, que tem por objetivo avaliar o grau de contaminação do sedimento de rios e lagos por poluentes, torna-se necessário, primariamente, o conhecimento de seus atributos biológicos. Reynoldson (1994) observou que concentrações de algumas substâncias químicas na água e/ou sedimento causaram diminuição no número de casulos e um aumento na mortalidade da espécie *T. tubifex*. O autor resalta também a importância destes testes biológicos, já que apenas avaliações químicas não foram capazes de detectar algumas substâncias nocivas a estes organismos.

Segundo Keilty et al. (1988), a utilização de respostas biológicas e comportamentais de oligoquetas a estímulos de contaminantes do sedimento, para avaliação do impacto dos poluentes em comunidades bentônicas, é promissor; pois, informações sobre a biologia do grupo, tais como sobrevivência, crescimento e reprodução podem ser obtidas em laboratórios com equipamentos simples (WIEDERHOLM et al., 1987).

Consideráveis contribuições para o entendimento da distribuição, assim como, das estratégias demográficas de algumas espécies importantes se dão através de observações e culturas laboratoriais mantidas sob condições controladas (KOSIOREK, 1974; BONACINA et al., 1987). Segundo Bonomi e Pasteris (2006), somente estudando culturas contendo indivíduos de mesma idade é que se pode gerar um real progresso no entendimento das características da biologia da população. O estudo dessas culturas é o melhor procedimento para a construção de tabelas de vida, um dos principais métodos usados por ecologistas para relatar informações específicas sobre sobrevivência e fecundidade.

A seguir será feita uma breve revisão sobre a biologia das duas espécies de oligoqueta, *Limnodrilus hoffmeisteri* e *Branchiura sowerbyi*, foco deste estudo.

1.1 *Limnodrilus hoffmeisteri*

O Tubificidae *L. hoffmeisteri* é um oligoqueta aquático comum e abundante em diversas partes do mundo (KENNEDY, 1965) e amplamente utilizado como indicador de ambientes organicamente poluídos, onde é frequentemente encontrado em elevada abundância numérica (PAOLETTI e SAMBUGAR, 1984; VERDONSCHOT, 1989; FINOGENOVA, 1996; ALVES e LUCCA, 2000; ALVES et al., 2006; MARTINS et al., 2008). Estes locais são caracterizados por apresentarem uma baixa concentração de oxigênio dissolvido, o que impossibilitaria a sobrevivência desses organismos se não fosse a presença da hemoglobina, responsável pelo transporte do oxigênio, no sistema sanguíneo desses animais (PANIS et al., 1996). Essa espécie pode também ser encontrada em ambientes preservados, ou com uma menor contribuição de matéria orgânica e elevadas concentrações de oxigênio dissolvido, porém, em menor número de indivíduos por unidade de área quando comparado aos sistemas anteriormente citados (ALVES et al., 2008).

Estudos têm sido realizados para compreender a biologia dessa espécie (KENNEDY, 1965; ASTON, 1973; FISHER e BEETON, 1975; REYNOLDSON, 1987; PASTERIS et al., 1999; RABURU et al., 2002), porém, esses trabalhos têm mostrado resultados divergentes, principalmente com relação à taxa de crescimento e ao número de casulos e ovos encontrados. Essa divergência está relacionada à falta de padronização das metodologias utilizadas nos experimentos, o que dificulta a obtenção de informações sobre os fatores que influenciam a sua distribuição, comportamento, fisiologia e reprodução (FISHER e BEETON, 1975; SOBHANA e NAIR, 1984). Vale ressaltar que as pesquisas envolvendo o ciclo de vida desse tubificídeo se concentram em regiões temperadas, enquanto há uma carência de estudos sobre seus atributos reprodutivos em regiões tropicais (RABURU et al., 2002).

Kennedy (1966), ao estudar a história de vida de *L. hoffmeisteri*, levantou a hipótese de que os indivíduos dessa espécie não se reproduzem antes de um ano de vida e que o ciclo completo é de, aproximadamente, dois anos. O autor observou também que as condições ambientais locais influenciam tanto no crescimento e maturação sexual quanto na reprodução, sendo que a maior influência pode estar relacionada à produtividade do habitat. A temperatura, segundo o autor, também é um fator importante que pode regular a produção de ovos e casulos durante as estações do ano. Aston (1973) verificou que esta variável causou maior efeito na reprodução dessa espécie quando comparada à concentração de oxigênio dissolvido na água, que não interferiu na postura de ovos. Em seu estudo observou ainda que, após cinco semanas, houve maior produção de embriões à temperatura de 25°C, quando

comparado com as outras testadas (5, 10, 15, 20 e 30°C), porém, devido à grande variação encontrada, os resultados não apresentaram diferença significativa. Ao final do experimento, Aston (op. cit.) notou ainda a presença de um número maior de indivíduos maduros, nas temperaturas de 25 e 30°C, do que havia sido colocado no início, o que, para o autor, indicou que, nessas temperaturas, essa espécie é capaz de desenvolver-se do embrião até a maturidade sexual em um tempo inferior a cinco semanas, tempo muito inferior a hipótese de Kennedy (1966).

Trabalhar com *L. hoffmeisteri* não é uma tarefa fácil, principalmente com relação à identificação dos organismos. Os jovens dessa espécie são semelhantes aos de outras espécies desse gênero, sendo necessário atingirem a maturidade sexual para uma correta identificação (BRINKHURST e MARCHESE, 1989), e para completar, os casulos de *L. hoffmeisteri* são muito semelhantes aos de outros tubificídeos, o que impossibilita a sua distinção (KENNEDY, 1966). Além disso, ficam cobertos por partículas finas de sedimento, o que dificulta a sua localização no substrato (ASTON, 1973; LAZIM et al., 1989).

Aston (1973) observou, em seus experimentos, média de, aproximadamente, 5,00 ovos por casulo para *L. hoffmeisteri* mantidos a 15, 20 e 25°C, e notou que o número de casulos produzidos nos dois experimentos (o primeiro envolvendo diferentes temperatura e o segundo, diferentes concentrações de oxigênio dissolvido) foram diferentes entre si. No segundo estudo, ele relatou uma média de 1,35 ovos por casulo, valor este inferior ao encontrado para o primeiro experimento, para a temperatura de 15°C, relatado anteriormente. Essa diferença, segundo o autor, pode estar relacionada a diferenças entre o peso médio dos indivíduos utilizados, já que no primeiro experimento, o peso médio foi de 10,5 mg contra 3,5 mg do segundo. Entretanto, nenhum outro trabalho que pudesse comprovar essa hipótese foi encontrado, o que motivou a realização do experimento que será apresentado no Capítulo 2 desta dissertação.

1.2 *Branchiura sowerbyi*

A espécie *B. sowerbyi* apresenta grande potencial para o monitoramento das condições ecológicas de ambientes límnicos tropicais, por ser nativa, apresentar alta taxa de fecundidade e tolerar baixas concentrações de oxigênio, e também, assim como *L. hoffmeisteri*, é associada a ambientes enriquecidos organicamente (ASTON, 1968; ASTON, 1973; ASTON e MILNER, 1981).

A espécie produz casulos transparentes e relativamente grandes (2–4 mm de comprimento) contendo de um a oito ovos (ASTON, 1968). Os embriões apresentam um desenvolvimento precoce dos filamentos branquiais (um par por segmento) na região posterior do corpo, característica peculiar dessa espécie (BONACINA et al., 1994), o que facilita sua identificação entre os demais organismos dessa família. Além da especialização respiratória, essa espécie possui também especializações neuro-sensoriais que maximizam a detecção de vibrações do substrato, toque e deslocamento de água, aumentando o sucesso na fuga contra predadores (DREWES e ZORAN, 1989).

Apesar de ser um tubificídeo de clima tropical, também é encontrado em alguns rios e lagos de países temperados, onde é comumente utilizado como indicador de poluição térmica (ASTON, 1968; BONACINA et al., 1994). De acordo com Aston (1968) ainda não está clara a origem da espécie, podendo ser Asiática ou Sul-americana. Na Europa, essa espécie foi introduzida juntamente com plantas aquáticas oriundas de países tropicais, o que explica sua ocorrência abundante em jardins botânicos europeus. Este autor verificou que o crescimento e reprodução de *B. sowerbyi* são influenciados pela temperatura, e constatou que não há atividade reprodutiva da espécie em temperaturas inferiores a 10°C, dado confirmado por Bonacina et al. (1994). Esta é uma temperatura limiar (T_0) elevada para a reprodução quando comparada a de espécies cosmopolitas como, por exemplo, *L. hoffmeisteri* ($T_0 = 4^\circ\text{C}$) e *T. tubifex* ($T_0 = 0^\circ\text{C}$) (BONACINA et al., 1987), o que limita a distribuição da espécie a rios e lagos que apresentam temperatura média superior a 10°C.

Ainda com relação à temperatura, Aston et al. (1982) e Bonacina et al. (1994) mostraram que os maiores índices de crescimento e reprodução de *B. sowerbyi* são atingidos à temperatura de 25°C, podendo dobrar sua população em um período menor que duas semanas. Marchese e Brinkhurst (1996) constataram que a maior taxa de produção de casulos foi atingida à temperatura de 30°C, e o maior número de jovens por casulo a 25°C. Em culturas de casulos, a esta temperatura, o desenvolvimento completo do embrião e posterior eclosão do jovem leva, aproximadamente, três semanas (NASCIMENTO e ALVES, 2008).

Além da temperatura, a concentração de matéria orgânica no sedimento, segundo Aston e Milner (1981), é um fator que interfere na reprodução e crescimento da espécie. Os autores verificaram que o lodo ativado, produto resultante de tratamento de efluentes, misturado a areia, na concentração de 33%, promove boas condições para o cultivo desses organismos, por outro lado, concentrações elevadas de lodo ativado (66% ou superiores) diminuem a sobrevivência, reprodução e crescimento dos organismos, o que pode estar relacionado à diminuição do oxigênio dissolvido devido à alta taxa de decomposição.

Essa espécie, normalmente encontrada em elevada abundância nos ambientes aquáticos (ALVES e STRIXINO, 2000; RABURU et al., 2002; PAMPLIN et al., 2005; DORNFELD et al., 2006), quando cultivada em condições laboratoriais (25°C), apresenta uma baixa taxa de eclosão, como relatado por alguns autores (34,4% - Marchese e Brinkhurst (1996), 31,0% - Ducrot et al. (2007) 44,93% - Nascimento e Alves (2008)), entretanto, com elevada taxa de sobrevivência dos jovens, podendo chegar a 96% de acordo com Ducrot et al. (2007). Sua maturidade sexual é atingida em, aproximadamente, 35 dias, com uma média diária de crescimento de 0,58 mg·dia⁻¹ (MARCHESE e BRINKHURST, 1996). Após atingir a maturidade sexual, os organismos apresentam uma média de postura de 0,17 casulos·dia⁻¹ (DUCROT et al., 2007). A expectativa de vida desta espécie ainda é imprecisa; estima-se um intervalo entre 18 (ASTON, 1968) e 36 meses (DUCROT et al., 2007). A imprecisão pode estar relacionada ao grande esforço e dificuldade nas observações desses organismos durante um longo período.

1.3 Importância do Estudo

A biologia de *B. sowerbyi* tem sido objeto de estudo em diversos países, como Argentina (MARCHESE e BRINKHURST, 1996), Estados Unidos (NAQVI, 1973; DREWES e ZORAN, 1989), França (DUCROT et al., 2007), Itália (CASELLATO et al., 1992; BONACINA et al., 1994) e Grã-Bretanha (ASTON, 1973; ASTON e MILNER, 1981; ASTON et al., 1982; ASTON, 1984). No Brasil, apesar dos relatos de ocorrência da espécie (TAKEDA, 1999; ALVES e STRIXINO, 2000; PAMPLIN et al., 2005; DORNFELD et al., 2006; OLIVEIRA, 2006), há uma carência considerável de estudos sobre a sua biologia. Para *L. hoffmeisteri* existem pesquisas sobre taxa de respiração (BRINKHURST et al., 1972; CHAPMAN et al., 1982), taxa de defecação (APPLEBY e BRINKHURST, 1970) e crescimento (BRINKHURST et al., 1972; REYNOLDSON, 1987) da espécie, no entanto, há falta de estudos com populações oriundas de regiões tropicais, visto que os relatos se concentram em países de clima temperado.

De acordo com Reynoldson et al. (1996), populações distintas podem apresentar diferenças em sua biologia, como observado pelos autores ao estudarem *T. tubifex* de localidades diferentes (América do Norte e Espanha). Eles observaram diferenças na produção de casulos, taxa de crescimento e resistência a diferentes tóxicos. Esse estudo justifica a importância de se estudar atributos biológicos de uma determinada espécie mesmo que estes já tenha sido gerados em outras regiões. O conhecimento dos atributos biológicos de

uma espécie, segundo Casellato et al. (1992), é essencial para subsidiar estudos relacionados à ecologia aplicada, como por exemplo, a ecotoxicologia.

Com isso, a presente dissertação teve como objetivo estudar os atributos biológicos de *L. hoffmeisteri* e *B. sowerbyi*, oriundos de ambientes aquáticos brasileiros, sob condições laboratoriais, e com isso fornecer informações, visando minimizar as lacunas existentes sobre a biologia desses organismos em regiões tropicais.

2 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA REPRODUÇÃO DE *Limnodrilus hoffmeisteri* CLAPAREDE, 1862 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE)

Apesar da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 ser amplamente reconhecida como indicadora de ambientes aquáticos organicamente poluídos (PAOLETTI e SAMBUGAR, 1984; ALVES e LUCCA, 2000; ALVES et al., 2006), pouco se conhece sobre seus aspectos biológicos. De acordo com Raburu et al. (2002) as pesquisas envolvendo o ciclo de vida dessa espécie se concentram em regiões temperadas, enquanto há uma carência de estudos sobre seus atributos reprodutivos em regiões tropicais. Kennedy (1966), Aston (1973) e Pasteris et al. (1999) são uns dos poucos autores que relataram informações sobre a reprodução e crescimento da espécie. Dentre estes, apenas Aston (1973) avaliou a influência da temperatura sobre a reprodução de *L. hoffmeisteri*, verificando uma maior influência na reprodução comparada à concentração de oxigênio dissolvido, porém não concluiu em qual temperatura a espécie apresenta maior taxa reprodutiva.

Apesar dessa informação, resultante de pesquisas em regiões temperadas, são necessários estudos sobre os atributos reprodutivos de populações tropicais de *L. hoffmeisteri*, pois diferentes populações podem apresentar diferentes biologies, como observado por Reynoldson et al. (1996) em experimento envolvendo *Tubifex tubifex* (Muller, 1774) coletados no Canadá e Espanha. Segundo os autores existem diferenças na produção de casulos, taxa de crescimento e resistência a diferentes tóxicos entre as populações oriundas das duas localidades

No Brasil, estudos ecológicos mostraram que *L. hoffmeisteri* pode ser encontrado em diversos ambientes aquáticos, cujas temperaturas, medidas no ato da coleta, variam entre 14 e 26°C (CARVALHO e UIEDA, 2004; RIBEIRO e UIEDA, 2005; ALVES et al., 2006; FUSARI e FONSECA-GESSNER, 2006; PIEDRAS et al., 2006; ALVES et al., 2008).

O presente trabalho teve como objetivo comparar a taxa de reprodução de *L. hoffmeisteri* mantidos em três diferentes temperaturas sob condições laboratoriais, e com isso, testar a hipótese de que essa espécie apresenta maior taxa de reprodução a temperaturas mais elevadas.

2.1 Materiais e Métodos

Os exemplares de *L. hoffmeisteri* foram coletados em um córrego urbano, altamente eutrofizado (córrego do São Pedro, 21°45'46"S e 43°22'00"W), localizado no município de Juiz de Fora (MG-Brasil). Amostras de sedimento foram obtidas com uma draga de Petersen, conduzidas para o Laboratório de Invertebrados Bentônicos da Universidade Federal de Juiz de Fora e lavadas em água corrente (peneira de malha 0,25 mm). O substrato desse córrego é, predominantemente, arenoso e, de acordo com Dias et al. (2007), as propriedades físicas e químicas da água foram: oxigênio dissolvido 5,19 mg.L⁻¹, pH 8,24, condutividade 161 µS.cm⁻¹ e temperatura 21,2°C.

Setenta e cinco indivíduos adultos (com clitelo visível) foram selecionados, pesados em balança de precisão (0,1 mg) e acondicionados em 15 béqueres de 250 mL (cinco indivíduos por béquer), contendo 100 mL de areia (grãos variando entre 1,00 e 0,25 mm) e 100 mL de água desclorificada e aerada. Em cada béquer foi adicionado 0,1 g (peso seco) de ração para peixes (alconBASIC®) como fonte de matéria orgânica. Os béqueres foram divididos em três grupos de cinco e cada grupo foi mantido a uma determinada temperatura (15, 20 e 25 ± 1°C) por 21 dias. Durante este período, houve apenas o ajuste no nível da água.

A areia utilizada no experimento, coletada no Rio do Peixe (21°54'37"S e 43°33'24"W), localizado em Juiz de Fora (MG-Brasil) foi previamente analisada em microscópio estereoscópico para remoção de invertebrados.

Ao final dos 21 dias, o sedimento foi lavado em peneira de malha 0,25 mm e analisado sob microscópio estereoscópico para contagem dos casulos, jovens e adultos. Foram verificados o peso final dos adultos e as relações casulos por adulto por dia e ovos por casulo.

O teste de Kurskal-Wallis foi utilizado para comparar as variáveis peso final dos adultos, relações ovos por casulo, jovens por adulto e número de jovens, entre as temperaturas (distribuição não paramétrica comprovada pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk, p<0,05). Para comparar o número de casulos, ovos e a relação casulos por adulto por dia, entre as temperaturas, o teste ANOVA, seguido pelo teste de Tukey, foi utilizado (teste de normalidade Shapiro-Wilk, p > 0,05).

2.2 Resultados

Durante o experimento, foi registrada sobrevivência de 96, 92 e 100% nas temperaturas de 15, 20 e 25°C, respectivamente. A média dos pesos inicial e final nas três

temperaturas foram: $6,63 \pm 1,28$ e $8,01 \pm 1,60$ mg; $6,84 \pm 1,86$ e $7,51 \pm 2,38$ mg; $6,87 \pm 2,49$ e $9,37 \pm 2,96$ mg (para 15, 20 e $25 \pm 1^\circ\text{C}$, respectivamente). Não houve diferença significativa entre os pesos finais para as temperaturas testadas ($p > 0,05$).

O número de casulos e de ovos encontrados está apresentado no Gráfico 1. A aplicação do teste ANOVA, para comparar o número total de casulos, mostrou diferença significativa entre as temperaturas ($p < 0,05$), e, através do teste de Tukey, foi possível constatar que a única diferença não significativa foi entre 15 e $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ($p > 0,05$).

O número de jovens e as relações ovos·casulo⁻¹, casulo·adulto·dia⁻¹ e jovens·adulto⁻¹ estão apresentados na Tabela 1. Não foi detectada diferença significativa entre o número de ovos por casulo entre as temperaturas. Na Foto 1 é possível observar um casulo de *L. hoffmeisteri*. Ao final do experimento foi encontrado um maior número de jovens à temperatura de 25°C .

Tabela 1 – Valores médios (\pm desvio padrão) de ovos·casulo⁻¹, casulos·adulto·dia⁻¹ e jovens·adulto⁻¹, e número total de jovens de *Limnodrilus hoffmeisteri* mantidos a 15, 20 e $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Nas linhas, letras iguais significam que não houve diferença significativa entre os valores (Testes estatísticos: H – teste Kruskal-Wallis; F – teste ANOVA).

	Temperatura ($^\circ\text{C}$)			Teste Estatístico	
	15	20	25	H	F
Ovos·casulo ⁻¹	2,78 ($\pm 0,35$)	2,70 ($\pm 0,98$)	3,80 ($\pm 2,36$)	1,0018*	-
Casulos·adulto·dia ⁻¹	0,109 ($\pm 0,04$) ^a	0,074 ($\pm 0,04$) ^a	0,213 ($\pm 0,04$) ^b	-	17,8152**
Jovens·adulto ⁻¹	0,00 ($\pm 0,00$) ^a	0,08 ($\pm 0,03$) ^{ab}	1,08 ($\pm 0,64$) ^b	8,8358**	-
Número de jovens	0 ^a	2 ^{ab}	27 ^b	8,8358**	-

* - $p > 0,05$; ** - $p < 0,05$.

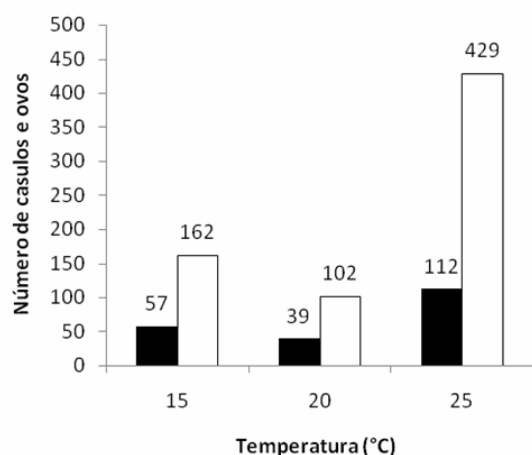


Gráfico 1 – Número total de casulos (coluna preta) e de ovos (coluna branca) produzidos por *Limnodrilus hoffmeisteri* cultivados a 15, 20 e $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

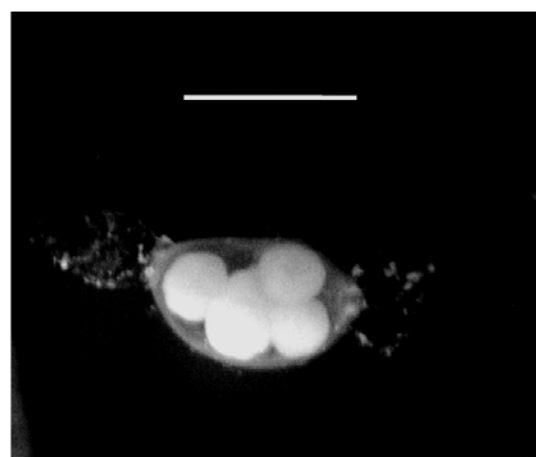


Foto 1 – Casulo de *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) (barra = 1 mm).

2.3 Discussão

O presente estudo mostrou que a maior produção de ovos e casulos de *L. hoffmeisteri* ocorreu quando cultivados a 25°C, o mesmo observado por Aston (1973) em condições laboratoriais. Aston et al. (1982) e Bonacina et al. (1994) observaram, a essa temperatura, uma maior produção de casulos para a espécie tropical *Branchiura sowerbyi* Beddard, 1892 (Tubificidae). Já para a espécie *Tubifex tubifex*, Aston (1973) observou maior produção de ovos entre 10 e 25°C. A relação ovos por casulo não apresentou diferença significativa entre as temperaturas, o mesmo tendo sido observado por Aston (1973); entretanto, em seu trabalho, encontrou média de, aproximadamente, 5 ovos por casulo, enquanto no presente estudo, foi obtido uma média de 3,25 ovos por casulo. Marchese e Brinkhurst (1996) e Nascimento e Alves (2008) observaram para *B. sowerbyi*, cultivados a 25°C, uma relação ovos por casulo inferior ao observado para a espécie em estudo ($1,94 \pm 0,13$ e $1,21 \pm 0,08$, respectivamente).

A presença de jovens de *L. hoffmeisteri* ao final do experimento sugere que o tempo necessário para o completo desenvolvimento do embrião é inferior a 21 dias. Nascimento e Alves (2008) observaram que o desenvolvimento embrionário de *B. sowerbyi* a 25° foi de 15 dias. O maior número de jovens na temperatura mais elevada se deve ao fato de que o aumento da temperatura acelera o desenvolvimento embrionário, ou seja, quanto maior a temperatura menor o tempo de desenvolvimento, porém, existem temperaturas limites as quais, quando excedidas, podem inviabilizar os ovos (RABINOVICH et al., 2006).

A espécie *L. hoffmeisteri*, oriundos de uma população brasileira, exibe maior taxa de reprodução a temperatura mais alta (25°C), similarmente ao observado por Aston (1973) para essa espécie, e por Aston et al. (1982), para a espécie tropical *B. sowerbyi*. Por outro lado, *T. tubifex* apresenta maior taxa de crescimento quando cultivados a entre 10 e 13°C (REYNOLDSON, 1987). Para Aston (1973), a maior produção de ovos, juntamente com o menor tempo gasto entre a postura do casulo e a eclosão do jovem a temperaturas mais elevadas faz de *L. hoffmeisteri* um bom indicador de poluição térmica em regiões temperadas, visto que o aumento do número de casulos irá favorecer um aumento na densidade dos organismos. O tubificídeo *B. sowerbyi* já é utilizado para esse fim nessas regiões, pois de acordo com Bonacina et al. (1994) essa espécie, nativa de regiões tropicais, não se reproduz em temperaturas inferiores a 10°C, o que limita seu desenvolvimento a ambientes aquáticos com temperaturas mais elevadas.

3 RELAÇÃO ENTRE BIOMASSA E POSTURA DE *Limnodrilus hoffmeisteri* CLAPAREDE, 1862 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE)

Espécies de oligoquetas límnicos são reconhecidas como importantes fontes de alimento para algumas espécies de insetos aquáticos (LODEN, 1974) e de peixes (KOSIOREK, 1974; GOPHEN et al., 1998; RAHMAN et al., 2006). De acordo com Riera et al. (1991), oligoquetas tubificídeos são uma das principais fontes de alimento de carpas (*Cyprinus carpus*). Yan et al. (2004) ressaltam que oligoquetas configuram-se numa rica fonte de alimento, por possuírem aproximadamente 90% do peso seco constituído de proteínas e gorduras. A biologia de espécies de tubificídeos tem sido amplamente estudada (KENNEDY, 1966; ASTON, 1973; ASTON e MILNER, 1981; LOCHHEAD e LEARNER, 1983; BONACINA et al., 1989a,b; JUGET et al., 1989; NASCIMENTO e ALVES, 2008). Autores tais como Naqvi (1973), Reynoldson (1994), Marchese e Brinkhurst (1996), Pasteris et al. (1999), Rodriguez et al. (2006) e Ducrot et al. (2007) têm utilizado informações sobre atributos reprodutivos de espécies deste grupo para discutir questões relacionadas à ecotoxicologia. De acordo com Nebeker et al. (1984), Casselato et al. (1992) e Chapman (2001), o uso de oligoquetas em pesquisas desta natureza é um tanto promissor.

O Tubificidae *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 é um oligoqueta aquático comum e abundante em diversas partes do mundo (KENNEDY, 1965), e amplamente utilizado como indicador de ambientes organicamente poluídos (PAOLETTI e SAMBUGAR, 1984; VERDONSCHOT, 1989; FINOGENOVA, 1996; ALVES e LUCCA, 2000; ALVES et al., 2006; DORNFELD et al., 2006; MARTINS et al., 2008). Os resultados de diversos estudos sobre a biologia dessa espécie (KENNEDY, 1965; ASTON, 1973; FISHER e BEETON, 1975; REYNOLDSON, 1987; PASTERIS et al., 1999; RABURU et al., 2002) têm mostrado divergências, principalmente com relação à taxa de crescimento e ao número de casulos e ovos encontrados. Este fato está relacionado à falta de padronização de metodologias, o que dificulta a repetição dos experimentos e, conseqüentemente, a obtenção de informações sobre os fatores que influenciam a sua distribuição, comportamento, fisiologia e reprodução (FISHER e BEETON, 1975; SOBHANA e NAIR, 1984).

Uma das maiores generalizações sobre a biologia de uma espécie é que o sucesso reprodutivo está positivamente relacionado ao maior tamanho corporal (WILLIAMS, 1975 *in* LEVITAN, 1991). De acordo com Aston (1973), o tamanho corporal dos organismos da espécie *L. hoffmeisteri* utilizados em seus experimentos pode ter sido o principal fator para

explicar a diferença no número de ovos e casulos encontrados. A partir dessa observação, o presente trabalho teve como objetivo verificar a hipótese de que maior biomassa implica em maior produção de ovos e/ou casulos para a espécie *L. hoffmeisteri*.

3.1 Materiais e Métodos

Os exemplares de *L. hoffmeisteri* foram coletados em um córrego urbano, organicamente poluído (córrego do São Pedro, 21°45'46"S e 43°22'00"W) (MARTINS et al., 2008), com sedimento predominantemente arenoso, localizado no município de Juiz de Fora (MG-Brasil). Amostras de sedimento foram obtidas com uma draga de Petersen, conduzidas para o Laboratório de Invertebrados Bentônicos da Universidade Federal de Juiz de Fora e lavadas em água corrente (peneira de malha 0,25 mm). Os organismos, foram triados vivos em caixa de luz, selecionados sob microscópio estereoscópico (Carl Zeiss), pesados em balança analítica (0,1 mg de precisão) e separados em dois grupos:

Grupo A: 25 indivíduos com peso aproximado de 6 mg, com clitelo visível e presença de ovos no ovissaco.

Grupo B: 25 indivíduos com peso aproximado de 12 mg, com clitelo visível e presença de ovos no ovissaco.

Cada grupo foi composto por cinco béqueres, de 250 mL (cinco indivíduos por béquer) contendo 100 mL de areia (grãos variando entre 0,25 e 1,00 mm) e 100 mL de água desclorificada e aerada. Em cada béquer foi adicionado 0,1 g (peso seco) de ração para peixes (alcon BASIC[®] – MEP200 Complex) como fonte de matéria orgânica, apenas no início do experimento. Os tratamentos foram mantidos em incubadoras tipo B.O.D (EletroLab[®] EL 101) a $15 \pm 1^\circ\text{C}$ por 21 dias (condições semelhantes às utilizadas por Aston 1973) e, durante este período, houve apenas o ajuste no nível da água.

A areia utilizada no experimento, coletada no Rio do Peixe (21°54'37"S e 43°33'24"W), localizado em Juiz de Fora (MG-Brasil) foi previamente analisada em microscópio estereoscópico (aumento 40x) para remoção de invertebrados.

Ao final dos 21 dias, o sedimento foi lavado em peneira de malha 0,25 mm e analisado sob microscópio estereoscópico (aumento de 40x) para contagem dos casulos, jovens e adultos. Para contagem dos ovos, os grãos de areia aderidos ao casulo foram retirados com auxílio de um estilete (Figura 1). Foi verificado o peso final dos adultos, número de casulos e ovos, número de casulos por adulto por dia, ovos por casulo e taxa média de crescimento diário ($G_w\%$), sendo esta calculada de acordo com Reynoldson (1987):

$$G_w\% = [(\text{Ln}W_2 - \text{Ln}W_1) \times 100] \times t^{-1}$$

onde, W_1 = biomassa (mg) inicial; W_2 = biomassa (mg) final; e t = tempo em dias.

Para comparação das variáveis (peso médio inicial e final dos adultos, número de casulos, número de ovos, relação ovos por casulo, casulos por adulto por dia e $G_w\%$) entre os tratamentos foi utilizado o teste de Mann-Whitney, com 5% de significância, pelo programa Biostat 5.0. Para verificar uma possível correlação entre o número de ovos por casulo e o peso dos adultos, foi realizada Regressão Linear Simples.

3.2 Resultados

O peso médio inicial e final e a taxa média de crescimento diário estão apresentados na Tabela 2. Ao final do experimento o percentual de sobrevivência foi de 93,3 e 100% nos tratamentos A e B, respectivamente. Não houve diferença significativa entre a taxa média de crescimento diário nos dois grupos ($p > 0,05$).

Tabela 2 – Peso médio úmido (inicial e final), e taxa média de crescimento diário de *Limnodrilus hoffmeisteri*, mantidos a $15 \pm 1^\circ\text{C}$ por 21 dias.

	Grupo A	Grupo B
Peso médio inicial (mg)*	6,63 \pm 1,28	12,44 \pm 3,99
Peso médio final (mg)*	8,01 \pm 1,60	15,89 \pm 5,97
Taxa Média de Crescimento Diário ($G_w\%$)	0,9036	1,1661

* - Teste Mann-Whitney: $p < 0,05$.

O número de casulos e de ovos encontrados é mostrado no Gráfico 2. Não houve diferença significativa entre o número total de casulos ($p > 0,05$) nos tratamentos, porém o número de ovos postos pelos oligoquetas no tratamento B foi significativamente superior ao encontrado no tratamento A ($p < 0,05$). A relação ovos por casulo foi de 2,78 (\pm 0,35) e 7,45 (\pm 2,50) nos tratamentos A e B respectivamente ($p < 0,05$). Regressão Linear Simples positiva ($p = 0,0015$) foi observada entre a relação ovos por casulo e o peso médio dos organismos (Gráfico 3). Diferença significativa ($p > 0,05$) foi encontrada para o número de casulos·adulto·dia⁻¹ entre o tratamento A (0,109 \pm 0,037) e B (0,160 \pm 0,041).

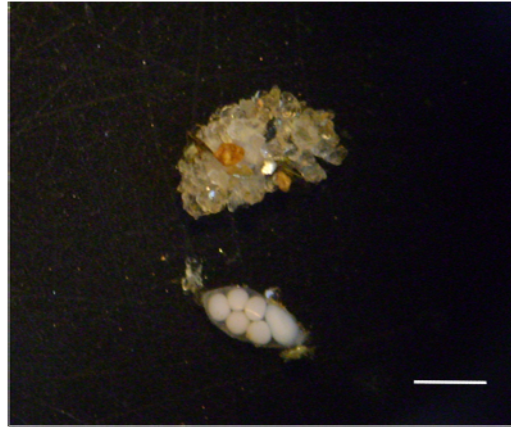


Foto 2 – Casulos de *Limnodriulus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae), um envolto com areia (superior) e outro após a retirada da areia (inferior). (barra = 1 mm).

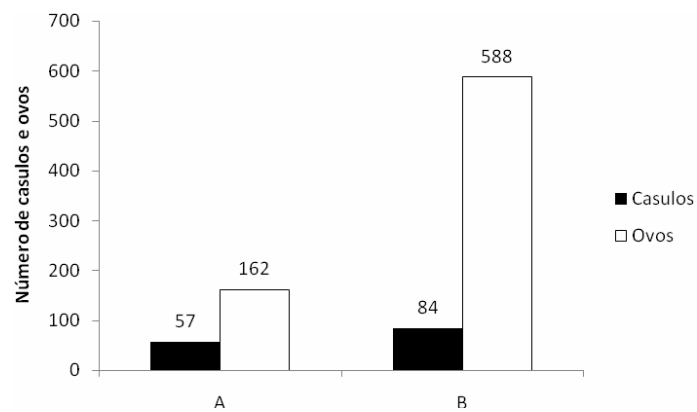


Gráfico 2 – Número de casulos e número de ovos postos por *Limnodriulus hoffmeisteri* nos tratamentos A (peso médio inicial $6,63 \pm 1,28$ mg) e B (peso médio inicial $12,44 \pm 3,99$ mg).

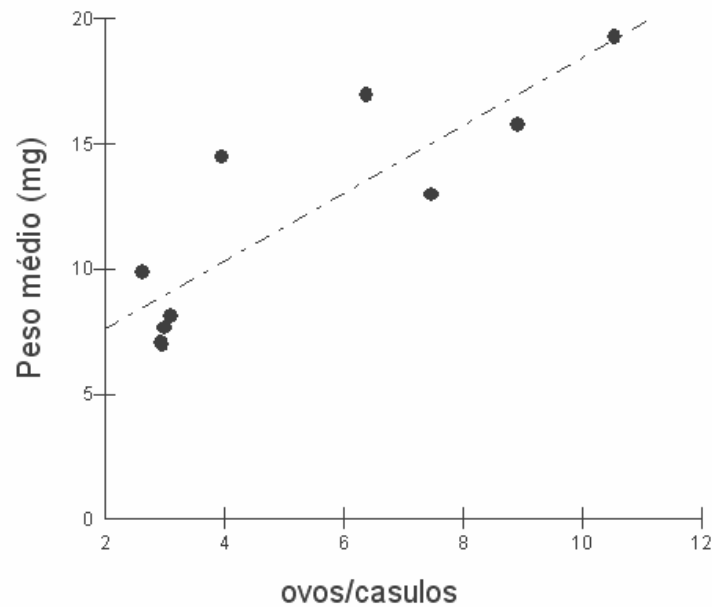


Gráfico 3 – Regressão linear simples entre o peso médio de *Limnodriulus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) e o número de ovos por casulo produzidos a $15 \pm 1^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$).

3.3 Discussão

O crescimento e a reprodução são processos que competem por recursos, e envolvem riscos para o organismo (LEME, 2006). Gastos energéticos alocados na reprodução podem resultar em limitações do crescimento devido ao direcionamento de recursos energéticos para fins reprodutivos e não para o ganho de massa corporal (WILLIAMS, 1966; CALOW, 1979). Porém, de acordo com Tuomi et al. (1983), um organismo pode superar essas limitações de crescimento de duas maneiras: (a) intervalo de tempo entre as desovas para que o organismo possa armazenar energia suficiente para ovopositar com sucesso sem interromper seu crescimento e (b) alimentação continuada durante o período de reprodução; essa última condição pode explicar a taxa média positiva de crescimento diário observada no presente estudo, mesmo havendo postura de casulos. Segundo Kennedy (1966), em ambientes ricos em matéria orgânica, a reprodução de *L. hoffmeisteri* acontece durante todo o ano, com taxa máxima de reprodução sexuada na primavera e verão, quando há, também, um aumento na produtividade do habitat.

De acordo com Aston (1973) e Lazim et al. (1989), os casulos de *L. hoffmeisteri* ficam cobertos por partículas finas do sedimento, dificultando sua detecção no substrato, fato

observado no presente estudo. Provavelmente, essa característica confere maior proteção contra organismos que possam prejudicar o desenvolvimento dos embriões. Aston (1973) observou média de, aproximadamente, 5,00 e 1,35 ovos por casulo ao estudar *L. hoffmeisteri* com peso médio de 10,50 e 3,50 mg, respectivamente, mantidos a 15°C. Estes valores, juntamente com resultados obtidos no presente estudo (2,78 e 7,45 ovos·casulo⁻¹, para pesos médios de 6,63 e 12,44 mg, respectivamente) mostram correlação positiva entre a biomassa dos organismos desta espécie e o número de ovos por casulos.

Paris e Pitelka (1962) encontraram relação positiva entre o tamanho da fêmea do isópodo terrestre *Armadillidium vulgare* Latreille, 1804, e o número de jovens gerados. Vreys e Michiels (1995) e Ilano et al. (2004) observaram correlação positiva entre o tamanho do genitor e o número de ovos/casulos produzidos pelo gastrópodo *Buccinum isaotakii* (Kira, 1959) e pela planária *Dugesia gonocephala* (Girard, 1850). Esses trabalhos confirmam a correlação positiva entre biomassa e reprodução para alguns grupos de invertebrados. Vale ressaltar, no entanto, que esta relação não é regra, visto que, segundo Levitan (1991), para organismos sésseis e/ou com fertilização externa, a densidade populacional tem uma maior influencia no sucesso da fertilização do que o tamanho corporal. Para o autor, pode ser incorreto assumir que maior tamanho e maior produção de gametas traduz em maior sucesso reprodutivo, quando o sucesso da fertilização é ignorada.

No estudo de Nascimento e Alves (2009), o aumento da temperatura gerou aumento no número de casulos de *L. hoffmeisteri*, enquanto que o número de ovos por casulo foi semelhante em todos os tratamentos. No presente trabalho, o número de casulos foi semelhante estatisticamente, enquanto o número de ovos por casulo foi maior para organismos com maior biomassa. A elevação da temperatura acelera o metabolismo dos organismos e gera aumento no número de eventos reprodutivos (HOWE, 1967) que, em oligoquetas, podem ser representados pelo número de casulos produzidos. Por outro lado, o aumento na biomassa corporal leva a uma maior fertilidade (fertilização interna), o que gera maior número de ovos por indivíduo (VREYS e MICHIELS, 1995). De acordo com Vreys e Michiels (1995), indivíduos com massa corporal maior podem investir maior quantidade de energia na reprodução, e, por isso, têm um maior sucesso reprodutivo que co-específicos de menor tamanho. Pianka e Parker (1975) atentam para o fato de que, para animais em que a idade e o tamanho corporal são positivamente correlacionados (crescimento indeterminado), o maior sucesso reprodutivo pode estar relacionado à idade do organismo e não somente à biomassa. Na maioria dos casos, após atingir a maturidade sexual, o valor reprodutivo pode diminuir

com a idade dos organismos, porém, a disponibilidade de recursos pode retardar esse processo (PIANKA e PARKER, 1975).

De acordo com os resultados obtidos, foi possível concluir que *L. hoffmeisteri* apresenta uma correlação positiva entre biomassa corporal e número de ovos.

4 ASPECTOS REPRODUTIVOS DE *Limnodrilus hoffmeisteri* CLAPAREDE, 1862 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE), CULTIVADOS EM DOIS SUBSTRATOS ARENOSOS

Espécies de oligoquetas são importantes fontes de energia para diversas espécies de peixes de água doce (KOSIOREK, 1974; RIERA et al., 1991; GOPHEN et al., 1998; RAHMAN et al., 2006) e comumente utilizadas como indicadoras de poluição orgânica de ambientes aquáticos *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 (PAOLETTI e SAMBUGAR, 1984; ALVES e LUCCA, 2000; ALVES et al., 2006; MARTINS et al., 2008), no entanto, há poucas informações sobre fatores que influenciam a distribuição, comportamento e reprodução dessa espécie (FISHER e BEETON, 1975; SOBHANA e NAIR, 1984).

Entre vários fatores, tais como as características físicas e químicas da água, o substrato é essencial para a sobrevivência e reprodução dos oligoquetas, Aston e Milner (1981), por exemplo, relatam a importância do sedimento para a sobrevivência, crescimento e reprodução de tubificídeos, pois facilita o deslocamento, alimentação e sustentação dos organismos durante os movimentos respiratórios. De acordo com Sauter e Güde (1996), o tamanho dos grãos do substrato influencia a distribuição das espécies de oligoquetas. Estudos ecológicos têm mostrado uma correlação positiva entre a abundância do tubificídeo *L. hoffmeisteri* e o sedimento fino, com granulometria menor que 0,21 mm (SAUTER e GÜDE, 1996; ALVES e STRIXINO, 2000). Contudo, Moore (1979) ressalta a importância da matéria orgânica na distribuição desses animais, pois o aumento desta eleva a quantidade de algas e bactérias, fonte de alimento para oligoquetas.

O presente trabalho teve com objetivo verificar a influência de duas frações granulométricas de areia na reprodução e crescimento de *L. hoffmeisteri*, sob condições laboratoriais.

4.1 Materiais e Métodos

Os exemplares de *Limnodrilus hoffmeisteri* utilizados no experimento foram obtidos da cultura mantida no Laboratório de Invertebrados Bentônicos da Universidade Federal de Juiz de Fora (Juiz de Fora, MG, Brasil) sob condições de temperatura e luminosidade ambiente.

A areia utilizada no experimento, coletada no Rio do Peixe (21°54'37"S e 43°33'24"W), localizado em Juiz de Fora (MG-Brasil) foi previamente analisada em

microscópio estereoscópico (aumento 40x) para remoção de invertebrados. Para este estudo, a areia foi separada em fração média (0,250 – 1,00 mm) e fina (0,057 – 0,250 mm) pelo método de peneiramento (SUGUIO, 1937).

O estudo foi realizado em béqueres de 250 mL, contendo 100 mL de substrato (areia fina ou areia média), 100 mL de água (desclorificada e aerada) e 0,1 g de ração para peixes (alconBASIC[®]) como fonte de matéria orgânica. Para a produção dos casulos, foram utilizados doze béqueres (seis com areia fina e seis areia média), contendo cada, cinco indivíduos maduros, mantidos em incubadora, tipo D.B.O., a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. A cada dois dias, durante o período de 20 dias, o substrato de cada béquer foi lavado em peneira com malha de 0,250 mm e analisado sob microscópio estereoscópico, para a coleta e contagem dos casulos.

Com uma pipeta de Pasteur (3 mL), os casulos foram coletados e acondicionados em béqueres de 100 mL, contendo 25 mL de substrato (areia fina ou média, de acordo com o substrato em que foram coletados) e 25 mL de água desclorificada e aerada. Os recipientes contendo os casulos foram mantidos em incubadora a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ e analisados, sob microscópio estereoscópico, a cada dois dias para observação e contagem das eclosões.

Trinta indivíduos juvenis, que apresentavam movimentação normal e sem deformidades no corpo, foram selecionados para observação do crescimento e maturação sexual em cada tipo de substrato. Para cada tipo de substrato, seis béqueres de 250 mL, contendo cada cinco indivíduos foram analisados semanalmente, durante 25 semanas (175 dias), registrando-se o peso dos indivíduos e número de ovos e casulos. Para isso, o substrato foi lavado em peneira de malha de 0,250 mm e analisado em microscópio estereoscópico. Com o intuito de evitar o estresse, os organismos foram retirados com auxílio de um estilete, antes da lavagem da amostra, e colocados em uma placa de Petri contendo apenas água desclorificada. Após a coleta dos casulos, os organismos foram colocados em novo substrato, com 0,1 g de ração para peixes, para re-acondicionamento dos indivíduos.

Para cada tratamento foram determinados: tempo gasto entre a postura do casulo e eclosão dos jovens, taxa média de crescimento diário, tempo de maturação sexual, número de casulos por adulto por dia e número de ovos por casulo. A taxa média de crescimento diário ($G_w\%$) foi calculada de acordo com Reynoldson (1987):

$$G_w\% = (\text{Ln}W_2 - \text{Ln}W_1) \times 100t^{-1}$$

onde, W_1 = biomassa (mg) inicial; W_2 = biomassa (mg) final; e t = tempo em dias.

O teste t foi utilizado para comparar o tempo médio gasto entre a postura do casulo e eclosão dos jovens e do tempo médio de maturação sexual entre os tratamentos. Utilizando o aplicativo Biostat 5.0, o teste de Mann-Whitney foi empregado para comparar o crescimento médio, número médio de ovos por casulo e número médio de casulos por adulto semanal entre os dois tipos de areia.

4.2 Resultados

Foram coletados 115 casulos para areia fina e 101 para areia média. O tempo gasto entre a postura do casulo e eclosão dos jovens está apresentado no Gráfico 4. Observou-se que na areia 84,83% dos jovens eclodiram entre 8 e 12 dias após a postura, o mesmo observado para areia média 83,67% ($p > 0,05$).

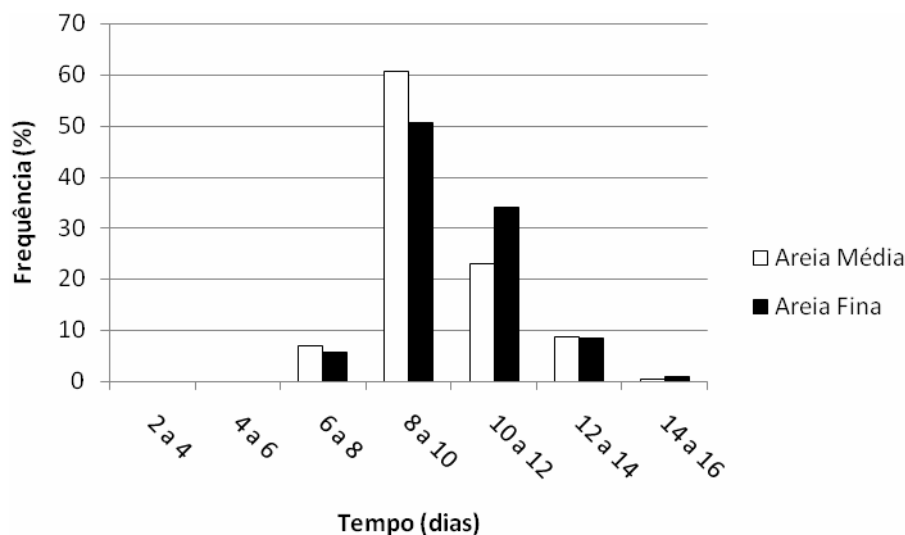


Gráfico 4 – Tempo entre a postura do casulo e eclosão dos jovens de *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) e areia fina (0,057 – 0,250 mm) à $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

No Gráfico 5 estão apresentados os crescimento médios observados para *L. hoffmeisteri* nos dois tratamentos. Diferença significativa ($p < 0,05$) entre os pesos médios foi observada para as semanas 7, 8, 9, 11, 12, 15, 18, 19, 20, 22, 23, 24 e 25. Na Tabela 3 observa-se as taxas médias de crescimento diário ($G_w\%$) para os dois tratamentos ao final das 25 semanas.

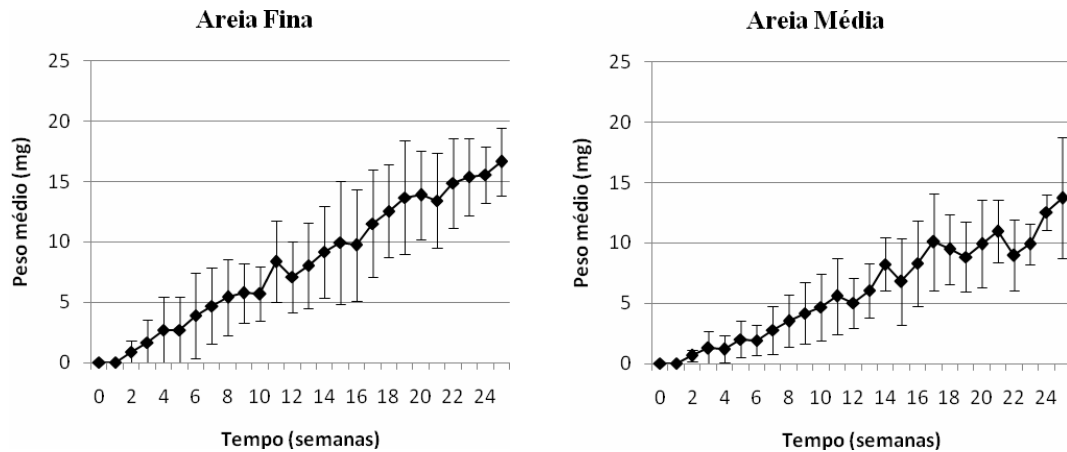


Gráfico 5 – Peso médio (\pm desvio padrão) de *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

O tempo de maturação sexual (postura do primeiro casulo) variou entre 3 e 10 semanas (média $7,17 \pm 2,93$) de vida para os organismos mantidos em areia fina, e de 6 a 11 semanas (média $9,00 \pm 2,00$) para areia média ($p > 0,05$). O número médio de casulos por adulto por semana (Gráfico 6) foi semelhante ($p > 0,05$) entre os tratamentos nas semanas 10, 18, 19, 20, 21, 22, 24 e 25. O número médio de ovos por casulo, registrado semanalmente, é mostrado no Gráfico 7; a média total (ovos por casulo) e o número de casulo por adulto por dia estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Número médio de ovos por casulo (\pm desvio padrão) e de casulos por adulto por dia (\pm desvio padrão) e taxa média de crescimento diário [antes da primeira postura ($\text{Gw}\%_{(AP)}$) e após as 25 semana ($\text{Gw}\%_{(G)}$)] (\pm desvio padrão), observados para *Limnodrilus hoffmeisteri* cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 175 dias.

	Areia fina		Areia média	
	Média	Varição	Média	Varição
Ovos·casulo ⁻¹	3,19 (\pm 0,91)	1 – 11	2,85 (\pm 1,36)	1 – 17
Casulo·adulto·dia ⁻¹	0,37 (\pm 0,22)		0,23 (\pm 0,24)	
$\text{Gw}\%_{(AP)}$ *	1,80 (\pm 0,32)		1,53 (\pm 0,37)	
$\text{Gw}\%_{(G)}$	2,14 (\pm 0,75)		2,04 (\pm 0,42)	

* $p < 0,05$.

Diferença significativa ($p > 0,05$) para o número de ovos por casulo semanal entre os tratamentos foi observada para 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 23^a semanas.

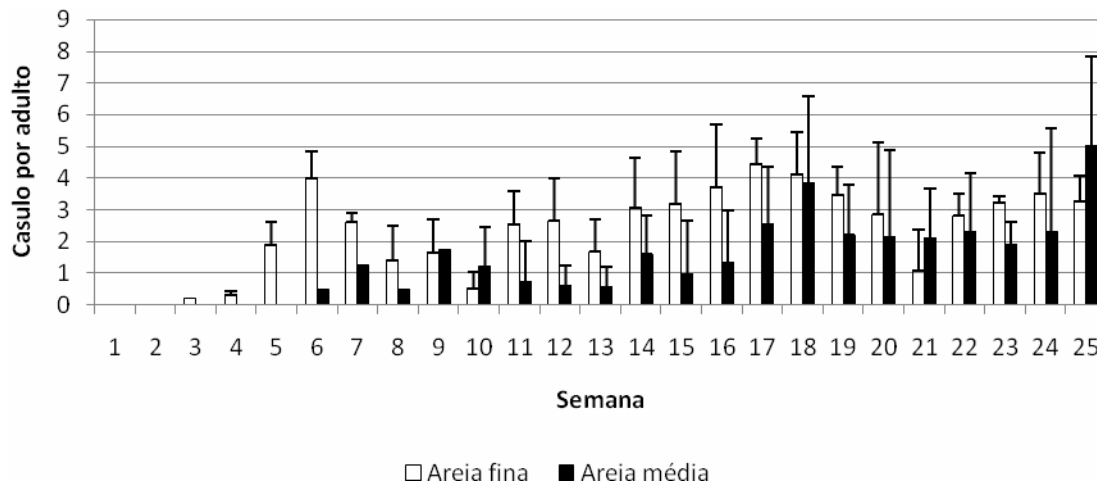


Gráfico 6 – Número médio de casulos por adulto por semana de *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae), cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

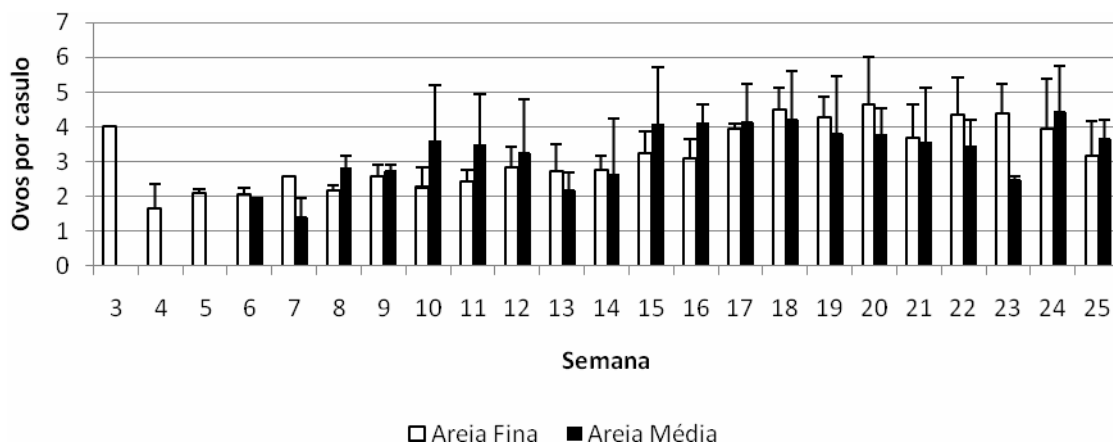


Gráfico 7 – Média semanal de ovos por casulo de *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae), cultivados em areia fina (0,057 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

4.3 Discussão

O tempo de desenvolvimento embrionário e posterior eclosão dos jovens de *L. hoffmeisteri*, de acordo com os resultados de Nascimento e Alves (2009), foi inferior a 21 dias a 25°C , o que pôde ser comprovado neste experimento que mostrou que mais de 80% dos jovens eclodem no período de 8 a 12 dias após a postura do casulo. Esse tempo é inferior ao observado para a espécie *Branchiura sowerbyi* Beddard, 1892 (14 a 16 dias) em condições semelhantes de temperatura (NASCIMENTO e ALVES, 2008).

Aston (1973) observou que *L. hoffmeisteri* é capaz de se desenvolver do embrião à maturidade em menos de cinco semanas; os resultados obtidos corroboram essa observação, visto que o tempo compreendido entre a postura do casulo, desenvolvimento embriônico, eclosão dos jovens e maturidade sexual, totalizou, aproximadamente, quatro semanas e meia. A média do tempo de maturação sexual foi superior a sete semanas, provavelmente relacionado ao estresse do manuseio semanal dos organismos, que, segundo Marchese e Brinkhurst (1996), pode retardar seu desenvolvimento quando comparado ao manuseio a cada duas semanas (observação feita para a espécie *B. sowerbyi*). Para *L. hoffmeisteri*, observações semanais são necessárias, considerando que após as duas semanas, já haveria um grande número de jovens eclodidos, o que dificultaria a verificação do número de ovos por casulo.

Marchese e Brinkhurst (1996) observaram crescimento negativo, para *B. sowerbyi*, após a postura do primeiro casulo, fato não observado para *L. hoffmeisteri* no presente estudo, uma vez que a taxa de crescimento positiva foi praticamente constante durante todo o experimento, mesmo após atingir a maturidade sexual e realizar posturas. De acordo com Sebens (1987), alguns invertebrados, incluindo oligoquetos, podem exibir um crescimento indeterminado, não apresentando uma assíntota na curva de crescimento. Ao que tudo indica, a espécie foco deste estudo parece apresentar esse padrão de crescimento, porém, é necessário um maior tempo de observação para se chegar a uma conclusão sobre qual seria o seu modelo de crescimento (determinado ou indeterminado).

Alves e Strixino (2000) relataram uma correlação positiva entre a abundância de *L. hoffmeisteri* e a fração fina do sedimento ($< 0,210$ mm) da lagoa do Diogo (Luiz Antônio, SP), o que demonstra afinidade desta espécie pela fração fina. Aston e Milner (1981) obtiveram melhores resultados em um experimento ao misturar areia fina (0,072 – 0,250 mm) e areia média (0,250 – 1,000 mm) em esgoto ativado (produto resultante do tratamento do esgoto, contendo 78% de matéria orgânica), comparados a outras frações granulométricas testadas (esgoto ativado puro, areia grossa, argila e lama). No presente trabalho, os organismos mantidos em areia fina apresentaram maior peso ao final das 25 semanas, porém, mesmo com peso inferior, na última semana o número de casulos por adulto foi superior no tratamento areia média. O peso médio dos indivíduos cultivados em areia fina foi superior em, praticamente, metade do tempo observado, e o número de casulos também foi maior durante quase todo o experimento, comparado à areia média. Essas observações sugerem que o sedimento fino seja adequado para o cultivo dessa espécie, porém, como a taxa média de crescimento diário ($G_w\%$), o número médio de casulos postos por adulto por dia e o número médio de ovos por casulo, ao final do experimento, não apresentaram diferenças entre os

tratamentos, não foi possível afirmar que essa espécie se desenvolva melhor em areia de granulometria fina ou média. Em ambientes naturais a distribuição dessa espécie é influenciada por um conjunto de fatores como tipo do substrato (SAUTER e GÜDE, 1996; ALVES e STRIXINO, 2000), temperatura (ASTON, 1973; ASTON et al., 1982; BONACINA et al., 1994; NASCIMENTO e ALVES, 2009), oxigênio dissolvido (ASTON, 1973; FISHER e BEETON, 1975) e, talvez o mais importante, a concentração de matéria orgânica (MOORE, 1979; BINGHAM e MILLER, 1989).

5 CICLO REPRODUTIVO DE *Branchiura sowerbyi* BEDDARD 1892 (OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE), CULTIVADO SOB CONDIÇÕES LABORATORIAIS

A espécie *Branchiura sowerbyi* Beddard, 1892 é comumente encontrada em ambientes de água doce enriquecidos organicamente em regiões tropicais e temperadas, sendo, nessa última, utilizada como indicadora de poluição térmica (ASTON, 1968). A biologia dessa espécie foi foco de muitos estudos, por exemplo, Aston e Milner (1981) e Aston et al. (1982) estudaram as condições ideais para a criação da espécie em esgoto ativado; Casellato (1984) estudou o ciclo de vida e o cariótipo da espécie e Casellato et al. (1987) verificaram as características histológicas durante a gametogênese; Bonacina et al. (1994) estudaram a ecologia populacional da espécie no cultivo em massa e sugeriram um modelo matemático para estimar os parâmetros demográficos da espécie em ambientes naturais; Ducrot et al. (2007) fizeram um estudo longo mostrando aspectos importantes sobre sua biologia visando a utilização desta espécie em testes ecotoxicológicos (outros trabalhos sobre a espécie, ver: ASTON, 1984; DREWES e ZORAN, 1989; CASELLATO et al., 1992; MARCHESE e BRINKHURST, 1996; NAQVI, 1997).

A grande maioria dos trabalhos citados anteriormente foi realizada em regiões temperadas, locais em que esta espécie, segundo Aston (1968), é exótica. No Brasil, estudos realizados em ambientes lênticos e reservatórios mostram que *B. sowerbyi* está entre as espécies mais abundantes dentre os organismos bênticos (ALVES e STRIXINO, 2000; PAMPLIN et al., 2005; DORFELD et al., 2006). De acordo com Raburu et al. (2002), em pesquisa no lago Naivasha (Kenya), esse tubificídeo apresentou elevada produtividade anual (7,43 g de matéria seca por m²) comparada ao oligoqueta *Limnodrilus hoffmeisteri* (0,65 g de matéria seca por m²). Esses trabalhos mostram a grande importância da espécie na comunidade bentônica de ambientes aquáticos tropicais.

Devido ao seu maior tamanho e elevada produtividade, comparado a outras espécies de tubificídeos (YAN e WANG, 1999; RABURU et al., 2002), essa espécie desperta grande interesse comercial como alimento vivo para peixes. Diversos trabalhos mostram que oligoquetas aquáticas representam uma porção significativa da dieta de algumas espécies de peixes (RIERA et al., 1991; GOPHEN et al., 1998; RAHMAN et al., 2006). LIETZ (1987) defende o potencial que esses animais têm para serem comercializados como alimento vivo para peixes, por serem facilmente cultivados em grande escala e resistentes a variações na temperatura e nível de oxigênio dissolvido.

Outro interesse eminente, é o uso de *B. sowerbyi* em estudos ecotoxicológicos (KEILTY et al., 1988; MARCHESE e BRINKHURST, 1996; DUCROT et al., 2007), por ser de fácil manuseio (MARCHESE e BRINKHURST, 1996) e estar presente em ambientes aquáticos onde *Tubifex tubifex* (Müller, 1774), comumente utilizado nestes estudos, é encontrado em baixas densidades ou não está presente (DUCROT et al., 2007). Segundo Casellato et al. (1992), para se utilizar uma espécie em estudos de ecotoxicologia, com o objetivo de se avaliar o grau de contaminação do sedimento de rios e lagos por poluentes, torna-se necessário, primariamente, o conhecimento de seus atributos biológicos.

O presente estudo teve como objetivo relatar informações sobre a biologia reprodutiva e crescimento de *B. sowerbyi*, em condições laboratoriais.

5.1 Materiais e Métodos

Os exemplares de *Branchiura sowerbyi* utilizados no experimento foram obtidos da cultura mantida no Laboratório de Invertebrados Bentônicos da Universidade Federal de Juiz de Fora (Juiz de Fora, MG, Brasil) sob condições de temperatura e luminosidades ambiente. A procedência desses organismos, bem como a metodologia de coleta, está descrita em Nascimento e Alves (2008).

A areia utilizada no experimento, coletada no Rio do Peixe (21°54'37"S e 43°33'24"W), localizado em Juiz de Fora (MG-Brasil), foi previamente analisada em microscópio estereoscópico (aumento 40x) para remoção de invertebrados. A fração granulométrica da areia utilizada foi de 0,25 a 1,00 mm, obtida pelo método de peneiramento (SUGUIO, 1937).

O estudo foi realizado em béqueres de 250 mL, contendo 100 mL de substrato, 100 mL de água (desclorificada e aerada) e 0,1 g de ração para peixes (alconBASIC®) como fonte de matéria orgânica. Para a produção dos casulos, foram utilizados seis béqueres, contendo cada, cinco indivíduos maduros, mantidos em incubadora, tipo D.B.O., a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. A cada dois dias, durante o período de 20 dias, o substrato de cada béquer foi lavado em peneira com malha de 0,25 mm e analisado sob microscópio estereoscópico, para a coleta e contagem dos casulos.

Com uma pipeta de Pasteur (3 mL), os casulos foram coletados e acondicionados em béqueres de 100 mL, contendo 25 mL de substrato e 25 mL de água desclorificada e aerada. Os recipientes contendo os casulos foram mantidos em incubadora a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ e analisados,

sob microscópio estereoscópico, a cada dois dias para observação e contagem das eclosões dos jovens.

Trinta indivíduos juvenis, que apresentavam movimentação normal e sem deformidades no corpo, foram selecionados para observação do crescimento e maturação sexual. Durante 52 semanas (364 dias), seis béqueres de 250 mL, contendo cada um cinco indivíduos, foram analisados semanalmente para se registrar o peso dos indivíduos e o número de ovos e casulos. Para isso, o substrato foi lavado em peneira de malha de 0,250 mm e analisado em microscópio estereoscópico. Com o intuito de evitar o estresse, os organismos foram retirados com auxílio de um estilete, antes da lavagem da amostra, e colocados em uma placa de Petri contendo apenas água desclorificada. Após a coleta dos casulos, os organismos foram colocados em novo substrato, com 0,1 g de ração para peixes, para re-acondicionamento dos indivíduos.

Para cada tratamento foram determinados: tempo entre a postura do casulo e eclosão dos jovens, taxa média de crescimento diário, tempo de maturação sexual, número de casulos por adulto por dia e número de ovos por casulo. A taxa média de crescimento diário ($G_w\%$) foi calculada de acordo com Reynoldson (1987):

$$G_w\% = (\ln W_2 - \ln W_1) \times 100t^{-1}$$

onde, W_1 = biomassa (mg) inicial; W_2 = biomassa (mg) final; e t = tempo em dias.

5.2 Resultados

O percentual de eclosão igual a 33,08% foi determinado a partir de 67 casulos (contendo $1,99 \pm 0,21$ ovos·casulo⁻¹ em média) de *B. sowerbyi*. Durante os 20 dias de coleta dos casulos não houve registro de morte dos adultos. O tempo entre a postura e a eclosão dos jovens está apresentado no Gráfico 8, verificando-se que 90,91% dos jovens eclodiram entre 12 e 18 dias após a postura, sendo que mais de 60% entre 14 e 16 dias.

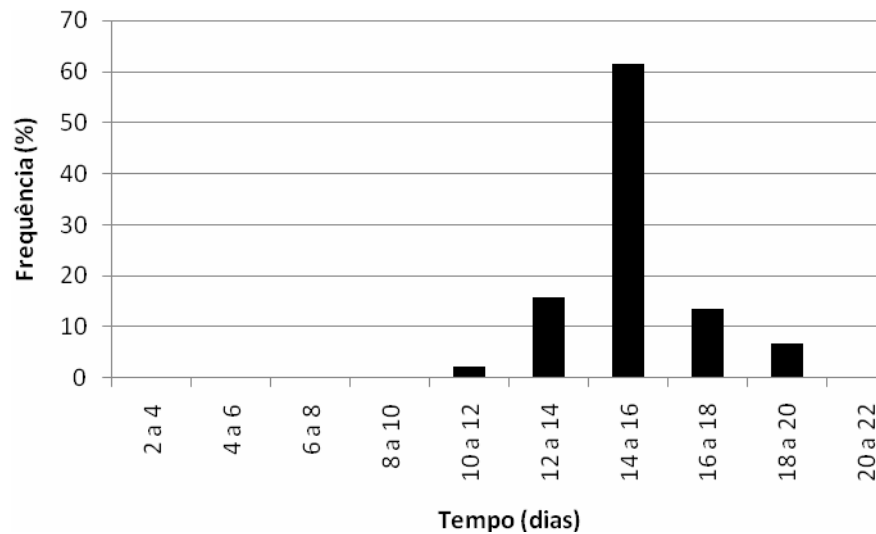


Gráfico 8 – Tempo entre a postura do casulo e eclosão dos jovens de *Branchiura sowerbyi* cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) à $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Crescimento positivo foi observado até 98 dias de vida dos organismos (Gráfico 9) e após esse período houve uma estabilização do peso. A partir do 252º dia, foi registrado uma maior oscilação no peso dos animais. O tempo médio para atingir a maturidade sexual (postura do primeiro casulo) foi de 40,83 ($\pm 6,88$) dias, variando de 35 a 49 dias, sendo registrado peso médio de 17,56 ($\pm 4,57$) mg na semana da primeira postura. Nesse mesmo período foi observado crescimento médio individual de $0,41 (\pm 0,09) \text{ mg}\cdot\text{dia}^{-1}$, uma taxa média de crescimento diário ($G_w\%$) de 6,98% ($\pm 0,91$), e ao final dos 364 dias a $G_w\%$ foi de 0,91% ($\pm 0,04$).

Como observado no Gráfico 10, a postura de casulos começou na quinta semana e durou até a 24ª semana, retornando na 31ª semana, porém com um menor número de casulos por adulto e inconstante entre as semanas, caracterizando dois momentos distintos na reprodução. O número de ovos por casulo variou de 1 a 6, média de 1,73 ($\pm 0,57$), e a média de casulos por adulto por dia foi de 0,12 ($\pm 0,13$). O percentual de sobrevivência foi de 100% ao final do primeiro ciclo reprodutivo (25ª semana), diminuindo lentamente até 63% ao final do experimento.

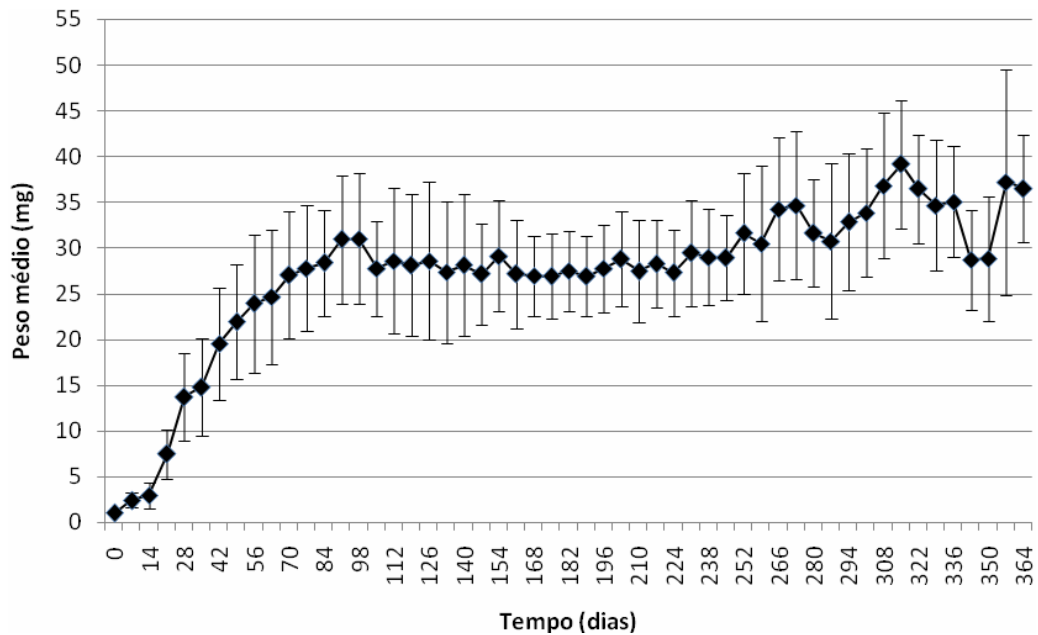


Gráfico 9 – Peso médio de *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta, Tubificidae) cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

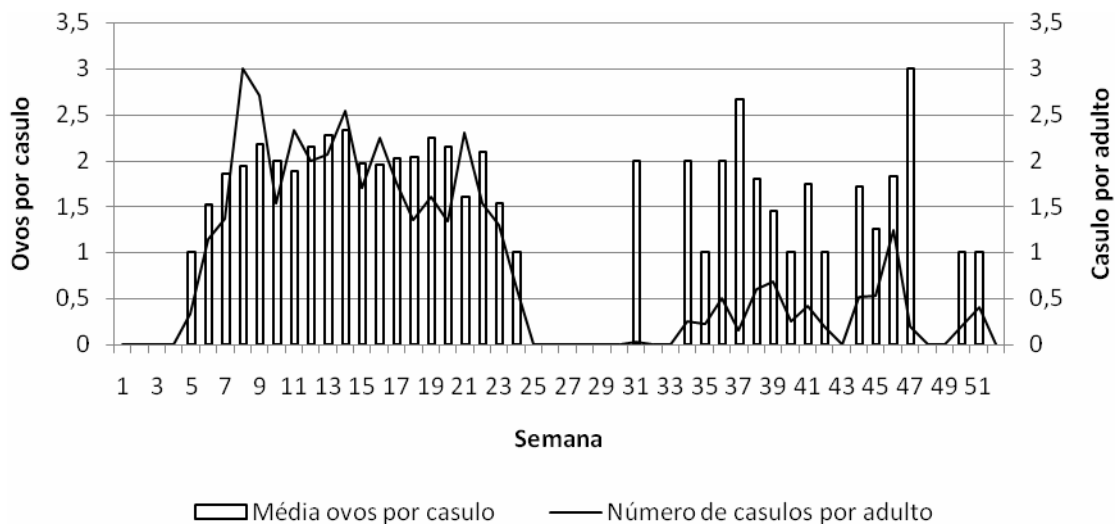


Gráfico 10 – Número de casulos por adulto e média de ovos por casulo semanal de *Branchiura sowerbyi* cultivados em areia média (0,250 – 1,000 mm) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3 Discussão

A espécie *Branchiura sowerbyi*, cultivada em condições laboratoriais, apresenta baixa taxa de eclosão, como já relatado por Marchese e Brinkhurst (1996) e Nascimento e

Alves (2008) (34,4 e 44,3% respectivamente). De acordo com Wisniewsky (1979) a baixa taxa de eclosão dos jovens de tubificídeos pode estar relacionada com o ataque de microorganismos que podem prejudicar o desenvolvimento do embrião. Entretanto, mais estudos são necessários para verificar se essa baixa taxa de eclosão é intrínseca à espécie ou está relacionada com a vulnerabilidade dos casulos.

O tempo de 12 e 18 dias, entre a postura do casulo e a eclosão do jovem, foi semelhante ao encontrado por Bonacina et al. (1994) e Nascimento e Alves (2008), para a mesma temperatura, e superior ao observado para a espécie *Tubifex tubifex*, cultivados a 24°C, que foi de 10 a 12 dias (KOSIOREK, 1974).

A taxa de crescimento dos indivíduos de *B. sowerbyi* foi elevada nas primeiras semanas de vida, entretanto, inferior aos 0,58 mg·dia⁻¹ relatado por Marchese e Brinkhurst (1996) nos primeiros 35 dias, quando atingem a maturidade sexual. Segundo estes autores e Ducrot et al. (2007), a partir do início da produção dos casulos, um crescimento negativo pode ser observado devido a utilização de reservas energéticas na produção dos ovos, porém, no presente estudo, os organismos mantiveram taxa de crescimento positiva por onze semanas após atingirem maturidade, e só a partir daí, uma estabilidade no peso foi observada. Para Tuomi et al. (1983) a alimentação continuada durante o período reprodutivo, como foi no presente estudo, pode evitar o crescimento negativo dos indivíduos.

O peso médio em que se deu a postura do primeiro casulo foi semelhante ao observado por Marchese e Brinkhurst (1996) a 25°C, aproximadamente 20 mg, no entanto, foi bem inferior à média encontrada por Ducrot et al. (2007), 84,1 (±6,5) mg, para a mesma espécie a 24°C e menor densidade de organismos por frasco. A média de ovos por casulo foi inferior ao observado por Aston et al. (1982) e Marchese e Brinkhurst (1996), 2,82 (± 0,87) e 1,94 (± 0,13), respectivamente, e superior aos 1,21 (± 0,08) relatado por Nascimento e Alves (2008) para organismos mantidos a 25°C.

Aston (1968), ao estudar o efeito da temperatura no ciclo de vida de *B. sowerbyi*, observou que a postura dos casulos coincidia com os meses mais quentes do ano e concluiu que a variação sazonal da temperatura influencia a reprodução. Posteriormente, Aston e Milner (1981) e Sobhana e Nair (1984) comprovaram os efeitos da temperatura na reprodução da espécie. Quando cultivado em condições controladas, *B. sowerbyi* apresentou dois ciclos de postura anual, com duração de aproximadamente 105 dias, e um intervalo entre eles de aproximadamente 52 dias (DUCROT et al., 2007), semelhante ao encontrado no presente estudo.

De acordo com Ducrot et al. (2007), o primeiro ciclo reprodutivo é sincronizado, ou seja, todos os organismos se encontram na fase reprodutiva, já o segundo não apresenta esta peculiaridade, sendo que apenas alguns organismos reproduzem. Para Pianka e Parker (1975), animais de mesma idade diferem nas expectativas de vida e reprodução futura, indivíduos com um esforço reprodutivo acima da média gera maior número de descendentes em curto prazo, no entanto, aumenta o seu risco de morte e ao mesmo tempo diminui o valor reprodutivo para um próximo ciclo, o contrário de um indivíduo com um valor reprodutivo abaixo da média, mas com uma maior taxa de sobrevivência. Para esses autores, variações desse tipo numa população podem resultar aparentemente numa inexplicável variação individual no esforço reprodutivo em cada faixa etária.

Ducrot et al. (2007) enfatizam que, por causa da não sincronização dos ciclos reprodutivos entre os indivíduos, a segunda fase reprodutiva não seria um bom parâmetro (*endpoints*) para ser utilizado em testes envolvendo substâncias tóxicas, ao contrário das médias de ovos por casulo, casulos por adulto por dia, tempo de maturação sexual e intervalo entre as posturas; que são pontos que estão de acordo com os relatos na literatura e por isso são bons parâmetros para serem avaliados em testes toxicológicos sub-letais.

Os resultados deste trabalho mostram aspectos da biologia de *B. sowerbyi*, os quais podem ser incorporados em futuros estudos ecológicos envolvendo esta espécie, ainda pouco estudada em ambientes aquáticos brasileiros.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos experimentos e observações realizados no presente trabalho foi possível aprofundar o conhecimento sobre a biologia e reprodução das duas espécies de tubificídeos em condições laboratoriais. Considera-se que a criação das duas espécies em laboratório foi bem sucedida, ao final dos experimentos, uma vez que a população nos aquários de criação manteve-se estável, numericamente falando, sendo possível coletar animais e casulos durante todo o período experimental.

A espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* se mostrou muito adaptada ao modo de criação adotada, tanto nas culturas quanto nos experimentos. Vale ressaltar, que apesar da resposta positiva à cultura, algumas dificuldades foram encontradas, principalmente com relação aos casulos dessa espécie que, ao serem produzidos, grãos de sedimento foram aderidos externamente em sua parede (fato que ocorre naturalmente na espécie), formando uma proteção e camuflagem, o que dificultou muito a localização desses no sedimento. Entretanto, após vários testes e análises, foi possível treinar a visão para encontrá-los em meio à areia.

Outra dificuldade encontrada na pesquisa foi a contagem dos ovos no interior dos casulos, já que essa proteção externa impede a visualização dos embriões por transparência, o que demandou a retirada desse material utilizando duas agulhas pequenas, com cuidado para não perfurar o casulo e correr o risco de inviabilizá-lo.

Além dos casulos, os jovens recém eclodidos também representaram um grande desafio para a pesquisa. Seu pequeno tamanho e fragilidade exigiram um manuseio delicado para não lhes causar danos; desta forma, optou-se pela não pesagem desses filhotes nas primeira duas semanas.

Em relação à espécie *Branchiura sowerbyi*, considera-se uma vantagem, para o pesquisador, o fato de que os casulos desta espécie, ao contrário dos de *L. hoffmeisteri*, não apresentam grãos de substrato aderidos à parede, sendo estes facilmente reconhecidos no meio da areia. Outra vantagem é o fato de serem transparentes, o que facilita a contagem dos ovos sem a necessidade de manuseá-los. Os jovens recém eclodidos são relativamente grandes e resistentes, o que favorece o seu manuseio sem lhes causar danos.

A partir dos resultados e da experiência adquirida no presente trabalho, pretende-se avançar com as pesquisas das duas espécies de tubificídeos em condições laboratoriais, tendo em vista utilizar esse conhecimento em estudos biológicos e ecológicos mais aplicados.

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. G.; LUCCA, J. V. Oligochaeta (Annelida: Clitellata) como indicadores de poluição orgânica em dois córregos pertencentes à bacia do Ribeirão do'Ouro – Araraquara (São Paulo, Brasil). **Brazilian Journal of Ecology**, Rio Claro, v. 2, p. 112-117, 2000.
- ALVES, R. G.; STRIXINO, G. Distribuição espacial de Oligochaeta em uma lagoa marginal do rio Mogi-Guaçu, São Paulo, Brasil. **Iheringia**, Série Zoológica, Porto Alegre, v. 88, p. 173-180, 2000.
- ALVES, R. G. et al. Oligochaeta (Annelida, Clitellata) in lotic environments in the State of São Paulo, Brazil. **Iheringia**, Série Zoológica, Porto Alegre, v. 96, n. 4, p. 431-435, 2006.
- APPLEBY, A. G.; BRINKURST, R. O. Defecation rate of three tubificid oligochaetes found in the sediment of Toronto Harbour, Ontario. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, Ottawa, v. 27, n. 11, 1971-1982, 1970.
- ASTON, R. J. The effect of temperature on the life cycle, growth and fecundity of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: Tubificidae). **Journal of Zoology**, Londres, v. 154, p. 29-40, 1968.
- ASTON, R. J. Field and Experimental Studies on the effects of a power station effluent on Tubificidae (Oligochaeta, Annelida). **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 42, n. 2, p. 225-242, 1973.
- ASTON, R. J. The culture of *Branchiura sowerbyi* (Tubificidae, Oligochaeta) using cellulose substrate. **Aquaculture**, Amsterdam n. 40, p. 89-94, 1984.
- ASTON, R. J.; MILNER, A. G. P. Conditions required for the culture of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: Tubificidae) in activated sludge. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 26, p. 155-166, 1981.
- ASTON, R. J. et al. The effects of temperature and the culture of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta, Tubificidae) on activated sludge. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 29, p. 137-145, 1982.
- BINGHAM, C. R.; MILLER, A. C. Colonization of a man-made gravel bar by Oligochaeta. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 180, p. 229-234. 1989.
- BONACINA, C. et al. Progress in cohort cultures of aquatic Oligochaeta. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 155, p. 163-169, 1987.
- BONACINA, C. et al. Population analysis in mass cultures of *Tubifex tubifex*. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 180, p. 127-134, 1989a.
- BONACINA, C. et al. Density-dependent processes in cohorts of *Tubifex tubifex*, with a special emphasis on the control of fecundity. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 180, p. 135-141, 1989b.

BONACINA, C. et al. Quantitative observations on the population ecology of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta, Tubificidae). **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 278, p. 267-274, 1994.

BONOMI, G.; PASTERIS, A. From demographic strategies to mathematical models: trends in population dynamics studies of aquatic Oligochaeta. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 546, p. 61-71, 2006.

BRINKHURST R. O.; MARCHESE, M. R. **Guía para la identificación de oligoquetos acuáticos continentales de sur y centroamérica**. 2. ed. Santo Tomé: Asociación Ciencias Naturales del Litoral, 1989. 207p.

BRINKURST, R. O. et al. Interspecific interactions and selective feeding by tubificid oligochaetes. **Limnology and Oceanography**, Baltimore v. 17, n. 1, p. 122-133, 1972.

CALOW, P. The costs of reproduction – a physiological approach. **Biological Reviews**, Cambridge, v. 54, p. 23-40, 1979.

CASELLATO, S. Life-cycle and karyology of *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae). **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 115, p. 65-69, 1984.

CASELLATO, S. et al. Long-term experiment on *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae) using sediment treated with LAS (Linear Alkylbenzene Sulphonate). **Hydrobiologia**, Amsterdam, v. 232, p. 169-173, 1992.

CASELLATO, S. et al. Ultrastructural features of gametogenesis during the life cycle in *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae). **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 155, p. 145-154, 1987.

CHAPMAN, P. M. Utility and relevance of aquatic oligochaetes in ecological risk assessment. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 463, p. 149-169, 2001.

CHAPMAN, P. M. et al. Effects of species interactions on the survival and respiration of *Limnodrilus hoffmeisteri* and *Tubifex tubifex* (Oligochaeta, Tubificidae) exposed to various pollutants and environmental factors. **Water Research**, Nova Iorque, v. 16, p. 1405-1408, 1982.

DAVIS, R. B. Stratigraphic effects of tubificids in profundal lake sediments. **Limnology and Oceanography**, Baltimore, v. 19, n.3, p. 466-488, 1974

DORNFELD, C. B. et al. Oligochaeta in eutrophic reservoir: the case of Salto Grande reservoir and their wetland in the South of Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, São Carlos, v. 18, n. 2, p. 189-197. 2006.

DREWS, C. D.; ZORAN, M. J. Neurobehavioral specializations for respiratory movements and rapid escape from predators in posterior segments of the tubificid *Branchiura sowerbyi*. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 180, p. 65-71. 1989.

DUCROT, V. et al. Rearing and estimation on life-cycle parameters of the tubificid worm *Branchiura sowerbyi*: Application to ecotoxicity testing. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 384, p. 252-263. 2007.

- ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência – FINED. 1988. 575p.
- FINOGENOVA, N. P. Oligochaete communities at the mouth of the Neva and their relationship to anthropogenic impact. **Hydrobiologia**, Amsterdam, v. 334, p. 185-191, 1996.
- FISHER, J. A.; BEETON, A. M. The effect of dissolved oxygen on the burrowing behavior of *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta). **Hydrobiologia**, Amsterdam, v. 47, n. 2, p. 273-290, 1975.
- GOPHEN, M. et al. Food composition of the fish community in Lake Agmon. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 380, p. 49-57, 1998.
- HOWE, R. W. Temperature effects on embryonic development in insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 12, p. 15-42, 1967.
- ILANO, A. S. et al. Mating, development and effects of female size on offspring number and size in the neogastropod *Buccinum isaotakii* (Kira, 1959). **Journal of Molluscan Studies**, Oxford, v. 70, p. 277-282, 2004.
- JUGET, J. et al. Intrinsic and extrinsic variables controlling the productivity of asexual populations of *Nais* spp. (Naididae, Oligochaeta). **Hydrobiologia**, Amsterdam, v. 180, p. 177-184, 1989.
- KEILTY, T. J. et al. Short-term lethality and sediment avoidance assays with endrin-contaminated sediment and two oligochaetes from Lake Michigan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Nova Iorque**, v. 17, p. 95-101, 1988.
- KENNEDY, C. R. The distribution and habitat of *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede (Oligochaeta: Tubificidae). **Oikos**, Buenos Aires v. 16, p. 26-38, 1965.
- KENNEDY, C. R. The life history of *Limnodrilus hoffmeisteri* Clap. (Oligochaeta: Tubificidae) and its adaptive significance. **Oikos**, Buenos Aires, v. 17, p. 158-168, 1966.
- KIKUCHI, E.; KURIHARA, Y. The effects of the oligochaete *Branchiura sowerbyi* Beddard (Tubificidae) on the biological and chemical characteristics of overlying water and soil in a submerged ricefield soil system. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 97, p. 203-208, 1982.
- KOSIOREK, D. Development cycle of *Tubifex tubifex* Müll. in experimental culture. **Polskie Archiwum Hydrobiologii**, Warszawa, v. 21, p. 411-422, 1974.
- LAZIM, M. N. et al. The importance of worm identify and life history in determining the vertical distribution of tubificids (Oligochaeta) in a riverine mud. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 178, p. 81-92, 1989.
- LEME, M. H. de A. Investimento reprodutivo e produção de ovos em desovas consecutivas do caranguejo *Aratus pisonii* (H. Milne Edwards) (Crustacea, Brachyura, Grapsoidea). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 23, n. 3, p. 727-732, 2006.

- LEVITAN, D. R. Influence of body size and population density on fertilization success and reproductive output in a free-spawning invertebrate. **Biological Bulletin**, Woods Hole, v. 181, p. 261-268, 1991.
- LIETZ, D. M. Potential for aquatic oligochaetes as live food in commercial aquaculture. **Hydrobiologia**, Bruxelles, v. 155, p. 309-310, 1987.
- LOCHHEAD, G.; LEARNER, M. A. The effect of temperature on asexual population growth of tree species of Naididae (Oligochaeta). **Hydrobiologia**, Bruxelles, v. 98, p. 107-112, 1983.
- LODEN, M. S. Predation by chironomid (Diptera) larvae on oligochaetes. **Limnology and Oceanography**, Baltimore, v. 19, n. 1, p. 156-159, 1974.
- LOTESTE, A.; MARCHESE, M. Ammonium excretion by *Paranadrilus descolei* Gavrillov, 1955 and *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 (Oligochaeta: Tubificidae) and their role in the nitrogen delivery from sediment. **Polish Archives of Hydrobiology**, Warszawa, v. 41, n. 2, p. 189-194, 1994.
- MARCHESE, M. R.; BRINKHURST, R. O. A comparison of two tubificid oligochaete species as candidates for sublethal bioassay tests relevant to subtropical and tropical regions. **Hydrobiologia**, Bruxelles, v. 334, p. 163-168, 1996.
- MARTIN, P. et al. Global diversity of oligochaetous clitellates ("Oligochaeta"; Clitellata) in freshwater. **Hydrobiologia**, Bruxelles, v. 595, p. 117-127, 2008.
- MARTINS, R. T. et al. Tubificidae (Annelida: Oligochaeta) as an indicator of water quality in an urban stream in southeast Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, São Carlos, v. 20, n. 3, p. 221-226, 2008.
- MOORE, J. W. Influence of food availability and other factors on the composition, structure and density on a subarctic population of benthic invertebrates. **Hydrobiologia**, Bruxelles, v. 62, n. 3, p. 215-223, 1979.
- NAQVI, S. M. Z. Toxicity of twenty-three insecticides to a Tubificidae Worm *Branchiura sowerbyi* from the Mississippi delta. **Journal of Economic Entomology**, Lanham v. 66, p. 70-74, 1973.
- NASCIMENTO, H. L. S.; ALVES, R. G. Cocoon production and hatching rates of *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 16-19, 2008.
- NASCIMENTO, H. L. S.; ALVES, R. G. The effect of temperature on the reproduction of *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae). **Zoologia**, Curitiba, v. 26, n. 1, p. 191-193, 2009.
- NEBEKER, A. V. et al. Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Nova York, v. 3, p. 617-630, 1984.

- OLIVEIRA, H. R. N. 2006. **Macroinvertebrados bentônicos dos sistemas aquáticos da estação de piscicultura do CEPTA/IBAMA, Pirassununga, SP.** 2006. 94f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.
- PAMPLIN, P. A. Z. et al. Riqueza de espécies de oligochaeta (Annelida, Clitelata) em duas represas do rio Tietê (São Paulo). **Biota Neotropica**, Campinas v. 5, n. 1, p. 1-8, 2005.
- PANIS, L. I. et al. On the spatial distribution and respiratory environment of benthic macroinvertebrates in ponds. **Hydrobiologia**, Bruxelas, n. 319, p. 131-136, 1996.
- PAOLETTI, A.; SAMBUGAR, B. Oligochaeta of the middle Po River (Italy): principal component analysis of the benthic data. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 115, p. 145-152, 1984.
- PARIS, O. H.; PITELKA, F. A. Population characteristics of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* in California Grassland. **Ecological Monographs**, Lawrence, v. 43, n. 2, p. 229-248, 1962.
- PASTERIS, A. et al. A comparison among different population models for *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparèd (Oligochaeta, Tubificidae). **Hydrobiologia**, Bruxelas v. 406, p. 183-189, 1999.
- PENNAK, R. W. **Fresh-water invertebrates of the United States.** 2. ed., New York: Wiley-Interscience, p. 275-317. 1978.
- PIANKA, E. R.; Parker, W. S. Age-specific reproductive tactics. **The American Naturalist**, Chicago, v. 109, p. 453-464. 1975.
- RABURU, P. et al. Population structure and secondary productivity of *Limnodrilus hoffmeisteri* (Claparede) and *Branchiura sowerbyi* Beddard in the profundal zone Lake Naivasha, Kenya. **Hydrobiologia**, Bruxelas v. 488, p. 153-161, 2002.
- RAHMAN, M. M. et al. Growth, production and food preference of rohu *Labeo rohita* (H.) in monoculture and in polyculture with common carp *Cyprinus carpio* (L.) under fed and non-fed ponds. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 257, p. 359-372, 2006.
- REYNOLDSON, T. B. The role of environmental factors in the ecology of tubificid oligochaetes - an experimental study. **Holarctic Ecology**, Copenhagen, v. 10, p. 241-248, 1987.
- REYNOLDSON, T. B. A field test of a sediment bioassay with the oligochaete worm *Tubifex tubifex* (Müller, 1774). **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 278, p. 223-230, 1994.
- REYNOLDSON, T. B. et al. A comparison of reproduction, growth and acute toxicity in two populations of *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) from the North American Great Lakes and Northern Spain. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 334, p. 199-206, 1996.
- RIERA, P. et al. Predator-prey interactions: effects of capr predation on Tubificid dynamics and carp production in experimental fishpond. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 226, p. 129-136. 1991.

- RODRIGUEZ, P. et al. Toxicity of Santander Bay sediments to the euryhaline freshwater oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri*. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 564, p. 157-169, 2006.
- RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6. ed. São Paulo: Rocca. 1996. 1029p.
- SAUTER, G.; GÜDE, H. Influence of grain size on the distribution of tubificid oligochaete species. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 334, p. 97-101, 1996.
- SEBENS, K. P. The ecology of indeterminate growth in animals. **Annual review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 18, p. 371-407, 1987.
- SOBHANA, S.; NAIR, N. B. Observations on the breeding frequency of *Branchiura sowerbyi* Beddard and *Limnodrilus hoffmeisteri* Clapared (Annelida: Oligochaeta: Tubificidae). **Comparative Physiology and Ecology**, v. 9, n. 4, p. 302-305, 1984.
- SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo. Editora da Universidade de São Paulo. 317p., 1937.
- TAKEDA, A. M. Oligochaeta community of alluvial Upper Paraná River, Brazil: spatial and temporal distribution (1987-1988). **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 412, p. 35-42, 1999.
- TUOMI, J. et al. Alternative concepts of reproductive effort, costs of reproduction, and selection in life-history evolution. **American Zoologist**, Thousand Oaks, v. 23, p. 25-34, 1983.
- VERDONSCHOT, P. F. M. The role of oligochaetes in the management of waters. **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 180, p. 213-227, 1989.
- VREYS, C.; MICHIELS, N. The influence of body size on immediate reproductive success in *Dugesia gonocephala* (Tricladida, Paludicola). **Hydrobiologia**, Bruxelas, v. 305, p. 113-117, 1995.
- WIEDERHOLM, T. et al. Bulk sediment bioassays with five species of fresh-water oligochaetes. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 36, p. 131-154, 1987.
- WILLIAMS, G. C. Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. **American Naturalist**, Chicago, v. 100, p. 687-690. 1966.
- WILLIAMS, G. C. Sex and Evolution. Princeton University Press. 210p, 1975. *IN*: Levitan, D.R. Influence of body size and population density on fertilization success and reproductive output in a free-spawning invertebrate. **Biological Bulletin**, Woods Hole, v. 181, p. 261-268, 1991.
- WISNIEWSKY, R. J. Investigations Into the Reproduction and Mortality of Tubificidae in Lakes. **Ekologia Polska**, Warszawa, v. 23, p. 463-479, 1979.
- YAN, Y.; WANG, H. Abundance and production of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: Tubificidae) in two typical shallow lakes (Hubei, China). **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, Qingdao, v. 17, p. 79-85, 1999.

YAN, Y.; LIANG, Y. Energy flow in *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: tubificidae) in a shallow macrophyte-dominated lake, Biandantang Lake. **Chinese Journal of Oceanography and Limnology**, Qingdao, v. 22, n. 4, p. 403-407, 2004.

ANEXOS

Artigos publicados referentes à dissertação.

Cocoon production and hatching rates of *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta: Tubificidae)

Haroldo L. S. Nascimento & Roberto da G. Alves

Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas em Comportamento Animal e Biologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora. 36036-330 Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.
E-mail: haroldo.lsn@gmail.com; gama.alves@ufjf.edu.br

ABSTRACT. *Branchiura sowerbyi* Beddard, 1892 is a Tubificidae species abundant in tropical limnic environments and associated with sediments rich in organic matter and elevated temperatures. The present study aimed at obtaining information on laying and hatching rates of *B. sowerbyi* cocoons under laboratory conditions. In order to do this, specimens of *B. sowerbyi* were placed in beakers (250 ml) containing clay sediment and distilled water and kept at 25°C. The obtained cocoons were placed in beakers of 100 ml and kept in conditions similar to the mature individuals. Fifty seven cocoons were collected, with a mean of 0.13 cocoons·individual⁻¹·day⁻¹ and 1.21 (±0.08) eggs·cocoon⁻¹. Hatching time was approximately two weeks and hatching rate was 44.93%. The results obtained were different from the ones found by other authors for *B. sowerbyi*. According to the literature, different populations of the same species can present distinct biological aspects, such as the number of cocoons, hatching rates and growth.

KEY WORDS. Hatching time; number of eggs per cocoons; number of cocoons per individual per day.

RESUMO. Produção de Casulos e Taxa de Eclosão de *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta: Tubificidae).

Branchiura sowerbyi Beddard, 1892 é uma espécie de Tubificidae abundante em ambientes límnicos tropicais, freqüentemente associada a sedimento rico em matéria orgânica e a elevadas temperaturas. O presente estudo teve como objetivo obter informações sobre postura e taxa de eclosão de casulos de *B. sowerbyi*, em condições laboratoriais. Para isso, exemplares da espécie foram acondicionados em béqueres (250 ml), contendo sedimento argiloso e água destilada, mantidos a 25°C. Os casulos foram separados em béqueres de 100 ml e mantidos em condições similares aos indivíduos adultos. Foram coletados 57 casulos, uma média de 0,13 casulos·indivíduo⁻¹·dia⁻¹, contendo 1,21 (±0,08) ovos·casulo⁻¹ em média. O tempo de eclosão foi aproximadamente duas semanas e a taxa de eclosão foi 44,93%. Os resultados obtidos mostraram-se diferentes daqueles encontrados por outros autores para *B. sowerbyi*. Os dados gerados no presente estudo podem ser considerados passos importantes para a observação de características da biologia reprodutiva da espécie, *B. sowebyi*, encontrada no sedimento de ambientes aquáticos brasileiros.

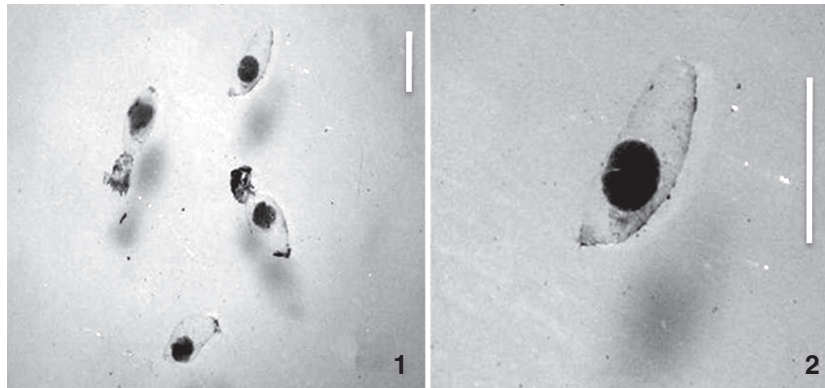
PALAVRAS-CHAVE. Número casulos por indivíduo por dia; número ovos por casulo; tempo de eclosão.

Branchiura sowerbyi Beddard, 1892 is a Tubificidae species that is abundant in tropical limnic environments and frequently associated with organically rich sediments (ASTON 1973, ASTON & MILNER 1981), and high temperatures (REYNOLDSON 1987). As the use of Tubificidae has become promising in ecotoxicology studies (NEBEKER *et al.* 1984, CASSELATO *et al.* 1992), this species has the potential for monitoring the ecological conditions of limnic environments.

The biology of *B. sowerbyi* has extensively been studied in many countries, such as Argentina (MARCHESE & BRINKHURST 1996), the United States (NAQVI 1973, DREWS & ZORAN 1989), Italy (CASSELATO *et al.* 1992, BONACINA *et al.* 1994) and Great Britain (ASTON 1973,

1984, ASTON & MILNER 1981, ASTON *et al.* 1982). In Brazil, however, despite the numerous accounts of the species occurrence (TAKEDA 1999, ALVES & STRIXINO 2000, PAMPLIN *et al.* 2005, DORNFIELD *et al.* 2006), there is a considerable lack of studies on its biology.

Studies on the biological aspects of *B. sowerbyi* from sediments of Brazilian aquatic environments is justified by the fact that different populations may also have different biology, as observed by REYNOLDSON *et al.* (1996) when studying *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) (Tubificidae) found in North America and Spain. The aim of this study was to gather information on both cocoon production and hatching rates of *B. sowerbyi* under laboratory conditions.



Figures 1-2. Cocoon of *B. sowerbyi* right after laying (1) and (2). White bar = 3 mm.

MATERIAL AND METHODS

Specimens of *B. sowerbyi* were collected in the sediments of Lagoa do Diogo, in the margins of Mogi-Guaçu River, situated in the Jataí Ecological Station, São Paulo (Brazil). After being collected, the specimens were brought into the laboratory, where they were reared in aquariums until the beginning of the experiment, which occurred from October 2006 to January 2007.

In order to observe the production of cocoons, six 250 ml beakers containing 100 ml each of clay substrate and 100 mL of aired distilled water, were filled with five adult individuals each. The beakers were then kept in a B.O.D incubator at 25°C for 15 days. The clay substrate, which has previously been analyzed for the presence of the organisms, was obtained from Milho Branco stream at Santa Cândida Biological Reserve, in Minas Gerais (Brazil).

All beakers were observed every two days for the presence of cocoons during the 15-day period. In order to count the number of cocoons, the substrate was rinsed with the aid of a 210µm mesh sieve (Marchese & Brinkhurst 1996) and then analyzed under a stereoscopic microscope. Cocoons could then individually be pinched and placed into 10 individual 100 ml beakers containing 25 ml each of substrate and aired distilled water (ASTON 1984). The number of cocoons per individual per day and eggs per cocoon were determined.

The recipients containing the cocoons were kept in incubators at 25°C for seven days and later analyzed every two days so to observe both the hatching time and rate.

RESULTS

Fifty-seven cocoons were collected in fifteen days, a mean number of 0.13 cocoons-individual⁻¹·day⁻¹. The number of eggs per cocoon varied between 1 and 4, and the mean number was 1.21 (±0.08) eggs-cocoon⁻¹ (Tab. I). In figures 1 and 2, one can observe *B. sowerbyi* cocoons right after laying. Due to transparency, it is possible to see the eggs inside the cocoon.

The hatching time varied between 10 and 20 days. The

majority of the cocoons, however, hatched in a 14 to 16-day interval. The hatching rate was 44.93% (Tab. I). In figure 3, one can observe a cocoon containing an individual just before it hatched.

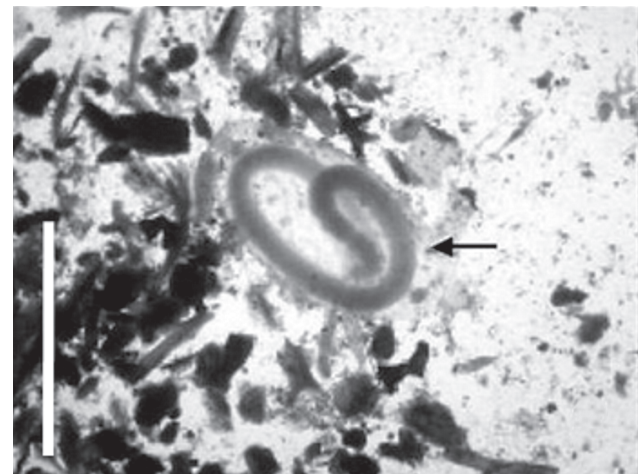


Figure 3. Cocoon of *B. sowerbyi* (arrow) containing an individual just before hatching. White bar = 3 mm.

DISCUSSION

The number of cocoons per individual per day was below the one previously found by MARCHESE & BRINKHURST (1996), which was 0.17 (±0.02) at 25°C.

The number of eggs per cocoon was also below the one previously found by ASTON *et al.* (1982) and MARCHESE & BRINKHURST (1996), which were 2.82 (±0.47) and 1.94 (±0.13), respectively. In cocoons containing two or more eggs, generally only one was found to be viable, just as it has previously been reported by MARCHESE & BRINKHURST (1996).

The first hatchings occurred in 14 to 16 days, what agrees with the period of time observed by BONACINA *et al.* (1994) for

Table 1. Number of cocoons, number of eggs, number of eggs per cocoon, number of hatchings and hatching rate of cocoons (per beaker and total) obtained in a 15 day observation period of 30 *B. sowerbyi* specimens maintained at 25°C.

Beaker	Number of cocoons	Number of eggs	Eggs per cocoon *	Hatchings	Hatching rate
1	9	10	1.11 (± 0.35)	8	0.8000
2	4	5	1.25 (± 0.50)	1	0.2000
3	4	8	2.00 (± 1.41)	4	0.5000
4	4	4	1.00 (± 0.00)	1	0.2500
5	9	12	1.33 (± 0.54)	7	0.5833
6	6	7	1.17 (± 0.34)	2	0.2857
7	12	13	1.08 (± 0.29)	5	0.3846
8	5	5	1.00 (± 0.00)	0	0.0000
9	2	2	1.00 (± 0.00)	1	0.5000
10	2	3	1.50 (± 0.71)	2	0.6667
Total	57	69	1.21 (± 0.08)	31	0.4493

Egg/cocoon relationship \pm standard deviation.

this species but differs from the one found by KOSIOREK (1974) for *T. tubifex*, which was found to occur in 10 to 12 days. Our results show that *B. sowerbyi* embryos took a maximum of three weeks to develop into the adult form at 25°C. After a 3-week period no hatching was observed.

The hatching rate found in this study overcame the 34.4% observed by MARCHESI & BRINKHURST (1996) at the same temperature. According to WISNIEWSKI (1979), the development rate of some Tubificidae cocoons can be improved by placing them 2 to 5 cm depth into the sediment, because at this depth cocoons are less vulnerable to microorganisms present in the water that can jeopardize the embryo's development.

The results of this study differ from those found by other authors (ASTON *et al.* 1982, MARCHESI & BRINKHURST 1996) for *B. sowerbyi*. According to the findings of REYNOLDSON *et al.* (1996) for *T. tubifex*, different populations of one given species may present difference in some biological features, such as number of cocoons per individual, as well as hatching and growth rates.

In this study, it was possible to determine important reproductive characteristics of *B. sowerbyi*, such as the relationship between the number of cocoons-individual⁻¹·day⁻¹ and number of eggs-cocoon⁻¹, as well as hatching rate, which are undoubtedly relevant features for the observation of the reproductive aspects of *B. sowerbyi* found in sediments of Brazilian aquatic environments.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the FAPEMIG for the scholarship and support, as well as the Post-Graduation Program in Biological Sciences: Animal Behavior and Biology of the Juiz de Fora Federal University for the support in the development and the making of this paper.

LITERATURE CITED

- ALVES, R.G. & G. STRIXINO. 2000. Distribuição espacial de Oligochaeta em uma lagoa marginal do Rio Mogi-Guaçu, São Paulo, Brasil. *Iheringia, Série Zoológica* 88: 172-180.
- ASTON, R.J. 1973. Field and experimental studies on the effects of a power station effluent on Tubificidae (Oligochaeta, Annelida). *Hydrobiologia* 42: 225-242.
- ASTON, R.J. 1984. The culture of *Branchiura sowerbyi* (Tubificidae, Oligochaeta) using cellulose substrate. *Aquaculture* 40: 89-94.
- ASTON, R.J. & A.G.P. MILNER. 1981. Conditions required for the culture of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: Tubificidae) in activated sludge. *Aquaculture* 26: 155-160.
- ASTON, R.J.; K. SADLER & A.G.P. MILNER. 1982. The effects of temperature and the culture of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta, Tubificidae) on activated sludge. *Aquaculture* 29: 137-145.
- BONACINA, C.; A. PASTERIS; G. BONOMI & D. MARZUOLI. 1994. Quantitative observations on the population ecology of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta, Tubificidae). *Hydrobiologia* 278: 267-274.
- CASSELATO, S.; R. AIELLO; P.A. NEGRISOLO & M. SENO. 1992. Long-term experiment on *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae) using sediment treated with LAS (Linear Alkylbenzene Sulphonate). *Hydrobiologia* 232: 169-173.
- DORNFIELD, C.B.; R.G. ALVES; M.A. LEITE & E.L.G. ESPINDOLA. 2006. Oligochaeta in eutrophic reservoir: the case of Salto Grande reservoir and their wetland in the South of Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia* 18: 189-197.
- DREWS, C.D. & M.J. ZORAN. 1989. Neurobehavioral specializations for respiratory movements and rapid escape from predators in posterior segments of the tubificid *Branchiura sowerbyi*. *Hydrobiologia* 180: 65-71.
- KOSIOREK, D. 1974. Development cycle of *Tubifex tubifex* Müll. in experimental culture. *Polskie Archiwum Hydrobiologii* 21: 411-422.
- MARCHESI, M.R. & R.O. BRINKHURST. 1996. A comparison of two tubificid oligochaete species as candidates for sublethal bioassay tests relevant to subtropical and tropical regions. *Hydrobiologia* 334: 163-168.
- NAQVI, S.M.Z. 1973. Toxicity of twenty-three insecticides to a tubificidae worm *Branchiura sowerbyi* from the Mississippi delta. *Journal of Economic Entomology* 66: 70-74.
- NEBEKER, A.V.; M.A. CAIRNS; J.H. GARSTATTER; K.W. MALUEG; G.S. SCHUYTEMA & D.F. KRAWCZYK. 1984. Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. *Environmental Toxicology and Chemistry* 3: 617-630.
- PAMPLIN, P.A.Z.; O. ROCHA & M. MARCHESI. 2005. Riqueza de espécies de Oligochaeta (Annelida, Clitellata) em duas represas do rio Tietê (São Paulo). *Biota Neotropica* 5: 1-8.
- REYNOLDSON, T.B. 1987. The role of environmental factors in the ecology of tubificid oligochaetes – an experimental study. *Holarctic Ecology* 10: 241-248.

- REYNOLDS, T.B.; P. RODRIGUEZ & M.M. MADRID. 1996. A comparison of reproduction, growth and acute toxicity in two populations of *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) from North American Great Lakes and Northern Spain. *Hydrobiologia* 334: 199-206.
- TAKEDA, A.M. 1999. Oligochaeta community of alluvial Upper Paraná River, Brazil: spatial and temporal distribution (1987-1988). *Hydrobiologia* 412: 35-42.
- WISNIEWSKI, R.J. 1979. Investigations into the reproduction and mortality of Tubificidae in lakes. *Ekologia Polska* 27: 463-479.

Received in 27.VII.2007; accepted in 04.XII.2007.

SHORT COMMUNICATION

The effect of temperature on the reproduction of *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta: Tubificidae)

Haroldo L. S. Nascimento & Roberto G. Alves

Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Comportamento e Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora. 36063-330 Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.
E-mail: haroldo.lsn@gmail.com; gama.alves@ufjf.edu.br

ABSTRACT. The tubificid worm *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 is widely used as an indicator of organic pollution in aquatic environments. Nevertheless, little is known about its biology. The present work aimed to compare the reproductive rate of *L. hoffmeisteri* raised at three different temperatures (15, 20 and 25°C). Seventy-five adult individuals were kept in fifteen 250 ml beakers (five individuals per beaker) containing sand and dechlorinated tap-water each. Beakers were arranged so as to form three groups of five. Each group was kept in a given temperature for 21 days. Results show that worms raised at 25°C produced a significantly larger number of eggs compared to those raised either at 15 or 20°C, as observed in the tropical tubificid *Branchiura sowerbyi* Beddard, 1892.

KEY WORDS. Cocoons; eggsper cocoon; reproductive rate; tubificid.

Although *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparede, 1862 is widely recognized as an effective indicator of organically polluted aquatic environments (PAOLETTI & SAMBUGAR 1984, ALVES & LUCCA 2000, ALVES *et al.* 2006), little is known about its biology. Research on this species' life cycle concentrates mostly on temperate latitudes, yet there is a lack of studies in the tropical regions. KENNEDY (1966), ASTON (1973) and PASTERIS *et al.* (1999) are some of the few authors who concentrated their efforts on investigating both the reproduction and growing rates of *L. hoffmeisteri*. Among those authors, only ASTON, (1973) evaluated the effect of the temperature on the reproduction rate of this species. The author found that temperature, rather than the dissolved oxygen concentration, most affected reproduction, even though he did not provide the precise temperature at which the species showed the highest reproduction rate.

Despite this information, resulting from research in temperate regions, studies on the reproductive attributes of tropical populations of *L. hoffmeisteri* are necessary because different populations may also have different biologies, as observed by REYNOLDSON *et al.* (1996) when studying *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) from Canada and Spain. They observed differences in cocoon production, growth rate and resistance to different contaminants.

In Brazil, ecological studies have shown that *L. hoffmeisteri* could be found in aquatic environments in which water temperature ranges between 14 and 26°C (CARVALHO & UIEDA 2004, RIBEIRO & UIEDA 2005, ALVES *et al.* 2006, FUSARI & FONSECA-GESSNER 2006, PIEDRAS *et al.* 2006, ALVES *et al.* 2008).

The present work compares the reproduction rate of *L. hoffmeisteri* raised at three different temperatures, and, hence tests the hypothesis that it exhibits greater reproduction rate at higher temperatures.

Limnodrilus hoffmeisteri were obtained from the São Pedro stream, in the city of Juiz de Fora (21°45'46"S and 43°22'00"W), southeastern Brazil. The sediment of this stream is predominantly sandy and, in agreement with DIAS *et al.* (2007), the physical and chemical properties of the water were: dissolved oxygen 5.19 mg.l⁻¹, pH 8.24, conductivity 161 µS.cm⁻¹ and temperature 21.2°C. A sample was made by selecting 75 fully clitellate adult individuals. The worms were then weighted using a 0.1 mg precision balance and transferred to 250 ml beakers containing 100 ml of 0.25-1.00 mm sand, 100 ml of dechlorinated tap-water and 0.1 g (dry weight) of fish food supply used in fish culture. Five individuals were placed in each beaker, for a total of 15 beakers. The beakers were arranged so that to form three groups of five. Each group was kept in a B.O.D. incubator at a given temperature (15, 20 or 25°C) for 21 days. During this period, water was added to the beakers only if needed.

Sand used in this experiment was collected in the Peixe river (21°54'37"S and 43°33'24"W), located in the city of Juiz de Fora (Minas Gerais, Brazil). Before being used in the experiment, undesirable invertebrates were removed with the aid of a stereoscopic microscope.

By the end of the 21st day, sediment was rinsed with the aid of a 250 µm mesh sieve and then screened for the presence of cocoons, immatures and adults with the aid of a stereoscopic

microscope. It was possible to determine important reproductive characteristics of *L. hoffmeisteri*, such as the weight of individuals at adulthood and the number of cocoon-adult⁻¹·day⁻¹ as well as the number of eggs cocoon⁻¹.

The Kruskal-Wallis test was used to compare the final weights of adults, number of eggs per cocoon, young per adult and number of young, among the tested temperatures (non-parametric distribution showed by the Shapiro-Wilk normality test, $p < 0.05$). To compare the number of cocoons and eggs and the relation cocoons per adult per day, among the temperatures, the ANOVA test, followed by Tukey test, was used (Shapiro-Wilk normality test: $p > 0.05$).

The survival rates of the worms raised at 15, 20 and 25°C were 96, 92 and 100%, respectively. The average weights of the worms, initial and final, were: 6.63 ± 1.28 and 8.01 ± 1.60 mg; 6.84 ± 1.86 and 7.51 ± 2.38 mg; 6.87 ± 2.49 and 9.37 ± 2.96 (at 15, 20 and 25°C, respectively). The final weights did not differ significantly according to the temperature ($H = 4.8530$, $p > 0.05$).

Both the number of cocoons and the number of eggs are shown in figure 1. The ANOVA comparing the total number of cocoons showed significant differences between the temperatures ($F = 17.78$, $p < 0.05$), and the Tukey test showed that only the differences between 15 e 20°C were not significant ($p > 0.05$).

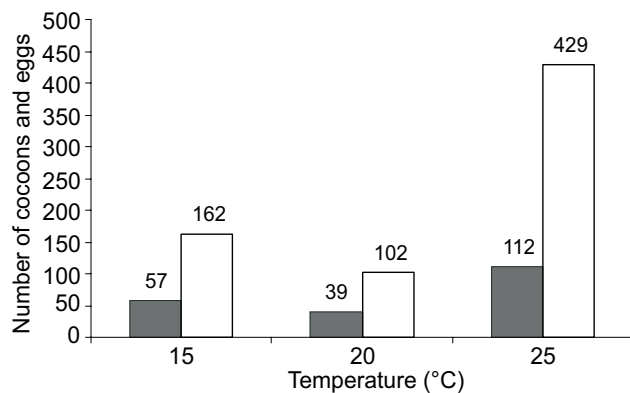


Figure 1. Total number of cocoons (black column), and eggs (white column) produced by *Limnodrilus hoffmeisteri* raised at 15, 20 and 25°C.

The number of young and the relations eggs-cocoon⁻¹, cocoons-adult-day⁻¹ and young-adult⁻¹, with the temperature, are shown in table I. No significant difference was found in the number of eggs-cocoon⁻¹ among the tested temperatures (Tab. I), as observed by ASTON (1973). However, in his work, ASTON (1973) found an average of five eggs per cocoon, while in the present study we obtained an average of 3.25 eggs per cocoon. Both MARCHESI & BRINKHRUST (1996) and NASCIMENTO & ALVES (2008) have observed that *Branchiura sowerbyi* Beddard, 1892 produced fewer eggs per cocoon at 25°C in relation to *L. hoffmeisteri* in this study (1.94 ± 0.13 and 1.21 ± 0.08 , respectively).

Figure 2 shows a cocoon of *L. hoffmeisteri*. By the end of the experiment, the greatest number of young was found at 25°C. The presence of young individuals of *L. hoffmeisteri* suggests that the species needs less than 21 days to complete the full embryonic development. NASCIMENTO & ALVES (2008) have observed that the embryonic development of *B. sowerbyi* took 15 days at 25°C.

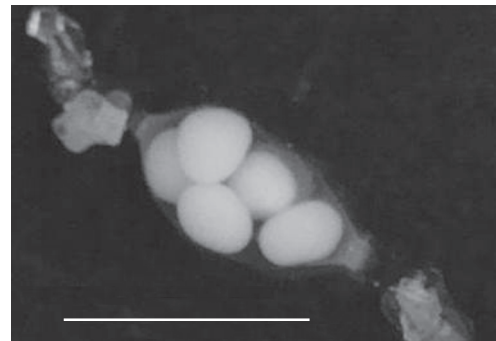


Figure 2. *Limnodrilus hoffmeisteri* cocoon. Bar = 1 mm.

The present study shows that, similarly to what ASTON (1973) has previously observed under laboratory conditions, the largest production of eggs and cocoons of *L. hoffmeisteri* occurred when the worms were raised at 25°C. ASTON *et al.* (1982) and BONACINA *et al.* (1994) observed, at the same temperature, a larger production of cocoons for the tropical *B. sowerbyi*. For

Table I. Mean values (\pm standard deviation) of eggs-cocoon⁻¹, cocoons-adult-day⁻¹ and young-adult⁻¹ and total number of youngs of *L. hoffmeisteri* raised at 15, 20 and 25°C. In the lines, equal letter means that there's no significant difference between the values. Statistical test: (H) Kruskal-Wallis test, (F) ANOVA test.

	Temperature (°C)			Statistical test	
	15	20	25	H	F
Eggs-cocoon ⁻¹	2.78 ± 0.35	2.70 ± 0.98	3.80 ± 2.36	1.0018*	–
Cocoons-adult-day ⁻¹	0.109 ± 0.04^a	0.074 ± 0.04^a	0.213 ± 0.04^b	–	17.8152**
Young-adult ⁻¹	0.00 ± 0.00^a	0.08 ± 0.03^{ab}	1.08 ± 0.64^b	8.8358**	–
Number of youngs	0 ^a	2 ^{ab}	27 ^b	8.8358**	–

* $p > 0.05$, ** $p < 0.05$.

the species *T. tubifex*, however, ASTON (1973) observed a larger production of eggs between 10 and 25°C.

The species *L. hoffmeisteri*, derived from a Brazilian population, exhibit greater reproduction rate at higher temperatures (i.e. 25°C), as found by ASTON (1973), for this species, and by ASTON *et al.* (1982), for the tropical species *B. sowerbyi*. On the other hand, *T. tubifex* exhibits a higher growth rate when raised between 10 and 13°C (REYNOLDSON 1987).

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais for the scholarship, and Juliane F.L. Santos for help with statistical analysis.

LITERATURE CITED

- ALVES, R.G. & J.V. LUCCA. 2000. Oligochaeta (Annelida: Clitellata) como indicadores de poluição orgânica em dois córregos pertencentes à bacia do Ribeirão do'Ouro – Araraquara (São Paulo, Brasil). **Brazilian Journal of Ecology** 2: 112-117.
- ALVES, R.G.; M.R. MARCHESE & S.C. ESCARPINATI. 2006. Oligochaeta (Annelida, Clitellata) in lotic environments in the State of São Paulo, Brazil. **Iheringia, Série Zoologia**, 96 (4): 431-435.
- ALVES, R.G.; M.R. MARCHESE & R.T. MARTINS. 2008. Oligochaeta (Annelida, Clitellata) of lotic environments at Parque Estadual Intervalas (São Paulo, Brazil). **Biota Neotropica** 8: 21-25.
- ASTON, R.J. 1973. Field and Experimental Studies on the effects of a power station effluent on Tubificidae (Oligochaeta, Annelida). **Hydrobiologia** 42 (2): 225-242.
- ASTON, R.J.; K. SADLER & A.G.P. MILNER. 1982. The effects of temperature and the culture of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta, Tubificidae) on activated sludge. **Aquaculture** 29: 137-145.
- BONACINA, C.; A. PASTERIS; G. BONOMI & D. MARZUOLI. 1994. Quantitative observations on the population ecology of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta, Tubificidae). **Hydrobiologia** 278: 267-274.
- CARVALHO, E.M. & V.S. UIEDA. 2004. Colonização por macroinvertebrados bentônicos em substrato artificial e natural em um riacho da serra de Itatinga, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 21 (2): 287-293.
- DIAS, R.J.P.; A.F. CABRAL; N.N.C. STEPHAN; R.T. MARTINS; I.D. SILVA-NETO; R.G. ALVES & M. D'AGOSTO. 2007. Record of *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) epibionte on Chironomidae larvae (Diptera, Chironomidae) in a lotic system in Brazil. **Brazilian Journal of Biology** 67: 631-633
- FUSARI, L.M. & A.A. FONSECA-GESSNER. 2006. Environmental assessment of two small reservoirs in southeastern Brazil, using macroinvertebrate community metrics. **Acta Limnologica Brasiliense** 18 (1): 89-99.
- KENNEDY, C.R. 1966. The life history of *Limnodrilus hoffmeisteri* Clap. (Oligochaeta: Tubificidae) and its adaptive significance. **Oikos** 17: 158-168.
- MARCHESE, M.R. & R.O. BRINKHURST. 1996. A comparison of two tubificid oligochaete species as candidates for sublethal bioassay tests relevant to subtropical and tropical regions. **Hydrobiologia** 334: 163-168.
- NASCIMENTO, H.L.S. & R.G. ALVES. 2008. Cocoon production and hatching rates of *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae). **Revista Brasileira de Zoologia** 25 (1): 16-19.
- PAOLETTI, A. & B. SAMBUGAR. 1984. Oligochaeta of the middle Po River (Italy): principal component analysis of the benthic data. **Hydrobiologia** 115: 145-152.
- PASTERIS, A.; M. VECCHI & G. BONOMI. 1999. A comparison among different population models for *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparèd (Oligochaeta, Tubificidae). **Hydrobiologia** 406: 183-189.
- PIEDRAS, S.R.N.; A. BAGER; P.R.R. MORAES; L.A. ISOLDI; O.G.L. FERREIRA & C. HEEMANN. 2006. Macroinvertebrados bentônicos como indicadores de qualidade de água na Barragem Santa Bárbara, Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural** 36: 494-500.
- REYNOLDSON, T.B. 1987. The role of environmental factors in the ecology of tubificid oligochaetes - an experimental study. **Holarctic Ecology** 10: 241-248.
- REYNOLDSON, T.B.; P. RODRIGUEZ & M.M. MADRID. 1996. A comparison of reproduction, growth and acute toxicity in two populations of *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) from the North American Great Lakes and Northern Spain. **Hydrobiologia** 334: 199-206.
- RIBEIRO, L.O. & V.S. UIEDA. 2005. Estrutura da comunidade de macroinvertebrados bentônicos de um riacho de serra em Itatinga, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 22: 613-318.

Submitted: 01.VII.2008; Accepted: 03.III.2009.

Editorial responsibility: Neusa Hamada