



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**PROTISTAS CILIADOS (PROTISTA, CILIOPHORA) ENCONTRADOS NO CÓRREGO SÃO PEDRO
(BACIA DO RIO PARAIBUNA), MUNICÍPIO DE JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS:
TAXONOMIA, MORFOLOGIA, BIOMONITORAMENTO E RELAÇÕES EPIBIÓTICAS**

Roberto Júnio Pedroso Dias

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal).

Juiz de Fora, Minas Gerais

Fevereiro de 2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**PROTISTAS CILIADOS (PROTISTA, CILIOPHORA) ENCONTRADOS NO CÓRREGO SÃO PEDRO
(BACIA DO RIO PARAIBUNA), MUNICÍPIO DE JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS:
TAXONOMIA, MORFOLOGIA, BIOMONITORAMENTO E RELAÇÕES EPIBIÓTICAS**

Roberto Júnio Pedroso Dias

Orientadora: Profa. Dra. Marta Tavares D'Agosto (Departamento de Zoologia / UFJF)

Co-orientador: Prof. Dr. Inácio Domingos da Silva-Neto (Departamento de Zoologia / UFRJ)

Colaborador: Prof. Dr. Alfredo Hannemann Wieloch (Departamento de Zoologia / UFMG)

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal).

Juiz de Fora, Minas Gerais

Fevereiro de 2007

FICHA CATALOGRÁFICA

Dias, Roberto Junio Pedroso

Protistas Ciliados (Protista, Ciliophora) encontrados no Córrego São Pedro (Bacia do Rio Paraibuna), Município de Juiz de Fora, Minas Gerais: taxonomia, morfologia, biomonitoramento e relações epibióticas ; orientador: profa. Dra. Martha D'Agosto ; co-orientador: Inácio Domingos da Silva-Neto ; colaborador: Alfredo Hannemann Wieloch. -- 2007.

165 f.

Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2007.

1. Protozoários – Microbiologia. 2. Ecologia. 3. Poluição da água. I. Título.

CDU 593.1

**PROTISTAS CILIADOS (PROTISTA, CILIOPHORA) ENCONTRADOS NO CÓRREGO SÃO PEDRO
(BACIA DO RIO PARAIBUNA), MUNICÍPIO DE JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS:
TAXONOMIA, MORFOLOGIA, BIOMONITORAMENTO E RELAÇÕES EPIBIÓTICAS**

Roberto Júnio Pedroso Dias

Orientadora: Profa. Dra. Marta Tavares D'Agosto (Departamento de Zoologia / UFJF)

Co-orientador: Prof. Dr. Inácio Domingos da Silva-Neto (Departamento de Zoologia / UFRJ)

Colaborador: Prof. Dr. Alfredo Hannemann Wieloch (Departamento de Zoologia / UFMG)

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal).

Aprovado em 26 de fevereiro de 2007

Profa. Dra. Marta D'Agosto (orientadora)
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Inácio Domingos da Silva-Neto
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Luiz Felipe Machado Velho
Universidade Estadual de Maringá

Juiz de Fora, Minas Gerais

Fevereiro de 2007

“Só a cultura acadêmica não faz o homem feliz. É a sabedoria espiritual que pacifica a alma e lhe dá forças para que ele vença as dificuldades naturais da vida”.

Isabel Salomão de Campos

À minha querida e eterna mãe (*in memoriam*) pelo amor incondicional durante toda nossa convivência nesta encarnação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Deus** pela oportunidade e pelo equilíbrio para que eu pudesse elaborar o presente trabalho.

Ao meu **pai** pelo apoio e exemplo de honestidade, coragem e determinação, razão maior do meu esforço. Agradeço por ter revisado a redação da presente dissertação. À minha querida **irmã** carinhosa e meiga que me tranqüiliza a alma.

À querida **Sthefane** pelo amor, carinho, amizade, pessoa pela qual tenho imensa admiração. Agradeço também pelos belos desenhos que tanto contribuíram para este trabalho. Sou grato também à todos seus familiares, às suas divertidas e guerreiras **irmãs**, ao Sr. **Gilberto** e à querida e bondosa **Lúcia Helena**.

Aos meus tios **Alceu** (*in memoriam*) e **Regina** e aos meus primos, **Bruno** e **Fernanda**, que me receberam em Juiz de Fora com imenso carinho e que são hoje para mim uma segunda família. Agradeço aos meus padrinhos **Itamar** e **Lucília** por serem tão prestativos e pela preocupação e amizade.

À querida **Dona Isabel Salomão de Campos** pelos ensinamentos sublimes e por me mostrar, pelo seu exemplo de lealdade ao Cristo, a estrada que leva ao equilíbrio e à paz. Agradeço também à todos os amigos da comunidade espírita “**A Casa do Caminho**”.

À professora **Marta D’Agosto**, minha eterna orientadora, pela amizade, confiança, exemplo de força e dignidade que me auxiliaram muito durante toda minha formação acadêmica. Agradeço por ter me apoiado quando resolvi estudar os ciliados de vida livre. O presente trabalho é consequência desta confiança e sensibilidade, que a muitos falta. Agradeço às colegas de laboratório **Moara Lemos**, **Isabel Martinele**, **Patrícia Silveira**, **Usha Vashist** pelo prazer da convivência e em especial à **Adalgisa Cabral** pela amizade, pelo auxílio diário no laboratório e pela confiança, muito obrigado!

Ao professor **Inácio Domingos da Silva-Neto**, meu co-orientador, agradeço principalmente pela confiança, pela amizade e pelo constante incentivo ao estudo destes diminutos organismos, que para nós são “gigantes”. Sua dedicação para com o estudo dos ciliados foi sempre um estímulo muito grande. Agradeço também pelas horas gastas na gelada sala do microscópio eletrônico de varredura. Sou grato a todos do laboratório de Protistologia da UFRJ, em especial à **Isabel Siqueira de Castro** pela amizade leal e por ter me recebido com carinho e imensa atenção durante todas minhas idas ao Fundão, foram de extrema importância seu apoio e preocupação, sou extremamente grato, ao grande **Orlando da Conceição** por ter me ensinado muito sobre técnicas em protistologia e pela simpatia que alegra a todos e que fez das minhas “visitas” ao laboratório um prazer, ao

Thiago da Silva Paiva pelo grande estímulo ao estudo dos ciliados, pelo auxílio constante com a taxonomia, pelo envio de algumas imagens e por ter revisado grande parte desta dissertação no exame de qualificação, obrigado, ao **Antônio Carlos Cavalcante** pela paciência e coleguismo e ao **Márcio de Souza**, ao **Rodrigo Godinho** e à **Éthel Ribeiro** pelas gentilezas. Agradeço ao professor **Venício Feo da Veiga** do Instituto de Microbiologia da UFRJ por permitir o uso do microscópio com contraste interferencial diferencial.

Ao professor **Alfredo Hannemann Wieloch**, meu co-orientador, por ter aberto as portas do seu laboratório desde o primeiro dia de conversa sem ao menos ter alguma indicação sobre mim, pela grande amizade e pelo exemplo marcante de humildade e tranquilidade, seu auxílio e atenção foram essenciais para que este trabalho se finalizasse. Agradeço também à todos do laboratório de invertebrados da UFMG, em especial à **Márcia Alves** pela amizade e atenção e ao **Ivo Oliveira** e ao **Luis Leal** pelas conversas e coleguismo. Sou grato também aos professores **Mauro Triques** e **Alice Kumagai** do Departamento de Zoologia da UFMG pela atenção.

Agradeço a todos que participaram do projeto de avaliação da qualidade da água do córrego São Pedro, em especial ao professor **Roberto da Gama Alves** pela amizade leal e sincera, pelo exemplo de profissional sério, íntegro e trabalhador e pelas conversas quase diárias sobre ecologia, sobre macroinvertebrados bentônicos e principalmente pelas conversas sobre a vida, ao grande amigo **Nilo Nélio Stephan** pelo exemplo de simplicidade, humildade, altruísmo e amor que sente pela biologia, pela “vida” e sou grato também pelas divertidas coletas que não foram fáceis, ao **Renato Tavares** pela amizade e pelo seu exemplo de dedicação ao estudo dos oligoquetas, ao **Guilherme Alfenas** pelo coleguismo e pelo auxílio com os dados limnológicos, ao professor **Marcone Augusto** (Depto Química-UFJF), à professora **Dionéia César** (Depto Biologia-UFJF), à **Vívian Oliveira**, e à **Denise Soares** pela participação no projeto do córrego São Pedro. Importante se faz o agradecimento ao Sr. **Zé** que nos auxiliou em todas as coletas nas nascentes.

A todos os professores do Departamento de Zoologia (UFJF), em especial ao **Artur Andriolo** pelas conversas edificantes e pela sua sabedoria espiritual, à **Elisabeth Cristina de Almeida Bessa** (Beth) pela confiança, amizade, pelas oportunidades de crescimento profissional e pelo constante estímulo e apoio desde a graduação no estudo dos moluscos terrestres, à **Sueli de Souza Lima** pelo carinho, pelas conversas sobre helmintologia, sobre a vida e por ter grande participação em minha formação acadêmica, ao **José Carlos Oliveira** pelo grande estímulo ao estudo da zoologia, **Érik Daemon** pelo apoio logístico e convivência na pós-graduação, ao **Fábio Prezoto** pelas oportunidades, ao **Rafael Gioia** pelas conversas sobre o tempo pretérito (pré-histórico) e por sua marcante simplicidade, e também aos

professores **Gilson Alexandre de Castro**, **Juliane Lopes**, **Sônia Brugriolo**, **Bernadete Souza e Rose de Carvalho** pela convivência. Sou grato também à professora **Andréa Luiz Ponso** do Departamento de Botânica (UFJF) que tanto me estimulou a continuar estudando os “invisíveis” protistas ciliados. Agradeço ao professor **Ricardo Zaidan** do Departamento de Geociências (UFJF) e ao **Marcelo Latuf** pelo grande auxílio com os mapas.

Agradeço às professoras **Laura Utz** da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo envio da bibliografia sobre ciliados epibiontes e à **Silvana Thiengo** do Instituto Oswaldo Cruz pela identificação precisa do molusco *Pomacea figulina*. Sou grato também aos professores **Alan Warren** do Museu Britânico de História Natural (Inglaterra), **Gregorio Fernandez-Leborans** da Universidade Complutense (Espanha), **Weibo Song** da Universidade de Qingdao (China), por terem enviado separatas e auxiliado na identificação de alguns ciliados.

À todos os meus colegas da pós-graduação pela convivência sadia e leal, em especial ao baiano **André Melo**, ao **Adriano Reder** “o cara”, ao **Alessandro Arcoverde**, à **Camila Zappes**, à **Camilla de Medeiros** (“Camilinha”), à **Eloá Arévalo**, ao grande **Fabiano Matos Vieira**, à **Flávia Junqueira**, ao **Guilherme Rossi**, à **Iara Novelli**, ao **Leonardo Machado**, à **Paula dos Santos** e à **Sandra Tibiriçá**. Agradeço aos meus colegas e amigos da graduação que continuam me apoiando **Sandro Almeida**, **Valquíria Rezende** e ao **Elisson Romanel** e **Berenice Chiavegatto** que foram meus anfitriões no Rio de Janeiro. Não poderia deixar de agradecer à **Juliana Augustin** pela amizade sincera e pelo auxílio com o abstract desta dissertação.

Sou grato à **Marlú** pela convivência, atenção, paciência e eficiência em resolver os “problemas” na secretaria da pós-graduação. À querida **Rosângela**, pessoa pela qual tenho muito respeito, amizade e admiração!

Aos meus amigos leais e fiéis que não falham nunca, **Júlio Rocha Costa e Túlio Mendes**.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (**FAPEMIG**) pelo financiamento do projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pela bolsa de estudo a mim concedida.

Enfim, tenho a agradecer à todos aqueles que realmente me apoiaram e foram essenciais para que este trabalho pudesse ser realizado. Obrigado!

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE PRANCHAS	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiii
APRESENTAÇÃO.....	xiv
INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	1
CAPÍTULO I - Inventário dos ciliados (Protista, Ciliophora) bentônicos encontrados no córrego São Pedro (Juiz de Fora-MG) e descrição de <i>Apoamphisiella</i> sp. nov. (Spirotrichea, Amphisiellidae).....	16
CAPÍTULO II - Descrição de um doublet do tipo imagem espelhada em <i>Gastrostyla setifera</i> (Engelmann, 1862) Kent 1882 (Ciliophora, Stichotrichia)....	51
CAPÍTULO III - Registro de <i>Neobursaridium gigas</i> Balech, 1941 (Ciliophora, Peniculida, Neobursaridiidae) em um sistema lótico no sudeste do Brasil e revisão dos aspectos morfológicos, ecológicos e de distribuição geográfica.....	64
CAPÍTULO IV - Mudança espacial e temporal na comunidade de protistas ciliados (Protista, Ciliophora) e avaliação sapróbia da qualidade da água ao longo do córrego São Pedro (Bacia do Rio Paraibuna), município de Juiz de Fora, Minas Gerais.....	84
CAPÍTULO V - Protistas ciliados (Protista, Ciliophora) epibiontes de <i>Pomacea figulina</i> (Spix, 1827) (Mollusca, Ampullariidae).....	105
CAPÍTULO VI - Localização, distribuição espacial e temporal de protistas ciliados do gênero <i>Rhabdostyla</i> (Ciliophora, Peritrichia, Epistylididae) sobre <i>Limnodrilus hoffmeisteri</i> (Annelida, Oligochaeta, Tubificidae)	126
CAPÍTULO VII - Registro de <i>Rhabdostyla chironomi</i> Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) sobre larvas de quironomídeos (Diptera, Chironomidae) em um córrego urbano no sudeste do Brasil	146
CONSIDERAÇÕES FINAIS	152
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	154

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

- Tabela 1** - Protistas ciliados encontrados nas cinco estações de coleta do córrego São Pedro 28
- Tabela 2** - Frequência de ocorrência (em 12 coletas) dos protistas ciliados encontrados nas estações amostrais 1(E1), 2(E2), 3(E3), 4(E4) e 5(E5) no dia de coleta e após 4 semanas deste dia, em análises semanais 31
- Tabela 3** - Comparação entre as espécies do gênero *Apoamphisiella* segundo Paiva (2005) e com os dados obtidos no presente estudo 34

Capítulo III

- Tabela 1** - Registros de ocorrência de *Neobursaridium gigas*..... 72

Capítulo IV

- Tabela 1** - Protistas ciliados encontrados nas cinco estações do córrego São Pedro..... 89
- Tabela 2** - Índices de similaridade (%) de Jaccard e de Sørensen (fundo cinza) entre as estações amostrais aplicado à comunidade de protistas ciliados 90
- Tabela 3** - Frequência de ocorrência dos protistas ciliados encontrados nas estações amostrais 1(E1), 2(E2), 3(E3), 4(E4) e 5(E5), nível sapróbio (s) e hábito alimentar (ha).... 93
- Tabela 4** - Valência sapróbia das espécies encontradas no córrego e que estão incluídas no sistema sapróbio e número estimado de cada espécie nas cinco estações 97

Capítulo V

- Tabela 1** - Protistas ciliados epibiontes encontrados sobre *Pomacea figulina* 109

LISTA DE PRANCHAS

Prancha I. Fotomicrografias e eletromicrografias de ciliados heterotríqueos dos gêneros <i>Blepharisma</i> e <i>Spirostomum</i>	41
Prancha II. Fotomicrografias <i>in vivo</i> (campo claro e contraste de fase) de três espécies do gênero <i>Stentor</i>	42
Prancha III. Fotomicrografias e eletromicrografias de ciliados espirotríqueos	43
Prancha IV. Desenho e fotomicrografias de ciliados himenostomatídeos dos gêneros <i>Frontonia</i> , <i>Lembadium</i> e <i>Neobursaridium</i>	44
Prancha V. Fotomicrografias de ciliados oligohimenoforídeos dos gêneros <i>Paramecium</i> , <i>Urocentrum</i> e <i>Glaucoma</i>	45
Prancha VI. Fotomicrografias e eletromicrografias de peritríquios e suctórios	46
Prancha VII. Desenhos esquemáticos de <i>Apoamphisiella</i> sp. nov.	47
Prancha VIII. Fotomicrografias e eletromicrografia de <i>Apoamphisiella</i> sp. nov.	48
Prancha IX. Fotomicrografias (ao protargol) de <i>Apoamphisiella</i> sp. nov.	49
Prancha X. Desenhos esquemáticos das espécies do gênero <i>Apoamphisiella</i>	50
Prancha XI. Desenhos esquemáticos de <i>Gastrostyla setifera</i>	61
Prancha XII. Fotomicrografias das células normais de <i>Gastrostyla setifera</i> impregnadas pelo protargol	62
Prancha XIII. Fotomicrografias do doublet do tipo imagem espelhada em <i>Gastrostyla setifera</i>	63
Prancha XIV. Desenho esquemático de <i>Neobursaridium gigas</i> retirado de DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS (1986)	79
Prancha XV. Fotomicrografias de <i>Neobursaridium gigas in vivo</i>	80
Prancha XVI. Fotomicrografias de <i>Neobursaridium gigas</i> impregnado pelo protargol	81
Prancha XVII. Eletromicrografia de varredura de <i>Neobursaridium gigas</i>	82
Prancha XVIII. Eletromicrografias de varredura de <i>Neobursaridium gigas</i>	83
Prancha XIX, XX e XXI. Fotomicrografias dos protistas ciliados epibiontes de <i>Pomacea figulina in vivo</i>	124, 125, 126

- Prancha XXII.** Desenho esquemático do padrão de localização dos protistas ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre oligoquetas límnicos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri*. 143
- Prancha XXIII.** Fotomicrografias *in vivo* e eletromicrografias de protistas ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre oligoquetas límnicos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* 144
- Prancha XXIV.** Fotomicrografias *in vivo* dos protistas ciliados do gênero *Rhabdostyla* epibiontes de oligoquetas límnicos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* 145
- Prancha XXV.** Fotomicrografias *in vivo* do ciliado epibionte *Rhabdostyla chironomi* e desenho esquemático da larva de Chironomidae 151

RESUMO

No presente trabalho, foram estudados os aspectos da taxonomia e morfologia dos protistas ciliados encontrados no córrego São Pedro (Juiz de Fora, MG), bem como o potencial destes microorganismos como indicadores da qualidade da água e ainda os aspectos ecológicos das relações epibióticas entre os ciliados e alguns macroinvertebrados bentônicos. A presente dissertação está dividida em sete capítulos. No capítulo 1, foi realizado o inventário dos ciliados encontrados em cinco estações amostrais do córrego, durante um ano de estudo, e foi observada a sucessão destes protistas em laboratório. Foram identificadas 42 espécies de ciliados e caracterizou-se morfologicamente *Apoamphisiella* sp. nov. (Spirotrichea, Amphisiellidae). No capítulo 2, foi descrito um doublet do tipo imagem espelhada em *Gastrostyla setifera* (Spirotrichea, Oxytrichidae), obtida de amostras de água e sedimento de uma estação amostral do córrego São Pedro. O capítulo 3 registra a presença de *Neobursaridium gigas* (Oligohymenophorea, Neobursaridiidae) no córrego e apresenta uma revisão dos aspectos morfológicos, ecológicos e da distribuição geográfica deste ciliado. No capítulo 4, verificou-se a influência da poluição orgânica sobre a composição e a distribuição da taxocenose de protistas ciliados ao longo do córrego, com o objetivo de avaliar a qualidade da água deste sistema lótico. Durante o estudo de um ano, em cinco estações amostrais ao longo do córrego, foram encontradas 39 espécies de protistas ciliados, das quais 32 estão incluídas no sistema sapróbio e são consideradas bioindicadoras. A composição e a distribuição da taxocenose de protistas ciliados variaram espacial e temporalmente. O índice sapróbio e o índice de valência sapróbia foram utilizados para avaliar a qualidade da água das

cinco estações amostrais e demonstraram o alto grau de poluição das estações 4 e 5. Os dados obtidos confirmam que, em águas correntes, a poluição orgânica parece ser um fator determinante, capaz de influenciar a composição, a distribuição e a estrutura trófica da taxocenose de protozoários ciliados. Os capítulos seguintes versam sobre as associações epibióticas dos protistas ciliados com moluscos, oligoquetas e larvas de insetos. No capítulo 5, foram registradas sete espécies de ciliados sobre as conchas de *Pomacea figulina*, sendo seis pertencentes à subclasse Peritrichia: *Carchesium polypinum*, *Vorticella microstoma*, *Vorticella campanula*, *Epistylis plicatilis*, *Epistylis* sp., *Opercularia* sp. e uma pertencente à subclasse Suctoria: *Hypophrya fasciculata*. Os resultados são discutidos em termos das vantagens e desvantagens desta relação para os protistas ciliados e dos aspectos ecológicos envolvidos nesta associação. No capítulo 6, foram investigados o sítio de localização e o padrão de distribuição espacial e temporal de protistas ciliados peritríquios do gênero *Rhabdostyla* colonizando oligoquetas límnicos tubificídeos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) nas cinco estações amostrais do córrego, ao longo de 11 meses de coleta. O padrão de ocorrência dos epibiontes sobre os oligoquetas apresentou heterogeneidade espacial e temporal. Os resultados são discutidos em termos das possíveis causas da localização dos ciliados preferencialmente na região posterior dos oligoquetas e dos fatores relacionados ao padrão de distribuição espacial e temporal heterogêneo. E finalmente, o capítulo 7 relata a ocorrência de *Rhabdostyla chironomi* (Ciliophora, Peritrichia) sobre larvas de *Chironomus decorus* (Diptera, Chironomidae) no córrego e reporta, ainda, os fatores envolvidos na localização dos ciliados sobre os túbulos abdominais dos hospedeiros e a possível utilização desta relação como indicadora da qualidade da água.

Palavras-chave: biomonitoramento, ciliados, epibiose, morfologia, sistema lótico.

ABSTRACT

In the present study, both taxonomy and morphology aspects of the ciliate protists found in São Pedro stream (Juiz de Fora-MG), as well as their potential as water quality indicators were studied together with the ecological aspects of the epibiotic relation between the ciliate and some benthic macroinvertebrates. The present dissertation is divided into seven chapters. In chapter 1, the survey of ciliate protists was obtained from samples of water and sediment from the stream, during a hole year, and the succession of these protists was observed in laboratory. Forty-two ciliate species were identified and *Apoamphisiella* sp. n. (Spirotrichea, Amphisiellidae) was morfologically characterized. In chapter 2, mirror-image doublet was described in *Gastrostyla setifera* (Spirotrichea, Oxytrichidae), obtained from samples of water and sediment at the São Pedro stream. The Chapter 3 registers the presence of *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 (Oligohymenophorea, Neobursaridiidae) in the stream and presents a revision of the morphological aspects of this ciliate, as well as its ecological and geographical distribution. In chapter 4, the influence of the organic pollution on both the composition and the distribution of the taxocenose of ciliate protists along the stream had the aim of evaluating the water quality of this lotic system. During the one year study, 39 ciliate protist species were found, 32 of which were included in the saprobic system and their potencial as indicators are considered. The composition and the distribution of the taxocenose of ciliate protist varied both spatial and seasonally. The saprobic index and the valency methods were used to evaluate the water quality at the five stations and they demonstrated the high degree of pollution on stations 4 and 5. Our results confirm that the organic load in watercourses may be a dominating factor capable of influencing the composition, distribution and trophic structure of the taxocenose of ciliate protist. The following chapters consider the

epibiotic ciliate protist associations to mollusks, oligochaetes and insect larvae. In chapter 5, seven ciliate species were registered on the shells of *Pomacea figulina*, six of which belonging to the subclass Peritrichia: *Carchesium polypinum*, *Vorticella microstoma*, *Vorticella campanula*, *Epistylis plicatilis*, *Epistylis* sp., *Opercellaria* sp. and one belonging to the subclass Suctoria: *Hypophrya fasciculata*. Results are discussed in terms of the advantages and disadvantages of this relationship from the ciliate protist point of view, together with the ecological aspects involved in this association. In chapter 6, location ranch and both spatial and temporal distribution patterns of *Rhabdostyla* peritrichids were found colonizing limnic oligochaetes Tubificidae of the species *Limnodrilus hoffmeisteri* in the five amostral stations, during 11 months of collection. The occurrence pattern of the epibionts on the oligochaetes was spatial and seasonally heterogeneous. Results are discussed in terms of the possible causes for the site preference of the ciliates in the posterior region of the oligochaetes and factors related to the heterogeneous pattern of space and temporal distribution. Finally, chapter 7 registers the occurrence of *Rhabdostyla chironomi* (Ciliophora, Peritrichia) on *Chironomus decorus* larvae (Diptera, Chironomidae) in the stream and still it moderates the factors involved in the location of the ciliates on the ventral tubules of its hosts and the possible usage of this relationship as indicative of the water quality.

Key-words: biomonitoring, ciliates, epibiose, morphology, lotic system.

APRESENTAÇÃO

O presente trabalho faz parte de um amplo projeto multidisciplinar denominado: “**Avaliação da qualidade da água do córrego São Pedro (Bacia do Rio Paraibuna), Município de Juiz de Fora, MG**”. Estão envolvidos neste projeto os Departamentos de Biologia, Química e Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora e ainda os Departamentos de Zoologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro e da Universidade Federal de Minas Gerais. A presente dissertação versa sobre os aspectos da taxonomia, morfologia, biomonitoramento e relações epibióticas da ciliatofauna do córrego São Pedro, um córrego urbano localizado no município de Juiz de Fora, MG. Está dividida em duas partes principais: morfologia (parte I) e ecologia (parte II). A parte I possui três capítulos. O primeiro (capítulo I) apresenta um inventário dos protistas ciliados associados ao sedimento do córrego e caracteriza morfologicamente *Apoamphisiella* sp. nov.; o segundo (capítulo II) descreve um doublet do tipo imagem espelhada em *Gastrostyla setifera*; e o terceiro (capítulo III) apresenta principalmente os aspectos da morfologia e distribuição geográfica de *Neobursaridium gigas*. A parte II possui quatro capítulos. O primeiro (capítulo IV) aborda a utilização dos ciliados como indicadores da qualidade da água; os três seguintes abordam associações epibióticas entre os ciliados e alguns macroinvertebrados bentônicos: moluscos (capítulo V), oligoquetas (capítulo VI) e larvas de insetos (capítulo VII).

INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Aspectos gerais dos ciliados

Os protistas ciliados foram descobertos no final do século XVII pelo holandês Antony van Leeuwenhoek, com o auxílio de um microscópio primitivo que ele próprio construiu. Os “animálculos” de Leewenhoek foram observados em água de chuva entre algas filamentosas. Nos relatos enviados a Real Sociedade de Londres ele apresentou ao mundo a vida em outra dimensão. Em 1676, Leeuwenhoek descreveu os protistas ciliados encontrados na água da chuva, como “as criaturas mais infelizes que jamais vi; pois, quando... eles chocam com qualquer partícula ou com pequenos filamentos (que existem em grande quantidade na água, especialmente se ficou parada durante alguns dias), ficam presos, enroscados neles; então, puxam seus corpos para a forma oval e lutam, alongando-se fortemente, para poder soltar as caudas, provocando seus corpos inteiros a saltarem como uma mola em direção das caudas e, estas, enroladas como serpentes – do mesmo modo que um fio de cobre ou de ferro que, tendo sido bem enrolado em torno de uma madeira, é depois retirado - mantêm todas as curvas” (D’AGOSTO *et al.*, 2003).

O Reino Protista Haeckel, 1866 é considerado um grupo polifilético (HAUSMANN & HULSMANN, 1996). Incluído neste grupo está o superfilo Alveolata Cavalier-Smith, 1991, que contém os filós Apicomplexa Levine, 1970, Dinozoa Cavalier-Smith, 1991 e Ciliophora Doflein, 1901, sendo os Apicomplexa filogeneticamente mais próximos aos Dinozoa do que aos Ciliophora, tal como demonstrado por FAST *et al.* (2002) em estudo sobre filogenia molecular. Dentre os protistas, os ciliados são os mais especializados e diversificados e os que apresentam maior complexidade em sua organização (KUDO, 1966; HICKMANN, 2001).

Compartilhando uma origem comum, são organismos monofiléticos, tendo como autoapomorfias o dimorfismo nuclear, o tipo de reprodução sexuada por conjugação e a complexa infraciliatura (LYNN & CORLISS, 1991).

Os protistas ciliados são organismos unicelulares, heterotróficos e com o tamanho variando aproximadamente entre 10 µm e 4.500 µm. Os ciliados apresentam vacúolos contrácteis com poros permanentes para a realização de balanço hídrico e um citoprócto por onde são excretados resíduos celulares. Alguns ciliados apresentam coloração, que é determinada por pigmentos citoplasmáticos, algas simbiontes, alimentos recentemente ingeridos ou grânulos de reserva. A forma do corpo varia do esférico ao alongado, geralmente com a região ventral plana e a dorsal abaulada, podendo ocorrer formas bizarras e assimétricas (CORLISS, 1979; PUYTORAC *et al.*, 1987).

O aparelho nuclear é composto por um macronúcleo e por um a vários micronúcleos, o que caracteriza o dimorfismo nuclear. O macronúcleo regula o metabolismo do organismo, enquanto o micronúcleo encarrega-se das funções genéticas. O formato do macronúcleo varia de redondo a ovóide (principalmente em ciliados pequenos) ou em forma de colar ou altamente ramificado através do citoplasma. Os micronúcleos são relativamente pequenos, medindo entre 1,5 e 5µm, e possuem formato esférico ou oval (CORLISS, 1979; LYNN & SMALL, 2002). A perda do macronúcleo é sempre letal ao ciliado, porém, ciliados amiconucleados são capazes de se reproduzir por fissão (RAIKOV, 1996).

A reprodução assexuada, que ocorre por fissão binária, é transversal. Na reprodução sexuada por conjugação, característica exclusiva dos ciliados, ocorre a reversibilidade da união entre os conjugantes e a substituição do macronúcleo (GRELL, 1973; CORLISS, 1979). A conjugação envolve uma troca de micronúcleos, cada um dos quais fundem-se a um micronúcleo não-migratório para formar um núcleo zigótico. A conjugação é precedida por divisões meióticas de um micronúcleo e é seguida pela reconstituição da condição nuclear normal, que pode envolver uma fissão (RUPPERT & BARNES, 1996). Após a separação do par conjugante ocorre a reorganização das estruturas corticais (morfogênese), etapa considerada de extrema importância no reconhecimento dos principais grupos dentro do Phylum Ciliophora (PUYTORAC *et al.*, 1994; LYNN & SMALL, 1997).

Todos os ciliados possuem cílios em pelo menos um estágio dos seus ciclos de vida, sendo exceção o gênero *Phalacroptes*, um suctório epizoóico que vive sobre o poliqueta *Schizobranhia insignis* Bush, 1905 (HAUSMANN & HÜLSMANN, 1996). Os cílios são organelas celulares ultraestruturalmente idênticas aos flagelos que servem tanto para locomoção (ciliatura somática, usada na natação ou para rastejar) quanto para captura de alimento (ciliatura oral, geralmente por filtração). Os cílios são curtos e em geral dispostos em

fileiras longitudinais e diagonais. Podem cobrir a superfície do corpo, estar restritos à região peristomial (citóstoma) ou a certas faixas. Na maioria das espécies, os cílios são fundidos em uma bainha, a membrana ondulante, ou em membranelas menores, sendo ambas usadas para impulsionar os alimentos para o citóstoma. Em algumas espécies há cílios fundidos, formando tufo enrijecidos, os cirros, que são frequentemente usados pelos ciliados rastejantes para a locomoção. Os cílios podem ainda ser empregados de maneira menos usual, numa forma tigmotáctil de adesão a superfícies (HICKMANN 2001). Com o advento das técnicas de impregnação pela prata propostas por CHATTON & LWOFF (1930), KLEIN (1958), TUFFRAU (1967), FOISSNER (1991) e DIECKMANN (1995) a ciliatura somática (ao longo do corpo) e a ciliatura oral (próxima ao citóstoma) passaram a possuir grande valor taxonômico na identificação de gênero e espécie entre os Ciliophora. A infraciliatura, outro caráter exclusivo dos protistas ciliados, localizada no córtex logo abaixo da camada alveolar, é constituída por cinetossomos que estão associados a três estruturas básicas: fibra cinetodesmal, microtúbulos transversos e microtúbulos pós-ciliares (LYNN & SMALL, 2002).

Os caracteres utilizados na taxonomia e reconhecimento dos grandes grupos monofiléticos internos em Ciliophora são: 1) organização da infraciliatura, 2) organização das ciliaturas oral e somática, 3) morfologia do citóstoma, 4) presença ou não de extrusomas anexos, 5) morfologia do aparelho nuclear e 6) padrão de reorganização cortical (morfogênese) (CORLISS, 1979; PUYTORAC *et al.*, 1994).

Os protistas ciliados são, em sua maioria, organismos de vida livre, com poucos representantes simbioses, comensais e parasitos (FENCHEL, 1987). Dentre os Ciliophora conhecidos, somente a espécie *Balantidium coli* Claparède & Lachmann, 1858 foi registrada parasitando humanos. Estes protistas podem ser natantes ou sésseis, com estes últimos vivendo associados tanto a substratos inertes quanto a diversos organismos. Os grupos de vida livre ocupam diversos ambientes tais como os marinhos (interstícios de areia, nos estuários, golfos, mares e oceanos), os dulciaquícolos (charcos d'água, lagos, córregos, rios, reservatórios, poças temporárias, lençóis freáticos e o lodo ativado), os terrestres (principalmente na região superficial dos solos e associados a musgos) (DRAGESCO & DRAGESCO-KÉRNEIS, 1986; FENCHEL, 1987) ou no interior de bromélias (JOPPERT *et al.*, 1995; FOISSNER, 2003a, b).

O registro destes protistas em diversos habitats é influenciado por sua notável tolerância ou adaptabilidade às várias condições físico-químicas apresentadas pela natureza em seus ambientes. Se os fatores ecológicos, tais como temperatura, teor de oxigênio dissolvido, pH, salinidade, luminosidade e condutividade elétrica estão dentro do limite tolerado por determinada espécie de ciliado, sua existência e abundância dependerá da

quantidade de alimento disponível (NOLAND, 1925; SLEIGH, 1988). Quando as condições ambientais se tornam adversas estes organismos recorrem ao encistamento, até que as condições do meio estejam favoráveis novamente (TAYLOR, 1981). Existe uma grande variação no grau de diferenciação celular dos ciliados encistados, tal como a espessura da membrana do cisto, a tolerância do cisto às condições ambientais e viabilidade do organismo após longos períodos de encistamento (LOUSIER & BAMPFORT, 1990).

Os protistas ciliados atuam na cadeia trófica como predadores de bactérias, cianobactérias, detritos, diatomáceas, algas filamentosas, desmídeas, amebas nuas e com teca, hifas de fungos, outros ciliados e de metazoários microscópicos. De acordo com sua estratégia de fagocitose, os ciliados são classificados em filtradores, alimentando-se de pequenas presas, principalmente bactérias e detritos, filtradas por ação ciliar; raptorais que predam bactérias, outros protistas e metazoários; e suctoriais que vivendo associados a substratos inertes ou vivos capturam suas presas por meio de tentáculos (VERNI & GUALTIERI, 1997).

Atualmente, existem duas hipóteses sobre a distribuição global dos protistas ciliados. A primeira hipótese, defendida pelos ecólogos, sugere que as espécies de ciliados possuem ampla distribuição geográfica, e a segunda, adotada pelos taxonomistas, sugere que estes organismos possuem distribuição geográfica restrita. Existem divergências entre pesquisadores dessas duas áreas quanto ao número estimado de espécies de ciliados existentes no planeta. Segundo FOISSNER (1999) estes números são altamente especulativos, visto que somente uma pequena fração dos habitats mundiais foi explorada. Os ecólogos estimam o número aproximado de 3.000 espécies ainda não descritas, enquanto os taxonomistas acreditam que existam em torno de 30.000 espécies de protistas ciliados a serem descobertas. Segundo FINLAY & FENCHEL (1999), o futuro das discussões a respeito da distribuição e diversidade dos protistas ciliados passarão por três questões fundamentais: (1) O que é uma espécie?, (2) Quantas espécies existem? e (3) Há limites na distribuição geográfica dos ciliados, ou seja, estes organismos possuem biogeografia? Segundo FOISSNER (1999), a chave para se entender a biodiversidade e a distribuição geográfica dos ciliados é ampliar o esforço amostral nos diversos ambientes do planeta.

2. Classificação dos ciliados

Os protistas ciliados vêm sendo classificados de diferentes maneiras conforme o acúmulo do conhecimento sobre suas características, devido aos avanços nas várias técnicas empregadas no estudo destes organismos (CORLISS, 1979). No presente trabalho, foi utilizada a classificação mais atual, proposta por LYNN & SMALL (2002).

Filo Ciliophora Doflein, 1901

Sub-filo Postciliodesmatophora Gerassimova & Seravin, 1976

Classe Karyorelictea Corliss, 1974

Ordem Protostomatida Small & Lynn, 1985

Ordem Loxodida Jankowski in Small & Lynn, 1985

Ordem Protoheterotrichida Nouzarède, 1977

Classe Heterotrichea Stein, 1859

Ordem Heterotrichida Stein, 1859

Sub-filo Intramacronucleata Lynn, 1996

Classe Spirotrichea Bütschli, 1889

Sub-classe Protocruziidia de Puytorac *et al.*, 1987

Ordem Protocruziida Jankowski in Small & Lynn, 1985

Sub-classe Phacodiniidia Small & Lynn, 1985

Ordem Phacodiniida Small & Lynn, 1985

Sub-classe Hypotrichia Stein, 1859

Ordem Kiiitrichida Nozawa, 1941

Ordem Euplotida Small & Lynn, 1985

Sub-ordem Discocephalina Wicklow, 1982

Sub-ordem Euplotina Small & Lynn, 1985

Sub-classe Oligotrichia Bütschli, 1887

Ordem Strombidiida Petz & Foissner, 1992

Sub-classe Choreotrichia Small & Lynn, 1985

Ordem Tintinnida Kofoid & Campbell, 1929

Ordem Choreotrichida Small & Lynn, 1985

Sub-ordem Strombidinopsina Small & Lynn, 1985

Sub-ordem Strobilidiina Small & Lynn, 1985

Sub-ordem Leegaardiellina Laval-Peuto, Grain & Deroux,
1994

Sub-classe Stichotrichia Small & Lynn, 1985

Ordem Plagiotomida Albaret, 1974

Ordem Stichotrichida Fauré-Fremiet, 1961

Ordem Urostylida Jankowski, 1979

Ordem Sporadotrichida Fauré-Fremiet, 1961

- Sub-classe Licnophoria Corliss, 1957
 - Ordem Licnophorida Corliss, 1957
- Classe Armophorea Jankowski, 1964
 - Ordem Armophorida Jankowski, 1964
 - Ordem Clevelandellida de Puytorac & Grain, 1976
 - Ordem Odontostomatida Sawaya, 1940
- Classe Litostomatea Small & Lynn, 1981
 - Sub-classe Haptoria Corliss, 1974
 - Ordem Haptorida Corliss, 1974
 - Ordem Pleurostomatida Schewiakoff, 1896
 - Ordem Cyclotrichida Jankowski, 1980
 - Sub-classe Trichostomatia Bütschli, 1889
 - Ordem Vestibuliferida de Puytorac *et al.*, 1974
 - Ordem Entodiniomorphida Reichenow *in* Doflein & Reichenow, 1929
 - Sub-ordem Archistomatina de Puytorac *et al.*, 1974
 - Sub-ordem Blepharocorythina Wolska, 1971
 - Sub-ordem Entodiniomorphina Reichenow *in* Doflein & Reichenow, 1929
- Classe Phyllopharyngea de Puytorac *et al.*, 1974
 - Sub-classe Phyllopharyngia de Puytorac *et al.*, 1974
 - Ordem Chlamydodontida Deroux, 1976
 - Ordem Dysteriida Deroux, 1976
 - Sub-classe Rhynchodia Chatton & Lwoff, 1939
 - Ordem Rhynchodida Chatton & Lwoff, 1939
 - Sub-ordem Rhynchodina Chatton & Lwoff, 1939
 - Sub-ordem Ancistrocomina Chatton & Lwoff, 1939
 - Ordem Hypocomatida Deroux, 1976
 - Sub-classe Chonotrichia Wallengren, 1895
 - Ordem Exogemmida Jankowski, 1972
 - Ordem Cryptogemmida Jankowski, 1975
 - Sub-classe Suctoria Claparède & Lachmann, 1858
 - Ordem Exogenida Collin, 1912
 - Ordem Endogenida Collin, 1912
 - Ordem Evaginogenida Jankowski *in* Corliss, 1979

- Classe Nassophorea Small & Lynn, 1981
 - Ordem Synhymeniida de Puytorac *et al.*, 1974
 - Ordem Nassulida Jankowski, 1967
 - Ordem Microthoracida Jankowski, 1967
- Classe Colpodea Small & Lynn, 1981
 - Ordem Bryometopida Foissner, 1985
 - Ordem Bryophryida de Puytorac *et al.*, 1979
 - Ordem Bursariomorphida Fernández-Galeano, 1978
 - Ordem Colpodida de Puytorac *et al.*, 1974
 - Ordem Cyrtolophosidida Foissner, 1978
 - Ordem Sorogenida Foissner, 1985
- Classe Prostomatea Schewiakoff, 1896
 - Ordem Prostomatida Schewiakoff, 1896
 - Ordem Prorodontida Corliss, 1974
- Classe Plagiopylea Small & Lynn, 1985
 - Ordem Plagiopylida Small & Lynn, 1985
- Classe Oligohymenophorea de Puytorac *et al.*, 1974
 - Sub-classe Peniculia Fauré-Fremiet *in* Corliss, 1956
 - Ordem Peniculida Fauré-Fremiet *in* Corliss, 1956
 - Sub-ordem Frontoniina Small & Lynn, 1985
 - Sub-ordem Parameciina Jankowski *in* Small & Lynn, 1985
 - Sub-classe Scuticociliatia Small, 1967
 - Ordem Philasterida Small, 1967
 - Ordem Pleuronematida Fauré-Fremiet *in* Corliss, 1956
 - Sub-classe Hymenostomatia Délage & Hérouard, 1896
 - Ordem Hymenostomatida Délage & Hérouard, 1896
 - Sub-classe Apostomatia Chatton & Lwoff, 1928
 - Ordem Apostomatida Chatton & Lwoff, 1928
 - Ordem Astomatophorida Jankowski, 1966
 - Ordem Pilisuctorida Jankowski, 1966
 - Sub-classe Peritrichia Stein, 1859
 - Ordem Sessilida Kahl, 1933
 - Ordem Mobilida Kahl, 1933
 - Sub-classe Astomatia Schewiakoff, 1896
 - Ordem Astomatida Schewiakoff, 1896

3. Protistas ciliados como indicadores da qualidade de água

Nenhum ambiente tem sofrido tantas e tão grandes modificações ao longo da história da humanidade quanto os ecossistemas aquáticos, principalmente as águas correntes superficiais: dos grandes rios aos ribeirões. A rápida deterioração qualitativa e quantitativa dos recursos hídricos é conseqüência das muitas atividades antrópicas, entre as quais pode-se destacar: a mineração, a construção de barragens, os despejos de efluentes domésticos e industriais sem tratamento, a superexploração dos recursos pesqueiros, o desmatamento e o uso inadequado do solo. A preocupação com esse problema, principalmente nas últimas décadas, levou a avanços importantes nos métodos de avaliação das condições gerais dos ambientes hídricos, visando sua conservação ou recuperação. Com esse enfoque, o monitoramento ambiental atua como ferramenta indispensável nas avaliações do estado de preservação e/ou grau de degradação dos ecossistemas, produzindo subsídios para a elaboração de estratégias de manejo e conservação de áreas naturais e de planos de recuperação de ambientes degradados (MARQUES & BARBOSA, 2001).

As avaliações de impactos ambientais em ecossistemas aquáticos, em geral, são realizadas por meio das análises das variáveis físicas e químicas, as quais permitem a identificação imediata e a quantificação precisa das alterações nas propriedades físicas e químicas da água. Porém, esse método de monitoramento oferece algumas desvantagens como a descontinuidade temporal e espacial das amostragens. Assim, os resultados das avaliações através da análise das variáveis físicas e químicas da água fornecem apenas um retrato momentâneo de uma situação altamente dinâmica (WHITFIELD, 2001).

Atualmente, a grande maioria dos estudos analisa não apenas as mudanças nas características físico-químicas da água, mas também as respostas a essas mudanças por parte dos organismos ali presentes (SOLA *et al.*, 1996; BEESON *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999; FRIED *et al.*, 2000). No monitoramento biológico, a avaliação da qualidade da água é feita por meio de organismos que funcionam como sensores das alterações ambientais (MARQUES & BARBOSA, 2001).

Os métodos que se baseiam nas respostas das comunidades biológicas às alterações do ambiente têm sido considerados como as melhores formas de monitoramento e avaliação do grau de deterioração dos cursos d'água, mostrando o efeito acumulativo das substâncias sobre os organismos e as perturbações sofridas nos diferentes compartimentos do meio em sua estrutura e função. Enquanto os dados físico-químicos representam apenas o estado da água em um ponto e momento determinados, o biomonitoramento analisa comunidades biológicas que dependem das condições ambientais 24 horas por dia e são sensíveis o bastante para mostrar os efeitos de uma poluição (GROLIÈRE *et al.*, 1990; MARQUES & BARBOSA, 2001). No

Brasil, apesar da legislação que classifica as águas continentais não fazer referência à necessidade de considerar os componentes biológicos do sistema afetado entre os critérios de avaliação (MARQUES & BARBOSA, 2001), programas nacionais de monitoramento da água doce, como a CETESB, em São Paulo e o CETEC, em Minas Gerais, já utilizam o método biológico para a avaliação ambiental dos ambientes aquáticos.

A utilização de protozoários ciliados como bioindicadores tem sido apontada, como grande potencial para avaliação da qualidade de água (GROLIÈRE *et al.*, 1990, SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; MADONI, 1994; PICCINI & GUTIÉRREZ, 1995; SALVADÓ *et al.*, 1995; FOISSNER & BERGER, 1996; BEESON *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999; FRIED *et al.*, 2000; PAIVA & SILVA-NETO, 2004a; MADONI, 2005). O curto ciclo de vida e a alta taxa reprodutiva desses organismos permitem a detecção de impactos ambientais de curta escala de tempo (GROLIÈRE *et al.*, 1990; MADONI, 1994; MADONI & BASSANINI, 1999). Esses organismos respondem diretamente às mudanças no perfil químico e são sensíveis a dosagens muito pequenas de contaminantes (SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991). Além disso, apresentam ampla distribuição geográfica, sendo componentes essenciais de quase todos os ambientes, podendo ser obtidos em quantidades estatisticamente aceitáveis (PICCINI & GUTIÉRREZ, 1995). Entretanto, CURDS & BEREZKY-CSUTOR (1993) ressaltam as desvantagens destes organismos como bioindicadores da qualidade dos diversos ecossistemas: o grande número de espécies, a dificuldade de identificação para os ecólogos, a dificuldade na quantificação, e a presença de grupos de ciliados inconspícuos, principalmente os ciliados terrestres.

A alta sensibilidade às condições físicas e químicas do ambiente pode ser explicada pelo fato de muitos protozoários apresentarem exigências específicas em relação às características do meio, como a quantidade de matéria orgânica dissolvida, temperatura, pH, condutividade elétrica e teor de oxigênio dissolvido (NOLAND, 1925; KUDO, 1967; SLEIGH 1988). Dentre essas características, a quantidade de matéria orgânica e o teor de oxigênio dissolvido presentes na água, quando caracterizam poluição orgânica, definem zonas de poluição às quais estão associadas espécies de protozoários indicadores (FOISSNER, 1988; FOISSNER & BERGER, 1996). São essas zonas: polisapróbia (água extremamente poluída), alfa-mesosapróbia (água muito poluída); beta-mesosapróbia (água moderadamente poluída) e oligosapróbia (água não poluída ou levemente poluída) (STREBLE & KRAUTER, 1987; FOISSNER, 1988; FOISSNER & BERGER, 1996).

O sistema sapróbio de determinação da qualidade da água, desenvolvido por KOLKWITZ & MARSSON (1908, 1909), tem sido amplamente utilizado na classificação biológica dos cursos da água desde sua criação. A lista original de espécies de ciliados indicadores foi revisada por diversos autores. FOISSNER (1988) e FOISSNER *et al.* (1995)

adaptaram a lista de ciliados indicadores da qualidade da água publicada por SLÁDECEK *et al.*, (1981) e WEGL (1983), adicionando espécies indicadoras e reparando erros de nomenclatura e taxonomia. As zonas definidas como mesosapróbias e polisapróbias têm sido caracterizadas por comunidades de ciliados específicas, enquanto que estudos sobre as comunidades de ciliados associadas a ambientes oligosapróbios (nascentes e áreas de preservação) são escassos na literatura (FOISSNER, 1997a; PACKROFF & ZWICK, 1996, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999).

Devido a rápida deterioração qualitativa e quantitativa das águas correntes superficiais em ambientes urbanos pela influência antrópica, têm sido realizados diversos estudos sobre a composição, distribuição e a dinâmica das comunidades de ciliados em rios e córregos, bem como sua inclusão no sistema sapróbio e sua eficiência no monitoramento destes recursos hídricos (MADONI, 1993; GROLIÈRE *et al.*, 1990; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; MADONI, 1994; PICCINI & GUTIÉRREZ, 1995; SALVADÓ *et al.*, 1995; SOLA *et al.*, 1996; PACKROFF & ZWICK, 1996, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999).

A disponibilidade de alimento é um importante fator biótico que controla a distribuição das populações de protozoários ciliados nos variados ecossistemas (NOLAND, 1925; SLEIGH, 1988). Os distúrbios causados pela poluição podem alterar profundamente a cadeia alimentar aquática (MADONI & BASSANINI, 1999). Alguns estudos sobre a mudança da estrutura trófica na comunidade de ciliados têm demonstrado que em águas oligosapróbias esses organismos se alimentam principalmente de algas, enquanto somente poucos se alimentam de bactérias e cianobactérias. Com o aumento do grau sapróbio a estrutura trófica é significativamente alterada. Os poluentes orgânicos conduzem ao aumento de fosfatos e outros nutrientes, alterando a estrutura das comunidades bacterianas, que induzem mudanças na ciliatofauna, a qual depende diretamente destas bactérias como alimento (PRIMC, 1988). As principais mudanças são o decréscimo de espécies de ciliados algívoros e o aumento dos ciliados bacterívoros (WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; MADONI & BASSANINI 1999; MADONI, 2005).

A escassez de água, a recuperação de sua qualidade e o desenvolvimento de tecnologias para o gerenciamento dos recursos hídricos são alguns dos grandes desafios que o desenvolvimento econômico enfrentará no próximo século (MARQUES & BARBOSA, 2001). Portanto, faz-se necessário a utilização de metodologias, tais como o estudo dos protistas ciliados, a fim de se avaliar a qualidade dos ambientes aquáticos brasileiros e de se propor métodos para sua conservação e recuperação.

4. Protistas ciliados epibiontes

Os epibiontes são organismos que durante a fase sésil do seu ciclo de vida colonizam a superfície de um substrato vivo. Enquanto o basibionte constitui um substrato que hospeda o epibionte (WAHL, 1989; FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2002; FERNANDEZ-LEBORANS & GAGILONDO, 2006).

Historicamente, a epibiose era entendida como uma relação comensal entre dois ou mais organismos. Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que os epibiontes podem causar efeitos deletérios aos seus hospedeiros (GREEN, 1974; HENEBRY & RIDGEWAY, 1979; XU, 1992; PUCKETT & CARMAN, 2002). De acordo com COOK *et al.* (1998) esta relação ecológica possui dois extremos. Em um extremo, ela pode ter natureza oportunista, facultativa e não especializada, com os epibiontes colonizando substratos inertes, animais e plantas. No outro extremo, estão as associações obrigatórias e altamente específicas, havendo adaptações morfológicas e comportamentais entre epibionte e basibionte que proporcionam este modo de vida.

Segundo WAHL (1989), a relação epibiótica apresenta vantagens e desvantagens para hospedeiros e epibiontes. Este autor descreveu os possíveis efeitos negativos da epibiose em um artigo de revisão. Os efeitos benéficos para os epibiontes são: a corrente de filtração criada por certos basibiontes no momento da alimentação, o exudato proveniente dos metabólitos do basibionte e o transporte dos epibiontes para regiões com melhores condições nutricionais e de oxigenação, além de facilitar a dispersão e troca gênica entre as populações de epibiontes. Existem também desvantagens para o epibionte, oriundas da atividade biológica e do comportamento dos hospedeiros, tais como: a instabilidade dos substratos vivos causada pelos movimentos, ecdises, morte natural, predação, flutuações da atividade fisiológica, eliminação de metabólitos e a migração.

Os efeitos negativos da epibiose para os hospedeiros são, conforme WAHL (1989), o aumento do peso e da demanda energética; redução na flutuabilidade; decréscimo na fecundidade e no tempo de sobrevivência; aumento na superfície de atrito com o ambiente; competição por nutrientes (partículas, oxigênio) entre epibiontes e hospedeiros, que usualmente favorece o epibionte devido à sua posição sobre o basibionte; danos provocados pela predação sobre os epibiontes e aumento da susceptibilidade à predação. Embora poucos, existem efeitos benéficos para os hospedeiros: os epibiontes podem tornar os hospedeiros menos atrativos para os predadores, funcionando como defesa química, por meio da liberação de toxinas, e visual através da camuflagem. Além disso, em alguns casos, os basibiontes podem se alimentar dos próprios epibiontes.

Os protistas ciliados peritríquios vivem como epibiontes sobre uma variedade de espécies de metazoários aquáticos, incluindo diversos grupos de invertebrados: esponjas, cnidários, ctenóforos, rotíferos, tardígrados, planárias, crustáceos, anelídeos, larvas de insetos, moluscos e de vertebrados: peixes, girinos e cágados (KAHL, 1935; GOODRICH & JAHN, 1943; LAIRD, 1959; CORLISS, 1979; FOISSNER *et al.*, 1992, 1999; FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2002; MOSS *et al.*, 2001).

Os ciliados epibiontes desempenham importante papel ecológico nos ecossistemas de água doce, porém a maioria dos trabalhos sobre estes organismos é de cunho morfológico e taxonômico (BALDOCK, 1986), sendo escassos estudos que abordem os aspectos quantitativos da relação epibiótica (BALDOCK, 1986; XU, 1992; COOK, *et al.*, 1998; HANAMURA, 2000; UTZ & COATS, 2005). Segundo LAIRD (1959) e HENEGBRY & RIGDEWAY (1979), a ocorrência e a prevalência de peritríquios epibiontes podem indicar o grau de poluição orgânica de um ecossistema aquático.

Os epibiontes apresentam algum grau de preferência pelo hospedeiro. Os ciliados peritríquios (Ciliophora, Peritrichia) possuem atributos que refletem seu grau de especialização para um determinado habitat. Segundo NENNINGER (1948) e COOK *et al.* (1998), existem três grupos ecológicos distintos de peritríquios, classificados quanto ao grau de especificidade pelo hospedeiro. Indivíduos do grupo O e I colonizam uma ampla gama de substratos, tais como substratos inertes, plantas, animais e não estão restritos ao modo de vida epibiótico. Os organismos do grupo II são parcialmente especializados e restritos ao nível de filo, classe ou ordem do hospedeiro. No grupo III, os ciliados são epibiontes obrigatórios, com grau de especificidade maior, ao nível de família, gênero ou até espécie.

No Brasil, dentre os estudos sobre os ciliados epibiontes, destacam-se os trabalhos de RIGHI (1973), REGALI-SELEGHIM & GODINHO (2004), DIAS *et al.* (2006a) e DIAS *et al.* (no prelo). RIGHI (1973) descreveu *Rhabdostyla pristinis* (Peritrichia) sobre o oligoqueta *Pristina minuta* (Stephenson, 1914), em um ambiente edáfico nas margens do rio Capivara, na Serra do Cipó, Minas Gerais. REGALI-SELEGHIM & GODINHO (2004) estudaram o padrão de colonização de duas espécies de ciliados peritríquios sobre organismos do metazooplâncton (rotíferos, cladóceros e copépodos) no reservatório Monjolinho, São Carlos, SP. DIAS *et al.* (2006a) registraram, pela primeira vez, sete gêneros de ciliados sésseis epibiontes de moluscos prosobrânquios da espécie *Pomacea lineata* Spix, 1827 (Ampullariidae) em valas de irrigação no município de Juiz de Fora (Minas Gerais) (anexo I). DIAS *et al.* (no prelo) relataram a ocorrência de *Rhabdostyla chironomi* (Peritrichia) sobre larvas de *Chironomus decorus* (Diptera, Chironomidae) no córrego São Pedro, Juiz de Fora, MG (anexo I). Reportaram, ainda, os fatores envolvidos na localização dos ciliados sobre os túbulos

abdominais dos hospedeiros e a possível utilização desta relação como indicadora da qualidade da água.

5. Ciliados de vida livre ocorrentes no Brasil

Os estudos de cunho taxonômico sobre ciliatofauna de vida livre ocorrente no Brasil são relativamente escassos quando comparados aos inúmeros estudos realizados na Europa e na América do Norte. As primeiras contribuições referem-se aos ciliados marinhos, aqueles que vivem entre os grãos de areia (psamófilos) e principalmente à ciliatofauna planctônica, e datam do início do Século XX (FARIA & CUNHA, 1917; CUNHA & FONSECA, 1918; FARIA *et al.*, 1922; PINTO, 1925). Após a segunda metade do Século XX, KATTAR (1970), em seu estudo sobre os ciliados psamófilos do litoral brasileiro, identificou 75 espécies, em uma área de estudo que incluiu os Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Pernambuco. Em água salobra, JOPPERT (1998) realizou um estudo taxonômico e ecológico dos ciliados do plâncton litorâneo da lagoa de Piratininga, na cidade de Niterói (Rio de Janeiro), associados à macrófita *Typha dominguensis*. Em 2004, FERNANDES (2004 a, b), realizou um levantamento taxonômico dos tintininos (Subordem Tintinnina) coletados em águas subtropicais do sul do Brasil, registrando várias espécies destes ciliados para o Oceano Atlântico Sul Ocidental. As amostras foram baseadas em diferentes cruzeiros oceanográficos cobrindo águas de plataforma e oceano. WANICK & SILVA-NETO (2004), no mesmo ano, realizaram um inventário dos ciliados bentônicos da baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, identificando 32 espécies e descrevendo a espécie *Pseudokeronopsis sepetibensis*. PAIVA & SILVA-NETO (2003, 2004b) descreveram, respectivamente, *Apoamophisiella jurubatiba* e *Oxytricha marcili*, identificando ainda 34 espécies de ciliados coletados nas margens da lagoa de Cabiúnas, Macaé, Rio de Janeiro. PAIVA (2005), estudando a mesma lagoa, realizou um estudo taxonômico dos ciliados bem como descreveu cinco novas espécies pertencentes à classe Spirotrichea Bütschli, 1889. PAIVA & SILVA-NETO (2005) descreveram *Deviata estevesi* em amostras também provenientes da lagoa de Cabiúnas, Macaé, RJ. PAIVA & SILVA-NETO (2006) descreveram *Pseudourostyla pelotensis* encontrada em uma lagoa de água salobra em Pelotas, RS.

Nos ambientes edáficos (solos), SAWAYA (1940) descreveu no Estado de São Paulo, *Blepharisma sinuosum*. Esta mesma espécie foi redescrita e teve seus aspectos morfogenéticos elucidados por KATTAR (1965). SANTOS (1991) realizou um estudo estrutural e ultraestrutural de três espécies de ciliados associados a musgos provenientes de Petrópolis, RJ. FOISSNER (1997b), identificou 139 espécies de ciliados em localidades brasileiras, entre as

quais, descreveu *Lamtostyla granulifera* (Spirotrichea). No ano seguinte, VALER (1998), registrou a ocorrência de onze espécies de ciliados de solo ocorrentes no município de Charqueadas, Rio Grande do Sul.

Os estudos referentes aos protistas ciliados que vivem em ambientes dulciaquícolas (lagos, rios, córregos, tanques de bromélias, estações de tratamento de esgoto) abordam não só a morfologia e a taxonomia como também aspectos da ecologia e do uso destes organismos como indicadores da qualidade destes ecossistemas.

Sobre a microfauna de ciliados encontrada em tanques de bromélias de ambientes brasileiros destacam-se os estudos de JOPPERT *et al.* (1995), ESTEVES & SILVA-NETO (1996), FOISSNER (2003 a, b) e FOISSNER *et al.* (2003). JOPPERT *et al.* (1995) realizaram um estudo qualitativo dos ciliados associados a *Aechmea nudicaulis* (Bromeliaceae) em Barra de Maricá, RJ. ESTEVES & SILVA-NETO (1996) estudaram a ciliatofauna de tanques de bromélias em Angra dos Reis, RJ. FOISSNER (2003a) descreveu *Bromeliophrya brasiliensis*, um novo gênero e espécie de ciliado proveniente de tanques de bromélias da costa brasileira. FOISSNER (2003b) realizou estudo taxonômico e biogeográfico, descrevendo a espécie de ciliado *Lambornella trichoglossa*, proveniente de amostras coletadas de tanques de bromélias de regiões costeiras do Brasil, da República Dominicana e do Caribe. Em estudo que combinou morfologia, biogeografia, biologia molecular e ecologia, FOISSNER *et al.* (2003) comentaram a riqueza de espécies endêmicas nesses micro-ecossistemas.

SILVA & SILVA-NETO (2001) identificaram 18 espécies de ciliados em amostras de lodo ativado da Estação de Tratamento de Esgotos da Penha (ETE Penha) no Rio de Janeiro e destacaram a importância dos protozoários ciliados no tratamento biológico aeróbico de esgotos, realizando um estudo taxonômico de abordagem inédita no país. PAIVA & SILVA-NETO (2004c) descreveram *Parentocirrus brasiliensis* em amostras provenientes da mesma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE Penha).

Os estudos dos protozoários ciliados encontrados em sistemas lênticos (águas paradas) têm enfatizado seu uso na avaliação da qualidade da água, destacando-se os trabalhos de HARDOIM & HECKMAN (1996) e de ARANTES *et al.* (2004), realizados, respectivamente, em alagados no Pantanal, Mato Grosso e no reservatório de Salto Grande no município de Americana, São Paulo. Destacam-se também os estudos BARBIERI & GODINHO-ORLANDI (1989) e GOMES & GODINHO (2003) em lagos eutróficos no Estado de São Paulo. WIELOCH (2006) realizou um estudo qualitativo e quantitativo da distribuição vertical e horizontal dos ciliados planctônicos da lagoa da Pampulha, Belo Horizonte, MG, utilizando, pela primeira vez no país, a técnica de impregnação quali-quantitativa pelo proteinato de prata (QPS, “quantitative protargol stain”). Os estudos sobre a ciliatofauna em águas correntes superficiais

(rios e córregos) brasileiras são escassos na literatura. PAIVA & SILVA-NETO (2004b) descreveram a espécie *Apoamphisiella foissneri* em amostras de água do rio Limoeiro, Além Paraíba, MG. DIAS & D'AGOSTO (2006) registraram e descreveram as alterações morfológicas e os mecanismos de ingestão conforme o tipo de alimento em *Frontonia leucas* (Ehrenberg, 1833) (Hymenostomatida) e relacionaram o alimento ingerido às diferentes condições ambientais do córrego São Pedro, Juiz de Fora, MG (anexo I).

Recentemente, DIAS *et al.* (2006b) publicaram um artigo de divulgação científica sobre o comportamento alimentar de protistas ciliados e as aplicações destes protistas em estudos de biomonitoramento, nos processos de depuração da água em estações de tratamento de esgotos e na produção animal para àqueles ciliados que vivem no ambiente ruminal de bovinos (anexo I).

A partir do desenvolvimento de técnicas de microscopia eletrônica, a infraciliatura passou a ser considerada como um importante caráter taxonômico (CORLISS, 1979; PUTORAC *et al.*, 1994). No Brasil, destacam-se os estudos de PUTORAC *et al.* (1992) e de SILVA-NETO (1994) sobre a ultraestrutura de ciliados do gênero *Platyophryides* Foissner, 1987 e da espécie *Licnophora auerbachii* Conh, 1866, respectivamente. SILVA-NETO (2000) estudou os aspectos morfológicos de nove espécies de ciliados através de uma nova técnica de impregnação pela prata apresentada no artigo.

CAPÍTULO I

INVENTÁRIO DOS CILIADOS (PROTISTA, CILIOPHORA) BENTÔNICOS ENCONTRADOS NO CÓRREGO SÃO PEDRO (JUIZ DE FORA-MG) E DESCRIÇÃO DE *Apoamphisiella* sp. nov. (SPIROTRICHEA, AMPHISIPELLIDAE)

RESUMO

Durante o estudo de um ano em cinco estações amostrais no córrego São Pedro (Juiz de Fora - MG), foram encontradas 42 espécies de protistas ciliados. Foi observada a sucessão das espécies destes protistas cultivados em laboratório. Foram realizadas técnicas ciliológicas de microscopia ótica e eletrônica de varredura. Foram registradas sete espécies na estação 1, 17 na estação 2, 26 na estação 3, 30 na estação 4 e 26 na estação 5. Uma nova espécie, *Apoamphisiella* sp. nov. (Spirotrichea, Amphisiellidae), foi encontrada e caracterizada. Esta espécie apresenta tamanho médio equivalente a 145 x 65µm (n = 10) *in vivo*, corpo flexível e de formato aproximadamente elipsóide, dois cirros frontais posteriores, um cirro pós-peristomial, grânulos corticais de cor verde e apresenta, em média, 27 cirros compondo a fileira ventral esquerda, 38 cirros compondo a fileira ventral direita, 52 cirros compondo a fileira marginal esquerda, 44 cirros compondo a fileira marginal direita, seis cirros transversos e seis cirros caudais. O presente trabalho amplia o conhecimento sobre a ciliatofauna em águas continentais brasileiras e reforça a hipótese sobre o endemismo destes protistas defendida pelos taxonomistas e revela ainda a necessidade de se ampliar o esforço amostral no país com a maior riqueza hidrológica mundial.

Palavras-chave: *Apoamphisiella*, biodiversidade, ciliados, córrego urbano, sistema lótico.

INTRODUÇÃO

Nos ecossistemas aquáticos, os protistas ciliados juntamente com bactérias, flagelados, algas e pequenos metazoários compõem a comunidade microbiana. Os ciliados constituem uma parcela significativa da cadeia trófica microbiana e desempenham dois importantes papéis no ambiente aquático: funcionam como elo, ligando bactérias e fitoplâncton aos organismos do topo da cadeia alimentar e participam efetivamente da remineralização da matéria orgânica. Atuam também efetivamente na produção da biomassa, processo fundamental para o fluxo de energia e para a ciclagem de nutrientes (FINLAY & FENCHEL, 1996).

A diversidade de protistas ciliados em sistemas lóticos tem sido extensivamente estudada, por diversos autores, em ambientes do hemisfério Norte, devido ao seu enorme potencial na avaliação da qualidade da água (MADONI & GHETTI, 1981; WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; HUL, 1987; PRIMC, 1988; GROLIÈRE *et al.*, 1990; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI, 1999, MADONI, 2005). Entretanto, existe pouca informação sobre a microfauna de ciliados ocorrentes nos ecossistemas aquáticos brasileiros, mesmo sendo o Brasil um país privilegiado pela sua condição hidrológica. A biodiversidade e a biogeografia dos ciliados são de difícil entendimento porque (1) eles são organismos diminutos e difíceis de reconhecer e identificar, (2) existem poucos taxonomistas experientes e competentes e, (3) muitas espécies permanecem boa parte do seu ciclo de vida encistadas (FOISSNER, 2004). Estas peculiaridades geram divergências na estimativa da diversidade de ciliados. Os ecólogos estimam o número aproximado de 3.000 espécies ainda não descritas, enquanto os taxonomistas acreditam que existam em torno de 30.000 espécies de protistas ciliados a serem descobertas (FINLAY & FENCHEL, 2004; FOISSNER, 2006).

Espécies endêmicas são comuns em rios e córregos. No presente estudo foi encontrada *Apoamphisiella* sp. nov., uma nova espécie do gênero *Apoamphisiella* Foissner, 1997. Segundo PAIVA & SILVA-NETO (2004a), o gênero *Apoamphisiella* foi criado para incluir uma população de *Onychodromopsis tihanyiensis* Gellért & Tamás, 1958, obtida em ambientes edáficos no Peru. FOISSNER (1997), observou que esta espécie não correspondia bem à re-descrição feita por PETZ & FOISSNER (1996) de seu gênero original, estabelecendo assim a nova combinação *Apoamphisiella tihanyiensis*. FOISSNER (1997) considera este organismo como pertencente aos Amphisiellidae, porém BERGER (1999) incluiu o gênero *Apoamphisiella* na família Oxytrichidae. No presente trabalho, este ciliado foi classificado como pertencendo à família Amphisiellidae, tal como adotado por PAIVA (2005). Dentre as quatro espécies válidas para o gênero, duas delas, *A. jurubatiba* Paiva & Silva-Neto, 2003 e *A. foissneri* Paiva & Silva-Neto, 2004, foram descritas em amostras coletadas em ecossistemas brasileiros, na lagoa de Cabiúnas (Macaé-RJ) e no rio Limoeiro (Além Paraíba-MG), respectivamente.

O córrego São Pedro (Bacia do Rio Paraíba), localizado na região sudoeste da área urbana do município de Juiz de Fora, apresenta uma grande diversidade de microorganismos. No bentos, uma parcela considerável das espécies de ciliados podem permanecer encistada. As culturas, realizadas com amostras do sedimento, grãos de arroz com casca e água mineral, podem favorecer o excistamento de certas espécies de ciliados, tornando possível a realização de um estudo da sucessão destas espécies em laboratório (PAIVA & SILVA-NETO, 2004b). O presente trabalho consiste de um estudo taxonômico da diversidade de espécies de protistas ciliados bentônicos presentes no córrego São Pedro.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Área de estudo

A sub-bacia do córrego São Pedro (FIGS. 1 e 2), localizada na região sudoeste da área urbana do município de Juiz de Fora abriga a represa de São Pedro (FIG. 5), que é responsável por 9% do abastecimento de água para a cidade. O córrego São Pedro apresenta uma extensão de 13.250m (curso d'água) e 10.750m (linha reta), cortando diversos bairros do Município. Sua nascente está a 875m de altitude em relação ao nível do mar. A área de ocupação urbana de sub-bacia do córrego São Pedro abrange em torno de 42% de sua área total (LATUF, 2004).

No presente estudo foram selecionadas cinco estações de coleta a fim de se realizar um inventário dos protistas ciliados do córrego São Pedro. As estações amostrais 1 e 2 localizam-se em zona rural, próximas às nascentes. As estações 3, 4 e 5 localizam-se em uma região com ampla ocupação humana, onde pode ser observado, lançamento direto de esgoto doméstico (FIGS. 1 e 2). Estas estações são objeto de estudos limnológicos e da biota aquática pelo projeto “Avaliação da qualidade da água do córrego São Pedro (Bacia do Rio Paraibuna), município de Juiz de Fora, MG”.

Estação 1 (FIG. 3): localiza-se na área rural a aproximadamente 1 km da nascente. A água possui coloração clara. Não é observado lançamento de esgoto nesta estação. A região da nascente situa-se dentro de uma propriedade privada (fazenda).

Coordenada geográfica em UTM= 23K, 661317, 7590765.

Estação 2 (FIG. 4): encontra-se situada na área rural, em um afluente (sem denominação) do córrego São Pedro, que foi considerado, no presente trabalho, como parte do referido córrego. A vegetação das margens é composta por gramíneas. A água possui coloração marrom clara e o sedimento contém bastante matéria orgânica autóctone, proveniente da vegetação marginal. Esta estação localiza-se na entrada de uma propriedade privada (fazenda), onde são criados animais de pastagem que utilizam a água do córrego e defecam no local.

Coordenada geográfica em UTM= 23K, 661799, 7591070.

Estação 3 (FIG. 6): estação localizada na área urbana a aproximadamente 1km da represa do São Pedro. A vegetação das margens também é composta por gramíneas. A água possui coloração marrom escura, com visível lançamento de esgoto doméstico *in natura*.

Coordenada geográfica em UTM= 23K, 666477, 7591092.

Estação 4 (FIG. 7): estação localizada na área urbana na porção final (jusante) da sub-bacia do córrego São Pedro. É a estação que recebe a maior carga de esgoto doméstico.

A vegetação nas margens é praticamente ausente. A água possui coloração negra e cheiro de ovo podre, devido ao lançamento constante de esgoto doméstico *in natura*.

Coordenada geográfica em UTM= 23K, 668307, 7591772.

Estação 5 (FIG. 8): encontra-se situada na área urbana no fim da sub-bacia do córrego São Pedro, e é a última estação a jusante. Na superfície, a água é de coloração relativamente clara, provavelmente devido à queda d'água de aproximadamente 25m de altura, que ocorre 30m a montante desta estação amostral. Porém o odor da água nesta estação continua indicando alta concentração de esgoto doméstico. A vegetação das margens é composta por gramíneas. Coordenada geográfica em UTM= 23K, 668954, 7593495.

O sedimento nas cinco estações de coleta é composto principalmente por areia, com as estações 4 e 5 apresentando maior percentagem de areia média, areia grossa e pedregulho que nas outras estações, tal como caracterizado na figura 9.

Figura 9. Granulometria do sedimento das cinco estações amostrais do córrego São Pedro, Juiz de Fora, MG. Legenda: E1 = estação 1; E2 = estação 2; E3 = estação 3; E4 = estação 4; E5 = estação 5.

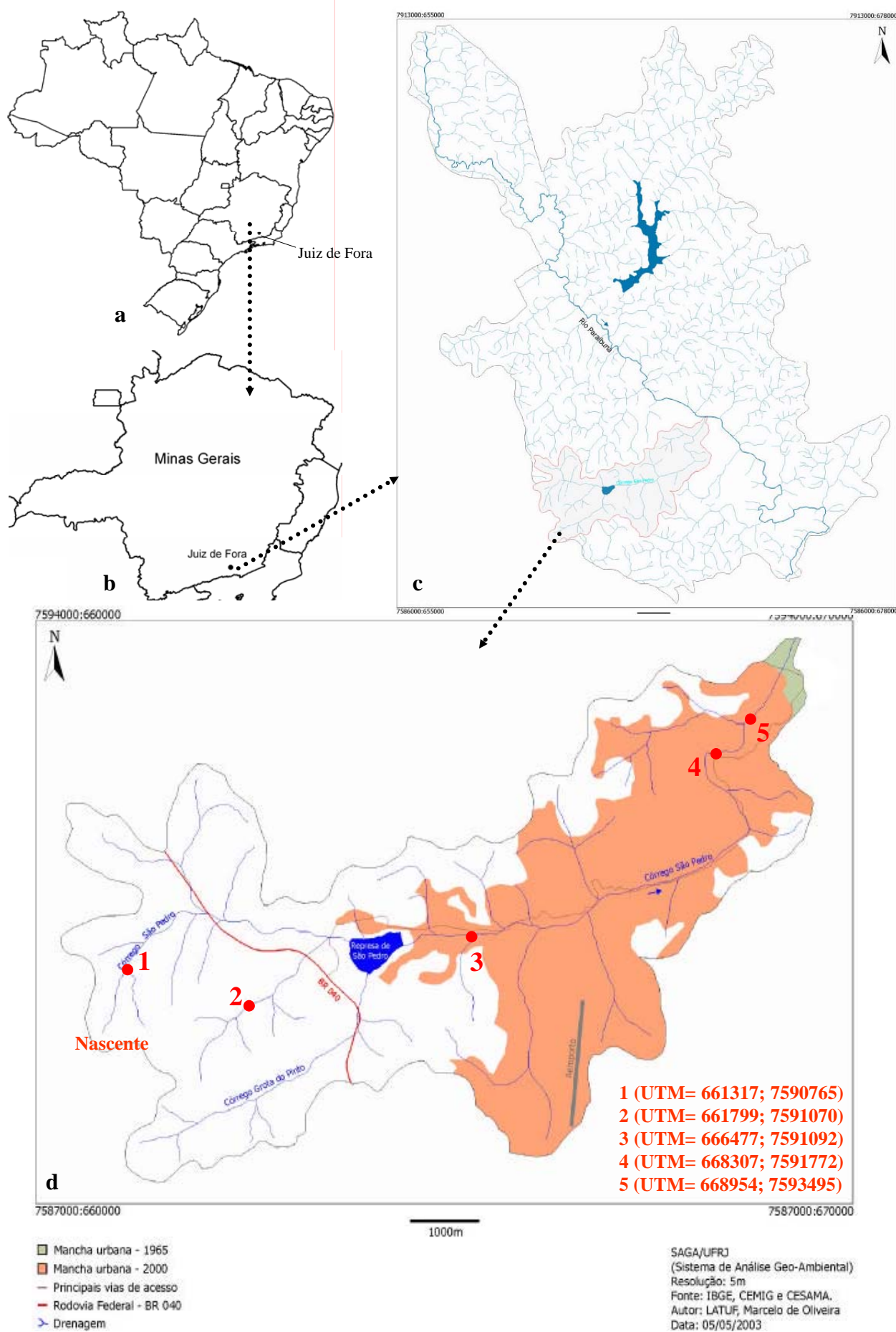


Figura 1. Mapa mostrando a localização do córrego São Pedro no Brasil (a), em Minas Gerais (b), na área urbana de Juiz de Fora (c) e a sub-bacia do córrego São Pedro (d) em detalhe. A estações amostrais 1, 2, 3, 4 e 5 estão ilustradas e suas coordenadas geográficas em UTM estão indicadas no mapa (d).



Figura 2. Imagem de satélite da sub-bacia do córrego São Pedro, com as indicações das estação amostrais 1 (E1), 2 (E2), 3 (E3), 4 (E4), e 5 (E5), obtida pelo programa Google Earth.



Figura 3-8. Estações de coleta e a represa do córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais. 3. Estação 1. 4. Estação 2. 5. Represa do São Pedro. 6. Estação 3 7. Estação 4. 8. Estação 5.

2. Coletas e processamento das amostras

No presente estudo, foram realizadas 12 coletas, todas pela manhã, com intervalo de aproximadamente 30 dias, de maio de 2005 a maio de 2006, em cinco estações amostrais ao longo do córrego São Pedro. As coletas realizadas ao longo do córrego permitiram a obtenção de amostras de protozoários ciliados em locais que recebem diferentes concentrações de esgoto doméstico *in natura*.

As amostras do sedimento foram obtidas com o auxílio de uma draga de Petersen (189 cm²), sendo coletadas três amostras em cada ponto de coleta. As amostras foram colocadas em frascos plásticos e acondicionadas em recipientes de isopropileno a fim de se manter as condições físico-químicas da água, e levadas ao Laboratório de Microscopia da Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Das amostras conduzidas ao laboratório, três pequenas alíquotas de cada estação amostral, de aproximadamente 20 ml, foram colocadas em placas de Petri para a observação dos ciliados *in vivo* no dia da coleta. Os ciliados foram triados destas placas com micropipetas, confeccionadas no laboratório, transferidos para câmaras úmidas (TUFFRAU, 1959) para observação sob microscópio óptico (campo claro e de contraste de fase) a fim de se realizar as identificações preliminares. As observações dos ciliados *in vivo* são de grande importância taxonômica na classificação de gêneros e espécies (FOISSNER & BERGER, 1996).

Outras três alíquotas, de aproximadamente 20 ml, referentes a cada sub-amostra de cada estação de coleta, foram separadas para a realização de culturas em três placas de Petri, acrescentando-se água mineral e grãos de arroz com casca macerados. O arroz serve como fonte de carbono para as bactérias ali presentes, visando o aumento do número e o excistamento dos ciliados. Das três culturas mantidas em placas, duas foram observadas semanalmente, por quatro semanas após o dia da coleta, sob microscópio estereoscópico, para o estudo da sucessão das espécies de ciliados em laboratório. A cultura mantida na outra placa da cada estação amostral foi usada para a realização das técnicas ciliatológicas.

3. Técnicas de microscopia ótica e eletrônica de varredura

Técnica do protargol

A técnica mais importante em ciliatologia é a técnica do protargol, proposta por BODIAN (1937) para o estudo de células do sistema nervoso. Posteriormente, foi adaptada para o trabalho com protistas. TUFFRAU (1964, 1967) aprimorou a técnica que consiste em impregnar os ciliados através do proteinato de prata, com a revelação das estruturas dos mesmos pela hidroquinona. Neste trabalho foi utilizada a variação proposta por DIECKMANN (1995).

Os cílios foram triados, utilizando-se micropipetas, fabricadas no laboratório, transferidos para uma saleira e fixados em Bouin aquoso por 30 a 60 minutos. Os cílios foram lavados até desaparecer a coloração amarelada do ácido pícrico contido no fixador (Bouin). Em seguida, adicionou-se albumina glicerizada bastante diluída na saleira contendo os cílios concentrados, deixando atuar por 20 a 40 minutos. Transferiram-se os cílios para uma lâmina limpa e estes foram distribuídos ao longo desta lâmina com o auxílio de um tubo capilar. Deixou-se secar a lâmina em estufa pré-aquecida à 60°C na posição horizontal. Estas lâminas foram hidratadas em uma série decrescente de etanol 100%, 70% e 30%, por 10 minutos. Em seguida, lavaram-se 3 vezes em água destilada, por 10 minutos. As lâminas foram mergulhadas em permanganato de potássio a 0,2% por 100 a 150 segundos e lavadas rapidamente em água destilada para a retirada do excesso de permanganato de potássio. As lâminas foram mergulhadas posteriormente em ácido oxálico 2,5% por 3-5 minutos e enxaguadas em água destilada por 4 vezes, 5 minutos cada. Então, colocaram-se as lâminas em uma solução pré-aquecida a 60°C de proteínato de prata 0,2 a 0,4% (protargol), por no mínimo 120 minutos. Em seguida, após serem retiradas do protargol e colocadas em um aparador, as lâminas foram cobertas com protargol usado e adicionou-se hidroquinona na proporção 3:1 (três partes de proteínato para uma parte de hidroquinona). Depois, enxaguou-se em água destilada 5 vezes, por 3 minutos cada. As lâminas foram mergulhadas em solução de cloreto de ouro 0,5% por 10 segundos e lavadas rapidamente em água destilada. Foram posteriormente inseridas em uma solução de ácido oxálico 3,0%, por 3-5 minutos, e enxaguadas em água destilada 4 vezes, por 5 minutos cada. As lâminas foram mergulhadas em solução de tiosulfato de sódio a 2% por 3 segundos e transferidas imediatamente para água destilada, sendo enxaguadas de 3 a 4 vezes, por 5 minutos cada. Finalmente, as lâminas foram desidratadas em etanol 30%, 70% e 100%, por 10 minutos cada, e após estarem secas, foram montadas em meio sintético (Entellan). O modo de preparação dos reagentes está descrito no anexo II.

Técnica do “prata a seco”

No presente trabalho foram utilizadas as propostas de KLEIN (1958) e FOISSNER (1991). O modo de preparação dos reagentes destas técnicas está descrito no anexo II.

KLEIN (1958)

Os cílios foram triados e colocados sobre lâminas limpas em oito pontos das mesmas e estas foram colocadas para secar ao ambiente. As lâminas, depois de secas, foram lavadas em água destilada para remover possíveis sais e de novo secas ao ambiente. Depois foram pingadas sobre as lâminas algumas gotas de solução de nitrato de prata a 3%, de modo

a cobrir todos os ciliados presentes nos oito pontos, deixando-se atuar por 5 minutos ou mais. Então, foi retirado o nitrato de prata e as lâminas foram lavadas em água destilada. Posteriormente, as lâminas foram expostas à luz ultravioleta por três a cinco minutos e, depois de secas à temperatura ambiente em posição vertical, foram montadas em meio sintético (Entellan).

FOISSNER (1991)

Foram preparadas lâminas para microscopia com uma fina camada de albumina (clara de ovo) no seu terço médio, utilizando-se a ponta dos dedos. Após estarem secas, foram colocadas gotas contendo os ciliados e estas foram espalhadas evitando-se tocar a camada de albumina. Adicionaram-se algumas gotas de nitrato de prata a 1%, que atuaram por aproximadamente 1 minuto. As lâminas foram lavadas em água destilada por mais de 3 segundos, com posterior secagem, mantendo-se as lâminas inclinadas. As lâminas secas foram expostas a uma lâmpada incandescente com potência de 40 a 60 watts por 30 a 60 segundos a uma distância que variou entre 3 e 10 cm. Posteriormente, foram colocadas algumas gotas de revelador sobre a preparação seca, por 30 a 60 segundos. As lâminas foram enxaguadas em água de torneira por 5 a 10 segundos e depois mergulhadas no fixador, tiosulfato de sódio 2,5%. As lâminas foram enxaguadas novamente em água de torneira por 5 a 10 segundos. As lâminas foram mergulhadas em etanol absoluto duas vezes, sendo a primeira por 10 a 15 segundos e a segunda por 3 minutos. Depois de secas em temperatura ambiente, as lâminas foram montadas em meio sintético (Entellan).

Técnica de microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura permite a observação de detalhes morfológicos não visíveis em microscopia óptica e têm sido amplamente usada em protozoologia.

Os ciliados foram triados, concentrados em uma saleira, e imersos em uma mistura fixadora composta por 2ml de glutaraldeído a 10% + 1ml de tetróxido de ósmio a 2% + 1ml de tampão cacodilato a 0,2M, conforme a proposta de SILVA-NETO (1994), durante 45 minutos. Após a fixação, os ciliados foram lavados com água destilada na própria saleira, para retirar o excesso do fixador. Em seguida, gotículas de água contendo ciliados concentrados foram depositadas em pedaços de lamínulas, cortados de modo que suas dimensões permitissem que coubessem no cilindro de grades utilizado na etapa do “ponto crítico”. Nestes pedaços de lamínulas, adicionam-se gotas de poli-L-lisina, para que os ciliados fiquem firmemente aderidos a estas lamínulas durante todo o processamento do material.

Posteriormente, foram depositadas no cilindro de grades, onde se realizou a desidratação em série alcoólica a 30%, 50%, 70%, 85%, 90%, 95% e 100% , durante 10 minutos cada.

Após da desidratação, foi realizada, utilizando um aparelho BLAZERS CPD 30, a troca do álcool pelo CO₂ líquido em baixa temperatura (ponto crítico), para a secagem das células sem que estas se deformassem. Posteriormente, as lamínulas foram retiradas do cilindro de grades e coladas em suportes próprios para microscopia eletrônica de varredura, utilizando-se cola condutora de prata. Após a secagem da cola, o material foi metalizado com ouro em um aparelho metalizador BLAZERS FL 9496. As eletromicrografias foram feitas no microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-5310 do Instituto de Biofísica Professor Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

4. Identificação, fotografia e morfometria dos ciliados e depósito do material testemunho

A identificação dos ciliados foi realizada com base nos atlas de identificação de KAHL (1935), CURDS (1975), CORLISS (1979), WARREN (1986), FOISSNER *et al.* (1991, 1992, 1994, 1995, 1999), FOISSNER & WÖFL (1994), FOISSNER & BERGER (1996), BERGER (1999), e no trabalho de SAWAYA (1940)

O registro fotográfico das espécies de ciliados *in vivo* e em lâminas permanentes foi elaborado através de uma câmera fotográfica Olympus PM-BP35 acoplada a um microscópio da Olymus BX 50 e de uma câmera digital Sony DSC-W7 7.2 megapixels acopalda a um microscópio Olympus BX 41.

As medidas dos organismos *in vivo* bem como dos espécimes impregnados presentes em lâminas permanentes foram obtidas de indivíduos observados em microscópio de campo claro e de contraste de fase equipado com ocular micrométrica. As características observadas *in vivo* tais como a forma do corpo, a presença de grânulos corticais, forma e número de vacúolos contráteis, flexibilidade e contratibilidade do corpo foram observadas sob microscópio de contraste de fase da marca Olympus BX 41 e sob o microscópio de contraste interferencial diferencial (DIC) da marca Zeiss do Instituto de Microbiologia Professor Paulo Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Das lâminas permanentes de impregnação pela prata contendo espécimes de ciliados encontrados no córrego São Pedro, parte será depositada na coleção do Laboratório de Protistologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, e o restante será incluído na coleção didática da disciplina “Protozoários, Poríferos, Cnidários e Ctenóforos”, Departamento de Zoologia, Universidade Federal de Juiz de Fora. As micrografias eletrônicas foram depositadas no acervo de imagens

digitais do Laboratório de Protistologia (UFRJ). Não foi proposto um novo nome para a espécie nova encontrada pois, segundo o código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1999), em seu artigo 8.2, novos nomes propostos em dissertações e teses não possuem validade como publicação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição da microfauna de ciliados

Durante o estudo de um ano em cinco estações amostrais, foram encontradas 42 espécies de protistas ciliados, observadas no dia de coleta e nas culturas, que estão classificadas segundo LYNN & SMALL (2002) na tabela 1. As espécies identificadas estão distribuídas dentro das classes Karyorelictea, Heterotrichea, Spirotrichea, Armophorea, Phyllopharyngea, Prostomatea, Plagiopylea, Oligohymenophorea, tal como apresentado na FIG. 10a. Dentro da classe Oligohymenophorea, que apresentou o maior número de espécies (18), as espécies estão distribuídas nas seguintes sub-classes: Peniculia (38%), Scuticociliatia (6%), Hymenostomatia (17%) e Peritrichia (39%) (FIG. 10b).

As populações de ciliados bentônicos são mais difíceis de serem amostradas que as formas planctônicas, pois podem estar associadas a diferentes mesohabitats no bentos (SOLA *et al.*, 1996). Diversos amostradores têm sido utilizados em inventários de ciliados bentônicos em sistemas lóticos, tais como corers (MADONI & GUETTI, 1981; MADONI, 1993; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI, 2005) e substratos artificiais (GROLIÈRE *et al.*, 1990; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991). Porém, a maioria dos amostradores seleciona certos grupos de ciliados (SOLA *et al.*, 1996). No presente trabalho, foi utilizada uma metodologia indicada para o estudo de macroinvertebrados bentônicos, a draga de Petersen, que se mostrou eficiente para o estudo dos ciliados bentônicos do córrego São Pedro, visto que foram registradas oito diferentes classes destes protistas (FIG. 10a).

Houve espécies que ocorreram, no dia de coleta, em todas as cinco estações amostrais: *Euplotes aediculatus* Pierson, 1943, *Frontonia leucas* Ehrenberg, 1833, *Spirostomum minus* Roux, 1901 e *Urocentrum turbo* Müller, 1786. Outras espécies foram registradas especificamente em uma única estação, tal como *Vorticella* sp. na estação 1, *Lembadium bullinum* (Müller, 1786) na estação 2, *Epistylis procumbens* Zacharias, 1897, *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 e *Stentor polymorphus* (Müller, 1773) na estação 3, *Glaucoma frontata* Stokes, 1886, *Paramecium bursaria* (Ehrenberg, 1831), *Podophrya fixa* (Müller, 1786), *Stentor coeruleus* (Pallas, 1766), *Vorticella convallaria* (Linnaeus, 1758) na estação 4 e *Epistylis plicatilis* Ehrenberg, 1831 na estação 5. Foram registradas sete espécies na estação 1;

17, na estação 2; 26, na estação 3; 30, na estação 4 e 26, na estação 5, observadas no dia de coleta (FIGS 11-80).

Tabela 1. Protistas ciliados encontrados nas cinco estações de coleta do córrego São Pedro.

Espécies de protistas ciliados encontradas no córrego São Pedro	E1	E2	E3	E4	E5	C
Classe Karyorelictea Corliss, 1974						
Ordem Loxodida Jankowski in Small & Lynn, 1985						
<i>Loxodes rostrum</i> (Müller, 1773)		+	+			+
<i>Loxodes striatus</i> (Engelmann, 1862)		+	+	+	+	+
Classe Heterotrichea Stein, 1859						
Ordem Heterotrichida Stein, 1859						
<i>Blepharisma sinuosum</i> Sawaya, 1940		+	+	+		+
<i>Spirostomum ambiguum</i> (Müller, 1786)	+	+	+			+
<i>Spirostomum minus</i> Roux, 1901	+	+	+	+	+	+
<i>Spirostomum teres</i> Claparède & Lachmann, 1858		+	+	+	+	+
<i>Stentor coeruleus</i> (Pallas, 1766)				+		+
<i>Stentor polymorphus</i> (Müller, 1773)			+			+
<i>Stentor roeselii</i> Ehrenberg, 1835						+
Classe Spirotrichea Bütschli, 1889						
Sub-classe Hypotrichia Stein, 1859						
Ordem Euplotida Small & Lynn, 1985						
<i>Euplotes aediculatus</i> Pierson, 1943	+	+	+	+	+	+
<i>Euplotes eurytomus</i> Wrzesniowski, 1870		+	+	+	+	+
<i>Euplotes</i> sp.		+	+		+	+
Sub-classe Stichotrichia Small & Lynn, 1985						
Ordem Stichotrichida Fauré-Fremiet, 1961						
<i>Gastrostyla setifera</i> (Engelmann 1862) Kent, 1882			+	+	+	+
Order Sporadotrichina Fauré-Fremiet, 1961						
<i>Apoamphisiella</i> sp. nov.			+	+	+	+
<i>Stylonychia pustulata</i> (Müller, 1786)			+	+	+	+
Classe Armophorea Jankowski, 1964						
Ordem Armophorida Jankowski, 1964						
<i>Caenomorpha</i> sp. 1		+	+	+	+	+
<i>Caenomorpha</i> sp. 2		+	+	+	+	
<i>Metopus</i> sp.		+	+	+	+	
Classe Phyllopharyngea de Puytorac et al., 1974						
Sub-classe Phyllopharyngia de Puytorac et al., 1974						
Ordem Chlamydodontida Deroux, 1976						
<i>Chilodonella uncinata</i> Ehrenberg, 1838				+	+	
Sub-classe Suctorina Claparède & Lachmann, 1858						
Ordem Exogenida Collin, 1912						
<i>Podophrya fixa</i> (Müller, 1786)				+		
Ordem Endogenida Collin, 1912						
<i>Tokophrya lenarum</i> (Stein, 1859)				+	+	
<i>Tokophrya quadripartita</i> Claparède & Lachmann, 1858				+	+	+
Class Prostomatea Schewiakoff, 1896						
Order Prostomatida Schewiakoff, 1896						
<i>Lagynus elegans</i> (Engelmann, 1862)				+	+	
Classe Plagiopylea Small & Lynn, 1985						
Ordem Plagiopylida Small & Lynn, 1985						
<i>Plagiopyla nasuta</i> Stein, 1860			+	+	+	+

(Continuação...)

Classificação conforme LYNN & SMALL (2002). Legenda: E1= estação 1; E2= estação 2; E3= estação 3; E4 = estação 4; E5 = estação 5; C = culturas; + = presença da espécie.

Tabela 1. Protistas ciliados encontrados nas cinco estações de coleta do córrego São Pedro.

Espécies de protistas ciliados encontradas no córrego São Pedro	E1	E2	E3	E4	E5	C
Classe Oligohymenophorea de Puytorac et al., 1974						
Sub-classe Peniculia Fauré-Fremiet in Corliss, 1956						
Ordem Peniculida Fauré-Fremiet in Corliss, 1956						
<i>Frontonia leucas</i> Ehrenberg, 1833	+	+	+	+	+	+
<i>Lembadium bullinum</i> (Müller, 1786)		+				+
<i>Lembadium lucens</i> (Maskell, 1887)	+	+	+			+
<i>Neobursaridium gigas</i> Balech, 1941			+			+
<i>Paramecium bursaria</i> (Ehrenberg, 1831)						+
<i>Paramecium caudatum</i> Ehrenberg, 1833			+	+	+	+
<i>Urocentrum turbo</i> Müller, 1786	+	+	+	+	+	+
Sub-classe Scuticociliatia Small, 1967						
Ordem Philasterida Small, 1967						
<i>Cinetochilum margaritaceum</i> (Ehrenberg, 1831)		+	+	+	+	+
Sub-classe Hymenostomatia Délage & Hérouard, 1896						
Ordem Hymenostomatida Délage & Hérouard, 1896						
<i>Colpidium</i> sp.			+	+		+
<i>Glaucoma frontata</i> Stokes, 1886				+		+
<i>Glaucoma scintillans</i> Ehrenberg, 1830				+	+	+
Sub-classe Peritrichia Stein, 1859						
Ordem Sessilida Kahl, 1933						
<i>Carchesium polypinum</i> (Linnaeus, 1758)			+	+	+	+
<i>Epistylis plicatilis</i> Ehrenberg, 1831					+	+
<i>Epistylis procumbens</i> Zacharias, 1897						+
<i>Vorticella campanula</i> Ehrenberg, 1831			+	+	+	
<i>Vorticella covallaria</i> Linnaeus, 1758				+		
<i>Vorticella microstoma</i> Ehrenberg, 1830				+	+	
<i>Vorticella</i> sp.	+					

Classificação conforme LYNN & SMALL (2002). Legenda: E1= estação 1; E2= estação 2; E3= estação 3; E4 = estação 4; E5 = estação 5; C = culturas; + = presença da espécie.

Figura 10. Distribuição das classes que compõem a ciliatofauna (a) nas cinco estações de coleta e nas culturas. Em (b) estão apresentadas as subclasses de Oligohymenophorea.

Foram registradas três espécies de ciliados que ocorreram exclusivamente nas culturas: *Epistylis procumbens* Zacharias, 1897, *Paramecium bursaria* (Ehrenberg, 1831) e *Stentor roeselii* Ehrenberg, 1835. Estas espécies provavelmente se encontravam encistadas no dia da coleta, com o excistamento ocorrendo devido às condições favoráveis das culturas (TABS. 1 e 2).

Sucessão das espécies de ciliados em laboratório

Foram registradas 32 espécies de ciliados nas culturas realizadas com amostras provenientes das cinco estações amostrais (TAB. 2). Na estação 1, foram registradas seis espécies em culturas além das sete espécies previamente registradas no dia da coleta. Dentre as espécies encontradas nas culturas, *Blepharisma sinuosum* Sawaya, 1940, *Euplotes eurytomus* Wrzesniowski, 1870, *F. leucas*, *Gastrostyla setifera* (Engelmann 1862), *Lembadium lucens* (Maskell, 1887), *Loxodes striatus* (Engelmann, 1862), *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833, *Spirostomum ambiguum* (Müller, 1786), *S. minus*, *Spirostomum*

teres Claparède & Lachmann, 1858, *Stylonychia pustulata* (Müller, 1786) e *U. turbo* foram cultivadas com sucesso, sendo observadas até quatro semanas após as coletas (TAB. 2). Os ciliados das sub-classes Peritrichia e Suctoria foram mal sucedidos em cultivo (TAB. 2). O mesmo aconteceu com as espécies características de ambientes anóxicos (FOISSNER & BERGER, 1996), tais como *Metopus* sp., *Caenomorpha* sp. 2 e *Lagynus elegans* (Engelmann, 1862), que não foram registradas nas culturas, e *Loxodes rostrum* (Müller, 1773) e *Plagyopyla nasuta* Stein, 1860 que ocorreram em baixas frequências (TAB. 2). FOISSNER & BERGER (1996) incluíram *Caenomorpha* spp., *Metopus* spp., *P. nassuta*, *Loxodes* spp. e *L. elegans* em um grupo de espécies denominada “Metopetum”, composta principalmente por organismos estritamente anaeróbios, que não possuem mitocôndria e apresentam bactérias sulfurosas como simbiontes, sendo indicadores “infalíveis” (CZAPIK, 1982) da presença de hidrogênio sulfureado na água. A ausência de algumas destas espécies nas culturas ou seu raro registro pode estar relacionado à ausência de bactérias sulfurosas nestas culturas.

A nova espécie descoberta da classe Spirotrichea, *Apoamphisiella* sp. nov., foi registrada no dia de coleta nas estações 3, 4 e 5, e nas culturas de amostras provenientes das estações amostrais 1, 3 e 5. Esta espécie foi encontrada em concomitância com *B. sinuosum*, *E. aediculatus*, *E. eurystomus*, *F. leucas*, *G. setifera*, *L. lucens*, *P. caudatum*, *S. ambiguum*, *S. minus*, *S. teres*, *S. pustulata* e *U. turbo* nas culturas axênicas.

O encistamento é uma estratégia que permite à diversos protistas ciliados resistirem à falta de alimento, à predação e ao estresse físico e químico do ambiente (TAYLOR, 1981). Em culturas, com condições favoráveis tal como alimento abundante, as espécies encistadas tornam-se ativas, sendo possível registrar um maior número de espécies em inventários taxonômicos, tal como no presente estudo, além de aumentarem em número favorecendo a realização das técnicas ciliológicas.

Tabela 2. Frequência de ocorrência (em 12 coletas) dos protistas ciliados encontrados nas estações amostrais 1(E1), 2(E2), 3(E3), 4(E4) e 5(E5) no dia de coleta e após 4 semanas deste dia, em análises semanais.

Sucessão nas culturas	E1					E2					E3					E4					E5				
	Co	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	Co	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	Co	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	Co	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	Co	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
<i>Loxodes rostrum</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Loxodes striatus</i>	-	-	-	-	-	3	1	1	-	1	5	-	2	1	1	2	2	-	-	2	4	2	3	1	-
<i>Blepharisma sinuosum</i>	-	-	3	2	2	1	3	5	5	6	2	3	4	5	6	3	4	3	3	5	-	1	2	3	3
<i>Spirostomum ambiguum</i>	2	1	1	1	1	3	3	3	6	7	1	-	-	-	4	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Spirostomum minus</i>	1	1	-	-	-	3	-	-	-	1	5	2	3	5	5	3	3	6	6	7	3	3	3	8	8
<i>Spirostomum teres</i>	-	-	-	2	2	2	1	3	4	4	5	1	3	3	4	4	6	7	7	6	6	3	5	3	6
<i>Stentor coeruleus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	1	-	1	-	-	-	-	-
<i>Stentor polymorphus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
<i>Stentor roeselii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
<i>Euplotes aediculatus</i>	1	-	1	-	-	3	-	-	-	-	5	-	1	3	2	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>Euplotes eurystomus</i>	-	-	1	-	-	2	2	2	3	2	7	4	2	4	2	4	2	3	3	3	5	3	2	3	4

<i>Euplotes</i> sp.	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	2	1	2	1	-	1	2	
<i>Gastrostyla setifera</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	2	-	1	1	2	2	2	3	1	1	2	1	1
<i>Apoamphisiella</i> sp. nov.	-	-	1	2	2	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-	1	1	1
<i>Stylonychia pustulata</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2	2	4	2	1	1	5	6	3	1	3	2	2	4	2
<i>Caenomorpha</i> sp. 1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	5	-	-	-	-	6	1	-	1	-	4	-	-	-	-
<i>Caenomorpha</i> sp. 2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>Metopus</i> sp.	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	4	-	-	-	-	3	-	-	-	-
<i>Chilodonella uncinata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Lagynus elegans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Podophrya fixa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tokophrya lenarum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-
<i>Tokophrya quadripartita</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	1	-	-	-	-
<i>Plagiopyla nasuta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	1	1	1	-	-	-	-
<i>Frontonia leucas</i>	5	-	1	-	-	7	-	1	-	-	9	1	1	1	1	3	-	1	2	1	3	1	2	1	2
<i>Lembadium bullinum</i>	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lembadium lucens</i>	1	-	1	1	1	1	2	2	1	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Neobursaridium gigas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	1	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Paramecium bursaria</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
<i>Paramecium caudatum</i>	-	-	1	-	1	-	2	2	3	3	3	3	4	6	6	11	5	5	5	2	11	6	4	5	4
<i>Urocentrum turbo</i>	2	1	2	1	7	-	1	-	-	-	9	3	2	-	-	6	3	3	3	2	7	3	3	3	2
<i>Cinetochilum margaritaceum</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-
<i>Colpidium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	1	1	-	-
<i>Glaucoma frontata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	1	-	-	-	-	-
<i>Glaucoma scintillans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	2	-	-	-	1
<i>Carchesium polypinum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	4	-	-	-	-	5	2	-	-	-
<i>Epistylis plicatilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-
<i>Epistylis procumbens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vorticella campanula</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	5	-	-	-	-	5	-	-	-	-
<i>Vorticella convallaria</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Vorticella microstoma</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-	3	-	-	-	-
<i>Vorticella</i> sp.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: Co (fundo azul) = dia de coleta; 1^a = primeira semana de análise; 2^a = segunda semana de análise; 3^a = terceira semana de análise; 4^a = quarta semana de análise; as espécies em fundo cinza foram bem sucedidas em cultura.

Apoamphisiella sp. nov.

Diagnose

Apoamphisiella sp. nov. apresenta tamanho médio equivalente a 145 x 65µm (n = 10) *in vivo*, corpo flexível e de formato aproximadamente elipsóide, sendo a região anterior pouco mais estreita que a região posterior. Este ciliado possui dois cirros frontais posteriores e um cirro pós-peristomial. Esta espécie apresenta coloração esverdeada quando observada sob microscópio estereoscópico, e possui grânulos corticais de cor verde. Apresenta, em média, 27 cirros compondo a fileira ventral esquerda, 38 cirros compondo a fileira ventral direita, 52 cirros compondo a fileira marginal esquerda, 44 cirros compondo a fileira marginal direita, seis cirros transversos e seis cirros caudais.

Caracterização morfológica

O citoplasma de *Apoamphisiella* sp. nov. possui grânulos corticais de coloração verde (FIG. 77). O vacúolo contrátil está localizado próximo à margem esquerda do corpo, na região equatorial do corpo. Este apresenta formato arredondado e não possui dutos coletores lacunares (FIG. 78).

Os cirros da região anterior desta espécie são compostos por três cirros frontais anteriores, dois cirros frontais posteriores e um cirro bucal.

Os três cirros frontais são relativamente espessos, estando os cirros frontais anterior esquerdo e central, posicionados acima da região distal do arco formado pela membrana paroral. O cirro frontal anterior direito encontra-se posicionado próximo ao primeiro cirro da fileira de cirros que compõem a fileira ventral esquerda (FIGS. 72, 73, 76, 79).

Os dois cirros frontais posteriores estão dispostos de maneira oblíqua, onde o cirro mais anterior encontra-se nivelado em relação ao cirro bucal, que por sua vez, situa-se à direita da membrana paroral, em região anterior à intersecção virtual com a membrana endoral. O cirro mais anterior é mais espesso que o cirro frontal posterior (FIGS. 73, 76, 79).

A zona adoral de membranelas apresenta conformação conspícua, tal como nos demais congêneres, e ocupa aproximadamente 41% do comprimento médio do corpo, sendo composta por 55–68 membranelas. As membranas paroral e endoral interceptam-se virtualmente e formam um arco similar àquele dos cyrtohymenídeos. Todos os espécimes analisados apresentam um único cirro pós-peristomial, localizado à esquerda da região mediana do infundíbulo bucal. Todas as espécies do gênero possuem um cirro pós-peristomial, com exceção de *A. foissneri*, que possui dois destes cirros (FIGS. 72, 73, 76, 79, 82 a,b).

Como nos demais congêneres, possuem duas fileiras de cirros ventrais. A fileira esquerda começa atrás do bloco de cirros frontais posteriores, à direita da membrana endoral e, seguindo, com curvatura sigmóide, em direção ao infundíbulo bucal, termina próxima aos cirros transversos mais centrais. A fileira ventral direita começa à direita do cirro frontal anterior direito, terminando próximo aos cirros transversos. Esta fileira também sofre uma curvatura sigmóide nas proximidades do infundíbulo bucal, entretanto, menos acentuada que a curvatura observada na fileira ventral esquerda (FIGS. 73, 76, 79).

Apoamphisiella sp. nov. possui duas fileiras de cirros marginais, tal como observado em todas as espécies do gênero. A fileira marginal esquerda se inicia atrás da região mediana da zona adoral de membranelas e estende-se até a margem posterior do organismo e curva-se na direção da margem oposta da região posterior e termina após a fileira marginal direita, tal como em *A. foissneri*. Esta última inicia-se ao nível do cirro bucal, estende-se quase paralela ao eixo longitudinal da margem direita do corpo até a região posterior do corpo, terminando

acima da fileira marginal esquerda. Os cirros marginais, localizados no final das fileiras, são mais estreitos que os demais. Os cirros transversos estão dispostos em uma fileira oblíqua composta na grande maioria por seis cirros (podendo variar entre seis e nove), localizada posteriormente às fileiras ventrais direita e esquerda (FIGS. 73, 76, 79).

A ciliatura dorsal é composta por três longas fileiras de cinécias, dicinetídeas no caso dos Spirotrichea, localizadas na porção esquerda da face dorsal do corpo, uma quarta cinécia que se inicia na região central e um campo de dicinetídias, ao lado direito da quarta cinécia dorsal. Na porção direita, há duas cinécias dorsomarginais, sendo a primeira (mais interna) mais longa que a segunda (mais externa). Existem de 6 a 9 cirros caudais associados à terminação das cinécias dorsais (FIGS. 74, 80).

O aparelho nuclear é constituído por dois nódulos macronucleares, localizados ao longo do lado esquerdo do corpo, com formato variando de oval a eplipsóide. Os nódulos medem aproximadamente 22 x 10µm cada. Foram observados três ou quatro nódulos em alguns espécimes. Existem de três a cinco micronúcleos de formato globuloso, medindo entre 3 e 4µm de diâmetro. Estes estão localizados próximos aos nódulos macronucleares ou entre os nódulos, na porção esquerda do corpo (FIGS. 74, 79, 80).

Comparação entre as espécies

Apoamphisiella sp. nov. distingue-se dos demais congêneres basicamente pela presença e coloração dos grânulos corticais, número de vacúolos contráteis, morfologia dos ductos coletores e pela posição relativa da região terminal de cirros marginais (TAB. 3). Em comparação com as demais espécies pertencentes a este gênero, *Apoamphisiella* sp. nov.

Tabela 3. Comparação entre as espécies do gênero *Apoamphisiella* segundo Paiva (2005) e com os dados obtidos no presente estudo.

CARACTERES DIAGNÓSTICOS	<i>A. hymenophora</i>	<i>A. tihanyiensis</i> (1)	<i>A. jurubatiba</i>	<i>A. foissneri</i>	<i>Apoamphisiella</i> sp. nov.*
Número de cirros frontais posteriores	2	2	3	2	2
Número de cirros pós-peristomais	1	1	1	2	1
Posição relativa do início da fileira de cirros ventrais direitos (RVR)	Ao nível do início da fileira de LVR	Anterior ao início da fileira de LVR	Anterior ao início da fileira de LVR	Anterior ao início da fileira de LVR	Anterior ao início da fileira de LVR
Número de vacúolos contráteis	?	1	1	2	1
Morfologias dos ductos coletores	?	dois ductos alongados	ausentes	dois ductos curtos	ausentes
Posição relativa da região terminal de cirros marginais	Terminam ao mesmo nível e fusionam-se	A fileira esquerda termina abaixo do nível da região terminal da fileira direita	Terminam ao mesmo nível e fusionam-se	A fileira esquerda termina abaixo do nível da região terminal da fileira direita	A fileira esquerda termina abaixo do nível da região terminal da fileira direita
Presença de grânulos corticais	?	Presentes	Presentes	Ausentes	Presentes
Coloração dos grânulos corticais	?	Amarelados ou alaranjados	Marrom escuros	-	Verdes

* = dados obtidos no presente trabalho; (1) população estudada por Paiva & Silva-Neto (2004a); ? = não há informação.

apresenta grânulos corticais de coloração verde, diferente dos grânulos marrons observados em *A. jurubatiba* (PAIVA & SILVA-NETO, 2003), dos amarelados ou alaranjados de *Apoamphisiella tihanyiensis* Foissner, 1997 (FOISSNER, 1997) e da ausência destes grânulos em *A. foissneri* (PAIVA & SILVA-NETO, 2004a). Segundo BERGER (1999), estruturas semelhantes aos grânulos corticais foram observados em micrografias eletrônicas de transmissão de *A. hymenophora*, produzidas por GRIMES & L'HERNAULT (1978). Na tabela 3 e nas figuras 81-84 estão apresentados os dados e imagens comparativas entre as espécies do gênero *Apoamphisiella*, tal como proposto por PAIVA & SILVA-NETO (2004a).

O presente trabalho amplia o conhecimento sobre a ciliatofauna em águas continentais brasileiras, registrando 42 espécies de ciliados no córrego São Pedro e descrevendo um nova espécie para a ciência. Este estudo apresenta ainda a sucessão das espécies de ciliados em culturas mantidas em laboratório. Alguns estudos em ecossistemas aquáticos brasileiros têm descobertos novas espécies de ciliados tais como os trabalhos de PAIVA & SILVA-NETO (2003, 2004a, 2004b, 2004c, 2005, 2006), o que sugere a hipótese sobre o endemismo destes protistas defendida pelos taxonomistas e revela a necessidade de se ampliar o esforço amostral no país com a maior riqueza hidrológica mundial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGER, H. 1999. **Monograph of the Oxytrichidae (Ciliophora: Hypotrichia)**. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands, 1082p.
- BODIAN, D. 1937. The staining paraffin sections of nervous tissue with activated protargol. The role of fixatives. **The Anatomical Record** **69**: 153-162.
- CORLISS, J.O. 1979. **The ciliated protozoa**. Pergamon Press, London, 455p.
- CURDS, C.R. 1975. A guide to the species of the genus *Euplotes*. **Bulletin of the British Museum (Natural History)** **28** (1): 1-59.
- CZAPIK, A. 1982. The effect of waste water on ciliate communities in the Biata Przemsza River. **Acta Hydrobiologica** **24** (1): 29-37.
- DIECKMANN, J. 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducibile results. **European Journal of Protistology** **31**: 372-382.

- FINLAY B.J. & T. FENCHEL. 1996. Ecology: role of ciliates in the natural environment, p. 417-440. In: HAUSMANN, K. & P.C. BRADBURY (Eds.). **Ciliates: cells as organisms**. Gustav Fischer, Stuttgart, 485p.
- FINLAY B.J. & T. FENCHEL. 2004. The ubiquity of small species: patterns of local and global diversity. **BioScience** **54** (8): 777-784.
- FOISSNER, W. 1991. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. **European Journal of Protistology** **27**: 313-330.
- FOISSNER, W. 1997. Faunistic and taxonomic studies on ciliates (Protozoa, Ciliophora) from clean rivers in Bavaria (Germany), with description of a new species and ecological notes. **Limnologica** **27** (2):179-238.
- FOISSNER, W. 2004. Some new ciliates (Protozoa, Ciliophora) from an Austrian floodplain soil, including a giant, red "flagship", *Cyrtohymena (Cyrtohymenides) aspoecki* nov. subgen., nov. spec. **Denisia** **13**: 369-382.
- FOISSNER, W. 2006. Biogeography and dispersal of micro-organisms: a review emphasizing protists. **Acta Protozoologica** **45**: 111-136.
- FOISSNER, W. & H. BERGER. 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology** **35**: 375-498.
- FOISSNER, W.; H. BERGER; H. BLATTERER & F. KOHMANN. 1995. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems - Band IV: Gymnostomates, Loxodes, Suctoria**. Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft, Munich, 540p.
- FOISSNER, W.; H. BERGER & F. KOHMANN. 1992. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems - Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida**. Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft, Munich, 502p.

- FOISSNER, W., BERGER, H. & KOHMANN, F. 1994 .**Taxonomische und ökologische revision der ciliates des saprobiensystemns - Band III: Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida**, Vol 1/94. Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft. Munich 548.
- FOISSNER, W., H. BERGER & J. SCHUAMBURG. 1999. **Identification and ecology of limnetic plankton ciliates**. Bavariae State Office for Water Mannagement, Munich.
- FOISSNER, W., BLATTERER, H., BERGER, H. & KOHMANN, F. 1991 .**Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems - Band I: Cyrtophorida, Oligotrichida, Hypotrichia, Colpodea**, Vol 1/91. Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft. Munich 478.
- FOISSNER, W. & S. WÖLFL. 1994. Revision of the genus *Stentor* Oken (Protozoa, Ciliophora) and description of *S. araucanus* nov. spec. from South American lakes. **Journal of Plankton Research** **16** (3): 255-289.
- GRIMES, G.W. & S.W. L'HERNAULT. 1978. The structure and morphogenesis of the ventral ciliature of *Paraurostyla hymenophora*. **Journal of Protozoology** **25**: 65-74.
- GROLIÈRE, C-A.; R. CHAKLI; O. SPARAGANO & D. PEPIN. 1990. Application de la colonisation d'un substrat artificiel par les ciliés à l'étude de la qualité des eaux d'une rivière. **European Journal of Protistology** **25**: 381-390.
- HUL, M. 1987. The effect of domestic sewage on the structure of the microbenthic ciliate communities in the Lyna River. *Polskie Archiwum* **Hydrobiologia** **34**: 567-578.
- KAHL, A. 1935. Peritrichia und Chonotricha, p. 651-805. In: F. DAHL (Ed.). **Urtiere Oder Protozoa**. Deutschlands, Gustav Fischer, 886p.
- ICZN. 1999. **International code of zoological nomenclature**. London, 306p.
- KLEIN, B. N. 1958. The "dry" silver method and its proper and use. **Journal of Protozoology** **5**: 99-103.

- LATUF, M. 2004. Diagnóstico das águas superficiais do córrego São Pedro, Juiz de Fora/MG. **Geografia** **13** (1): 18-55. Disponível em <<http://www.geo.uel.br/revista>>. Acesso em 12.03.2006.
- LYNN, D.H. & E.B. SMALL. 2002. Phylum Ciliophora, p. 371-656. In: Lee, J.J.; P.C. Leedale & G.F. (Eds.). **An illustred guide to the Protozoa**. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas.
- MADONI, P. 1993. Ciliated protozoa and water quality in the Parma River (Northern Italy): long-term changes in the community structure. **Hydrobiologia** **264**: 129-135.
- MADONI, P. 2005. Ciliated protozoans communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). **Hydrobiologia** **541**: 55-69.
- MADONI, P. & N. BASSANINI. 1999. Longitudinal changes in the ciliated protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology** **35**: 391-402.
- MADONI, P. & P.F. GHETTI. 1981. Ciliated Protozoa and water quality in the Torrente Stirone (Northern Italy). **Acta Hydrobiologica** **23** (2): 143-154.
- PAIVA, T.S. 2005. Taxonomia dos ciliados (Protista: Ciliophora) presentes na lagoa de Cabiúnas (Macaé-RJ) e um estudo morfológico de cinco espécies pertencentes à Classe Spirotrichea Bütschli, 1889. **Dissertação de Mestrado**. Museu Nacional. 139p.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2003. Optical microscopy observations and diagnosis of *Apoamphisiella jurubatiba* sp. n. (Ciliophora: Hypotrichea). **Acta Microscopica** **12** (B): 287-288.
- PAIVA, T.S. & SILVA-NETO. I.D. 2004a. Comparative morphometric study of three species of *Apoamphisiella* Foissner, 1997 (Ciliophora: Hypotrichea) from Brazilian locations, including a description of *Apoamphiseilla foissneri* sp. n. **Zootaxa** **505**: 1-26.

- PAIVA, T.S. & I. D. SILVA-NETO. 2004b. Ciliate protists from Cabiúnas lagoon (Restinga de Jurubatiba, Macaé, Rio de Janeiro) with emphasis on water quality indicator species and description of *Oxytricha marcili* sp. n. **Brazilian Journal of Biology** **64** (3A): 465-478.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2004c. Description of *Parentocirrus brasiliensis* sp. n. (Ciliophora: Spirotrichea), a new ciliate protist present in activated sludge. **Zootaxa** **504**: 1-10.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2006. *Pseudourostyla pelotensis* sp. nov. (Ciliophora, Stichotrichia, Urostylida): a new psammophilic ciliate from the southern Brazil. **Zootaxa** **1247**: 43-58
- PRIMC, B. 1988. Trophic relationships of ciliated Protozoa developed under different saprobic conditions in the periphyton of the Sava River. **Periodicum Biologorum** **90** (3): 349-353.
- SAWAYA, M.P. 1940. Sobre um ciliado novo de São Paulo: *Blepharisma sinuosum* sp. n. (Ciliata, Heterotrichia). **Boletim da Faculdade de Filosofia e Ciências da Universidade de São Paulo** **4**: 303-308.
- SILVA-NETO, I.D. 1994. Observations sur l'é ultrastructure du cilié heterotriche *Licnophora auerbachii* Cohn, 1866, epibionte de l'étoile de mer. **Annales des Sciences Naturelles - Zoologie et Biologie Animale** **2**: 49-62.
- SOLA, A.; J.F. LONGÁS; S. SERRANO & A. GUINEA. 1996. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia** **324**: 237-252.
- SPARAGANO, O. & C. A. GROLILÈRE. 1991. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroecologie Applique** **1**: 43-62.
- TAYLOR, W. D. 1981. **Temporal heterogeneity and the ecology of lotic ciliates**. Plenum Publishing Corporation, Ontario, Canadá.

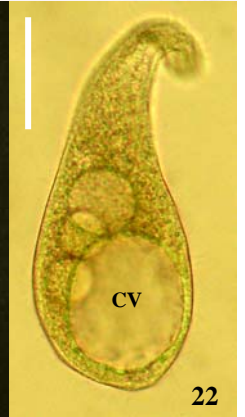
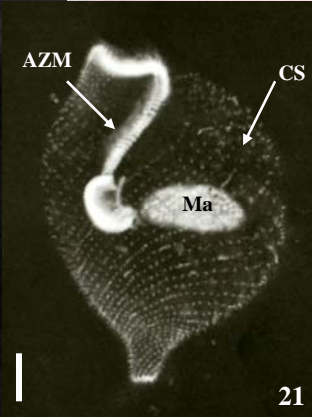
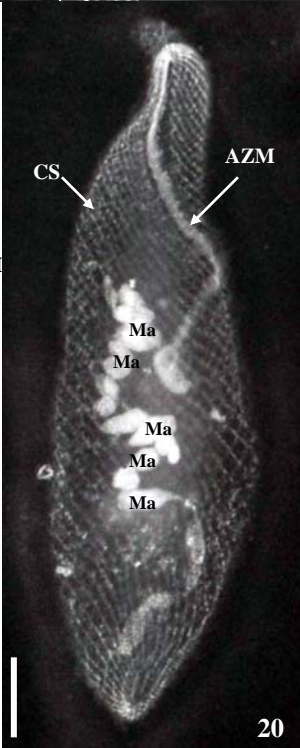
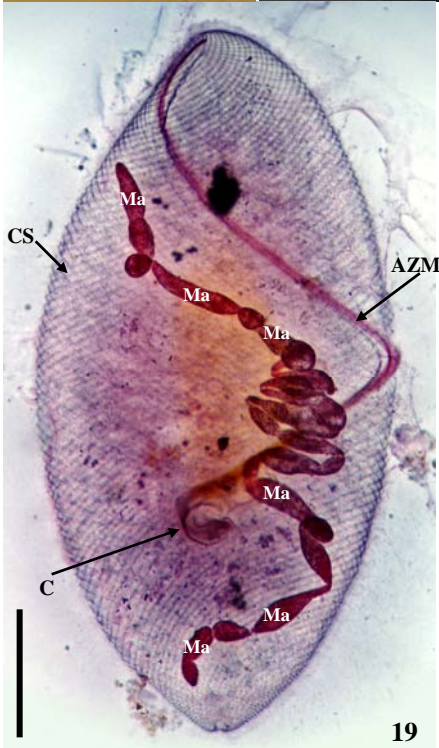
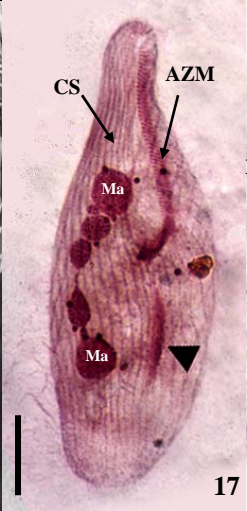
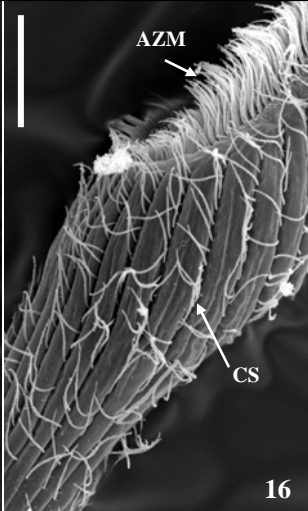
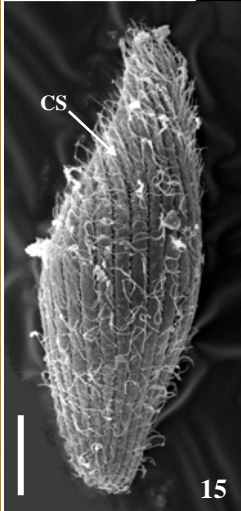
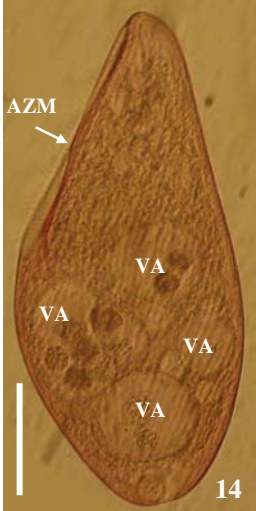
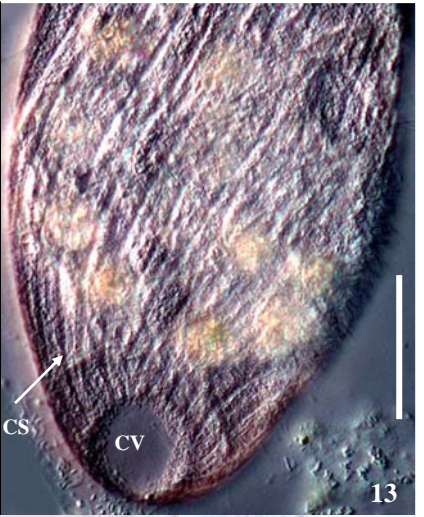
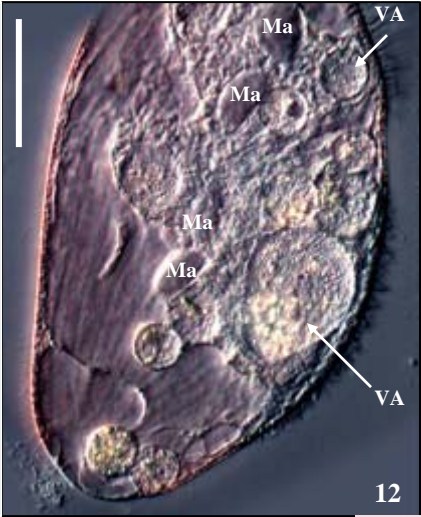
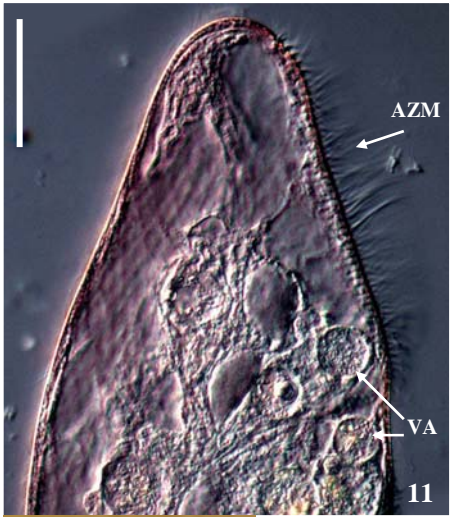
- TUFFRAU, M. 1959. Un dispositif simple pour l'observation durable in vivo des microorganismes. **Hydrobiologia** **18** (4): 316-318.
- TUFFRAU, M. 1964. Quelques variants techniques de l'impregnation des ciliés par le protéinate d'argent. **Arch. Zool. Exp.** **104**: 186-190.
- TUFFRAU, M. 1967. Perfectionnement et pratique de la technique d'impregnation au protargol des infusoires ciliés. **Protistologica** **3** (1): 91-98.
- WANICK, R. & SILVA-NETO, I.D. 2004. Benthic ciliates from Sepetiba Bay (Rio de Janeiro, Brazil) with description of *Pseudokeronopsis sepetibensis* n. sp. (Spirotrichia: Urostylida). **Zootaxa** **587**: 1-11.
- WARREN, A. 1986. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichia). **Bulletin of the British Museum (Natural History)** **50** (1): 1-57.
- WIACKOWSKI, K. 1981. Analysis of Ciliata from polluted sector of the River Drwinka on the basis of binary data. **Acta Hydrobiologica** **23** (4): 319-329.

Prancha I

Figuras 11-24. Fotomicrografias e eletromicrografias de ciliados heterotríqueos dos gêneros *Blepharisma* e *Spirostomum*. 11-18. *Blepharisma sinuosum* Sawaya, 1940. 11-14.

Espécimes observados *in vivo* (DIC e campo claro), mostrando a zona adoral de membranelas, as cinécias somáticas, o vacúolo contrátil, os nódulos do macronúcleo e os vacúolos alimentares. **15-16.** Eletromicrografias da região dorsal (15) e ventral (16), mostrando a zona adoral de membranelas e as cinécias somáticas. **17-18.** Fotomicrografias ao protargol, mostrando a zona adoral de membranelas, as cinécias somáticas, o macronúcleo e o micronúcleos. A seta na figura 18 indica a formação da AZM do “opister” durante o processo de morfogênese. **19.** *Spirostomum ambiguum* (ao protargol), mostrando a zona adoral de membranelas, as cinécias somáticas, o citóstoma e o macronúcleo. **20.** *Spirostomum minus* (ao protargol), mostrando a zona adoral de membranelas, as cinécias somáticas e os nódulos do macronúcleo. **21, 22 e 24.** *Spirostomum teres* (*in vivo* e ao protargol), mostrando a zona adoral de membranelas, as cinécias somáticas, o vacúolo contrátil e o macronúcleo. As figuras 22 e 24 representam a etapa intermediária e final do processo de encistamento desta espécie, respectivamente. **23.** *Spirostomum ambiguum* (*in vivo*), com a seta indicando o citóstoma.

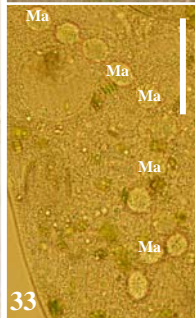
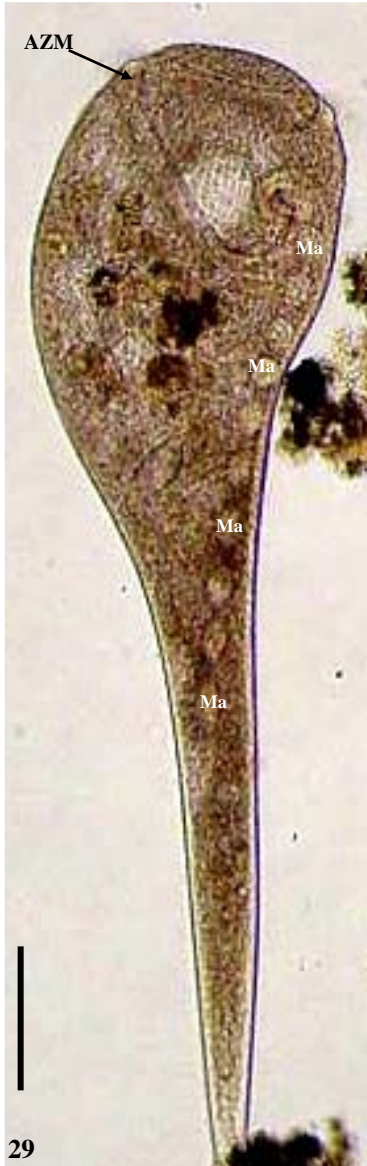
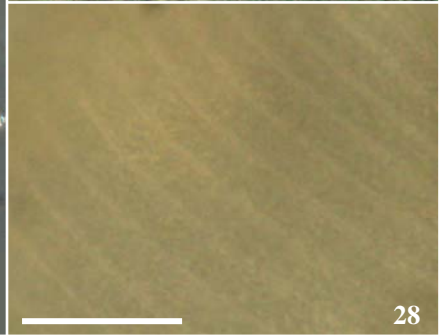
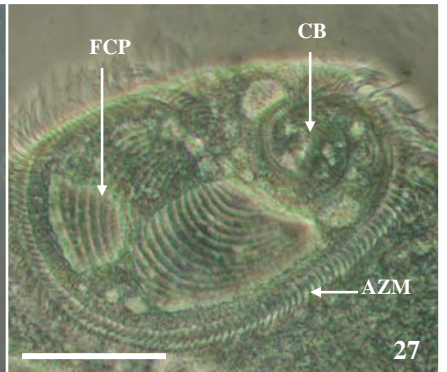
Legendas: AZM = zona adoral de membranelas; C = citóstoma; CS = cinécia somática; CV = vacúolo contrátil; Ma = macronúcleo; Mi = micronúcleo. Barras: Figuras 11-13, 20 e 21 = 25 μm ; Figuras 19, 22 e 24 = 50 μm ; Figura 23 = 100 μm .



Prancha II

Figuras 25-34. Fotomicrografias *in vivo* (campo claro e contraste de fase) de três espécies do gênero *Stentor*. 25-28. *Stentor coeruleus*, mostrando a zona adoral de membranelas, a cavidade bucal, as cinécias somáticas, a disposição das fileiras de cílios na região peristomial e os nódulos do macronúcleo. A figura 27 mostra a região peristomial em detalhe e a figura 28 mostra os grânulos corticais azulados entre cinécias somáticas. 29, 31 e 33. *Stentor polymorphus*, mostrando a zona adoral de membranelas, os nódulos do macronúcleo e algas simbiotes. A figura 31 mostra as algas simbiotes em detalhe e a figura 33 mostra alguns nódulos do macronúcleo moniliforme desta espécie. 30, 32 e 34. *Stentor roeselii*, mostrando a cavidade bucal e macronúcleo vermiforme.

Legendas: AZM = zona adoral de membranelas; CB = cavidade bucal; CS = cinécia somática; FCP = fileira de cílios da região peristomial; Ma = macronúcleo; Si = alga simbiote. Barras: Figuras 25-26, 29 = 100 μm ; Figuras 27-28, 30-34 = 50 μm .

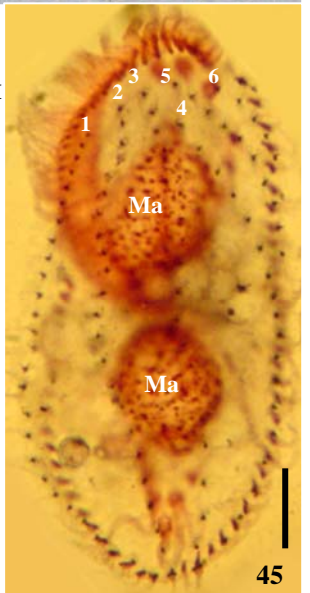
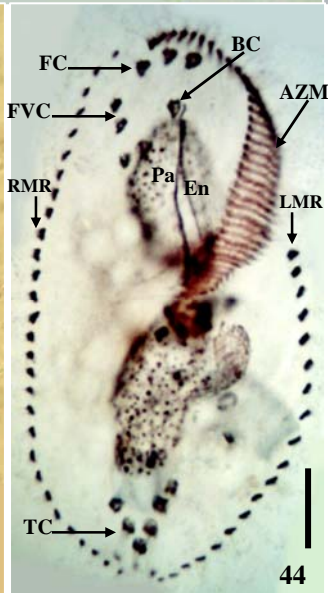
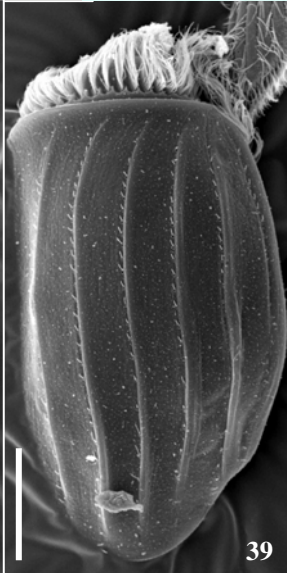
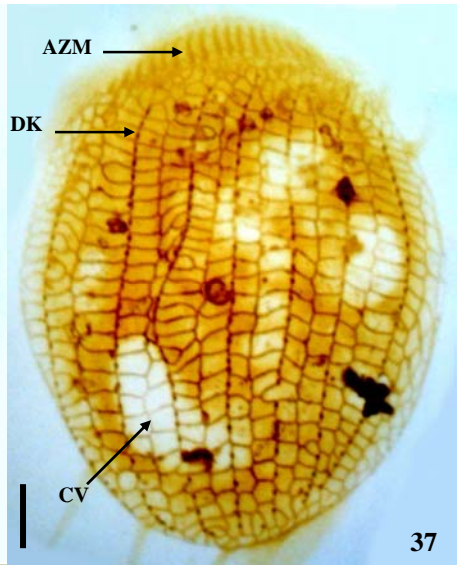
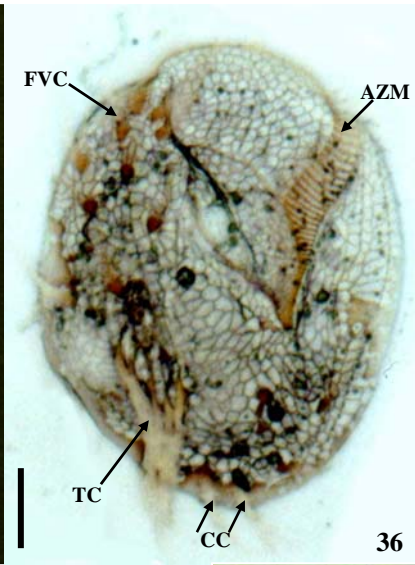
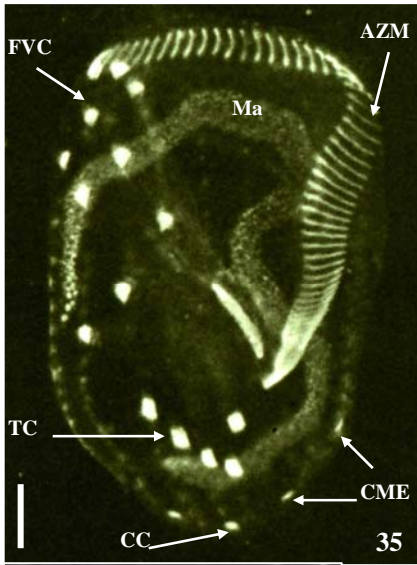


Prancha III

Figuras 35-45. Fotomicrografias e eletromicrografias de ciliados espirotríqueos.

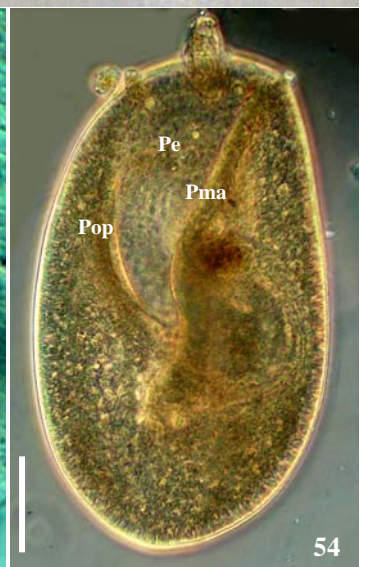
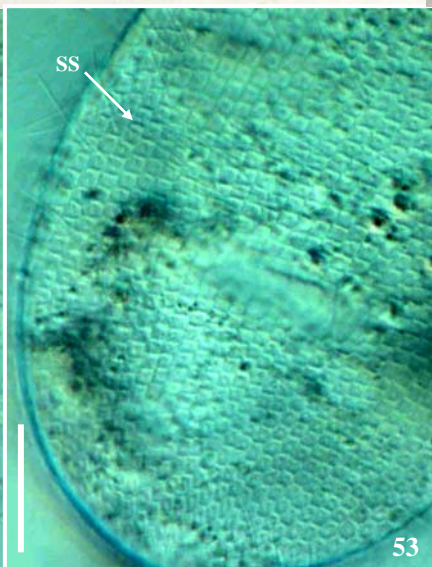
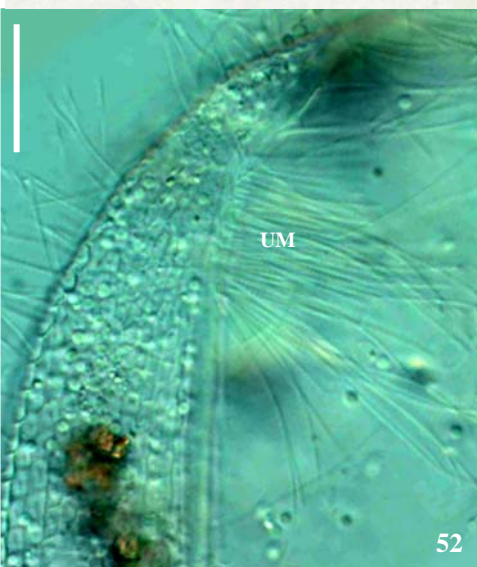
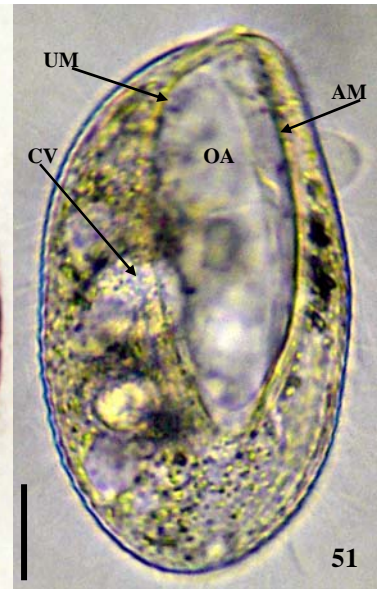
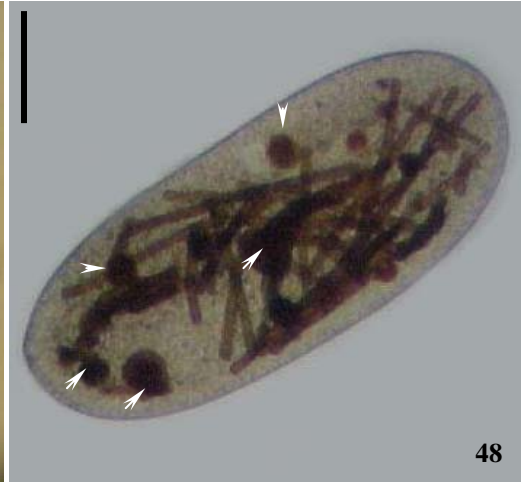
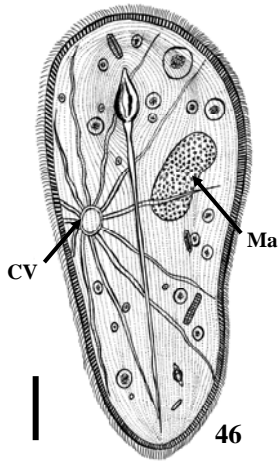
35-37, 41. *Euplotes eurystomus*, mostrando a zona adoral de membranelas, os cirros frontoventrais, os cirros caudais, os cirros marginais esquerdos, os cirros transversos, o vacúolo contrátil, as cinécias dorsais e o macronúcleo. Na figura 35 a técnica utilizada é a do protargol, nas figuras 36 e 37 utilizou-se a técnica do “prata a seco” e a figura 41 é uma fotomicrografia *in vivo*. **38-40.** *Euplotes aediculatus*, mostrando a zona adoral de membranelas. As figuras 38 e 39 são eletromicrografias de região ventral e dorsal, respectivamente. A figura 40 é uma fotomicrografia *in vivo* da região ventral. **42-43.** *Gastrostyla setifera* (*in vivo*) em fase intermediária (42) e final (43) da morfogênese divisional. **44-45.** *Stylonychia pustulata* (ao protargol), mostrando a zona adoral de membranelas, os cirros frontoventrais, os cirros frontais, o cirro bucal, a fileira de cirros marginais direita, a fileira de cirros marginais esquerda, as membranas endoral e paraoral e o macronúcleo. A figura 44 representa a região ventral e a figura 45 a dorsal, onde podem ser observadas quatro cinécias dorsais (1-4) e duas dorso-marginais (5 e 6).

Legendas: AZM = zona adoral de membranelas; BC = cirro bucal; CC = cirro caudal; CME = cirro marginal esquerdo; CV = vacúolo contrátil; DK = cinécia dorsal; eM = membrana endoral; FC = cirro frontal; FVC = cirro frontoventral; LMR = fileira de cirros marginais esquerda; Ma = macronúcleo; pM = membrana paraoral; RMR = fileira de cirros marginais direita; TC = cirros transversos. Barras: Figuras 35- 43 = 25 µm; Figuras 44 e 45 = 20 µm.



Prancha IV

Figuras 46-54. Desenho e fotomicrografias de ciliados himenostomatídeos dos gêneros *Frontonia*, *Lembadium* e *Neobursaridium*. 46-48. *Frontonia leucas*, mostrando o vacúolo contrátil e o macronúcleo. As setas indicam ciánobactérias do gênero *Oscillatoria* na figura 47 e a formação de massas irregulares no citoplasma durante o processo de digestão destas cianobactérias na figura 48. A figura 46 é um desenho esquemático. 49-51. *Lembadium lucens*, mostrando a membranela adoral, o vacúolo contrátil, a abertura oral, o sistema “silverline” e a membrana ondulante. As figuras 38 e 39 são fotomicrografias da região ventral e dorsal, respectivamente, após realização da técnica do “prata a seco”. A figura 51 é uma fotomicrografia *in vivo* da região ventral. 52-53. *Lembadium bullinum* (*in vivo*) em vista ventral (52) e dorsal (53), mostrando a membrana ondulante e o sistema “silverline”. As imagens foram obtidas sob microscópio de contraste diferencial interferencial (DIC). 54. *Neobursaridium gigas* (*in vivo*), mostrando o peristômio, a zona pseudo-adoral de membranelas e a zona das pseudo-organelas paraorais. A imagem foi obtida sob microscópio de contraste de fase. **Legendas: AM = membranela adoral; CV = vacúolo contrátil; OA = abertura oral; Pe = peristômio; Pma = pseudo-membranelas; Pop = organelas pseudo-paraorais; SS = sistema “silverline”; UM = membrana ondulante. Barras: Figuras 46-48 = 50 μm ; Figuras 49-53 = 10 μm ; Figura 54 = 100 μm .**



Prancha V

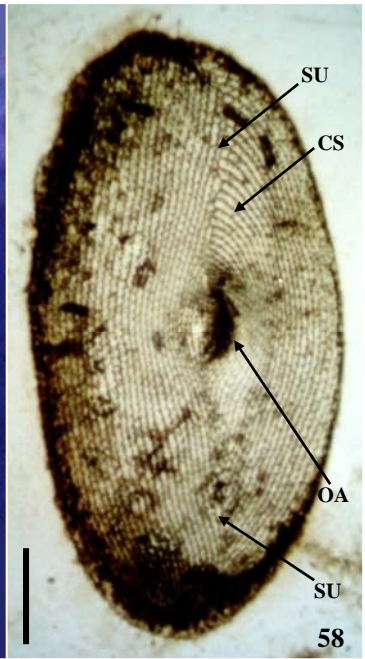
Figuras 55-63. Fotomicrografias de ciliados oligohimenoforídeos dos gêneros *Paramecium*, *Urocentrum* e *Glaucoma*. 55, 57-58. *Paramecium caudatum*, mostrando as cinécias somáticas, a abertura oral e as suturas. Na figura 57 observa-se a liberação dos tricocistos. As figuras 55 e 57 são imagens *in vivo* e a figura 58 foi obtida após realização da técnica do “prata a seco”. 56, 59-60. *Urocentrum turbo*, mostrando a calota apical, as cinécias somáticas, algumas cinécias peculiares desta espécie, o vacúolo contrátil, o macronúcleo em forma de ferradura e a escópula. A figura 56 é uma fotomicrografia *in vivo* da região ventral e as figuras 59 e 60 foram obtidas após realização das técnicas do “prata a seco” e do protargol, respectivamente. 61-63. *Glaucoma frontata*, mostrando o vacúolo contrátil, as membranelas adorais, o macronúcleo e o micronúcleo. As figuras 61 e 62 são fotomicrografias *in vivo* e a figura 63 foi obtida após realização da técnica do protargol. **Legendas: CAL = calota apical; CP = cinécias peculiares de *U. turbo*; CS = cinécias somáticas; CV = vacúolo contrátil; OA = abertura oral; M = membranelas adorais; Ma = macronúcleo; Mi = micronúcleo; SCO = escópula; SU = sutura. Barras: Figuras 55, 57-58 = 50 µm; Figura 56 = 25 µm; Figuras 59-63 = 10 µm.**



55



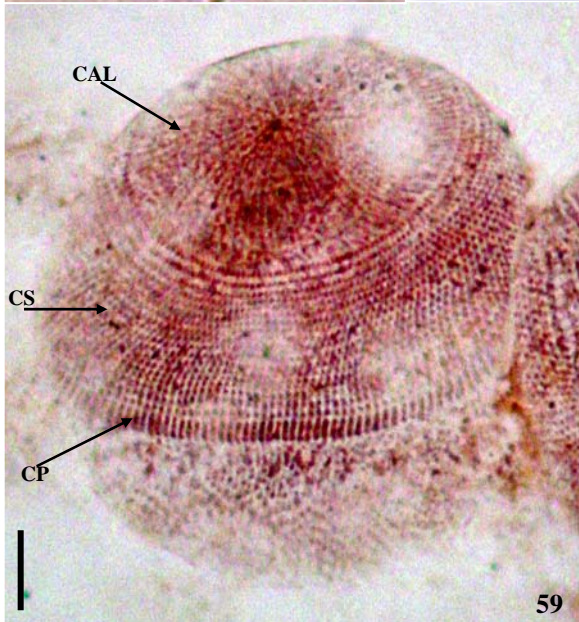
57



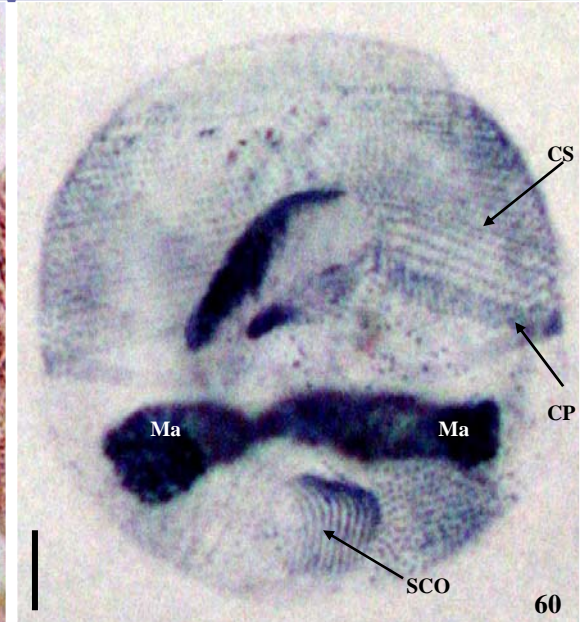
58



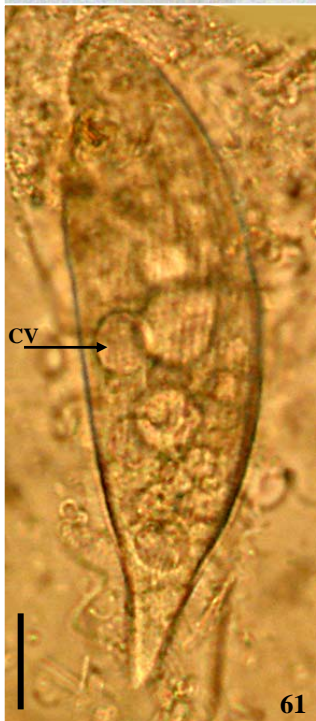
56



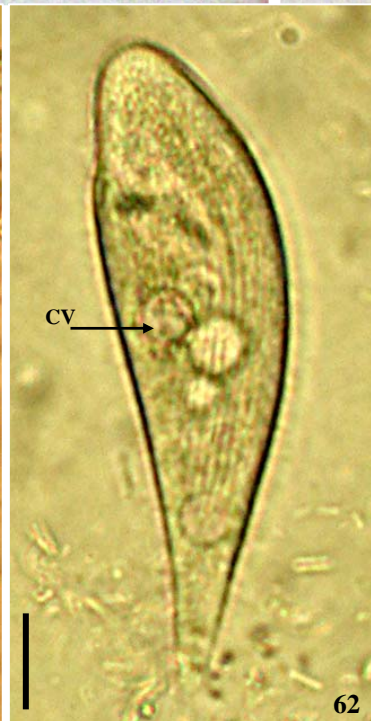
59



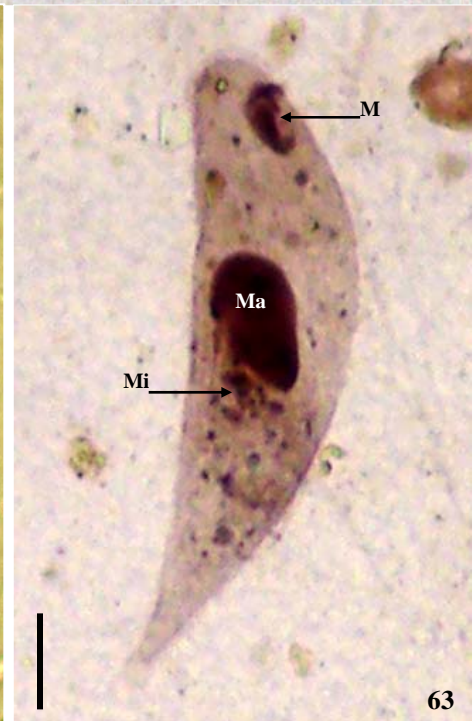
60



61



62

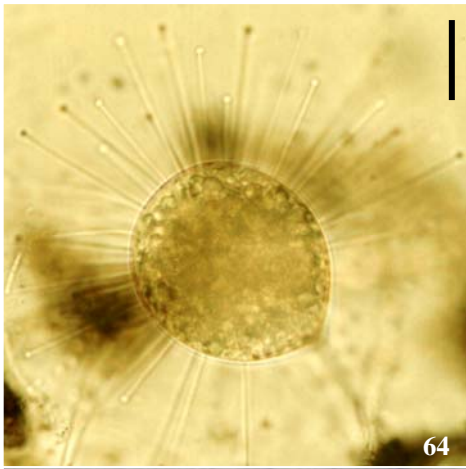


63

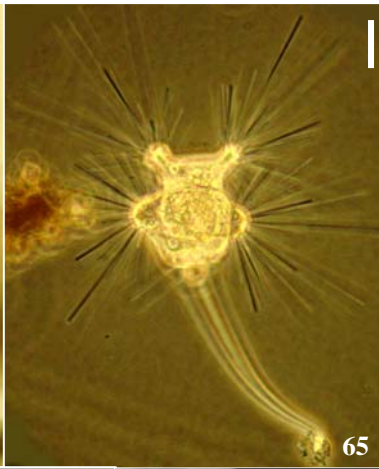
Prancha VI

Figuras 64-71. Fotomicrografias e eletromicrografias de peritríquios e suctórios.

64. *Podophrya fixa* (*in vivo*). **65.** *Tokophrya quadripartita* (*in vivo*). **65.** *Tokophrya lenarum* (seta) associado a uma colônia de *Epistylis procumbens* (*in vivo*) **67-71.** *Carchesium polypinum*, mostrando o macronúcleo, os mionemas do pedúnculo e somáticos, e os pedúnculos contraídos e estendidos. As figuras 67-69 são fotomicrografias obtidas após realização da técnica do protargol e a figuras 70 (detalhe do zoóide) e 71 (colônia) são eletromicrografias. **Legendas:** Ma = macronúcleo; My = mionemas somáticos; Myp = mionemas na região do pedúnculo; P = pedúnculo; Pc = pedúnculo contraído. Barras: Figuras 64-66 = 20 µm; Figura 67-71 = 50 µm.



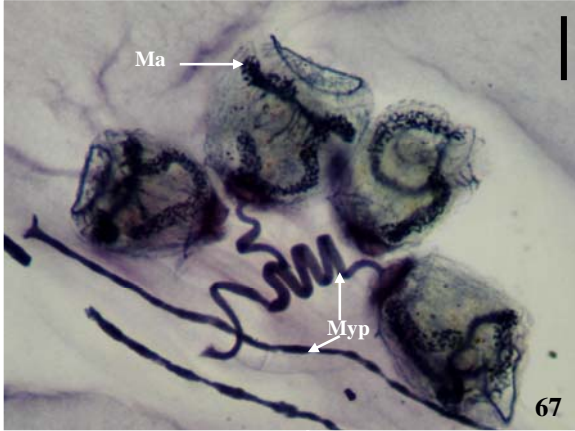
64



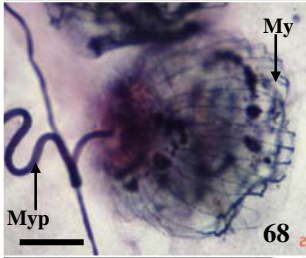
65



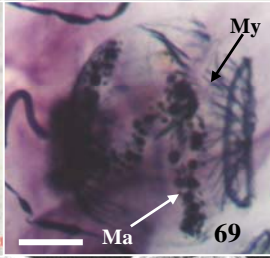
66



67



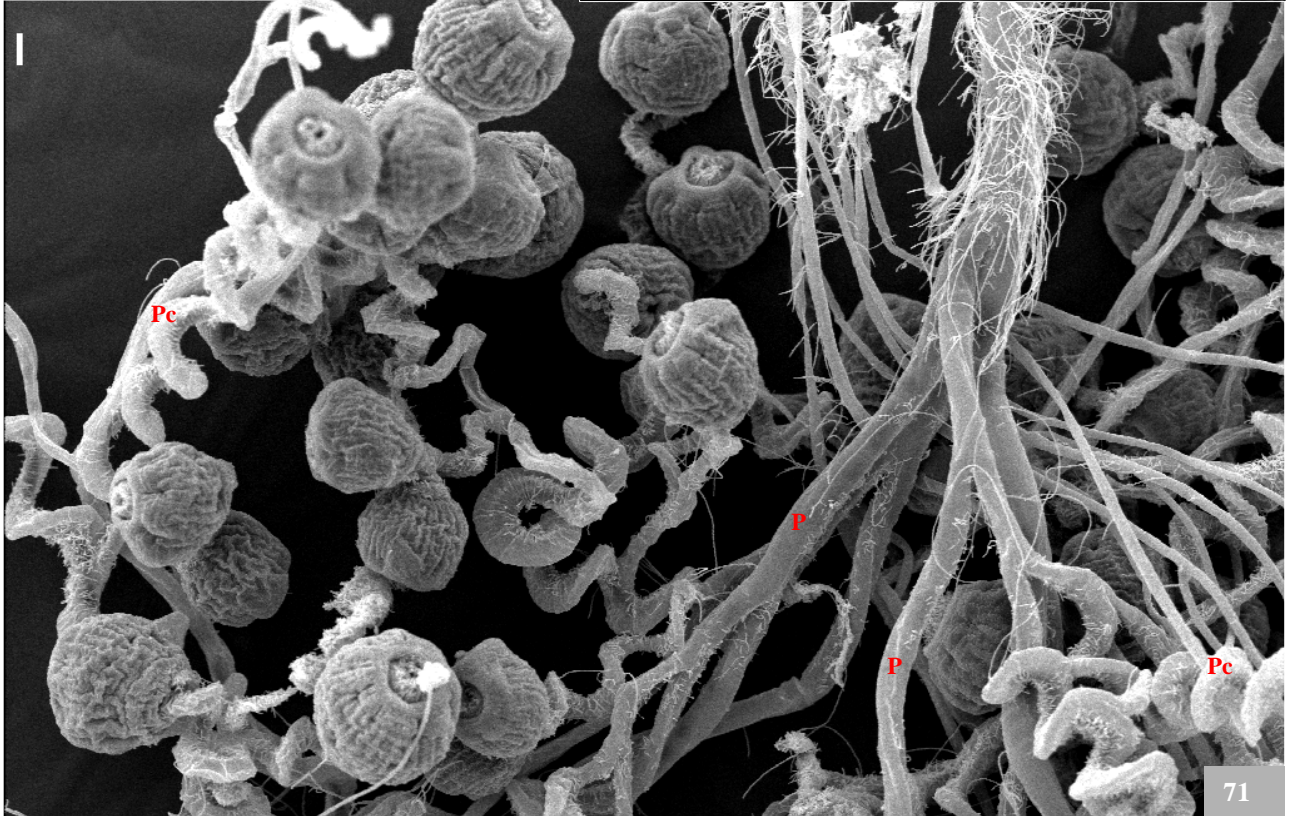
68



69



70



71

Prancha VII

Figuras 72-74. Desenhos esquemáticos de *Apoamphisiella* sp. nov. **72.** Representação esquemática da região ventral *in vivo*, mostrando a disposição dos cirros, a posição das membranas orais, o cirro pós-peristomial e a zona adoral de membranelas. **73.** Desenho da região ventral impregnada pelo protargol, mostrando a disposição dos cirros, a posição das membranas orais e a zona adoral de membranelas. **74.** Desenho da região dorsal impregnada pela protargol, mostrando a disposição das cinécias dorsais e dorso-marginais, dos cirros caudais, e do aparato nuclear. **Legendas:** AFC = cirros frontais anteriores; AZM = zona adoral de membranelas; BC = cirro bucal; CC = cirro caudal; eM = membrana endoral; PFC = cirros frontais posteriores; LMR = fileira de cirros marginais esquerda; LVR = fileira de cirros ventrais esquerda; Ma = macronúcleo; Mi = micronúcleo; pM = membrana paraoral; PpC = cirro pós-peristomial; RMR = fileira de cirros marginais direita; RVR = fileira de cirros ventrais direita; TC = cirros transversos. As setas da figura 74 indicam as dicinetídeas espalhadas. Barras = 30 μ m.

Prancha VIII

Figuras 75-78. Fotomicrografias e eletromicrografia de *Apoamphisiella* sp. nov. 75.

Fotomicrografia *in vivo* da região ventral sob microscópio de contraste interferencial diferencial (DIC). **76.** Eletromicrografia da região ventral, mostrando a zona adoral de membranelas, a membrana paraoral, o cirro pós-peristomial bem como a disposição de todos os cirros ventrais. Os cirros frontais anteriores estão circulosos de verde, os cirros frontais posteriores de azul e o cirro bucal de vermelho. **77.** Fotomicrografia *in vivo* da região ventral sob microscópio de contraste interferencial diferencial (DIC), mostrando os grânulos corticais verdes em detalhe. **78.** Fotomicrografia *in vivo* (DIC) mostrando em detalhe o vacúolo contrátil sem ductos coletores. **Legendas:** AZM = zona adoral de membranelas; CV = vacúolo contrátil; pM = membrana paraoral; PpC = cirro pós-peristomial. Barras: Figuras 75-76 = 25 μm ; Figura 77-78 = 10 μm .

Prancha IX

Figuras 79-80. Fotomicrografias (ao protargol) de *Apoamphisiella* sp. nov. 79. Região ventral, mostrando a disposição dos cirros, as membranas endo e paraoral, e o aparato nuclear.

80. Região dorsal, mostrando a disposição das cinécias dorsais e dorso-marginais, dos cirros caudais, e do aparato nuclear. **Legendas:** AFC = cirros frontais anteriores; AZM = zona adoral de membranelas; BC = cirro bucal; eM = membrana endoral; PFC = cirros frontais posteriores; LMR = fileira de cirros marginais esquerda; LVR = fileira de cirros ventrais esquerda; Ma = macronúcleo; Mi = micronúcleo; pM = membrana paraoral; RMR = fileira de cirros marginais direita; RVR = fileira de cirros ventrais direita; TC = cirros transversos. As setas da figura 80 indicam as dicinetídeas espalhadas. Barras = 25 μ m.

Prancha X

Figuras 81-84. Desenhos esquemáticos das espécies do gênero *Apoamphisiella*.

81 a-c. *A. tihanyensis* (FOISSNER, 1997). A seta em (b) indica o cirro pós-peristomial e em (c) a disposição das dicinetídeas na região dorsal. **81 d-f.** *A. tihanyensis* (PAIVA & SILVA-NETO, 2004a). A seta(s) em (b) indica o cirro pós-peristomial e em (c) indicam as dicinetídeas dispersas. **82 a-c.** *A. foissneri* (PAIVA & SILVA-NETO, 2004a). **83.** *A. hymenophora* (GRIMES & L'HERNAULT, 1978 *apud* BERGER, 1999). **84 a-c.** *A. jurubatiba* (PAIVA & SILVA-NETO, 2003).

As letras (a) representam desenhos da espécie *in vivo*, (b) representação da região ventral após impregnação pelo protargol e (c) representam a região dorsal também impregnada pelo protargol. **Legendas:** AVC = vacúolo contrátil anterior; CV = vacúolo contrátil; PFC = cirros frontais posteriores; PVC = vacúolo contrátil posterior. Barras = 20 μ m.

CAPÍTULO II

DESCRIÇÃO DE UM DOUBLET DO TIPO IMAGEM ESPELHADA EM *Gastrostyla setifera* (ENGELMANN, 1862) KENT 1882 (CILIOPHORA, STICHOTRICHIA)

RESUMO

O presente trabalho registra, pela primeira vez, um doublet do tipo imagem espelhada em *Gastrostyla setifera*, obtida de amostras de água e sedimento de um córrego urbano, localizado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. O doublet mede 63 x 49 µm e possui dois componentes. O componente invertido (LH) apresenta as estruturas corticais invertidas, enquanto o componente normal (RH) apresenta as estruturas corticais similares à de uma célula normal. O componente normal possui 35 membranelas na zona adoral de membranelas e 19 cirros na fileira de cirros marginais esquerdos. O componente invertido apresenta as membranelas invertidas na zona adoral de membranelas e as membranas endoral e paroral invertidas em relação ao padrão da espécie; possui 29 membranelas na zona adoral de membranelas, tendo as cinco primeiras dispostas em uma direção diferente das demais e a fileira de cirros marginais esquerdos possui 14 cirros. Os cirros do doublet estão arranjados irregularmente quando comparados aos das células normais e existem menos cirros (34 cirros) do que o dobro encontrado em uma célula normal ($26 \times 2 = 52$ cirros). Na região dorsal, ambos os componentes (RH e LH) possuem quatro cinécias dorsais completas. As cinécias dorso-marginais não foram observadas no doublet. Os dois componentes apresentam três cirros caudais. O macronúcleo possui um grande nódulo que ocupa os dois componentes RH e LH e dois nódulos menores em cada componente.

Palavras-chave: doublet, *Gastrostyla setifera*, Gastrostylidae, Minas Gerais, morfologia.

INTRODUÇÃO

Doublets são anomalias que ocorrem durante o desenvolvimento de protistas ciliados, onde um único indivíduo possui dois componentes celulares, podendo ser do tipo homopolar, quando os componentes estão unidos dorsalmente, ou do tipo imagem espelhada, quando os componentes estão unidos lado-a-lado (FRANKEL, 1989; BERGER, 1999). Cada doublet pode ser entendido como o resultado de uma fusão de células normais (SHI & FRANKEL, 1990). Doublets do tipo imagem espelhada são raros, e o componente celular normal apresenta-se de modo similar a uma célula normal, enquanto o componente invertido apresenta as estruturas

invertidas (JERKA-DZIADOSZ, 1983; FRANKEL, 1989; SHI & FRANKEL, 1990). Essas anomalias podem surgir espontaneamente ou serem induzidas por luz ultravioleta, laser, choque térmico, microcirurgias, ou pela implantação de regiões contendo o primórdio oral de células normais em divisão (TOTWEN-NOWAKOWSKA, 1965; BANCHETTI *et al.*, 1997; BERGER, 1999).

Dentro do gênero *Gastrostyla* Engelmann 1862, *Gastrostyla setifera* (Engelmann 1862) Kent, 1882 é tida como um raro representante limnético, que difere dos demais congêneres principalmente no arranjo dos cirros transversos, distintamente divididos em dois grupos (BERGER, 1999). Durante um levantamento da ciliatofauna em um lago eutrófico no noroeste da China, SHI *et al.* (2003) redescreveram a morfologia e morfogênese divisional de *G. setifera* usando técnicas modernas.

Durante a realização de um inventário dos protistas ciliados em um córrego urbano, localizado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, foi encontrada uma forma dupla (doublet) em *G. setifera*. O objetivo do presente estudo foi descrever a morfologia de um doublet do tipo imagem espelhada em *G. setifera*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ciliados da espécie *G. setifera* foram encontrados em amostras de água e sedimento, coletadas no ano de 2005, no córrego São Pedro (UTM = 23K, 668307, 7591772) (estação 4, ver capítulo I), um córrego urbano localizado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

Das amostras conduzidas ao laboratório, alíquotas de água e sedimento foram separadas para a realização de culturas em placas de Petri contendo grãos de arroz, que servem como alimento para bactérias. O aumento do número de bactérias estimula o excistamento de ciliados. Para a identificação dos ciliados foram realizadas observações *in vivo*, sob microscópio com contraste de fase e a técnica de impregnação pela prata (protargol), segundo a proposta de DIECKMANN (1995). Em uma amostra de aproximadamente 30 indivíduos, presentes em nossas lâminas, apenas um doublet foi observado. Os dados morfométricos foram obtidos do espécime impregnado no aumento de 1000X, com o auxílio de uma ocular micrométrica. O desenho *in vivo* da célula normal foi realizado à mão livre durante a observação dos espécimes sob contraste de fase e o desenho do doublet *in vivo* é uma representação feita a partir do espécime impregnado. Os desenhos dos espécimes impregnados foram feitos com o auxílio de uma câmara clara. Todos os desenhos foram orientados com a região anterior para o topo da página.

As lâminas contendo os espécimes impregnados das células normais e do doublet do tipo imagem espelhada de *G. setifera* foram depositadas na coleção do Laboratório de Protistologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

RESULTADOS

Morfologia dos indivíduos normais (FIGS. 1-3, 7-10)

Os aspectos corticais das superfícies ventral e dorsal, bem como os aspectos *in vivo* dos ciliados de uma população de *Gastrostyla setifera*, encontrada no córrego São Pedro, estão representadas nas figuras 1 a 3 e estão documentados nas figuras 7 a 10. Os espécimes observados apresentam tamanho médio de 145 μm x 65 μm , formato elipsóide, citoplasma incolor e não possuem grânulos corticais. O vacúolo contrátil se localiza à esquerda na região média da célula e os vacúolos alimentares localizam-se nas margens da célula. A zona adoral de membranelas possui em média 55 membranelas, que são formadas por quatro fileiras de cílios. As duas fileiras posteriores são maiores e possuem o mesmo número de cílios, a terceira é menor aproximadamente 30% e a quarta possui somente alguns poucos corpos basais. As fileiras estão arranjadas de modo que as menores estão na região anterior. As membranelas paraoral e endoral são relativamente longas, medindo 45 μm e 40 μm , respectivamente, e interceptam-se virtualmente na região mediana. Na região ventral são observados 11 cirros frontais, sendo dois cirros bucais; 10 cirros ventrais, sendo cinco dispostos em linha e três pré-transversos desenvolvidos; cinco cirros transversos distribuídos em dois grupos distintos; 23 cirros marginais esquerdos, que se estendem até a região posterior da célula; 32 cirros marginais direitos. Na região dorsal possuem quatro cinécias dorsais completas e duas cinécias dorso-marginais. Os três cirros caudais estão localizados no final das cinécias dorsais DK₁, DK₂ e DK₄. O núcleo possui dois nódulos macronucleares, medindo em média 25 x 12 μm , e dois micronúcleos esféricos medindo entre 4 e 5 μm de diâmetro. Foram observadas diatomáceas no interior do citoplasma em grande parte dos espécimes impregnados pelo protargol (FIG. 10) e bactérias no interior dos espécimes visualizados *in vivo*.

Morfologia de um doublet do tipo imagem espelhada (FIGS. 4-6, 11-15)

Os aspectos corticais das superfícies ventral e dorsal do doublet imagem-espelho em *G. setifera* estão representados nas figuras 5 e 6 e estão documentados nas figuras 11 a 15. Como o doublet não foi observado *in vivo*, somente ao protargol, a figura 4 é uma representação feita a partir do espécime impregnado.

O componente normal (RH = “right-handed”) possui grande parte das estruturas corticais idênticas à da célula normal, enquanto o componente invertido (LH = “left-handed”) possui as mesmas estruturas do RH, mas com o arranjo invertido (FIG. 11). A manifestação mais clara que confirma se tratar de um doublet do tipo imagem espelhada está na inversão das membranelas da zona adoral de membranelas no componente LH.

O componente normal (RH) mede 63 μm de comprimento, possui 35 membranelas, que são formadas por quatro fileiras de corpos basais, sendo as duas posteriores as maiores e com mesmo número de cílios, a terceira menor aproximadamente 30% e a quarta possuindo somente alguns poucos corpos basais. As fileiras estão arranjadas de modo que as menores estão na região anterior, tal como na célula normal. As membranas paraoral e endoral medem 20 μm e 19 μm , respectivamente, e interceptam-se virtualmente na região mediana, tal como na célula normal. A fileira de cirros marginais esquerdos possui 19 cirros (FIGS. 4-5, 12-13).

O componente invertido (LH) mede 54 μm de comprimento e possui 29 membranelas, que são formadas por quatro fileiras de corpos basais, sendo que a primeira possui somente alguns poucos corpos basais, a terceira é menor uns 30% do que as duas anteriores, que são as maiores e contém o mesmo número de cílios. As fileiras estão arranjadas de modo que as menores estão na região posterior, ou seja, apresenta um padrão invertido 180° em relação ao encontrado tanto na célula normal como no componente normal do doublet. As cinco primeiras membranelas deste componente estão dispostas em uma direção diferente das demais membranelas. As membranas paraoral e endoral medem 10 μm e 9 μm , respectivamente, e também se interceptam virtualmente na região mediana. A fileira de cirros marginais esquerdos possui 14 cirros (FIGS. 4-5, 11, 13).

Os cirros da região ventral do doublet estão arranjados irregularmente quando comparados àqueles das células normais e existem menos cirros (34 cirros) que o dobro existente em uma célula normal ($26 \times 2 = 52$ cirros). O componente invertido possui menos cirros na região ventral que o componente normal. Na região dorsal, ambos os componentes (RH e LH) possuem quatro cinécias dorsais completas, num total de oito cinécias dorsais. As cinécias dorso-marginais não foram observadas no doublet. Os dois componentes apresentam

três cirros caudais, que estão localizados no final das cinécias dorsais DK₁, DK₂ e DK₄, como ocorre na célula normal. O macronúcleo possui um grande nódulo que ocupa os dois componentes RH e LH e dois nódulos menores em cada componente (FIGS. 6, 14-15). Não foram observados micronúcleos.

DISCUSSÃO

Célula Normal

A espécie *G. setifera* é tida como rara, tendo sido descoberta em um remanso coberto por macrófitas aquáticas da espécie *Lemna* sp. no rio Elster, em Leipzig, na Alemanha. Esta espécie foi registrada em outros estudos na Europa (BERGER, 1999) e mais recentemente, em um pequeno lago eutrófico na China (SHI *et al.*, 2003) e em um lago em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil (PAIVA & SILVA-NETO, 2005-resumo). Portanto, o registro de *G. setifera* no córrego São Pedro é o segundo desta espécie no Hemisfério Sul.

A população de *G. setifera* estudada pode ser considerada morfológicamente coespecífica da população redescrita por SHI *et al.* (2003), utilizando técnicas ciliatológicas modernas. As únicas diferenças entre a população que estudamos e a redescrita por SHI *et al.* (2003) são o número de cirros frontais (11 x 10), de cirros bucais (2 x 1) e o número de cirros ventrais pré-transversos desenvolvidos (3 x 2), respectivamente. Entretanto, tais diferenças não justificam a proposição de uma nova espécie. As diferenças morfológicas observadas constituem um polimorfismo, tal como observado por WALKER & GRIM (1973), estudando *Gastrostyla steinii* Engelmann, 1862.

Doublet

Terminologia

Os doublets do tipo imagem espelhada, que possuem as estruturas corticais invertidas e componentes celulares unidos lado-a-lado, foram originalmente chamados de “jumelles” por TCHANG & PANG (1977, 1981). O componente normal, localizado no lado esquerdo do doublet, era chamado de “dexter”, enquanto que o componente invertido, ou seja, aquele com as estruturas em imagem-espelho em relação ao componente normal, localizado no lado direito do doublet, era chamado de “sinister”. Posteriormente outros autores (GRIMES *et al.*, 1980; JERKA-DZADOSZ, 1983, 1985) alteraram esta nomenclatura, chamando o “dexter” de simetria padrão (“standart-symmetry”), referindo-se à simetria padrão da espécie e o

“sinister” de simetria invertida (“symmetry-reversed”), referindo-se à inversão do padrão de simetria da espécie.

Retornando à idéia proposta por TCHANG & PANG (1977) de utilizar como critério a organização dos componentes e não seu posicionamento anatômico, os trabalhos de SHI & FRANKEL (1990) e SHI *et al.* (1990) chamaram o “dexter” de “right-handed”, isto é, o componente normal, que possui as estruturas corticais típicas da espécie e o “sinister” de “left-handed”, ou seja, o componente celular invertido. Segundo estes autores, esta nomenclatura apresenta a vantagem de ser aplicável à uma variedade maior de ciliados e não somente aos hipotríquios. No presente trabalho adotou-se a nomenclatura proposta por SHI & FRANKEL (1990): componente normal (“right-handed”/RH) e componente invertido (“left-handed”/LH).

Os estudos sobre doublets do tipo imagem espelhada demonstraram que os componentes celulares não apresentam fileiras de cirros marginais direitos e que os cirros marginais esquerdos (LMR) do componente invertido (LH) apresentam as mesmas estruturas internas que os cirros marginais esquerdos do componente normal (RH) (GRIMES *et al.*, 1980; JERKA-DZADOSZ, 1983, 1985; SHI & FRANKEL, 1990; SHI *et al.*, 1990). Entretanto, utilizou-se, no presente estudo, o termo fileira de cirros marginais direitos (RHM) somente para designar a posição anatômica da fileira de cirros marginais do componente normal (RH).

Morfologia

Este trabalho descreve, pela primeira vez, um doublet do tipo imagem espelhada em ciliados do gênero *Gastrostyla*. A manifestação mais clara que confirma tratar-se de um doublet do tipo imagem espelhada está na inversão das membranelas, tal como registrado por outros autores (GRIMES *et al.*, 1980; JERKA-DZADOSZ, 1983, 1985; SHI & FRANKEL, 1990; SHI *et al.*, 1990). O estudo morfológico do doublet de *G. setifera* concorda com os registros prévios do arranjo simétrico das estruturas corticais em doublets imagem-espelho para os hipotríquios *Pleurotricha lanceolata* (Ehrenberg, 1835) Stein, 1859 (GRIMES *et al.*, 1980), *Paraurostyla weissei* (Stein, 1859) Borrer, 1972 (JERKA-DZADOSZ, 1983, 1985) e *Stylonychia mytilus* Ehrenberg, 1838 (TCHANG & PANG, 1981; SHI & FRANKEL, 1990; SHI *et al.*, 1990).

O doublet em *G. setifera* provavelmente surgiu de forma espontânea, como registrado em outros doublets do tipo imagem espelhada (JERKA-DZADOSZ, 1983, 1985; SHI & FRANKEL, 1990; SHI *et al.*, 1990) e em doublets homopolares (GRIMES, 1973; BANCHETTI *et al.*, 1997; RICCI *et al.*, 2000).

As irregularidades nas membranelas da zona adoral de membranelas do componente LH em relação ao componente RH observadas no doublet de *G. setifera*, também foram relatadas em um estudo ultraestrutural realizado por JERKA-DZADOSZ (1983) em *P. weissei* e em outro estudo usando protargol por SHI & FRANKEL (1990) em *S. mytilus*. As cinco primeiras membranelas dispostas em uma direção diferente das demais no componente invertido, tal como registramos para *G. setifera*, nunca foram observadas anteriormente. A inversão da organização das membranelas no componente invertido está associada à direção invertida do seu batimento ciliar, que é responsável pela incapacidade da região oral de LH de formar vacúolos alimentares. Então, no doublet o aparato oral do componente invertido não funciona e o doublet alimenta-se somente pela região oral do componente normal (JERKA-DZADOSZ, 1983; SHI & FRANKEL, 1990). Em *P. weissei*, após a separação dos componentes, a célula proveniente de LH morre por inanição e a célula proveniente de RH forma clones e se multiplica (SHI *et al.*, 1990). Portanto, a explicação para que uma célula proveniente de LH após a separação dos componentes de um doublet imagem espelho morra, está no seu aparato oral defeituoso.

Os cirros da região ventral do doublet de *G. setifera* arranjados irregularmente e em menor número que o dobro existente em uma célula normal foram registrados também por FRANKEL (1989) e SHI & FRANKEL (1990). Devido à ausência de fileiras de cirros marginais direita no doublet, as cinécias dorso-marginais não se desenvolvem, visto que essas cinécias são formadas, segundo SHI *et al.* (2003), em associação com o anlagen da fileira de cirros marginais direita.

A presença das duas fileiras de cirros marginais nos dois componentes do doublet (LHM e RHM) foi observada em doublets do tipo imagem espelhada em *P. lanceolata*, *P. weissei* e *S. mytilus* (GRIMES *et al.*, 1980; JERKA-DZADOSZ, 1983, 1985; SHI & FRANKEL, 1990). O doublet do tipo imagem espelhada de *P. weissei* apresentam uma peculiaridade: a multiplicação das fileiras de cirros marginais esquerdos no lado direito do componente invertido (“left-handed”). Em culturas com células normais, das quais os doublets foram induzidos, esta multiplicação das fileiras de cirros marginais direitos e esquerdos não foi observada (JERKA-DZADOSZ, 1985). Em doublets de *S. mytilus*, a infraciliatura dos cirros marginais esquerdos do componente LH apresenta-se invertida em relação ao componente RH, que possui o mesmo padrão de um indivíduo normal (SHI & FRANKEL, 1990). Ao separarem os componentes LH e RH de um doublet imagem espelho de *S. mytilus*, SHI *et al.* (1990) observaram que cada fragmento forma novos cirros marginais direitos. Neste estudo, as principais descobertas foram que, após a separação, o componente resultante de RH cresce

e se reproduz, enquanto que o resultante de LH, embora consiga se regenerar, não cresce e morre.

Em um estudo recente (RICCI *et al.*, 2000) investigaram a possibilidade de um doublet do tipo homopolar no oxitriquídeo *Oxytricha bifaria* Stokes, 1887 não ser um mero produto de uma fissão binária “abortiva”. Os doublets de *O. bifaria* possuem cinco estágios (BANCHETTI *et al.*, 1997), sendo que o estágio mais freqüente pode nadar tal como uma célula normal e apresenta periodicidade nas fissões binárias. Outros estudos abordaram o papel adaptativo dos estágios alomórficos desta espécie tal como os pares de conjugantes, os gigantes e os cistos (RICCI *et al.*, 2000). Em amostragens periódicas em sistemas lóticos e lênticos ao redor de Pisa, RICCI *et al.* (2000) relataram que doublets de *O. bifaria* foram mais freqüentes que gigantes, embora tenham sido menos freqüentes que pares de conjugantes. Esta relativa freqüência de doublets na natureza sugere que estas formas possuam um valor adaptativo. Além disso, o maior número de cirros, a eficiência de seu comportamento natatório e a eficácia de ambas as regiões orais sugerem que doublets de *O. bifaria* representem um estágio de diferenciação, adaptado para dispersão e colonização de novos microhabitats favoráveis.

Embora a possibilidade de os doublets do tipo imagem espelhada se apresentarem como uma adaptação e não como uma aberração ainda não tenha sido discutida, devido provavelmente à incapacidade do componente invertido em se alimentar, o registro de GRIMES *et al.* (1980), de que doublets do tipo imagem espelhada em *P. lanceolata* são capazes de encistar e excistar, demonstra a necessidade de se ampliar os estudos a respeito da complexidade comportamental destas formas, a fim de se investigar seu significado adaptativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

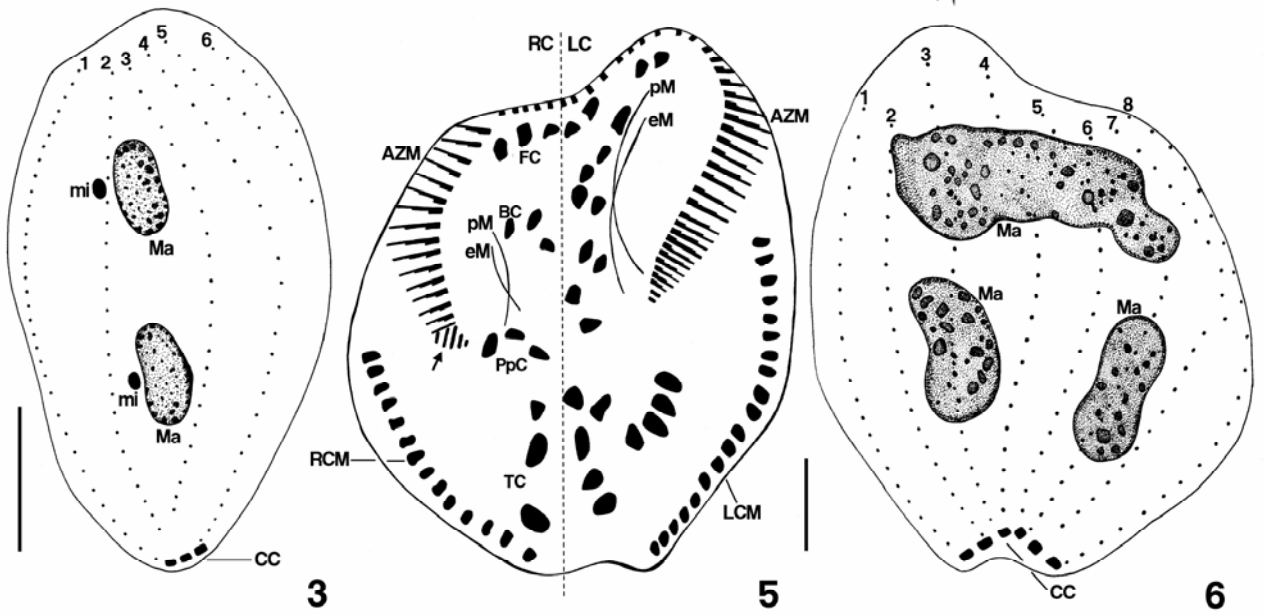
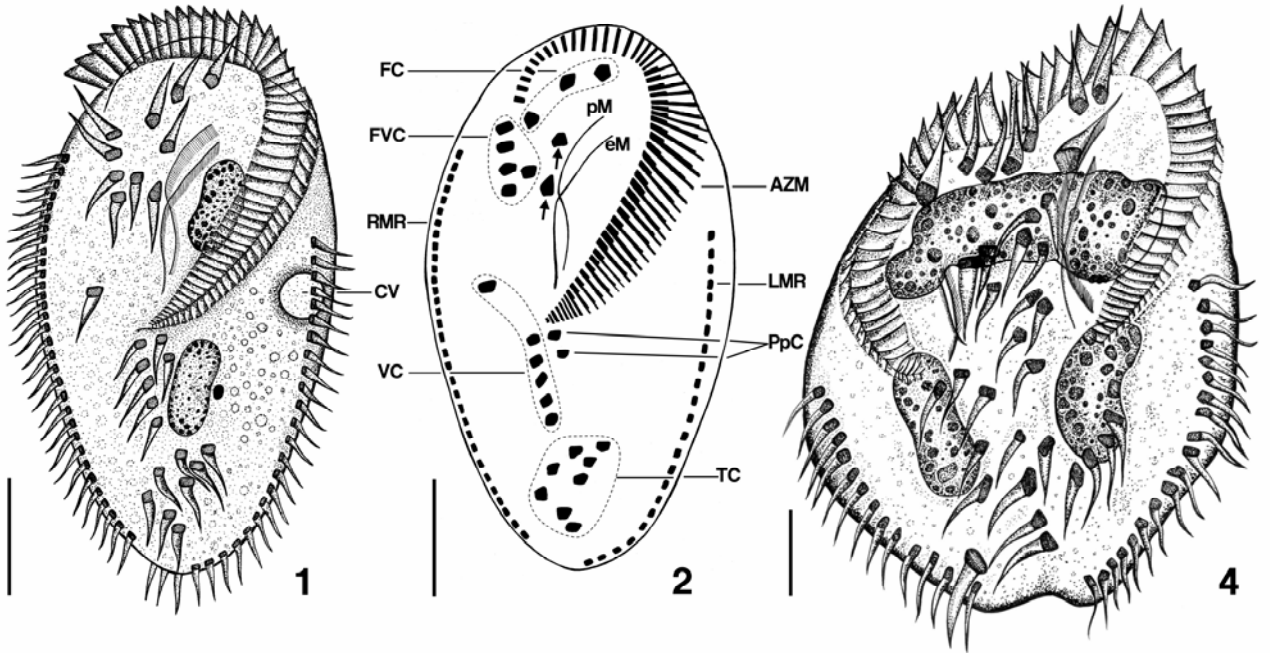
- BANCHETTI, R.; S. BISOGNI & N. RICCI. 1997. The morphology of the doublet of *Oxytricha bifaria*: further studies. **Cytobios** **90**: 203-218.
- BERGER, H. 1999. **Monograph of the Oxytrichidae (Ciliophora, Hypotrichia)**. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1082p.
- DIECKMANN, J. 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. **European Journal of Protistology** **31**: 372-382.

- FRANKEL, J. 1989. **Pattern formation: ciliate studies and models**. Oxford University Press, New York, 320p.
- GRIMES, G.W. 1973. An analysis of the determinative difference between singlets and doublets of *Oxytricha fallax*. **Genetical Research** **21**: 57-66.
- GRIMES, G.W.; M.E. MCKENNA; C.M. GOLDSMITH-SPOEGLER & E.A. KNAUPP. 1980. Patterning and assembly of ciliature are independent process of hypotrich ciliates. **Science** **209**: 281-283.
- JERKA-DZADOSZ, M. 1983. The origin of mirror-image symmetry doublet cells in the hypotrich ciliate *Paraurostyla weissei*. **Roux's Archives of Developmental Biology** **192**:179-188.
- JERKA-DZADOSZ, M. 1985. Mirror-image configuration in the cortical pattern causes modifications in propagation of microtubular structures in the hypotrich ciliate *Paraurostyla weissei*. **Roux's Archives of Developmental Biology** **194**: 311-324.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA NETO. 2005. Observations on the polymorphism of morphostatic individuals and during the morphogenesis in *Gastrostyla setifera* (Ciliophora: Spirotrichea: Stichotrichia). **Anais da XXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Protozoologia**.
- RICCI, N.; F. ERRA & R. BANCHETTI. 2000. The behaviour of the doublet of *Oxytricha bifaria* (Ciliata, Hypotrichida): a contribution to the understanding of this enigmatic form. **Journal of Eukaryotic Microbiology** **47** (2): 156-160.
- SHI, X. & J. FRANKEL. 1990. Morphology and development of mirror-image doublets of *Stylonychia mytilis*. **The Journal of Protozoology** **37** (1): 1-13.
- SHI, X.; Z. QIU; L. LU & J. FRANKEL. 1990. Morphology and development of left-handed singlets derived from mirror-image doublets of *Stylonychia mytilis*. **The Journal of Protozoology** **37** (1): 14-19.

- SHI, X.; X. HU & A. WARREN. 2003. Rediscovery of *Gastrostyla setifera* (Engelmann, 1862) Kent, 1882: morphology and divisional morphogenesis (Ciliophora, Hypotrichida). **Journal of Natural History** **37**: 1411–1422.
- TCHANG, T. & Y. PANG. 1977. The cytoplasmic differentiation of jumelle *Stylonychia*. **Scientia Sinica** **20**: 234-243.
- TCHANG, T. & Y. PANG. 1981. The “ciliary pattern” of jumelle *Stylonychia* and its genetic behaviour. **Scientia Sinica** **24**: 122-129.
- TOTWEN-NOWAKOWSKA, I. 1965. Doublets of *Stylonychia mytilus* evoked by action of thermic shocks. **Acta Protozoologica** **3**: 355-361.
- WALKER, G.K. & J.N. GRIM. 1973. Morphogenesis and polymorphism in *Gastrostyla steinii*. **The Journal of Protozoology** **20** (5): 566-573.

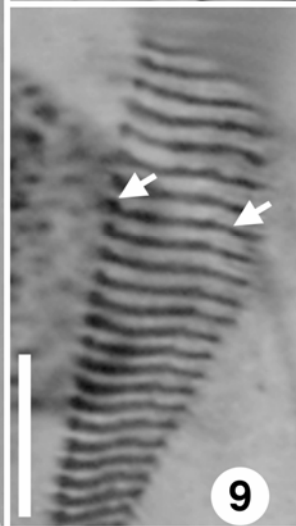
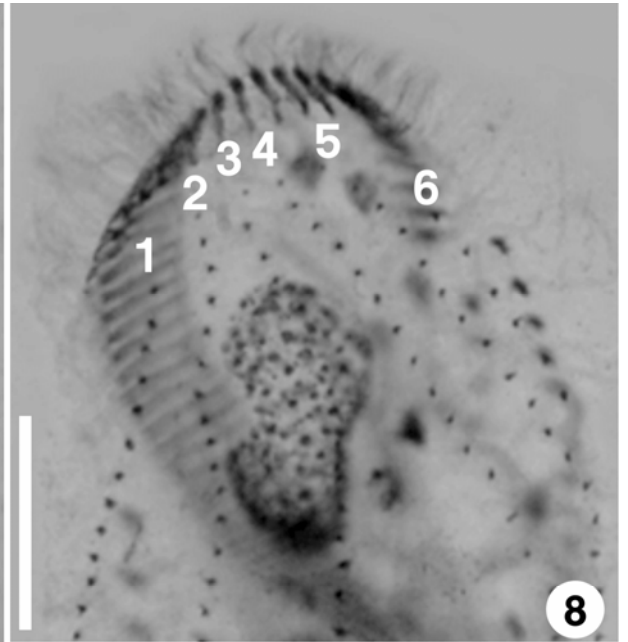
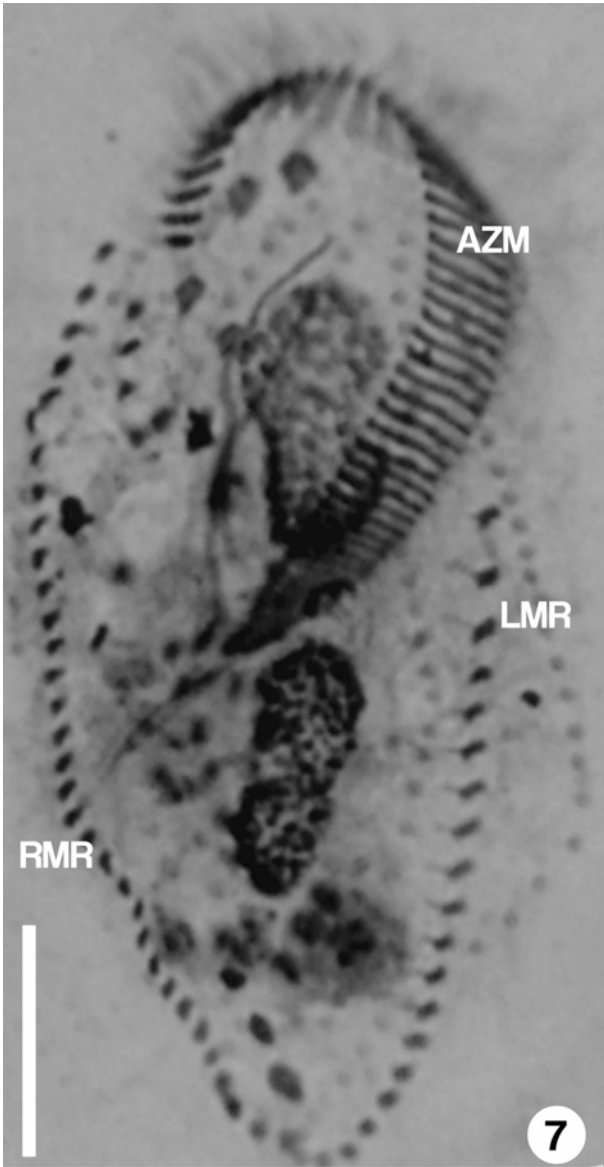
Prancha XI

Figuras 1-6. Desenhos esquemáticos de *Gastrostyla setifera*. **1.** Célula normal *in vivo*, em vista ventral. **2.** Célula normal impregnada pelo protargol, em vista ventral. Setas apontam os dois cirros bucais. **3.** Célula normal impregnada pelo protargol, em vista dorsal, mostrando as cinécias dorsais (1-4) e dorso-marginais (5 e 6), núcleos e cirros caudais. **4.** Reconstrução do doublet *in vivo* baseada no espécime impregnado. **5.** Doublet impregnado pelo protargol, em vista ventral. A seta aponta as cinco membranelas adorais anômalas. **6.** Doublet impregnado pelo protargol, em vista dorsal, mostrando as cinécias dorsais (1-8), macronúcleo e cirros caudais. **Legendas:** AZM = zona adoral de membranelas; BC = cirros bucais; CC = cirros caudais; CV = vacúolo cantrátil; eM = membrana endoral; FC = cirros frontais; FVC = cirros fronto-ventrais; LH = componente invertido; LHM = fileira de cirros marginais do componente invertido (LH); LMR = fileira de cirros marginais esquerdos da célula normal; Ma = macronúcleo; mi = micronúcleos; pM = membrana paraoral; PpC = cirros pós-peristomiais; RH = componente normal; RHM = fileira de cirros marginais do componente normal (RH); RMR = fileira de cirros marginais direitos da célula normal; TC = cirros transversos; VC = cirros ventrais. Barras: Figuras 1-3 = 30 µm; Figuras 4-6 = 10 µm.



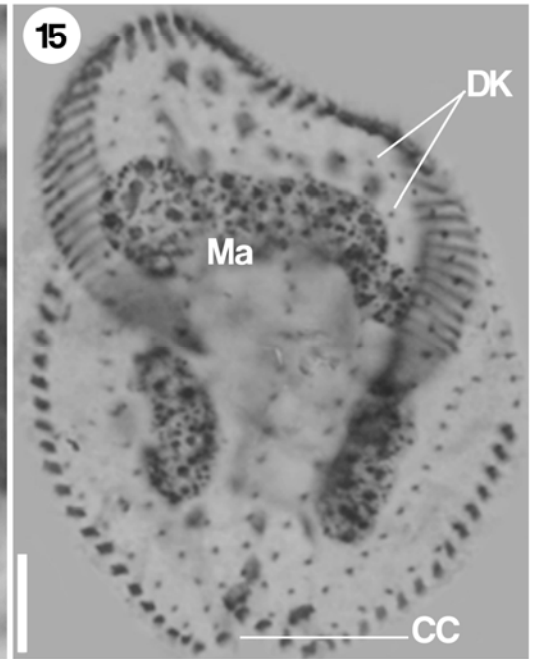
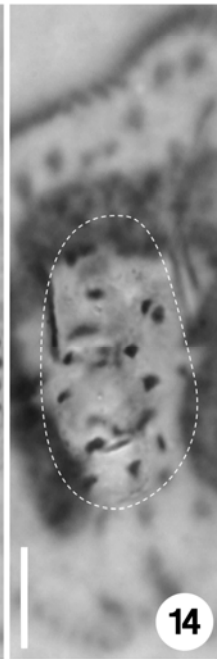
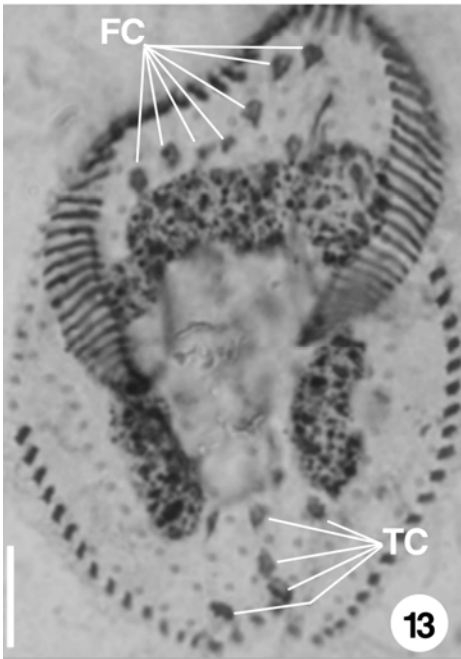
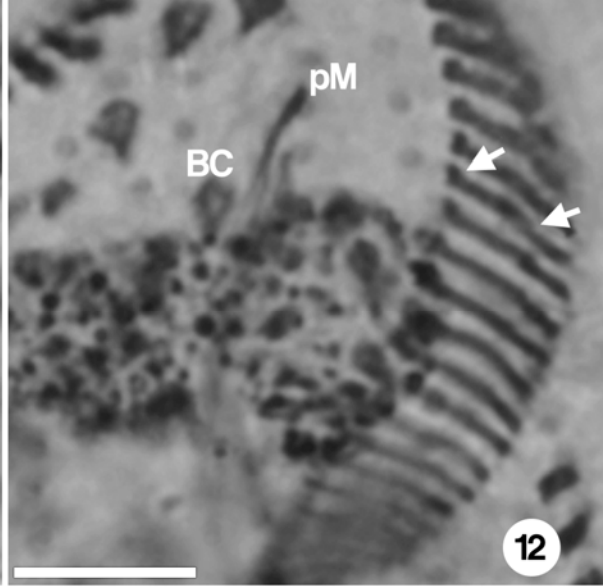
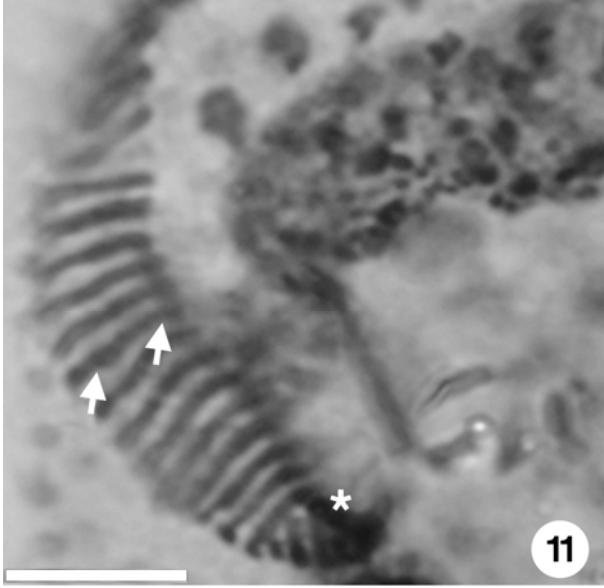
Prancha XII

Figuras 7-10. Fotomicrografias das células normais de *Gastrostyla setifera* impregnadas pelo protargol. **7.** Região ventral, mostrando a organização das ciliaturas oral e somática; **8.** Região dorsal, mostrando as cinécias dorsais (1-4) e dorso-marginais (5 e 6); **9.** Detalhe da zona adoral de membranelas. Setas mostram a orientação típica das membranelas de uma célula normal; **10.** Espécime contendo diatomáceas, marcadas pelos asteriscos. **Legendas:** AZM = zona adoral de membranelas; LMR = fileira de cirros marginais esquerdos da célula normal; RMR = fileira de cirros marginais direitos da célula normal. Barras = 30 μm .



Prancha XIII

Figuras 11-15. Fotomicrografias do doublet do tipo imagem espelhada em *Gastrostyla setifera* impregnado pelo protargol. 11. Detalhe da região oral do componente invertido (LH), mostrando a inversão das membranelas (setas). **12.** Detalhe da região oral do componente normal (RH), mostrando o padrão normal das membranelas (setas). **13.** Região ventral do doublet, mostrando cirros frontais e transversos. **14.** Detalhe da região ventral do doublet, mostrando os cirros ventrais. **15.** Região dorsal do doublet, mostrando cinécias dorsais, macronúcleo e cirros caudais. **Legendas:** BC = cirros bucais; CC = cirros caudais; DK = cinécia dorsal; FC = cirros frontais; Ma = macronúcleo; pM = membrana paraoral; TC = cirros transversos. Barras = 30 μ m.



CAPÍTULO III

REGISTRO DE *Neobursaridium gigas* BALECH, 1941 (CILIOPHORA, PENICULIDA, NEOBURSARIDIIDAE) EM UM SISTEMA LÓTICO NO SUDESTE DO BRASIL E REVISÃO DOS ASPECTOS MORFOLÓGICOS, ECOLÓGICOS E DE DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo registrar a presença de *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 em um córrego urbano, no Sudeste do Brasil e realizar uma revisão dos aspectos morfológicos, ecológicos e da distribuição geográfica deste ciliado. Foram realizadas 12 coletas, entre maio de 2005 e maio de 2006, em cinco estações de coleta ao longo do córrego São Pedro, Juiz de Fora, MG. *N. gigas* foi mantido em culturas contendo amostras do sedimento, grãos de arroz e água mineral. Os ciliados da espécie *N. gigas* foram triados das culturas e observados *in vivo* sob microscópio óptico (campo claro e contraste de fase). Foram realizadas as técnicas de impregnação pela prata (protargol) e de microscopia eletrônica de varredura. *Neobursaridium gigas* foi encontrado somente na estação 3, nas coletas de outubro de 2005 e abril de 2006. As condições físicas, químicas e biológicas da água nestas duas coletas foram: velocidade da água = 0,12 e 0,16 m/s; temperatura da água = 20,1 e 22°C; teor de oxigênio dissolvido (OD) = 0 e 1,03 mg/l; pH = 6,63 e 6,80; condutividade elétrica = 86,9 e 122,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$; clorofila = 29,1 e 48,2 $\mu\text{g}/\text{l}$, respectivamente. A distribuição geográfica de *N. gigas*, conforme a literatura consultada, está restrita a países localizados ao sul do Trópico de Câncer: Argentina, Brasil, Sul da Índia, Tailândia e em sete países africanos: Camarões, Congo, Gabão, República Centro-Africana, República do Benin, Tchad e Uganda. O conhecimento sobre a biogeografia de *Neobursaridium gigas*, baseado em dados obtidos ao longo de seis décadas, demonstra a necessidade de levantamentos extensivos da ciliatofauna nos diferentes continentes, a fim de melhor conhecer a distribuição geográfica desses microorganismos.

Palavras-chave: distribuição geográfica, ecologia, morfologia, *Neobursaridium gigas*.

INTRODUÇÃO

Neobursaridium gigas foi descoberto por BALECH (1941) em amostras de água provenientes de duas cidades argentinas, Buenos Aires e Santa Fé. A semelhança da ciliatura somática uniforme e do proeminente peristômio deste protista com aqueles de *Bursaria*

truncatella Müller, 1776 fizeram com que BALECH (1941) incluísse *N. gigas* na família Bursariidae.

Em 1955, Nilsson (NILSSON, 1969) encontrou este ciliado em Uganda (África) e o identificou como *Bursaria* sp. Estudos posteriores sobre a morfologia e biologia de *N. gigas* foram realizados por NILSSON (1962) e THURSTON (1964) em espécimes coletados em Uganda e por DRAGESCO (1966) em espécimes coletados na República Centro-Africana. Todos estes estudos apontaram a semelhança morfológica entre *N. gigas* e os ciliados da ordem Peniculida, tais como *Paramecium* e *Frontonia*, e foi DRAGESCO (1966) quem afirmou que este se tratava de um himenostomatídeo, atual classe Oligohymenophorea.

DRAGESCO & TUFFRAU (1967), usando técnicas de impregnanção pela prata, revelaram a presença de dois *peniculi* e um *quadrulus* na região bucal de *N. gigas* e o incluíram na ordem Peniculida, dentro de uma nova família Neobursaridiidae. NILSSON (1969) reafirmou, com base em um estudo de ultraestrutura, a semelhança entre *N. gigas* e os ciliados peniculídeos. DRAGESCO (1968) estudou o comportamento térmico, a morfologia de vesículas ectoplasmáticas e a ultraestrutura dos tricocistos de *Neobursaridium*. DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS (1986) revisaram os aspectos da morfologia e distribuição geográfica de *N. gigas*. Segundo estes autores, esta espécie jamais foi registrada ao norte do Trópico de Câncer, ocorrendo somente na América do Sul e África.

Neobursaridium gigas é um exemplo clássico de ciliado com distribuição geográfica endêmica restrita à Gondwana e tem sido usado para comprovar a hipótese de que os protistas possuem distribuição geográfica endêmica (FOISSNER, 1999, 2006). Segundo FOISSNER (2006), *N. gigas* é tido como um protista “flagship” por ser um ciliado conspícuo, incomum, e visível a vista desarmada. Caso esta espécie existisse na Europa ou América do Norte, já teria sido descobertos, segundo o referido autor, devido aos inúmeros estudos realizados nestas regiões.

O presente trabalho registra a presença do ciliado *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 (Oligohymenophorea, Peniculida), encontrado durante a realização de um inventário dos protozoários ciliados, em um córrego urbano no Sudeste do Brasil e apresenta os aspectos morfológicos, ecológicos e da distribuição geográfica deste ciliado, publicados ao longo de seis décadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas 12 coletas, todas pela manhã, com intervalo de aproximadamente 30 dias, entre maio de 2005 e maio de 2006, em cinco estações amostrais ao longo do córrego

São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais. As estações amostrais 1 (UTM= 23K, 661317; 7590765) (E1) e 2 (UTM= 23K, 661799; 7591070) (E2) localizam-se em zona rural, próximas às nascentes. As estações amostrais 3 (UTM= 23K, 666477; 7591092) (E3), 4 (UTM= 23K, 668307; 7591772) (E4) e 5 (UTM= 23K, 668954; 7593495) (E5) localizam-se em uma região com ampla ocupação humana, onde pode ser observado o lançamento direto de esgoto doméstico. Foram aferidos os seguintes parâmetros físico-químicos da água, nas cinco estações amostrais: velocidade da água, temperatura da água, teor de oxigênio dissolvido (OD), pH, condutividade elétrica; e ainda um parâmetro biológico: clorofila a.

As amostras do sedimento foram obtidas com o auxílio de uma draga de Petersen (189 cm²), sendo coletadas três sub-amostras em cada ponto de coleta. As amostras coletadas foram colocadas em frascos plásticos, acondicionadas em recipientes de isopropileno e levadas ao laboratório de Microscopia da Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora. Alíquotas do sedimento foram separadas para a realização de culturas em placas de Petri, contendo grãos de arroz e água mineral da marca Petrópolis®. Os grãos de arroz servem como nutrientes para as bactérias, cuja proliferação estimula o crescimento de ciliados. Os espécimes de *N. gigas* foram triados das culturas com micropipetas e transferidos para câmaras úmidas segundo TUFFRAU (1959). Posteriormente, os ciliados foram observados *in vivo* sob microscópio óptico (campo claro e contraste de fase) a fim de se verificar detalhes tais como o contorno e a flexibilidade do corpo, granulações corticais presentes no ectoplasma, detalhes do vacúolo contrátil e dos tricocistos. Foi realizada a técnica de impregnação pela prata (protargol), segundo a proposta de DIECKMANN (1995). Para a realização da técnica de microscopia eletrônica de varredura, os ciliados foram fixados com uma mistura de 2 ml de glutaraldeído 10% + 1 ml de tetróxido de ósmio 2% + 1 ml de solução tamponada de cacodilato 0,2M, conforme proposto por SILVA-NETO (1994).

Os dados morfométricos foram obtidos a partir dos espécimes observados *in vivo* no aumento de 100X, com o auxílio de uma ocular micrométrica. Os desenhos dos ciliados *in vivo* e impregnados foram retirados de DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS (1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ASPECTOS MORFOLÓGICOS

Classificação atual segundo LYNN & SMALL, 2002

Classe Oligohymenophorea de Puytorac *et al.*, 1974

Sub-classe Peniculia Fauré-Fremiet *in* Corliss, 1956

Ordem Peniculida Fauré-Fremiet *in* Corliss, 1956

Sub-ordem Parameciina Jankowski *in* Small & Lynn, 1985

Família Neobursaridiidae Dragesco & Tuffrau, 1967

Gênero *Neobursaridium* Balech, 1941

Neobursaridium gigas Balech, 1941

Diagnose da Família Neobursaridiidae Dragesco & Tuffrau, 1967

Corpo truncado na região anterior e ligeiramente oval na região posterior; grande, geralmente medindo mais de 200 μm de comprimento; sulco pré-oral bastante expandido, peristômio com pseudo-membranelas transversais, especialmente na margem esquerda; presença de dois longos *peniculi* e um largo *quadrulus*; carnívoros; a família possui um único gênero (DRAGESCO & TUFFRAU, 1967).

Diagnose do Gênero *Neobursaridium* Balech, 1941

Classificado como Heterotrichia, os ciliados do gênero *Neobursaridium* são holotríquios Hymenostomatida, intermediários entre Stokesiidae e Parameciidae (DRAGESCO & TUFFRAU, 1967). É um ciliado muito peculiar pelo seu grande tamanho, forma larga e aplainada e invaginação central. Sob microscópio estereoscópio se assemelha a um paramécio gigante. O peristômio se assemelha muito àquele observado em ciliados do gênero *Bursaria*. O gênero está bem caracterizado por sua infraciliatura bucal constituída por dois grandes *peniculi* e um *quadrulus*, apresentando uma torção característica. Possui uma cavidade bucal relativamente complexa: peristômio, infundíbulo, cavidade digitiforme e citóstoma. *Neobursaridium* se caracteriza também pelos seus enormes canais coletores que circundam os vacúolos contráteis e pelos numerosos tricocistos ectoplasmáticos.

Caracterização morfológica de *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 (FIGS. 1-14)

A caracterização morfológica de *N. gigas* foi realizada a partir de espécimes processados pela técnica do Protargol e pela microscopia eletrônica de varredura e de acordo com as descrições fornecidas por BALECH (1941), NILSSON (1962), THURSTON (1964), DRAGESCO & TUFFRAU (1967), DRAGESCO (1968), NILSSON, (1969), DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS (1986) e KATTAR *et al.* (1986).

Diagnose: *Neobursaridium gigas* apresenta comprimento médio equivalente a 400 μm *in vivo*, corpo comprimido dorsoventralmente, com a superfície ventral côncava e a dorsal convexa,

sendo a região anterior truncada e a posterior arredondada. Apresenta coloração marrom escura quando observado sob microscópio estereoscópico. Esta espécie possui dois enormes vacúolos contráteis, um anterior e outro posterior, cercados por oito a 12 canais coletores longos e sinuosos. Apresenta cerca de 400 cinécias somáticas. O peristômio em forma de um V continua para o infundíbulo que se afunila e termina numa citofaringe estreita. Sobre a parede dorsal do infundíbulo, observam-se dois *peniculi* e um *quadrulus*. Os dois *peniculi* possuem quatro cinécias e o *quadrulus* é largo e possui cinetossomos dispostos de maneira desordenada. O aparelho nuclear consiste de um grande macronúcleo em forma de halter. Os micronúcleos são diminutos e seu número varia enormemente, de um par a 12 micronúcleos.

Sinonímia: não há, conforme literatura consultada.

Forma, coloração e dimensão: apresenta formato oval, ligeiramente plano e truncado na região apical; possui a superfície ventral côncava e a dorsal convexa. Pode ser confundido também com *Bursaria truncatella* devido ao seu enorme peristômio. Apresenta coloração marrom escura quando observado sob microscópio estereoscópico. Apresenta tamanho variável entre as diferentes populações estudadas: 342-550 x 190-380 μm , conforme BALECH (1941); 320-710 x 160-340 μm , segundo THURSTON (1964); 550 x 275 μm , conforme NILSSON (1962); 230-710 μm de comprimento (média = 400 μm), segundo DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS (1986); 560-700 x 320-400 μm , para uma população proveniente de Vespasiano, Minas Gerais por KATTAR *et al.* (1986); e 320-590 x 175-330 μm (n = 15) *in vivo* e 280-500 x 150-300 μm (n = 18) para os espécimes impregnados no presente trabalho.

Ciliatura somática: possui cerca de 400 cinécias meridionais, que apresentam a particularidade de alterar-se ventralmente nas margens do peristômio, o que dá a impressão de ser uma zona adoral de pseudo-membranelas constituída por 160 elementos, em média. A disposição dos cinetossomos (sempre duplos) da zona adoral de pseudo-membranelas (pseudo-ZAM) é a mesma que nas cinécias somáticas normais. Estas pseudo-membranelas lembram as policinécias de *Bursaria* e não possuem nenhuma semelhança com a verdadeira zona adoral de membranelas (ZAM). O bordo direito do peristômio apresenta estrutura idêntica à do bordo esquerdo, embora menos desenvolvido. A disposição dos cinetossomos é tripla, quando impregnada pela prata. Trata-se, no entanto, de dois cinetossomos e um saco parassomal. O argiroma possui um formato ligeiramente poligonal. Dorsalmente, observam-se os poros excretores, sendo dois ou três anteriores e dois ou três posteriores, com tamanho

médio variando entre cinco (presente trabalho) e sete (KATTAR *et al.*, 1986) micrômetros de diâmetro.

Ciliatura bucal: é do tipo *peniculum*. O peristômio em forma de um V continua para o infundíbulo que se estrangula para terminar numa citofaringe estreita. Sobre a parede dorsal do infundíbulo, observam-se dois *peniculi* e um *quadrulus*. O primeiro *peniculum* é constituído por quatro longas fileiras de cinetossomos. Este sofre uma torção (da direita para a esquerda e da região dorsal para a região ventral) e penetra na citofaringe. O segundo *peniculum* é paralelo ao primeiro, e possui sempre quatro cinécias, mas no momento da torção este perde duas de suas fileiras de cinetossomos e continua menos proeminente para a citofaringe. O *quadrulus* é largo e segue a curvatura e a torção dos *peniculi*, com os cinetossomos dispostos irregularmente. A cinécia paraoral, de difícil visualização, é constituída por um simples alinhamento de cinetossomos que limitam o *quadrulus*.

Organelas citoplasmáticas: possui numerosos tricocistos ectoplasmáticos, medindo em média 10 µm de comprimento. Algumas populações possuem zooclorelas (DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS, 1986), porém, no presente estudo, estas não foram observadas. Possui inclusões citoplasmáticas chamadas por DRAGESCO (1968) de “corpos marrons”, de natureza química desconhecida, que apresentam diâmetro variando entre cinco e 10 µm. Os corpos marrons foram observados na população registrada no presente estudo.

Vacúolos contráteis: constituem um dos principais caracteres diagnósticos deste ciliado. Possuem dois vacúolos contráteis, um localizado na região anterior e outro na região posterior, com oito a 12 canais coletores longos e sinuosos, similares ao dos ciliados do gênero *Frontonia*.

Aparelho nuclear: apresenta macronúcleo muito grande, medindo em média 200 µm (n=18) de comprimento na população do córrego São Pedro. O macronúcleo possui formato de halter. Os micronúcleos são diminutos e seu número varia enormemente entre as populações estudadas: Gabão (um par), República Centro-Africana (entre três e quatro), Uganda (até 12 micronúcleos). No presente estudo os micronúcleos não foram observados, devido às dificuldades na realização das técnicas de impregnação pela prata.

ASPECTOS ECOLÓGICOS

Ocorrência e auto-ecologia

No presente trabalho, durante um estudo anual (12 coletas de maio de 2005 a maio de 2006) da ciliatofauna, em cinco estações amostrais do córrego, *Neobursaridium gigas* foi encontrado somente na estação 3, nas coletas de outubro de 2005 (04/10/05) e abril de 2006 (04/04/06). As condições físicas, químicas e biológicas da água nestas duas coletas foram: velocidade da água = 0,12 e 0,16 m/s; temperatura da água = 20,1 e 22°C; teor de oxigênio dissolvido (OD) = 0 e 1,03 mg/l; pH = 6,63 e 6,80; condutividade elétrica = 86,9 e 122,1 μ S/cm; clorofila = 29,1 e 48,2 μ m/l, respectivamente. Na coleta de outubro de 2005, foi possível manter *N. gigas* em culturas axênicas por aproximadamente três semanas. Na coleta de abril de 2006 estes ciliados, mantidos em cultura, morreram ou se encistaram na primeira semana após a coleta. *N. gigas* foi observado em duas culturas provenientes de amostras da estação 3, dentre as outras 10 coletas realizadas, o que indica que este protista estava encistado no dia das coletas. Esta espécie foi encontrada em concomitância com *Caenomorpha* sp., *Euplotes eurystomus* Wrzesniowski, 1870, *Frontonia leucas* Ehrenberg, 1833, *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833, *Spirostomum minus* Roux, 1901, *Stylonychia pustulata* (Müller, 1786), *Urocentrum turbo* Müller, 1786 e *Vorticella campanulla* Ehrenberg, 1831, no dia das coletas, e com *Blepharisma sinuosum* Sawaya, 1940, *E. eurystomus*, *F. leucas*, *Gastrostyla setifera* (Engelmann, 1862), *Lembadium lucens* (Maskell, 1887), *P. caudatum* e *U. turbo*, nas culturas axênicas. Não foi registrada a presença de *N. gigas* nas culturas realizadas com amostras do sedimento provenientes das estações de coleta 1, 2, 4 e 5.

O ciliado *N. gigas* é encontrado em rios, córregos, pântanos e lagos, associados ao sedimento ou a macrófitas aquáticas (BALECH, 1941; THURSTON, 1964; DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS, 1986; KATTAR *et al.*, 1986). Este protista foi descoberto por BALECH (1941), em águas claras, com escassez de bactérias e baixa alcalinidade, provenientes de Buenos Aires e Santa Fé, na Argentina. Os ciliados foram coletados em locais com alta densidade de macrófitas aquáticas dos gêneros *Eichornia* e *Salvinia*, onde foram encontrados juntamente com euglenídeos e outros ciliados. THURSTON (1964) encontrou *N. gigas* em diversos lagos ao redor de Kampala (Uganda), associado a macrófitas dos gêneros *Azolla* e *Nymphaea*. Durante estudos em laboratório, este autor observou que *N. gigas* exhibe predileção alimentar por ciliados do gênero *Tetrahymena* e é predado por crustáceos do gênero *Cyclops*. Observou-se ainda o efeito da luz e da temperatura sobre a sobrevivência e reprodução de *N.*

gigas. Segundo o autor, os ciliados quando expostos à luz por 2 a 3 horas, morrem em baixas temperaturas, e a taxa de reprodução assexuada diminui. Conseqüentemente, desenvolvem-se ciliados de maior comprimento nas culturas. Segundo THURSTON (1964), não foram observados cistos nesta espécie. Durante um experimento realizado sob condições de laboratório, DRAGESCO (1968) constatou que a temperatura ótima para o desenvolvimento de *N. gigas* varia entre 24 e 26 °C. Este autor atribui duas possíveis causas ao relato deste ciliado em Santa Fé, em águas com temperaturas quase a 0 °C: (1) tratam-se de duas espécies distintas, (2) a população argentina possui comportamento térmico diferente da população africana, sendo esta última hipótese a mais provável. KATTAR *et al.* (1986) encontraram *N. gigas* nas margens da Lagoa dos Padres no município de Vespasiano, Minas Gerais, Brasil, com a temperatura variando entre 19 e 26 °C e pH entre 6,5 e 6,8. CHARUBHUM & CHARUBHUM (2000) registraram *N. gigas* associado às raízes de *Eichornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach, em lagoas e reservatórios de cinco regiões da Tailândia. NOLA *et al.* (2003) estudaram, sob condições de laboratório, a taxa de predação de *N. gigas* sobre duas espécies de bactérias, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* sp., em amostras provenientes do lago municipal de Yaoundé, nos Camarões.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Biogeografia de *Neobursaridium gigas*

A distribuição geográfica de *N. gigas*, até o presente momento, sabe-se que está restrita a países localizados ao sul do Trópico de Câncer: Argentina, Brasil, Sul da Índia, Tailândia e em sete países africanos: Camarões, Congo, Gabão, República Centro-Africana, República do Benin, Tchad e Uganda (BALECH, 1941; BEADLE & NILSSON, 1959; NILSSON, 1962; THURSTON, 1964; DRAGESCO & TUFFRAU, 1967; DRAGESCO, 1968; NILSSON, 1969; DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS, 1986; KATTAR *et al.*, 1986; CHARUBHUN & CHARUBHUN, 2000; NOLA *et al.*, 2003) (FIG. 15 e TAB. 1). Segundo FOISSNER (2006), *N. gigas* provavelmente não ocorre na Europa e América do Norte, pois, com seu grande tamanho, teria sido facilmente encontrado nestas regiões, que são as mais estudadas do planeta. Protozoários ciliados com tamanho, cor e morfologia conspícuos, tal como *N. gigas*, são denominados táxons (espécies, gêneros ou famílias) “flagship”, ou seja, são organismos “gigantes”, conspícuos e facilmente reconhecíveis dentro do mundo microscópico.

Tabela 1. Registros de ocorrência de *Neobursaridium gigas*.

Referência	Localização
Balech (1941)	Santa Fé e Buenos Aires, Argentina
Beadle & Nilsson (1959)	Uganda
Nilsson (1962)	Uganda
Thurston (1964)	Kampala, Uganda
Dragesco & Tuffrau (1967)	Uganda
Dragesco (1968)	República Centro-Africana, Gabão, Uganda e Sul da Índia
Nilsson (1969)	Uganda
Dragesco & Dragesco-Kernéis (1986)	Camarões, Congo, Gabão, República Centro-Africana, República do Benin, Tchad e Uganda
Kattar <i>et al.</i> (1986)	Vespasiano, Minas Gerais, Brasil
Charubhun & Charubhun (2000)	Tailândia
Nola <i>et al.</i> (2003)	Camarões
Presente trabalho	Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

Hipóteses atuais sobre a distribuição geográfica dos protistas ciliados

Atualmente, existem duas hipóteses sobre a distribuição global dos protistas ciliados. A primeira hipótese, defendida pelos ecólogos, sugere que as espécies de ciliados possuem ampla distribuição geográfica, e a segunda, adotada pelos taxonomistas, sugere que estes organismos possuem distribuição geográfica restrita. Existem divergências entre pesquisadores dessas duas áreas quanto ao número estimado de espécies de ciliados existentes no planeta. Segundo FOISSNER (1999) estes números são altamente especulativos, visto que somente uma pequena fração dos habitats mundiais foi explorada.

Desde a metáfora usada por Biejerinck em microbiologia de que “tudo está em todo lugar”, no início do século passado, a idéia de cosmopolitismo entre os seres microscópicos se tornou um paradigma da ecologia microbiana. Biejerinck sugeriu que a ausência de barreiras migratórias proporcionaria a ampla distribuição geográfica dos microorganismos no planeta (FENCHEL & FINLAY, 2004). Os ecólogos FINLAY *et al.* (1996), FINLAY (1998), FINLAY & FENCHEL (1999) e FENCHEL & FINLAY (2004) defendem a ampla distribuição geográfica dos protistas ciliados. Segundo estes autores, os ciliados, por serem abundantes, por se dispersarem facilmente além das barreiras geográficas e por viverem em habitats que se repetem pelo planeta, provavelmente apresentam-se distribuídos de forma homogênea no globo terrestre. Segundo FINLAY *et al.* (1996) e FINLAY & ESTEBAN (1998) somente 10% das espécies de ciliados conhecidas apresentam distribuição restrita. Porém, segundo FOISSNER (1999), a baixa percentagem de endemismos apresentada é reflexo do baixo número de espécies de ciliados conhecidas. Os ecólogos afirmam que o número estimado de espécies a serem descritas é relativamente pequeno, ou seja, que a maioria das espécies já está descrita.

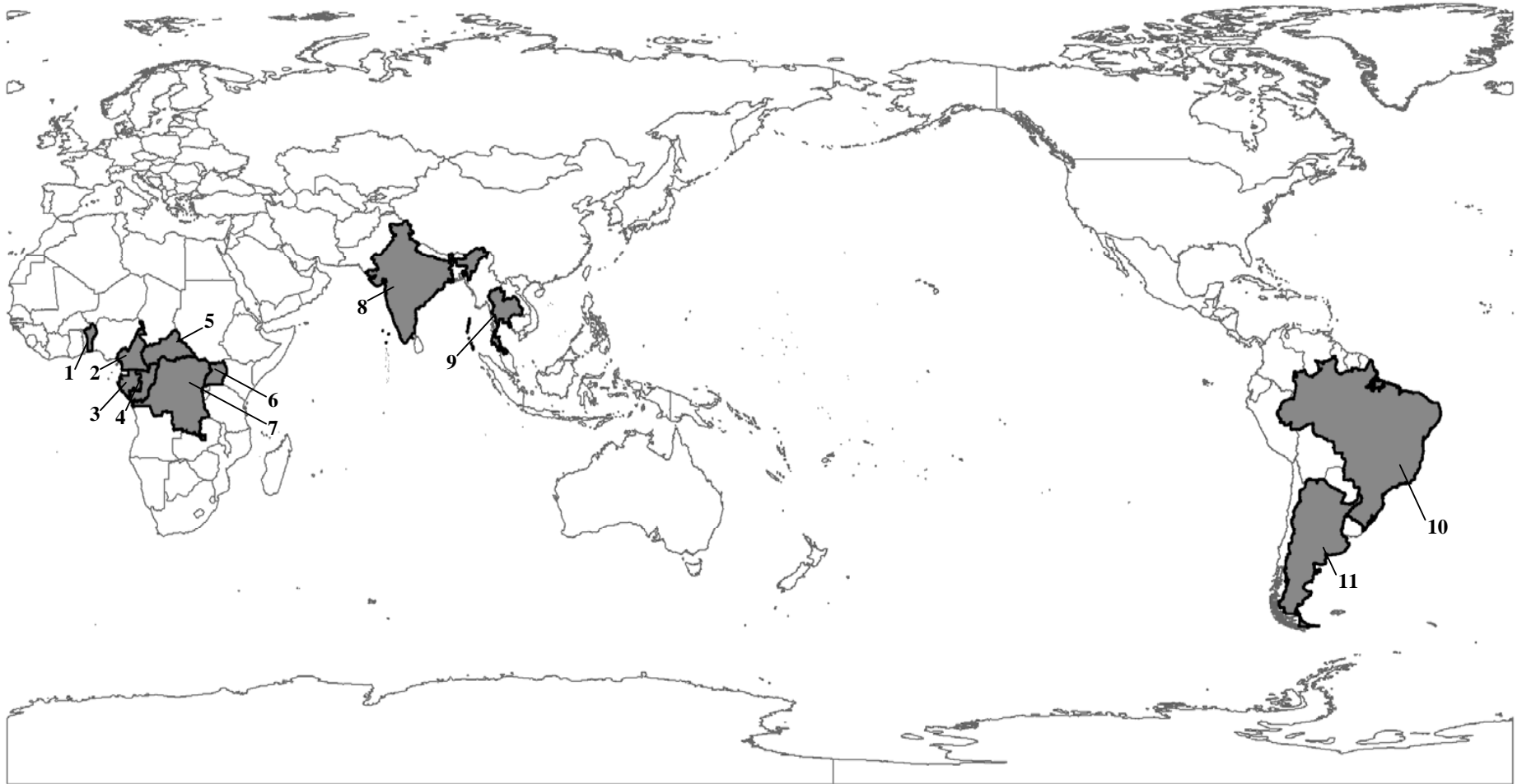


Figura 15. Distribuição geográfica de *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 no âmbito mundial. **Legenda:** 1. República do Benin, 2. Camarões, 3. Gabão, 4. Congo, 5. República Centro-Africana, 6. Uganda, 7. Zaire, 8. Índia, 9. Tailândia, 10. Brasil, 11. Argentina.

Acreditam que uma revisão taxonômica (sinonímias, uso de técnicas modernas e polimorfismos) poderia diminuir o número atual de espécies assim como inventários em locais inexplorados poderiam aumentar este número. Os ecólogos estimam o número aproximado de 3000 espécies ainda não descritas.

Um interessante exemplo de cosmopolitismo entre os protozoários ciliados é o trabalho realizado por ESTEBAN *et al.* (2000) em um lago na Tasmânia, Austrália. Estes autores registraram 85 espécies de ciliados neste lago e nenhuma das espécies encontradas era endêmica da Austrália, todas já haviam sido registradas na Europa.

Os taxonomistas dizem que as elevadas abundâncias dos ciliados não são necessariamente o principal fator que determina a distribuição global ou local destes protistas. Segundo eles, uma proporção dos protistas possui biogeografia, e, para alguns deles, sua atual distribuição restrita pode refletir sua extensão geográfica sobre a Gondwana ou Laurásia durante a grande separação da Pangéia no Mesozóico (FINLAY & FENCHEL, 1999).

FOISSNER (1999) acredita que existam em torno de 30.000 espécies de protistas ciliados a serem descobertas, segundo seus cálculos, usando um modelo matemático chamado de teoria baseada em aproximação estatística. Ele expõe evidências para o endemismo dos protistas ciliados. Segundo o autor esta estimativa é baseada em dois fatos: (1) ele descobriu em média, uma nova espécie em cada amostra analisada e (2) quase metade das 2000 espécies que ele encontrou em seus estudos eram novas. Somente em ambientes edáficos, Foissner descreveu 700 novas espécies de ciliados. FOISSNER (1999, 2006) relata ainda que a dificuldade de se reconhecer os ciliados, devido ao seu tamanho diminuto e por estes permanecerem encistados boa parte do seu ciclo de vida, juntamente com o declínio em qualidade e quantidade de alfa-taxonomistas, são fatores que fortalecem sua convicção de que ainda existam 30.000 espécies de ciliados a serem descritas.

Os métodos modernos usados em estudos morfológicos, tais como a microscopia eletrônica de varredura e de transmissão e as técnicas moleculares, dão suporte ao ponto de vista dos taxonomistas sobre a distribuição restrita ou local dos protistas ciliados (FOISSNER, 2006). Segundo FENCHEL & FINLAY (2004), a maioria dos registros de protistas ciliados deriva de estudos realizados na Europa e América do Norte, existindo proporcionalmente poucos estudos na América do Sul, África, Ásia e Oceania.

Existem diversos exemplos, segundo FOISSNER (1999), de espécies de protozoários ciliados com distribuição restrita ao hemisfério Sul, na América do Sul, na África e na Oceania, tal com *Neobursaridium gigas* Balech, 1941, *Frontonia vesiculosa* da Cunha, 1914, *Stentor araucanus* Foissner & Wölfl, 1994 e *Heterostentor coeruleus* Song & Wilbert, 2002. FOISSNER *et al.* (2002) descreveram, em um único artigo, 128 espécies novas de ciliados em

amostras de solo coletadas na Namíbia (Sudoeste da África), e relataram que grande parte das outras espécies encontradas era endêmica da África. Recentemente, FOISSNER (2003) e FOISSNER *et al.* (2003) exploraram um novo ambiente, tanques de bromélias, e encontraram tanto espécies com ampla distribuição geográfica como novos táxons, provavelmente com distribuição local. FOISSNER (1999) exemplifica o modelo de distribuição restritas dos ciliados em um artigo de revisão sobre este tema usando o interessante exemplo dos ciliados astomatídeos que vivem no sistema digestório de oligoquetas terrestres. Segundo ele, em 1954 eram conhecidas 65 espécies de Astomatida, provenientes de hospedeiros da Europa. Este número aumentou consideravelmente quando oligoquetas da Gondwana foram examinados, sendo descritas 23 novas espécies e 13 novos gêneros. Considerando que existem mais de 3000 espécies de oligoquetas, possíveis hospedeiros para os astomatídeos, no mundo, e que somente uma parcela mínima foi analisada, é razoável pensar que a grande maioria das espécies deste grupo de ciliados está por ser descoberta.

Segundo FINLAY & FENCHEL (1999), o futuro das discussões a respeito da distribuição e diversidade dos protistas ciliados passarão por três questões fundamentais: (1) O que é uma espécie?, (2) Quantas espécies existem? e (3) Há limites na distribuição geográficas dos ciliados, ou seja, estes organismos possuem biogeografia? Segundo FOISSNER (1999), a chave para se entender a biodiversidade e a distribuição geográfica dos ciliados é ampliar o esforço amostral nos diversos habitats mundiais.

A situação do conhecimento sobre a biogeografia de *Neobursaridium gigas*, baseado em dados obtidos ao longo de seis décadas, demonstra a necessidade de levantamentos extensivos da ciliatofauna, nos diferentes continentes. Só então será possível esclarecer se a distribuição geográfica desses organismos é realmente ampla e irrestrita, como postulam os ecólogos ou se o melhor conhecimento da diversidade de espécies, aliado ao uso de técnicas modernas de microscopia e biologia molecular, revelarão a ocorrência mais freqüente de endemismos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALECH, E. 1941. *Neobursaridium gigas* n. gen., sp. n. de ciliado Heterotricho. **Physis** **19**: 29-35.
- BEADLE. L.C. & J.R. NILSSON. 1959. The effect of anaerobic conditions on two heterotrich ciliate protozoa from papyrus swamps. **Journal of Experimental Biology** **36**: 583-589.

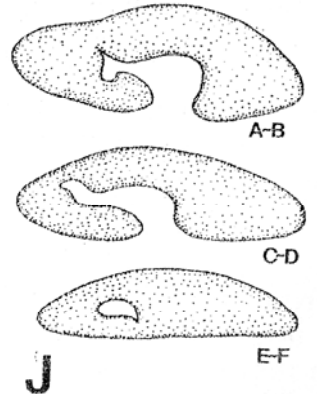
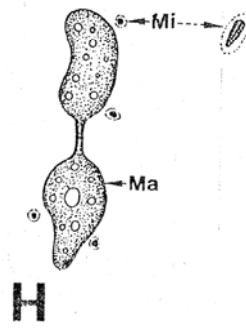
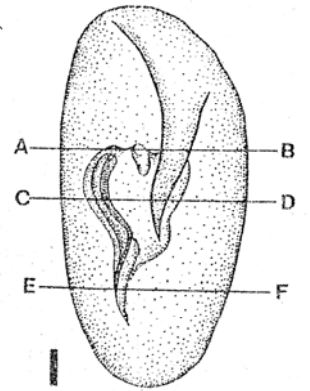
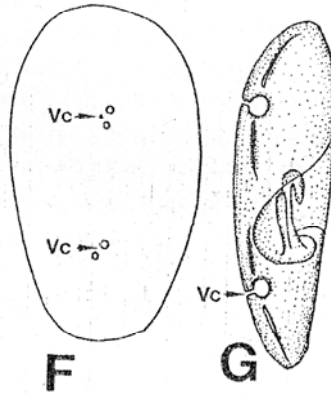
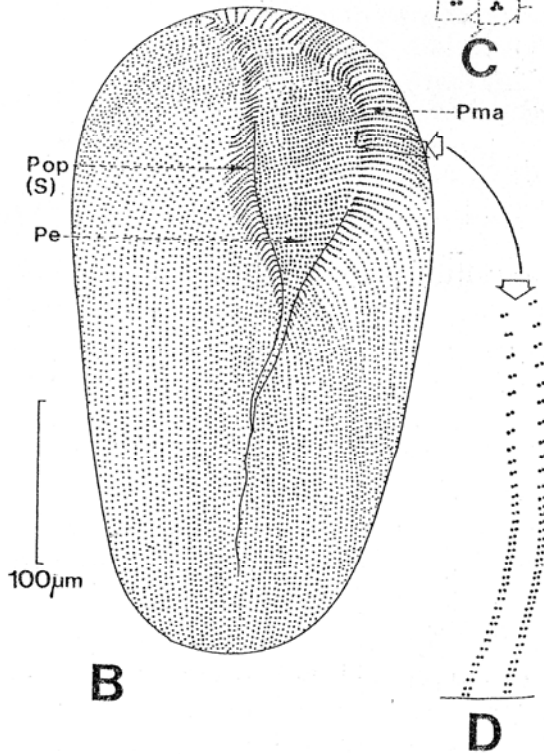
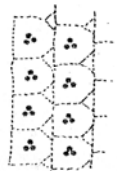
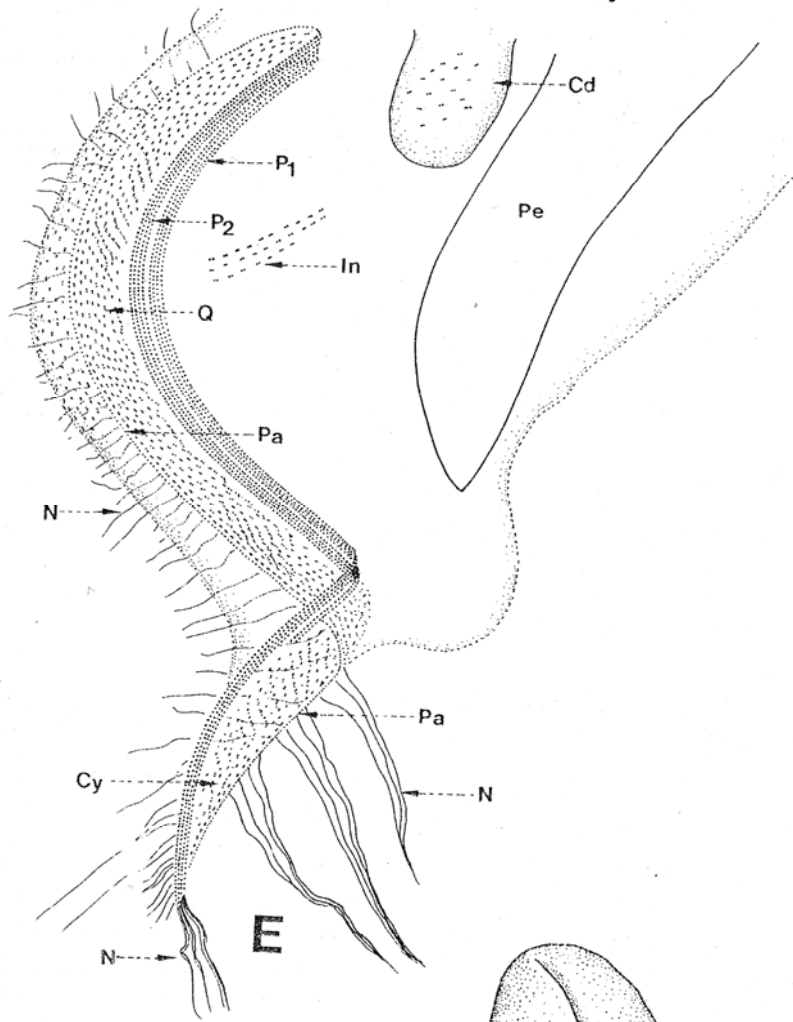
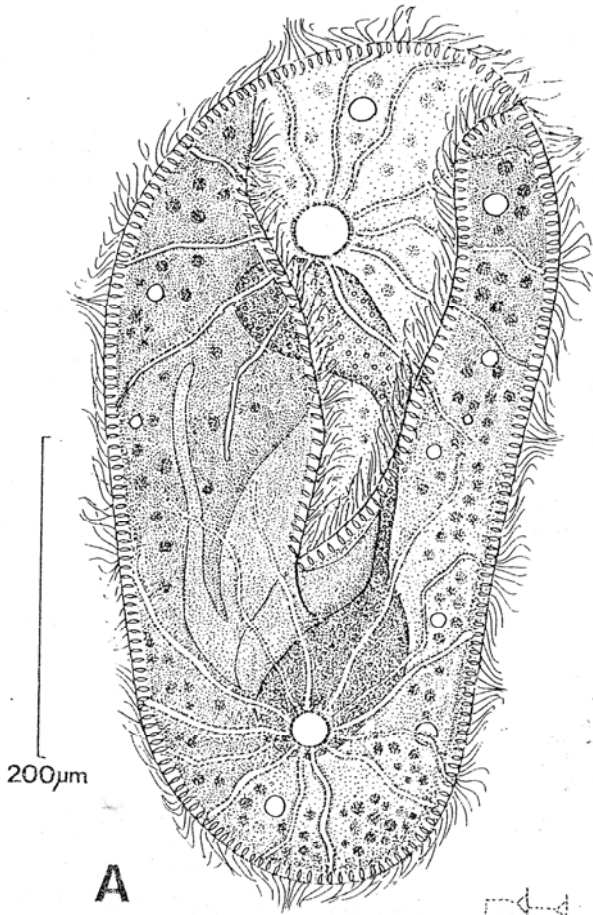
- CHARUBHUN, B. & N. CHARUBHUN. 2000. Biodiversity of Freshwater Protozoa in Thailand. **Kasetsart Journal (Natural Science) 34**: 486 – 494.
- DIECKMANN, J. 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. **European Journal of Protistology 31**: 372-382.
- DRAGESCO, J. 1966. Quelques ciliés libres du Gabon. **Extrait de la Revue Biologia Gabonica 2**: 91-117.
- DRAGESCO, J. 1968. A propos de *Neobursaridium gigas* Balech, 1941: sténothermie, inclusions, ultrastructure des trichocystes. **Protistologica 4**: 157-168.
- DRAGESCO, J. & A. DRAGESCO-KERNÉIS. 1986. Ciliés libres de l'Afrique intertropicale. **Faune Tropicale 26**: 1-559.
- DRAGESCO, J. & M. TUFFRAU. 1967. *Neobursaridium gigas* Balech, 1941, cilié holotriche hymenostome pan-tropical. **Protistologica 3**: 133-148.
- ESTEBAN, G.F.; B.J. FINLAY; J.L. OLMO & P.A. TYLER. 2000. Ciliated protozoa from a volcanic crater-lake in Victoria, Australia. **Journal of Natural History 34**: 159-189.
- FENCHEL, T. & B.J. FINLAY. 2004. The ubiquity of small species: patterns of local and global diversity. **BioScience 54** (8): 777-784.
- FINLAY, B.J. 1998. The global diversity of protozoa and other small species. **International Journal of Parasitology 28**: 29-48.
- FINLAY, B.J.; J.O. CORLISS; G. ESTEBAN & T. FENCHEL. 1996. Biodiversity at the microbial level: the number of free-living ciliates in the biosphere. **The Quarterly Review of Biology 71** (2): 221-237.
- FINLAY, B.J. & G.F. ESTEBAN. 1998. Freshwater protozoa: biodiversity and ecological function. **Biodiversity Conservation 7**: 1163-1186.

- FINLAY, B.J. & T. FENCHEL. 1999. Divergent perspectives on protist species richness. **Protist** **150**: 229-233.
- FOISSNER, W. 1999. Protist diversity: estimates of the near-imponderable. **Protist** **150**: 363-368.
- FOISSNER, W. 2003. Morphology and ontogenesis of *Lambornella trichoglossa* nov. spec., a new tetrahymenid ciliate (Protozoa, Ciliophora) from Brazilian tank bromeliads (Bromeliaceae). **European Journal of Protistology** **39**: 63-82.
- FOISSNER, W. 2006. Biogeography and dispersal of micro-organisms: a review emphasizing Protists. **Acta Protozoologica** **45**: 111-136.
- FOISSNER, W.; S. AGATHA & H. BERGER. 2002. Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (Southwest Africa), with emphasis on two contrasting environments, the Etosha Region and the Namib Desert. **Denisia** **5**: 1-1459.
- FOISSNER, W.; M. STRÜDER-KYPKE; G.W.M. STAAY; S.Y. STAAY; H.P.J. HACKSTEIN. 2003. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): a combined morphological, molecular, and ecological study. **European Journal of Protistology** **39**: 365-372.
- KATTAR, M.; I.D. NETO; V.F. VEIGA & M. R. SANTA-ROSA. 1986. Observações estruturais de *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 (Ciliado, Hymenostomatida), ao nível da microscopia ótica e microscopia eletrônica de varredura (SEM). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **81** suppl. I: 19.
- LYNN, D.H & E.B SMALL. 2002. An illustred Guide to the Protozoa, pp. 371-656. In: LEE, J.J; P.C. BRADBURY & G.F. LEEDALE (Eds.). **Phylum Ciliophora**. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas.
- NILSSON, J.R. 1962. Observations on *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 (Ciliata, Heterotrichida). **Journal of Protozoology** **9**: 273-276.

- NILSSON, J.R. 1969. The fine structure of *Neobursaridium gigas* (Balech). **Comp. Rend. Trav. Carlsberg** **37** (3): 49-76.
- NOLA, M.; T. NJINÉ; S.M. FOTO; N. KEMKA; S.H. ZÉBAZÉ; J.B.T. NGUEDJI & T.B. BOUETOU. 2003. Utilisation des protozoaires (*Paramecium africanum*, *Colpidium uncinatum*, *Neobursaridium gigas*) pour l'épuration bactériologique des eaux polluées en microcosme. **Tropicultura** **21** (2): 73-78.
- SILVA-NETO, I.D. 1994. Observations sur é ultrastructure du cilié heterotriche *Licnophora auerbachii* Cohn, 1866, epibionte de l'étoile de mer. **Annales des Sciences Naturelles - Zoologie et Biologie Animale** **2**: 49-62.
- TUFFRAU, M. 1959. Un dispositif simple pour l'observation durable *in vivo* des microorganismes. **Hydrobiologia** **18** (4): 316-318.
- THURSTON, J.P. 1964. The biology of *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 (Ciliata, Heterotrichida). **Journal of Protozoology** **11**: 307-309.

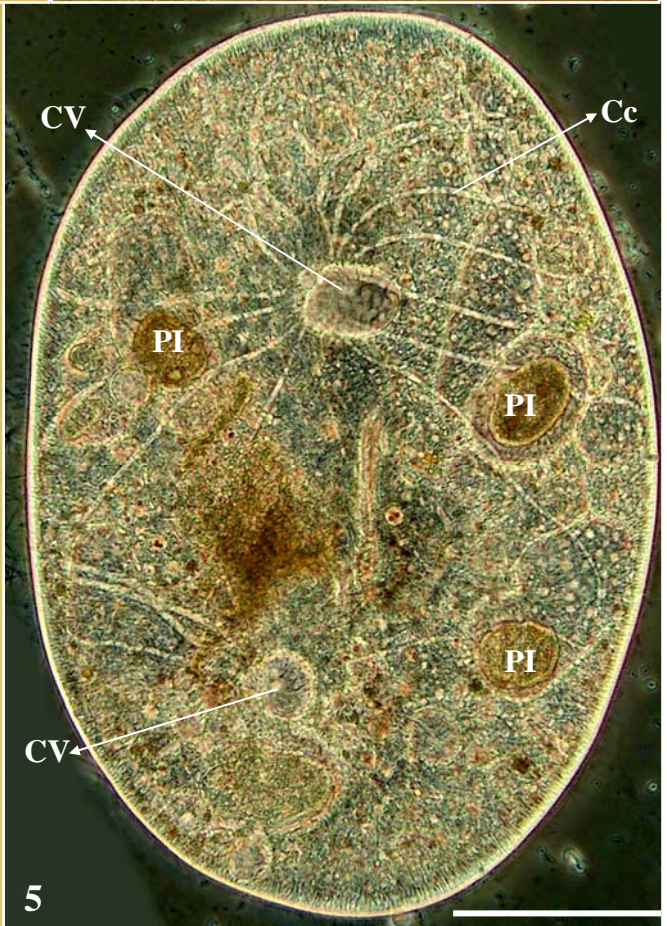
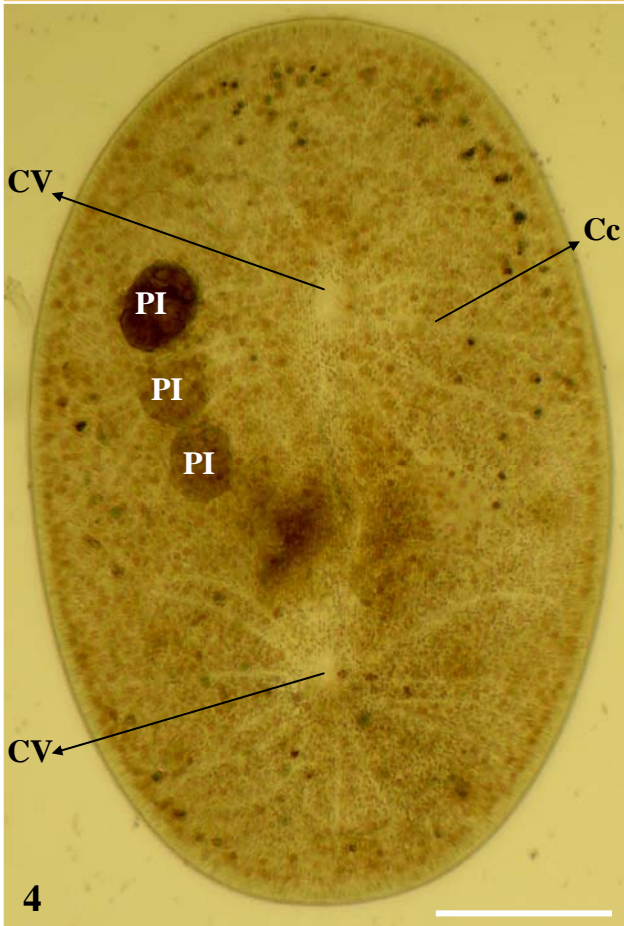
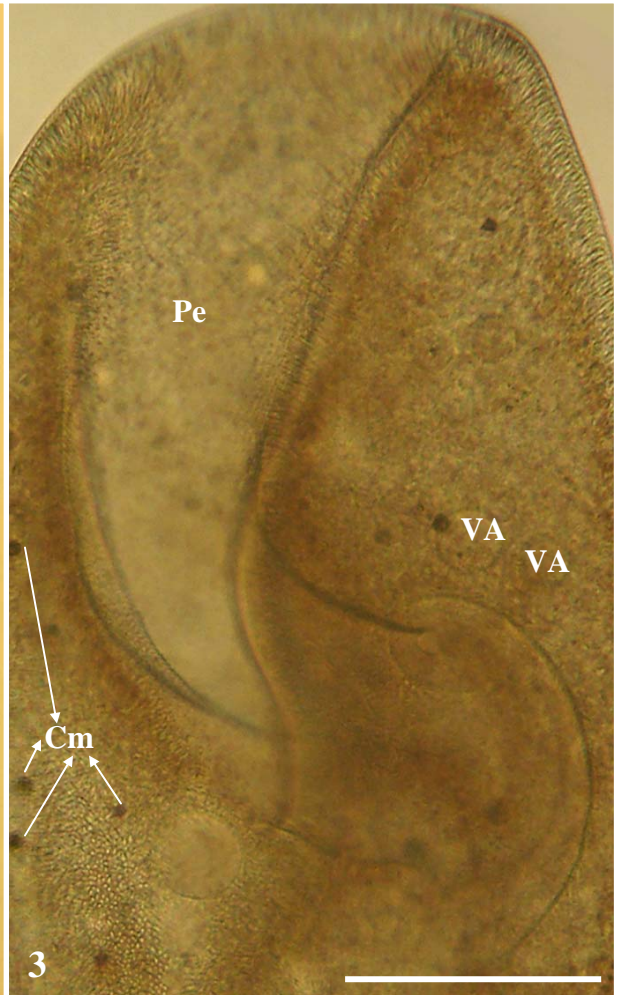
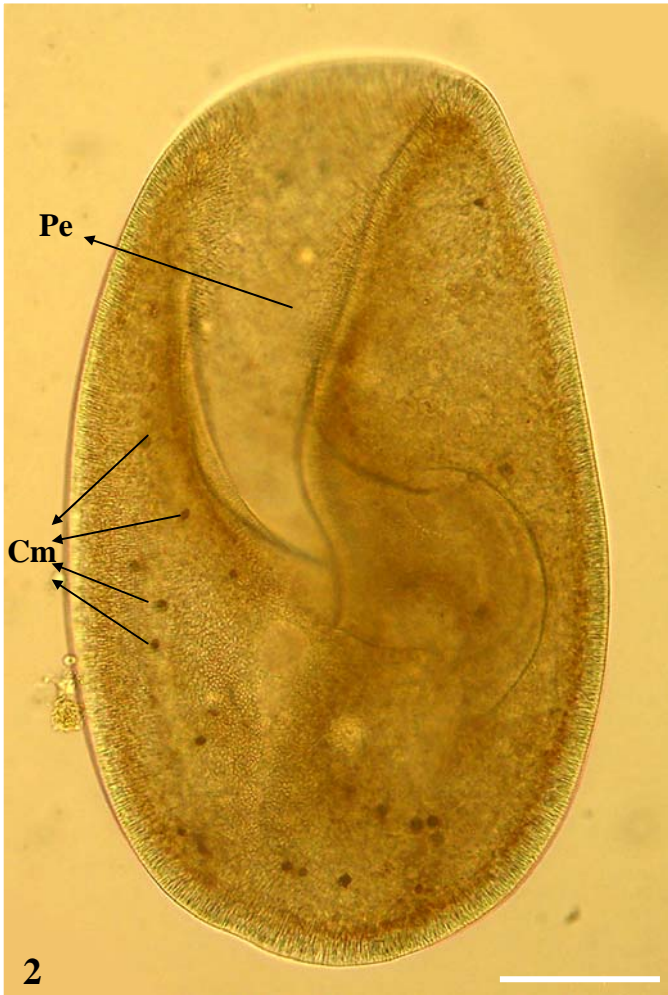
Prancha XIV

Figura 1A-J. Desenho esquemático de *Neobursaridium gigas* retirado de DRAGESCO & DRAGESCO-KERNÉIS (1986). **A.** Aspecto geral de *N. gigas* *in vivo*; **B.** Infraciliatura somática da região ventral de *N. gigas* após impregnação pela prata; **C.** Detalhe do argiroma de *N. gigas*; **D.** Cinetossomos da zona adoral de pseudo-membranelas; **E.** Esquema da infraciliatura bucal; **F e G.** Poros dos vacúolos contráteis de *N. gigas*; **H.** Aparelho nuclear de *N. gigas*; **I.** Vista ventral de *N. gigas* indicando três planos de corte (AB, CD e EF); **J.** Disposição das cavidades internas em *N. gigas* em três regiões corporais A-B, C-D e E-F. **Legendas:** Cd = cavidade digitiforme; Cy = citofaringe; In = infundíbulo; Ma = macronúcleo; Mi = micronúcleo ; N = nemadesma; P₁= penículo 1; P₂ = penículo 2; Pa = cinécia paraoral; Pe = peristômio; Pma = pseudo-membranelas; Pop = organelas pseudo-paraorais; Q = *quadrulus* ; Vc = vacúolo contrátil.



Prancha XV

Figuras 2-5. Fotomicrografias de *Neobursaridium gigas in vivo*. **2.** Região ventral, mostrando o grande peristômio e os corpos marrons; **3.** Região ventral, mostrando o peristômio em detalhe; **4.** Região dorsal, mostrando os vacúolos contráteis com seus longos canais coletores e presas ingeridas; **5.** Região dorsal fotografada em contraste de fase, mostrando os vacúolos contráteis com seus longos canais coletores e presas ingeridas. **Legendas:** Cc = canal coletor; Cm = corpos marrons; Pe = peristômio; PI = presa ingerida; Va = vacúolo alimentar; Vc = vacúolo contrátil. Barras = 80 μm .

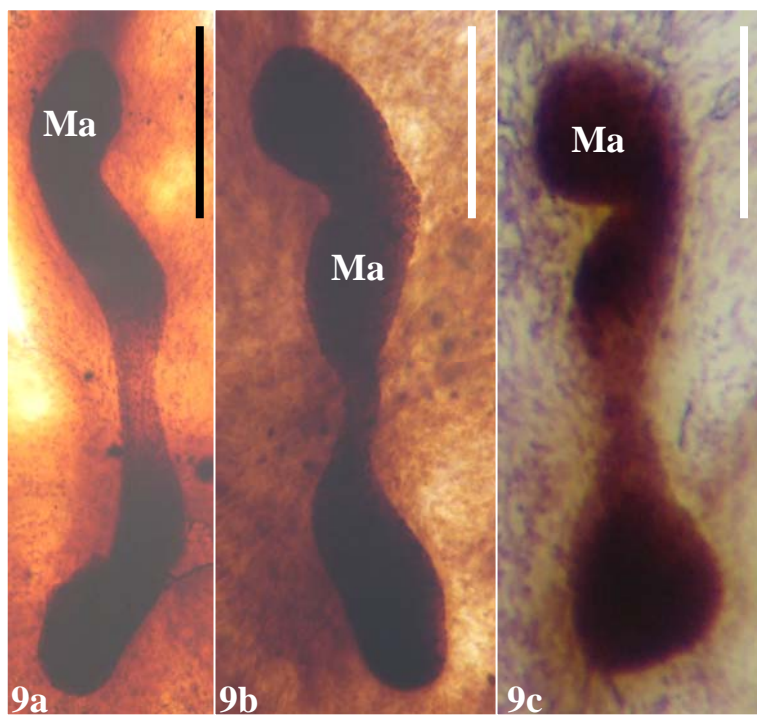
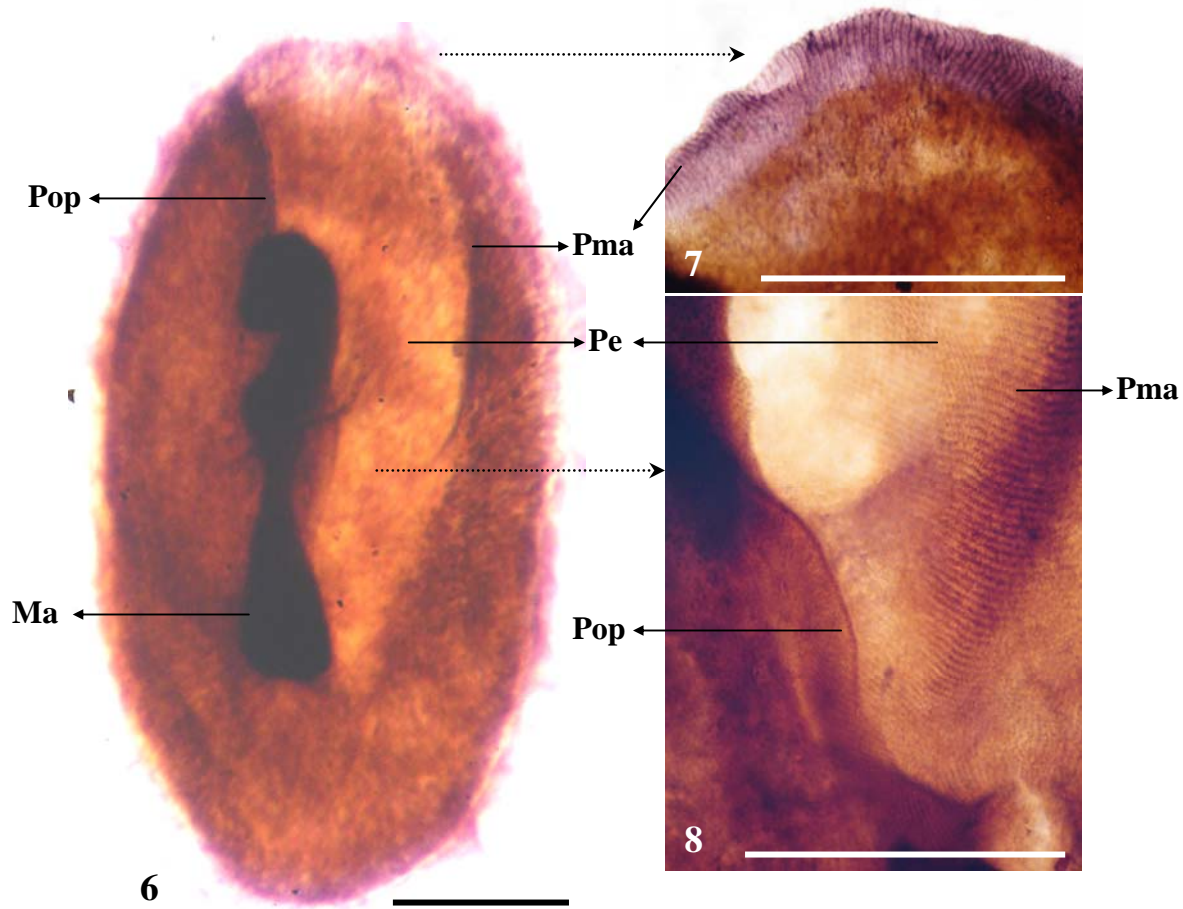


Prancha XVI

Figuras 6-10. Fotomicrografias de *Neobursaridium gigas* impregnado pelo protargol.

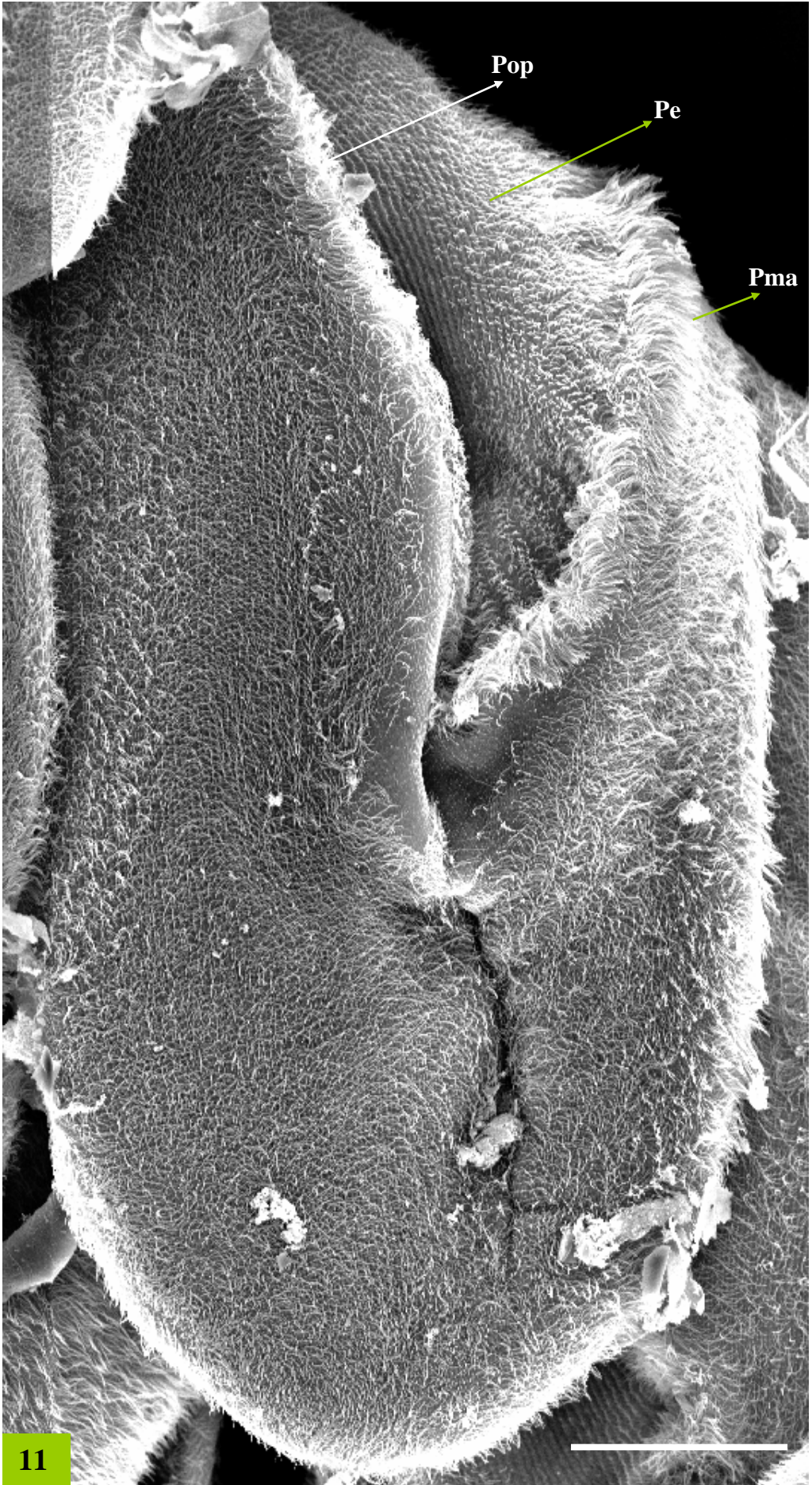
6. Espécime em vista ventral, mostrando o peristômio, a zona adoral de pseudo-membranelas, a zona das organelas pseudo-paraorais e o macronúcleo. **7.** Detalhe da zona adoral de pseudo-membranelas. **8.** Detalhe do peristômio, mostrando a zona adoral de pseudo-membranelas e a zona das organelas pseudo-paraorais. **9a-c.** Detalhe do macronúcleo de três espécimes impregnados pelo protargol. **10.** Espécime em vista ventral, mostrando os tricocistos.

Legendas: Ma = macronúcleo; Pe = peristômio; Pma = pseudo-membranelas; Pop = organelas pseudo-paraorais; T = tricocistos. Barras = 70 µm.



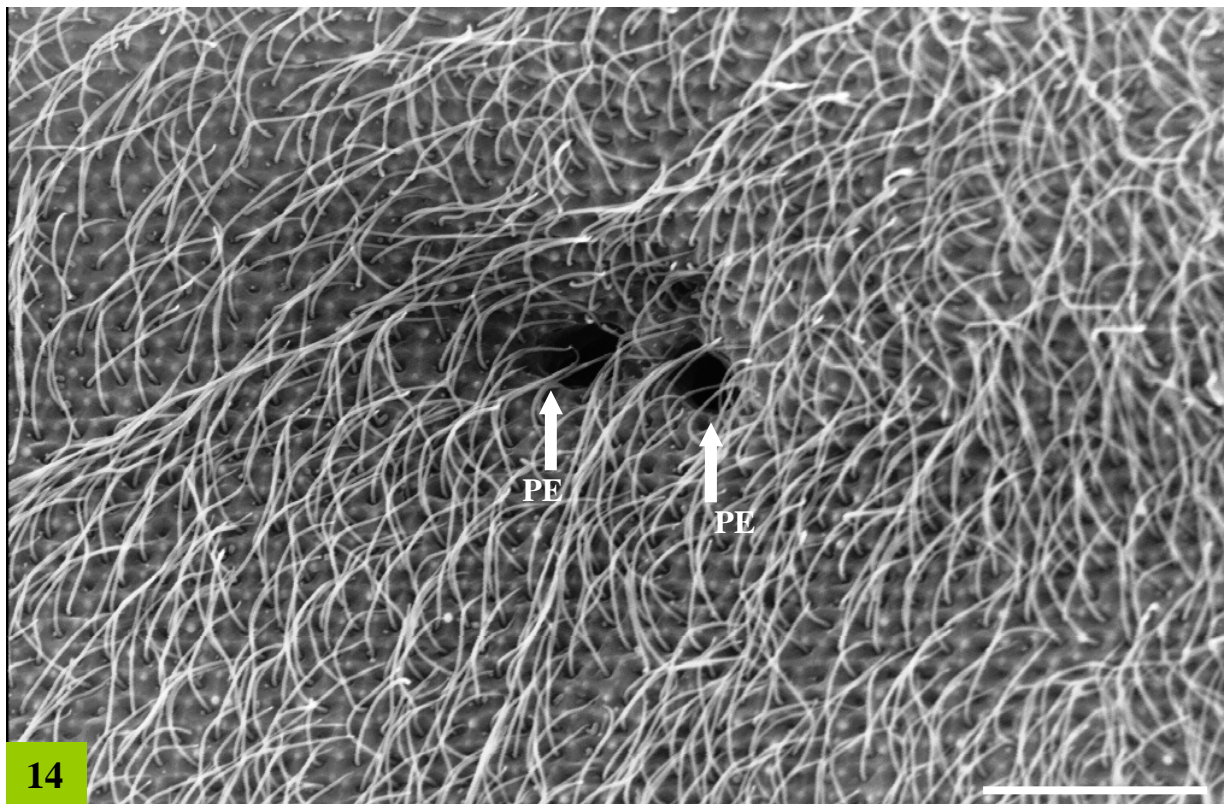
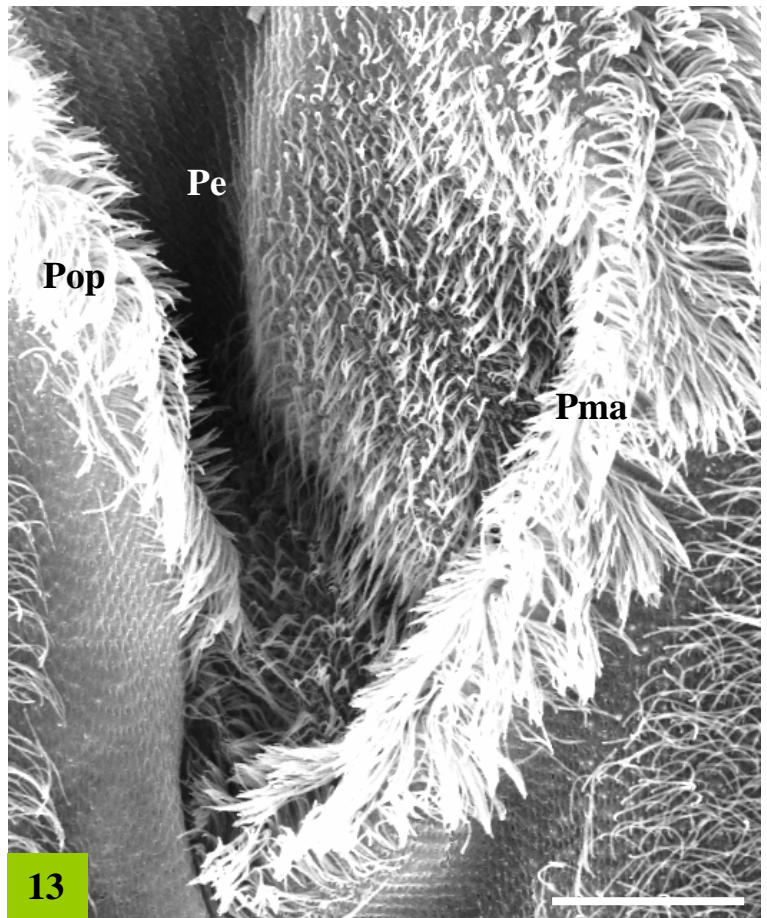
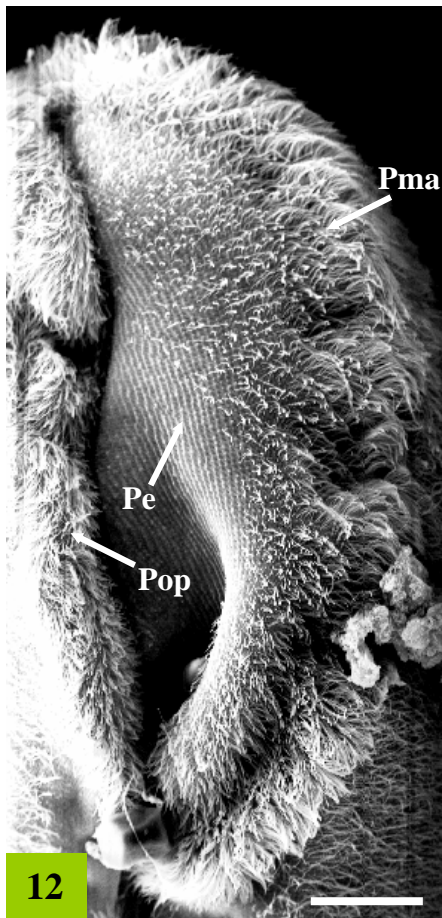
Prancha XVII

Figura 11. Eletromicrografia de varredura de *Neobursaridium gigas*. 11. Região ventral, mostrando a superfície do peristômio, a zona adoral de pseudo-membranelas e a zona das pseudo-organelas paraorais. **Legenda:** Pe = peristômio; Pma = pseudo-membranelas; Pop = organelas pseudo-paraorais; T = tricocistos. Barras = 70 μm .



Prancha XVIII

Figura 12-14. Eletromicrografias de varredura de *Neobursaridium gigas*. **12.** Detalhe da superfície do peristômio, mostrando a zona adoral de pseudo-membranelas e a zona das organelas pseudo-paraorais. **13.** Detalhe da região posterior do peristômio, mostrando a zona adoral de pseudo-membranelas e a zona das organelas pseudo-paraorais; **14.** Vista dorsal de *N. gigas*, mostrando em detalhe os poros excretores e as cinécias dorsais. **Legendas:** Pe = peristômio; PE = poro excretor; Pma = pseudo-membranelas; Pop = organelas pseudo-paraorais. Barras = 20 μm .



Capítulo IV

MUDANÇA ESPACIAL E TEMPORAL NA COMUNIDADE DE PROTISTAS CILIADOS (PROTISTA, CILIOPHORA) E AVALIAÇÃO SAPRÓBIA DA QUALIDADE DA ÁGUA AO LONGO DO CÓRREGO SÃO PEDRO (BACIA DO RIO PARAIBUNA), MUNICÍPIO DE JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da poluição orgânica sobre a composição e a distribuição da taxocenose de protistas ciliados ao longo do córrego São Pedro, bem como de avaliar a qualidade da água deste sistema lótico. Foram coletadas amostras do sedimento em cinco estações amostrais, que recebem diferentes níveis de lançamento de esgoto doméstico, ao longo do córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais. Durante o estudo de um ano nas cinco estações de coleta, foram encontradas 39 espécies de protistas ciliados, das quais 32 estão incluídas no sistema sapróbio e são consideradas bioindicadoras, sendo nove indicadoras de ambientes polissapróbios, dez de ambientes alfa-mesossapróbio, sete indicando ambientes que variam de alfa a beta-mesossapróbios, quatro indicadoras de ambientes beta-mesossapróbios e duas espécies eurissapróbias. A composição e a distribuição da taxocenose de protistas ciliados variaram espacial e temporalmente. O índice sapróbio e o índice de valência sapróbia foram utilizados para avaliar a qualidade da água das estações amostrais e demonstraram alto grau de poluição das estações 4 e 5. Os dados obtidos confirmam que, em águas correntes, a poluição orgânica parece ser um fator determinante, capaz de influenciar a composição, a distribuição e a estrutura trófica da taxocenose de protistas ciliados.

Palavras-chave: bioindicadores, poluição orgânica, protistas ciliados, qualidade da água, sistema lótico.

INTRODUÇÃO

Os estudos referentes ao efeito da poluição sobre ambientes dulciaquícolas têm sido baseados, tradicionalmente, na observação das características físicas e químicas da água (NORRIS & THOMS, 1999). Esses parâmetros, analisados isoladamente, não fornecem evidências suficientes para a avaliação da qualidade da água, sendo observada uma tendência atual de se analisar não só as mudanças nas características físico-químicas, mas também as respostas a essas mudanças por parte dos organismos que vivem nesses ambientes. Os dados

biológicos juntamente com as características físicas e químicas da água representam uma importante ferramenta para a avaliação da qualidade da água em córregos e rios e têm contribuído para o controle da emissão de poluentes orgânicos nos sistemas lóticos urbanos (SUEHIRO & TEZUCA, 1981; GROLIÈRE *et al.*, 1990; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; MADONI, 1993; FERNANDEZ-LEBORANS & NOVILLO, 1996; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI, 1999).

Dentro deste contexto, merece destaque um componente importante dos ecossistemas dulciaquícolas, os protozoários ciliados, pois os distúrbios causados pela poluição podem alterar profundamente a cadeia alimentar aquática e, conseqüentemente, a composição e distribuição da comunidade daqueles protozoários (CZAPIK, 1982; PRIMC, 1988; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999).

A utilização de protistas ciliados como bioindicadores apresenta vantagens em comparação à utilização de outros organismos. A grande sensibilidade desses protistas às mudanças do meio, aliada a um tempo de geração curto, os torna capazes de manifestar resposta à contaminação do ambiente de maneira muito mais rápida. Além disso, apresentam ampla distribuição geográfica, sendo componentes essenciais de quase todos os ambientes, podendo ser obtidos em quantidades estatisticamente aceitáveis e facilmente mantidos em laboratório (SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; PICCINNI & GUTIÉRREZ, 1995; FERNANDEZ-LEBORANS & NOVILLO, 1996).

A grande sensibilidade à variação dos fatores físico-químicos pode ser explicada pelo fato de muitos protozoários apresentarem exigências específicas em relação às características do meio, como a quantidade de matéria orgânica, temperatura, pH, condutividade elétrica e teor de oxigênio dissolvido (NOLAND, 1925; KUDO, 1966; SLEIGH, 1988). Dentre essas características, a quantidade de matéria orgânica e de oxigênio dissolvido presentes na água, quando caracteriza poluição orgânica, definem zonas de poluição às quais estão associadas espécies de protozoários indicadores (FOISSNER & BERGER, 1996). São essas zonas: polissapróbia (água extremamente poluída), alfa-mesossapróbia (água muito poluída); beta-mesossapróbia (água moderadamente poluída) e oligossapróbia (água não poluída ou levemente poluída) (STREBLE & KRAUTER, 1987; FOISSNER & BERGER, 1996).

Nos últimos anos vários estudos têm abordado a composição, a distribuição e a dinâmica das taxocenoses de protistas ciliados nos ecossistemas aquáticos bem como a eficiência desses organismos como indicadores da qualidade da água em diversos sistemas lóticos (MADONI & GHETTI, 1981; SUEHIRO & TEZUCA, 1981; WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; HUL, 1987; PRIMC, 1988; GROLIÈRE *et al.*, 1990; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991;

MADONI, 1993; FERNANDEZ-LEBORANS & NOVILLO, 1996; SOLA *et al.*, 1996; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI, 2005).

Os objetivos deste trabalho foram: (1) estudar a comunidade de protistas ciliados em estações amostrais localizadas na área rural e urbana ao longo do córrego São Pedro a fim de se determinar a influência da poluição orgânica sobre a composição, distribuição e estrutura trófica desta comunidade e (2) avaliar a qualidade da água do córrego São Pedro por meio do uso da taxocenose de protistas ciliados.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e estações de amostragem

A sub-bacia do córrego do São Pedro, localizada na região sudoeste da área urbana do município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, abriga a represa de São Pedro, que é responsável por 9% do abastecimento de água para a cidade. O córrego São Pedro apresenta uma extensão de 13.250 m (curso d'água) e 10.750 m (linha reta), cortando diversos bairros do município. Sua nascente está a 875m de altitude em relação ao nível do mar. A área urbana da sub-bacia representa 41,85% de sua área total (LATUF, 2004).

No presente estudo foram realizadas 12 coletas, todas pela manhã, com intervalo de aproximadamente 30 dias, de maio de 2005 a maio de 2006, em cinco estações amostrais ao longo do córrego São Pedro. As coletas realizadas ao longo do córrego permitiram a obtenção de amostras de protozoários ciliados em locais com diferentes níveis de lançamento de esgoto doméstico *in natura*. As estações amostrais 1 (UTM= 23K, 661317; 7590765) (E1) e 2 (UTM= 23K, 661799; 7591070) (E2) localizam-se em zona rural, próximas às nascentes. As estações amostrais 3 (UTM= 23K, 666477; 7591092) (E3), 4 (UTM= 23K, 668307; 7591772) (E4) e 5 (UTM= 23K, 668954; 7593495) (E5) localizam-se em uma região com ampla ocupação humana, onde pode ser observado lançamento direto de esgoto doméstico (ver FIGS. 1-8 do capítulo I).

As amostras de sedimento foram obtidas com o auxílio de uma draga de Petersen (189 cm²), sendo coletadas em triplicatas em cada ponto de coleta. O sedimento amostrado foi colocado em frascos plásticos e acondicionado em recipientes de isopropileno, a fim de se manter o máximo as condições físico-químicas, e levado ao Laboratório de Microscopia da Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Dados climatológicos

Os dados de pluviosidade média dos meses de coleta foram fornecidos pelo Laboratório de Climatologia e Análise Ambiental do Departamento de Geociências da Universidade Federal de Juiz de Fora e foram obtidos pela estação climatológica da prefeitura desta Universidade (localizada aproximadamente a 1 km da estação amostral 4). Os meses de seca e chuva foram estabelecidos segundo NIMER (1979).

Processamento das amostras e identificação dos ciliados

Das amostras conduzidas ao laboratório, três pequenas alíquotas referentes a cada réplica de cada estação de coleta, de aproximadamente 20 ml, foram colocadas em placas de Petri, para a observação da abundância relativa de protistas ciliados (PANTLE & BUCK, 1955 *apud* FOISSNER, 1992) ao microscópio estereoscópio com luz transmitida, no dia da coleta. Posteriormente, os ciliados foram triados destas placas com micropipetas, confeccionadas no laboratório, e transferidos para câmaras úmidas (TUFFRAU, 1959) para observação *in vivo*, até oito horas após a coleta, sob microscópio óptico (campo claro e de contraste de fase), a fim de se realizar as identificações preliminares. Com o restante das amostras, foram separadas alíquotas de 20 ml para a realização de culturas em três placas de Petri, acrescentando-se água mineral e grãos de arroz com casca macerados, que servem como fonte de carbono para as bactérias ali presentes, visando o aumento do número de espécimes de ciliados para a realização de técnicas usadas na identificação. Foram realizadas as seguintes técnicas de impregnação pela prata: protargol (DIECKMANN, 1995) e prata a seco (KLEIN, 1958; FOISSNER, 1991).

Análise dos dados

Para determinar o grau de similaridade entre as cinco estações amostrais, com base na comunidade de ciliados, foram realizadas análises de agrupamento, usando-se os seguintes coeficientes de similaridade binários (presença e ausência): índices de similaridade qualitativos de Jaccard e de Sorensen (MAGURRAN, 1988). Para a avaliação da similaridade entre os dados de frequência de ocorrência das espécies de ciliados entre as cinco estações amostrais, foi realizada análise de agrupamento, usado-se distância Euclidiana e o método UPGMA. Para avaliar a distribuição temporal dos ciliados nas 12 coletas foi realizada uma análise de agrupamento, usado-se distância Euclidiana e o método Ligação Simples. Para a realização das análises estatísticas foram utilizados os programas Bioestat 2.0, Multi-Variate Statistical Package 3.1 e Statistica 6.0. Os índices sapróbio e de valência sapróbia foram calculados segundo o protocolo proposto por FOISSNER (1992).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição e Distribuição da Comunidade de Ciliados

Durante o estudo de um ano em cinco estações amostrais, foram encontradas 39 espécies de protistas ciliados, que estão classificadas segundo LYNN & SMALL (2002) na tabela 1. Algumas espécies ocorreram em todas as cinco estações amostrais: *Euplotes aediculatus* Pierson, 1943, *Frontonia leucas* Ehrenberg, 1833, *Spirostomum minus* Roux, 1901 e *Urocentrum turbo* Müller, 1786. Outras espécies ocorreram especificamente em uma única estação, tal como *Vorticella* sp. na estação 1, *Lembadium bullinum* (Müller, 1786) na estação 2, *Neobursaridium gigas* Balech, 1941 e *Stentor polymorphus* (Müller, 1773) na estação 3, *Glaucoma frontata* Stokes, 1886, *Podophrya fixa* (Müller, 1786), *Stentor coeruleus* (Pallas, 1766), *Vorticella convallaria* Linneaus, 1758 na estação 4 e *Epistylis plicatilis* Ehrenberg, 1831 na estação 5. Foram registradas sete espécies na estação 1; 17, na estação 2; 26, na estação 3; 30, na estação 4 e 26, na estação 5. Das 39 espécies registradas, 21 ocorreram exclusivamente nas estações amostrais dentro da área urbana da sub-bacia do córrego São Pedro (E3, E4 e E5) (TAB. 1).

O menor número de espécies registradas para as estações 1 e 2 (sete e 17, respectivamente), em comparação com as estações 3, 4 e 5 (26, 30 e 26, respectivamente) (TAB. 1), pode estar relacionado tanto com a restrição de nutrientes nas estações localizadas na área rural (FOISSNER, 1997), quanto com a predileção dos protistas heterotróficos por ambientes enriquecidos organicamente (FOISSNER, 1992). Segundo FOISSNER (1997) a literatura sobre protistas ciliados localizados em sistemas lóticos oligotróficos (preservados) é escassa, e poucas espécies de ciliados são exclusivas de ambientes preservados têm sido relatadas. O maior número de espécies registradas nas estações de coleta localizadas na área urbana da sub-bacia do córrego São Pedro pode estar relacionado com as altas cargas de esgoto doméstico lançadas nestas estações, visto que os protistas heterotróficos, segundo FOISSNER (1992), possuem predileção por águas eutrofizadas.

Como representado nas figuras 1 e 2, observou-se alta similaridade entre as estações 4 e 5 (Jaccard = 75% e Sorensen = 85,71%), localizadas na área urbana. Os menores valores de similaridade foram obtidos entre a estação 1 e as estações 4 e 5. Valores intermediários foram obtidos entre as estações 2 e 3 (Jaccard = 61,53% e Sorensen = 76,19%) (TAB. 2). O dendograma da figura 3 representa a similaridade entre as estações de coleta com base na frequência de ocorrência das espécies de ciliados, ao longo de um ano de coleta.

Tabela 1. Protistas ciliados encontrados nas cinco estações do córrego São Pedro.

Espécies de protistas ciliados encontradas no córrego São Pedro	E1	E2	E3	E4	E5
Classe Karyorelictea Corliss, 1974					
Ordem Loxodida Jankowski <i>in</i> Small & Lynn, 1985					
<i>Loxodes rostrum</i> (Müller, 1773)		+	+		
<i>Loxodes striatus</i> (Engelmann, 1862)		+	+	+	+
Classe Heterotrichea Stein, 1859					
Ordem Heterotrichida Stein, 1859					
<i>Blepharisma sinuosum</i> Sawaya, 1940		+	+	+	
<i>Spirostomum ambiguum</i> (Müller, 1786)	+	+	+		
<i>Spirostomum minus</i> Roux, 1901	+	+	+	+	+
<i>Spirostomum teres</i> Claparède & Lachmann, 1858		+	+	+	+
<i>Stentor coeruleus</i> (Pallas, 1766)				+	
<i>Stentor polymorphus</i> (Müller, 1773)			+		
Classe Spirotrichea Bütschli, 1889					
Sub-classe Hypotrichia Stein, 1859					
Ordem Euplotida Small & Lynn, 1985					
<i>Euplotes aediculatus</i> Pierson, 1943	+	+	+	+	+
<i>Euplotes eurystomus</i> Wrzesniowski, 1870		+	+	+	+
<i>Euplotes</i> sp.		+	+		+
Sub-classe Stichotrichia Small & Lynn, 1985					
Ordem Stichotrichida Fauré-Fremiet, 1961					
<i>Gastrostyla setifera</i> (Engelmann 1862) Kent, 1882			+	+	+
Order Sporadotrichina Fauré-Fremiet, 1961					
<i>Apoamphisiella</i> sp. nov.			+	+	+
<i>Stylonychia pustulata</i> (Müller, 1786)			+	+	+
Classe Armophorea Jankowski, 1964					
Ordem Armophorida Jankowski, 1964					
<i>Caenomorpha</i> sp. 1		+	+	+	+
<i>Caenomorpha</i> sp. 2		+	+	+	+
<i>Metopus</i> sp.		+	+	+	+
Classe Phyllopharyngea de Puytorac <i>et al.</i> , 1974					
Sub-classe Phyllopharyngia de Puytorac <i>et al.</i> , 1974					
Ordem Chlamydodontida Deroux, 1976					
<i>Chilodonella uncinata</i> (Ehrenberg, 1838)				+	+
Class Prostomatea Schewiakoff, 1896					
Order Prostomatida Schewiakoff, 1896					
<i>Lagynus elegans</i> (Engelmann, 1862)				+	+
Sub-classe Suctoria Claparède & Lachmann, 1858					
Ordem Exogenida Collin, 1912					
<i>Podophrya fixa</i> (Müller, 1786)				+	
Ordem Endogenida Collin, 1912					
<i>Tokophrya lenarum</i> (Stein, 1859)				+	+
<i>Tokophrya quadripartita</i> (Claparède & Lachmann, 1859)				+	+
Classe Plagiopylea Small & Lynn, 1985					
Ordem Plagiopylida Small & Lynn, 1985					
<i>Plagiopyla nasuta</i> Stein, 1860			+	+	+

(Continuação...)

Classificação conforme LYNN & SMALL (2002). Legenda: E1 = estação 1; E2 = estação 2; E3 = estação 3; E4 = estação 4; E5 = estação 5; + = presença da espécie.

(Continuação...)

Espécies de protistas ciliados encontradas no córrego São Pedro	E1	E2	E3	E4	E5
Classe Oligohymenophorea de Puytorac <i>et al.</i> , 1974					
Sub-classe Peniculia Fauré-Fremiet <i>in</i> Corliss, 1956					
Ordem Peniculida Fauré-Fremiet <i>in</i> Corliss, 1956					
<i>Frontonia leucas</i> (Ehrenberg, 1833)	+	+	+	+	+
<i>Lembadium bullinum</i> (Müller, 1786)		+			
<i>Lembadium lucens</i> (Maskell, 1887)	+	+	+		
<i>Neobursaridium gigas</i> Balech, 1941			+		
<i>Paramecium caudatum</i> Ehrenberg, 1833			+	+	+
<i>Urocentrum turbo</i> (Müller, 1786)	+	+	+	+	+
Sub-classe Scuticociliatia Small, 1967					
Ordem Philasterida Small, 1967					
<i>Cinetochilum margaritaceum</i> (Ehrenberg, 1831)		+	+	+	+
Sub-classe Hymenostomatia Délage & Hérouard, 1896					
Ordem Hymenostomatida Délage & Hérouard, 1896					
<i>Colpidium</i> sp.			+	+	
<i>Glaucoma frontata</i> (Stokes, 1886)				+	
<i>Glaucoma scintillans</i> Ehrenberg, 1830				+	+
Sub-classe Peritrichia Stein, 1859					
Ordem Sessilida Kahl, 1933					
<i>Carchesium polypinum</i> (Linnaeus, 1758)			+	+	+
<i>Epistylis plicatilis</i> Ehrenberg, 1831					+
<i>Vorticella campanula</i> Ehrenberg, 1831			+	+	+
<i>Vorticella covallaria</i> Linnaeus, 1758				+	
<i>Vorticella microstoma</i> Ehrenberg, 1830				+	+
<i>Vorticella</i> sp.	+				

Classificação conforme LYNN & SMALL (2002). Legenda: E1= estação 1, E2= estação 2, E3= estação 3, E4 = estação 4, E5 = estação 5, + = presença da espécie.

Tabela 2. Índices de similaridade (%) de Jaccard e de Sorensen (fundo cinza) entre as estações amostrais aplicado à comunidade de proristas ciliados

Estações	E1	E2	E3	E4	E5
E1	-	33,33	22,22	12,9	14,81
E2	50	-	61,53	34,28	36,66
E3	36,36	76,19	-	55,55	58,62
E4	21,62	51,06	71,42	-	75
E5	25,8	53,65	73,91	85,71	-

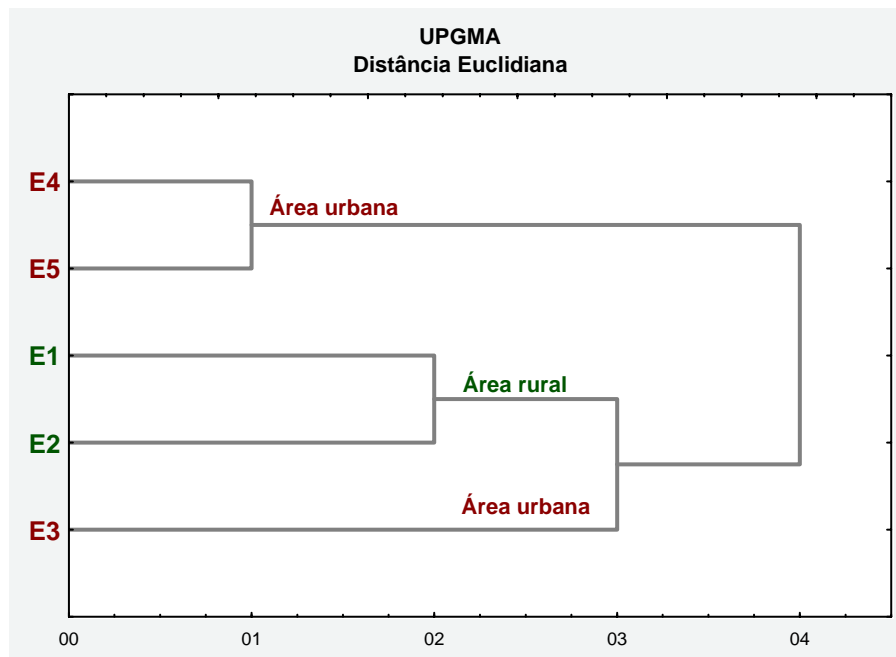


Figura 3. Dendrograma de similaridade entre as estações de coleta com base na frequência de ocorrência das espécies de protistas ciliados.

As estações 1-2 e 4-5 ficaram agrupadas e a estação 3 apresentou-se em posição intermediária, porém mais próxima das estações da região rural. Os dendogramas referentes à distribuição espacial dos ciliados, nas cinco estações de coleta, são um reflexo do grau de poluição orgânica ao longo do córrego.

A distribuição temporal dos ciliados ao longo de um estudo no córrego São Pedro está representada no dendrograma da figura 4. Observou-se o agrupamento das quatro coletas com maior pluviosidade. No presente trabalho, as quatro coletas com as maiores pluviosidades médias apresentaram o menor número de espécies, o que explica o agrupamento destas coletas demonstrado na figura 4. O regime pluvial, principalmente em sistemas lóticos, é um importante fator que altera a composição e diminui a abundância das populações de protistas ciliados como demonstrado em diversos estudos (SUEHIRO & TEZUKA, 1981; GRACIA *et al.*, 1989; HUL, 1987; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1996; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1998).

Sistema sapróbio e estrutura trófica

O sistema sapróbio de avaliação da qualidade da água, e mais especificamente da poluição orgânica, desenvolvido por KOLKWITZ & MARSSON (1908, 1909), é amplamente utilizado na classificação biológica de águas correntes. A lista original de espécies indicadoras foi revisada e ampliada por diversos cientistas (SLADEČEK, 1973; SLADEČEK *et al.*, 1981; FOISSNER, 1988, FOISSNER *et al.*, 1995), que adicionaram dados sobre a qualidade da água e

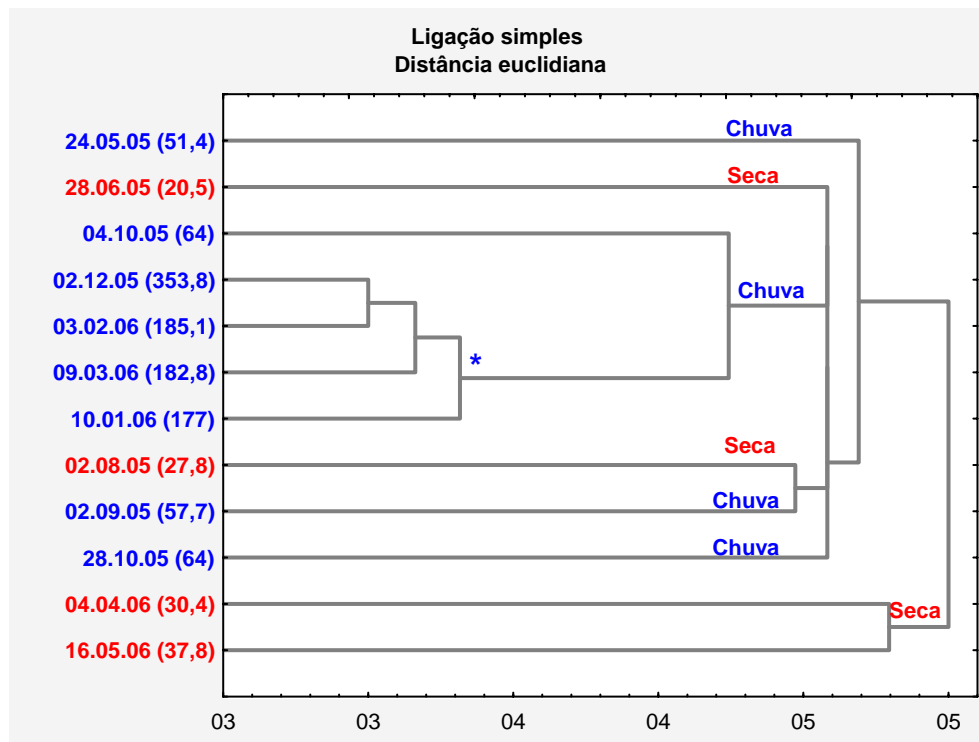


Figura 4. Dendrograma de similaridade entre as datas das coletas com base na frequência de ocorrência das espécies de ciliados em cada coleta e a pluviosidade (entre parêntesis) classificada em seca e chuva, segundo NIMER (1979).

revisaram erros taxonômicos e nomenclaturais (PAIVA & SILVA-NETO, 2004). Dentre as 39 espécies de ciliados encontradas no córrego São Pedro, 32 estão incluídas no sistema sapróbio e são consideradas bioindicadoras, sendo nove indicadoras de ambientes polissapróbios, dez de ambientes alfa-mesossapróbio, sete indicando ambientes que variam de alfa a beta-mesossapróbios, quatro indicadoras de ambientes beta-mesossapróbios e duas espécies eurissapróbias (*Cinetochilum margaritaceum* e *F. leucas*), ou seja, que vivem em ambientes com diferentes níveis sapróbios (TAB. 3).

Das nove espécies indicadoras de ambientes polissapróbios, *Colpidium* sp., *Glaucoma scintillans* Ehrenberg, 1830, *Lagynus elegans* (Englemann, 1862), *Plagiopyla nasuta* Stein, 1860 e *Vorticella microstoma* Ehrenberg, 1830 foram registradas somente nas estações amostrais da área urbana do córrego São Pedro (E3, E4 e E5). Nenhuma delas foi registrada na estação amostral próxima à nascente (E1) (TAB. 3). As espécies *Caenomorpha* sp. 1, *Caenomorpha* sp. 2, *Metopus* sp. e *S. teres*, mesmo tendo sido registradas na estação 2, foram mais frequentes nas estações 3, 4 e 5, dentro da área urbana da sub-bacia do córrego São Pedro (TAB. 3). As espécies indicadoras de ambientes polissapróbios registradas no presente trabalho têm sido registradas por diversos autores em lagos eutróficos (FINLAY, 1981, 1982; LAYBOURN-PARRY *et al.*, 1990), em estações de tratamento de esgoto (SALVADÓ *et al.*, 1995)

Tabela 3. Frequência de ocorrência dos protistas ciliados encontrados nas estações amostrais 1(E1), 2(E2), 3(E3), 4(E4) e 5(E5), nível sapróbio (s) e hábito alimentar (ha).

Espécies encontradas no córrego São Pedro	Estações amostrais†						
	s*	ha*	E1	E2	E3	E4	E5
<i>Caenomorpha</i> sp. 1	p-i	Ba, Sb	-	2	5	6	4
<i>Caenomorpha</i> sp. 2	p-i	Ba, Sb	-	1	2	1	2
<i>Colpidium</i> sp.	p	Ba	-	-	1	2	-
<i>Glaucoma scintillans</i>	p-i	Ba	-	-	-	2	2
<i>Lagynus elegans</i>	p-i	O	-	-	-	1	1
<i>Metopus</i> sp.	p-i	Ba, Fl, Al	-	1	1	4	3
<i>Plagiopyla nasuta</i>	p-i	Ba, Sb, Al, Ki	-	-	2	2	1
<i>Spirostomum teres</i>	p	Ba, Sb, Fl, Al	-	2	5	4	6
<i>Vorticella microstoma</i>	p-a	Ba, Al	-	-	-	6	3
<i>Carchesium polypinum</i>	a	Ba	-	-	1	4	5
<i>Chilodonella uncinata</i>	a	Ba	-	-	-	1	1
<i>Euplotes aediculatus</i>	a	O	1	3	5	2	2
<i>Euplotes eurystomus</i>	a	O	-	2	7	4	5
<i>Loxodes striatus</i>	a	AL, Ki, Cy	-	3	5	2	4
<i>Paramecium caudatum</i>	a	Ba, Al	-	-	3	11	11
<i>Podophrya fixa</i>	a	R	-	-	-	2	-
<i>Spirostomum ambiguum</i>	a	Ba, Fl, Al	2	3	1	-	-
<i>Tokophrya lenarum</i>	a	R	-	-	-	1	1
<i>Vorticella covallaria</i>	a	Ba	-	-	-	2	-
<i>Epistylis plicatilis</i>	a-b	Ba	-	-	-	-	2
<i>Loxodes rostrum</i>	a-b	O	-	2	3	-	-
<i>Spirostomum minus</i>	a-b	Ba	1	3	5	3	3
<i>Stentor coeruleus</i>	a-b	O	-	-	-	3	-
<i>Tokophrya quadripartita</i>	a-b	R	-	-	-	1	1
<i>Stentor polymorphus</i>	b-a	O	-	-	1	-	-
<i>Vorticella campanula</i>	b-a	Ba, Al	-	-	2	5	5
<i>Lembadium bullinum</i>	b	O	-	1	-	-	-
<i>Lembadium lucens</i>	b	O	1	1	2	-	-
<i>Stylonychia pustulata</i>	b	O	-	-	2	1	3
<i>Urocentrum turbo</i>	b	Ba, Ki	2	7	9	6	7
<i>Cinetochilum margaritaceum</i>	b-p	Ba, Al	-	1	1	1	2
<i>Frontonia leucas</i>	o-p	O	5	7	9	3	3
<i>Apoamphisiella</i> sp. nov.	-	-	-	-	2	2	2
<i>Blepharisma sinuosum</i>	-	Ba, Al†	-	1	2	3	-
<i>Euplotes minuta</i>	-	-	-	2	1	-	2
<i>Gastrostyla setifera</i>	-	Ba, Ki†	-	-	2	1	1
<i>Glaucoma frontata</i>	-	Ba	-	-	-	1	-
<i>Neobursaridium gigas</i>	-	R†	-	-	2	-	-
<i>Vorticella</i> sp.	-	-	1	-	-	-	-

*Dados retirados de FOISSNER (1992). Legenda: a = alfa-mesossapróbio, b = beta-mesossapróbio, I = peso indicativo da espécie, há = hábito alimentar s = grau sapróbio, o = oligossapróbio, p = polissapróbio, Al = algas, Ba = bactérias, Cy = cianobactérias, Fl = flagelados heterotróficos, Ki = diatomáceas, O = onívoros, R = predadores, Sb = bactérias sulfurosas, SI = índice sapróbio, x = xenosaprobidade, n = número estimado de cada espécie (1 = pouco abundante, 3 = muito abundante e 5 = extremamente abundante), E1 = estação 1, E2 = estação 2, E3 = estação 3, E4 = estação 4, E5 = estação 5, † = dados do presente estudo.

e em rios e córregos poluídos (MADONI & GHETTI, 1981; SUEHIRO & TEZUCA, 1981; WIACKOWSKI, 1981 CZAPIK, 1982; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI, 1999, MADONI, 2005). Em seu guia de protozoários de ambientes dulciaqüícolas, PATTERSON (1996) classificou as espécies dos gêneros *Metopus*, *Caenomorpha*, *Plagiopyla*, *Spirostomum* como ciliados bentônicos indicadores de ambientes anóxicos. FOISSNER & BERGER (1996) incluíram *Caenomorpha* spp., *Metopus* spp., *P. nasuta*, *Loxodes* spp. e *L. elegans* em uma comunidade denominada “Metopetum”, composta principalmente por organismos estritamente anaeróbios, que não possuem mitocôndria e apresentam bactérias sulfurosas como simbiontes, sendo indicadores “infalíveis” (CZAPIK, 1982) da presença de hidrogênio sulfureado na água. As bactérias sulfurosas ocorrem principalmente na superfície do sedimento onde as condições redutoras são mais favoráveis e apresentam densidades elevadas em ambientes fortemente poluídos (ESTEVES, 1988).

Os ciliados peritríquios, associados a organismos aquáticos (LAIRD, 1959; ANTIPA, 1977; HENEERY & RIDEWAY, 1979) ou presentes nos diversos sistemas lóticos (TAYLOR, 1983; KUSUOKA & WATANABE, 1987; STÖESSEL, 1987) têm sido considerados bons indicadores de poluição orgânica. Das seis espécies de peritríquios registradas no presente trabalho, cinco ocorreram somente nas estações amostrais inseridas na área urbana (TAB. 3). A espécie *Vorticella* sp., relatada somente na estação 1, provavelmente é uma espécie indicadora de ambientes preservados. A maior frequência das espécies *Carchesium polypinum* (Linneaus, 1758) e *V. microstoma* nas estações 4 e 5 e a ocorrência de *V. convallaria* somente na estação 4 e *E. plicatilis* apenas na estação 5 indicam um maior grau de poluição nestas estações (E4 e E5). Segundo KUSUOKA & WATANABE (1987), córregos urbanos que recebem esgoto doméstico podem ser considerados o hábitat ideal para os ciliados peritríquios *C. polypinum* e *V. microstoma*. TAYLOR (1983) relata que os peritríquios possuem altas taxas de crescimento em sistemas lóticos eutrofizados. Segundo STÖESSEL (1987), os protistas peritríquios, além de se beneficiarem da poluição orgânica de rios e córregos urbanos, por serem em sua maioria organismos bacterívoros, são menos suscetíveis que outros grupos de ciliados à grande variação da vazão nestes sistemas devido ao seu modo de vida sésil.

A disponibilidade de alimento é um importante fator biótico que controla a distribuição das populações de protozoários ciliados nos variados ecossistemas (NOLAND, 1925; SLEIGH, 1988). A entrada de esgoto doméstico em um sistema fluvial favorece o crescimento das comunidades bacterianas que sustentam numerosas populações de ciliados bacterívoros (MADONI, 2005). Dentre as oito espécies de ciliados exclusivamente bacterívoras registradas no presente trabalho, sete foram registradas exclusivamente nas estações localizadas na área urbana (TAB. 3). As espécies *Caenomorpha* sp.1, *Caenomorpha* sp. 2, *P.*

nasuta e *Spirostomum teres* Claparède & Lachmann, 1858 que se alimentam de bactérias sulfurosas (características de ambientes anóxicos) foram mais frequentes nas estações de coleta localizadas na área urbana (TAB. 3). A ocorrência e a maior frequência das espécies exclusivamente bacterívoras e das que se alimentam de bactérias sulfurosas nas estações 3, 4 e 5, refletem a alta carga de emissão de poluentes orgânicos nesta região, em função da elevada ocupação humana. Dentre as sete espécies registradas para a estação amostral 1, seis se alimentam de algas.

Algumas espécies de protozoários ciliados, por apresentarem poucas exigências em relação às condições físicas e químicas da água e por se alimentarem de uma ampla gama de organismos, tais como *C. margaritaceum*, *F. leucas* e *U. turbo*, podem ser encontradas em estações de coleta com diferentes graus sapróbios, tal como no presente estudo. Estas têm sido registradas ao longo de rios com diferentes níveis sapróbios (WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK 1982, MADONI & GHETTI, 1981; SPARAGANO & GROLIÈRE 1991, SOLA *et al.* 1996, MADONI & BASSANINI 1999, MADONI, 2005), o que mostra a ampla valência ecológica característica destas espécies.

Diversos estudos têm evidenciado o efeito da poluição sobre a estrutura trófica da comunidade de protozoários ciliados em águas correntes (WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; HUL, 1987; PRIMC, 1988; FERNADEZ-LEBORANS & NOVILO, 1996; MADONI & BASSANINI 1999, MADONI, 2005). PRATT & CAIRNS (1985) propõem um sistema de grupos funcionais para se analisarem mudanças estruturais e funcionais na comunidade de protistas causadas por certos tipos de poluição. Esses autores indicam como vantagens no uso deste método a facilidade no reconhecimento dos grupos funcionais e a eliminação da confusão resultante da identificação de alguns táxons. Alguns estudos sobre a mudança da estrutura trófica na comunidade de ciliados têm demonstrado que em águas oligosapróbias esses organismos se alimentam principalmente de algas, enquanto somente poucos se alimentam de bactérias e cianobactérias. Com o aumento do grau sapróbio a estrutura trófica é significativamente alterada. Os poluentes orgânicos conduzem ao aumento de fosfatos e outros nutrientes, alterando a estrutura das comunidades bacterianas, que induzem mudanças na ciliatofauna, a qual depende diretamente destas bactérias como alimento (PRIMC, 1988). As principais mudanças são o decréscimo de espécies de ciliados algívoros e o aumento dos ciliados bacterívoros (WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; MADONI & BASSANINI 1999; MADONI, 2005).

Protistas ciliados e qualidade da água

Com o intuito de avaliar a qualidade da água das cinco estações amostrais do córrego São Pedro e verificar a eficiência do uso da taxocenose dos protistas ciliados como

indicadores dos graus sapróbios, foram calculados, conforme o protocolo proposto por FOISSNER (1992), o índice sapróbio de PANTLE & BUCK (1955) e o índice de valência sapróbia de ZELINKA & MARVAN (1961). Os dados usados para a realização do cálculo dos índices estão apresentados na tabela 4. Os valores médios do índice sapróbio para cada estação amostral estão representados na figura 5. As estações 4 e 5 apresentaram os maiores valores, seguidas das estações 3, 2 e 1, respectivamente.

Segundo MADONI (2005), altos valores obtidos no índice sapróbio indicam a presença de grandes concentrações de matéria orgânica em um curso d'água. Os valores de valência sapróbia em torno de 3,2 obtidos para as estações 4 e 5 indicam, segundo MADONI (2005), águas de classe III-IV, ou seja, fortemente poluídas. A estação 1, com índice sapróbio menor que 2,7, pode ser classificada como pertencendo à classe II-III (águas com uma considerável concentração de matéria orgânica) e as estações 2 e 3, com índices em torno de 2,8, pertencendo à classe III (águas moderadamente poluídas). As espécies que mais contribuíram para o aumento do índice sapróbio nas estações 4 e 5 foram as polissapróbias: *Caenomorpha* sp. 1, *Caenomorpha* sp. 2, *G. scintillans*, *Metopus* sp., *S. teres* e *V. microstoma* e as alfa-mesosapróbias: *C. polypinum* e *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1833 (TABS. 2 e 3).

Os valores das proporções dos quatro níveis sapróbios (oligossapróbio, beta-mesosapróbio, alfa-mesosapróbio e polissapróbio), em cada estação amostral, estão representados na figura 6. Observou-se, ao longo das estações amostrais, diminuição na proporção de espécies indicadoras de ambientes beta-mesosapróbios (b) e aumento na proporção de espécies indicadoras de ambientes polissapróbios (p). A proporção de espécies indicadoras de ambientes alfa-mesosapróbios (a) e oligossapróbios (o) não variou muito entre as estações de coleta. Tanto o índice sapróbio quanto o índice de valência sapróbia são complementares (MADONI, 2005), e no presente trabalho ambos demonstraram que as estações que recebem as maiores cargas de esgoto doméstico apresentaram elevados valores de saprobidade e uma maior proporção de espécies indicadoras de ambientes polissapróbios (extremamente poluídos), respectivamente.

O uso dos índices sapróbio e de valência sapróbia é uma importante ferramenta na avaliação da qualidade da água dos ecossistemas lóticos (MADONI & BASSANINI, 1999; MADONI, 2005). Diversos autores, estudando rios na França (SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991), Espanha (SOLA *et al.*, 1996), Itália (MADONI & GHETTI, 1981; MADONI, 1993; MADONI & BASSANINI, 1999, MADONI, 2005) e Polônia (WIACKOWSKI, 1981; HUL, 1987), têm relatado o aumento da proporção de espécies polissapróbias e alfa-mesosapróbias e um decréscimo de espécies beta-mesosapróbias e oligossapróbias com o aumento da carga de poluição orgânica causada por impactos antrópicos. WIACKOWSKI (1981) estudou a eficiência do uso dos índices

Tabela 4. Valência sapróbia das espécies encontradas no córrego e que estão incluídas no sistema sapróbio e número estimado de cada espécie nas cinco estações amostrais.

Espécies encontradas no córrego São Pedro	s*	valência sapróbia*						I*	SI*	n = 1, 3 ou 5†				
		x*	o*	b*	a*	p*	E1			E2	E3	E4	E5	
<i>Caenomorpha</i> sp. 1	p-i	0	0	0	0	10	5	4	-	1	1	3	3	
<i>Caenomorpha</i> sp. 2	p-i	0	0	0	0	10	5	4	-	1	1	1	1	
<i>Carchesium polypinum</i>	a	0	0	2	7	1	3	2,9	-	-	1	5	3	
<i>Chilodonella uncinata</i>	a	0	0	2	6	2	3	3	-	-	-	1	1	
<i>Cinetochilum margaritaceum</i>	b-p	0	1	3	3	3	1	2,8	-	1	1	1	1	
<i>Epistylis plicatilis</i>	a-b	0	0	3	6	1	3	2,8	-	-	-	-	1	
<i>Euplotes aediculatus</i>	a	0	0	1	9	0	5	2,9	1	1	3	1	1	
<i>Euplotes eurystomus</i>	a	0	0	2	6	2	3	3	1	1	1	3	3	
<i>Frontonia leucas</i>	o-p	0	2	3	3	2	1	2,5	1	5	5	1	1	
<i>Glaucoma scintillans</i>	p-i	0	0	0	1	9	5	4,2	-	-	-	1	1	
<i>Lagynus elegans</i>	p-i	0	0	0	0	10	5	4	-	-	-	1	1	
<i>Lembadium bullinum</i>	b	0	0	9	1	0	5	2,1	-	1	-	-	-	
<i>Lembadium lucens</i>	b	0	0	9	1	0	5	2,1	1	3	1	-	-	
<i>Loxodes rostrum</i>	a-b	0	0	4	6	0	3	2,6	-	1	1	-	-	
<i>Loxodes striatus</i>	a	0	0	1	6	3	3	3,2	-	3	3	1	1	
<i>Metopus</i> sp.	p-i	0	0	0	1	9	5	4,4	-	1	1	1	1	
<i>Paramecium caudatum</i>	a	0	0	0	7	3	4	3,3	-	-	1	5	5	
<i>Plagiopyla nasuta</i>	p-i	0	0	0	0	10	5	4,5	-	-	1	1	1	
<i>Podophrya fixa</i>	a	0	0	1	7	2	3	3,1	-	-	-	1	-	
<i>Spirostomum ambiguum</i>	a	0	0	2	6	2	3	3	1	3	1	-	-	
<i>Spirostomum minus</i>	a-b	0	0	3	6	1	3	2,8	1	3	3	3	3	
<i>Spirostomum teres</i>	p	0	0	1	2	7	3	3,6	-	1	1	3	3	
<i>Stentor coeruleus</i>	a-b	0	0	4	6	0	3	2,6	-	-	-	1	-	
<i>Stentor polymorphus</i>	b-a	0	0	5	5	0	3	2,5	-	-	1	-	-	
<i>Stylonychia pustulata</i>	b	0	1	7	2	0	3	2,1	-	-	1	1	1	
<i>Tokophrya lenarum</i>	a	0	0	1	7	2	3	3,1	-	-	-	1	1	
<i>Tokophrya quadripartita</i>	a-b	0	0	3	5	2	2	2,9	-	-	-	1	1	
<i>Urocentrum turbo</i>	b	0	0	7	3	0	4	2,3	1	3	5	1	1	
<i>Vorticella campanula</i>	b-a	0	1	4	5	0	2	2,4	-	-	1	3	3	
<i>Vorticella covallaria</i>	a	0	1	2	6	1	2	2,7	-	-	-	1	-	
<i>Vorticella microstoma</i>	p-a	0	0	0	5	5	3	3,5	-	-	-	3	3	

* Dados retirados de FOISSNER (1992); a = alfa-mesossapróbio; b = beta-mesossapróbio; I = peso indicativo da espécie; s = grau sapróbio; o = oligossapróbio; p = polissapróbio; SI = índice sapróbio; x = xenosaprobidade; n = número estimado médio de cada espécie (1 = pouco abundante, 3 = muito abundante e 5 = extremamente abundante ao longo das coletas; E1 = estação 1; E2 = estação 2; E3 = estação 3; E4 = estação 4; E5 = estação 5; † = dados do presente estudo.

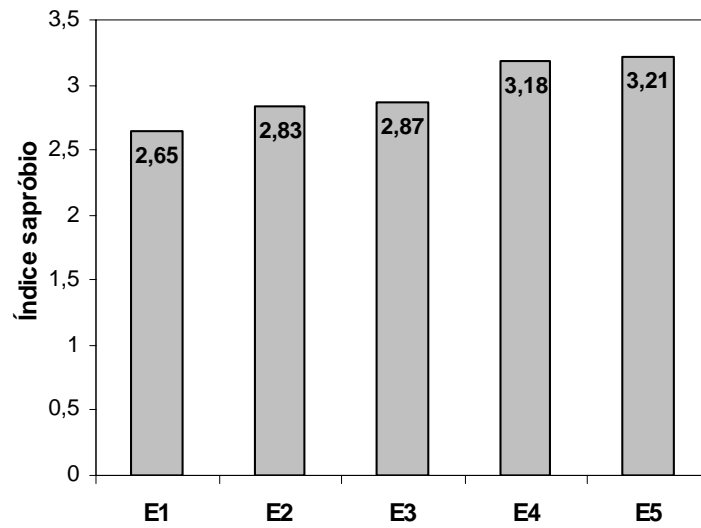


Figura 5. Índice sapróbio (PANTLE & BUCK, 1955) médio obtidos para as cinco estações amostrais.

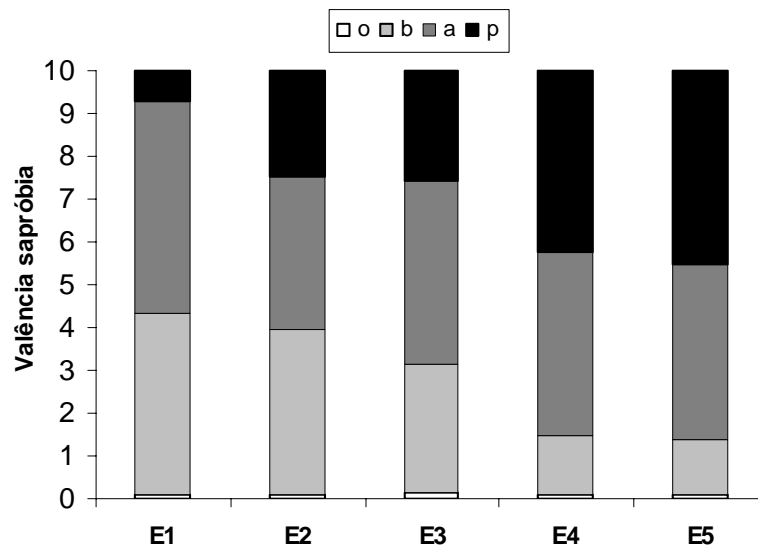


Figura 6. Valência sapróbia (ZELINKA & MARVAN, 1961) média obtidas para as cinco estações amostrais ao longo de um ciclo anual (o: oligossaprobía, b: beta-mesossaprobía, a: alfa-mesossaprobía, p = polissaprobía)

de saprobidade na avaliação do potencial de auto-depuração do rio Drwinka, demonstrando que os valores da proporção de espécies indicadoras de ambientes polissapróbios e alfa-mesossapróbios decresceram nas estações distantes da fonte poluidora. MADONI (1993), utilizando a taxocenose de protozoários ciliados, avaliou a eficiência de uma estação de tratamento de esgoto (ETE) implantada nas margens do rio Parma, por meio dos índices de saprobidade. Nas estações amostrais localizadas após a ETE, observou uma diminuição no índice sapróbio e na proporção de espécies indicadoras de ambientes polissapróbios e alfa-mesossapróbios.

Os dados obtidos confirmam que em sistemas lóticos, dentro de áreas urbanas, a poluição orgânica parece ser um fator determinante, capaz de influenciar a composição, a distribuição e a estrutura trófica da taxocenose de protozoários ciliados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTIPA, G.A. 1977. Use of commensal protozoa as biological indicators of water quality and pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **96**: 482-489.
- CZAPIK, A. 1982. The effect of waste water on ciliate communities in the Biata Przemsza River. **Acta Hydrobiologica** **24** (1): 29-37.
- DIECKMANN, J. 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducibile results. **European Journal of Protistology** **31**: 372-382.
- ESTEVES, F.A. 1988. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro, Interciência, 575p.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & A. NOVILLO. 1996. Protozoan communities and contamination of several fluvial systems. **Water Environment Research** **68** (3): 311-319.
- FINLAY, B. J. 1981. Oxygen availaity and seasonal migrations of ciliated protozoa in a freshwater lake. **Journal of General Microbiology** **123**: 173-178.
- FINLAY, B. J. 1982. Effects of seasonal anoxia on the community of benthic ciliated protozoa in a productive lake. **Archiv fur Hydrobiologie** **125**: 215-222.

- FOISSNER, W. 1988. Taxonomic and nomenclatural revision of Sládeček's list of ciliates (Protozoa: Ciliophora) as indicators of water quality. **Hydrobiologia** **166**: 1-64.
- FOISSNER, W. 1991. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. **European Journal of Protistology** **27**: 313-330.
- FOISSNER, W. 1992. Evaluating water quality using protozoa and saprobity indexes, B11.1-20. In: LEE, J.J. & A.T. SOLDI (Eds.). **Protocols in Protozoology**. Society of Protozoologists.
- FOISSNER, W. 1997. Faunistic and taxonomic studies on ciliates (Protozoa, Ciliophora) from clean rivers in Bavaria (Germany), with description of a new species and ecological notes. **Limonologica** **27** (2):179-238.
- FOISSNER, W. & H. BERGER. 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology** **35**: 375-498.
- FOISSNER, W., H. BERGER; H. BLATTERER & F. KOHMANN. 1995. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems** - Band IV: Gymnostomates, Loxodes. Munich, Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft, 540p.
- GRACIA, M.; C. CASTELLON, J. IGUAL & R. SUNYER. 1989. Ciliated protozoan communities in a fluvial ecosystem. **Hydrobiologia** **183**: 11-31.
- GROLIÈRE, C-A.; R. CHAKLI; O. SPARAGANO & D. PEPIN. 1990. Application de la colonisation d'un substrat artificiel par les ciliés à l'étude de la qualité des eaux d'une rivière. **European Journal of Protistology** **25**: 381-390.
- HENEBRY, M. S. & B. T. RIDGEWAY. 1979. Epizotic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **98** (4): 495-508.
- HUL, M. 1987. The effect of domestic sewage on the structure of the microbenthic ciliate communities in the Lyna River. **Polskie Archiwum Hydrobiologii** **34**: 567-578.

- KLEIN, B. N. 1958. The “dry” silver method and its proper use. **Journal of Protozoology** **5**: 99-103.
- KOLKWITZ, R. & K. MARSSON. 1908. Ökologie der pflanzlichen Saprobien. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft** **26**: 505-519.
- KOLKWITZ, R. & K. MARSSON. 1909. Ökologie der tierischen Saprobien. **Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie** **2**: 126-152.
- KUDO, R.R. 1966. **Protozoology**. Illinois, Charles C. Thomas, 786p.
- KUSUOKA, Y & Y. WATANABE. 1987. Growth and survival of peritrich ciliates in an urban stream. **Oecologia** **73**: 16-20.
- LAIRD, M. 1959. Parasites of Singapore mosquitoes, with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. **Ecology** **40** (2): 206-221.
- LATUF, M. 2004. Diagnóstico das águas superficiais do córrego São Pedro, Juiz de Fora/MG. **Geografia** **13** (1): 18-55. Disponível em <<http://www.geo.uel.br/revista>>. Acesso em 12.03.2006.
- LAYOURN-PARRY, J.; J. OLVER; A. ROGERSON & P.L. DUVERGÉ. 1990. The hypolimnetic protozoan plankton of a eutrophic lake. **Hydrobiologia** **203**: 111-119.
- LYNN, D.H. & E.B. SMALL. 2002. Phylum Ciliophora, p. 371-656. In: Lee, J.J.; P.C. Leedale & G.F. (Eds.). **An illustred guide to the Protozoa**. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas.
- MADONI, P. 1993. Ciliated protozoa and water quality in the Parma River (Northern Italy): long-term changes in the community structure. **Hydrobiologia** **264**: 129-135.
- MADONI, P. 2005. Ciliated protozoans communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). **Hydrobiologia** **541**: 55-69.

- MADONI, P. & N. BASSANINI. 1999. Longitudinal changes in the ciliated protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology** **35**: 391-402.
- MADONI, P. & P. F. GHETTI. 1981. Ciliated Protozoa and water quality in the Torrente Stirone (Northern Italy). **Acta Hydrobiologica** **23** (2): 143-154.
- MAGURRAN, A. E. 1988. **Ecological diversity and its measurement**. Princeton, New Jersey, Princeton University Press, 179p.
- NIMER, E. 1979. **Climatologia do Brasil**. Rio de Janeiro, IBGE, 422p.
- NOLAND, L. E. 1925. Factors influencing the distribution of fresh water ciliates. **Ecology** **6**: 437-452.
- NORRIS, R. & M. THOMS. 1999. What is river health? **Freshwater Biology** **41**: 197-209.
- PAIVA, T.S. & I. D. SILVA-NETO. 2004. Ciliate protists from Cabiúnas lagoon (Restinga de Jurubatiba, Macaé, Rio de Janeiro) with emphasis on water quality indicator species and description of *Oxytricha marcili* sp. n. **Brazilian Journal of Biology** **64** (3A): 465-478.
- PANTLE, R. & H. BUCK. 1955. Die biologische Überwachung der Gewässer und Darstellung Ergebnisse. **Gas und Wasserfach** **96**: 604-624.
- PATTERSON, D. J. 1996. **Free-living freshwater protozoa: a color guide**. John Wiley & Sons, USA, 223p.
- PICCINNI, E. & J. GUTIÉRREZ. 1995. Protists as bioindicators in the environment. **Protistological Actualities** **1**: 173-184.
- PRATT, J.R. & J. JR. CAIRNS. 1985. Functional groups in the Protozoa: roles in differing ecosystems. **Journal of Protozoology** **32**: 415-422.

- PRIMC, B. 1988. Trophic relationships of ciliated Protozoa developed under different saprobic conditions in the periphyton of the Sava River. **Periodicum Biologorum** **90** (3): 349-353.
- PRIMC-HABDIJA, B.; I. HABDIJA; M. MEŠTROV & I. RADANOVIĆ. 1996. Composition of ciliate fauna and its seasonal changes in fluvial drift. **Aquatic science** **58** (3): 224-240.
- PRIMC-HABDIJA, B., I. HABDIJA & I. RADANOVIC. 1998. Seasonal changes in trophic structure of periphytic ciliates in relation to discharge regime. **Verhandlungen Internationale Vereinigen Limnologie** **26**: 1116-1119.
- SALVADÓ, H.; GRACIA, M. & AMIGÓ J. 1995. Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. **Water Research** **29** (4): 1041-1050.
- SLÁDEBEK, V. 1973. System of water quality from the biological point of view. **Archiv Fuer Hydrobiologie- Beiheft Ergebnisse der Limnologie** **7** (I-IV): 1-218.
- SLÁDEBEK, V; M. ZELINKA; J. ROTSCHEIN & V. MORACOVÁ. 1981. **Biologický rozbor povrchové vody**. Komentár k CSN 830532- eásti 6: Stanovi saprobního indexu. Vydalo Vydavatelství Úradu pro normalizaci a mereni, Phara, 186p.
- SLEIGH, M. 1988. **Protozoa and other Protists**. New York, Chapman and Hall, 399p.
- SOLA, A.; J.F. LONGÁS; S. SERRANO & A. GUINEA. 1996. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia** **324**: 237-252.
- SPARAGANO, O. & C. A. GROLILÈRE. 1991. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroecologie Applique** **1**: 43-62.
- STÖSSEL, F. 1987. Effect of the coefficients of discharge on ciliate populations of a running water contaminated by municipal wastewater. **Archiv für Hydrobiologie** **108**: 483-497.
- STREBLE, H. & D. KRAUTER. 1987. **Atlas de los Microorganismos de agua dulce**. Barcelona, Omega, 337p .

- SUEHIRO, S. & Y. TEZUCA. 1981. Seasonal change in ciliate populations in the bottom sediment of a polluted river. **Japan Journal of Limnology** **42** (1): 1-7.
- TAYLOR, W.D. 1983. A comparative study of the sessile, filter-feeding ciliates of several small streams. **Hydrobiologia** **98**:125-133.
- TUFFRAU, M. 1959. Un dispositif simple pour l'observation durable in vivo des microorganismes. **Hydrobiologia** **18** (4): 316-318.
- WIACKOWSKI, K. 1981. Analysis of Ciliata from polluted sector of the River Drwinka on the basis of binary data. **Acta Hydrobiologica** **23** (4): 319-329.
- ZELINKA, M. & P. MARVAN. 1961. Zur Präzisierung der biologischen Klassifikation der Reinheit fließender Gewässer. **Archiv für Hydrobiologie** **57**: 389-407.

CAPÍTULO V

PROTOZOÁRIOS CILIADOS (PROTOZOA, CILIOPHORA) EPIBIONTES DE *Pomacea figulina* (SPIX, 1827) (MOLLUSCA, AMPULLARIIDAE)

RESUMO

A relação epibiótica é uma associação facultativa entre dois organismos: o epibionte, que coloniza um substrato vivo, e o basibionte. Os protozoários ciliados epibiontes podem viver sobre várias de espécies de metazoários aquáticos. Entretanto, pouco se sabe sobre os aspectos ecológicos desta relação nos ecossistemas tropicais e subtropicais. O objetivo deste trabalho foi registrar e analisar a prevalência de protozoários ciliados associados a moluscos prosobrânquios da espécie *Pomacea figulina*, provenientes de um córrego urbano, no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. Foram realizadas, mensalmente, quatro coletas, na estação chuvosa, a partir das quais, foram obtidos 23 moluscos e 10 conchas “vazias”. Os moluscos foram medidos e as conchas e opérculos raspados, sobre placas de Petri contendo água filtrada do local de coleta. Os ciliados foram triados, com auxílio de micropipetas e observados sob microscópio de campo claro e de contraste de fase. Foram registradas sete espécies de ciliados sobre as conchas de *P. figulina*, sendo seis pertencentes à subclasse Peritrichia: *Carchesium polypinum*, *Vorticella microstoma*, *Vorticella campanula*, *Epistylis plicatilis*, *Epistylis* sp., *Opercellaria* sp. e uma pertencente à subclasse Suctoria: *Hypophrya fasciculata*. Dos 23 moluscos analisados, 82,60% (19) estavam infestados por pelo menos uma espécie de ciliado. Não foram encontrados ciliados nas conchas vazias e opérculos. De acordo com a prevalência de infestação, as espécies foram classificadas quanto ao seu status dentro da taxocenose em: espécie central: *C. polypinum* (78,26%); espécies secundárias: *V. microstoma* (47,82%), *V. campanula* (39,16%); e espécies satélites: *E. plicatilis* (30,43%), *Opercellaria* sp. (17,39%), *Epistylis* sp. (8,70%), *H. fasciculata* (8,70%). Os resultados são discutidos em termos das vantagens e desvantagens da relação epibiótica para os protistas ciliados e dos aspectos ecológicos envolvidos nessa associação.

Palavras-chave: epibiontes, epibiose, moluscos prosobrânquios, *Pomacea figulina*, protistas ciliados.

INTRODUÇÃO

Os epibiontes são organismos que durante a fase sésil do seu ciclo de vida colonizam a superfície de um substrato vivo. Enquanto o basibionte constitui um substrato que hospeda o epibionte (WAHL, 1989; FERNANDEZ-LEBORANS & GAGILONDO, 2006).

Historicamente, a epibiose era entendida como uma relação comensal entre dois ou mais organismos. Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que os epibiontes podem causar efeitos deletérios aos seus hospedeiros (GREEN, 1974; HENEBRY & RIGDEWAY, 1979; XU, 1992; PUCKETT & CARMAN, 2002). De acordo com COOK *et al.* (1998) esta relação ecológica possui dois extremos. Em um extremo, ela pode ter natureza oportunista, facultativa e não especializada, com os epibiontes colonizando substratos inertes, animais e plantas. No outro extremo, estão as associações obrigatórias e altamente específicas, havendo adaptações morfológicas e comportamentais entre epibionte e basibionte que proporcionam este modo de vida.

De acordo com FENCHEL (1987), provavelmente quase todos os grupos de metazoários aquáticos hospedam protozoários simbioses. Os protozoários ciliados epibiontes podem viver sobre uma variedade de espécies de metazoários aquáticos, incluindo esponjas, cnidários, ctenóforos, rotíferos, tardígrados, planárias, crustáceos (grupo mais estudado), anelídeos (Oligochatea, Polychaeta e Hirudinea), larvas de insetos (Diptera, Ephemeroptera, Tricoptera, Odonata, Hemiptera, Coleoptera, Odonata), moluscos, peixes, girinos e até sobre o casco de cágados (KAHL, 1935; GOODRICH & JAHN, 1943; LAIRD, 1959; BALDOCK, 1986; SMITH, 1986; FOISSNER *et al.*, 1992, 1999; MOSS *et al.*, 2001; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004). Existem poucos estudos que abordem a relação epibiótica entre protistas ciliados e moluscos (LOPEZ-OCHOTERRENA, 1964; ANTIPA, 1977; WARREN, 1991), sendo raros os estudos sobre a presença de ciliados sobre gastrópodes ampularídeos (UTZ, 2005-resumo; DIAS *et al.*, 2006).

Os epibiontes constituem um componente significativo dos ecossistemas aquáticos e desempenham importante papel na cadeia alimentar (PRATT & CAIRNS, 1985; BALDOCK, 1986). Entretanto, a maioria dos estudos é de cunho morfológico e taxonômico, sendo que em poucos casos os aspectos ecológicos têm sido considerados (BALDOCK, 1986; XU, 1992; FERNANDEZ-LEBORANS *et al.*, 1997; COOK, *et al.*, 1998; HANAMURA, 2000). Apesar dos estudos sobre registros de ciliados epibiontes serem abundantes na literatura, pouco se sabe sobre os aspectos ecológicos desta relação nos ecossistemas tropicais e subtropicais, destacando-se os trabalhos de LOPEZ *et al.* (1998) e REGALI-SELEGHIM & GODINHO (2004).

Segundo WAHL (1989), a relação epibiótica apresenta vantagens e desvantagens para hospedeiros e epibiontes. Este autor descreveu os possíveis efeitos negativos da epibiose em

um artigo de revisão. Os efeitos benéficos para os epibiontes são: a corrente de filtração criada por certos basibiontes no momento da alimentação; o exudato proveniente dos metabólitos do basibionte e o transporte dos epibiontes para regiões com melhores condições nutricionais e de oxigenação, além de facilitar a dispersão e troca gênica entre as populações de epibiontes. Existem também desvantagens para o epibionte, oriundas da atividade biológica e do comportamento dos hospedeiros, tais como: a instabilidade dos substratos vivos causada pelos movimentos, ecdises, morte natural, predação; flutuações da atividade fisiológica; eliminação de metabólitos e a migração.

Os efeitos negativos da epibiose para os hospedeiros são, conforme WAHL (1989), o aumento do peso e da demanda energética; redução na fluatibilidade; decréscimo na fecundidade e no tempo de sobrevivência; aumento na superfície de atrito com o ambiente; competição por nutrientes (partículas, oxigênio) entre epibiontes e hospedeiros, que usualmente favorece o epibionte devido à sua posição sobre o basibionte; danos provocados pela predação sobre os epibiontes e aumento da susceptibilidade à predação. Embora poucos, existem efeitos benéficos para os hospedeiros: os epibiontes podem tornar os hospedeiros menos atrativos para os predadores, funcionando como defesa química, por meio da liberação de toxinas, e visual através da camuflagem. Além disso, em alguns casos, os basibiontes podem se alimentar dos próprios epibiontes.

Os moluscos prosobrânquios da família Ampullariidae são caramujos de água doce, comuns em diversas áreas tropicais e subtropicais, que habitam preferencialmente águas lentas em rios e riachos (THIENGO, 1995).

O presente trabalho teve como objetivo registrar e analisar a prevalência de protozoários ciliados associados a moluscos prosobrânquios da espécie *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Mollusca, Ampullariidae) provenientes de um córrego urbano, o córrego São Pedro, localizado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

Para investigar a ocorrência de ciliados epibiontes, 23 moluscos da espécie *Pomacea figulina* (Spix, 1827) (Gastropoda, Ampullariidae), número encontrado durante as coletas, foram coletados em um ponto do córrego São Pedro (UTM= 23K, 666477, 7591092) (estação 3, ver capítulo I), localizado na área urbana do município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Foram realizadas, em intervalos de aproximadamente 30 dias, quatro coletas, na estação chuvosa (LATUF, 2004), no período de dezembro de 2005 a março de 2006.

Os moluscos foram coletados com auxílio de um puçá, acondicionados em recipientes plásticos contendo água do local, previamente filtrada em papel de filtro e levados ao Laboratório de Protozoologia de Universidade Federal de Juiz de Fora. Foram coletadas também 10 conchas encontradas sem a massa cefalopodal. No laboratório, mediu-se a altura e o diâmetro das conchas dos moluscos vivos e das conchas vazias, utilizando um paquímetro Kanon®. A concha e o opérculo dos moluscos foram raspados, individualmente, com o auxílio de um bisturi, sobre placas de Petri contendo água do local de coleta previamente filtrada. A fim de se verificar a presença de epibiontes, as placas foram observadas sob microscópio estereoscópio e os ciliados triados com o auxílio de micropipetas e observados sob microscópio de campo claro e de contraste de fase. A morfometria dos organismos *in vivo* foi realizada com auxílio de uma ocular micrométrica.

A identificação dos protistas ciliados epibiontes foi feita utilizando as chaves de identificação de KAHL (1935), WARREN (1986), FOISSNER *et al.* (1992, 1999), FOISSNER & BERGER (1996) e o trabalho de LOPEZ-OCHOTERENA (1964).

Os termos ecológicos, prevalência e status comunitário, usados no presente trabalho, foram propostos por MARGOLIS *et al.* (1982), BUSH & HOLMES (1986) e BUSH *et al.* (1997) para estudos em parasitologia, e têm sido aplicados em estudos sobre relações epibióticas (COOK *et al.*, 1998). Os componentes da taxocenose de protistas ciliados foram classificados, conforme BUSH & HOLMES (1986), em espécies centrais (presentes em mais de dois terços dos hospedeiros), espécies secundárias (presentes em um a dois terços dos hospedeiros) e espécies satélites (presentes em menos de um terço dos hospedeiros).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorrência dos protozoários ciliados

As espécies de protozoários ciliados epibiontes de *P. figulina* estão registradas na tabela 1 e ilustradas nas figuras 1-17. Este é o primeiro registro de protozoários ciliados colonizando moluscos da espécie *P. figulina*.

Foram registradas sete espécies de ciliados sobre as conchas de *P. figulina*, sendo seis pertencentes à subclasse Peritrichia: *Carchesium polypinum* (Linneaus, 1758) (FIGS. 11-13, 14a, 17), *Vorticella microstoma* Ehrenberg, 1830 (FIG. 7), *Vorticella campanula* Ehrenberg, 1831 (FIGS. 1-2), *Epistylis plicatilis* Ehrenberg, 1831 (FIGS. 3-4), *Epistylis* sp. (FIGS. 8-10), *Opercularia* sp. (FIGS. 5-6) e uma pertencente à subclasse Suctorina: *Hypophrya fasciculata* Lopez-Ochoterrena, 1964 (FIGS. 14a,b, 15-17).

Tabela 1. Protistas ciliados epibiontes encontrados sobre *Pomacea figulina*.

Espécies de protistas ciliados	Prevalência (%)	Status comunitário	Especificidade
Peritrichia			
<i>Carchesium polypinum</i>	78,26	C	0
<i>Vorticella microstoma</i>	47,82	S	0
<i>Vorticella campanula</i>	39,16	S	0
<i>Epistylis plicatilis</i>	30,43	Sa	0
<i>Opercularia</i> sp.	17,39	Sa	-
<i>Epistylis</i> sp.	8,70	Sa	-
Suctoria			
<i>Hypophrya fasciculata</i>	8,70	Sa	II

Status comunitário: C = espécie central; S = espécie secundária; Sa = espécie satélite.

Especificidade: 0 = epibiontes encontrados em hospedeiros vivos e inertes; II = epibiontes parcialmente especializados, restritos ao nível de filo, classe ou ordem do hospedeiro.

DIAS *et al.* (2006) registraram, pela primeira vez, sete gêneros de ciliados sésseis, cinco peritríquios, *Carchesium*, *Epistylis*, *Opercularia*, *Vaginicola* e *Vorticella* e dois suctórios, *Acineta* e *Tokophyra*, vivendo como epibiontes sobre moluscos ampularídeos da espécie *Pomacea lineata* (Spix, 1827), em valas de irrigação no município de Juiz de Fora, Minas Gerais.

UTZ (2005-resumo) registrou a espécie *Epistylis plicatilis* (Peritrichia, Epistylidae) associada à concha de *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1819), no sul do Brasil, sendo este o primeiro registro de ciliados epibiontes dessa espécie de molusco. A espécie *H. fasciculata* (Suctoria, Acinetidae), registrada no presente trabalho, quando da sua descrição, foi encontrada sobre colônias de *E. plicatilis* que, por sua vez, estavam colonizando moluscos das espécies *Lymnea attenuata* Say e *Physa osculans* Haldeman, 1841, em um lago no Parque Chapultepec, na cidade do México (LOPEZ-OCHOTERRENA, 1964).

Não foram observados ciliados sobre o opérculo dos moluscos analisados. O opérculo dos gastrópodes ampularídeos é uma estrutura córnea, de natureza permanente, que tem a função de fechar a abertura da concha, quando o molusco retrai a massa cefalopodal no seu interior (THIENGO, 1995). O movimento do opérculo em direção à abertura da concha, quando o molusco se retrai, pode representar uma perturbação para os epibiontes.

A ausência de ciliados, ou a sua menor abundância, em regiões do hospedeiro com grande incidência de atrito tem sido apontada por alguns autores (GREEN, 1974; HENEGBRY & RIDGEWAY, 1979; COOK *et al.*, 1998; ROBERTS & CHUBB, 1998; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004). De acordo com GREEN (1974), a freqüente perturbação causada pelo movimento das antenas de cladóceros hospedeiros interrompe a alimentação dos peritríquios coloniais, por causar a contração dos zoóides. HENEGBRY & RIDGEWAY (1979) e REGALI-SELEGHIM & GODINHO (2004) atribuem a ausência de ciliados epibiontes associados a crustáceos ao atrito proveniente do movimento destes hospedeiros. Segundo ROBERTS &

CHUBB (1998), o maior fluxo da água nas bordas dos pleópodos do isópodo *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758) é um dos fatores que restringem a distribuição do peritríquio *Lagenophrys aselli* Plate, 1889 à região central deste apêndice.

Não foram observados ciliados colonizando as conchas vazias (sem a massa cefalopodal) dos ampularídeos. Muitos protozoários ciliados podem viver como epibiontes sobre substratos inertes, não-vivos (KUDO, 1966; FOISSNER *et al.*, 1992). No entanto, o fato de nenhuma espécie de ciliado ter sido encontrada sobre as conchas vazias, sugere a existência de benefícios para os epibiontes, oriundos da atividade biológica e do comportamento dos moluscos. HENEGBRY & RIDGEWAY (1979), estudando os ciliados epibiontes de copépodos e cladóceros, no lago Ashmore, Illinois, EUA, inseriram lâminas na água do lago, na mesma profundidade em que vivem os crustáceos plactônicos e observaram que nenhuma das quatro espécies de peritríquios registradas sobre estes hospedeiros foi encontrada colonizando as lâminas.

A ecdise tem sido apontada como um fenômeno desfavorável à colonização de crustáceos por ciliados epibiontes (HENEGBRY & RIDGEWAY, 1979; XU, 1992). Durante o crescimento dos gastrópodes, ocorre a adição de material protéico e mineral na borda da concha. Não é necessária a substituição dessa estrutura de proteção, como ocorre entre os artrópodes. Portanto, a concha funciona como um substrato permanente e constitui uma vantagem inerente à utilização de moluscos como basibiontes.

Apesar da ausência de estudos sobre a longevidade de moluscos do gênero *Pomacea*, o tempo necessário para que esses moluscos tornem-se sexualmente maduros, como registrado por GUIMARÃES (1981a) para *Pomacea haustum* (Reeve, 1856), sugere um tempo de vida longo. Esses moluscos também são muito resistentes à dessecação. GUIMARÃES (1981a) observou que *P. haustum* resiste pelo menos 90 dias fora d'água. SANTOS *et al.* (1987) verificaram que *P. lineata* é capaz de sobreviver 40 dias em anoxia. A longevidade e a capacidade de sobreviver a condições desfavoráveis, provavelmente fazem com que as populações de *Pomacea* sejam relativamente abundantes e estáveis, favorecendo a comunidade de epibiontes.

Prevalência e status comunitário

Dos 23 moluscos da espécie *P. figulina* analisados, 82,60% (19) estavam infestados por pelo menos uma espécie de ciliado. DIAS *et al.* (2006) registraram a prevalência de 100% de ciliados epibiontes sobre *P. lineata*. Outros estudos registraram altas prevalências de infestação por protistas ciliados sobre diferentes espécies de crustáceos. HENEGBRY & RIDGEWAY (1979) observaram a prevalência de infestação por *V. microstoma* sobre

cladóceros da espécie *Daphnia longispina* Müller variando entre 92,9 e 100%; XU & BURNS (1991) relataram que 92,4% dos copépodos *Boeckella triarticulata* Thomson estavam infestados por *Epistylis daphniae* Faure-Fremiet, 1905; XU (1992) encontrou o peritríquio *E. daphniae* em 92,4% dos cladóceros da espécie *Moina macrocopa* Strauss analisados; JAYASREE *et al.* (2001) registraram a prevalência, de ciliados peritríquios e suctórios, de 43,1% e 71,8% sobre *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) e *Metapenaeus dobsoni* (Miers), respectivamente; FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO (2002), observaram que 63,6% dos crustáceos da espécie *Schistomysis mysidacii* Norman, 1892 estavam infestados pelo suctório *Ophrydendron mysidacii* (Fernandez-Leborans *et al.*, 1996); MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL (2002), estudando a distribuição de 15 espécies de ciliados sobre *Cambarellus patzcuarensis* Villalobos, 1943, registraram ciliados epibiontes em 73 e 78% dos crustáceos analisados em dois pontos do lago Pátzcuaro, Michocán, México.

As elevadas prevalências de infestação registradas para *P. figulina*, no presente trabalho e para *P. lineata* (DIAS *et al.*, 2006) sugerem que os moluscos ampularídeos não apresentam estratégias eficientes que impeçam a colonização de suas conchas por protistas ciliados. XU (1992) concluiu que a alta percentagem de infestação por ciliados em *M. macrocopa* poderia significar que estes crustáceos possuem poucos mecanismos de defesa contra a infestação por estes protistas.

De acordo com a prevalência de infestação sobre *P. figulina*, as espécies de ciliados foram classificadas quanto ao seu status dentro da taxocenose em: espécie central: *Carchesium polypinum* (78,26%), espécies secundárias: *Vorticella microstoma* (47,82%), *V. campanula* (39,16%) e espécies satélites: *Epistylis plicatilis* (30,43%), *Opercularia* sp. (17,39%), *Epistylis* sp. (8,70%), *Hypophrya fasciculata* (8,70%) (TAB. 1). COOK *et al.* (1998) em estudo sobre a ecologia dos ciliados epibiontes do isópodo *A. aquaticus*, verificaram que dentre as nove espécies de peritríquios e suctórios registradas, uma ocorreu em mais de 66,7% dos hospedeiros (espécie central), quatro ocorreram entre 33,3 e 66,67% dos crustáceos (espécies secundárias) e quatro ocorreram em menos de 33,3% dos basibiontes (espécies secundárias).

Segundo MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL (2002), os protistas ciliados têm a oportunidade de colonizar seus hospedeiros ao mesmo tempo, porém, se já houver outras espécies de ciliados sobre a superfície do basibionte, os novos epibiontes ocupam as áreas livres. A competição entre ciliados epibiontes é habitual, tal como observado por MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL (1998) entre três espécies de suctórios, *Acineta tuberosa* Ehrenberg, *Podophrya sandi* Collin e *Tokophrya quadripartita* Bütschli, e registrado por ROBERTS & CHUBB (1998) entre *Lagenophrys aselli* Plate, 1889 e *L. platei* (Wallengren,

1990). Os ciliados peritríquios de diferentes espécies ocupam diferentes sítios no hospedeiro devido às suas particularidades quanto à taxa de crescimento, a organização e forma dos zoóides, o tamanho do pedúnculo e presença ou ausência de lórica. Peritríquios que possuem colônias maiores podem ocupar grandes áreas na superfície do hospedeiro evitando assim, a colonização por outras espécies (MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL, 2001). As colônias de *C. polypinum* podem apresentar numerosos zoóides (80-140µm), o que poderia explicar o seu status de espécie central (78,26%), no presente estudo. Entretanto, as menores prevalências dos ciliados coloniais *E. plicatilis* (30,43%), *Opercularia* sp. (17,39%), *Epistylis* sp. (8,70%), sobre *P. figulina*, em relação às espécies solitárias *V. microstoma* (47,82%) e *V. campanula* (39,16%) não podem ser explicadas pelo tamanho das colônias e provavelmente devem-se a particularidades da ecologia dessas espécies.

As maiores prevalências de *C. polypinum*, *V. microstoma* e *V. campanula* observadas no presente trabalho podem estar relacionadas com sua predileção por ambientes eutrofizados, como é o caso do córrego São Pedro. O lançamento direto de esgoto doméstico influencia fortemente a composição e a estrutura das comunidades de ciliados (PRIMC, 1988; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999). Os poluentes orgânicos causam aumento de fosfato e outros nutrientes, que alteram as comunidades bacterianas e induzem mudanças na composição da ciliatofauna, que depende diretamente destas bactérias para se alimentar (PRIMC, 1988). Segundo LAIRD (1959) e HENEGBRY & RIDGEWAY (1979), a ocorrência e a prevalência de peritríquios epibiontes indicam o grau de poluição orgânica de um ecossistema aquático. As espécies *C. polypinum*, *V. microstoma* e *V. campanula* têm sido usadas como indicadores da qualidade da água em diversos estudos de biomonitoramento de rios e córrego em áreas urbanas (CZAPIK, 1982; KUSUOKA & WATANABE, 1987; STÖSSEL, 1987; MADONI, 1993; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI 1999; MADONI, 2005).

Os moluscos do gênero *Pomacea* também toleram a poluição orgânica (THIENGO, 1995), sendo apontados como promissores indicadores da qualidade da água (COLER *et al.*, 2005). Essa característica aumenta a oportunidade ecológica para a colonização por protozoários ciliados epibiontes adaptados a ambientes eutróficos.

Especificidade por substrato

Os epibiontes apresentam graus variados de preferência pelos seus hospedeiros. Os ciliados peritríquios possuem atributos que refletem o grau de especialização para um determinado habitat. Segundo NENNINGER (1948) e COOK *et al.* (1998), existem três grupos ecológicos distintos de peritríquios, classificados quanto ao grau de especificidade pelo hospedeiro. Indivíduos do grupo O e I colonizam uma ampla gama de substratos, tais como

substratos inertes, plantas, animais e não estão restritos ao modo de vida epibiótico. Os organismos do grupo II são parcialmente especializados e restritos, ao nível de filo, classe ou ordem do hospedeiro. No grupo III, os ciliados são epibiontes obrigatórios, com grau de especificidade maior, ao nível de família, gênero ou até espécie.

Dentre as espécies de ciliados registradas sobre as conchas de *P. figulina*, *C. polypinum*, *V. microstoma*, *V. campanula* e *E. plicatilis* podem ser classificadas dentro do grupo O, pois não apresentam especificidade por substratos e já foram registradas vivendo sobre algas, macrófitas emersas e submersas e em diversos grupos de invertebrados aquáticos (LOPEZ-OCHOTERRENA, 1964; HENEBRY & RIDGEWAY, 1979; FOISSNER *et al.*, 1992; COOK *et al.*, 1998; ALADRO-LUBEL & MARTINEZ-MURILLO, 1999). Além de colonizarem substratos vivos, essas espécies vivem associadas a substratos inertes e foram relatadas em diversos sistemas lóticos associadas ao sedimento (MADONI & GHETTI, 1981; HUL, 1987; KUSUOKA & WATANABE, 1987; GRACIA *et al.*, 1987; MADONI, 1993; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI, 1999). A espécie *H. fasciculata* se enquadra no grupo II, pois foi registrada somente sobre moluscos gastrópodos das espécies *L. attenuata* e *P. osculans* (LOPEZ-OCHOTERRENA, 1964) e sobre *P. figulina* no presente estudo.

Vantagens e desvantagens para os epibiontes

A associação epibiótica pode ser vantajosa sob alguns aspectos e desvantajosa sob outros, para os epibiontes. Aspectos da biologia e do comportamento do basibionte tornam-no um substrato mais propício do que um substrato inerte. Dentre os benefícios para os epibiontes pode-se destacar a proteção contra inimigos naturais; transporte para locais mais oxigenados e aumento da disponibilidade de alimento.

O decréscimo na predação dos epibiontes por organismos aquáticos foi sugerido por HENEBRY & RIDGEWAY (1979) e COOK *et al.* (1998). Os ciliados são predados por rotíferos, oligoquetas, crustáceos planctônicos e outros ciliados. O hospedeiro, devido à sua mobilidade e defesas químicas (WAHL, 1989), pode proteger os ciliados de seus inimigos naturais.

É provável que os basibiontes do gênero *Pomacea* ofereçam vantagens aos ciliados epibiontes em função da sua capacidade de deslocamento no ambiente. Os moluscos da espécie *P. haustum* podem dispersar-se ativa ou passivamente. Nas coleções lânticas, deslocam-se pelo fundo e nos ambientes lóticos movimentam-se contra ou a favor da correnteza, deixando-se levar pelo fluxo da água (GUIMARÃES, 1981b). Os benefícios da interação epibiótica podem relacionar-se também às características da água circundante. Por causa da sua capacidade de deslocamento, os basibiontes podem selecionar microhabitats com características mais favoráveis, transportando os epibiontes para locais mais oxigenados

(COOK *et al.*, 1998), ou afastando-se de fontes de poluição. Além disso, podem modificar as condições do meio. MILWARD-DE-ANDRADE *et al.* (1975) observaram que 96 horas após a introdução de *P. haustum* em soluções ácidas, o pH dessas soluções foi elevado em direção à neutralidade.

O basibionte pode favorecer o encontro de alimento por suctórios epibiontes por levá-los até suas presas ou por atraí-las, devido ao microambiente formado sobre suas conchas (HENECHRY & RIDGEWAY, 1979; COOK *et al.*, 1998). A lâmina de bactérias e microalgas formada sobre a concha pode atrair ciliados bacterívoros e algívoros, que servem de alimento para os suctórios. As formas de dispersão dos peritríquios epibiontes também servem de alimento para estes ciliados (LOPEZ-OCHOTERENA, 1964; FOISSNER *et al.*, 1992). Como consequência, os epibiontes predadores, encontrados sobre substratos vivos podem se desenvolver mais do que aqueles associados a substratos inertes (LAIRD, 1959).

O comportamento alimentar do hospedeiro também favorece os ciliados que se alimentam de material em suspensão (COOK *et al.*, 1998). GREEN (1974) observou que peritríquios adquirem grande parte de seu alimento das partículas suspensas pela atividade alimentar dos basibiontes. FENCHEL (1965) e FERNANDEZ-LEBORANS & GABILONDO (2006) relataram que o comportamento alimentar dos crustáceos *Gammarus* e *Pagurus* favorece a alimentação dos epibiontes.

Os gastrópodes ampulárideos são principalmente herbívoros, alimentando-se de plantas aquáticas, mas também de bentos e restos de animais mortos (THIENGO, 1995). Os moluscos do gênero *Pomacea* não são filtradores e portanto não favorecem os epibiontes pela formação de correntes de água com partículas suspensas. Entretanto, ao se alimentarem de plantas aquáticas, esses moluscos suspendem o perifiton associado às macrófitas, que contém alimento tanto para os peritríquios, que são bacterívoros e algívoros, quanto para os suctórios, que se alimentam de outros ciliados livre-natantes.

O comportamento do basibionte também favorece a transferência das formas de dispersão dos epibiontes (FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2002; DIAS *et al.*, 2006). O comportamento agregativo dos moluscos (DIAS *et al.*, 2006), assim como a cópula, propiciam contato entre os indivíduos (GUIMARÃES, 1981a), possibilitando a transição dos ciliados de um basibionte para outro.

As desvantagens para os epibiontes relacionam-se principalmente a certos comportamentos dos hospedeiros. Algumas espécies de basibiontes apresentam o comportamento de se enterrar no substrato em determinadas épocas do ano, ou durante condições desfavoráveis e durante este período, os epibiontes não são capazes de sobreviver sobre os hospedeiros. Durante a estivação, espécies de *Pomacea* se enterram no solo, do qual

só emergem com o início das chuvas. FERNANDEZ-LEBORANS *et al.* (1997) relata que o crustáceo *L. depurator* se enterra e, portanto, possui menos ciliados que aqueles crustáceos que não apresentam este comportamento.

A presença de um mecanismo respiratório duplo permite que os moluscos do gênero *Pomacea* sejam capazes de respirar na água, por meio de uma brânquia e, no ar, utilizando parte da cavidade do manto como pulmão (SANTOS & MENDES, 1981; SANTOS *et al.*, 1987; THIENGO, 1995). Por essa razão, esses animais são capazes de permanecer longos períodos fora da água, quando estiveram e durante a realização de certos comportamentos. As fêmeas da espécie *P. haustum* saem da água para realizar a ovipostura permanecendo expostas ao ar por até duas horas (GUIMARÃES, 1981a). Este comportamento anfíbio pode ser prejudicial aos epibiontes.

Embora, teoricamente, viver sobre outro organismo possa proteger o epibionte de seus inimigos naturais (HENEERY & RIDGEWAY, 1979; COOK *et al.*, 1998), esses organismos não estão livres de serem mortos por causa da predação sobre os basibiontes. Espécies de *Pomacea* são predadas por aves aquáticas, roedores, peixes e larvas de insetos.

Os moluscos da espécie *P. figulina* constituem, portanto, um microambiente relativamente protegido e com suprimento alimentar favorável à colonização por protistas ciliados.

Os estudos sobre as associações epibióticas entre protistas ciliados e invertebrados aquáticos, existentes na literatura, abordam principalmente novos registros e aspectos morfológicos. Portanto, tornam-se necessários estudos que abordem as relações ecológicas entre estes organismos, visto que os protozoários epibiontes são um grupo bastante representativo nos ecossistemas aquáticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALADRO-LUBEL, M. A. AND MARTINEZ-MURILLO, M. E. 1999. Epibiotic Protozoa (Ciliophora) on a community of *Thalassia testudinum* banks ex Königin a coral reef in Veracruz, Mexico. **Aquatic Botany** **65**: 239-254.
- ANTIPA, G.A. 1977. Use of commensal protozoa as biological indicators of water quality and pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **96**: 482-489.
- BALDOCK, B.M. 1986. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Tricoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. **Hydrobiologia** **132**: 125-131.

- BUSH, A.O. & J.C. HOLMES. 1986. Intestinal helminths of lesser scaup ducks: patterns of association. **Canadian Journal of Zoology** **64**: 132-141.
- BUSH, A.O.; K.D. LAFFERTY; J.M. LOTZ & A.W. SHOSTAK. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **Journal of Parasitology** **83**: 575-583.
- COLER, R.A.; R.R. COLER; E.K.G. FELIZARDO & T. WATANABE. 2005. Applying weight gain in *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Mollusca: Prosobranchia) as a measure of herbicide toxicity. **Brazilian Journal of Biology** **65** (4): 617 - 623.
- COOK, J.A.; J.C. CHUBB & J. VELTKAMP. 1998. Epibionts of *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea, Isopoda): an SEM study. **Freshwater Biology** **39**: 423-438.
- CZAPIK, A. 1982. The effect of waste water on ciliate communities in the Biata Przemsza River. **Acta Hydrobiologica** **24** (1): 29-37.
- DIAS, R.J.P.; S. D'AVILA & M. D'AGOSTO. 2006. First record of peritrichs and suctorians (Protozoa, Ciliophora) on *Pomacea lineata* (Spix, 1827). **Brazilian Archives of Biology and Technology** **49** (5): 807-812.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; M. J. H. CORDOBA & P.G. ARCO. 1997. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda, Brachyura). **Invertebrate Biology** **116** (3): 171-177.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & R. GABILONDO. 2006. Inter-annual variability of the epibiotic community on *Pagurus bernhardus* Scotland. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** **66** (1-2): 35-54
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & M.L. TATO-PORTO. 2002. Distribution of the *Ophryodendron mysidcii* (Ciliophora, Suctoria) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). **Journal of Natural History** **36**: 505-513.
- FENCHEL, T. 1965. On the ciliate fauna associated with the marine amphipod *Gammarus* J.G. Fabricius. **Ophelia** **2**: 281-303.

- FENCHEL, T. 1987. **Ecology of Protozoa. The biology of free-living phagotrophic protists.** Berlin & Tokyo, Springer, 197p.
- FOISSNER, W. & H. BERGER. 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology** 35: 375-498.
- FOISSNER, W., H. BERGER & F. KOHMANN. 1992. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems-Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida.** Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft, Munich, 502p.
- FOISSNER, W., H. BERGER & J. SCHAUMBURG. 1999. **Identification and ecology of limnetic plankton ciliates.** Bavarian State Office for Water Management Munich Reports, 793p.
- GOODRICH, J.P. & T.L. JAHN. 1943. Epizoic Suctoria (Protozoa) from turtles. **Transactions of the American Microscopical Society** 62: 245-253.
- GRACIA, M.; C. CASTELLON, J. IGUAL & R. SUNYER. 1989. Ciliated protozoan communities in a fluvial ecosystem. **Hydrobiologia** 183: 11-31.
- GREEN, J. 1974. Parasites and epibionts of Cladocera. **Transactions of the Zoological Society of London** 32: 417-515.
- GUIMARÃES. C.T. 1981a. Algumas observações de laboratório sobre biologia e ecologia de *Pomacea haustum* (Reeve, 1856). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 76 (1): 33-46.
- GUIMARÃES. C.T. 1981b. Algumas observações de campo sobre biologia e ecologia de *Pomacea haustum* (Reeve, 1856) (Mollusca. Pilidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 76 (4): 343 – 351.

- HANAMURA, Y. 2000. Seasonality and infestation pattern of epibiosis in the beach mysid *Archaemysis articulata*. **Hydrobiologia** **427**: 121-127.
- HENEGBRY, M. S. & B. T. RIDGEWAY. 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic water pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **98** (4): 495-508.
- HUL, M. 1987. The effect of domestic sewage on the structure of the microbenthic ciliate communities in the Lyna River. **Polskie Archiwum Hydrobiologie** **34**: 567-578.
- JAYASREE, L.; P. JANAKIRAM & R. MADHAVI. 2001. Epibionts and parasites of *Macrobrachium rosenbergii* and *Metapenaeus dobsoni* from Gosthani estuary. **Journal of Natural History** **35**: 157-167.
- KAHL, A. 1935. Peritrichia und Chonotricha, p. 651-805. In: F. DAHL (Ed.). **Urtiere Oder Protozoa**. Deutschlands, Gustav Fischer, 886p.
- KUDO, R.R. 1966. **Protozoology**. Illinois, Charles C. Thomas, 786p.
- KUSUOKA, Y & Y. WATANABE. 1987. Growth and survival of peritrich ciliates in an urban stream. **Oecologia** **73**: 16-20.
- LAIRD, M. 1959. Parasites of Singapore mosquitoes, with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. **Ecology** **40** (2): 206-221.
- LATUF, M. 2004. Diagnóstico das águas superficiais do córrego São Pedro, Juiz de Fora/MG. **Geografia** **13** (1): 18-55. Disponível em <<http://www.geo.uel.br/revista>>. Acesso em 12.03.2006.
- LOPEZ, C; E. OCHOA; R. PÁEZ & S. THEIS. 1998. Epizoans on a tropical freshwater crustacean assemblage. **Marine & Freshwater Research** **49**: 271-276.
- LOPEZ-OCHOTERENA, E. 1964. Mexican Ciliated Protozoa III. *Hypophrya fasciculata* gen. nov., sp. nov. (Ciliata: Suctorida). **Journal of Protozoology** **11** (2): 224-228.

- MADONI, P. 1993. Ciliated protozoa and water quality in the Parma River (Northern Italy): long-term changes in the community structure. **Hydrobiologia** **264**: 129-135.
- MADONI, P. 2005. Ciliated protozoans communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). **Hydrobiologia** **541**: 55-69.
- MADONI, P. & N. BASSANINI. 1999. Longitudinal changes in the ciliated protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology** **35**: 391-402.
- MADONI, P. & P. F. GHETTI. 1981. Ciliated Protozoa and water quality in the Torrente Stirone (Northern Italy). **Acta Hydrobiologica** **23** (2): 143-154.
- MARGOLIS, L.; G.W. ESCH; J.C. HOLMES; A.M. KURIS & G.A. SCHAD. 1982. The use of ecological terms in parasitology. **Journal of Parasitology** **68**: 131-133.
- MAYÉN-ESTRADA, R. & M.A. ALADRO-LUBEL. 1998. Tres especies de suctores (Protozoa: Ciliophora) ectosimbiontes del acocil *Cambarellus patzcuarensis*. **Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología** **69**: 1-12.
- MAYÉN-ESTRADA, R. & M.A. ALADRO-LUBEL. 2002. Distribution and Prevalence of 15 species of epibiont petrich ciliates on the crayfish *Camabarellus patzcuarensis* Villalobos, 1943 in lake Pátzcuaro, Michoacán, México. **Crustaceana** **74** (11): 1213-1224.
- MILWARD-DE-ANDRADE. R.; O.S. CARVALHO & C.T. GUIMARÃES. 1975. Alguns dados bioecológicos de *Pomacea haustum* (Reeve, 1856). Predador – competidor de hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* Sambon 1907. **Boletim de Saúde Pública** **12**: 75-89.

- MOSS, A.G.; A.M. ESTES; L.A. MUELLNER & D.D. MORGAN. 2001. Protistan epibionts of the ctenophore *Mnemiopsis mccradyi* Mayer. **Hydrobiologia** **451**: 295-304.
- NENNINGER, U. 1948. Die Peritrichen der umgebung von erlangen mit besonderer berücksichtigung ihrer wirtsspezifität. **Zoologisches Jahrbuch Systematik** **77** (3/4): 169-266.
- PRATT, J.R. & J. JR. CAIRNS. 1985. Functional groups in the Protozoa: roles in differing ecosystems. **Journal of Protozoology** **32**: 415-422.
- PRIMC, B. 1988. Trophic relationships of ciliated Protozoa developed under different saprobic conditions in the periphyton of the Sava River. **Periodicum Biologorum** **90** (3): 349-353.
- PRIMC-HABDIJA, B., I. HABDIJA & I. RADANOVIC. 1998. Seasonal changes in trophic structure of periphytic ciliates in relation to discharge regime. **Verhandlungen Internationale Vereinigen Limnologie** **26**: 1116-1119.
- PUCKETT, G.L. & K.R. CARMAN. 2002. Ciliate epibiont effects on feeding, energy reserves, and sensitivity to hydrocarbon contaminants in an estuarine harpacticoid copepod. **Estuaries** **25** (3): 372-381.
- REGALI-SELEGHIM, M.H. & M.J.L. GODINHO. 2004. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). **Journal of Plankton Research** **26** (5): 501-508.
- ROBERTS, G.N. & J.C. CHUBB. 1998. The distribution and location of the symbiont *Lagenophrys aselli* on the freshwater isopod *Asellus aquaticus*. **Freshwater Biology** **40**: 671-677.
- SANTOS, C.A.Z. & E.G. MENDES. 1981. Oxygen consumption of the amphibious snail *Pomacea lineata*; influence of weight, sex and environments. **Comparative Biochemistry and Physiology** **69**: 595-598.

- SANTOS, C.A.Z.; C.H.S. PENTEADO & E.G. MENDES. 1987. The respiratory responses of an amphibious snail *Pomacea lineata* (Spix, 1827), to temperature and oxygen tension variations. **Comparative Biochemistry and Physiology** **86** (3): 409 – 415.
- SMITH, M.E. 1986. Distribution patterns and seasonal occurrence of *Rhabdostyla* sp. (Peritricha: Epistylididae) on *Dero nivea* (Oligochaeta: Naididae). **American Midland Naturalist** **116**: 348-355.
- SOLA, A.; J.F. LONGÁS; S. SERRANO & A. GUINEA. 1996. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia** **324**: 237-252.
- STÖSSEL, F. 1987. Effect of the coefficients of discharge on ciliate populations of a running water contaminated by municipal wastewater. **Archiv für Hydrobiologie** **108**: 483-497.
- THIENGO, S.C. 1995. Família Pilidae. p.50-69. In: **Tópicos em malacologia médica**. F.S. BARBOSA (Eds.). Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 314 p.
- UTZ, L. R. P. 2005. Primeiro registro de *Epistylis plicatilis* Ehremberg, 1838 (Ciliophora, Peritrichia) epibionte em *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1819) no sul do Brasil. **Anais do XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia**.
- XU, Z. 1992. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphniae* related to their *Moina macrocopa* in an urban stream. **Journal of Invertebrate Pathology** **60**: 197-200.
- XU, Z & C.W. BURNS. 1991. Effects of the epizoic ciliate, *Epistylis daphniae* on growth, reproduction and mortality of *Boeckella triarticulata* (Thomson) (Copepoda: Calanoida). **Hydrobiologia** **209**: 183-189.
- WAHL, M. 1989. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling some basic aspects. **Marine Ecology Progress Series** **58**: 175-189.
- WARREN, A. 1986. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichia). **Bulletin of the British Museum (Natural History)** **50** (1): 1-57.

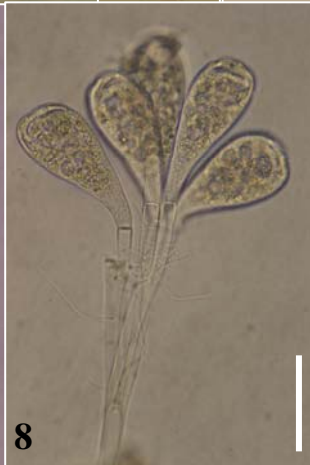
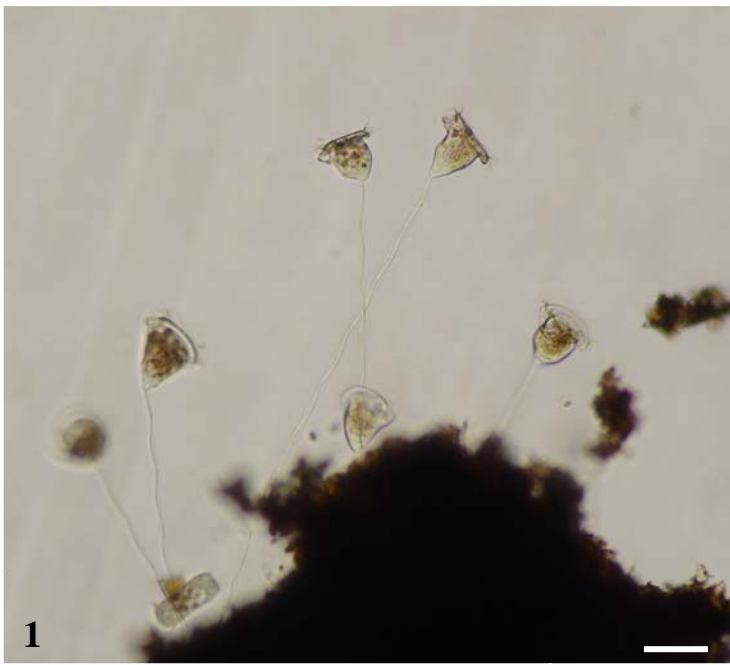
WARREN, A. 1991. A scanning electron microscopic study of the morphology of *Scyphidia physarum* Lachmann, 1856 (Ciliophora: Peritrichia). **Scanning Microscopy** 5 (1): 281-286.

Prancha XIX

Figuras 1-10. Fotomicrografias dos protistas ciliados epibiontes de *Pomacea figulina* in vivo.

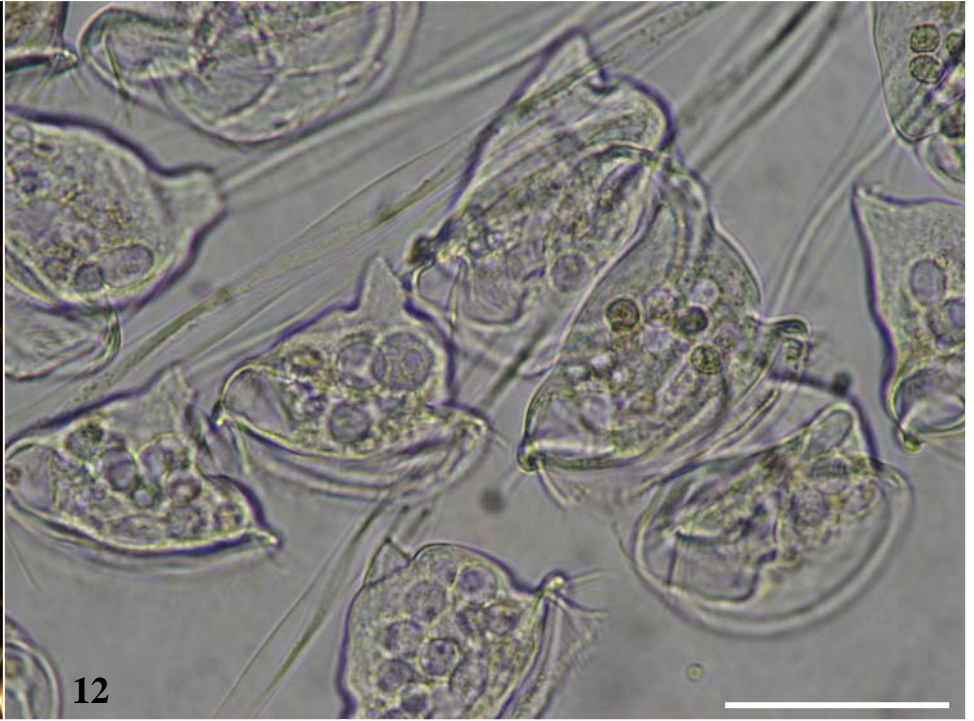
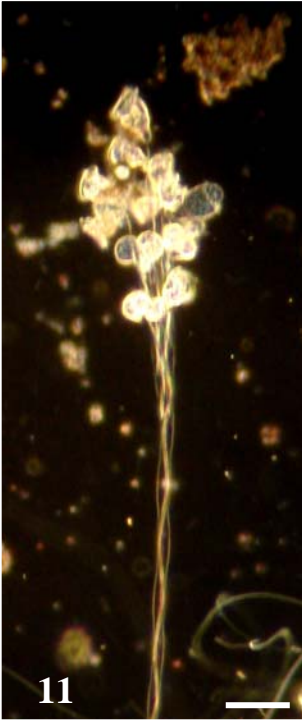
1-2. *Vorticella campanula*. **3-4.** *Epistylis plicatilis*. **5-6.** *Opercularia* sp. **7.** *Vorticella microstoma*.

8-10. *Epistylis* sp., com as setas indicando a separação do zoóide durante o processo de reprodução assexuada. Barras = 50 µm.



Prancha XX

Figuras 11-14. Fotomicrografias dos protistas ciliados epibiontes de *Pomacea figulina* in vivo. 11-13. *Carchesium polypinum*. 11. Vista geral da colônia. 12. Detalhe dos zoóides. 13. Detalhe dos zoóides em contraste de fase. 14a. Colônia de *Carchesium polypinum* abrigando o suctório *Hypophrya fasciculata* (setas). 14b. Vista superior do suctório *Hypophrya fasciculata*. Barras = 100 µm.



Prancha XXI

Figuras 15-17. Fotomicrografias dos protistas ciliados epibiontes de *Pomacea figulina* in vivo. 15-16. *Hypophrya fasciculata*. 17. *Hypophrya fasciculata* como epibionte de *Carchesium polypinum*. Barras = 100 µm.



CAPÍTULO VI

LOCALIZAÇÃO, DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DE PROTISTAS CILIADOS DO GÊNERO *Rhabdostyla* (CILIOPHORA, PERITRICHIA, EPISTYLIDIDAE) SOBRE *Limnodrilus hoffmeisteri* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA, TUBIFICIDAE)

RESUMO

Foram investigados o sítio de localização e o padrão de distribuição espacial e temporal de protistas ciliados peritríquios do gênero *Rhabdostyla* colonizando oligoquetas límnicos tubificídeos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* em cinco estações de coleta do córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, ao longo de 11 meses de coleta. Dos 903 oligoquetas da espécie *L. hoffmeisteri* analisados no estudo de sítio de localização, 1,43% estavam infestados por *Rhabdostyla* spp. Foram observados três padrões de localização dos ciliados sobre os oligoquetas: agregados posteriormente (61,53%), uniformemente distribuídos posteriormente (23,08%) e dispersos ao longo do corpo do hospedeiro (15,39%). A localização de *Rhabdostyla* sp. predominantemente na região posterior de *L. hoffmeisteri*, pode estar relacionada com três necessidades ecológicas dos ciliados: disponibilidade de alimento, local oxigenado e com menor atrito. O padrão de ocorrência dos epibiontes sobre os oligoquetas apresentou heterogeneidade espacial e temporal. Não foi verificada correlação entre a disponibilidade de substrato e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes em cada estação amostral ao longo dos 11 meses de amostragem. Não houve diferença significativa entre os valores de prevalência de infestação dos ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre oligoquetas imaturos e maduros de *L. hoffmeisteri*, nas estações amostrais. Os resultados são discutidos em termos das possíveis causas da localização dos ciliados preferencialmente na região posterior dos oligoquetas e dos fatores relacionados ao padrão de distribuição espacial e temporal heterogêneo.

Palavras-chave: ciliados, epibiontes, *Limnodrilus hoffmeisteri*, oligoquetas, *Rhabdostyla*.

INTRODUÇÃO

A relação epibiótica é uma associação facultativa entre dois organismos: o epibionte, que coloniza superfícies de substratos vivos, e o basibionte, que hospeda os epibiontes (WAHL, 1989; FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2002). Apesar de muitos ciliados epibiontes não serem nocivos aos seus basibiontes, alguns estudos têm demonstrado que os epibiontes podem causar efeitos deletérios aos hospedeiros (GREEN, 1974; HENEBRY & RIGDEWAY, 1979; XU, 1992; SCHUWERACK *et al.*, 2001; PUCKETT & CARMAN, 2002).

Os protozoários ciliados peritríquios vivem como epibiontes de uma variedade de espécies de metazoários aquáticos, incluindo diversos grupos de invertebrados: esponjas, cnidários, ctenóforos, rotíferos, tardígrados, planárias, crustáceos, anelídeos, larvas de insetos, moluscos e de vertebrados: peixes, girinos e cágados (KAHL, 1935; GOODRICH & JAHN, 1943; LAIRD, 1959; CORLISS, 1979; FOISSNER *et al.*, 1992, 1999; FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2002; MOSS *et al.*, 2001). Os ciliados do gênero *Rhabdostyla* Kent, 1880 (Peritrichia, Epistylididae) vivem, em sua grande maioria, como epibiontes de invertebrados aquáticos, tais como crustáceos (cladóceros, copépodos e ostrácodos), insetos das ordens Ephemeroptera e Diptera (Chironomidae) e anelídeos Oligochaeta e Polychaeta (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004).

Os ciliados epibiontes desempenham importante papel ecológico nos ecossistemas de água doce, porém a maioria trabalhos sobre estes organismos é de cunho morfológico e taxonômico (BALDOCK, 1986), sendo escassos estudos que abordem os aspectos quantitativos da relação epibiótica (BALDOCK, 1986; XU, 1992; COOK, *et al.*, 1998; HANAMURA, 2000, UTZ & COATS, 2005). Pouco se sabe sobre a relação entre protistas ciliados e oligoquetas límnicos, uma vez que quase a totalidade dos estudos trata de registros de ocorrência e descrições de espécies (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; RIGHI, 1973; FOISSNER *et al.*, 1992), sendo que somente SMITH (1986) estudou os aspectos quantitativos desta relação. Nos ecossistemas tropicais e subtropicais há apenas um estudo, de cunho taxonômico, realizado por RIGHI (1973) em um ambiente edáfico, no Estado de Minas Gerais, Brasil.

Os oligoquetas límnicos, apesar de sua importância na ciclagem de nutrientes (LOTESTE & MARCHESI, 1994) e de sua aplicabilidade no monitoramento ambiental (ALVES & DE LUCCA, 2000; RODRIGUEZ *et al.*, 2006), têm sido ignorados nos estudos qualitativos e quantitativos dos macroinvertebrados bentônicos, devido à considerável dificuldade de identificação (VERDONSCHOT *et al.*, 1982). *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparède, 1862 (Oligochaeta, Tubificidae) é o mais comum tubificídeo de água doce do mundo, apresentando ampla distribuição geográfica e ocorrendo nos mais variados ecossistemas dulciaquícolas (WETZEL & TAYLOR, 2001), inclusive em cavernas (SWAYNE *et al.*, 2004). Segundo RIGHI (1984), existem registros de *L. hoffmeisteri* em diversas localidades do Brasil. Esses vermes são tolerantes à poluição, sendo indicadores de ambientes enriquecidos organicamente e com baixas concentrações de oxigênio dissolvido (FISHER & BEETON, 1975; BRINKHURST & MARCHESI, 1989).

O objetivo do presente trabalho foi analisar a localização e a distribuição espacial e temporal de *Rhabdostyla* spp. (Peritrichia, Epistylididae) colonizando oligoquetas límnicos

da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta, Tubificidae) em córrego urbano no Sudeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O termo sítio de localização, usado no decorrer do presente trabalho, relaciona-se à posição dos ciliados sobre a superfície dos hospedeiros, enquanto o termo distribuição relaciona-se com a prevalência de infestação dos protistas sobre os oligoquetas nas cinco estações amostrais (distribuição espacial) ao longo dos 11 meses de coleta (distribuição temporal).

Sítio de localização de *Rhabdostyla* spp. sobre *Limnodrilus hoffmeisteri*

Para o estudo do sítio de localização, foram obtidos os oligoquetas em uma coleta do sedimento, em novembro de 2005, no córrego São Pedro (E5, ver capítulo I), com auxílio de uma draga de Petterson. Os primeiros 1000 oligoquetas presentes na amostra foram triados e montados *in vivo*, entre lâmina e lamínula, para a identificação e quantificação dos vermes da espécie *L. hoffmeisteri*. A localização dos ciliados epibiontes da espécie *Rhabdostyla* sp. sobre *L. hoffmeisteri* foi registrada, por meio fotográfico, com auxílio de um microscópio de campo claro e de uma máquina digital SONY 7.2 megapixels. Após a observação dos ciliados *in vivo*, os oligoquetas contendo epibiontes foram fixados conforme SILVA-NETO (1994) para a realização da técnica de microscopia eletrônica de varredura.

Distribuição espacial e temporal da infestação

Para o estudo da distribuição espacial e temporal dos ciliados sobre *L. hoffmeisteri*, foram realizadas 11 coletas, com intervalo de aproximadamente de 30 dias, entre junho de 2005 e maio de 2006, em cinco estações amostrais do córrego São Pedro (bacia do rio Paraibuna), localizado na região sudoeste da área urbana do município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As estações amostrais 1 (E1) (UTM= 23K, 661317; 7590765) e 2 (E2) (UTM= 23K, 661799; 7591070) localizam-se em zona rural, próximas às nascentes. As estações amostrais 3 (E3) (UTM= 23K, 666477; 7591092), 4 (E4) (UTM= 23K, 668307; 7591772) e 5 (E5) (UTM= 23K, 668954; 7593495) localizam-se em uma região com ampla ocupação urbana, onde pode ser observado, lançamento direto de esgoto doméstico (ver FIGS. 1 e 2 capítulo I). A região da bacia do rio Paraibuna é caracterizada por apresentar duas estações ao longo do ano, uma seca e fria e outra quente e chuvosa. A estação seca começa em abril e termina em setembro e a estação chuvosa começa em outubro e termina em março (LATUF, 2004). Amostras do sedimento, trélicas em cada ponto de coleta, foram coletadas com o

auxílio de uma draga de Petersen (189 cm²). As amostras foram lavadas em peneiras com 210 µm de abertura de malha e os oligoquetas retidos foram fixados em formalina 8%, e posteriormente identificados sob microscópio de campo claro. Os vermes da espécie *L. hoffmeisteri* foram separados, quantificados e examinados sob microscópio de campo claro para a verificação da prevalência de infestação (MARGOLIS *et al.*, 1982) pelos ciliados do gênero *Rhabdostyla*. Os oligoquetas sem bainha peniana foram considerados indivíduos imaturos e àqueles com a bainha peniana foram considerados indivíduos adultos.

A identificação dos ciliados epibiontes foi feita utilizando as chaves de identificação de KAHL (1935), FOISSNER *et al.* (1992), FOISSNER & BERGER (1996) e os oligoquetas foram identificados usando a chave proposta por BRINKHURST & MARCHESE (1989).

Para verificar diferenças nas prevalências de infestação entre as estações amostrais ao longo dos meses de coleta e avaliar se existiu diferença significativa entre a prevalência de infestação dos ciliados sobre oligoquetas imaturos e maduros, foi utilizado o teste Mann-Whitney. Para verificar correlação entre a disponibilidade de substrato e a prevalência de infestação foi utilizado o teste de correlação de Spearman. Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o programa Bioestat 2.0.

RESULTADOS

Foram registrados ciliados peritríquios do gênero *Rhabdostyla* colonizando oligoquetas imaturos e maduros da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* nas estações amostrais 3, 4 e 5 e sobre oligoquetas imaturos na estação amostral 2 do córrego São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais.

Sítios de localização

Dos 1000 oligoquetas analisados, 903 (90,3%) eram da espécie *L. hoffmeisteri*, sendo que 13 (1,43%) destes estavam colonizados por *Rhabdostyla* spp. (Peritrichia, Epistylididae) (FIGS. 2-5, 6a,b, 7-12). Foram observados três padrões de localização dos ciliados sobre os 13 oligoquetas: agregados posteriormente (61,53%, n=8) (FIG. 1a, 2-5), uniformemente distribuídos posteriormente (23,08%, n=3) (FIG. 1b) e dispersos ao longo do corpo do hospedeiro (15,39%, n=2) (FIG. 1c). Embora não se tenha quantificado os ciliados por hospedeiro, foi observada uma maior concentração de protistas ciliados no padrão agregado posteriormente (FIG. 1a, 2-5).

Distribuição espacial e temporal da infestação

A abundância total, ao longo do 11 meses de coleta, de *L. hoffmeisteri* variou entre as estações amostrais, sendo maior na estação 5 ($3547,72 \pm 3790,21$), seguido pelos valores das estações 4 ($576,09 \pm 618,15$), 2 ($437,00 \pm 312,35$) e 3 ($322,36 \pm 190,49$) (FIG. 13). Os valores de prevalência de infestação também variaram, em média, entre as estações amostrais, apresentando elevados valores na estação 4 ($4,68 \pm 4,52$) quando comparados aos valores obtidos para as estações 5 ($2,03 \pm 1,88$), 3 ($0,24 \pm 0,49$) e 2 ($0,08 \pm 0,29$) (FIG. 14). Os dados de prevalência de infestação nas quatro estações amostrais ao longo dos 11 meses de coleta estão apresentados na figura 15. Houve diferença significativa (Mann-Whitney, $p < 0,05$), analisando-se a prevalência de infestação durante as 11 coletas, entre as estações 2 e 4 (Mann-Whitney, $p = 0,01$), 2 e 5 (Mann-Whitney, $p = 0,03$), 3 e 4 (Mann-Whitney, $p = 0,001$), 3 e 5 (Mann-Whitney, $p = 0,007$). Não houve diferença significativa (Mann-Whitney, $p > 0,05$) entre os valores de prevalência de infestação somente entre as estações 2 e 3 (Mann-Whitney, $p = 0,718$) e entre as estações 4 e 5 (Mann-Whitney, $p = 0,139$).

Não houve correlação (teste de correlação de Spearman, $p > 0,05$) entre a disponibilidade de substrato (abundância dos hospedeiros) e a prevalência de infestação por ciliados epibiontes em cada estação amostral ao longo dos 11 meses de amostragem (FIG. 16).

Não houve diferença significativa (Mann-Whitney, $p > 0,05$) entre os valores de prevalência de infestação dos ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre oligoquetas imaturos e maduros sexualmente e nem entre imaturos, maduros e o número total de oligoquetas da espécie *L. hoffmeisteri*, nas estações amostrais 3, 4 e 5 (FIG. 17).

DISCUSSÃO

Registro

O presente trabalho registra, pela primeira vez, ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre tubificídeos da espécie *L. hoffmeisteri*. O gênero *Rhabdostyla* foi registrado sobre oligoquetas das famílias Tubificidae: *Tubifex* sp., Lumbriculidae: *Lumbriculus variegatus* Müller, 1774 e Naididae: *Dero (Dero) nivea* Aiyer, 1929, *D. (Dero) digitata* (Müller, 1773), *Nais elinguis* Müller, 1773, *Nais variabilis* Piguet, 1906, *Pristina minuta* (Stephenson, 1914), *Pristina longiseta* Ehrenberg, 1828, *Stylaria* sp. (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; RIGHI, 1973; SMITH, 1986; FOISSNER *et al.*, 1992). No Brasil, foram registradas as espécies *R. pristinis* Righi, 1973 sobre *P. minuta*, em amostras de solo na Serra do Cipó, Minas Gerais (RIGHI, 1973); *Rhabdostyla* sp. sobre organismos do zooplâncton no reservatório Monjolinho, na cidade de São Carlos, São Paulo (REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004); e *R. chironomi*

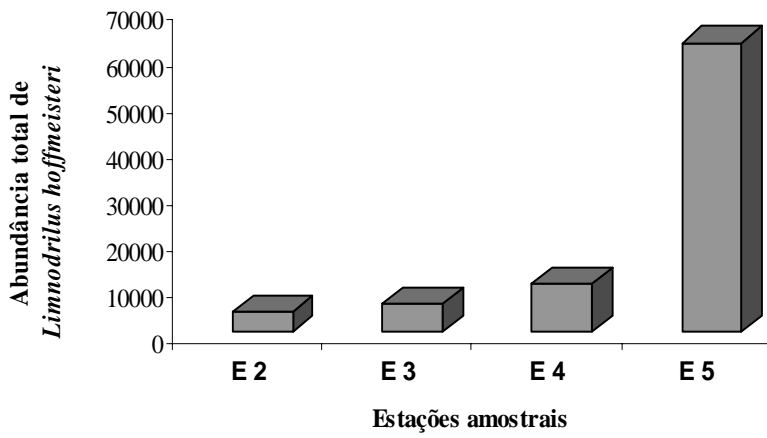


Figura 13. Abundância total de *Limnodrillus hoffmeisteri* nas estações amostrais 2 (E2), 3 (E3), 4 (E4) e 5 (E5) ao longo de 11 coletas.

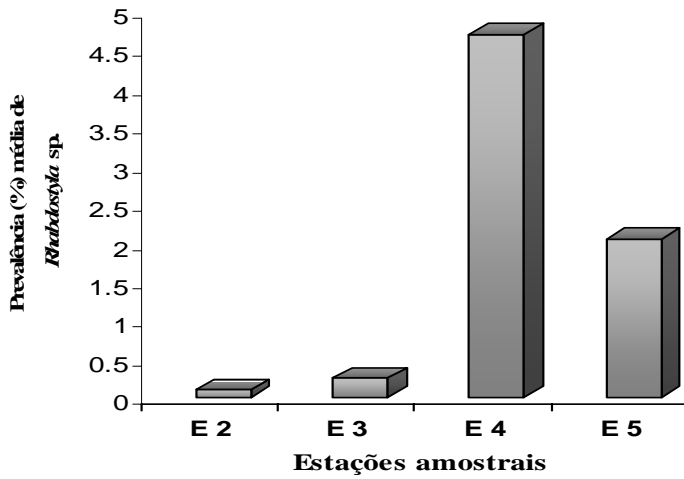


Figura 14. Prevalência média de infestação (%) de *Rhabdostyla* spp. sobre *Limnodrillus hoffmeisteri* nas estações amostrais 2 (E2), 3 (E3), 4 (E4) e 5 (E5).

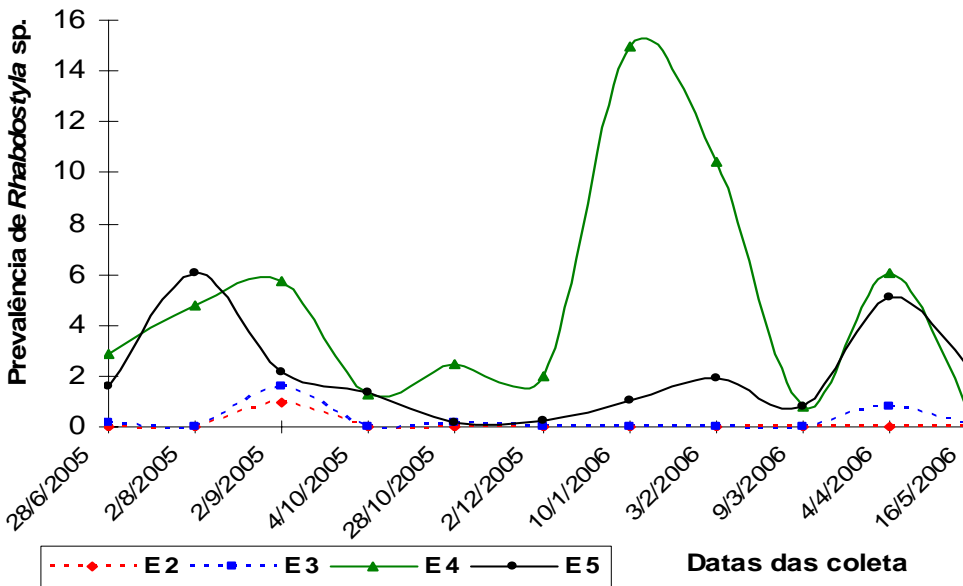


Figura 15. Prevalência de infestação (%) de *Rhabdostyla* spp. sobre *Limnodrillus hoffmeisteri* nas estações amostrais 2 (E2), 3 (E3), 4 (E4) e 5 (E5) ao longo de 11 meses de coleta.

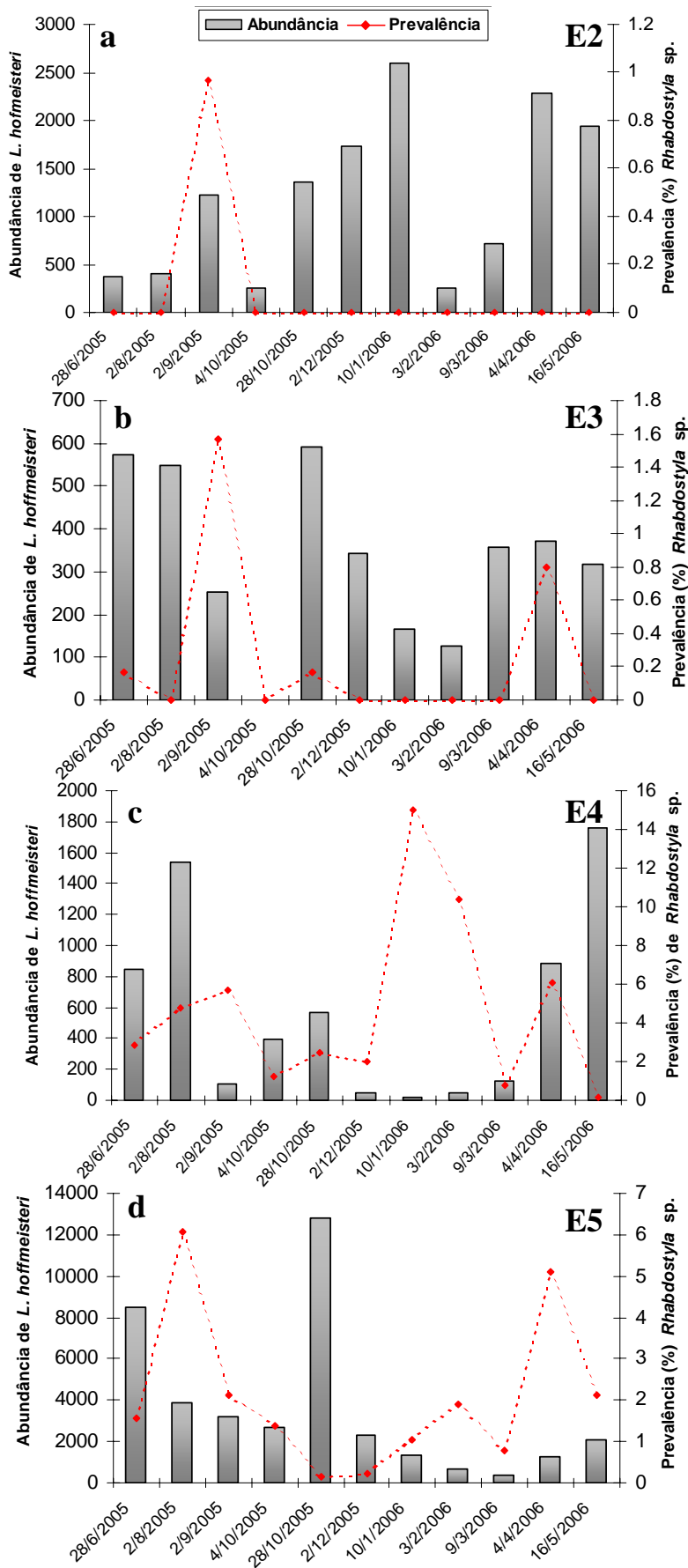


Figura 16a-d. Abundância de *Limnodrillus hoffmeisteri* x prevalência de infestação (%) de *Rhabdosstyla* spp. nas estações amostrais 2 (a), 3 (b), 4 (c) e 5 (d) ao longo de 11 meses de coleta.

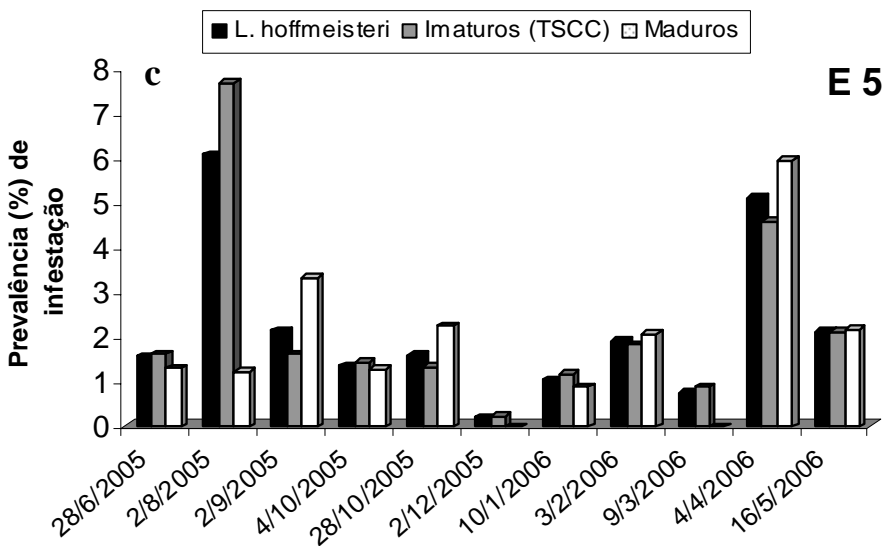
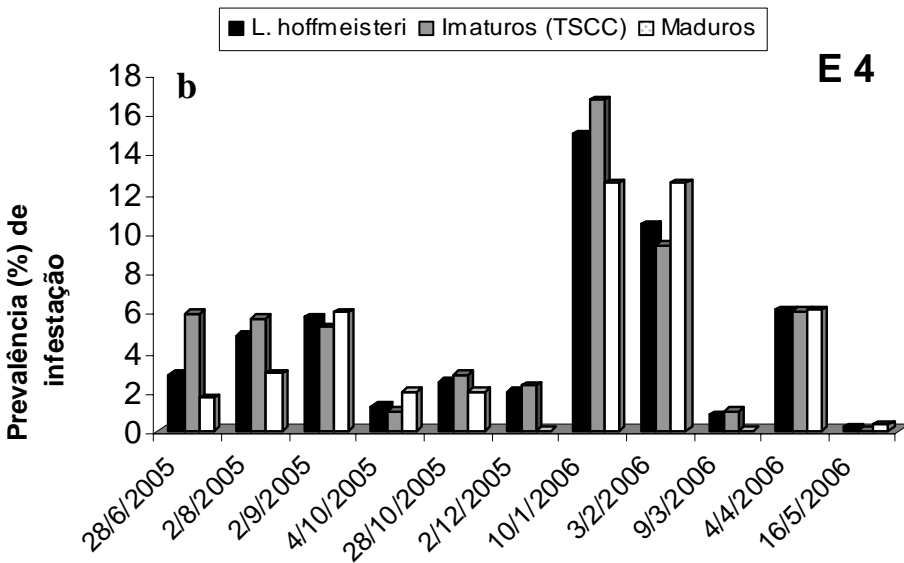
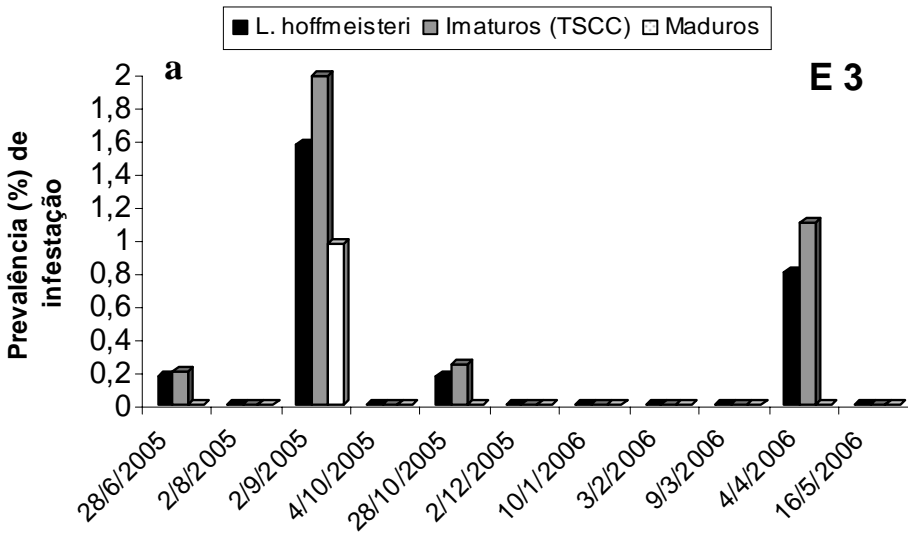


Figura 17a-c. Prevalência de infestação (%) de *Rhabdostyla* spp. sobre oligoquetas imaturos e maduros da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* nas estações amostrais 3 (a), 4 (b) e 5 (c) ao longo de 11 meses de coleta.

sobre larvas de *Chironomus* gr. *decorus* Johannsen, 1905 no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais (DIAS *et al.*, no prelo) (capítulo VII).

Sítios de localização

A preferência por sítios de localização no hospedeiro é uma característica das espécies componentes de comunidades epibióticas e reflete suas necessidades ecológicas, sendo determinada tanto pelas condições ambientais quanto pela biologia e comportamento dos hospedeiros (FENCHEL, 1965; FERNANDEZ-LEBORANS *et al.*, 1997). Os vermes oligoquetas possuem poucas especializações morfológicas externas, quando comparados aos crustáceos, insetos e outros invertebrados aquáticos (SMITH, 1986). No entanto, no presente trabalho, a maioria dos ciliados observados foi registrada na região posterior dos oligoquetas. SMITH (1986), estudando o padrão de distribuição de *Rhabdostyla* sp. sobre *D. nivea*, observou que 80% dos ciliados se localizavam nos últimos segmentos corporais dos oligoquetas.

A localização de *Rhabdostyla* sp., predominantemente na região posterior de *L. hoffmeisteri*, pode estar relacionada com três necessidades ecológicas dos ciliados: disponibilidade de alimento, local oxigenado e com menor atrito.

Estudos sobre a colonização por ciliados em crustáceos têm demonstrado que peritríquios epibiontes, por serem bacterívoros, se beneficiam do material em suspensão gerado durante a alimentação de seus hospedeiros (FENCHEL, 1965; GREEN, 1974; EVANS *et al.*, 1979; FERNANDEZ-LEBORANS *et al.*, 1997; COOK *et al.*, 1998; ROBERTS & CHUBB, 1998; MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL, 2002; UTZ & COATS, 2005), principalmente quando este alimento se encontra estratificado no ambiente (KANKAALA & ELORANTA, 1987), como é o caso das bactérias bentônicas. Os oligoquetas Tubificidae são detritívoros e ao ingerirem matéria orgânica e bactérias associadas ao sedimento suspendem as bactérias estratificadas que vivem na interface água-sedimento (SWAYNE *et al.*, 2004), o que aumenta a disponibilidade destas bactérias para seus epibiontes.

Os Tubificidae são frequentemente observados em posição vertical no sedimento, com a região anterior enterrada e a posterior se movimentando na água. Quando as concentrações de oxigênio na interface água-sedimento aumentam, a parte posterior dos oligoquetas não se move. No entanto, quando essas concentrações diminuem, os tubificídeos movimentam a região posterior do corpo. O comportamento exibido por estes vermes de movimentar a porção final do corpo aumenta a oxigenação da água naquele local e provavelmente favorece a colonização dos ciliados nos últimos segmentos corporais (LEYNEN *et al.*, 1999; SWAYNE *et al.*, 2004).

Alguns autores citam o suprimento de oxigênio como sendo um importante fator responsável pela localização dos ciliados em sítios específicos sobre o hospedeiro (SMITH, 1986; DIAS *et al.*, no prelo). SMITH (1986) atribui à ventilação gerada pelas brânquias ciliadas, localizadas na região posterior de *D. nivea* (Naididae), o maior número de ciliados (80%) localizados na porção final do oligoquetas. DIAS *et al.* (no prelo) registraram *R. chironomi* sobre os túbulos abdominais de larvas de quironomídeos e relataram que a localização dos ciliados pode estar relacionada com o comportamento de ventilação exibido pelo hospedeiro, que ao vibrar os túbulos respiratórios ampliam as trocas respiratórias que ocorrem entre a superfície destes apêndices e o oxigênio dissolvido na água. A localização em uma região de troca respiratória, segundo os autores, favorece a colonização pelos ciliados, devido ao maior suprimento de oxigênio nesta região.

As regiões de maior atrito nos hospedeiros são evitadas pelos protistas ciliados e influenciam a ocorrência em sítios específicos de localização sobre os basibiontes (GREEN, 1974; FERNANDEZ-LEBORANS *et al.*, 1997; ROBERTS & CHUBB, 1998; UTZ & COATS, 2005). Segundo GREEN (1974), o movimento das antenas nos cladóceros causa a contração dos zoóides de ciliados coloniais, impedindo que estes se alimentem. Segundo FERNANDEZ-LEBORANS *et al.* (1997), *Liocarcinus depurator* (Linnaeus, 1758) possui menos epibiontes ciliados que outros decápodos, devido ao seu hábito de se enterrar. O maior fluxo de água nas bordas do pleópode de *Asellus aquaticus* (Linnaeus, 1758) é um fator chave que promove a predileção de *Lagenophrys aselli* Plate, 1886 (Ciliophora, Peritrichia) pela região central deste apêndice. UTZ & COATS (2005) observaram menores densidades de ciliados peritríquios nas antenas e pernas de copépodos, devido à maior mobilidade destas regiões.

Distribuição espacial e temporal da infestação

Existem poucos estudos que abordam o padrão de distribuição espacial de protistas ciliados epibiontes, sendo a maior parte trabalhos sobre epibiontes de crustáceos planctônicos (UTZ & COATS, 2005). Os referidos autores observaram, tal como no presente trabalho, heterogeneidade entre as prevalências de infestação em diferentes estações amostrais analisadas.

Existem consideráveis variações na relação entre prevalência de infestação e abundância dos hospedeiros. THRELKELD *et al.* (1993), em um artigo de revisão, relataram que das 25 relações epibióticas entre protistas e crustáceos analisadas, 68% não apresentaram correlação entre prevalência e densidade do hospedeiro, e os 32% restantes apresentaram correlação positiva. Altas prevalências de infestação geralmente têm sido observadas quando as espécies de hospedeiros são mais abundantes (HENEVRY & RIDGEWAY, 1979; SMITH, 1986;

XU, 1992; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004). HANAMURA (2000), estudando o padrão de infestação de ciliados sobre *Archaemysis articulata* Hanamura, 1997, registrou correlação negativa entre prevalência dos epibiontes e abundância dos basibiontes. No córrego São Pedro, a prevalência dos ciliados do gênero *Rhabdostyla* não se correlacionou com a abundância dos oligoquetas da espécie *L. hoffmeisteri*. Uma possível explicação para esta ausência de correlação pode estar relacionada com a baixa especificidade dos ciliados ao hospedeiro. Os protozoários do gênero *Rhabdostyla* também foram registrados sobre outras seis espécies de oligoquetas límnicos no córrego São Pedro (CABRAL *et al.*, 2006-resumo). Segundo THRELKELD *et al.* (1993), alta correlação entre prevalência de infestação e densidade do hospedeiro sugere alta especificidade entre epibiontes e basibiontes.

As prevalências de infestação, no presente trabalho, foram similares sobre hospedeiros imaturos e maduros sexualmente. Segundo PASTERIS *et al.* (1999), o peso corporal não é um critério que diferencia indivíduos imaturos e maduros de *L. hoffmeisteri*. A principal diferença está na presença ou não da bainha peniana. A ausência de diferenças na morfologia externa e no comportamento entre imaturos e maduros parecem ser os principais responsáveis pela semelhança na prevalência de infestação de indivíduos jovens e adultos. HANAMURA (2000) observou que copépodos maiores da espécie *A. articulata* possuíam uma maior prevalência de infestação por ciliados quando comparados aos copépodos menores da mesma espécie, provavelmente porque indivíduos jovens realizam um maior número de ecdises que os adultos. UTZ & COATS (2005) estudando a relação epibiótica entre duas espécies de ciliados peritríquos, *Zoothamnium intermedium* Precht, 1935 e *Epistylis* sp., e duas espécies de copépodos, *Acartia tonsa* Dana, 1848 e *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880), na Baía de Chesapeake, EUA, encontraram o oposto. Relataram uma maior densidade de infestação sobre copepoditos quando comparada aos adultos e atribuíram esta diferença à maior susceptibilidade à predação dos adultos, que se tornam, quando colonizados por ciliados peritríquios, mais visíveis pelo aumento de tamanho e pela mudança da cor.

Apesar de muitos ciliados epibiontes não serem nocivos aos seus hospedeiros, em altas densidades podem diminuir a sua fecundidade (GREEN, 1974; HENEERY & RIDGEWAY, 1979), o tempo de sobrevivência (XU & BURNS, 1991), causar lesões e tornar os basibiontes mais suscetíveis a doenças (SCHUWERACK *et al.*, 2001), alterar a locomoção (HENEERY & RIDGEWAY, 1979; GÖRTZ, 1996), competir por alimento (KANKAALA & ELORANTA, 1987), aumentar a susceptibilidade à predação (EVANS *et al.*, 1979; THRELKELD & WILLEY, 1993), aumentar a demanda energética destes hospedeiros, diminuindo, assim, o seu valor adaptativo (WEISSMAN *et al.*, 1993). SMITH (1986) relata que, devido à baixa densidade de infestação de *Rhabdostyla* sp. sobre oligoquetas da espécie *D. nivea*, esta relação epibiótica parece não

causar danos aos vermes basibiontes. No presente trabalho foram observados, embora não tenha sido realizada quantificação, muitos ciliados epibiontes na porção final dos oligoquetas. Estudos posteriores que abordem os aspectos quantitativos desta relação poderão discutir os possíveis efeitos deletérios dos ciliados sobre os oligoquetas.

No presente estudo, foram documentados o sítio de localização e o padrão de ocorrência espacial e temporal de protistas ciliados sobre oligoquetas límnicos da espécie *L. hoffmeisteri*. Pesquisas futuras irão explorar o possível uso desta relação como indicadora da qualidade da água, bem como os aspectos taxonômicos e morfológicos das espécies do gênero *Rhabdostyla* que colonizam as espécies de oligoquetas do córrego São Pedro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R.G. & J.V. LUCCA. 2000. Oligochaeta (Annelida, Clitellata) como indicador de poluição orgânica em dois córregos pertencentes à bacia do Ribeirão do Ouro-Araraquara (São Paulo, Brasil). **Brazilian Journal of Ecology** 1/2: 112-117.
- BALDOCK, B.M. 1986. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Tricoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. **Hydrobiologia** 132: 125-131.
- BRINKHURST, R.O. & M.R. MARCHESI. 1989. **Guia para la identificación de Oligoquetos acuáticos continentales de Sud y Centroamérica**. Santa Fe, Climax, 207p.
- CABRAL, A.F.; R.J.P. DIAS; M. D'AGOSTO; I.D. SILVA-NETO & R.G. ALVES. 2006. Record and distribution of the peritrich epibiont *Rhabdostyla* sp. (Ciliophora, Peritrichia) on limnic oligochaetes (Annelida, Oligochaeta) in a urban stream. **Anais da XXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Protozoologia**.
- COOK, J.A.; J.C. CHUBB & J. VELTKAMP. 1998. Epibionts of *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea, Isopoda): an SEM study. **Freshwater Biology** 39: 423-438.
- CORLISS, J.O. 1979. **The ciliated protozoa**. Pergamon Press, London, 455p.

- DIAS, R.J.P.; A.F. CABRAL; R.T. MARTINS; N.N.C. STEPHAN; I.D. SILVA-NETO; R.G. ALVES & M. D'AGOSTO. Record of *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) epibiont on Chironomidae larvae (Diptera, Chironomidae) in a lotic system in Brazil. **Brazilian Journal of Biology** (no prelo).
- EVANS, M.S.; L.M. SICKO-GOAD & M. OMAIR. 1979. Seasonal occurrence of *Tokophrya quadripartita* (Suctorina) as epibionts on adult *Limnocalanus macrurus* (Copepoda: Calanoida) in southeastern lake Michigan. **Transactions of the American Microscopical Society** **98** (1): 102-109.
- FENCHEL, T. 1965. On the ciliate fauna associated with the marine amphipod *Gammarus* J.G. Fabricius. **Ophelia** **2**: 281-303.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; M. J. H. CORDOBA & P.G. ARCO. 1997. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda, Brachyura). **Invertebrate Biology** **116** (3): 171-177.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & M.L. TATO-PORTO. 2002. Distribution of the *Ophryodendron mysidcii* (Ciliophora, Suctorina) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). **Journal of Natural History** **36**: 505-513.
- FISHER, J.A. & A.M. BEETON. 1975. The effect of dissolved oxygen on the burrowing behaviour of *Limnodrilus hoffmeisteri* (Oligochaeta). **Hydrobiologia** **47** (2): 273-290.
- FOISSNER, W. & H. BERGER. 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology** **35**: 375-498.
- FOISSNER, W., H. BERGER & F. KOHMANN. 1992. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems-Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida**. Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft, Munich, 502p.
- FOISSNER, W., H. BERGER & J. SCHAUMBURG. 1999. **Identification and ecology of limnetic plankton ciliates**. Bavarian State Office for Water Management Munich Reports, 793p.

- GOODRICH, J.P. & T.L. JAHN. 1943. Epizoic Suctoria (Protozoa) from turtles. **Transactions of the American Microscopical Society** **62**: 245-253.
- GÖRTZ, H. D. 1996. Symbiosis in ciliates, pp. 441-462. In: HAUSMANN, K. & P.C. BRADBURY (Eds.). **Ciliates: cells as organisms**. Gustav Fischer, Stuttgart, 485p.
- GREEN, J. 1974. Parasites and epibionts of Cladocera. **Transactions of the Zoological Society of London** **32**: 417-515.
- KAHL, A. 1935. Peritrichia und Chonotricha, p. 651-805. In: F. DAHL (Ed.). **Urtiere Oder Protozoa**. Deutschlands, Gustav Fischer, 886p.
- KANKAALA, P. & P. ELORANTA. 1987. Epizooic ciliates (*Vorticella* sp.) compete for food with their host *Daphnia longispina* in a small polyhumic lake. **Oecologia** **73**: 203-206.
- HANAMURA, Y. 2000. Seasonality and infestation pattern of epibiosis in the beach mysid *Archaemysis articulata*. **Hydrobiologia** **427**: 121-127.
- HENEVRY, M.S. & B.T. RIDGEWAY. 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic water pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **98** (4): 495-508.
- LAIRD, M. 1959. Parasites of Singapore mosquitoes, with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. **Ecology** **40** (2): 206-221.
- LATUF, M. 2004. Diagnóstico das águas superficiais do córrego São Pedro, Juiz de Fora/MG. **Geografia** **13** (1): 18-55. Disponível em <<http://www.geo.uel.br/revista>>. Acesso em 12.03.2006.
- LEYNEN, M.; T. VAN DEN BERCKT; I.M. AERTS; B. CASTELEIN; D. BERCKMANS & F. OLLEVIER. 1999. The use of Tubificidae in a biological early warning system. **Environmental Pollution** **5** (1): 151-154

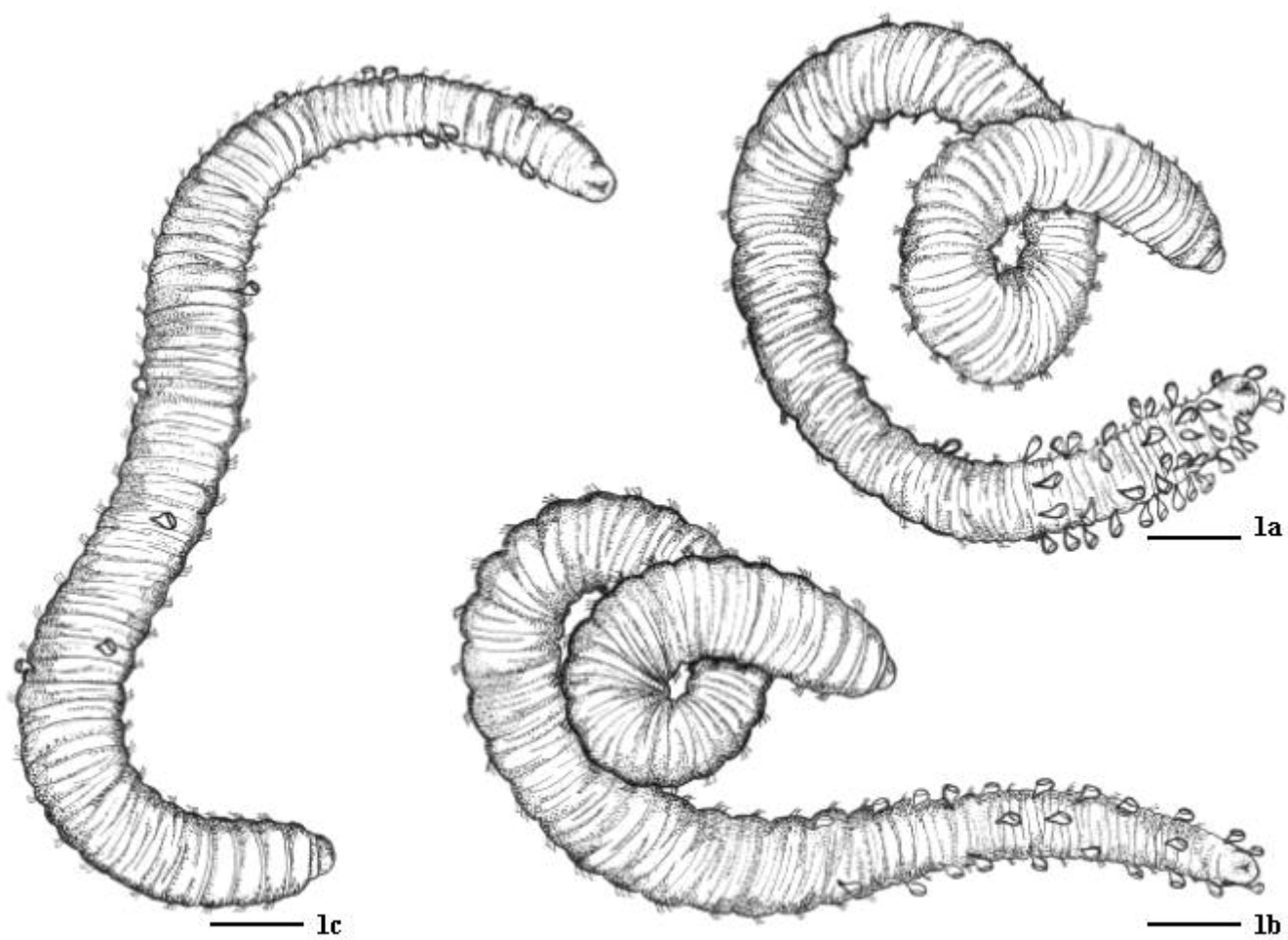
- LOTESTE, A. & M. MARCHESE. 1994. Ammonium excretion by *Paranadrilus descolei* Gavrilov, 1955 and *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparède, 1862 (Oligochaeta: Tubificidae) and their role in nitrogen delivery from sediment. **Polish Archives of Hydrobiology** **41** (2): 189-194.
- MARGOLIS, L.; G.W. ESCH; J.C. HOLMES; A.M. KURIS & G.A. SCHAD. 1982. The use of ecological terms in parasitology. **Journal of Parasitology** **68**: 131-133.
- MAYÉN-ESTRADA, R. & M.A. ALADRO-LUBEL. 2002. Distribution and prevalence of 15 species of epibiont peritrich ciliates on the crayfish *Camabarellus patzcuarensis* Villalobos, 1943 in lake Pátzcuaro, Michoacán, México. **Crustaceana** **74** (11): 1213-1224.
- MOSS, A.G.; A.M. ESTES; L.A. MUELLNER & D.D. MORGAN. 2001. Protistan epibionts of the ctenophore *Mnemiopsis mccradyi* Mayer. **Hydrobiologia** **451**: 295-304.
- NENNINGER, U. 1948. Die Peritrichen der umgebung von erlangen mit besonderer berücksichtigung ihrer wirtsspezifität. **Zoologisches Jahrbuch Systematik** **77** (3/4): 169-266.
- PASTERIS, A; M. VECCHI & G. BONOMI. 1999. A comparison among different population models for *Limnodrilus hoffmeisteri* Claparède (Oligochaeta, Tubificidae). **Hydrobiologia** **486**: 183-189.
- PRECHT, H. 1935. Epizoen der Kieler Bucht. **Nova Acta Leopoldina** **3** (15): 405-475.
- PUCKETT, G.L. & K.R. CARMAN. 2002. Ciliate epibiont effects on feeding, energy reserves, and sensitivity to hydrocarbon contaminants in an estuarine hapacticoid copepod. **Estuaries** **25** (3): 372-381.
- REGALI-SELEGHIM, M.H. & M.J.L. GODINHO. 2004. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). **Journal of Plankton Research** **26** (5): 501-508.

- RIGHI, G. 1973. On *Pristina minuta* (Oligochaeta, Naididae) from Brazilian soil and its epizoic *Rhabdostyla pristinis* sp. n. (Ciliata, Epistylidae). **Zoologischer Anzeiger** **191** (5/6): 295-299.
- RIGHI, G. 1984. **Manual de identificação de invertebrados límnicos do Brasil**. Brasília, CNPq, 48p.
- ROBERTS, G.N. & J.C. CHUBB. 1998. The distribution and location of the symbiont *Lagenophrys aselli* on the freshwater isopod *Asellus aquaticus*. **Freshwater Biology** **40**: 671-677.
- RODRIGUEZ, P.; J. ARRATE; M. MARTINEZ-MADRID; T.B. REYNOLDSON; V. SCHUMACHER & J. VIGURI. 2006. Toxicity of Santander Bay sediment to the euryhaline freshwater oligochaete *Limnodrilus hoffmeisteri*. **Hydrobiologia** **564**: 157-169.
- SCHUWERACK, P.M.M.; J.W. LEWIS & P.W. JONES. 2001. Pathological and physiological changes in the South African freshwater crab *Potamonautes warreni* Calman induced by microbial gill infestations. **Journal of Invertebrate Pathology** **77**: 269-279.
- SILVA-NETO, I.D. 1994. Observations sur é ultrastructure du cilié heterotriche *Licnophora auerbachii* Cohn, 1866, epibionte de l'étoile de mer. **Annales des Sciences Naturelles - Zoologie et Biologie Animale** **2**: 49-62
- SMITH, M.E. 1986. Distribution patterns and seasonal occurrence of *Rhabdostyla* sp. (Peritricha: Epistylididae) on *Dero nivea* (Oligochaeta: Naididae). **American Midland Naturalist** **116**: 348-355.
- SWAYNE, H.; M. DAY & M.J. WETZEL. 2004. *Limnodrilus hoffmeisteri* (Annelida: Oligochaeta: Tubificidae) in pop's cave, Wisconsin, USA. **Journal of Cave and Karst Studies** **66** (1): 28-31.
- THRELKELD, S.T.; D.A. CHIAVELLI & R.L. WILLEY. 1993. The organization of zooplankton epibiont communities. **Trends in Ecology Evolution** **8** (9): 317-321.

- THRELKELD, S.T. & R.L. WILLEY. 1993. Colonization, interaction, and organization of cladoceran epibiont communities. **Limnology and Oceanography** **38**: 584-591.
- UTZ, L.R.P. & D.W. COATS. 2005. Spatial and temporal patterns in the occurrence of peritrichs ciliates as epibionts on calanoid copepods in the Chesapeake Bay, USA. **Journal of Eukariotic Microbiology** **52** (3): 236-244.
- VERDONSCHOT, P.F.M.; M. SMIES & A.B.J. SEPERS. 1982. The distribution of aquatic oligochaetes in brackish inland waters in the SW Netherlands. **Hydrobiologia** **89**: 29-38.
- XU, Z. 1992. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphniae* related to their *Moina macrocopa* in an urban stream. **Journal of Invertebrate Pathology** **60**: 197-200.
- XU, Z & C.W. BURNS. 1991. Effects of the epizoic ciliate, *Epistylis daphniae* on growth, reproduction and mortality of *Boeckella triarticulata* (Thomson) (Copepoda: Calanoida). **Hydrobiologia** **209**: 183-189.
- WAHL, M. 1989. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling some basic aspects. **Marine Ecology Progress Series** **58**: 175-189.
- WEISSMAN, P.; D.J. LONSDALE & J. YEN. 1993. The effect of peritrich ciliates on the production of *Acartia hudsonica* in Long Island Sound. **Limnology and Oceanography** **38**: 613-622.
- WETZEL, M.J. & S.J. TAYLOR. 2001. First record of freshwater oligochaetes (Annelida, Clitellata) from caves in Illinois and Missouri, USA. **Journal of Cave and Karst Studies** **63** (3): 99-104.

Prancha XXII

Figuras 1a-c. Desenho esquemático do padrão de localização dos protistas ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre oligoquetas límnicas da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri*. 1a. Ciliados epibiontes **agregados posteriormente. 1b. Ciliados epibiontes **uniformemente distribuídos** posteriormente. 1c. Ciliados epibiontes **dispersos** ao longo do corpo do hospedeiro. Barra: 0.3 mm.**



Prancha XXIII

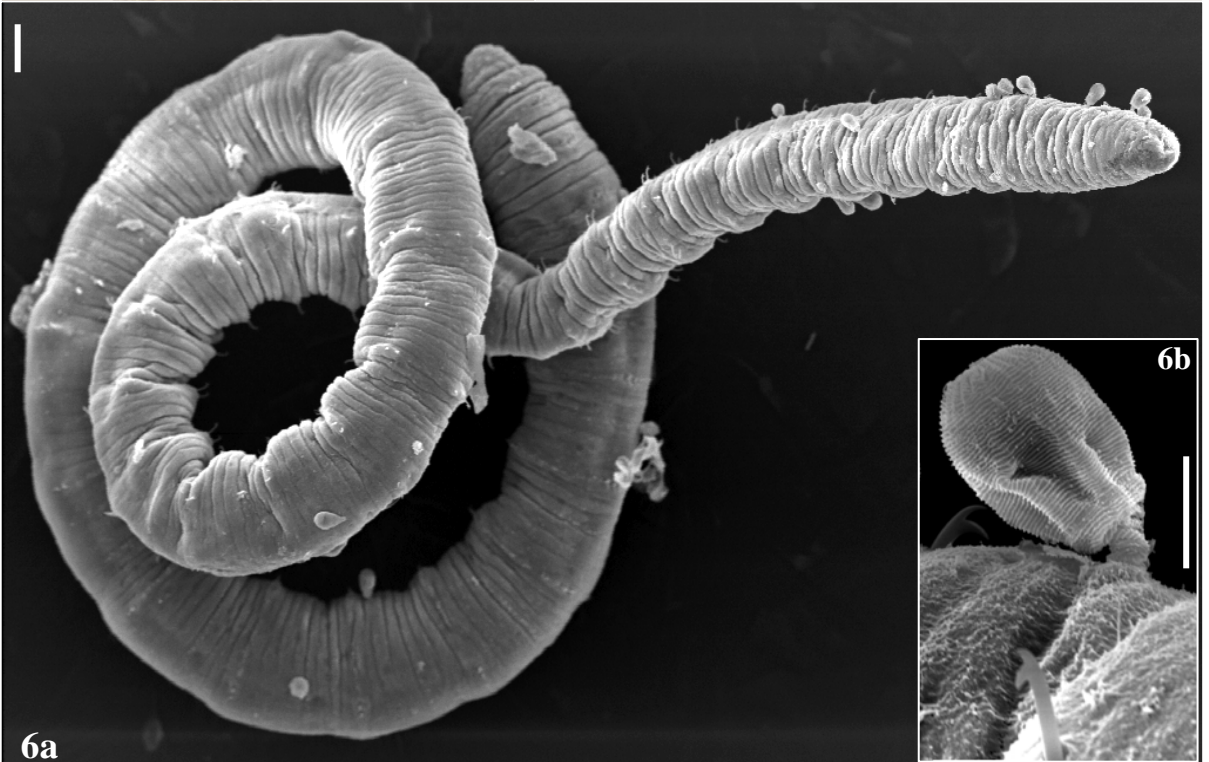
Figuras 2-6. Fotomicrografias *in vivo* (2-5) e eletromicrografias (6a, b) de protistas ciliados do gênero *Rhabdostyla* sobre oligoquetas límnicos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri*.

2-5. Fotomicrografias *in vivo* dos ciliados epibiontes agregados na porção final dos hospedeiros

6a. Eletromicrografia de varredura de um espécime de *Limnodrilus hoffmeisteri* com ciliados epibiontes.

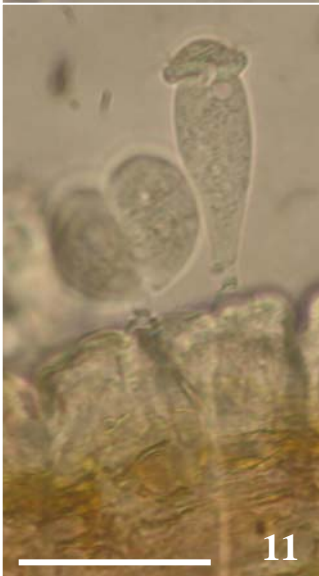
6b. Eletromicrografia de varredura mostrando um ciliado do gênero *Rhabdostyla* em

detalhe. Barras: Figuras 2-6a = 100 μm ; Figura 6b = 25 μm .



Prancha XXIV

Figuras 7-12. Fotomicrografias *in vivo* dos protistas ciliados do gênero *Rhabdostyla* epibiontes de oligoquetas límnicos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri*. Barras = 100 µm.



CAPÍTULO VII

REGISTRO DE *Rhabdostyla chironomi* KAHL, 1933 (CILIOPHORA, PERITRICHIA) SOBRE LARVAS DE QUIRONOMÍDEOS (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) EM UM CÓRREGO URBANO NO SUDESTE DO BRASIL

RESUMO

O presente trabalho relata a ocorrência de *Rhabdostyla chironomi* (Ciliophora, Peritrichia) sobre larvas de *Chironomus decorus* (Diptera, Chironomidae) em um córrego poluído, localizado na área urbana do município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Reporta, ainda, os fatores envolvidos na localização dos ciliados sobre os túbulos abdominais dos hospedeiros e a possível utilização desta relação como indicadora da qualidade da água.

Palavras-chave: Chironomidae, *Chironomus*, ciliado, epibionte, *Rhabdostyla chironimi*.

A relação epibiótica é uma associação facultativa entre dois organismos: o epibionte e o basibionte. O termo epibionte inclui organismos que, durante a fase sésil do seu ciclo de vida, colonizam a superfície de substratos vivos, enquanto o basibionte constitui um substrato que hospeda o epibionte (WAHL, 1989; FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2000).

Muitos protozoários ciliados vivem como epibiontes sobre a superfície de animais e plantas, utilizando-os frequentemente como substrato (FENCHEL, 1987; SLEIGH, 1988; MAYÉN-ESTRADA & ALADRO-LUBEL, 2001).

Os ciliados do gênero *Rhabdostyla* Kent, 1880 (Peritrichia, Epistylidae) vivem, em sua grande maioria, como epibiontes de invertebrados de água doce, tais como crustáceos (cladóceros, copépodos e ostrácodos), insetos das ordens Ephemeroptera e Diptera (Chironomidae) e anelídeos Oligochaeta e Polychaeta (KAHL, 1935; PRECHT, 1935; NENNINGER, 1948; FERNANDEZ-LEBORANS & TATO-PORTO, 2000; REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004). Dentre as espécies do gênero *Rhabdostyla*, somente *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 foi registrada sobre larvas de Chironomidae. Esta espécie foi encontrada sobre os túbulos respiratórios (apêndices abdominais posteriores) de quironomídeos em um lago de água salobra em Kiel, Alemanha (KAHL, 1935).

Os quironomídeos do gênero *Chironomus* Meigen, 1803 (Diptera, Chironomidae) apresentam ampla distribuição geográfica, vivendo em ambientes lênticos ou lóticos. Sua

ampla distribuição geográfica e elevada abundância nos diversos ecossistemas de água doce explica-se pelas diversas adaptações de suas fases larvais (ARMITAGE *et al.*, 1995).

O presente trabalho relata a ocorrência de *R. chironomi* (FIGS. 1-8) sobre larvas de *Chironomus decorus* Johannsen, 1905 (FIG. 9) no córrego São Pedro, município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Foram coletadas amostras do sedimento, em setembro de 2005, com o auxílio de uma draga de Petersen, em uma estação de coleta do córrego São Pedro (21° 45' S - 43° 21' W, estação 5, ver capítulo I), bacia do rio Paraibuna, localizada em região urbana, onde pode ser observado lançamento direto de esgoto doméstico. As amostras do sedimento foram fixadas com formaldeído 8%, lavadas em peneiras com malha de 210 µm e posteriormente triadas. Após a triagem, as larvas de *Chironomus* foram acondicionadas em etanol 70%, montadas com lactofenol, e examinadas para a observação dos ciliados epibiontes, sob microscópio de campo claro e de contraste interferencial diferencial (DIC). Foram monitorados os seguintes parâmetros físicos e químicos da água: teor de oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e temperatura da água. Os dados de auto-ecologia registrados para *R. chironomi* foram 5,19 mg/l O₂, pH 8,24, 161 µm/cm e 21,2°C.

O novo registro de *R. chironomi* em um sistema lótico parece ser o primeiro desde sua descrição em 1933, conforme revisão da literatura. No Brasil, foram registradas as espécies *R. pristinis* Righi, 1973 sobre *Pristina minuta* (Stephenson, 1914) (Oligochaeta, Naididae) em amostras de solo coletadas próximas ao rio Capivara, na Serra do Cipó (19° 30' S - 43° 45' W), Minas Gerais (RIGHI, 1973) e *Rhabdostyla* sp. sobre organismos do metazooplâncton, rotíferos, cladóceros e copépodos, no reservatório Monjolinho (22° 01' S - 47° 53' W), na cidade de São Carlos, São Paulo (REGALI-SELEGHIM & GODINHO, 2004).

No presente registro, foram encontrados espécimes de *R. chironomi* sobre os túbulos abdominais dos quironomídeos, tal como relatado em sua descrição original. A preferência por determinados sítios de localização no hospedeiro é uma característica das espécies que compõem as comunidades epibióticas e refletem suas necessidades ecológicas, sendo determinada tanto pelas condições ambientais quanto pela biologia e comportamento dos hospedeiros (FENCHEL, 1965; FERNANDEZ-LEBORANS *et al.*, 1997). A localização destes ciliados sobre os túbulos abdominais pode estar relacionada com o comportamento de ventilação apresentado pelos quironomídeos. Estas larvas são apnêusticas (espiráculos não funcionais) e retiram o oxigênio dissolvido da água através da superfície do corpo, principalmente pelos túbulos abdominais e anais. Além disso, geram correntes de ventilação por meio da movimentação das expansões da extremidade posterior (túbulos) ou pelo comportamento natatório, favorecendo as trocas respiratórias (MERRITT & CUMMINS, 1984).

Protistas ciliados peritríquios associados a invertebrados dulciaquícolas têm sido freqüentemente registrados em condições eutróficas, sugerindo que a prevalência e a abundância destes epibiontes podem ser utilizadas como parâmetros de avaliação da qualidade da água (LAIRD, 1959; ANTIPA, 1977; HENEERY & RIDGEWAY, 1979; UTZ & COATS, 2005). A relação epibiótica entre protistas ciliados e larvas de *Chironomus* apresenta potencial como indicadora de poluição orgânica, visto que tanto os representantes do gênero *Chironomus* quanto muitos ciliados peritríquios apresentam elevada abundância em ambientes enriquecidos organicamente (HENEERY & RIDGEWAY, 1979; ARMITAGE *et al.*, 1995). Na lista de espécies de ciliados indicadores contida no trabalho de FOISSNER & BERGER (1996), a única espécie do gênero *Rhabdostyla* presente é *R. inclinans* Roux, 1901, indicando ambientes alfa-mesossapróbios, ou seja, muito poluídos. A elevada abundância de larvas de *Chironomus* em ambientes enriquecidos organicamente aumenta a disponibilidade de substratos vivos (basibionte), favorecendo a colonização dos ciliados da espécie *R. chironomi* (epibionte).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTIPA, G.A. 1977. Use of commensal protozoa as biological indicators of water quality and pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **96**: 482-489.
- ARMITAGE, P.D.; P.S. CRASTON & L.C.V. PINDER (Eds.). 1995. **The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting nidges**. Chapman & Hall, London, 572p.
- FENCHEL, T. 1965. On the ciliate fauna associated with the marine species of the amphipod genus *Gammarus* J. G. Fabricus. **Ophelia** **2**: 281-303.
- FENCHEL, T. 1987. **Ecology of Protozoa. The biology of free-living phagotrophic protists**. Berlin & Tokyo, Springer, 197p.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G.; M.J.H. CÓRDOBA & P. GÓMES DEL ARCO. 1997. Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda: Brachyura). **Invertebrate Biology** **116**: 171-177.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & M.L. TATO-PORTO. 2000. A review of the species of protozoan epibionts on crustaceans. I. Peritrich ciliates. **Crustaceana** **73** (6): 643-683.

- FOISSNER, W. & H. BERGER. 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology** **35**: 375-498.
- HENEGBRY, M.S. & B.T. RIDGEWAY. 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **98** (4): 495-508.
- KAHL, A. 1935. Peritrichia und Chonotricha, p. 651-805. In: F. DAHL (Ed.). **Urtiere Oder Protozoa**. Deutschlands, Gustav Fischer, 886p.
- LAIRD, M. 1959. Parasites of Singapore mosquitoes with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. **Ecology** **40**: 207-241.
- MAYÉN-ESTRADA, R. & Ma.A. ALADRO-LUBEL. 2001. Epibiont peritrichids (Ciliophora: Peritrichida: Epistylidae) on the crayfish *Cambarellus patzcuarensis* in lake Pátzcuaro, Michoacán, Mexico. **Journal of Crustacean Biology** **21** (2): 426-434.
- MERRITT, R.W. & K.W. CUMMINS. 1984. **An introduction to the aquatic insects of the North America**. Dubuque, Kendall/Hunt Publish Company, 772p.
- NENNINGER, U. 1948. Die Peritrichen der umgebung von erlangen mit besonderer berücksichtigung ihrer wirtsspezifität. **Zoologisches Jahrbuch Systematik** **77** (3/4): 169-266.
- PRECHT, H. 1935. Epizoen der Kieler Bucht. **Nova Acta Leopoldina** **3** (15): 405-475.
- REGALI-SELEGHIM, M. H. & M. J. L. GODINHO. 2004. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). **Journal of Plankton Research** **26** (5): 501-508.
- RIGHI, G. 1973. On *Pristina minuta* (Oligochaeta, Naididae) from Brazilian soil and its epizoic *Rhabdostyla pristinis* sp. n. (Ciliata, Epistylidae). **Zoologischer Anzeiger** **191** (5/6): 295-299.

SLEIGH, M. 1988. **Protozoa and other Protists**. New York, Chapman and Hall, 399p.

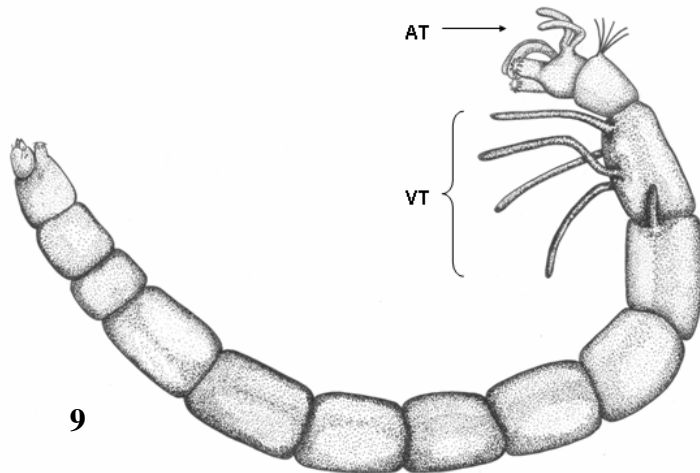
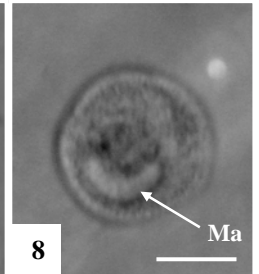
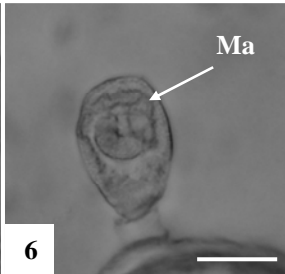
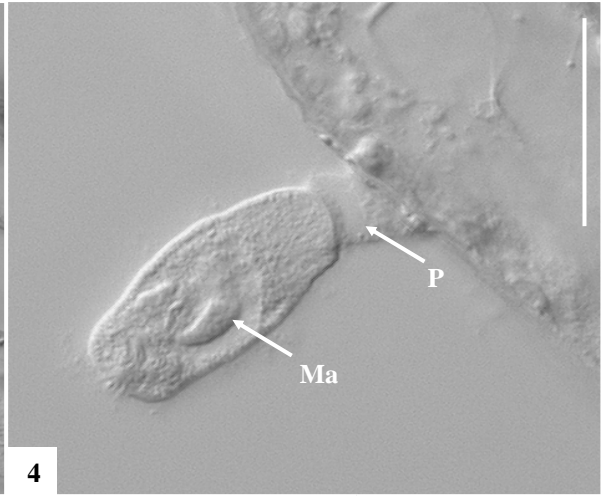
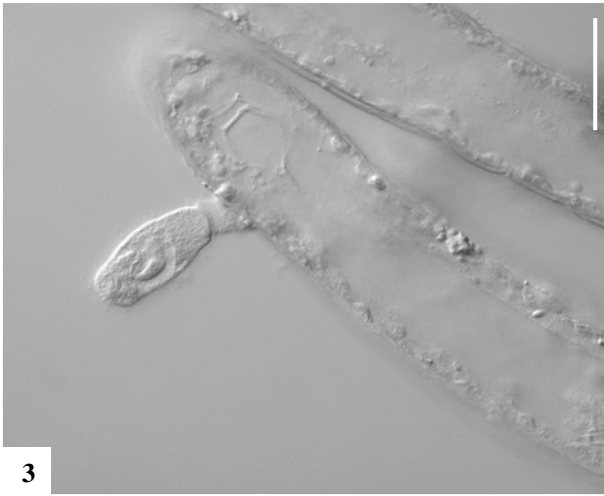
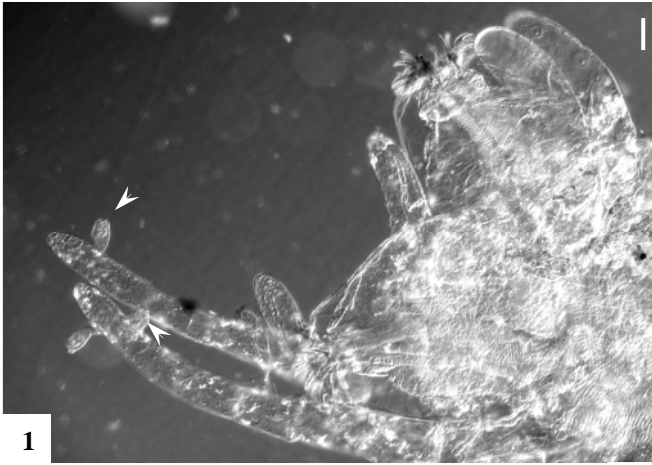
UTZ, L.R.P. & W. COATS. 2005. Spatial and temporal patterns in the occurrence of peritrich ciliates as epibionts on calanoid copepods in the Chesapeake Bay, USA. **Journal of Eukaryotic Microbiology** **52** (3): 236-244.

WAHL, M. 1989. Marine Epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. **Marine Ecology Progress Series** **58**: 175-189.

PRANCHA XXV

Figuras 1-8. Fotomicrografias *in vivo* do ciliado epibionte *Rhabdostyla chironomi* sobre larvas de Chironomidae observados sob microscópio com contraste interferencial diferencial, DIC (1-4) e sob microscópio de campo claro (5-8). 1. Região posterior do quironomídeo *Chironomus decorus*, mostrando os ciliados sobre os túbulos abdominais (setas); **2-3.** Detalhe dos túbulos abdominais colonizados pelos ciliados; **4.** Detalhe de *Rhabdostyla chironomi*, mostrando o pedúnculo e o macronúcleo; **5-7.** Vista lateral de *Rhabdostyla chironomi*, mostrando o formato do macronúcleo; **8.** Vista superior de *Rhabdostyla chironomi*, mostrando o formato do macronúcleo. **Legendas:** Ma = macronúcleo; S = pedúnculo. Barras: Figuras 1-4 = 50 µm; Figuras 5-8 = 25 µm.

Figura 9 – Desenho esquemático de uma larva de Chironomidae do gênero *Chironomus*, mostrando a localização dos túbulos abdominais (VT) e túbulos anais (AT). Os ciliados foram registrados sobre os túbulos abdominais. **Legenda:** AT = túbulos anais; VT = túbulos abdominais.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho foi possível concluir que:

- Ocorrem pelo menos 42 espécies de ciliados bentônicos associados ao sedimento nas cinco estações de coleta analisadas ao longo do córrego São Pedro e que *Apoamphisiella* sp. nov. é uma nova espécie para a ciência. Os resultados obtidos durante o levantamento da ciliatofauna reforçam a hipótese de endemismo entre os ciliados e da necessidade de se ampliar o esforço amostral no país com a maior riqueza hidrológica do mundo. O estudo da sucessão das espécies de ciliados mantidas em laboratório demonstrou que as diferentes espécies cultivadas possuem diferentes taxas de desenvolvimento conforme o tempo.
- O doublet descrito, pela primeira vez, em *Gastrostyla setifera* é do tipo imagem espelhada. A espécie *Gastrostyla setifera* foi registrada pela segunda vez no hemisfério Sul, no presente trabalho. Os doublets do tipo imagem espelhada são raros e neste estudo parece ter se originado naturalmente.

- O ciliado *Neobursaridium gigas* apresenta distribuição geográfica restrita aos países dos continentes sul americano e africano e à Índia e Tailândia. O presente registro parece ser o segundo no país. Foram registrados os parâmetros abióticos no momento das coletas deste ciliado que corroboram dados obtidos por outros autores. O presente registro contribui para o conhecimento a cerca de ciliados com distribuição na Gondwana.
- Os dados obtidos na capítulo 4 confirmam que em sistemas lóticos, dentro de áreas urbanas, a poluição orgânica parece ser um fator determinante, capaz de influenciar a composição, a distribuição e a estrutura trófica da taxocenose de protistas ciliados ao longo do córrego São Pedro e ainda que as estações 4 e 5 apresentam alto grau de poluição, confirmando o potencial dos ciliados como bioindicadores. A aplicação do sistema sapróbio na avaliação da qualidade da água do córrego São Pedro apresentou-se como uma eficiente metodologia de monitoramento de águas correntes.
- Os moluscos da espécie *Pomacea figulina* constituem um microambiente relativamente protegido e com suprimento alimentar favorável à colonização por ciliados peritríquios e succórios.
- O padrão de ocorrência da colonização de ciliados epibiontes do gênero *Rhabdostyla* sobre oligoquetas límnicos da espécie *Limnodrilus hoffmeisteri* apresenta heterogeneidade espacial e temporal. E que a grande maioria dos ciliados epibiontes se localiza nos segmentos finais dos oligoquetas.
- O ciliado epibionte *Rhabdostyla chironomi* (Ciliophora, Peritrichia), registrado pela primeira vez no Hemisfério Sul no presente estudo, localiza-se sobre os túbulos abdominais de larvas de *Chironomus decorus* (Diptera, Chironomidae) e apresenta-se como uma possível ferramenta de avaliação da qualidade da água.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARANTES, J.D.; A.C. RIETZLER; O. ROCHA; M.H. REGALI-SELEGHIM. 2004. Caracterização das populações de protozoários (Ciliophora e Rhizopoda) no Reservatório de Salto Grande, Americana, SP, p.155-177. In: ESPÍNDOLA, LEITE & DORNFLIED (Eds.). **Reservatório de Salto Grande (Americana, SP): caracterização, impactos e propostas de manejo**. Rima, São Carlos.
- BALDOCK, B.M. 1986. Peritrich ciliates on larvae of *Brachycentrus subnubilus* (Tricoptera): importance in relation to the total protozoan population in streams. **Hydrobiologia 132**: 125-131.
- BARBIERI, S.M. & M.J.L.G. ORLANDI. 1989. Ecological studies on the planktonic protozoa of a eutrophic reservoir (Rio Grande Reservoir – Brazil). **Hydrobiologia 183**: 1-10.
- BEESON, D.R.; M.C. LEWIS; J.M. POWELL & D.R. NIMMO. 1998. Effects of pollutants on freshwater organisms. **Water Environment Research 70** (4): 921-931.
- CHATTON, E. & A. LWOFF. 1930. Impregnation par diffusion argentine de L'infuciliature des ciliés Marins et d'eau douce, après fixation citologique et sans dessiccation. **Comptes rendus biologiques 104**: 804-836.
- CORLISS, J.O. 1979 . **The ciliated protozoa**. Pergamon Press, London, 455p.

- COOK, J.A.; J.C. CHUBB & J. VELTKAMP. 1998. Epibionts of *Asellus aquaticus* (L.) (Crustacea, Isopoda): an SEM study. **Freshwater Biology** **39**: 423-438.
- CUNHA, A. & O. FONSECA. 1918. O microplâncton das costas meridionais do Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **10**: 99-103.
- CURDS, C.R. & M. BERECZKY-CSUTOR. 1993. Protistian Ecology and Pollution: new habitats, new horizons. **Proceedings of the IX International Congress of Protozoology** 59-63, Berlim.
- CZAPIK, A. 1982. The effect of waste water on ciliate communities in the Biata Przemsza River. **Acta Hydrobiologica** **24** (1): 29-37.
- D'AGOSTO, M.T.; H.H. SANTOS-PREZOTO & R.J.P. DIAS. 2003. Estudando o comportamento de protozoários, p. 22-28. In: DEL-CLARO, K. & PREZOTO, F. (Eds.). **As distintas faces do comportamento animal**. Conceito, São Paulo, 276p.
- DIAS, R.J.P.; A.F. CABRAL; R.T. MARTINS; N.N.C. STEPHAN; I.D. SILVA-NETO; R.G. ALVES & M. D'AGOSTO. Record of *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) epibiont on Chironomidae larvae (Diptera, Chironomidae) in a lotic system in Brazil. **Brazilian Journal of Biology** (no prelo).
- DIAS, R.J.P. & M. D'AGOSTO. 2006. Feeding behavior of *Frontonia leucas* (Ehrenberg) (Protozoa, Ciliophora, Hymenostomatida) under different environmental conditions in a lotic system. **Revista Brasileira de Zoologia** **23** (3): 758-763.
- DIAS, R.J.P.; M. D'AGOSTO; I.C.V.S. CASTRO, & I.D. SILVA-NETO. 2006b. Microscópicos e vorazes: adiverz de protistas ciliados é comparável à de grandes carnívoros. **Ciência Hoje** **230** (39): 56-58.
- DIAS, R.J.P.; S. D'ÁVILA & M. D'AGOSTO. 2006a. First record of epibionts Peritrichids and Suctorians (Protozoa, Ciliophora) on *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Mollusca, Ampullariidae). **Brazilian Archives of Biology Technology** **49** (5): 807-812.

- DIECKMANN, J. 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. **European Journal of Protistology** **31**: 372-382.
- DRAGESCO, J. & DRAGESCO-KERNÉIS, A. 1986. Ciliés libres de l'Afrique intertropicale. **Faune Tropicale** **26**: 1-559.
- ESTEVEZ, C.B. & I.D. SILVA-NETO. 1996. Study of Hymenostomatida ciliates found in water tanks of Bromeliaceae from Bracuhy Port, Angra dos Reis, Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **91** (suppl.I): 63.
- FARIA, J.G. & A.M. CUNHA. 1917. Estudos sobre o Microplancton da baía do Rio de Janeiro e suas imediações. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **9** (1): 68-92.
- FARIA, J.G.; A.M. CUNHA & C. PINTO. 1922. Estudos sobre Protozoários do mar. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **15**: 186-208.
- FAST, N.M.; L. XUE; S. BINGHAM & P.J. KEELING. 2002. Re-examining alveolate evaluation using multiple protein molecular phylogenies. **Journal of Eukariotic Microbiology** **49**: 30-37.
- FENCHEL, T. 1987. **Ecology of Protozoa**. Science Tech Publishers, Madison, 197p.
- FERNANDES, L.F. 2004 a. Tintininos (Ciliophora, Tintinnina) de águas subtropicais na região Sueste-Sul do Brasil. I. **Revista Brasileira de Zoologia** **21** (3): 518-535.
- FERNANDES, L.F. 2004 b. Tintininos (Ciliophora, Tintinnina) de águas subtropicais na região Sueste-Sul do Brasil. II. **Revista Brasileira de Zoologia** **21** (3): 605-628.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & R. GABILONDO. 2006. Inter-annual variability of the epibiotic community on *Pagurus bernhardus* Scotland. **Estuarine, Coastal and Shelf Science** **66** (1-2): 35-54
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & M.L. TATO-PORTO. 2002. Distribution of the *Ophryodendron mysidii* (Ciliophora, Suctoria) on the mysid *Schistomysis parkeri* (Crustacea). **Journal of Natural History** **36**: 505-513.

- FINLAY, B.J. & T. FENCHEL. 1999. Divergent perspectives on protist species richness. **Protist** **150**: 229-233.
- FOISSNER, W. 1988. Taxonomic and nomenclatural revision of Sládeček's list of ciliates (Protozoa, Ciliophora) as indicators of water quality. **Hydrobiologia** **166**: 1-64.
- FOISSNER, W. 1991. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. **European Journal of Protistology** **27**: 313-330.
- FOISSNER, W. 1997a. Faunistic and taxonomic studies on ciliates (Protozoa, Ciliophora) from clean rivers in Bavaria (Germany), with description of a new species and ecological notes. **Limnologia** **27** (2): 179-238.
- FOISSNER, W. 1997b . Soil ciliates (Protozoa: Ciliophora) from evergreen rain forest of Australia, South America and Costa Rica: diversity and description of new species. **Biology of Fertility Soils** **25**: 317-339.
- FOISSNER, W. 1999. Protist diversity: estimates of the near-imponderable. **Protist** **150**: 363-368.
- FOISSNER, W. 2003a. Morphology and ontogenesis of *Bromeliophyra brasiliensis* gen. n., sp. n., a new tetrahymenid ciliate (Protozoa: Ciliophora) from Brazilian tank bromeliads (Bromeliaceae). **Acta Protozoologica** **42**: 55-70.
- FOISSNER, W. 2003b. Morphology and ontogenesis of *Lambornella trichoglossa* nov. spec., a new tetrahymenid ciliate (Protozoa, Ciliophora) from Brazilian tank bromeliads (Bromeliaceae). **European Journal of Protistology** **39**: 63-82.
- FOISSNER, W. & H. BERGER. 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology** **35**: 375-498.
- FOISSNER, W.; H. BERGER; H. BLATTERER & F. KOHMANN. 1995. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems - Band IV: Gymnostomates,**

- Loxodes, Suctoria.** Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft, Munich, 540p.
- FOISSNER, W.; H. BERGER & F. KOHMANN. 1992. **Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems - Band II: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida.** Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft, Munich, 502p.
- FOISSNER, W., H. BERGER & J. SCHUAMBURG. 1999. **Identification and ecology of limnetic plankton ciliates.** Bavariae State Office for Water Management, Munich.
- FOISSNER, W.; M. STRÜDER-KYPKE; G. STAAY; S. STAAY & H.P. HACKSTEIN. 2003. Endemic ciliates (Protozoa, Ciliophora) from tank bromeliads (Bromeliaceae): a combined morphological, molecular, and ecological study. **European Journal of Protistology 39:** 365-372.
- FRIED, J.; G. MAYR; H. BERGER; W. TRAUNSPURGER; R. PSENNER & H. LEMMER. 2000. Monitoring protozoa and metazoa biofilm communities for assessing wastewater quality impact and reactor up-scaling effects. **Water Science and Technology 41:** 309-316.
- GOMES, E.A.T. & M.J.L. GODINHO. 2003. Structure of the protozooplankton community in a tropical shallow and eutrophic lake in Brazil. **Acta Oecologica 24:** 153-161.
- GOODRICH, J.P. & T.L. JAHN. 1943. Epizoic Suctoria (Protozoa) from turtles. **Transactions of the American Microscopical Society 62:** 245-253.
- GREEN, J. 1974. Parasites and epibionts of Cladocera. **Transactions of the Zoological Society of London 32:** 417-515.
- GRELL, K.G. 1973. **Protozoology.** Springer-Verlag, New York, 554p.
- GROLIÉRE, C., R. CHAKLI & O. SPARAGANO. 1990. Application de la colonisation d'un substrat artificiel par les ciliés à l'étude de la qualité des eaux de un rivière. **European Journal of Protistology 25:** 381-390.

- HANAMURA, Y. 2000. Seasonality and infestation pattern of epibiosis in the beach mysid *Archaemysis articulata*. **Hydrobiologia** **427**: 121-127.
- HARDOIM, E.L. & C.W. HECKMAN. 1996. The seasonal succession of biotic communities in wetlands of the wet-and-dry climatic zone: IV. The free-living sarcodines and ciliates of the Pantanal of Mato Grosso, Brazil. **Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie** **81**: 367-384.
- HAUSMANN, K. & N. HÜLSMANN, 1996. **Protozoology**. Thieme, Germany, 301p.
- HENEVRY, M.S. & B.T. RIDGEWAY. 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic water pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** **98** (4): 495-508.
- HICKMANN, 2001. **Princípios Integrados de Zoologia**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 846p.
- JOPPERT, F. 1998. Estudo morfológico e aspectos ecológicos da ciliatofauna da plâncton litorâneo da Lagoa Piratininga, Niterói, Rio de Janeiro. **Dissertação de Mestrado**. Museu Nacional. 80p.
- JOPPERT, F.; L.H.C. GUEDES & I.D. SILVA-NETO. 1995. Qualitative study of the ciliated protozoa in tanks of *Aechmea nudicalis* (Bromeliaceae) at Barra de Maricá, Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **90** (suppl. I): 251.
- KAHL, A. 1935. Peritrichia und Chonotricha, p. 651-805. In: F. DAHL (Ed.). **Urtiere Oder Protozoa**. Deutschlands, Gustav Fischer, 886p.
- KATTAR, M. R. 1965. *Blepharisma sinuosum* Sawaya (Cilié, Héterotriche). **Bulletin de la Societe Zoologique de France** **90**: 131-141.
- KATTAR, M.R. 1970. Estudo dos protozoários ciliados psamófilos do litoral brasileiro. **Boletim de Biologia de São Paulo** **9**: 125-206.

- KLEIN, B. N. 1958. The “dry” silver method and its proper and use. **Journal of Protozoology** **5**: 99-103.
- KOLKWITZ, R. & K. MARSSON. 1908. Ökologie der pflanzlichen Saprobien. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft** **26**: 505-519.
- KOLKWITZ, R. & K. MARSSON. 1909. Ökologie der tierischen Saprobien. **Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie** **2**: 126-152.
- KUDO, R. 1967. **Protozoologia**. Charles Tomas, 4 ed, 905p.
- LAIRD, M. 1959. Parasites of Singapore mosquitoes, with particular reference to the significance of larval epibionts as an index of habitat pollution. **Ecology** **40** (2): 206-221.
- LOUSIER, J.D. & S.S. BAMPHORT. 1990. Soil Protozoa, p. 97-136. In: DANDAL, D.L. **Soil Biology Guide**. John Wiley.
- LYNN, D.H. & J.O. CORLISS. 1991. Ciliophora, 333-467. In: HARRISON, W. (Ed.) **Microscopic anatomy of invertebrates**. Wiley-Liss, New York.
- LYNN, D.H. & E.B. SMALL. 1997. A revised classification of the Phylum Ciliophora Doflein, 1901. **Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural** **47**: 65-78.
- LYNN, D.H. & E.B. SMALL. 2002. Phylum Ciliophora, p. 371-656. In: LEE, J.J.; P.C. LEEDALE & G.F. (Eds.). **An illustred guide to the Protozoa**. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas.
- MADONI, P. 1993. Ciliated protozoa and water quality in the Parma River (Northern Italy): long-term changes in the community structure. **Hydrobiologia** **264**: 129-135.
- MADONI, P. 1994. Evaluation of water quality in streams by comparing ciliate and macroinvertebrate community structure. **Verhandlungen Internationale Vereinigen Limnologie** **25**: 1954-1957.

- MADONI, P. 2005. Ciliated protozoans communities and saprobic evaluation of water quality in the hilly zone of some tributaries of the Po River (northern Italy). **Hydrobiologia** **541**: 55-69.
- MADONI, P. & N. BASSANINI. 1999. Longitudinal changes in the ciliate protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology** **35**: 391-402.
- MARQUES, M.M. & F. BARBOSA. 2001. Na fauna do fundo, o retrato da degradação. **Ciência Hoje** **175**: 72-75.
- MOSS, A.G.; A.M. ESTES; L.A. MUELLNER & D.D. MORGAN. 2001. Protistan epibionts of the ctenophore *Mnemiopsis mccradyi* Mayer. **Hydrobiologia** **451**: 295-304.
- NENNINGER, U. 1948. Die Peritrichen der umgebung von erlangen mit besonderer berücksichtigung ihrer wirtsspezifität. **Zoologisches Jahrbuch Systematik** **77** (3/4): 169-266.
- NOLAND, L.E. 1925. Factors influencing the distribution of fresh water ciliates. **Ecology** **6**: 437-452.
- PACKROFF, G. & P. ZWICK. 1996. The ciliate fauna of an unpolluted foothill stream, the Breitenbach, 1: qualitative aspects. **Limnologia** **26** (3): 255-262.
- PACKROFF, G. & P. ZWICK. 1998. The ciliate fauna of an unpolluted german foothill stream, the Breitenbach, 2: quantitative aspects of the ciliates (Ciliophora; Protozoa) in fine sediments. **European Journal of Protistology** **34**: 436-445.
- PAIVA, T.S. 2005. Taxonomia dos ciliados (Protista: Ciliophora) presentes na lagoa de Cabiúnas (Macaé-RJ) e um estudo morfológico de cinco espécies pertencentes à Classe Spirotrichea Bütschli, 1889. **Dissertação de Mestrado**. Museu Nacional.139p.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2003. Optical microscopy observations and diagnosis of *Apoamphisiella jurubatiba* sp. n. (Ciliophora: Hypotrichea). **Acta Microscopica** **12** (B): 287-288.

- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2004a. Ciliate protists from Cabiúnas lagoon (Restinga de Jurubatiba, Macaé, Rio de Janeiro) with emphasis on water quality indicator species and description of *Oxytricha marcili* sp.n. **Brazilian Journal of Biology** **64** (3A): 465-478.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2004b. Comparative morphometric study of three species of *Apoamphisiella* Foissner, 1997 (Ciliophora: Hypotrichea) from Brazilian locations, including a description of *Apoamphiseilla foissneri* sp. n. **Zootaxa** **505**: 1-26.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2004c. Description of *Parentocirrus brasiliensis* sp. n. (Ciliophora: Spirotrichea), a new ciliate protist present in activated sludge. **Zootaxa** **504**: 1-10.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2005. *Deviata estevesi* sp. n. (Ciliophora: Spirotrichea), a new ciliate protist from a restinga lagoon in Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Protozoologica** **44**: 351-362.
- PAIVA, T.S. & I.D. SILVA-NETO. 2006. *Pseudourostyla pelotensis* sp. nov. (Ciliophora, Stichotrichia, Urostylida): a new psammophilic ciliate from the southern Brazil. **Zootaxa** **1247**: 43-58
- PICCINNI, E. & J. GUTIÉRREZ. 1995. Protists as bioindicators in the environment. **Protistological Actualities** **28**: 123-145.
- PINTO, C. 1925. Protozoários observados no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **18**: 211-215.
- PRIMC, B. 1988. Trophic relationships of ciliated Protozoa developed under different saprobic conditions in the periphyton of the Sava River. **Periodicum Biologorum** **90** (3): 349-353.
- PUCKETT, G.L. & K.R. CARMAN. 2002. Ciliate epibiont effects on feeding, energy reserves, and sensitivity to hydrocarbon contaminants in an estuarine harpacticoid copepod. **Estuaries** **25** (3): 372-381.

- PUYTORAC, P.; A. BATISSE; G. FLEURY; J. GRAIN; M. LAVAL-PEUTO & I.D. SILVA-NETO. 1994. Proposition d'une nouvelle classification du phylum des protozoaires Ciliophora Doflein, 1901. **Comptes rendus de l'Académie des sciences** **316**: 716-720.
- PUYTORAC, P.; J. GRAIN; J.P. MIGNOT. 1987. **Précis de protistologie**. Société nouvelle des Éditions Boubée & Foundation Singer Polignac, Paris, 581p.
- PUYTORAC, P.; M.R. KATTAR; C.A. GROLIÈRE & I.D. SILVA-NETO. 1992. Polymorphism and ultrastructure of colpodean ciliate of the genus *Platyophryides* Foissner, 1987. **Journal of Protozoology** **33**: 154-159.
- RAIKOV, I.B. 1996. Nuclei of ciliates, p.221-242. In: HAUSMANN, K. & P. BRADBURY (Eds.). **Ciliates: cells as organisms**. Gustav Fischer, Stuttgart.
- REGALI-SELEGHIM, M.H. & M.J.L. GODINHO. 2004. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). **Journal of Plankton Research** **26** (5): 501-508.
- RIGHI, G. 1973. On *Pristina minuta* (Oligochaeta, Naididae) from Brazilian soil and its epizoic *Rhabdostyla pristinis* sp. n. (Ciliata, Epistylidae). **Zoologischer Anzeiger** **191** (5/6): 295-299.
- RUPPERT, E.E. & R.D. BARNERS. 1996. **Zoologia dos invertebrados**. Roca, São Paulo, 1029p.
- SALVADÓ, H.; M. GRACIA, & J. AMIGÓ. 1995. Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. **Water Research** **29** (4): 1041-1050.
- SANTOS, I.C. 1991. Aspectos morfológicos e ultraestruturais de três ciliados de musgos da localidade de Corrêas, Petrópolis, Rio de Janeiro. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 103p.
- SAWAYA, M.P. 1940. Sobre um ciliado novo de São Paulo: *Blepharisma sinuosum* sp. n. (Ciliata, Heterotrichia). **Boletim da Faculdade de Filosofia e Ciências da Universidade de São Paulo** **4**: 303-308.

- SILVA, S. & I.D. SILVA-NETO. 2001. Morfologia dos protozoários ciliados presentes em um reator experimental de tratamento de esgoto por processo de lodos ativados. **Revista brasileira de Zoociências** 3 (2): 203-230.
- SILVA-NETO, I.D. 1994. Observations sur l'ultrastructure du cilié hétérotriche, *Licnophora auerbachii* Cohn, 1866, épibionte de l'étoile de mer. **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie** 15: 49-62.
- SILVA-NETO, I.D. 2000. Improvement of silver impregnation technique (protargol) to obtain morphological features of protists ciliates, flagelates and opalinates. **Revista Brasileira de Biologia** 60: 451-459.
- SLÁDECEK, V.; M. ZELINKA; J. ROTSCHER & V. MORACOVÁ. 1981. **Biologický rozbor povrchové vody**. Praha, 186p.
- SLEIGH, M. 1988. **Protozoa and other Protists**. Chapman and Hall, New York, 399p.
- SOLA, A.; J.F. LONGÁS; S. SERRANO & A. GUINEA. 1996. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia** 324: 237-252.
- SPARAGANO, O. & C. GROLIÈRE. 1991. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroecologie Appliquée** 1: 43-62.
- STREBLE, H. & D. KRAUTER. 1987. **Atlas de los microorganismos de agua dulce**. Ediciones Omega, Barcelona, 367 p.
- TAYLOR, W.D. 1981. Temporal heterogeneity and the ecology of lotic ciliates, p. 209-223. In: LOCK, M.A. & D.D. WILLIAMS (Eds.). **Perspectives in Running Water Ecology**. Plenum Publishing Corporation, Ontario.
- TUFFRAU, M. 1967. Perfectionnement et pratique de la technique d'impregnation au protargol des infusoires ciliés. **Protistologica** 3 (1): 91-98.

- UTZ, L.R.P. & D.W. COAST. 2005. Spatial and temporal patterns in the occurrence of peritrichs ciliates as epibionts on calanoid copepods in the Chesapeake Bay, USA. **Journal of Eukariotic Microbiology** **52** (3): 236-244.
- VALER, R.M. 1998. Ocorrência de Ciliophora (Protistas) nos solos da granja São Pedro, Município de Charquedas, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências** **5** (1): 53-67.
- VERNI, F. & GUALTIERI, P. 1997. Feeding behaviour in ciliated protists. **Micron** **28** (6): 487-504.
- XU, Z. 1992. The abundance of epizoic ciliate *Epistylis daphniae* related to their *Moina macrocopa* in an urban stream. **Journal of Invertebrate Pathology** **60**: 197-200.
- WAHL, M. 1989. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling some basic aspects. **Marine Ecology Progress Series** **58**: 175-189.
- WANICK, R. & SILVA-NETO, I.D. 2004. Benthic ciliates from Sepetiba Bay (Rio de Janeiro, Brazil) with description of *Pseudokeronopsis sepitibensis* n. sp. (Spirotrichia: Urostylida). **Zootaxa** **587**: 1-11.
- WEGL, R. 1983. Index für die Limnosaprobität. **Wass. Abwass.** **26**: 1-175.
- WHITFIELD, 2001. Vital Signs. **Nature** **411** (28): 989-990.
- WIACKOWSKI, K. 1981. Analysis of *Ciliata* from polluted sector of the River Drwinka on the basis of binary data. **Acta Hydrobiologica** **23** (4): 319-329.
- WIELOCH, A.H. 2006. Ciliados planctônicos da Lagoa da Pampulha, Belo Horizonte, MG: estudo qualitativo e quantitativo da distribuição vertical e horizontal em um lago urbano tropical eutrófico de água doce. **Tese de Doutorado**. Museu Nacional. 213p.

ANEXO I: Artigos publicados e enviados para publicação

First Record of Epibionts Peritrichids and Suctorians (Protozoa, Ciliophora) on *Pomacea lineata* (Spix, 1827)

Roberto Júnio Pedroso Dias^{1*}, Sthefane D`Ávila² and Marta D`Agosto³

¹ Universidade Federal de Juiz de Fora; Instituto de Ciências Biológicas; Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Comportamento e Biologia Animal; Bolsista CAPES; rjuniodias@yahoo.com.br; ² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; Parasitologia Veterinária; Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinária; Bolsista CNPq; sthefanedavila@hotmail.com ³ Universidade Federal de Juiz de Fora; Instituto de Ciências Biológicas; Departamento de Zoologia; dagosto@icb.ufjf.br; Campus Universitário; 36036-330; Juiz de Fora-MG-Brasil.

ABSTRACT

This study made a survey on the ciliate protozoans from Peritrichid and Suctorian taxa, epibionts of *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Ampullariidae). Fifty mollusks were collected in places of irrigation ditches and shell was scraped with a scalpel and the extracted material was analyzed in vivo by light microscopy. All examined mollusks presented epibiont ciliates on their shells. For the first time epibiont ciliates in *P. lineata* was record. Seven genera of ciliates: two peritrichids and five suctorians, were identified and classified within the subclass Peritrichia: *Carchesium* Ehrenberg, 1838 (Vorticellidae), *Epistylis* Ehrenberg, 1830 (Epistylidae), *Opercularia* Stein, 1854 (Operculariidae), *Vaginicola* Lamarck, 1816 (Vaginicolidae) and *Vorticella* Linnaeus, 1767 (Vorticellidae); and Suctorina: *Acineta* Ehrenberg, 1834 (Acinetidae) and *Tokophrya* Bütschli, 1889 (Tokophryidae). The results showed that *P. lineata* constitute the microenvironment of a ciliate protozoan community that presents complex trophic interactions.

Key words: Epizoic ciliates, prosobranch snail, freshwater environment

INTRODUCTION

Several ciliate protozoans live as epibionts on animals and plants, using them as substrate (Sleigh, 1979; Dragesco and Dragesco-Kernéis, 1986; Fenchel, 1987). This association involves specialized groups such as peritrichids and suctorians, which occur in a variety or strict range of hosts. The associations may not be obligatory, and the epizoic communities are generally characterized by a high number of species which may occupy very specialized niches (Fenchel, 1987). Although most of these ciliate protozoans

are not harmful to their hosts, in high densities they can interfere in host's mobility (Görtz, 1996), or cause stress, which makes the host more susceptible to contaminants and possibly other natural stressors such as food limitation (Puckett and Carman, 2002). Epibiont ciliates can live on several metazoan species, including cnidarians, ctenophores, rotifers, annelid worms, crustaceans, insect larvae, mollusks, fishes and tadpoles (Henebry and Ridgeway, 1979; Görtz, 1996; Foissner et al., 1999; Moss et al., 2001). Several authors have emphasized the lack of studies about the distribution and the occurrence of ciliate protozoans associated with freshwater organisms

* Author for correspondence

in natural conditions, as well as the lack of information on the ecology and the interactions between epibionts and hosts (Fernández-Leborans et al., 1997; Aladro-Lubel and Martínez-Murillo, 1999; Mayén-Estrada and Aladro-Lubel, 2001). This study aimed to survey Peritrichid and Suctorian ciliates, epibionts on *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Ampullariidae).

MATERIAL AND METHODS

Fifty mollusks were collected in places of irrigation ditches at Granjas Irmãos Fernandes under the geographical coordinates of 21°39'6" S and 43°25'54" W, Juiz de Fora county, state of Minas Gerais, Brazil. In this locality several pesticides such as herbicides, pyrethroids,

fungicides, organophosphate insecticides, molluscicides and acaricides are used (Cardoso et al., 2001). In order to examine epibionts, mollusk's shell was scraped with a scalpel. The extracted material was analyzed *in vivo* using bright field and phase contrast microscopy. Two preparations of each mollusk were analyzed, totaling up 100 preparations.

RESULTS AND DISCUSSION

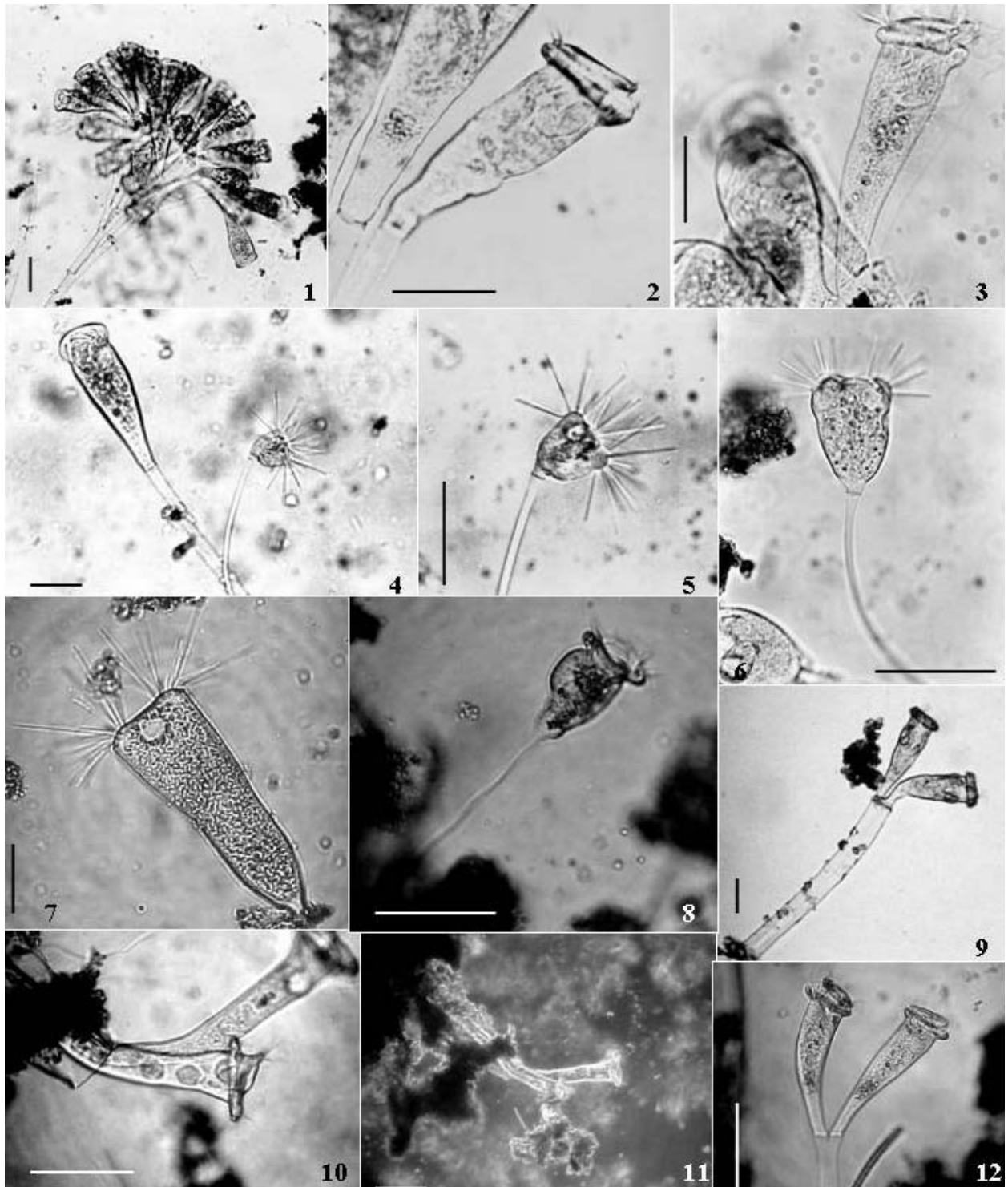
All examined mollusks presented epibiont ciliates on their shells. Seven genera of ciliates: two peritrichids and five suctorians, were identified and classified according to Lynn and Small (2002) (Table 1).

Table 1 - Protist ciliates epibionts on *Pomacea lineata* Spix, 1827

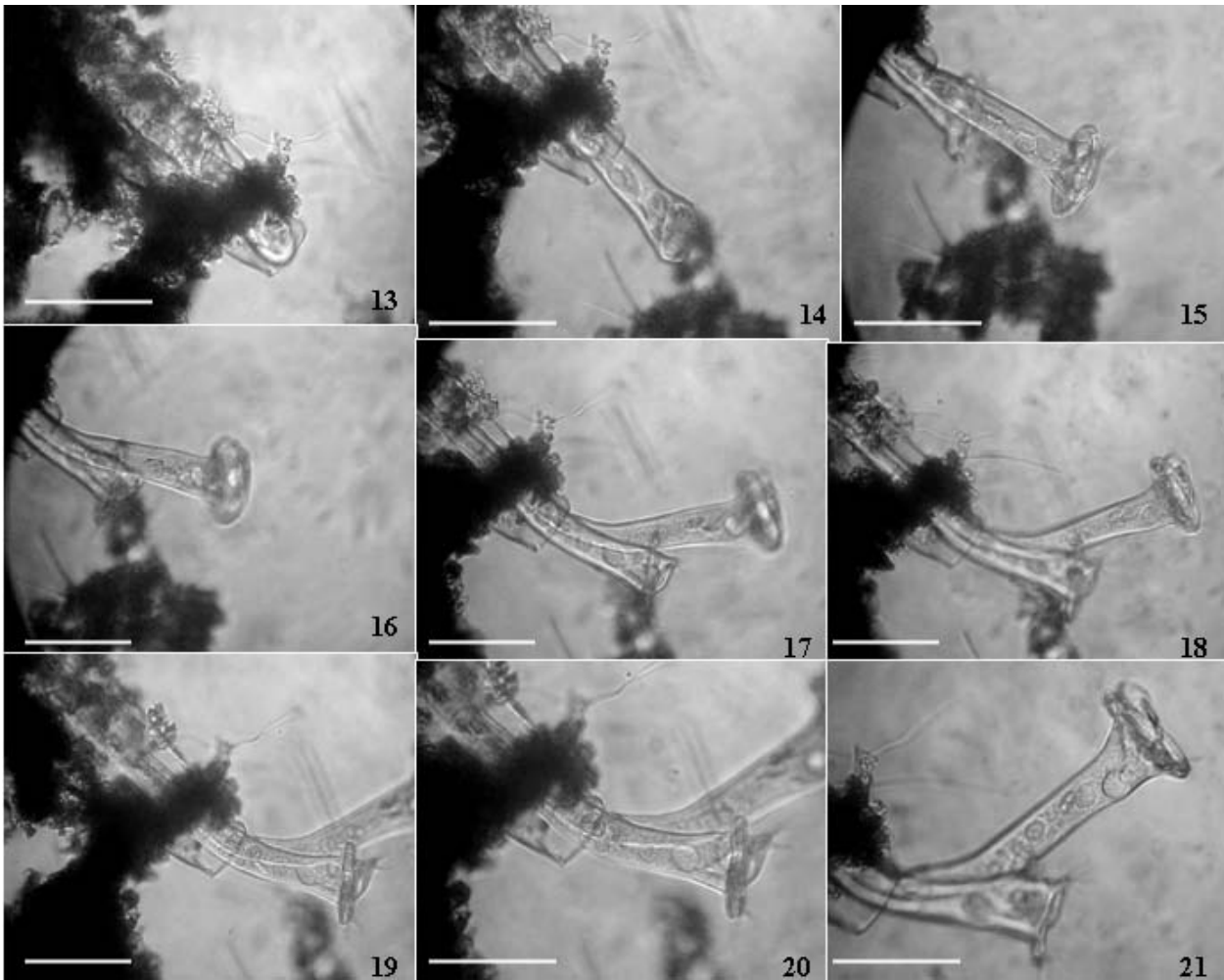
Subclass Peritrichia Stein, 1859
Family Epistylidae Kahl, 1935
<i>Epistylis</i> Ehrenberg, 1830 (Figs. 1-4, 9, 12)
Family Operculariidae Fauré-Fremiet in Corliss, 1979
<i>Opercularia</i> Stein, 1854
Family Vaginicolidae De Fromentel, 1874
<i>Vaginicola</i> Lamarck, 1816 (Figs. 10, 11, 13-21)
Family Vorticellidae Ehrenberg, 1838
<i>Carchesium</i> Ehrenberg, 1838
<i>Vorticella</i> Linnaeus, 1767 (Fig. 8)
Subclass Suctorina Claparède and Lachmann, 1858
Family Acinetidae Stein, 1859
<i>Acineta</i> Ehrenberg, 1834 (Fig. 7)
Family Tokophryidae Bütschli
<i>Tokophrya</i> Bütschli, 1889 (Figs. 4-6)

Ciliates in the subclass Peritrichia provided many examples of epizoic way of life, living over planktonic and benthonic metazoans both in marine and freshwater environments (Corliss, 1979; Puytorac, 1994; Foissner et al., 1999). The sessile way of life and the colonial organization showed by peritrichids were among their main characteristics. Among peritrichids' adaptations to the epizoic way of life was the free-swimming stage (telotrochs) in which they were able to establish colonies on new hosts (Fenchel, 1987). Protozoans in the Suctorina subclass are deprived of cilia or other locomotory organelles in their adult stage. They did not present oral opening, using

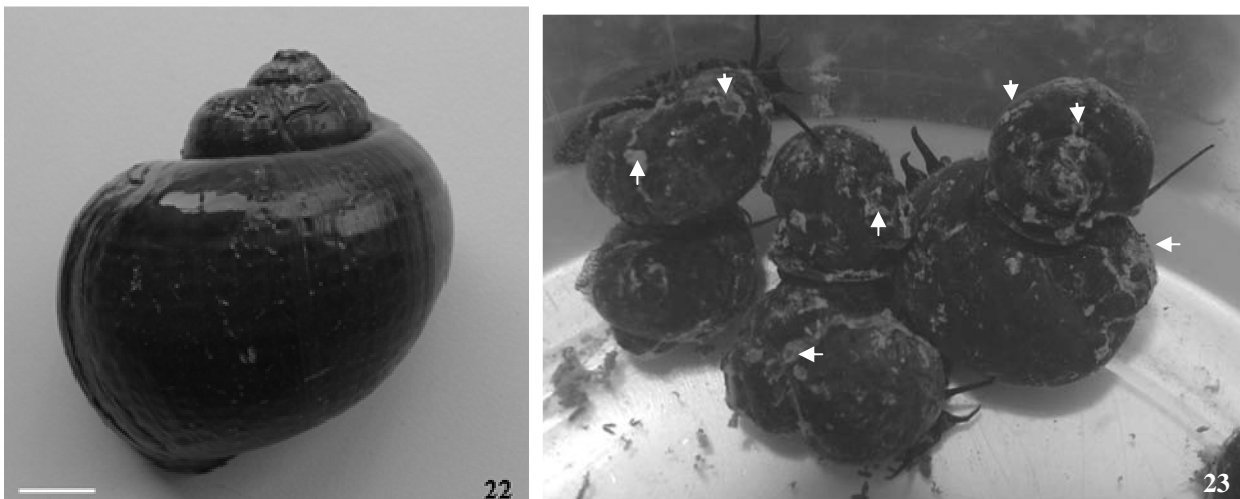
tentacles to capture their preys (Puytorac, 1994). Suctorians are very common both in marine and freshwater environments, frequently as epibionts on a variety of animals (Foissner et al., 1999). These protozoans attach to their hosts directly or by using stalks, and they feed mainly on other ciliates (Verni and Gualtieri, 1997). Among epibiont suctorians, a hard competition could exist, as was observed by Mayén-Estrada and Aladro-Lubel (2001) for *Acineta tuberosa* Ehrenberg, 1838; *Podophrya sandi* Collin, 1911 and *Tokophrya quadripartita* (Claparède and Lachmann, 1859) Bütschli, 1889.



Figures 1-12 - Epibiont ciliates on *Pomacea lineata* (Spix) (Ampullariidae). **1-3, 9, 12.** *Epistylis* spp. (Epistylidae) (peritrich); **4.** *Epistylis* sp. (peritrich) as a substrate to *Tokophrya* sp. 1 (Tokophryidae) (suctorian). **5.** *Tokophrya* sp. 1. **6.** *Tokophrya* sp. 2. **7.** *Acineta* sp. (Acinetidae) (suctorian). **8.** *Vorticella* sp. (Vorticellidae) (peritrich). **10-11.** *Vaginicola* sp. (Vaginicolidae) (peritrich) *in vivo*. Bars = 50µm.



Figures 13-21 - Ciliate epibiont *Vaginicola* sp. (Vaginicolidae) coming out of the lorica. Bars = 50µm.



Figures 22-23 - *Pomacea lineata* (Spix 1827). **22.** Shell of *Pomacea lineata*. **23.** Aggregative behaviour of *Pomacea lineata*. The arrows show the accumulation of algae and bacteria the place where the ciliates live . Bar = 1 cm.

The frequent occurrence of ciliate epibionts observed in the current study might have been favored by the host behavior, such as its preference for places abundant with food, their gregarious behavior and their attempt to avoid adverse environmental conditions or fatal events such as desiccation or the grazing of its surface by animals as suggested by Fenchel (1987).

The mollusk's shell was a substrate in which there was an accumulation of algae and bacteria (Figs. 22, 23), which were used as food by ciliate species of peritrichids, which are food for predator ciliates of suctorians. Therefore, *P. lineata* constituted the microenvironment of a ciliate protozoan community that presents complex trophic interactions.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Mr. Alceu Coutinho Dias for his logistic support and to PhD Laura Utz (UFRGS) for the identification of some genus of ciliates.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento dos protozoários ciliados dos táxons Peritrichia e Suctoria, epibiontes de *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (Ampullariidae). Cinquenta moluscos foram coletados em ambientes de vala de irrigação, em Juiz de Fora, Minas Gerais. As conchas dos moluscos foram raspadas com bisturi e o material extraído analisado *in vivo* sob o microscópio de luz. Todos os moluscos examinados apresentaram ciliados epibiontes em suas conchas. Registra-se pela primeira vez ciliados epibiontes em *P. lineata*. Sete gêneros de ciliados: dois peritríquios e cinco suctórios foram identificados e classificados nas subclasses Peritrichia: *Carchesium* Ehrenberg, 1838 (Vorticellidae), *Epistylis* Ehrenberg, 1830 (Epistylidae), *Opercularia* Stein, 1854 (Operculariidae), *Vaginicola* Lamarck, 1816 (Vaginicolidae) e *Vorticella* Linnaeus, 1767 (Vorticellidae); e Suctoria: *Acineta* Ehrenberg, 1834 (Acinetidae) e *Tokophrya* Bütschli, 1889 (Tokophryidae). Os resultados deste estudo demonstraram que *P. lineata* constitui o microambiente de uma comunidade de

protozoários ciliados que exibem interações tróficas complexas.

REFERENCES

- Aladro-Lubel, M. A. and Martinez-Murillo, M. E. (1999), Epibiotic Protozoa (Ciliophora) on a community of *Thalassia testudinum* banks ex König in a coral reef in Veracruz, Mexico. *Aquat. Bot.*, **65**, 239-254.
- Cardoso, R. N.; Nascimento, H. F.; Alves, H. F. C.; Costa, G. P. and Castro, G. A. (2001), Bifid labial palp in *Pomacea lineata* (Spix, 1827) Mollusca, Gastropoda, Ampullariidae). *Rev. Bras. Zool.*, **3** : (2), 239-242.
- Corliss, J. O. (1979), *The ciliated protozoa. Characterization, classification and guide to the literature*. New York, Toronto, Sidney, Paris: Oxford. 455 pp.
- Dragesco, J. and Dragesco-Kernéis A. (1986), *Ciliés libres de l'Afrique intertropicale*. Paris: Orstom. 559 pp.
- Fenchel, T. (1987), *Ecology of Protozoa*. Madison: Science Tech Publishers. 197 pp.
- Fernandez-Leborans, G.; Cordoba, M. J. H. and Del Arco, P. G. (1997), Distribution of ciliate epibionts on the portunid crab *Liocarcinus depurator* (Decapoda, Brachyura). *Invert. Biol.*, **116** : (3), 171-177.
- Foissner, W., Berger, H. and Schaumburg, J. (1999), *Identification and ecology of limnetic plankton ciliates*. Munich: Bavarian State Office for Water Management Munich Reports. v. 3. 793 pp.
- Görtz, H. D. (1996), Symbiosis in ciliates. In: Hausmann, K. and Bradbury, P. C. (Eds.). *Ciliates: cells as organisms*. Stuttgart: Gustav Fischer. pp. 441-462.
- Henebry, M. S. and Ridgeway, B. T. (1979), Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic water pollution. *Trans. Am. Mic. Soc.*, **98** : (4), 495-508.
- Lynn and Small, (2002), Phylum Ciliophora Doeflin, 1901. In: Lee, J. J.; Leedale, G. F. and Bradbury, P. C. (Eds.). *An Illustrated Guide to the Protozoa*. 2nd ed. Lawrence: Allen Press. pp. 371-656.
- Mayen-Estrada, R. and Aladro-Lubel M. A. (2001), Epibiont Peritrichids (Ciliophora: Peritrichida: Epistylidae) on the crayfish *Cambarellus patzcuarensis* in lake Pátzcuaro, Michoacán, Mexico. *J. Crust. Biol.*, **21** : (2), 426-434.
- Moss, A. G.; Estes, A. M.; Mueller, L. A. and Morgan, D. D. (2001), Protistian epibionts of the ctenophore *Mnemiopsis mccradyi* Mayer. *Hydrobiologia*, **451**, 295-304.

- Puckett, G. L. and Carman, K. R. (2002), Ciliate epibiont effects on feeding, energy reserves, and sensitivity to hydrocarbon contaminants in an estuarine hapacticoid copepod. *Estuaries*, **25** : (3), 372-381.
- Puytorac, P. (1994), *Traité de zoologie. Tomo II: Infusoires ciliés*. Paris: Masson. Fascicule 2: Systématique. 876 pp.
- Sleigh, M. (1979), *Biología de los protozoos*. Madrid: H. Blume. 399 pp.
- Verni, F. and Guatieri P. (1997), Feeding behaviour in ciliated protists. *Micron*, **28** : (6), 487-504.

Received: February 17, 2005;
Revised: August 10, 2005;
Accepted: April 24, 2006.

Feeding behavior of *Frontonia leucas* (Ehrenberg) (Protozoa, Ciliophora, Hymenostomatida) under different environmental conditions in a lotic system

Roberto Júnio P. Dias & Marta D'Agosto

Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora. Campus Universitário, 36036-900, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. E-mail: rjuniodias@yahoo.com.br; marta.dagosto@ufjf.edu.br

ABSTRACT. The objective of this study was to record and describe the morphological changes and the ingestion mechanisms of *Frontonia leucas* (Ehrenberg, 1833) according to the food type and to relate the food ingested with the different environmental conditions in a lotic system, namely São Pedro stream, located in the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil. We sampled three points on a monthly basis from August 2002 to June 2003, each of which receiving different levels of untreated sewage. We prepared culture media for the ciliate specimens containing filtered water from each point and the types of food observed inside *F. leucas* (cyanobacteria, diatoms, desmids and testate amoebas). We observed the ingestion mechanisms of *F. leucas in vivo*, under a phase contrast optical microscope, using instantaneous sampling and sequence sampling as behavior observation methods, noting the following parameters: dissolved oxygen concentration, pH, conductivity and water temperature. We noted the *F. leucas* ciliates ingesting diatoms and desmids at collection point 1 and filamentous cyanobacteria, testate amoebas (*Arcella* and *Centropyxis*) and rotifers at points 2 and 3. The present work records for the first time the ingestion of testate amoebas of the genus *Centropyxis* by *F. leucas*. We noted five ingestion mechanisms by *F. leucas* while feeding on cyanobacteria and testate amoebas of the genus *Centropyxis*, three of these related to the ciliary action and two involving physical changes in the cytoplasm. For ingestion of diatoms, desmid (*Closterium*) and *Arcella*, the mechanisms involving ciliary action alone were sufficient for ingestion, since these preys are smaller than the ciliate under study. The autecological data registered for *F. leucas* were 1.98-8.01 mg l⁻¹ O₂, pH 6.9-8.73, 58-390 µS/cm and 19.5-26.2°C, confirming its ample ecological valence.

KEY WORDS. Ciliate; polluted stream; predator; prey.

RESUMO. Comportamento alimentar de *Frontonia leucas* (Ehrenberg) (Protozoa, Ciliophora, Hymenostomatida) sob diferentes condições ambientais em um sistema lótico. O objetivo do presente trabalho foi registrar e descrever as alterações morfológicas e os mecanismos de ingestão em *Frontonia leucas* (Ehrenberg, 1833), conforme o tipo de alimento, e relacionar o alimento ingerido às diferentes condições ambientais de um sistema lótico, o córrego São Pedro, localizado no Município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Foram amostrados mensalmente, de agosto de 2002 a junho de 2003, três pontos que recebem diferentes níveis de lançamento de esgoto doméstico *in natura*. Foram preparados meios de cultura dos espécimes do ciliado em estudo, contendo água filtrada de cada ponto e os tipos de alimento observados no interior de *F. leucas* (cianobactérias, diatomáceas, desmídeas e tecamebas). Os mecanismos de ingestão de *F. leucas* foram observados *in vivo*, sob microscópio óptico de contraste de fase, utilizando-se como métodos de observação do comportamento a amostragem instantânea e a amostragem de seqüência. Registraram-se os seguintes parâmetros: teor de oxigênio dissolvido, pH, condutividade elétrica e temperatura da água. Os ciliados da espécie *F. leucas* foram observados ingerindo diatomáceas e desmídeas no ponto 1 de coleta e cianobactérias oscilatórias, tecamebas (*Arcella* e *Centropyxis*) e rotíferos nos pontos 2 e 3. O presente trabalho registra pela primeira vez a ingestão de tecamebas do gênero *Centropyxis* por *F. leucas*. Foram observados cinco mecanismos de ingestão realizados por *F. leucas* ao se alimentarem de cianobactérias e de tecamebas do gênero *Centropyxis*, sendo três relacionados com a ação ciliar e dois envolvendo mudanças físicas no citoplasma. Para a ingestão de diatomáceas, desmídeas e tecamebas do gênero *Arcella* somente os mecanismos que envolvem a ação ciliar foram suficientes para a ingestão, uma vez que estes alimentos são menores que o ciliado em estudo. Os dados de auto-ecologia registrados para *F. leucas* foram 1,98-8,01 mg l⁻¹ O₂, pH 6,9-8,73, 58-390 µS/cm e 19,5-26,2°C, confirmando sua ampla valência ecológica.

PALAVRAS-CHAVE. Ciliado; córrego poluído; predador; presa.

Frontonia leucas (Ehrenberg, 1833) is found in running and stagnant water throughout the year, living in sediments at depths of up to five centimeters, and also in plankton. Although it forms resting cysts, there are no reports of its occurrence in terrestrial habitats. It is rare in marshlands, estuaries and sewage treatment plants. It is a widely distributed species (FOISSNER *et al.* 1999). According to BEERS (1933) and FOISSNER *et al.* (1999), it feeds on bacteria and heterotrophic and autotrophic flagellates, diatoms, algae up to 50 µm across, naked amoebas (*Amoeba proteus* Leidy 1878), testate amoebas (*Arcella*, *Diffugia*), ciliates (*Coleps*, *Aspidisca*) and even small metazoans (rotifers). DEVI (1964) reported cannibalism in this species.

The most important characteristic in identifying *F. leucas* is its single contracting vacuole with long collecting canals and the small oral apparatus when compared to its body size (FOISSNER *et al.* 1994, 1999). GOLDSMITH (1922) observed alterations in its original oval body shape according to the food ingested and the various mechanisms involved in ingesting desmids and cyanobacteria. BEERS (1933) described the ingestion mechanisms of one amoeba, *A. proteus*.

Frontonia leucas is included in the saprobic system, indicating environments that range from betamesosaprobic to alphamesosaprobic. Because it is a eurythermic, euryoxibiontic and omnivorous species, it can be found in diverse environments and tolerates wide variations of physical and chemical parameters (FOISSNER *et al.* 1999).

The objective of this study was to record and describe the morphological changes and the ingestion mechanisms of *F. leucas*, according to the type of food, and to relate the food ingested with the different environmental conditions in a lotic system, São Pedro stream, located in the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

MATERIAL AND METHODS

In the present study we collected monthly samples from August 2002 to June 2003 from three points along São Pedro stream in the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil, in order to obtain samples with different levels of raw domestic sewage. Point 1 (UTM = 663036, 7590303) receives a low sewage inflow, while points 2 (UTM = 668307, 7591772) and 3 (UTM = 668645, 7592804) receive high sewage loads. We obtained sediment samples using 300-mL beakers. We then took the samples to the laboratory, placed them in Petri dishes and examined them under a stereoscopic microscope. We selected the specimens of *F. leucas* using micropipettes and observed them under an optical microscope (Olympus BX 41), taking digital photomicrographs of the specimens that showed some type of food in the cytoplasm. We then prepared cultural media of the specimens containing filtered water from each collection point and the types of food observed inside them (cyanobacteria, diatoms, desmids and testate amoebas). To observe the morphological changes and the ingestion mechanisms *in vivo*, we selected specimens of *F. leucas* and the foods

from the culture media and transferred them to wet slides for observing living ciliates (TUFFRAU 1959) and observed them under a phase contrast optical microscope. The observation techniques employed were instantaneous sampling and sequence sampling, according to ALTMANN (1974), as adapted for the study of protozoans by D'AGOSTO *et al.* (2003).

We monitored the physical and chemical qualities of the water at each collection point with portable equipment, recording the dissolved oxygen concentration, pH, conductivity and water temperature. Statistical treatment of the physical and chemical data was by multivariate distance analysis (Euclidean distance).

RESULTS AND DISCUSSION

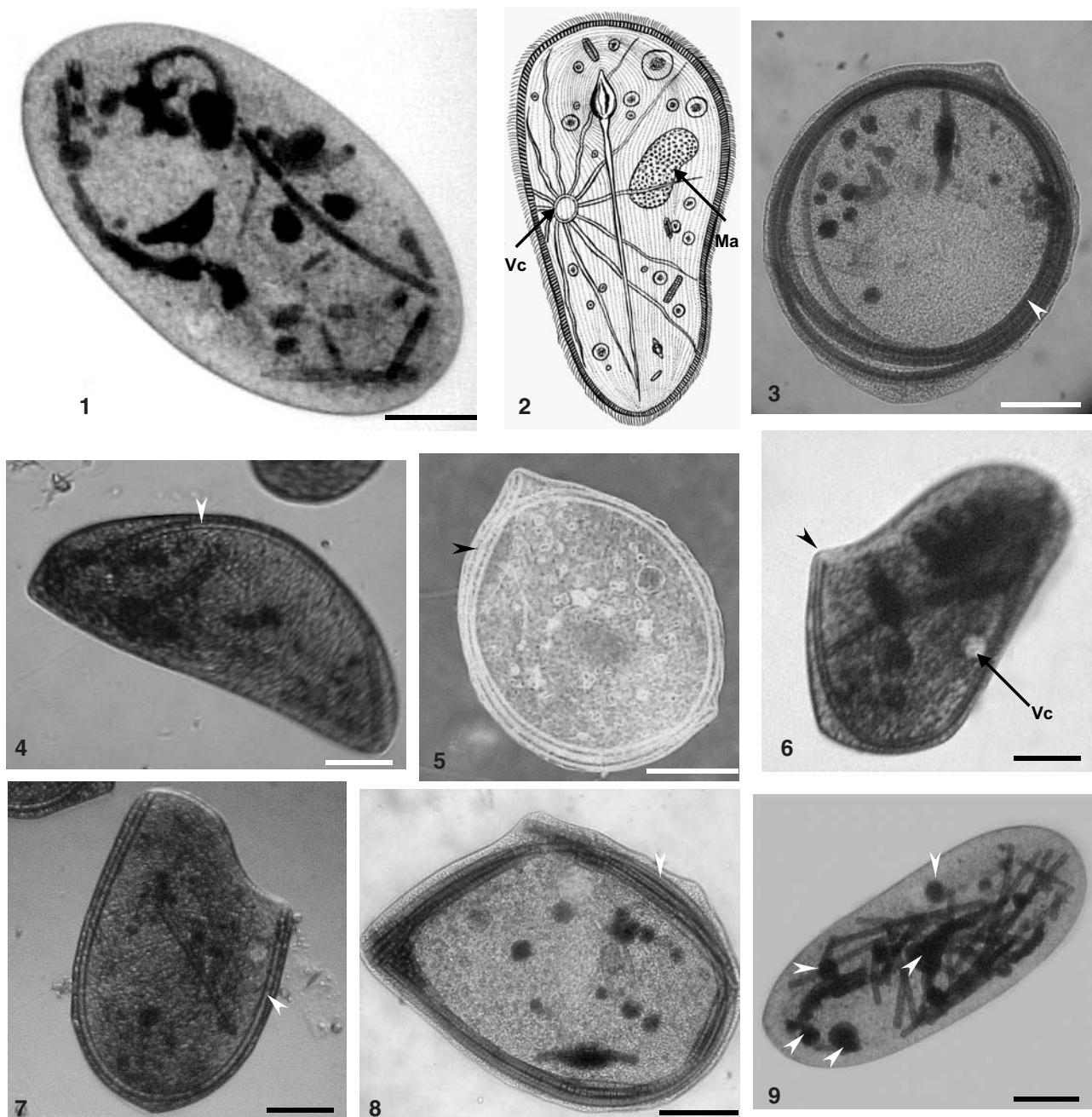
We observed the ciliates of *F. leucas* (Figs 1-2) ingesting filamentous cyanobacteria (Figs 3-9), testate amoebas (*Arcella* Ehrenberg, 1832 and *Centropyxis* Stein, 1857) (Figs 10-11) and rotifers (Fig. 12) at points 2 and 3 and diatoms (Fig. 13) and desmids (*Closterium* Nitzsch) (Fig. 14) at collection point 1. This work presents the first report of the ingestion of testate amoebas of the genus *Centropyxis* by *F. leucas* (Fig. 11), and the first record by photomicrographs of the morphological changes in *F. leucas* caused by the food ingested.

Morphological changes

The various types of food ingested by *F. leucas* cause alterations in their size and body shape (GOLDSMITH 1922). In the present study, there were morphological changes when the ciliates were feeding on cyanobacteria and testate amoebas of the genus *Centropyxis*. When the specimens fed on cyanobacteria (blue-green algae), we observed the following forms: circular (Fig. 3-5), semi-circular (Fig. 4), U-shaped (Fig. 7) and asymmetric (Fig. 8). GOLDSMITH (1922) described some similar shapes after *F. leucas* ingested cyanobacteria of the species *Oscillatoria prolifica* Gomont, 1892. In the present study, we noted that the ingestion of testate amoebas of the genus *Centropyxis* caused a slight widening of the body (Fig. 11), as recorded by BEERS (1933) while observing the ingestion of *Amoeba proteus* by *F. leucas*. The ingestion of diatoms and desmids did not cause any morphological alterations in *F. leucas*.

Ingestion mechanisms

All five of the ingestion mechanisms of *F. leucas* when feeding on cyanobacteria and algae described by GOLDSMITH (1922) were observed in the present work. Of these, three were related to the ciliary action: (1) pull exerted on the incoming food by the circumoral cilia, (2) movement of the ciliate in the direction of the food through the action of its own body cilia, and (3) a series of orderly changes in the position of the ciliate with reference to the food which permits the food to pass posteriorly with greater facility along the aboral surface of the ciliate. The other mechanisms involved physical changes in the cytoplasm: (4) superficial contractions of the aboral surface of the ciliate, forming tension points, and (5) cyclosis.



Figures 1-9. Morphological changes and ingestion mechanisms in *Frontonia leucas*: (1) the original oval body shape; (2) schematic drawing *in vivo*; (3 and 5) circular form; (4) semi-circular form; (7) U-shaped form; (6 and 8) asymmetric form; (3-5, 7-8) the arrows marks the cyanobacteria ingested; (6) formation of tension points (arrow); (9) spherical food vacuoles (arrows) containing an irregular mass. (Vc) Contracting vacuole, (Ma) macronuclear. Bars = 50 μ m.

We observed the five mechanisms of ingesting cyanobacteria already described by GOLDSMITH (1922) and BEERS (1933). We noted the formation of tension points when the specimens were ingesting cyanobacteria (Fig. 6). Although digestion is

separate from the ingestion mechanisms, we observed the break-up of filamentous cyanobacteria and the formation of small spherical food vacuoles (Fig. 9) containing an irregular mass. GOLDSMITH (1922) mentioned this digestion step, but did not



Figures 10-14. *Frontonia leucas* in ingesting: (10) a testate amoeba *Arcella* sp.; (11) a testate amoeba, *Centropyxis* sp.; (12) a rotifer; (13) a large desmid, *Closterium* sp.; (14) diatoms. Bars = 50 μ m.

present an illustration. According to this author, the entire digestive process takes approximately six hours. In the study of the feeding behaviour of another raptorial ciliate that feeds on cyanobacteria, *Pseudomicrosthorax dubis* (Maupas, 1883) Penard, 1922, was reported that the mechanisms for recognizing and ingesting cyanobacteria of the genus *Oscillatoria* are related to the influx of Ca^{+2} and eflux of K^{+} (RADEK & HAUSMANN 1996).

We verified that the specimens in the present study, while ingesting testate amoebas, employed the same five mechanisms described by GOLDSMITH (1922) and confirmed by BEERS (1933) in observing the ingestion of *A. proteus* by *F. leucas*.

For ingestion of diatoms and *Arcella*, the three mechanisms involving ciliar action were sufficient, since these foods are smaller than *F. leucas*. GOLDSMITH (1922) reported that when the prey ingested is smaller than the ciliate, mechanisms involving physical changes in the cytoplasm are not necessary.

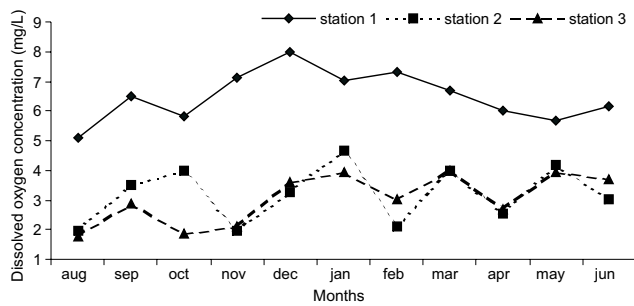
Feeding habits and environmental conditions

We observed the ciliates of the species *F. leucas* ingesting diatoms and desmids at collection point 1 and filamentous cyanobacteria, testate amoebas (*Arcella*, *Centropyxis*) and rotifers at points 2 and 3. The availability of food is an important biotic factor that controls the distribution of protozoan populations in various ecosystems (NOLAND 1925, PRIMC 1988, PRIMC-HABDIJA *et al.* 1998, MADONI & BASSANINI 1999), but the omnivorous dietary habit of *F. leucas* allows it to live both in the headwaters and polluted stretches of various lotic systems, as registered in the present work and by other authors (CZAPIK 1982, SPARAGANO & GROLIÈRE 1991, PACKROFF & ZWICK 1996, SOLA *et al.* 1996, MADONI & BASSANINI 1999). In São Pedro stream, we noted

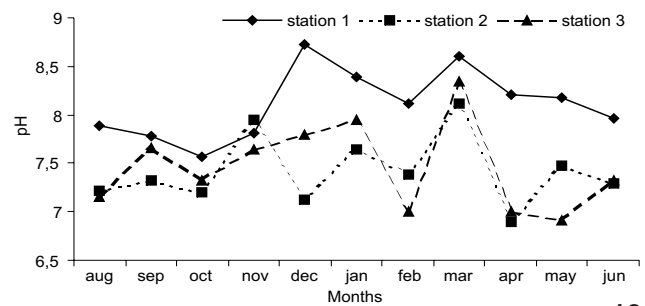
F. leucas at points with different raw sewage levels, in agreement with the findings of CZAPIK (1982), SPARAGANO & GROLIÈRE (1991) and MADONI & BASSANINI (1999).

Another factor that influences the ciliate community is the level of sensitivity of the various species of these organisms to the physical and chemical properties of the water. This factor can be explained by the specific demands of various ciliate protozoa in relation to water characteristics such as amount of dissolved organic matter, temperature, pH, conductivity and dissolved oxygen concentration (NOLAND 1925, KUDO 1967, SLEIGH 1988). The three sample points were different in relation to the physical and chemical characteristics (Figs 15-18), with points 2 and 3 being most similar (Fig. 19). These results confirm the high sewage loads at points 2 and 3 due to dense human occupation in the region (Fig. 19). The minimum and maximum values of the physical and chemical parameters recorded in the samples of *F. leucas* collected were: 1.98-8.01 mg l⁻¹ O₂, pH 6.9-8.73, 58-390 μ S/cm and 19.5-26.2°C, corroborating the autecological data presented by FOISNNER *et al.* (1999) for *F. leucas* in a survey article. The occurrence of *F. leucas* in environments with a wide range of physical and chemical parameters demonstrated that this species has low sensitivity to environmental variations.

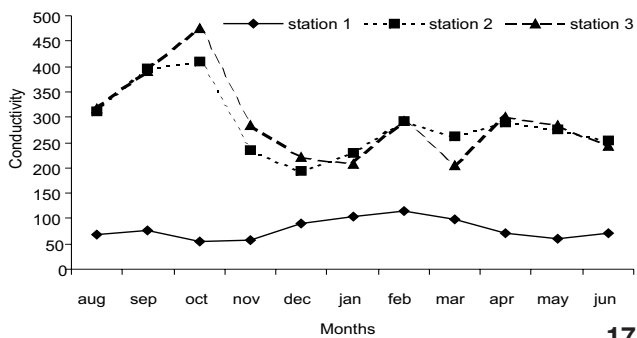
Of the eleven collections at each sample point, we recorded *F. leucas* in eight samples from point 1 and five from points 2 and 3. MADONI & BASSANINI (1999), taking monthly samples during one year, studied six points of the Parma River in Italy, three of them located inside a natural park, two receiving low concentrations of sewage and one high concentrations. They recorded *F. leucas* seven times in the set of unpolluted and low-polluted points and not at all at the point with the



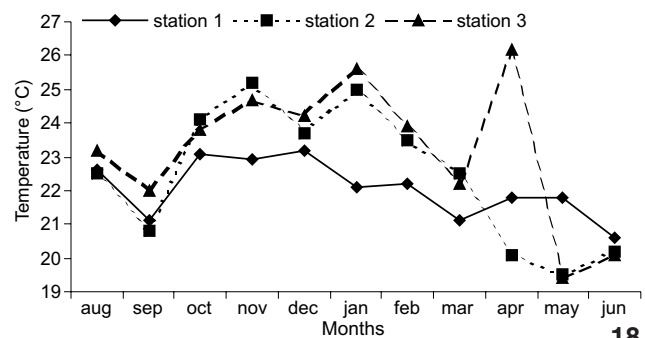
15



16



17



18

Figures 15-18. Variation of the physical and chemical qualities from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003: (15) dissolved oxygen concentration, (16) pH, (17) conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$), and (18) temperature from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

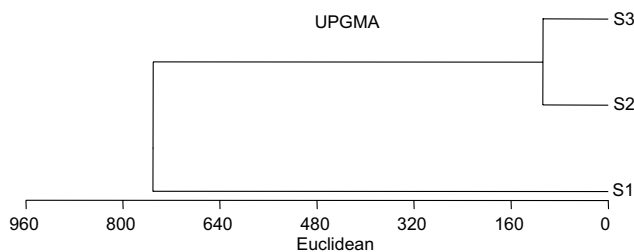


Figure 19. Dendrogram of cluster analysis, showing the similarities among stations on the basis of physical and chemical qualities.

highest saprobic level, indicating this species' preference for alpha-beta mesosaprobic environments. The needs of these species and communities are complex and the disturbances caused by pollution can considerably alter the aquatic food chain (MADONI & BASSANINI 1999). In oligosaprobic waters, the ciliates feed mainly on diatoms, while few feed on bacteria and cyanobacteria. As the saprobic level increases, the trophic structure is altered, causing a decrease in algivores and an increase in the number of bacterivore species. Omnivorous ciliates, such as *F. leucas*, become facultative bacterivores due to the abundance of bacteria in water with high sewage levels (PRIMC 1988). Because it is a species with an ample ecological valence and thus rapid ecological adaptability and wide tolerance for envi-

ronmental changes, *F. leucas* has been registered at locations with different saprobic conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Roberto da G. Alves (ICB, UFJF) and Sthefane D'Avila. This research was supported by FAPEMIG.

REFERENCES

- ALTMANN, J. 1974. Observational study of behavior: Sampling methods. *Behavior*, Leiden, **48**: 227-265.
- BEERS, D. 1933. The ingestion of large Amoeba by the ciliate *Frontonia leucas*. *Journal of the Mitchell Society*, Morehead, **17**: 223-227.
- CZAPIK, A. 1982. The effect of waste water on ciliate communities in the Biala Przemsza River. *Acta Hydrobiologica*, Kraków, **24** (1): 29-37.
- D'AGOSTO, M.T.; H.H. SANTOS-PREZOTO & R.J.P. DIAS. 2003. Estudando o comportamento de protozoários, p. 22-28. In: K. DEL-CLARO & F. PREZOTO (Eds). *As distintas faces do comportamento animal*. São Paulo, Conceito, 276p.
- DEVI, V.R. 1964. Cannibalism in *Frontonia leucas* Ehr. *Journal of Protozoology*, Lawrence, **11**: 304-307.
- FOISSNER, W.; H. BERGER & F. KOHMANN. 1994. *Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystem. Band III: Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida*. In-

- formationsberichte des Bayer, Landesamtes für wasserwirtschaft, Heft 1/94, 548p.
- FOISSNER, W.; H. BERGER & J. SCHUAMBURG. 1999. **Identification and ecology of limnetic plankton ciliates**. Munich, Bavariae State Office for Water Mannagement, Issue 3, 793p.
- GOLDSMITH, W.M. 1922. The process of ingestion in the ciliate, *Frontonia*. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, **36**: 397-351.
- KUDO, R.R. 1967. **Protozoologia**. México, Editorial Continental, 4^a ed., 905p.
- MADONI, P. & N. BASSANINI. 1999. Longitudinal changes in the ciliate protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology**, Southampton, **35**: 391-402.
- NOLAND, L.E. 1925. Factors influencing the distribution of fresh water ciliates. **Ecology**, Durham, **6**: 437-452.
- PACKROFF, G. & P. ZWICK. 1996. The ciliate fauna of an unpolluted foothill stream, the Breitenbach, 1: qualitative aspects. **Limnologia**, Stechlin, **26** (3): 255-262.
- PRIMC, B. 1988. Trophic relationships of ciliates Protozoa developed under different saprobic conditions in the periphyton of the Sava River. **Periodicum Biologorum**, Zagreb, **90** (3): 349-353.
- PRIMC-HABDIJA, B.; I. HABDIJA & I. RADANOVIĆ. 1998. Seasonal changes in trophic structure of periphytic ciliates in relation to discharge regime. **Verhandlungen Internationale Vereinigen Limnologie**, Munich, **26**: 1116-1119.
- RADEK, R. & K. HAUSMANN. 1996. Phagotrophy of Ciliates, p. 197-219. *In*: K. HAUSMANN & P.C. BRADBURY (Eds). **Ciliates: cells as organisms**. Stuttgart, Gustav Fischer, 485p.
- SLEIGH, M. 1988. **Protozoa and other Protists**. New York, Chapman and Hall, 399p.
- SOLA, A.; J.F. LONGÁS; S. SERRANO & A. GUINEA. 1996. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia**, Dordrecht, **324**: 237-252.
- SPARAGANO, O. & C. GROLIÈRE. 1991. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroecologie Applique**, Paris, **1**: 43-62.
- TUFFRAU, M. 1959. Un dispositif simple pour l'observation durable *in vivo* des microorganismes. **Hydrobiologia**, Dordrecht, **18** (4): 316-318.

Received in 10.I.2006; accepted in 23.VIII.2006.

Record of *Rhabdostyla chironomi* Kahl, 1933 (Ciliophora, Peritrichia) Epibiont on Chironomidae larvae (Diptera, Chironomidae) in a lotic system in Brazil

Dias, RJP.^{a*}, Cabral, AF.^a, Stephan, NNC.^a, Martins, RT.^a,
Silva-Neto, ID.^b, Alves, RG.^a and D'Agosto, M.^a

^aPrograma de Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal, Instituto de Ciências Biológicas – ICB,
Campus Universitário, Universidade Federal de Juiz de Fora,
CEP 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brazil

^bDepartamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brazil

*e-mail: rjunodias@hotmail.com

Received October 6, 2006 – Accepted January 10, 2007 – Distributed November 30, 2007

(With 2 figures)

Epibiosis is a facultative association of two organisms: the epibiont and the basibiont. The term “epibiont” includes organisms that, during the sessile phase of their life cycle, are attached to the surface of a living substratum, while the basibiont lodges and constitutes a support for the epibiont (Wahl, 1989; Fernandez-Leborans and Tato-Porto, 2000).

Several ciliate protozoans live as epibionts on animals and plants, using them as substrate (Fenchel, 1987; Sleigh, 1988; Mayén-Estrada and Aladro-Lubel, 2001). Most ciliates of the genus *Rhabdostyla* Kent, 1880 (Peritrichia, Epistylidae) live as epibionts of freshwater invertebrates, such as rotifers, crustaceans (cladocerans, copepods), insects from the orders Ephemeroptera and Diptera (Chironomidae), and annelids (Oligochaeta and Polychaeta) (Kahl, 1935; Precht, 1935; Nenninger, 1948; Fernandez-Leborans and Tato-Porto, 2000; Regali-Selegim and Godinho, 2004). Among species of the genus *Rhabdostyla*, only *R. chironomi* Kahl, 1933 has been reported on Chironomidae larvae. This species was found on the respiratory tubes of chironomids in a brackish water pond at Kiel, Germany (Kahl, 1935). Chironomids of the genus *Chironomus* Meigen, 1803 (Diptera, Chironomidae) present a wide geographical distribution, living in lentic or lotic environments. Their wide distribution and great abundance in various freshwater ecosystems is explained by their several larval stage adaptations (Armitage et al., 1995).

During a survey of ciliated protists and benthic macroinvertebrates in the São Pedro stream, municipality of Juiz de Fora, MG, Brazil, we report the occurrence of *Rhabdostyla chironomi* (Figure 1) on larvae of *Chironomus decorus* Johannsen, 1905. Samples were taken from the sediment from September 2005 using a Van Veen grab in a collection station of the São Pedro stream (21° 45' S and 43° 21' W), basin of the river Paraíba, within the urban region, at a point where domestic sewage is directly discharged. The sediment samples were fixed in 8% formaldehyde until the moment of washing in a 210 µm mesh sieve. After selection, the larvae of *Chironomus* were preserved in 70% alcohol

and mounted on slides with lactophenol, and further investigated for epibiont ciliates through bright field and differential interferential contrast microscopy (DIC). We monitored the physical and chemical qualities of the water recording the dissolved oxygen concentration, pH, conductivity and water temperature. The autecological data registered for *R. chironomi* were 5.19 mg.L⁻¹ O₂, pH 8.24, 161 µS.cm⁻¹ and 21.2 °C.

This new record of *R. chironomi* in a stream seems to be the first since its description in 1933 on chironomid larvae in a brackish water pond, according to the literature revision. In Brazil, *R. pristinis* Righi, 1973 species were recorded on *Pristina minuta* (Stephenson, 1914) (Oligochaeta, Naididae), in soil samples collected near the Capivara River in Serra do Cipó mountains (19° 30' S and 43° 45' W), Minas Gerais (Righi, 1973) and *Rhabdostyla* sp. on metazooplankton organisms (rotifers, cladocerans and copepods), in a shallow eutrophic artificial reservoir, Monjolinho Reservoir (22° 01' S and 47° 53' W), São Carlos, São Paulo (Regali-Selegim and Godinho, 2004).

In the present record, *R. chironomi* species were found on the ventral tubules of the chironomids (Figure 2), as reported in its description. The localization of these ciliates in ventral tubules may be related to the ventilation behavior shown by chironomids. These larvae are apneustics and breathe the oxygen diluted in water through the body surface, mainly through the ventral and anal tubules. Furthermore, they generate ventilation flows by moving their posterior end expansions (tubules) or through a swimming behavior, which are means that favor respiratory exchanges (Merritt and Cummins, 1984).

Another important aspect of the epibiotic relationship among ciliated protists and larvae of *Chironomus* is its possible use as organic pollution indicators. Representatives of the genus *Chironomus* as well as several peritrich ciliates present high abundance in organically enriched environments (Henebry and Ridgeway, 1979; Armitage et al., 1995). *Rhabdostyla inclinans* Roux, 1901 is the only species of the genus

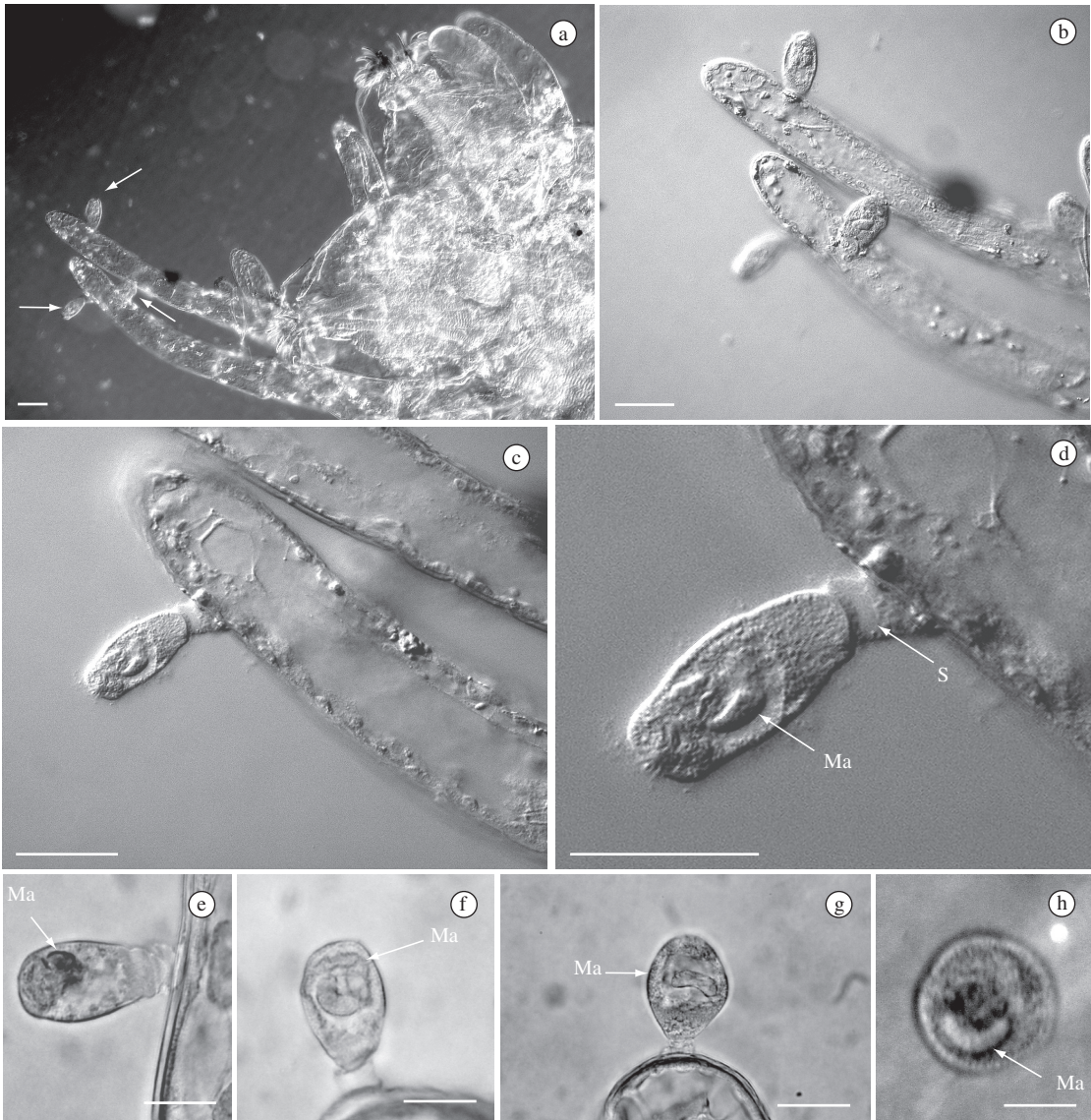


Figure 1. Photomicrographic images of *Rhabdostyla chironomi* on Chironomidae larvae observed in vivo through DIC (a, d) and bright field (e, h); a) Posterior region of *Chironomus decorus* group larva showing ciliates in the ventral tubules (arrows); b, c) detail of ventral tubules with ciliates; d) detail of *R. chironomi* showing the stalk (S) and the macronucleus (Ma); e-g) lateral view of *R. chironomi* showing the macronucleus; and h) superior view of *R. chironomi* showing the macronucleus. Bars (a, d) = 50 μ m; and (e, h) = 25 μ m.

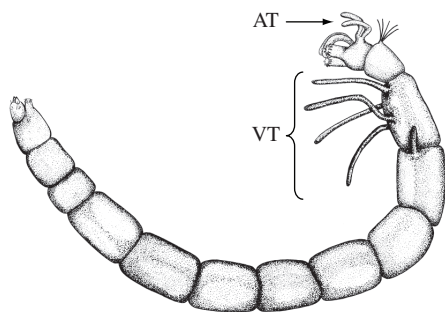


Figure 2. Schematic drawings of *Chironomus decorus* group larva showing the localization of the ventral (VT) and anal tubules (AT). The ciliates are living on the ventral tubules.

Rhabdostyla present on Foissner and Berger's list of indicator ciliates (1996), and it is an indicator species of the a-mesosaprobity zone, i.e., heavily polluted environments. The high abundance of *Chironomus* larvae in organically enriched environments increases the living substrate (basibiont) availability, favoring colonization by the ciliates of the species *R. chironomi* (epibiont).

Acknowledgments — We thank Venício Feo da Veiga (Instituto de Microbiologia, UFRJ) for access to the optical microscopy equipment (DIC) and Sthefane D'ávila for the drawing work. This research was supported by FAPEMIG (CRA-1291/05. 2005).

References

- ARMITAGE, PD., CRASTON, PS. and PINDER, LCV. (Eds.), 1995. *The Chironomidae: the Biology and Ecology of Non-Biting Nidges*. Chapman and Hall, London. 572p.
- FENCHEL, T., 1987. Ecology of Protozoa. The biology of free-living phagotrophic protists. Berlin and Tokyo, Springer, 197p.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. and TATO-PORTO, ML., 2000. A review of the species of Protozoan Epibionts on Crustaceans. I. Peritrich ciliates. *Crustaceana*, vol. 73, no. 6, p. 643-683.
- FOISSNER, W. and BERGER, H., 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshw. Biol.*, vol. 35, no. 2, p. 375-498.
- HENEBRY, MS. and RIDGEWAY, BT., 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic pollution. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, vol. 98, no. 4, p. 495-508.
- KAHL, A., 1935. Peritrichia und Chonotricha, p. 651-885. In *Urtiere oder Protozoa*, Gustav Fischer.
- MAYEN-ESTRADA, R. and ALADRO-LUBEL MA. A., 2001. Epibiont Peritrichids (Ciliophora: Peritrichida: Epistylidae) on the crayfish *Cambarellus patzcuarensis* in lake Pátzcuaro, Michoacán, Mexico. *J. Crust. Biol.*, vol. 21, no. 2, p. 426-434.
- MERRITT, RW. and CUMMINS, KW., 1984. *An introduction to the Aquatic Insects of the North America*. Dubuque, Kendall/Hunt Publish Company, 772p. Dubuque.
- NENNINGER, U., 1948. Die Peritrichen der Umgebung von Erlangen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Wirtsspezifität. *Zool. Jahrb. Syst.*, vol. 77, no. 3/4, p. 169-266.
- PRECHT, H., 1935. Epizoen der Kieler Bucht. *Nova Acta Leopold.*, vol. 3, no. 15, p. 405-475.
- REGALI-SELEGHIM, MH. and GODINHO, MJL., 2004. Peritrich epibiont protozoans in the zooplankton of a subtropical shallow aquatic ecosystem (Monjolinho Reservoir, São Carlos, Brazil). *J. Plankton Res.*, vol. 26, no. 5, p. 501-508.
- RIGHI, G., 1973. On *Pristina minuta* (Oligochaeta, Naididae) from Brazilian soil and its Epizoic *Rhabdostyla pristinis* sp. n. (Ciliata, Epistylidae). *Zool. Anz. Leipzig*, vol. 191, no. 5/6, p. 295-299.
- SLEIGH, M., 1988. Protozoa and other Protists. New York, Chapman and Hall, 399p.
- WAHL, M., 1989. Marine Epibiosis. I. Fouling and Antifouling: some basic aspects. *Mar. Ecol., Prog. Ser.*, vol. 58, p. 175-189.

Description of a mirror-image doublet from a Brazilian strain of *Gastrostyla setifera* (Engelmann, 1862) Kent, 1882 (Ciliophora: Stichotrichia)

Roberto Júnio Pedrosa Dias^{a,*}, Thiago da Silva Paiva^b, Inácio Domingos da Silva-Neto^b, Marta D'Agosto^a

^aLaboratório de Protozoologia, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, CEP 36036-900 Cidade Universitária, Juiz de Fora, MG, Brazil

^bLaboratório de Protistologia, Departamento de Zoologia, Inst. de Biologia, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, CEP 21941-590 Ilha do Fundão, Rio de Janeiro – RJ, Brazil

Received 20 November 2006; received in revised form 15 February 2007; accepted 6 March 2007

Abstract

The present work describes a mirror-image doublet morph found in a Brazilian strain of the stichotrich ciliate *Gastrostyla setifera* (Engelmann, 1862) Kent, 1882, obtained from a sample of water and sediment from an urban freshwater stream in the city of Juiz de Fora (Minas Gerais, Brazil). The doublet measured $63 \times 49 \mu\text{m}$, and had two components where the right one has upside-down arranged adoral membranelles with a set of small oblique membranelles at its proximal (posterior) end. The fronto-ventral-transverse ciliature comprised 34 cirri, mostly related to the left component, as well as two marginal rows. On the dorsal surface there were eight dorsal kineties and six caudal cirri. Dorsomarginal kineties were lacking. The macronucleus comprised one irregular-shaped transverse nodule and two smaller roughly ellipsoid longitudinal nodules.

© 2007 Elsevier GmbH. All rights reserved.

Keywords: Allomorhism; Ciliate; Doublet; Gastrostylidae; South America; Stylonychinae

Introduction

Doublets are morphs that occur in ciliates where one individual develops two major cellular components and survives with, effectively, a double body. They can be of the homopolar type if the components are united by their opposing dorsal surfaces, or of mirror-image type

(also called “jumelles”), a rare condition when the two components are joined laterally (Berger 1999; Frankel 1989). According to Shi and Frankel (1990), doublets can be interpreted as a developmental modification with consequent perpetuation of fused normal cells.

In stichotrich ciliates, mirror-image doublets possess one cell component whose pattern of ciliature is rather similar to that of the normal individual (singlet) and a second component bearing apparently inverted somatic and oral ciliatures (Frankel 1989; Jerka-Dziadosz 1983; Shi and Frankel 1990). These morphs may occur spontaneously or be induced by exposure to UV light,

*Corresponding author.

E-mail addresses: rjuniodias@hotmail.com (R.J.P. Dias), tpaiva@biologia.ufrj.br (T. da Silva Paiva), idsnet@biologia.ufrj.br (I.D. da Silva-Neto), marta.dagosto@uff.edu.br (M. D'Agosto).

a laser beam, an intense electric field or microsurgery, with the implantation of the oral primordium from a normal cell in divisional morphogenesis (Banchetti et al. 1997; Berger 1999; Totwen-Nowakowska 1965).

The present paper describes the morphology of a mirror-image doublet from a strain of *Gastrostyla setifera* (Engelmann, 1862) Kent, 1882, a rare limnetic species (Berger 1999), found in a sample collected from an urban freshwater stream in the state of Minas Gerais, Brazil. In spite of the paper by Shi et al. (2003), few contributions on the morphology of this species have been published so far (for a review, see Berger 1999).

We believe this work is the first report of a mirror-image doublet of a species of the genus *Gastrostyla* Engelmann, 1862, as well as the second record of *G. setifera* from Brazilian territory (Paiva and da Silva-Neto 2005).

Material and methods

Samples of water with bottom sediments were collected in the year of 2005 from the São Pedro stream (UTM = 668 307, 7 591 772), an urban freshwater body located in the city of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil. After transfer to the laboratory, ordinary limnetic cultures were made from small aliquots of the samples, as explained in Foissner et al. (2002). Specimens were isolated with micropipettes and identified through living observations (phase and Nomarski contrasts at 100–1000 \times magnification) and after protargol preparations made following the protocol described by Dieckmann (1995). The doublet was found in a protargol-impregnation slide containing numerous singlets. The cells presented in this work were photographed at 400–1000 \times and measured at 1000 \times magnification. Schematic drawings of live specimens are reconstructions made from data of both live individuals and specimens on protargol slides. Drawings of protargol-impregnated specimens were made at 1000 \times magnification with the aid of a camera lucida. The terminology adopted follows mainly Shi and Frankel (1990), Berger (1999) and Shi et al. (2003). The slide containing the doublet and other voucher protargol slides with several specimens of *G. setifera* were deposited in the collection of Laboratório de Protistologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Results

Morphology of normal (singlet) interphasic cells (Figs 1–3, 7–10)

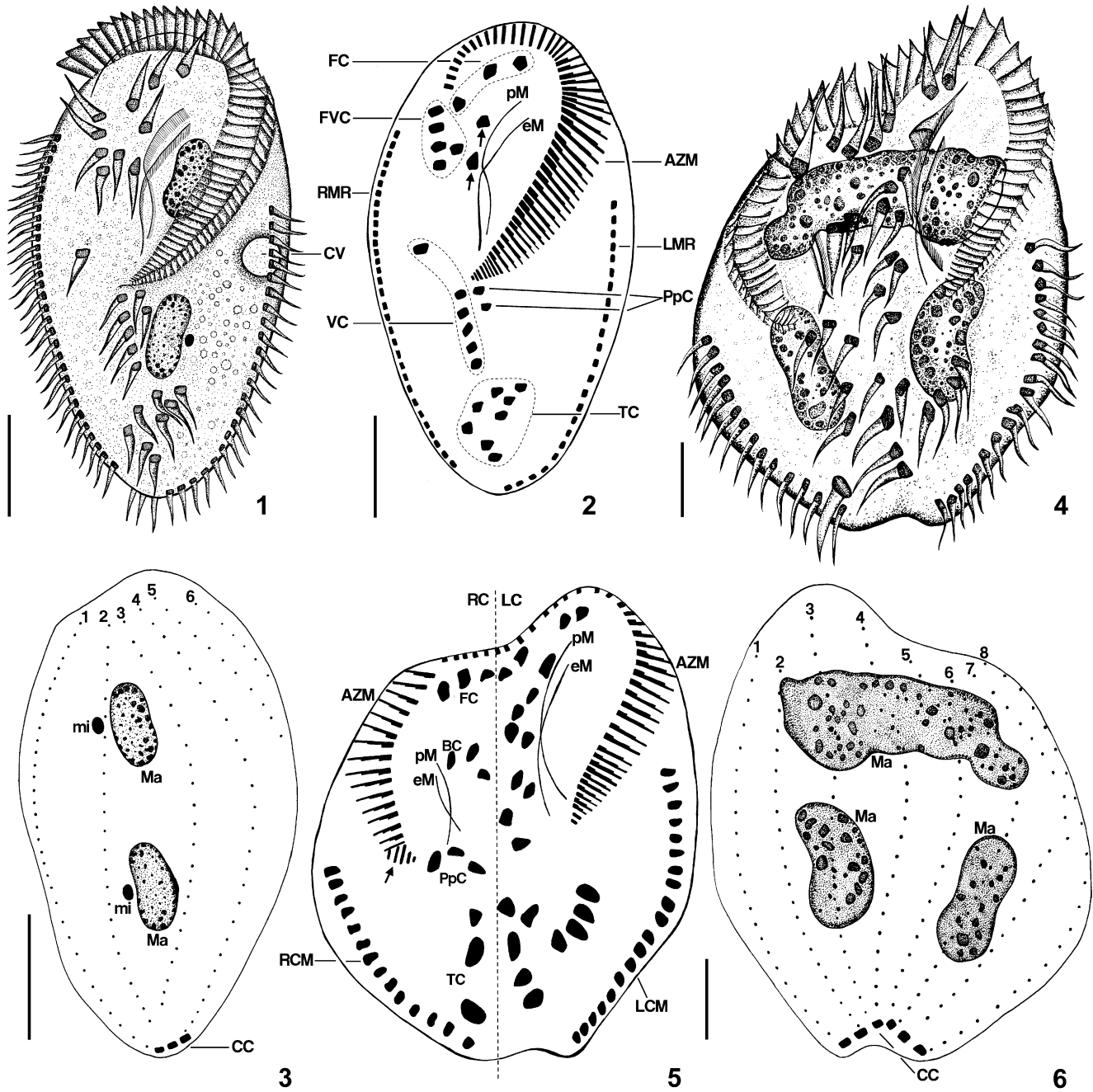
The overall morphology of singlets is very similar to that of the Chinese population of *G. setifera* studied by

Shi et al. (2003), so we considered both conspecific. Nevertheless, some variation was observed in the cirral pattern of the population from Minas Gerais and in another strain of *G. setifera* from southern Brazil (work in preparation), and which were not reported in the Chinese study, e.g. two buccal cirri originating from ventral anlage II (Figs 1, 2). As such discussion will be the focus in a future paper from our group, we present here a brief description of the normal interphasic cells of *G. setifera* from Minas Gerais: *Gastrostyla* measuring about 145 \times 65 μ m, dorsoventrally flattened with ellipsoid outline, narrowed in the posterior region. Cell rigid and without cortical granules, with granulous cytoplasm greenish in the middle region of the organism (often dark at low magnification) but clear at posterior and anterior ends. One contractile vacuole located adjacent to the left margin of the cell, above the equatorial region (Fig. 1). Food vacuoles usually located close to cell margins. Sometimes may ingest large prey, such as diatoms (Fig. 10). Adoral zone of membranelles (AZM) conspicuous with about 55 membranelles and paroral and endoral membranes apparently crossing over one another in their median region. Fronto-ventral-transverse (FVT) ciliature formed by, on average, three frontal cirri, six fronto-ventral, two buccal, ten ventral and five transverse cirri split into two sets. One left and one right marginal cirral rows, bearing 23 and 32 cirri respectively. The dorsal ciliature comprises four dorsal kineties, of which kineties 1, 2 and 4 each bear one caudal cirrus, plus two dorsomarginal kineties, numbered 5 and 6 in Figs 3, 8. Nuclear apparatus formed by two macronuclear nodules measuring about 25 \times 12 μ m each and two spheroid micronuclei measuring 4–5 μ m in diameter (Figs 1–3, 7–10).

Morphology of mirror-image doublet (Figs 4–6, 11–15)

Only one doublet was found in a sample of more than 30 cells. It measures 63 μ m long (length of the left component) and 49 μ m wide. Most of the structures of the left component are similar to those from singlets. In this component's oral apparatus, the AZM has 35 adoral membranelles that are conspicuously similar to those of other stylonychine ciliates (Foissner and Al-Rasheid 2006; Grim 1972), and arranged in the same manner as in singlets (Figs 4, 5, 12).

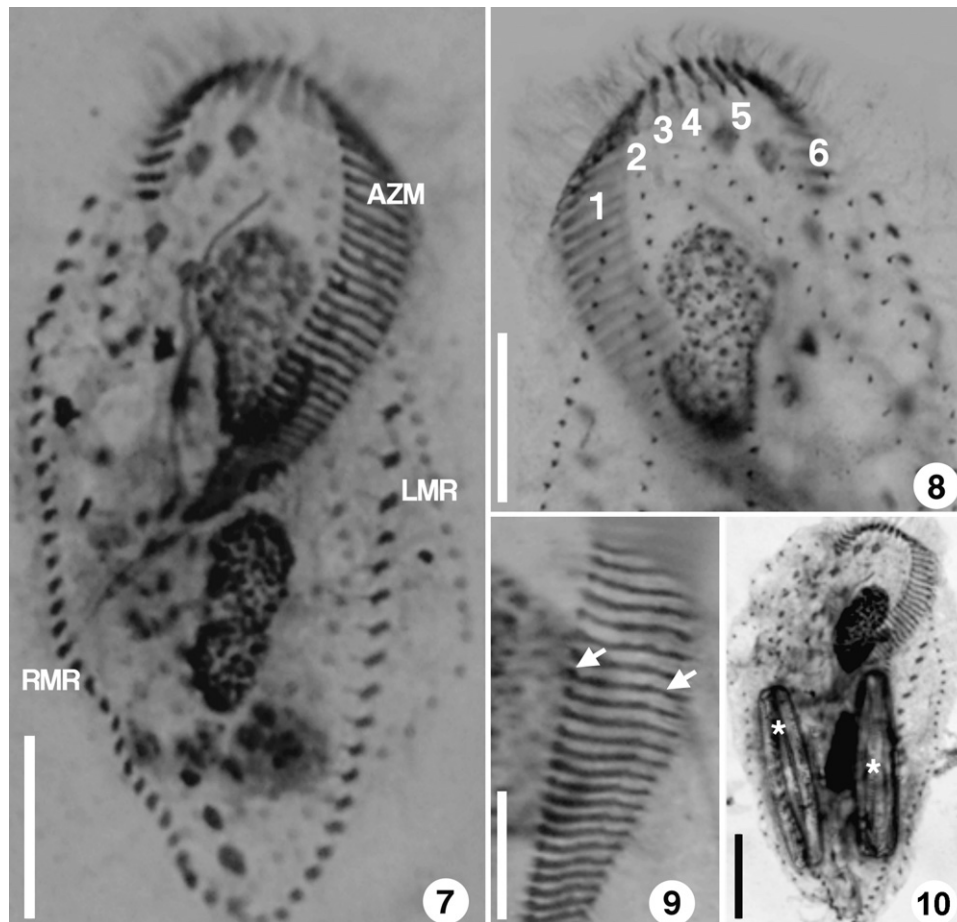
Conversely, the inverted right component is shorter, measuring 54 μ m in length, has a reduced and apparently inverted ventral ciliature in relation to the left one, the most noticeable feature being the position of the adoral membranelles, which are flipped about 180 $^\circ$ to the right, resulting in an upside-down orientation that gives a false impression that they are mirror-inverted



Figs 1–6. Schematic drawings of *Gastrostyla setifera* from life (1, 4) and after protargol impregnation (2, 3, 5, 6). 1. Ventral view of singlet. 2, 3. Infraciliature of ventral and dorsal sides and nuclear apparatus of singlet. Arrows point to the two buccal cirri. Kineties 5 and 6 are dorsomarginal. 4. Ventral view of doublet. 5, 6. Infraciliature of ventral and dorsal sides and nuclear apparatus of doublet. Arrow marks anomalous proximal adoral membranelles (see text for details). AZM – adoral zone of membranelles; BC – buccal cirrus; CC – caudal cirri; CV – contractile vacuole; eM – endoral membrane; FC – frontal cirri; FVC – frontoventral cirri; LC – left component; LCM – marginal cirral row of the left component; LMR – left marginal cirral row of singlet; Ma – macronuclear nodule; mi – micronucleus; pM – paroral membrane; PpC – postperistomial cirri; RC – right component; RCM – marginal cirral row of right-hand component; RMR – right marginal cirral row of singlet; TC – transverse cirri; VC – ventral cirri; 1–8 – dorsal kineties. Scale bars: Figs 1–3: 30 μ m; Figs 4–6: 10 μ m.

(see Frankel 1989). This right component has 29 adoral membranelles, and the five most proximal (posterior) ones are quite clearly oriented in a different direction compared with the others (Fig. 11).

The paroral and endoral membranes measure 20 and 19 μ m, respectively, in the left component and 10 and 9 μ m in the right one. In the left component they virtually intercept each other at their median region,



Figs 7–10. Photomicrographs of protargol-impregnated singlets of *Gastrostyla setifera*. **7.** Ventral side. **8.** Anterior region of dorsal side, showing dorsal kineties. Kineties 5 and 6 are dorsomarginal. **9.** Details of the adoral zone of membranelles. Arrows show the typical orientation of singlet's adoral membranelles. **10.** Specimen with ingested diatoms (asterisks). AZM – adoral zone of membranelles; LMR – left marginal cirral row; RMR – right marginal cirral row; 1–6 – dorsal kineties. Scale bars: 30 μm .

forming the “*Oxytricha* pattern” (Berger 1999). The undulating membranes of the right component also appear to cross each other, close to their proximal ends, displaying opposing curvatures (Fig. 5).

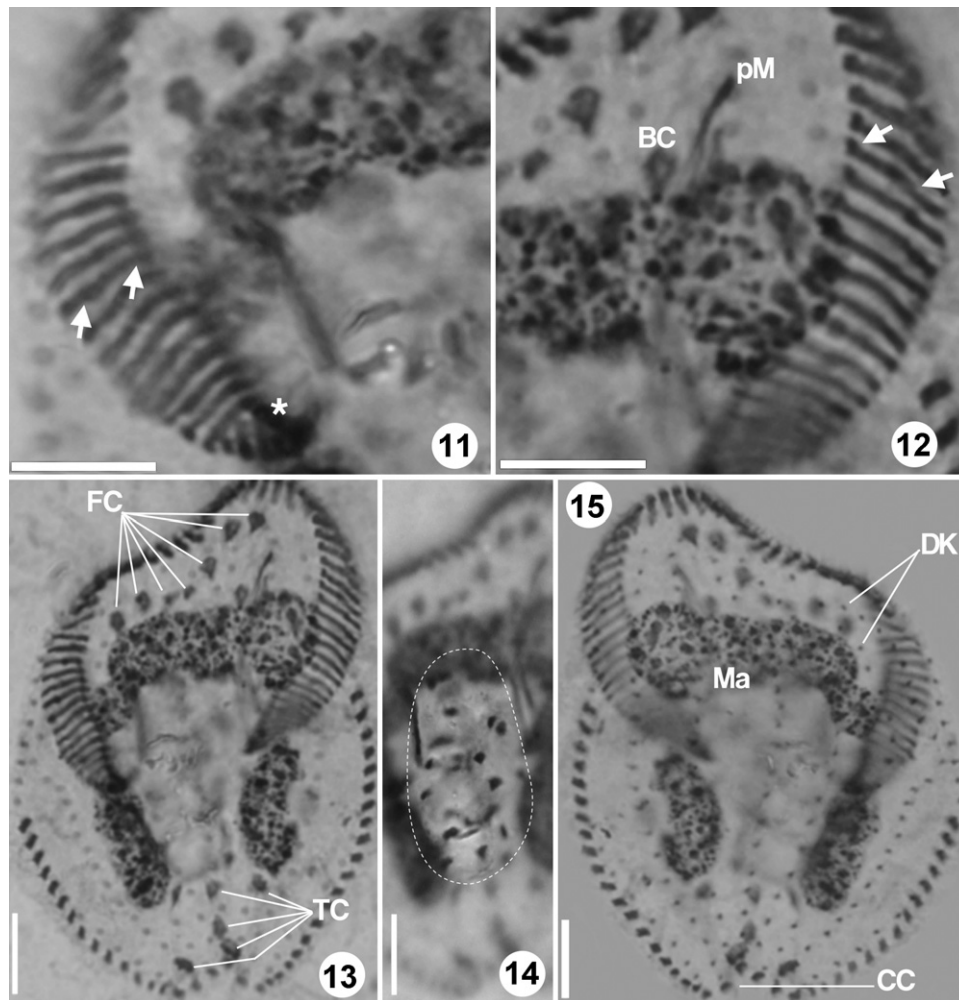
The ventral cirral pattern in the *G. setifera* doublet bears little resemblance to that of a singlet and the cirri in the central region of the doublet are rather difficult to classify unambiguously into standard types. In addition to the ciliature in the left component, which resembles that of a normal cell, a deviant reduced ventral ciliature is found in the right component. In the frontal set of this right component, only the two leftmost cirri seem to be entirely differentiated, to judge from the size and shape of their bases. A single buccal cirrus is present to the left of the short undulating membranes. Below the peristome level there is a scrambled set of postperistomial and ventral cirri followed by a reduced array of at least two transverse cirri. A total of 34 FVT cirri were counted, which is less than twice that in an average singlet ventral set of cirri. Apparently, this is due to the right ciliature being reduced in relation to the left. Both

components have a row of marginal cirri, equivalent to the left marginal row of singlet cells that has 19 cirri in the left component and that on the right is shorter, with only 14 cirri. Conventional right marginal cirral rows are lacking. The whole doublet has eight dorsal kineties; each component bears three caudal cirri that are located at the posterior end of their kineties 1, 2 and 4, as in normal cells, but there are no dorsomarginal kineties.

The macronucleus is formed by a large transverse irregular-shaped nodule that is shared by both components and two additional roughly ellipsoid smaller longitudinal nodules located about in the middle region of each component (Figs. 6, 15). Micronuclei and contractile vacuoles could not be observed in the doublet.

Discussion

Compared with descriptions of other doublets found in the literature, the mirror-image doublet of *G. setifera*



Figs 11–15. Photomicrographs of protargol-impregnated doublet of *Gastrostyla setifera*. **11.** Details of the oral apparatus of right component, showing upside-down adoral membranelles (arrows) and anomalous membranelles (asterisk). **12.** Details of the oral apparatus of the left component showing normal orientation of adoral membranelles (arrows). **13.** Frontal and transverse cirri. **14.** Ventral cirri (encircled). **15.** Dorsal side. BC – buccal cirrus; CC – caudal cirri; DK – dorsal kineties; FC – frontal cirri; Ma – macronucleus; pM – paroral membrane; TC – transverse cirri. Scale bars: 30 μ m.

agrees with the more or less symmetrical arrangement of the cortical structures described in mirror-image doublet morphs of *Pleurotricha lanceolata* (Grimes et al. 1980), *Paraurostyla weissei* (Jerka-Dziadosz 1983, 1985) and *Stylonychia mytilus* (Shi et al. 1990; Shi and Frankel 1990; Tchang and Pang 1977, 1981). Furthermore, irregularities in the length of the adoral membranelle bases in the right component were also reported in the fine-structure study of the *Pa. weissei* doublet by Jerka-Dziadosz (1983) and through protargol impregnation by Shi and Frankel (1990) in *S. mytilus*. As far as we know, the anomalous position of the most proximal five membranelles in our specimen (Figs 5, 11) was never reported before. The apparently inverted orientation of adoral membranelles in the right component characterizes a typical mirror-image doublet (Grimes et al. 1980; Jerka-Dziadosz 1983, 1985; Shi et al. 1990; Shi and Frankel 1990). It affects the cell movement and results in

an impossibility to participate in food collection (Jerka-Dziadosz 1983; Shi and Frankel 1990). Separate studies on the functionality of the anomalously located proximal membranelles must be conducted in order to find out whether or not they may interfere in the feeding behavior of the doublet.

The absence of conventional right marginal cirral rows was also reported in mirror-image doublets of *Pl. lanceolata*, *Pa. weissei* and *S. mytilus* (Grimes et al. 1980; Jerka-Dziadosz 1983, 1985; Shi and Frankel 1990) (Figs 5, 11–14). Because of this, the dorsomarginal kineties that are present in singlets of *G. setifera* did not develop in the doublet, since these structures are formed in association with the right marginal row anlage (Shi et al. 2003).

Because of their frequency of occurrence, Ricci et al. (2000) considered the possibility of homopolar doublets in the stichotrich *Oxytricha bifaria* not being a mere

product of abortive binary fission, but an allomorphic state granting some adaptative value, such as conjugant pairs, giants and cysts. They found, for instance, that homopolar doublets may be more frequent than giant-sized cells (Ricci et al. 2000).

The chance of mirror-image doublets representing some advantage under certain conditions has scarcely been discussed, probably because these are likely to consume more energy than singlet morphs, due to the non-feeding right component, and because naturally formed doublets are rarely observed. Grimes et al. (1980) reported that mirror-image doublets in *Pl. lanceolata* are capable of encystment and excystment. This suggests an unexplored behavioral complexity present in these morphs that awaits future investigations on their possible significance.

Acknowledgements

We are grateful to M.Sc. Sthefane D'Avila de Oliveira e Paula who made the schematic drawings and to M.Sc. Bárbara do Nascimento Borges for English revision. We also acknowledge the comments and suggestions made by the editor and the anonymous reviewers. This study was financially supported by CAPES, CNPq, FAPEMIG and FAPERJ.

References

- Banchetti, R., Bisogni, S., Ricci, N., 1997. The morphology of the doublet of *Oxytricha bifaria*: further studies. *Cytobios* 90, 203–218.
- Berger, H., 1999. Monograph of the Oxytrichidae (Ciliophora, Hypotrichia). *Monogr. Biol.* 78, 1–1080.
- Dieckmann, J., 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. *Eur. J. Protistol.* 31, 372–382.
- Foissner, W., Al-Rasheid, K., 2006. A unified organization of the stichotrichine oral apparatus, including a description of the buccal seal (Ciliophora: Spirotrichea). *Acta Protozool.* 45, 1–16.
- Foissner, W., Agatha, S., Berger, H., 2002. Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (south-west Africa), with emphasis on two contrasting environments, the Etosha region and the Namib Desert. *Denisia* 5, 1–1459.
- Frankel, J., 1989. *Pattern Formation: Ciliate Studies and Models*. Oxford University Press, New York.
- Grim, J.N., 1972. Fine structure of the surface and infraciliature of *Gastrostyla steini*. *J. Protozool.* 19, 113–126.
- Grimes, G.W., McKenna, M.E., Goldsmith-Spoegler, C.M., Knaupp, E.A., 1980. Patterning and assembly of ciliature are independent processes of hypotrich ciliates. *Science* 209, 281–283.
- Jerka-Dziadosz, M., 1983. The origin of mirror-image symmetry doublet cells in the hypotrich ciliate *Paraurostyla weissei*. *Roux's Arch. Dev. Biol.* 192, 179–188.
- Jerka-Dziadosz, M., 1985. Mirror-image configuration in the cortical pattern causes modifications in propagation of microtubular structures in the hypotrich ciliate *Paraurostyla weissei*. *Roux's Arch. Dev. Biol.* 194, 311–324.
- Paiva, T.S., da Silva-Neto, I.D., 2005. Observations on the polymorphism of morphostatic individuals and during the morphogenesis in *Gastrostyla setifera* (Ciliophora: Spirotrichea: Stichotrichia). In: XXI Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology, p. 68.
- Ricci, N., Erra, F., Banchetti, R., 2000. The behaviour of the doublet of *Oxytricha bifaria* (Ciliata, Hypotrichida): a contribution to the understanding of this enigmatic form. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47, 156–160.
- Shi, X., Frankel, J., 1990. Morphology and development of mirror-image doublets of *Stylonychia mytilus*. *J. Protozool.* 37, 1–13.
- Shi, X., Qiu, Z., Lu, L., Frankel, J., 1990. Morphology and development of left-handed singlets derived from mirror-image doublets of *Stylonychia mytilus*. *J. Protozool.* 37, 14–19.
- Shi, X., Hu, X., Warren, A., 2003. Rediscovery of *Gastrostyla setifera* (Engelmann, 1862) Kent, 1882: morphology and divisional morphogenesis (Ciliophora, Hypotrichida). *J. Nat. Hist.* 37, 1411–1422.
- Tchang, T., Pang, Y., 1977. The cytoplasmic differentiation of jumelle *Stylonychia*. *Sci. Sin.* 20, 234–243.
- Tchang, T., Pang, Y., 1981. The “ciliary pattern” of jumelle *Stylonychia* and its genetic behaviour. *Sci. Sin.* 24, 122–129.
- Totwen-Nowakowska, I., 1965. Doublets of *Stylonychia mytilus* (O.F.M.) evoked by action of thermic shocks. *Acta Protozool.* 3, 355–361.

**INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL CHARACTERISTICS ON THE
DISTRIBUTION OF CILIATES (PROTOZOA, CILIOPHORA)
IN AN URBAN STREAM OF SOUTHEAST BRAZIL**

Roberto Júnio P. Dias¹, Alfredo H. Wieloch² and Marta D'Agosto¹

1. Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil.
2. Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

(With 8 figures)

Key words: Ciliated protozoa, watercourses, organic pollution, water quality.

Palavras-chave: Protozoários ciliados, águas correntes, poluição orgânica, qualidade da água.

Título abreviado: CILIATES IN AN URBAN STREAM

Correspondence to: Marta Tavares D'Agosto, Laboratório de Protozoologia, Programa de Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal, ICB, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brazil, dagosto@icb.ufjf.br

ABSTRACT

The objective of this work was to study the ciliated protozoa community at three points that receive different levels of domestic sewage along São Pedro Stream in the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil, to determine the influence of organic pollution on this community and assess the feasibility of using ciliates as water quality indicators. Four physical-chemical parameters of the water samples were evaluated: dissolved oxygen content, electrical conductivity, pH and temperature. Point 1 was located in a rural region that receives a low sewage load, while Points 2 and 3 were located in populated regions receiving high sewage loads. We found 22 ciliate species, of which 18 are included in the saprobic system and are considered bioindicators. These showed beta-mesosaprobic environments at Point 1 and alfa-mesosaprobic to polisaprobic environments at Points 2 and 3. The low levels of dissolved oxygen and the high electrical conductivity values at Points 2 and 3, together with the strong similarity between the ciliate taxocenoses of these points and the weak similarity between Point 1 and the other two, confirm the high sewage loads received at the latter two points. The combination of the biological indicators and physical-chemical analyses therefore showed itself to be an efficient method of evaluating water quality, and has excellent potential to support decisions on conservation of headwaters and reclamation of degraded environments in lotic systems.

Key words: Ciliated protozoa, watercourses, organic pollution, water quality.

RESUMO

Influência das características ambientais sobre distribuição dos ciliados (Protozoa, Ciliophora) em um córrego urbano no sudeste brasileiro

O objetivo deste trabalho foi estudar a comunidade de protozoários ciliados em três pontos, que recebem diferentes níveis de lançamento de esgoto doméstico, ao longo do córrego São Pedro, Juiz de Fora, MG, a fim de se determinar a influência da poluição orgânica sobre a composição e distribuição desta comunidade e avaliar a viabilidade da utilização dos ciliados como indicadores

da qualidade água. Foram aferidos quatro parâmetros físico-químicos da água amostrada. O ponto 1 localizou-se em uma região rural recebe baixa carga de esgoto, enquanto os pontos 2 e 3 estavam localizados em regiões com ampla ocupação humana, recebendo altas cargas de esgoto. Nós encontramos 22 espécies de ciliados, sendo que 18 estão incluídas no sistema sapróbio e são consideradas bioindicadoras de ambientes beta-mesosapróbio no ponto 1 e alfa a polisapróbio nos pontos 2 e 3. Os baixos valores de oxigênio dissolvido e os altos valores de condutividade elétrica registrados nas estações 2 e 3, juntamente com a similaridade entre a taxocenose de ciliados destas as estações e a baixa similaridade entre a estação 1 e as demais, confirmaram as altas cargas de esgoto recebidas nestas estações. A união do método biológico com a análise físico-química mostrou-se, portanto, um eficiente método na avaliação da qualidade de água, e apresenta grande potencial de utilização em tomadas de decisões relativas a conservação de nascentes e recuperação de ambientes degradados em sistemas lóticos.

Palavras-chave: Protozoários ciliados, águas correntes, poluição orgânica, qualidade da água.

INTRODUCTION

Studies of the effect of pollution on freshwater environments were traditionally based on observing the physical and chemical characteristics of the water (NORRIS & THOMS, 1999). However, these parameters, analyzed in isolation, do not provide enough evidence to completely evaluate water quality. The current trend is to analyze not only changes in the physical-chemical characteristics, but also the responses to these changes by the organisms that live in these environments. Biological data along with physical and chemical characteristics of the water are an important tool to evaluate water quality in rivers and streams and have contributed to efforts to control emissions of organic pollutants in urban lotic systems (SUEHIRO & TEZUCA, 1981;

GROLIÈRE *et al.*, 1990; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; MADONI, 1993; FERNANDEZ-LEBORANS & NOVILLO, 1996; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI, 1999).

In this context, ciliated protozoa stand out because the disturbances caused by pollution can significantly alter the aquatic food chain, and thus the composition and abundance of these protozoa (CZAPIK, 1982; PRIMC, 1988; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999).

The use of ciliated protozoa as bioindicators has advantages over the use of other organisms. The high sensitivity of these protists to changes in their surroundings, allied with their short generation time, enables them to reveal the response to environmental contamination much more quickly. Besides this, they are widely distributed geographically, being essential components of nearly all environments, and can be obtained in statistically acceptable numbers and be easily maintained in the laboratory (SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; PICCINI & GUTIÉRREZ, 1995; FERNANDEZ-LEBORANS & NOVILLO, 1996).

Their great sensitivity to physical and chemical factors can be explained by the fact that many protozoa have specific demands in relation to the characteristics of the medium in which they live, such as the quantity of dissolved organic matter, temperature, pH, electric conductivity and amount of dissolved oxygen (NOLAND, 1925; KUDO, 1966; SLEIGH, 1988). Among these characteristics, the quantity of organic matter and dissolved oxygen in the water, in characterizing organic pollution, define pollution zones that are associated with particular species of protozoan indicators (FOISSNER & BERGER, 1996). Four main zones of pollution are distinguished: polysaprobity (very heavily polluted), alfa-mesosaprobity (heavily polluted), beta-mesosaprobity (moderately polluted) and oligosaprobity (clean or very slightly polluted) (STREBLE & KRAUTER, 1987; FOISSNER & BERGER, 1996).

In recent years various studies have examined the composition, distribution and dynamics of ciliate communities in lotic systems, as well as their value as water quality indicators (MADONI & GHETTI, 1981; SUEHIRO & TEZUCA, 1981; WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; PRIMC, 1988; GROLIÈRE *et al.*, 1990; SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991; MADONI, 1983, 1984, 1993; FERNANDEZ-LEBORANS & NOVILLO, 1996; SOLA *et al.*, 1996; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI, 1999).

This work studies the community of ciliated protozoa at points with different raw domestic sewage levels along São Pedro Stream (Southeast Brazil) to determine the influence of organic pollution on the composition and distribution of this community and evaluate the use of ciliates as water quality indicators.

MATERIAL AND METHODS

Study area and sampling stations

The watershed of São Pedro Stream, located in the southwest part of the urban area of the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil (Fig. 1), includes São Pedro Dam, which is responsible for 9% of the city's water supply. The stream itself extends for 13,250 m (watercourse) and 10,750 m (straight line), traversing various districts of the municipality. Its headwaters are located at an altitude of 875 m above sea level (LATUF, 2004).

The collections were done monthly, always in the morning, at three points (Fig. 1) along the stream, to obtain samples with different levels of untreated sewage. Point 1 (UTM=663036, 7590303) is located in a rural region and receives a low sewage load, while Points 2 (UTM=668307, 7591772) and 3 (UTM=668645, 7592804) are located in considerably populated regions, receiving high sewage loads.

The water and sediment samples were obtained manually, using dredges with capacity of 300 ml, in the center of the streambed at each collection point. Glass jars were lowered to the bottom, recovered and capped. The samples were then put in Styrofoam containers to maintain their physical conditions and taken to the Microscopy Laboratory of the Postgraduate Program in Animal Behavior and Biology of Juiz de Fora Federal University.

Physical and chemical parameters

Monitoring of the physical and chemical properties of the water at the sampling points was done with portable equipment at the collection sites, recording the following parameters: dissolved oxygen content, electrical conductivity, pH and water temperature.

Processing the samples and identifying the ciliates

Of the samples taken to the lab, we placed fractions of approximately 20 mL in Petri dishes to observe the organisms under a stereoscopic microscope with transmitted light, on the day of collection. We sorted the ciliates from these portions with micropipettes (made in the laboratory) and transferred them to moist chambers (TUFFRAU, 1959) for observation *in vivo* until eight hours after their collection, under an optical microscope (light and dark field), in order to make preliminary identifications. Observation of live ciliates is of great taxonomic importance in classifying genera and species (FOISSNER & BERGER, 1996). We prepared cultures to carry out further identification techniques, adding grains of unpolished rice in fractions of other samples. The rice grains served as a source of carbon for the bacteria present, encouraging excystment of the ciliates. We carried out the following silver impregnation techniques: protargol (DIECKMANN, 1995) and “dry” silver (KLEIN, 1958; FOISSNER, 1991).

Statistical treatment

We used the Mann-Whitney nonparametric test to verify differences between the mean values of the physical and chemical parameters among the three collection stations.

We used cluster analysis, with Euclidian distance and UPMGA, to examine the similarity among these parameters at the three collection points, as well as the data showing presence or absence of the ciliate community at the points. To determine the degree of similarity among the ciliate communities of the three sampling stations, we calculated the qualitative similarity indices of Jaccard and Sorensen (MAGURRAN, 1988).

RESULTS AND DISCUSSION

Physical and chemical analysis

Dissolved oxygen is one of the most important gases in the dynamic and characterization of aquatic ecosystems (ESTEVEZ, 1988; VON SPERLING, 1996). The low average oxygen values obtained at Points 2 (3.02 mg/l) and 3 (2.04 mg/l), when compared with the high average values at Point 1 (6.49 mg/l) (Fig. 2), indicate high organic pollution loads at the stations in the urban area (Stations 2 and 3). There was a significant difference (Mann-Whitney test, $p < 0.05$) between the mean O₂ values from Point 1 in relation to Points 2 and 3, and no significant difference (Mann-Whitney test, $p < 0.05$) between the mean O₂ values of Points 2 and 3.

The electrical conductivity of a solution is considered an important variable in characterizing water bodies and detecting sources of pollution (ESTEVEZ, 1988). The low conductivity levels at Point 1 and high values at Points 2 and 3 confirm the high sewage loads received at the latter two collection spots (Fig. 3). There was a significant difference (Mann-Whitney test, $p < 0.05$) between the mean electrical conductivity values from Point 1 (78.6

$\mu\text{S/cm}$) vis-à-vis Point 2 (286.4 $\mu\text{S/cm}$) and Point 3 (293.0 $\mu\text{S/cm}$), and no significant difference (Mann-Whitney test, $p < 0.05$) between these average values from Points 2 and 3.

The water temperature was nearly the same at all three collection points: 1 (22.4° C), 2 (22.5° C) and 3 (23.2° C), with no significant difference (Mann-Whitney test, $p > 0.05$) among them (Fig. 4).

Point 2 (7.41) and Point 3 (7.46) had lower pH values than Point 1 (8.11) (Fig. 5). In lakes where there is an upper aerobic layer and another anaerobic layer at the bottom, anaerobia can cause elevation of the pH as a consequence of photosynthetic action. It is interesting to note that phenomena like those that keep the pH slightly base in polluted waters can also be occurring in lotic systems, such as São Pedro Stream, in stretches that receive high domestic sewage loads. These effluents flow in constantly, forming a layer of activated mud on the bed. This layer can be washed away during extremely rainy periods, but it accumulates again in short order (BRANCO, 1986). There was a significant difference (Mann-Whitney test, $p < 0.05$) between the mean pH values for Point 1 in relation to Points 2 and 3, and no significant difference (Mann-Whitney test, $p < 0.05$) between these mean values for Points 2 and 3.

The similarity between collection stations 2 and 3, regarding physical and chemical parameters, is shown in Figure 5.

Biological analysis

Table 1 presents the ciliated protozoa taxa that were identified from São Pedro Stream during the study. Over the 11 months of collection at the three stations, samples were identified of 22 taxa, distributed in 20 genera, with 13 being identified at the species level.

The species *Coleps* sp., *Spirostomum minus* Roux, 1901, *Frontonia leucas* (Ehrenberg, 1833), *Urocentrum turbo* Ehrenberg, 1838, *Stylonychia pustulata* Müller, 1786 and *Vorticella* sp. occurred at all the sampling stations. The species occurring at only one station were: *Halteria* sp. at Station 1, *Podophrya fixa* Müller, 1786 at Station 2; and *Stentor coeruleus* Ehrenberg, 1830, *Tokophrya lenarum* Stein, 1859 and *Blepharisma sinuosum* Sawaya, 1940 at Station 3. Of the 22 taxa recorded, 17 occurred at Stations 2 and 3.

The smaller number of species registered at Station 1 (6 species) in comparison with Stations 2 (18 species) and 3 (20 species) (Table 1) can be related to the low abundance of species typical of clear water and headwaters, making them harder to find in samples collected from that station. FOISSNER (1997), studying the ciliate fauna of four clear water rivers in Germany, attributed the low abundance of ciliates encountered to a possible shortage of nutrients in these environments.

The degree of similarity among the ciliate taxocenoses at the three sampling stations studied is shown in Table 2 and Figure 7. As expected, there was a close similarity between Stations 2 and 3 and low similarity between these two and Station 1.

All the species recorded in this study, except *Halteria* sp., prefer benthonic habitats. According to FENCHEL (1987), lotic systems such as rivers and streams do not contain populations of planktonic protozoa because these are subjected to continuous washings. However, ciliated protozoa can establish themselves in the sediment or on solid surfaces such as rocks, aquatic plants (periphyton ciliates) or benthonic animals (epizooic ciliates).

The species *Stentor coeruleus* and *Blepharisma sinuosum* were recorded only in the cultures kept in the laboratory (Table 1), because they possibly were encysted in the samples analyzed on the collection day, due to the unfavorable environmental conditions. In the cultures, with favorable food supply, the excystment of these species occurred. However, we did not

investigate these species in the ecological study because they had not been registered on the collection day. The excystment mechanism is important because it permits the ciliated protozoan populations to resist predation, unfavorable physical and chemical conditions and food shortages (TAYLOR, 1983).

The saprobic system for evaluating water quality, and more specifically for assessing organic pollution, developed by KOLKWITZ & MARSSON (1908, 1909) and KOLKWITZ (1950), is widely used in biological classification of flowing waters. The original lists of indicator species has been revised and extended by various authors (SLADEČEK, 1973; SLADEČEK *et al.*, 1981; FOISSNER, 1988, FOISSNER *et al.*, 1995), who have added data on the water quality and revised taxonomic errors (PAIVA & SILVA-NETO, 2004).

Among the ciliate species found in São Pedro Stream, 18 are included in the sabrobic system and are considered bioindicators: *Caenomorpha* sp., *Lagynus* sp., *Loxodes striatus* (Eugelmann, 1862) Penard, 1917, *Metopus* sp., *Paramecium caudatum* Ehrenberg, 1838, *Plagiopyla* sp. and *Spirostomum teres* Clapère et Lachmann, 1958 are indicators of polysaprobic environments; *Euplotes eurystomus* Wrzesmiowski, 1870, *Podophrya fixa*, *Stentor coeruleus* and *Tokophrya lenarum* of alfa-mesosaprobic environments; *Coleps* sp., *Spirostomum minus* and *Stentor polymorphus* Ehrenberg, 1830 of alpha-mesosaprobic to beta-mesosaprobic environments; *Frontonia leucas*, *Urocentrum turbo* and *Stylonychia pustulata* of beta-mesosaprobic environments; and *Halteria* sp., which indicates oligosaprobic to alpha-mesosaprobic environments (Table 1).

Figure 8 shows the presence of indicator species of alpha- mesosaprobic and polysaprobic environments at Stations 2 and 3 and the occurrence of an indicator species of an oligosaprobic environment only at Station 1. Among the eight species included in the saprobic system that occurred exclusively at Stations 2 and 3 (Table 1), only *E. eurystomus* is an indicator of an alfa-

mesosaprobic environment. The others are indicators of a polysaprobic environment. These saprobity levels correspond to Class III and IV waters, with low or no oxygen content, characterizing polytrophic environments, meaning extremely polluted (STREBLE & KRAUTER, 1987).

At Station 1, the presence of a large number of indicator species of a beta-mesosaprobic environment indicated moderate pollution. Among the species that occurred at all the collection stations (Table 1), *S. minus*, *F. leucas* and *U. turbo* have been reported along rivers with different saprobic levels (WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK 1982, MADONI & GHETTI, 1982; SPARAGANO & GROLIÈRE 1991, SOLA *et al.* 1996, MADONI & BASSANINI 1999), which shows the ample ecological valence that is characteristic of this species.

Various authors, studying rivers in France (SPARAGANO & GROLIÈRE, 1991), Spain (SOLA *et al.*, 1996), Italy (MADONI & GHETTI, 1981; MADONI, 1993; MADONI & BASSANINI, 1999) and Poland (WIACKOWSKI, 1981), have demonstrated an increased proportion of polysaprobic and alpha-mesosaprobic species and a decrease in beta-mesosaprobic and oligosaprobic species with increasing pollution loads caused by anthropic impacts. These studies allow evaluation of the efficiency of a treatment station, observation of the natural self-purifying process and also diagnosis of pollution sources along lotic systems. MADONI (1993) demonstrated the efficiency of using ciliate protists as water quality indicators in the Parma River, comparing data collected in 1978, when the system received untreated sewage, and in 1989, after a treatment station was operating. In 1989, the collection stations located at the headwaters were more polluted than those in urban regions, where the saprobic index was significantly lower, demonstrating the treatment station's effectiveness.

The species *Coleps* sp., *Epistylis* sp. and *Vorticella* sp. have not been classified as to saprobity because they have only been identified at the genus level. On the lists of indicators

contained in the works of FOISSNER (1988) and FOISSNER & BERGER (1996), the genera *Coleps* Nitzsch, 1817, *Epistylis* Ehrenberg, 1830 and *Vorticella* Linnaeus, 1767 indicate environments that vary from oligosaprobic to alpha-mesosaprobic. The presence of *Epistylis* sp. only at Stations 2 and 3 and the greater frequency of *Vorticella* sp. at these stations as well, corroborate that peritrichs ciliate are strongly related to organic pollution (ANTIPA, 1967; BURBANCK & SPOON, 1967; HENEBRY & RIDGEWAY, 1979).

The indicator species of polysaprobic environments recorded at Stations 2 and 3, located in the urban area of São Pedro Stream, have been reported by various authors in eutropic lakes (FINLAY, 1981, 1982; LAYBOURN-PARRY *et al.*, 1990), at sewage treatment stations (SALVADÓ *et al.*, 1995) and in polluted rivers and streams (MADONI & GHETTI, 1981; SUEHIRO & TEZUCA, 1981; WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; SOLA *et al.*, 1996; MADONI & BASSANINI, 1999).

In his guide to freshwater protozoa, PATTERSON (1996) classified the species of the genera *Metopus* (Claparède et Lachman, 1850), *Caenomorpha* Perty, 1852, *Plagiopyla* Stein, 1860, *Spirostomum* Ehrenberg, 1833 and the species *L. striatus* as anoxic benthonic ciliates. FOISSNER & BERGER (1996) included *Caenomorpha* spp., *Metopus* spp., *Plagiopyla nassuta*, *Loxodes* spp. and *Lagynus elegans* in a community called “Metopetum”, composed mainly of strictly anaerobic organisms, which do not have mitochondria and present sulphurous bacteria as symbionts, being “infallible” indicators (Czapik, 1982) of the presence of sulphurated hydrogen in the water. Heterotrophic sulphurous bacteria occur principally at the surface of sediment, where the reducing conditions are more favorable, and appear in great densities in highly polluted environments. (ESTEVEZ, 1988).

The availability of food is an important biotic factor that controls the distribution of ciliated protozoan populations in the various ecosystems (NOLAND, 1925; SLEIGH, 1988). Several studies have shown the effect of pollution on the trophic relationships of the community of

ciliated protozoa in flowing waters (WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; PRIMC, 1988; PRIMC-HABDIJA *et al.*, 1998; MADONI & BASSANINI 1999).

In oligosaprobic waters, ciliates mainly feed on algae, while only a few feed on bacteria and cyanobacteria. As the level of saprobity increases the trophic relationships are significantly altered. These changes start with a decrease in the number of algivorous ciliates and an increase in the number of bacterivorous species (WIACKOWSKI, 1981; CZAPIK, 1982; MADONI & BASSANINI 1999). Organic pollutants cause an increase in phosphates and other nutrients, altering the structure of bacteria communities, inducing changes in the ciliate fauna, which depend directly on these bacteria for food (PRIMC, 1988).

Among the species that occurred at all the collection stations (Table 1), only *S. minus* is exclusively bacterivorous. *F. leucas* and *S. pustulata* are omnivorous and *U. turbo* can feed on both bacteria and diatoms. The species of the genus *Coleps* are mostly omnivorous and some species of the genus *Vorticella* can feed on algae and bacteria (FOISSNER & BERGER, 1996). The omnivorous feeding habits of some ciliate species enable them to occur both in headwaters and polluted stretches of rivers and streams, as demonstrated in various studies (CZAPIK 1982, SPARAGANO & GROLIÈRE 1991, PACKROFF & ZWICK 1996, SOLA *et al.* 1996, MADONI & BASSANINI 1999).

In the present work, *Halteria* sp., which occurred only at Station 1, is algivorous, indicating an environment with little impact. This corroborates the data obtained by CZAPIK (1982), who recorded species with this feeding habit at well preserved spots along a river polluted by domestic sewage.

Of the ten species recorded exclusively at Stations 2 and 3 (Table 1), 70% are indicators of polysaprobic environments, and the majority are preferentially bacterivorous. Among the bacterivorous ciliates, the most specialized are those that feed on sulfurous bacteria, indicating

highly degraded environments (CZAPIK, 1982). The species *Caenomorpha* sp., *Lagynus* sp., *Metopus* sp. and *Plagiopyla* sp. registered in the present work are examples of this group of ciliates.

The study of the physical and chemical characteristics of São Pedro Stream, such as low levels of dissolved oxygen and high electrical conductivity values recorded at Stations 2 and 3 (Figures 2 and 3), as well as the high similarity among the ciliate taxocenoses at these stations and the low similarity between Station 1 and the other two (Fig. 7), confirm the high sewage loads at these stations, along with the high sensitivity of the ciliate populations to changes in organic pollution and the saprobic condition in flowing waters.

The combination of the biological method (ciliate community) with the traditional method (physical and chemical analysis), therefore, is an efficient way to evaluate water quality and has great potential for use in reaching decisions on preservation and recuperation of degraded lotic systems.

Acknowledgments. We acknowledge the help of Dr. Roberto da Gama Alves (Zoology Department, ICB, UFJF) with the statistical and ecological analysis and Márcia Regina Silva Alves for assisting with the impregnation of the specimens. We are very grateful to Dr. Inácio da Silva-Neto (Zoology Department, CCS, UFRJ) and all of the laboratory staff for their incentive in the study of the ciliates. Thanks are also due to Dr. Érik Daemon (Zoology Department, ICB, UFJF) for reviewing this manuscript. This research was supported by CNPq.

REFERENCES

- ANTIPA, G. A. 1977. Use of commensal protozoa as biological indicators of water quality and pollution. *Transactions of the American Microscopical Society*, 96:482-489.
- BRANCO, S.G. 1986. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária**. São Paulo, Cetesb. 616p.
- BURBANCK, W. D. & SPOON, D. M. 1967. The use of sessile ciliates collected in plastic Petri dishes for rapid assessment of water pollution. **Journal of Protozoology** 14: 739-744.
- CZAPIK, A. 1982. The effect of waste water on ciliate communities in the Biata Przemysza River. **Acta Hydrobiologica** 24 (1): 29-37.
- DIECKMANN, J. 1995. An improved protargol impregnation for ciliates yielding reproducible results. **European Journal of Protistology** 31: 372-382.
- ESTEVEZ, F.A. 1988. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro, Interciência. 575p.
- FENCHEL, T. 1987. **Ecology of Protozoa. The biology of free-living phagotrophic protists**. Berlin & Tokyo, Springer. 197p.
- FERNANDEZ-LEBORANS, G. & NOVILLO, A. 1996. Protozoan communities and contamination of several fluvial systems. **Water Environment Research** 68(3) :311-319.
- FINLAY, B. J. 1981. Oxygen availability and seasonal migrations of ciliated protozoa in a freshwater lake. **Journal of General Microbiology** 123: 173-178.
- FINLAY, B. J. 1982. Effects of seasonal anoxia on the community of benthic ciliated protozoa in a productive lake. **Archiv fur Hydrobiologie** 125: 215-222.
- FOISSNER, W.1988. Taxonomic and nomenclatural revision of Sládeček's list of ciliates (Protozoa: Ciliophora) as indicators of water quality. **Hydrobiologia** 166: 1-64.
- FOISSNER, W. 1991. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. **European Journal of Protistology** 27: 313-330.

- FOISSNER, W. 1997. Faunistic and taxonomic studies on ciliates (Protozoa, Ciliophora) from clean rivers in Bavaria (Germany), with description of a new species and ecological notes. **Limnologica** 27 (2):179-238
- FOISSNER, W., BERGER, H., BLATTERER, H. & KOHMANN, F. 1995 .**Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems** - Band IV: Gymnostomates, Loxodes. Munich, Informationsberichte des Bayer Landesamtes für Wasserwirtschaft. 540p.
- FOISSNER, W. & H. BERGER. 1996. A user-friendly guide to ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. **Freshwater Biology** 35: 375-498.
- GROLIÈRE, C-A., CHAKLI, R., SPARAGANO, O. & PEPIN, D. 1990 .Application de la colonisation d'un substrat artificiel par les ciliés à l'étude de la qualité des eaux d'une rivière. **European Journal of Protistology** 25 :381-390.
- HENEBRY, M. S. & RIDGEWAY, B. T. 1979. Epizoic ciliated protozoa of planktonic copepods and cladocerans and their possible use as indicators of organic pollution. **Transactions of the American Microscopical Society** 98(4): 495-508.
- KLEIN, B. N. 1958. The "dry" silver method and its proper and use. **Journal of Protozoology** 5: 99-103.
- KOLKWITZ, R. & MARSSON, K. 1908. Ökologie der pflanzlichen Saprobien. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft** 26: 505-519.
- KOLKWITZ, R. & MARSSON, K. 1909. Ökologie der tierischen Saprobien. **Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie** 2: 126-152.
- KOLKWITZ, R. 1950. Okologie der Saprobien. **SchReihe Ver Wass-Boden-u-Lufthyg** 4: 1-64.
- KUDO, R.R. 1966. **Protozoology**. Illinois, Charles C. Thomas. 786p.

- LATUF, M. 2004. Diagnóstico das águas superficiais do córrego São Pedro, Juiz de Fora/MG. **Geografia** **13** (1): 18-55. Disponível em <<http://www.geo.uel.br/revista>> .Acesso em 12.03.2006.
- LAYOURN-PARRY, J. 1990. The hypolimnetic protozoan plankton of a eutrophic lake. **Hydrobiologia** **203**: 111-119.
- MADONI, P. & GHETTI, P. F. 1981. Ciliated Protozoa and water quality in the Torrente Stirone (Northern Italy). **Acta Hydrobiologica** **23**(2): 143-154.
- MADONI, P. 1983. Relationship between ciliated protozoa and ecological zones in some water courses of the River Po Basin. **International Journal Ecology Environmental Science** **9**:87-98.
- MADONI, P. 1984. Ecological characterization of different types of watercourses by the multivariate analysis of ciliated protozoa populations. **Acta Hydrobiologica** **100**(2): 171-188.
- MADONI, P. 1993. Ciliated protozoa and water quality in the Parma River (Northern Italy): long-term changes in the community structure. **Hydrobiologia** **264**: 129-135.
- MADONI, P. & BASSANINI, N. 1999 .Longitudinal changes in the ciliated protozoa communities along a fluvial system polluted by organic matter. **European Journal of Protistology**.**35** :391-402.
- MAGURRAN, A. E. 1988. **Ecological diversity and its measurement**. Princeton, New Jersey, Princeton University Press. 179p.
- NOLAND, L. E. 1925. Factors influencing the distribution of fresh water ciliates. **Ecology** **6**: 437-452
- NORRIS, R. & THOMS, M.. 1999. What is river health? **Freshwater Biology** **41**: 197-209.
- PACKROFF, G. & ZWICK, P.1996. The ciliate fauna of an unpolluted foothill stream, the Breitenbach, 1: qualitative aspects. **Limnologia** **26** (3): 255-262.

- PAIVA, T.S. & SILVA-NETO. I. D. 2004. Ciliate protists from Cabiúnas lagoon (Restinga de Jurubatiba, Macaé, Rio de Janeiro) with emphasis on water quality indicator species and description of *Oxytricha marcili* sp.n. **Brazilian Journal of Biology** 64 (3A): 465-478.
- PATTERSON, D. J. 1996. **Free-living freshwater protozoa: a colour guide**. John Wiley & Sons, USA. P.181-191.
- PICCINNI, E. & J. GUTIÉRREZ. 1995. Protists as bioindicators in the environment. **Protistological Actualities** 1: 173-184.
- PRIMC, B. 1988. Trophic relationships of ciliated Protozoa developed under different saprobic conditions in the periphyton of the Sava River. **Periodicum Biologorum** 90 (3): 349-353.
- PRIMC-HABDIJA, B., HABDIJA, I. & RADANOVIC, I. 1998 .Seasonal changes in trophic structure of periphytic ciliates in relation to discharge regime. **Verhandlungen Internationale Vereinigen Limnologie** 26 :1116-1119
- SALVADÓ, H.; GRACIA, M. & AMIGÓ J.1995. Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. **Water Research** 29 (4): 1041-1050.
- SLÀDEČEK, V. 1973. System of water quality from the biological point of view. **Archiv Fuer Hydrobiologie- Beiheft Ergebnisse der Limnologie** 7(I-IV): 1-218.
- SLÀDEČEK, V; ZELINKA, M.; ROTSCHEIN, J. & MORACOVÁ, V. 1981. **Biologický rozbor povrchové vody**. Komentár k CSN 830532- eásti 6: Stanovi saprobního indexu. Vydalo Vydavatelstvi Úradu pro normalizaci a mereni, Phara, 186p.
- SLEIGH, M. 1988. **Protozoa and other Protists**. New York, Chapman and Hall. 399p.
- SOLA, LONGÁS, SERRANO & ALMUDENA. 1996. Influence of environmental characteristics on the distribution of ciliates in the River Henares (Central Spain). **Hydrobiologia** 324: 237-252.

- SPARAGANO, O. & GROLILÈRE, C. A. 1991 .Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. **Hydroecologie Applique 1** :43-62.
- STREBLE, H. & D. KRAUTER. 1985. **Atlas de los Microorganismos de agua dulce**. Barcelona, Omega.337p .
- SUEHIRO, S. & TEZUCA, Y. 1981 .Seasonal change in ciliate populations in the bottom sediment of a polluted river. **Japan Journal of Limnology 42(1)** :1-7.
- TAYLOR, W.D. 1983 .A comparative study of the sessile, filter-feeding ciliates of several small streams. **Hydrobiologia 98**:125-133.
- TUFFRAU, M. 1959. Un dispositif simple pour l'obsevation durable in vivo des microorganismes. **Hydrobiologia, 18 (4)**: 316-318.
- VON SPERLING, M. 1996. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento das águas e ao tratamento de esgotos**. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. v 1. 243p.
- WIACKOWSKI, K. 1981. Analysis of *Ciliata* from polluted sector of the River Drwinka on the basis of binary data. **Acta Hydrobiologica 23(4)**: 319-329.

LEGENDS TO THE FIGURES

Fig. 1. Map of the São Pedro Stream showing the sampling stations (P1=Station 1; P2=Station 2; P3= Station 3) on the urban area of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil (from Latuf, 2004).

Fig. 2. Variation of dissolved oxygen concentration from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

Fig. 3. Variation of pH from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

Fig. 4. Variation of conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$) from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

Fig. 5. Variation of temperature from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

Fig. 6. Dendrogram of cluster analysis, showing the similarities among stations (S1, S2 and S3) on the basis of physycal and chemical qualities

Fig. 7. Dendrogram of cluster analysis, showing the similarities among stations (S1, S2 and S3) on the basis of ciliate taxocenoses.

Fig. 8. The number of species indicators of polisaprobity, alfa-mesosaprobity, alfa to beta-metasoprobity beta-metasoprobity and oligosaprobity environments at the three stations (S1, S2 and S3).

TABLES AND FIGURES

Table 1. Ciliate protist taxa, number recorded at stations 1 (S1), 2 (S2) and 3 (S3), saprobity levels (S) and main food source (Mf).

Protist ciliates	S1	S2	S3	S *	Mf *
<i>Caenomorpha</i> sp.	-	5	5	p-i	Ba, Sb
<i>Lagynus</i> sp.	-	1	3	p-i	O
<i>Loxodes striatus</i>	-	3	4	p	Al, Ki, Cy
<i>Metopus</i> sp.	-	5	5	p-i	Ba, Al, Fl
<i>Paramecium caudatum</i>	-	11	11	p-a	Ba, Al
<i>Plagiopyla</i> sp.	-	4	2	p-i	Ba, Sb, Al, Fl
<i>Spirostomum teres</i>	-	5	5	p	Ba, Sb, Al, Ki
<i>Euplotes eurystomus</i>	-	3	4	a	O
<i>Podophrya fixa</i>	-	1		a	R
<i>Stentor coeruleus</i>	-		+	a	O
<i>Tokophrya lenarum</i>	-		1	a	R
<i>Coleps</i> sp.	3	4	5	a-b	-
<i>Spirostomum minus</i>	5	6	6	a-b	Ba
<i>Stentor polymorphus</i>	-	3	1	a-b	Ba, Al, Ki
<i>Frontonia leucas</i>	8	5	5	b	O
<i>Urocentrum turbo</i>	4	7	9	b	Ba, Ki
<i>Stylonychia pustutala</i>	2	7	7	b	O
<i>Halteria</i> sp.	2	-		o-a	Al
<i>Blepharisma sinuosum</i>	-	-	+	-	-
<i>Epistylis</i> sp.	-	3	1	-	-
<i>Prorodon</i> sp.	-	2	3	-	-
<i>Vorticella</i> sp.	1	5	9	-	-

Legend: p=polisaprobity; i= isosaprobity; a= alfa-mesosaprobity; b= beta-mesosaprobity; o= oligosaprobity; Al= algae; Ba= bacteria; Cy= cyanobacteria ; Fl= heterotrophic flagellates; Ki= diatoms; O= omnivorous; R= predator ; Sb= sulphur bacteria. + = species recorded only in the cultures kept in the laboratory. * Fonte: Foissner & Berger (1996)

Table 2. Qualitative similarity indices of Jaccard and Sorenson between the station pairs 1 and 2 (S1-S2), 1 and 3 (S1-S3) and 2 and 3 (S2-S3).

Stations	Qualitative similarity index	
	Jaccard	Sorenson
S1-S2	0,32	0,48
S1-S3	0,29	0,44
S2-S3	0,81	0,89

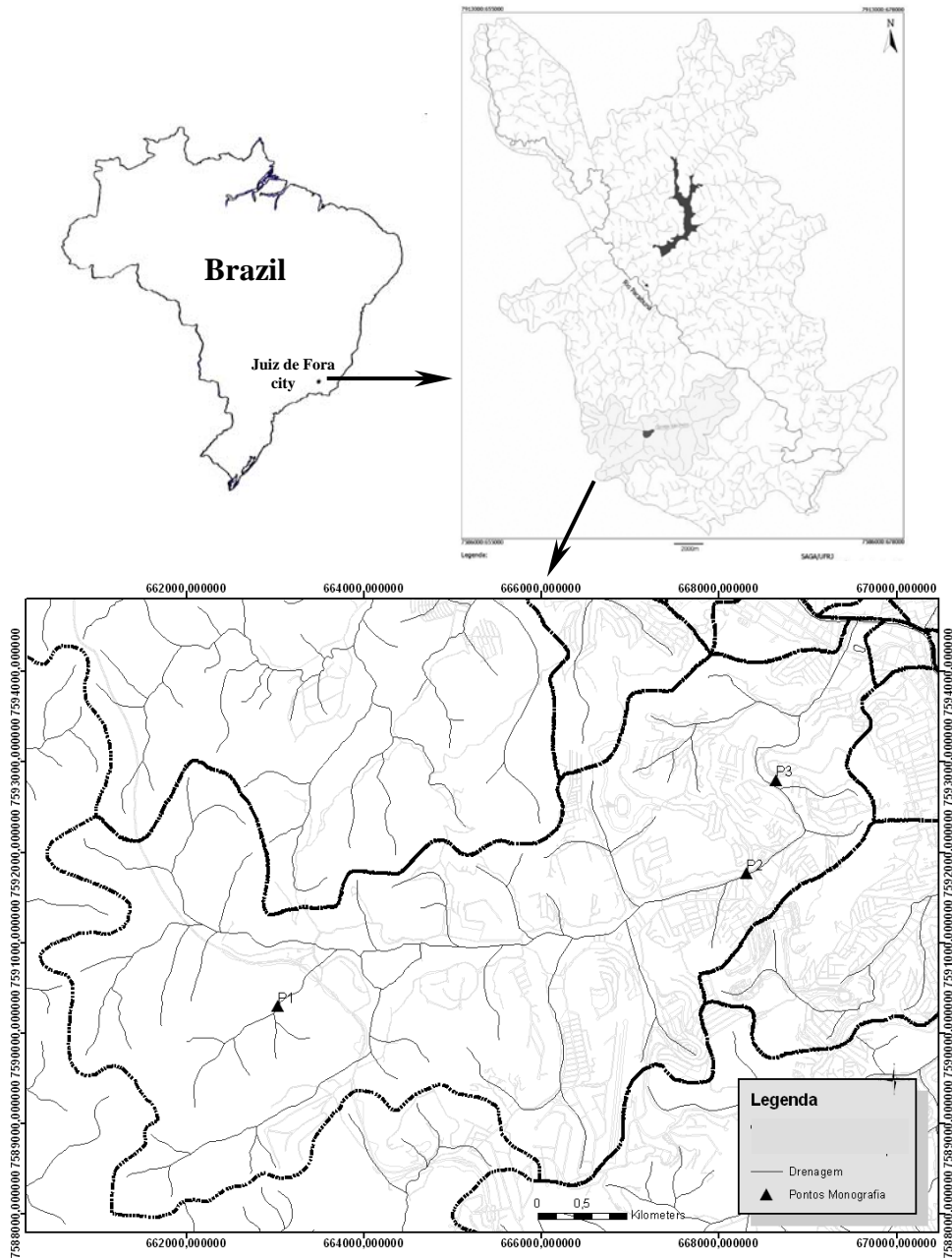


Fig. 1. Map of the São Pedro Stream showing the sampling stations (P1=Station 1; P2=Station 2; P3= Station 3) on the urban area of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil (from Latuf, 2004).

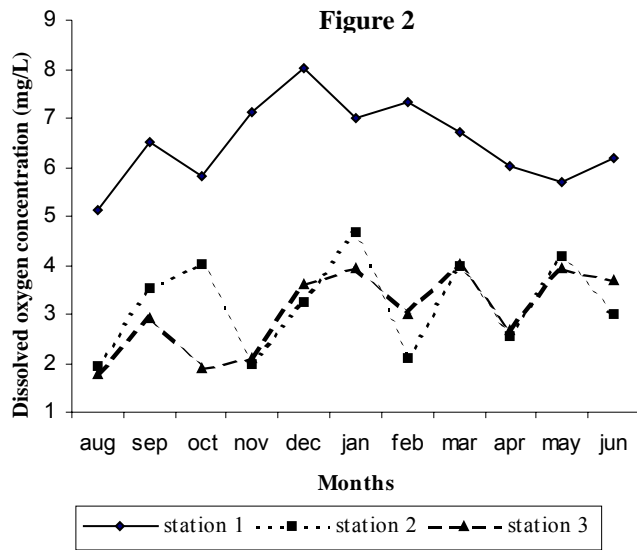


Fig. 2. Variation of dissolved oxygen concentration from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

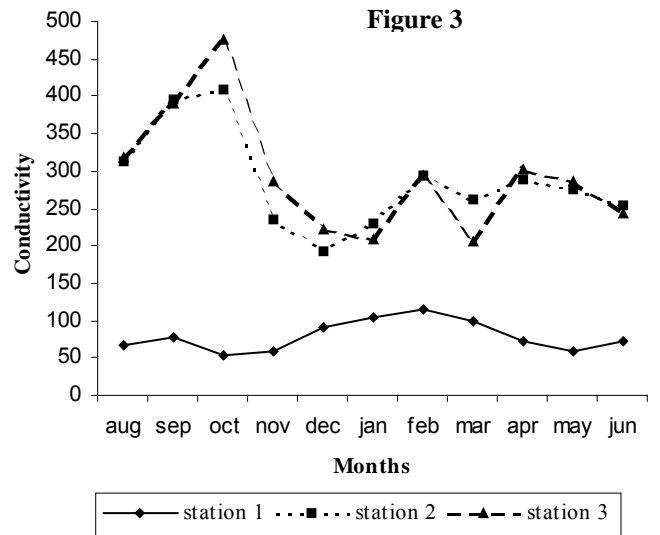


Fig. 3. Variation of pH from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

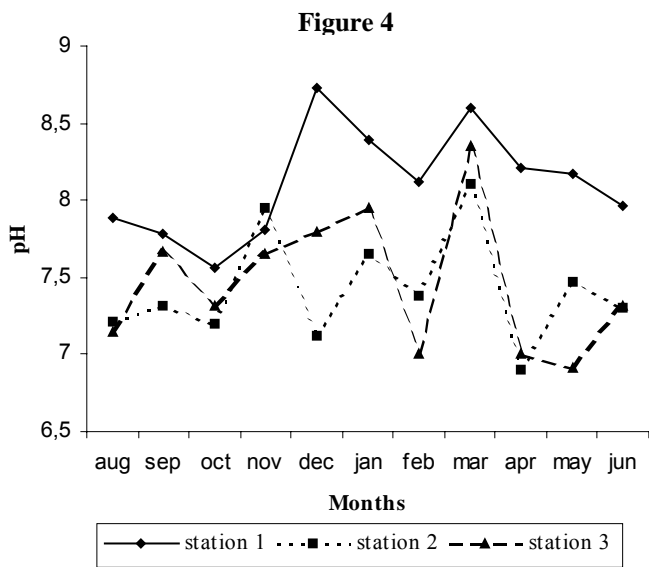


Fig. 4. Variation of conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$) from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

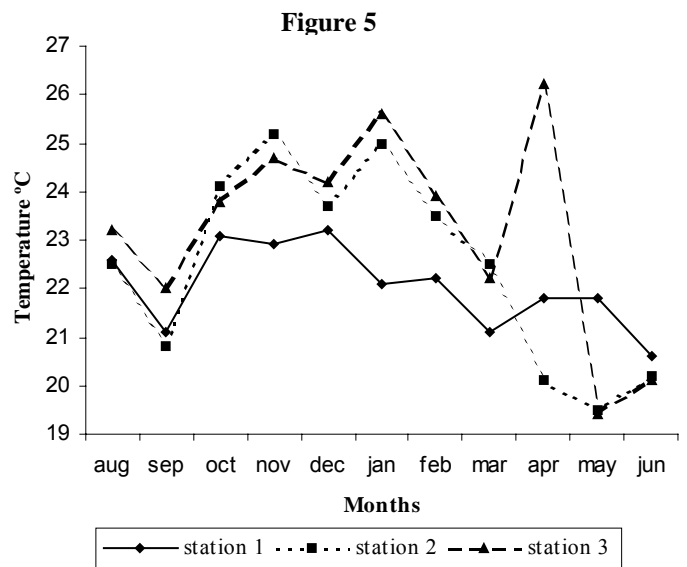


Fig. 5. Variation of temperature from three points along São Pedro stream, from August 2002 to June 2003.

Figure 6

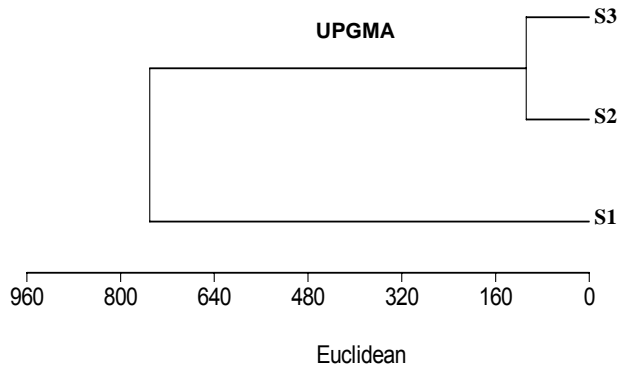


Fig. 6. Dendrogram of cluster analysis, showing the similarities among stations (S1, S2 and S3) on the basis of physical and chemical qualities

Figure 7

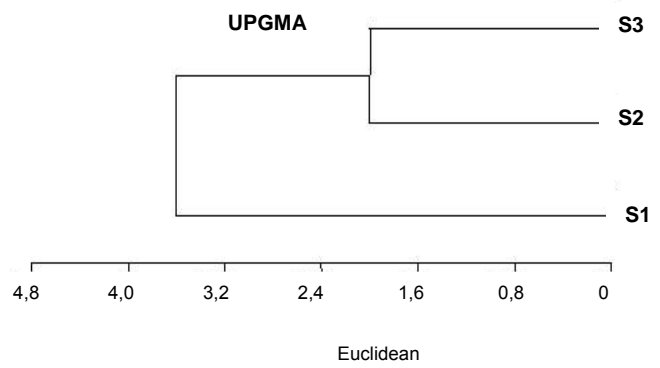


Fig. 7. Dendrogram of cluster analysis, showing the similarities among stations (S1, S2 and S3) on the basis of ciliate taxocenoses.

Figure 8

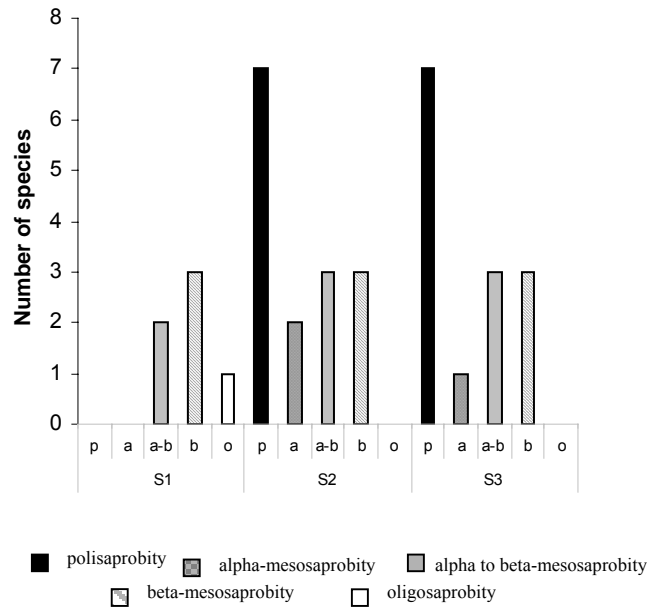


Fig. 8. The number of species indicators of polisaprobity, alfa-mesosaprobity, alfa to beta-metasoprobity beta-metasoprobity and oligosaprobity environments at the three stations (S1, S2 and S3).

ANEXO II: Reagentes das técnicas ciliatólogicas

Reagentes da técnica proposta por DIECKMANN (1995):

a. Bouin aquoso

15 partes de solução saturada de ácido pícrico

5 partes de formaldeído 37%

1 parte de ácido acético glacial

b. Albumina glicerinada (2 a 4 meses de estabilidade)

15 ml de albumina de ovo

15 ml de glicerol concentrado (98%-100%)

c. Permanganato de potássio 0,2%

0,2g de permanganato de potássio

100 ml de água destilada

d. Ácido oxálico 2,5%

2,5g de ácido oxálico

100 ml de água destilada

e. Ácido oxálico 3%

3g de ácido oxálico

100 ml de água destilada

f. Cloreto de ouro 0,5%

0,5g de ouro puro

100 ml de água destilada

g. Tiosulfato de sódio 2%

2g de tiosulfato de sódio

100 ml de água destilada

h. Protargol 0,4%

0,4g de proteinato de prata

100 ml de água destilada

i. Hidroquinona

875 ml de água destilada

11,5g de ácido bórico

2,5g de hidroquinona

17g de sulfito de sódio

125 ml de acetona

Reagente da técnica proposta por KLEIN (1958):

Nitrato de Prata 3%

3g de nitrato de prata

100 ml de água destilada

Reagentes da técnica proposta por FOISSNER (1991):

a. Nitrato de Prata 1%

1g de nitrato de prata

100 ml de água destilada

b. Revelador

20 ml da solução A

1 ml de solução B

1 ml da solução C

c. Solução A (estável por vários anos)

1000 ml de água de torneira (temperatura de 40 °C)

10g de Acído Bórico (H_3BO_3)

10 g de Bórax (Na_2SO_3)

5g de Hidroquinona

100g de Sulfito de Sódio Anidro (Na_2SO_3)

2,5g de Metol

d. Solução B (validade 6 meses)

100 ml de água destilada

0,4 g de Metol

5,2g de Sulfito de Sódio Anidro

1,2g de Hidroquinona

10,4g de Carbonato de Potásio (K_2CO_3)

0,4g de Brometo de Potássio (KBr)

e. Solução C (estável por vários anos)

100 ml de Hidróxido de sódio (NaOH)

100 ml de água destilada

f. Fixador (estável por vários anos)

25g de Tiosulfato de Sódio ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)

100 ml de água destilada